



(19) 대한민국특허청(KR)
 (12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2014-0026334
 (43) 공개일자 2014년03월05일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/40 (2006.01) *A61K 39/395* (2006.01)
- (21) 출원번호 10-2013-7013390
- (22) 출원일자(국제) 2011년11월22일
 심사청구일자 없음
- (85) 번역문제출일자 2013년05월24일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2011/061785
- (87) 국제공개번호 WO 2012/071381
 국제공개일자 2012년05월31일
- (30) 우선권주장
 61/416,927 2010년11월24일 미국(US)

- (71) 출원인
렉시컨 파마슈티컬스 인코퍼레이티드
 미국 77381-1160 텍사스주 더 우드랜즈 테크놀로지 포레스트 플레이스 8800
- (72) 발명자
브로마지 로버트 조셉 주니어
 미국 77381-1160 텍사스주 더 우드랜즈 테크놀로지 포레스트 플레이스 8800
펑 샤오
 미국 77381-1160 텍사스주 더 우드랜즈 테크놀로지 포레스트 플레이스 8800
 (뒷면에 계속)
- (74) 대리인
특허법인코리아나

전체 청구항 수 : 총 29 항

(54) 발명의 명칭 노텀 펙틴아세틸에스터라제에 대한 항체

(57) 요 약

노텀 펙틴아세틸에스터라제(Notum Pectinacetyl esterase)를 중화하는 항체뿐만 아니라 그것을 포함하는 조성물 및 뼈에 영향을 미치는 질병 및 장애를 치료하기 위한 그것의 사용방법이 기재되어 있다.

(72) 발명자

홍 석주

미국 77381-1160 텍사스주 더 우드랜즈 테크놀로지
포레스트 플레이스 8800

렌즈 그레고리

미국 77381-1160 텍사스주 더 우드랜즈 테크놀로지
포레스트 플레이스 8800

류 제프

미국 77381-1160 텍사스주 더 우드랜즈 테크놀로지
포레스트 플레이스 8800

포터 테이비드 조지

미국 77381-1160 텍사스주 더 우드랜즈 테크놀로지
포레스트 플레이스 8800

파월 테이비드 리드

미국 77381-1160 텍사스주 더 우드랜즈 테크놀로지
포레스트 플레이스 8800

특허청구의 범위

청구항 1

인간 노덤 팩틴아세틸에스터라제(NOTUM)에 결합되고, NOTUM 중 적어도 하나의 활성을 중화시키는, 단클론성 항체.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 항체는 마우스 NOTUM, 기니아 피그 NOTUM, 사이노몰구스 원숭이 NOTUM 및 붉은털원숭이 NOTUM으로부터 선택된 NOTUM에 결합된 것인 단클론성 항체.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 항체는 시험관내 트라이소듐 8-옥타노일옥시파이렌-1,3,6-트라이설포네이트(OPTS) 분석에서 NOTUM 활성을 감소시키고/시키거나 시험관내 Wnt 신호처리 분석에서 NOTUM 활성을 감소시키는 것인 단클론성 항체.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 피험체에 투여 시, 상기 항체는 생체내 혈청 PINP 수준을 증가시키고, 생체내 뼈 무기염 밀도를 증가시키며, 생체내 골간 대퇴골 피질 두께를 증가시키고, 생체내 골간 대퇴골 뼈 면적을 증가시키며, 생체내 골간 상완골 피질 두께를 증가시키고, 생체내 내부피질(endocortical) 뼈 형성을 증가시키며, 생체내 LV5 척추체에서 피질 뼈 용적의 비율을 증가시키고/시키거나 생체내 대퇴경부 전체 용적에 대한 대퇴경부 뼈 용적의 비율을 증가시키는 것인 단클론성 항체.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 50nM 미만의 K_D 를 갖는 서열번호 1의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩타이드에 결합되는 것인 단클론성 항체.

청구항 6

제5항에 있어서, 상기 K_D 는 20nM 미만인 것인 단클론성 항체.

청구항 7

제6항에 있어서, 상기 K_D 는 10nM 미만인 것인 단클론성 항체.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 하기로부터 선택된 적어도 하나의 결합 특징을 갖는 것인 단클론성 항체:

- 서열번호 84의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩타이드에 대한 상기 항체의 결합 친화도보다 적어도 5-배 더 강한 결합 친화도로 서열번호 83의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩타이드에 결합함;
- 서열번호 86의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩타이드에 대한 상기 항체의 결합 친화도보다 적어도 5-배 더 강한 결합 친화도로 서열번호 85의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩타이드에 결합함;
- 서열번호 94의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩타이드에 대한 상기 항체의 결합 친화도보다 적어도 5-배 더 강한 결합 친화도로 서열번호 1의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩타이드에 결합함;
- 서열번호 99의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩타이드에 대한 상기 항체의 결합 친화도보다 적어도 5-배 더 강한 결합 친화도로 서열번호 1의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩타이드에 결합함;
- 서열번호 2의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩타이드에 대한 상기 항체의 결합 친화도보다 적어도 5-배 더 강한 결합 친화도로 서열번호 95의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩타이드에 결합함;
- 서열번호 7의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역 및 서열번호 8의 아미노산 서열을 갖는 경쇄 가변 영역

을 포함하는 항체와 NOTUM에 대한 결합을 위해 경쟁함;

- g) 서열번호 15의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역 및 서열번호 16의 아미노산 서열을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체와 NOTUM에 대한 결합을 위해 경쟁함;
- h) 서열번호 23의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역 및 서열번호 24의 아미노산 서열을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체와 NOTUM에 대한 결합을 위해 경쟁함;
- i) 서열번호 31의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역 및 서열번호 32의 아미노산 서열을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체와 NOTUM에 대한 결합을 위해 경쟁함;
- j) 서열번호 39의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역 및 서열번호 40의 아미노산 서열을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체와 NOTUM에 대한 결합을 위해 경쟁함;
- k) 서열번호 47의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역 및 서열번호 48의 아미노산 서열을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체와 NOTUM에 대한 결합을 위해 경쟁함; 및
- l) 서열번호 55의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역 및 서열번호 56의 아미노산 서열을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체와 NOTUM에 대한 결합을 위해 경쟁함.

청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 마우스 항체, 키메라 항체, 인간화된 항체 및 인간 항체로부터 선택되는 것인 단클론성 항체.

청구항 10

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 중쇄 및 경쇄를 포함하되, 상기 중쇄는 하기로부터 선택된 적어도 하나의 CDR을 포함하는 것인 단클론성 항체:

- a) 서열번호 9, 17, 25, 33, 41, 49 및 90으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 CDR1;
- b) 서열번호 10, 18, 26, 34, 42 및 50으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및
- c) 서열번호 11, 19, 27, 35, 43, 51 및 91로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 CDR3.

청구항 11

제10항에 있어서, 상기 중쇄는 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함하는 세트를 포함하되, 상기 세트는 하기로부터 선택되는 것인 단클론성 항체:

- a) 서열번호 9의 아미노산 서열을 갖는 CDR1, 서열번호 10의 아미노산 서열을 갖는 CDR2 및 서열번호 11의 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하는 세트;
- b) 서열번호 90의 아미노산 서열을 갖는 CDR1, 서열번호 18의 아미노산 서열을 갖는 CDR2 및 서열번호 91의 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하는 세트;
- c) 서열번호 17의 아미노산 서열을 갖는 CDR1, 서열번호 18의 아미노산 서열을 갖는 CDR2 및 서열번호 19의 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하는 세트;
- d) 서열번호 90의 아미노산 서열을 갖는 CDR1, 서열번호 26의 아미노산 서열을 갖는 CDR2 및 서열번호 27의 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하는 세트;
- e) 서열번호 25의 아미노산 서열을 갖는 CDR1, 서열번호 26의 아미노산 서열을 갖는 CDR2 및 서열번호 27의 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하는 세트;
- f) 서열번호 90의 아미노산 서열을 갖는 CDR1, 서열번호 34의 아미노산 서열을 갖는 CDR2 및 서열번호 91의 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하는 세트;
- g) 서열번호 33의 아미노산 서열을 갖는 CDR1, 서열번호 34의 아미노산 서열을 갖는 CDR2 및 서열번호 35의 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하는 세트;
- h) 서열번호 41의 아미노산 서열을 갖는 CDR1, 서열번호 42의 아미노산 서열을 갖는 CDR2 및 서열번호 43의 아

미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하는 세트;

- i) 서열번호 49의 아미노산 서열을 갖는 CDR1, 서열번호 50의 아미노산 서열을 갖는 CDR2 및 서열번호 51의 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하는 세트; 및
- j) 서열번호 57의 아미노산 서열을 갖는 CDR1, 서열번호 58의 아미노산 서열을 갖는 CDR2 및 서열번호 59의 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하는 세트.

청구항 12

제11항에 있어서, 상기 중쇄는 서열번호 7, 15, 23, 31, 39, 47, 63, 67, 71, 75 및 79로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함하는 것인 단클론성 항체.

청구항 13

제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 중쇄 및 경쇄를 포함하고, 상기 경쇄는 하기로부터 선택된 적어도 하나의 CDR을 포함하는 것인 단클론성 항체:

- a) 서열번호 12, 20, 28, 36, 44, 52, 60 및 92로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1;
- b) 서열번호 13, 21, 29, 37, 45, 53, 61 및 93으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및
- c) 서열번호 14, 22, 30, 38, 46, 54 및 62로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3.

청구항 14

제13항에 있어서, 상기 경쇄는 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함하는 세트를 포함하되, 상기 세트는 하기로부터 선택되는 것인 단클론성 항체:

- a) 서열번호 12의 아미노산 서열을 갖는 CDR1, 서열번호 13의 아미노산 서열을 갖는 CDR2 및 서열번호 14의 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하는 세트;
- b) 서열번호 92의 아미노산 서열을 갖는 CDR1, 서열번호 93의 아미노산 서열을 갖는 CDR2 및 서열번호 22의 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하는 세트;
- c) 서열번호 20의 아미노산 서열을 갖는 CDR1, 서열번호 21의 아미노산 서열을 갖는 CDR2 및 서열번호 22의 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하는 세트;
- d) 서열번호 92의 아미노산 서열을 갖는 CDR1, 서열번호 93의 아미노산 서열을 갖는 CDR2 및 서열번호 30의 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하는 세트;
- e) 서열번호 28의 아미노산 서열을 갖는 CDR1, 서열번호 29의 아미노산 서열을 갖는 CDR2 및 서열번호 30의 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하는 세트;
- f) 서열번호 92의 아미노산 서열을 갖는 CDR1, 서열번호 93의 아미노산 서열을 갖는 CDR2 및 서열번호 38의 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하는 세트;
- g) 서열번호 36의 아미노산 서열을 갖는 CDR1, 서열번호 37의 아미노산 서열을 갖는 CDR2 및 서열번호 38의 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하는 세트;
- h) 서열번호 44의 아미노산 서열을 갖는 CDR1, 서열번호 45의 아미노산 서열을 갖는 CDR2 및 서열번호 46의 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하는 세트;
- i) 서열번호 52의 아미노산 서열을 갖는 CDR1, 서열번호 53의 아미노산 서열을 갖는 CDR2 및 서열번호 54의 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하는 세트; 및
- j) 서열번호 60의 아미노산 서열을 갖는 CDR1, 서열번호 61의 아미노산 서열을 갖는 CDR2 및 서열번호 62의 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하는 세트.

청구항 15

제14항에 있어서, 상기 경쇄는 서열번호 8, 16, 24, 32, 40, 48, 56, 65, 69, 73, 77 및 81로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 것인 단클론성 항체.

청구항 16

제1항에 있어서, 상기 항체는 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하되:

- a) 상기 중쇄 가변 영역은 서열번호 9의 아미노산 서열을 갖는 CDR1, 서열번호 10의 아미노산 서열을 갖는 CDR2 및 서열번호 11의 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하며, 상기 경쇄 가변 영역은 서열번호 12의 아미노산 서열을 갖는 CDR1, 서열번호 13의 아미노산 서열을 갖는 CDR2 및 서열번호 14의 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하거나; 또는
- b) 상기 중쇄 가변 영역은 서열번호 90의 아미노산 서열을 갖는 CDR1, 서열번호 18의 아미노산 서열을 갖는 CDR2 및 서열번호 91의 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하며, 상기 경쇄 가변 영역은 서열번호 92의 아미노산 서열을 갖는 CDR1, 서열번호 93의 아미노산 서열을 갖는 CDR2 및 서열번호 22의 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하거나; 또는
- c) 상기 중쇄 가변 영역은 서열번호 17의 아미노산 서열을 갖는 CDR1, 서열번호 18의 아미노산 서열을 갖는 CDR2 및 서열번호 19의 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하며, 상기 경쇄 가변 영역은 서열번호 20의 아미노산 서열을 갖는 CDR1, 서열번호 21의 아미노산 서열을 갖는 CDR2 및 서열번호 22의 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하거나; 또는
- d) 상기 중쇄 가변 영역은 서열번호 90의 아미노산 서열을 갖는 CDR1, 서열번호 26의 아미노산 서열을 갖는 CDR2 및 서열번호 27의 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하며, 상기 경쇄 가변 영역은 서열번호 92의 아미노산 서열을 갖는 CDR1, 서열번호 93의 아미노산 서열을 갖는 CDR2 및 서열번호 30의 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하거나; 또는
- e) 상기 중쇄 가변 영역은 서열번호 25의 아미노산 서열을 갖는 CDR1, 서열번호 26의 아미노산 서열을 갖는 CDR2 및 서열번호 27의 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하며, 상기 경쇄 가변 영역은 서열번호 28의 아미노산 서열을 갖는 CDR1, 서열번호 29의 아미노산 서열을 갖는 CDR2 및 서열번호 30의 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하거나; 또는
- f) 상기 중쇄 가변 영역은 서열번호 90의 아미노산 서열을 갖는 CDR1, 서열번호 34의 아미노산 서열을 갖는 CDR2 및 서열번호 91의 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하며, 상기 경쇄 가변 영역은 서열번호 92의 아미노산 서열을 갖는 CDR1, 서열번호 93의 아미노산 서열을 갖는 CDR2 및 서열번호 38의 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하거나; 또는
- g) 상기 중쇄 가변 영역은 서열번호 33의 아미노산 서열을 갖는 CDR1, 서열번호 34의 아미노산 서열을 갖는 CDR2 및 서열번호 35의 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하며, 상기 경쇄 가변 영역은 서열번호 36의 아미노산 서열을 갖는 CDR1, 서열번호 37의 아미노산 서열을 갖는 CDR2 및 서열번호 38의 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하거나; 또는
- h) 상기 중쇄 가변 영역은 서열번호 41의 아미노산 서열을 갖는 CDR1, 서열번호 42의 아미노산 서열을 갖는 CDR2 및 서열번호 43의 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하며, 상기 경쇄 가변 영역은 서열번호 44의 아미노산 서열을 갖는 CDR1, 서열번호 45의 아미노산 서열을 갖는 CDR2 및 서열번호 46의 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하거나; 또는
- i) 상기 중쇄 가변 영역은 서열번호 49의 아미노산 서열을 갖는 CDR1, 서열번호 50의 아미노산 서열을 갖는 CDR2 및 서열번호 51의 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하며, 상기 경쇄 가변 영역은 서열번호 52의 아미노산 서열을 갖는 CDR1, 서열번호 53의 아미노산 서열을 갖는 CDR2 및 서열번호 54의 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하거나; 또는
- j) 상기 중쇄 가변 영역은 서열번호 57의 아미노산 서열을 갖는 CDR1, 서열번호 58의 아미노산 서열을 갖는 CDR2 및 서열번호 59의 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하며, 상기 경쇄 가변 영역은 서열번호 60의 아미노산 서열을 갖는 CDR1, 서열번호 61의 아미노산 서열을 갖는 CDR2 및 서열번호 62의 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하는 것인 단클론성 항체.

청구항 17

제16항에 있어서,

- a) 상기 중쇄 가변 영역은 서열번호 7의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 경쇄 가변 영역은 서열번호 8의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는
- b) 상기 중쇄 가변 영역은 서열번호 15의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 경쇄 가변 영역은 서열번호 16의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는
- c) 상기 중쇄 가변 영역은 서열번호 71의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 경쇄 가변 영역은 서열번호 73의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는
- d) 상기 중쇄 가변 영역은 서열번호 72의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 경쇄 가변 영역은 서열번호 74의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는
- e) 상기 중쇄 가변 영역은 서열번호 23의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 경쇄 가변 영역은 서열번호 24의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는
- f) 상기 중쇄 가변 영역은 서열번호 75의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 경쇄 가변 영역은 서열번호 77의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는
- g) 상기 중쇄 가변 영역은 서열번호 76의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 경쇄 가변 영역은 서열번호 78의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는
- h) 상기 중쇄 가변 영역은 서열번호 31의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 경쇄 가변 영역은 서열번호 32의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는
- i) 상기 중쇄 가변 영역은 서열번호 79의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 경쇄 가변 영역은 서열번호 81의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는
- j) 상기 중쇄 가변 영역은 서열번호 80의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 경쇄 가변 영역은 서열번호 82의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는
- k) 상기 중쇄 가변 영역은 서열번호 39의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 경쇄 가변 영역은 서열번호 40의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는
- l) 상기 중쇄 가변 영역은 서열번호 67의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 경쇄 가변 영역은 서열번호 69의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는
- m) 상기 중쇄 가변 영역은 서열번호 68의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 경쇄 가변 영역은 서열번호 70의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는
- n) 상기 중쇄 가변 영역은 서열번호 47의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 경쇄 가변 영역은 서열번호 48의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는
- o) 상기 중쇄 가변 영역은 서열번호 55의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 경쇄 가변 영역은 서열번호 56의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는
- p) 상기 중쇄 가변 영역은 서열번호 63의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 경쇄 가변 영역은 서열번호 65의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는
- q) 상기 중쇄 가변 영역은 서열번호 64의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 경쇄 가변 영역은 서열번호 66의 아미노산 서열을 포함하는 것인 단클론성 항체.

청구항 18

제1항 내지 제17항 중 어느 한 항의 항체를 포함하는 약제학적 조성물.

청구항 19

제1항 내지 제17항 중 어느 한 항의 항체의 중쇄 또는 경쇄를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드 서열을 포함하는 핵산분자.

청구항 20

제19항에 있어서, 상기 핵산분자는 상기 중쇄를 암호화하는 제1 폴리뉴클레오타이드 서열 및 상기 경쇄를 암호

화하는 제2 폴리뉴클레오타이드 서열을 포함하는 것인 핵산분자.

청구항 21

제19항 또는 제20항에 있어서, 상기 핵산 분자는 벡터인 것인 핵산 분자.

청구항 22

제19항 내지 제21항 중 어느 한 항의 상기 핵산 분자를 포함하는 숙주세포.

청구항 23

제22항에 있어서, 상기 숙주 세포는 중쇄를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드 서열을 포함하는 제1 핵산 분자 및 경쇄를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드 서열을 포함하는 제2 핵산분자를 포함하는 것인 숙주 세포.

청구항 24

제22항에 있어서, 상기 핵산 분자는 상기 중쇄를 암호화하는 제1 폴리뉴클레오타이드 서열 및 상기 경쇄를 암호화하는 제2 폴리뉴클레오타이드 서열을 포함하는 것인 숙주 세포.

청구항 25

상기 항체를 발현시키기에 충분한 조건 하에 제23항 또는 제24항의 상기 숙주 세포를 인큐베이션시키는 단계를 포함하는, 제1항 내지 제17항 중 어느 한 항의 항체를 생성하는 방법.

청구항 26

제18항의 상기 약제학적 조성물의 유효량을 투여하는 단계를 포함하는, 환자에서 내부피질 뼈 형성을 자극시키는 방법.

청구항 27

제18항의 상기 약제학적 조성물의 유효량을 투여하는 단계를 포함하는, 환자에서 뼈 손실을 특징으로 하는 질병 또는 장애의 치료, 관리 또는 예방하는 방법.

청구항 28

제27항에 있어서, 상기 질병 또는 장애는 골다공증인 것인 방법.

청구항 29

제18항의 상기 약제학적 조성물을 포함하는 단위 투약 형태.

명세서

기술분야

[0001] 본 출원은 2010년 11월 24일 출원된 미국가특허 출원 제61/416,927호의 우선권을 주장하며, 이 기초출원은 본 명세서에 임의의 목적을 위하여 전문이 참조로서 포함된다.

[0002] 본 발명의 기술분야

[0003] 본 발명은 노텀 펙틴아세틸에스터라제(Notum Pectinacetylesterase)의 항체 억제제, 그것을 포함하는 조성물 및 그것의 사용방법에 관한 것이다.

배경기술

[0004] 뼈 건강은 뼈 형성 골아세포 및 뼈 흡수 과골세포의 공동 작용 활동에 의존한다. "골 전환(Bone turnover)은 이들 동화 작용과 이화 세포 작용 사이의 균형에 영향을 미치며, 성숙 골격이 손상되었을 때 그 자체를 보수할 수 있고, 칼슘 및 인과 같은 무기염의 순환으로 방출에 의해 그것의 내분비 기능을 지탱할 수 있다는 것을 보장한다" 문헌[Allen, J.G. et al., *J. Med. Chem.*, 53 (June 10, 2010), pp. 4332-4353, 4332]. 다수의 질병 상태는 증가되거나 또는 감소된 뼈 질량 또는 뼈 품질의 변화에서 초래되는 이 균형을 변경한다. 뼈 무기염 밀도의

점진적 손실은 골감소증으로서 알려져 있으며; 중증의 뼈 손실은 골다공증으로서 알려져 있다. 상기와 동일한 문헌 참조.

[0005] 골다공증의 치료 및 예방을 위한 치료의 현재 표준은 경구, 소분자 골흡수 억제제의 비스포스포네이트를 이용한다. 상기와 동일한 문헌 4333에서, 콜레드론산, 랄록시펜, 칼슘 및 비타민 D 보충물은 또한 골다공증 치료에서 전형적으로 사용된다. 상기 문헌과 동일. 골흡수 억제제가 뼈 손실을 방지할 수 있지만, 동화 작용제(agent)는 "더 큰 정도로 뼈 질량을 증가시킬 수 있고, 또한 뼈 품질을 개선시키는 능력을 가지며, 뼈 강도를 증가시킨다." 문헌[Guo, H., et al., *J. Med. Chem.*, 53 (February 25, 2010), pp. 1819-1829, 1819]. 미국에서, 인간 PTH는 유일한 FDA-승인된 동화작용제이다. 상기와 동일한 문헌; Allen의 4333을 참조한다. "골다공증 치료를 위하여 이용가능한 동화작용제의 결핍 때문에, 비독성이며, 비용-효과적이고 투여가 용이한 질병을 치료하기 위한 소분자 화합물을 개발하는 것에 긴급한 필요가 있다. 상기와 동일한 문헌 Guo의 1819 참조.

[0006] "골흡수억제 치료와 비교하여 뼈 형성을 자극하는 약리학적 작용제의 개발은 덜 진전되었지만, 골아세포 작용을 가능하게 하는 것으로 알려진 몇몇 경로가 있다" Allen의 4338을 참조. 이들 경로는 뼈 형태형성 단백질, 형질 전환성장인자 β , 부갑상선 호르몬, 인슐린-유사 성장 인자, 섬유아세포 증식인자 및 날개가 없는 유형(wingless-type)의 MMTV 통합 부위(WNT) 신호처리를 포함한다. 상기와 동일한 문헌에서, Guo 및 공동연구자는 최근에 이들 경로 중 첫 번째에 관한 결과를 보고하였다. Guo, 상기 참조. 특히, 그들은 특정 치환된 벤조티오펜 및 벤조푸란 화합물이 마우스 및 래트에서 뼈 형태형성 단백질 2 발현을 향상시킨다는 것을 보고하였다. 전하는 바에 의하면 2가지의 화합물은 생체내 뼈 형성 및 소주(trabecular) 연결성 복원을 자극한다. 상기와 동일한 문헌의 1819 참조.

[0007] 다른 이들 경로는 WNT 경로인데, 이는 다양한 발달 및 재생 과정에 연루된다. Allen에서 4340. 그러나 경로는 복합적이며, 그것에 대해서와 그것의 성분이 뼈에 영향을 미치는 것에 대해서는 불명확하게 남아있다. 예를 들어, LRP-5(이것의 돌연변이는 인간에서 증가된 뼈 질량과 관련됨) 및 β -카테닌(이것의 정규 WNT 신호처리가 발생하는 것을 통해)은 "뼈 질량의 제어에 대해 WNT 신호처리를 통해 직접 연결되지 않을 수 있다"는 것이 시사되었다. 상기와 동일한 문헌 참조.

[0008] 유전자 발현 데이터의 최근의 분석은 WNT 신호처리의 새로운 표적의 확인을 유발하였다. 예를 들어, 문헌 [Torisu, Y., et al., *Cancer Sci.*, 99(6):1139-1146, 1143 (2008)]을 참조한다. 하나의 이러한 표적은 노텀 펙틴아세틸에스터라제이며, 또한 NOTUM 및 LOC174111로서 공지되어 있다.

발명의 내용

[0009] 일부 실시형태에서, 인간 노텀 펙틴아세틸에스터라제(NOTUM)에 결합하고, NOTUM 중 적어도 하나의 활성을 중화시키는 단클론성 항체가 제공된다. 일부 실시형태에서, 항체는 마우스 NOTUM, 기니아 피그 NOTUM, 사이노몰구스 원숭이(cynomolgus monkey) NOTUM 및 붉은털원숭이 NOTUM으로부터 선택된 NOTUM에 결합된다. 일부 실시형태에서, 항체는 시험관내 트라이소듐 8-옥타노일옥시파이レン-1,3,6-트라이설포네이트(OPTS) 분석에서 NOTUM 활성을 감소시키고, 시험관내 Wnt 신호처리 분석에서 NOTUM 활성을 감소시키는 것으로부터 선택된 적어도 하나의 활성을 가진다. 일부 실시형태에서, 항체는 생체내 혈청 PINP 수준을 증가시키고, 생체내 뼈 무기염 밀도를 증가시키며, 생체내 골간 대퇴골 피질 두께를 증가시키고, 생체내 골간 대퇴골 뼈 면적을 증가시키며, 생체내 골간 상완골 피질 두께를 증가시키고, 생체내 내부피질(endocortical) 뼈 형성을 증가시키며, 생체내 LV5 척추체에서 피질 뼈 용적의 비율을 증가시키고, 생체내 대퇴경부 전체 용적에 대한 대퇴경부 뼈 용적의 비율을 증가시키는 것으로부터 선택된 적어도 하나의 활성을 가진다. 일부 실시형태에서, NOTUM에 결합하는 항체는 50 nM 미만, 20 nM 미만 또는 10 nM 미만의 K_d 를 갖는 서열번호 1의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩타이드에 결합된다.

[0010] 일부 실시형태에서, 항체는 하기로부터 선택된 적어도 하나의 결합 특징을 가진다: a) 서열번호 84의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩타이드에 대한 항체의 결합 친화도보다 적어도 5-배 더 강한 결합 친화도로 서열번호 83의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩타이드에 결합함; b) 서열번호 86의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩타이드에 대한 항체의 결합 친화도보다 적어도 5-배 더 강한 결합 친화도로 서열번호 85의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩타이드에 결합함; c) 서열번호 94의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩타이드에 대한 항체의 결합 친화도보다 적어도 5-배 더 강한 결합 친화도로 서열번호 1의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩타이드에 결합함; d) 서열번호 99의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩타이드에 대한 항체의 결합 친화도보다 적어도 5-배 더 강한 결합 친화도로 서열번호 1의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩타이드에 결합함; e) 서열번호 2의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩타이드에 대한 항체의

결합 친화도보다 적어도 5-배 더 강한 결합 친화도로 서열번호 95의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩타이드에 결합함; f) 서열번호 7의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역 및 서열번호 8의 아미노산 서열을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체와 NOTUM에 대한 결합을 위해 경쟁함; g) 서열번호 15의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역 및 서열번호 16의 아미노산 서열을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체와 NOTUM에 대한 결합을 위해 경쟁함; h) 서열번호 23의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역 및 서열번호 24의 아미노산 서열을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체와 NOTUM에 대한 결합을 위해 경쟁함; i) 서열번호 31의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역 및 서열번호 32의 아미노산 서열을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체와 NOTUM에 대한 결합을 위해 경쟁함; j) 서열번호 39의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역 및 서열번호 40의 아미노산 서열을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체와 NOTUM에 대한 결합을 위해 경쟁함; k) 서열번호 47의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역 및 서열번호 48의 아미노산 서열을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체와 NOTUM에 대한 결합을 위해 경쟁함; 및 l) 서열번호 55의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역 및 서열번호 56의 아미노산 서열을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체와 NOTUM에 대한 결합을 위해 경쟁함.

[0011] 일부 실시형태에서, 항체는 마우스 항체, 키메라 항체, 인간화된 항체 및 인간 항체로부터 선택된다.

[0012] 일부 실시형태에서, NOTUM에 결합되는 항체는 중쇄 및 경쇄를 포함하되, 해당 중쇄는 하기로부터 선택되는 적어도 하나의 CDR을 포함한다: a) 서열번호 9, 17, 25, 33, 41, 49 및 90으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; b) 서열번호 10, 18, 26, 34, 42 및 50으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 c) 서열번호 11, 19, 27, 35, 43, 51 및 91로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 CDR3. 일부 실시형태에서, 중쇄는 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함하는 세트를 포함하되, 해당 세트는 하기로부터 선택된다: a) 서열번호 9의 아미노산 서열을 갖는 CDR1, 서열번호 10의 아미노산 서열을 갖는 CDR2 및 서열번호 11의 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하는 세트; b) 서열번호 90의 아미노산 서열을 갖는 CDR1, 서열번호 18의 아미노산 서열을 갖는 CDR2 및 서열번호 91의 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하는 세트; c) 서열번호 17의 아미노산 서열을 갖는 CDR1, 서열번호 18의 아미노산 서열을 갖는 CDR2 및 서열번호 19의 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하는 세트; d) 서열번호 90의 아미노산 서열을 갖는 CDR1, 서열번호 26의 아미노산 서열을 갖는 CDR2 및 서열번호 27의 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하는 세트; e) 서열번호 25의 아미노산 서열을 갖는 CDR1, 서열번호 26의 아미노산 서열을 갖는 CDR2 및 서열번호 27의 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하는 세트; f) 서열번호 90의 아미노산 서열을 갖는 CDR1, 서열번호 34의 아미노산 서열을 갖는 CDR2 및 서열번호 91의 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하는 세트; g) 서열번호 33의 아미노산 서열을 갖는 CDR1, 서열번호 34의 아미노산 서열을 갖는 CDR2 및 서열번호 35의 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하는 세트; h) 서열번호 41의 아미노산 서열을 갖는 CDR1, 서열번호 42의 아미노산 서열을 갖는 CDR2 및 서열번호 43의 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하는 세트; i) 서열번호 49의 아미노산 서열을 갖는 CDR1, 서열번호 50의 아미노산 서열을 갖는 CDR2 및 서열번호 51의 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하는 세트; 및 j) 서열번호 57의 아미노산 서열을 갖는 CDR1, 서열번호 58의 아미노산 서열을 갖는 CDR2 및 서열번호 59의 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하는 세트. 일부 실시형태에서, 중쇄는 서열번호 7, 15, 23, 31, 39, 47, 63, 67, 71, 75 및 79로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함한다.

[0013] 일부 실시형태에서, NOTUM에 결합되는 항체는 중쇄 및 경쇄를 포함하되, 경쇄는 하기로부터 선택되는 적어도 하나의 CDR을 포함한다: a) 서열번호 12, 20, 28, 36, 44, 52 및 92로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; b) 서열번호 13, 21, 29, 37, 45, 53, 61 및 93로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 c) 서열번호 14, 22, 30, 38, 46, 54 및 62로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 CDR3. 일부 실시형태에서, 경쇄는 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함하는 세트를 포함하되, 해당 세트는 하기로부터 선택된다: a) 서열번호 12의 아미노산 서열을 갖는 CDR1, 서열번호 13의 아미노산 서열을 갖는 CDR2 및 서열번호 14의 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하는 세트; b) 서열번호 92의 아미노산 서열을 갖는 CDR1, 서열번호 93의 아미노산 서열을 갖는 CDR2 및 서열번호 22의 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하는 세트; c) 서열번호 20의 아미노산 서열을 갖는 CDR1, 서열번호 21의 아미노산 서열을 갖는 CDR2 및 서열번호 22의 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하는 세트; d) 서열번호 92의 아미노산 서열을 갖는 CDR1, 서열번호 93의 아미노산 서열을 갖는 CDR2 및 서열번호 30의 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하는 세트; e) 서열번호 28의 아미노산 서열을 갖는 CDR1, 서열번호 29의 아미노산 서열을 갖는 CDR2 및 서열번호 30의 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하는 세트; f) 서열번호 92의 아미노산 서열을 갖는 CDR1, 서열번호 93의 아미노산 서열을 갖는 CDR2 및 서열번호 38의 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하는 세트; g) 서열번호 36의 아미노산 서열을 갖는 CDR1, 서열번호 37의 아미노산 서열을 갖는 CDR2 및 서열번호 38의 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하는 세트; h) 서열번호 44의 아미노산 서열을 갖는 CDR1, 서열번호 45의 아미노산 서열을 갖는 CDR2 및 서열번호 46의 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하는 세트.

세트; i) 서열번호 52의 아미노산 서열을 갖는 CDR1, 서열번호 53의 아미노산 서열을 갖는 CDR2 및 서열번호 54의 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하는 세트; 및 j) 서열번호 60의 아미노산 서열을 갖는 CDR1, 서열번호 61의 아미노산 서열을 갖는 CDR2 및 서열번호 62의 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하는 세트. 일부 실시형태에서, 경쇄는 서열번호 8, 16, 24, 32, 40, 48, 56, 65, 69, 73, 77 및 81로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다.

일부 실시형태에서, NOTUM에 결합되는 항체는 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하되, a) 중쇄 가변 영역은 서열번호 7의 아미노산 서열을 포함하고, 경쇄 가변 영역은 서열번호 8의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 b) 중쇄 가변 영역은 서열번호 15의 아미노산 서열을 포함하고, 경쇄 가변 영역은 서열번호 16의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 c) 중쇄 가변 영역은 서열번호 71의 아미노산 서열을 포함하고, 경쇄 가변 영역은 서열번호 73의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 d) 중쇄 가변 영역은 서열번호 72의 아미노산 서열을 포함하고, 경쇄 가변 영역은 서열번호 74의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 e) 중쇄 가변 영역은 서열번호 23의 아미노산 서열을 포함하고, 경쇄 가변 영역은 서열번호 24의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 f) 중쇄 가변 영역은 서열번호 75의 아미노산 서열을 포함하고, 경쇄 가변 영역은 서열번호 77의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 g) 중쇄 가변 영역은 서열번호 76의 아미노산 서열을 포함하고, 경쇄 가변 영역은 서열번호 78의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 h) 중쇄 가변 영역은 서열번호 31의 아미노산 서열을 포함하고, 경쇄 가변 영역은 서열번호 32의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 i) 중쇄 가변 영역은 서열번호 79의 아미노산 서열을 포함하고, 경쇄 가변 영역은 서열번호 81의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 j) 중쇄 가변 영역은 서열번호 80의 아미노산 서열을 포함하고, 경쇄 가변 영역은 서열번호 82의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 k) 중쇄 가변 영역은 서

열번호 39의 아미노산 서열을 포함하고, 경쇄 가변 영역은 서열번호 40의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 1) 중쇄 가변 영역은 서열번호 67의 아미노산 서열을 포함하고, 경쇄 가변 영역은 서열번호 69의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 m) 중쇄 가변 영역은 서열번호 68의 아미노산 서열을 포함하고, 경쇄 가변 영역은 서열번호 70의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 n) 중쇄 가변 영역은 서열번호 47의 아미노산 서열을 포함하고, 경쇄 가변 영역은 서열번호 48의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 o) 중쇄 가변 영역은 서열번호 55의 아미노산 서열을 포함하고, 경쇄 가변 영역은 서열번호 56의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 p) 중쇄 가변 영역은 서열번호 63의 아미노산 서열을 포함하고, 경쇄 가변 영역은 서열번호 65의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 q) 중쇄 가변 영역은 서열번호 64의 아미노산 서열을 포함하고, 경쇄 가변 영역은 서열번호 66의 아미노산 서열을 포함한다.

[0016] 일부 실시형태에서, NOTUM에 결합되고, NOTUM 중 적어도 하나의 활성을 중화시키는 항체의 중쇄 또는 경쇄를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드 서열을 포함하는 핵산 분자가 제공된다. 일부 실시형태에서, 핵산 분자는 중쇄를 암호화하는 제1 폴리뉴클레오타이드 서열, 및 경쇄를 암호화하는 제2 폴리뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 핵산 분자는 벡터이다. 일부 실시형태에서, NOTUM에 결합되고 NOTUM의 적어도 하나의 활성을 중화시키는 항체의 중쇄 또는 경쇄를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드 서열을 포함하는 핵산 분자를 포함하는 숙주 세포가 제공된다. 일부 실시형태에서, 중쇄를 암호화하는 제1 폴리뉴클레오타이드 서열 및 경쇄를 암호화하는 제2 폴리뉴클레오타이드 서열을 포함하는 핵산 분자를 포함하는 숙주 세포가 제공된다. 일부 실시형태에서, 숙주 세포는 중쇄를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 제1 핵산 분자 및 경쇄를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드 서열을 포함하는 제2 핵산 분자를 포함한다. 일부 실시형태에서, 항체를 발현시키기에 충분한 조건 하에서 숙주 세포를 인큐베이션하는 단계를 포함하는, NOTUM에 결합되고, NOTUM의 적어도 하나의 활성을 중화시키는 항체의 생성방법이 제공된다.

[0017] 일부 실시형태에서, NOTUM에 결합되고, NOTUM의 적어도 하나의 활성을 중화시키는 항체를 포함하는 약제학적 조성물이 제공된다. 일부 실시형태에서, 약제학적 조성물의 유효량을 투여하는 단계를 포함하는, 환자에서 내부피질 뼈 형성을 자극하기 위한 방법이 제공된다. 일부 실시형태에서, 약제학적 조성물의 유효량을 투여하는 단계를 포함하는, 환자에서 뼈 손실을 특징으로 하는 질병 또는 장애를 치료하고, 관리하거나 또는 예방하는 방법이 제공된다. 일부 실시형태에서, 질병 또는 장애는 골다공증이다. 일부 실시형태에서, 약제학적 조성물을 포함하는 단위 투약형태가 제공된다.

도면의 간단한 설명

[0018] 도 1은 NOTUM 동형 접합적 녹아웃 마우스(NOTUM homozygous knockout mice, "HOM")에서 다양한 뼈 부위의 피질 두께와 그것의 야생형 한배새끼("WT")에서 다양한 뼈 부위의 피질 두께 간의 차이의 그래프 표현을 제공하는 도면;

도 2는 NOTUM 동형 접합적 녹아웃 마우스와 이형 접합적(heterozygous, "HET") 녹아웃 마우스 둘 다에서 그것의 야생형 한배새끼와 비교하여 관찰된 피질 뼈 두께 증가의 그래프 표현을 제공하는 도면;

도 3은 수컷 NOTUM 동형 접합적 녹아웃 마우스와 이형 접합적 녹아웃 마우스 및 그것의 야생형 한배새끼의 뼈 상에서 수행된 대퇴골 파괴 강도 및 척추 압박 시험으로부터 얻은 결과의 그래프 표현을 제공하는 도면;

도 4는 암컷 NOTUM 동형 접합적 녹아웃 마우스와 이형 접합적 녹아웃 마우스 및 그것의 야생형 한배새끼의 뼈 상에서 수행된 대퇴골 파괴 강도 및 척추 압박 시험으로부터 얻은 결과의 그래프 표현을 제공하는 도면;

도 5는 특정 인간/마우스 키메라 단백질의 그래프 표현을 제공하는 도면으로, 이는 실시예 6.7에 기재되는 바와 같이, Bin 1의 NOTUM 중화 항체의 결합에 수반되는 것으로 나타난 영역을 표시함;

도 6은 실시예 6.9.1에 기재되는 바와 같이 MAb 2.1029 또는 MAb 2.78의 투여 8주 후 마우스에서 얻은 골간 대퇴골 피질 두께 측정의 그래프 표현을 제공하는 도면;

도 7은 실시예 6.9.2에 기재되는 바와 같이 MAb 2.1029의 다양한 투약량의 투여 4주 후, 마우스에서 얻은 골간 대퇴골 피질 두께 측정의 그래프 표현을 제공하는 도면;

도 8은 실시예 6.9.3에 기재되는 바와 같이 MAb 2.78b의 다양한 투약량의 투여 4주 후, 마우스에서 얻은 골간 대퇴골 피질 두께 측정의 그래프 표현을 제공하는 도면으로, 도 8A는 MAb 2.78b의 3mg/kg, 10mg/kg 및 30mg/kg 투약량을 나타내고, 도 8B는 MAb 2.78b의 0.3mg/kg, 1mg/kg 및 3mg/kg 투약량을 나타냄;

도 9는 실시예 6.9.4에 기재되는 바와 같이, 콜레드로네이트의 사전처리와 함께 및 사전처리 없이 MAb 2.78b의 투여 4주 후 마우스에서 얻은 골간 대퇴골 피질 두께 측정(A) 및 혈청 PINP 수준 (B)의 그래프 표현을 제공하는 도면;

도 10은 실시예 6.9.5에 기재되는 바와 같이, MAb 2.78a의 투여 4주 후 마우스에서 얻은 골간 대퇴골 피질 두께 측정의 그래프 표현을 제공하는 도면;

도 11은 실시예 6.9.6에 기재되는 바와 같이, MAb 2.78a의 투여 12주 후 마우스에서 얻은 골간 대퇴골 피질 두께 측정 (A) 및 골간 상완골 피질 두께 측정 (B)의 그래프 표현을 제공하는 도면;

도 12는 실시예 6.9.6에 기재되는 바와 같이, MAb 2.78a의 투여 24주 후 마우스에서 얻은 골간 대퇴골 피질 두께 측정 (a), 골간 상완골 피질 두께 측정 (b) 및 9번째 갈비뼈 피질 두께 (c)의 그래프 표현을 제공하는 도면;

도 13은 실시예 6.10.3에 기재되는 바와 같이, 항체 2.78b 또는 대조군 항체를 중화시키는 NOTUM가 투여된 가짜 수술에서 및 난소절제된 마우스에서 골간 대퇴골 피질 두께 (A) 및 골간 대퇴골 석화된 뼈 면적 (B)의 그래프 표현을 제공하는 도면;

도 14는 실시예 6.10.3에 기재되는 바와 같이, 항체 2.78b 또는 대조군 항체를 중화시키는 NOTUM가 투여된 가짜 수술에서 및 난소절제된 마우스에서 전체 용적에 대한 뼈 용적의 LV5 척추체의 비율 (A), 전체 용적에 대한 피질 뼈 용적의 LV5 척추체의 비율 (B), 전체 용적에 대한 소주 뼈 용적의 LV5 척추체의 비율 (C)의 그래프 표현을 제공하는 도면;

도 15는 실시예 6.10.3에 기재되는 바와 같이, 항체 2.78b 또는 대조군 항체를 중화시키는 NOTUM가 투여된 가짜 수술에서 및 난소절제된 마우스에서 전체 용적에 대한 대퇴경부 뼈 용적 비율의 그래프 표현을 제공하는 도면;

도 16는 실시예 6.10.4에 기재되는 바와 같이, 항체 2.78b 또는 대조군 항체를 중화시키는 NOTUM가 투여된 가짜 수술에서 및 난소절제된 마우스에서 칼세인, 알리자린 및 테트라사이클린으로 표지한 골간 대퇴골 횡단면의 내부피질 표면의 백분율의 그래프 표현을 제공하는 도면;

도 17은 실시예 6.10.4에 기재되는 바와 같이, 항체 2.78b 또는 대조군 항체를 중화시키는 NOTUM가 투여된 가짜 수술에서 및 난소절제된 마우스에서 무기염 부가율 (A) 및 용적-관련 뼈 형성률(B)의 그래프 표현을 제공하는 도면.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0019]

본 발명은 NOTUM의 억제가 내부피질 뼈 형성에 영향을 미칠 수 있다는 발견에 부분적으로 기반한다. 본 발명의 특정 양태는 NOTUM을 억제하는 항체의 발생에서 기능적 NOTUM 유전자("녹아웃 마우스")가 결여된 마우스의 연구에 기반하며, 이러한 항체가 마우스 및 래트에서 피질 뼈 형성을 자극하기 위하여 사용될 수 있다는 발견에 기반한다.

[0020]

본 명세서에 사용된 표제 부분은 단지 조직적 목적을 위한 것이며, 기재된 대상을 제한하는 것으로 해석되어서는 안 된다. 특히, 특허출원, 기사, 교재 및 논문을 포함하는 본 출원에 인용된 모든 문헌 또는 문헌의 부분은 임의의 목적을 위해 본 명세서에 그것의 전문이 참조로서 명확하게 포함된다. 포함된 문헌 및 유사한 자료 중 하나 이상이 본 출원의 용어 정의와 모순되는 경우에는, 본 출원에 따른다.

[0021]

5.1. 정의

[0022]

본 명세서에서 사용되는 용어 "항체"는 무결합 항체 또는 항원 결합을 위한 무결합 항체와 경쟁하는 항체의 단편을 지칭한다. 항체 단편은, 이에 제한되는 것은 아니지만, Fab, Fab', F(ab')₂, Fv, scFv, Fd, 다이아바디 및 무결합 항체의 가변 영역의 적어도 일부를 보유하는 다른 항체 단편을 포함한다. 예를 들어, 문헌[Hudson et al. (2003) *Nat. Med.* 9:129-134]을 참조한다. 일부 실시형태에서, 항체 단편은 무결합 항체의 효소 또는 화학적 절단에 의해 생성된다. 일부 실시형태에서, 항체 단편은 재조합 DNA 기법에 의해 생성된다.

[0023]

용어 "항원-결합 부위"는 특이적으로 항원과 결합할 수 있는 항체의 부분을 지칭한다. 일부 실시형태에서, 항원 결합 부위는 하나 이상의 항체 가변 영역에 의해 제공된다.

[0024]

용어 "결합 친화도"는 항체가 항원과 결합하는 강도의 정성적 또는 정량적 결정을 지칭한다. 일부 실시형태에서, 결합 친화도는 항원에 대한 항체의 해리 상수(K_D)이다. 일부 실시형태에서, 항원에 대한 항체의

결합 친화도는 예컨대 항원에 대한 상이한 항체의 결합 친화도에 대해, 또는 상이한 항원에 대해 동일한 항체의 결합 친화도에 대해(예컨대 그것의 아미노산 서열에서 하나 이상의 변화를 갖는 항원) 정성적으로 결정된다. 제1 항원에 대한 항체의 결합 친화도는, 예를 들어 제1 항원에 대한 항체의 K_D 가 제2 항원에 대한 항체의 K_D 보다 더 낮을 때, 제2 항원에 대한 그것의 친화도보다 "더 강한" 것으로 고려된다. 일부 실시형태에서, 제1항원에 대한 항체의 K_D 가 제2 항원에 대한 항체의 K_D 보다 적어도 1.5-배, 적어도 2-배, 적어도 3-배, 적어도 5-배 또는 적어도 10-배일 때, 제1 항원에 대한 항체의 결합 친화도는 "더 강한" 것으로 고려된다. 반대로, 예를 들어 제1 항원에 대한 항체의 K_D 가 제2 항원에 대한 항체의 K_D 보다 더 클 때, 제1 항원에 대한 항체의 결합 친화도는 제2 항원에 대한 그것의 친화도보다 "더 약한" 것으로 고려된다. 일부 실시형태에서, 제1 항원에 대한 항체의 K_D 가 제2 항원에 대한 항체의 K_D 보다 적어도 1.5-배, 적어도 2-배, 적어도 3-배, 적어도 5-배 또는 적어도 10-배일 때, 제1 항원에 대한 항체의 결합 친화도는 "더 약한" 것으로 고려된다.

[0025] "키메라" 항체는 적어도 2개의 상이한 공급원으로부터 성분으로 만들어진 항체를 지칭한다. 일부 실시형태에서, 키메라 항체는 다른 분자, 예를 들어 제2 종으로부터 유래된 항체의 일부에 융합된 제1 종으로부터 유래된 항체의 일부를 포함한다. 일부 이러한 실시형태에서, 키메라 항체는 인간으로부터 유래된 항체의 일부에 융합된 비-인간 동물로부터 유래된 항체의 일부를 포함한다. 일부 이러한 실시형태에서, 키메라 항체는 인간으로부터 유래된 항체의 불변 영역에 융합된 비-인간 동물로부터 유래된 항체의 가변 영역의 모두 또는 일부를 포함한다.

[0026] 용어 "에피토프"는 면역글로불린 또는 T-세포 수용체에 특이적으로 결합할 수 있는 임의의 폴리펩타이드 결정소를 지칭한다. 일부 실시형태에서, 에피토프는 항체에 의해 특이적으로 결합되는 항원의 영역이다. 일부 실시형태에서, 에피토프는 아미노산, 당 측쇄, 포스포릴 또는 설포닐 기와 같은 분자의 화학적으로 활성인 표면 기를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 에피토프는 특이적 3차원 구조 특징(예를 들어, "입체구조적" 에피토프) 및/또는 특이적 전하 특징을 가질 수 있다.

[0027] 에피토프는 특정 항체가 양 에피토프에 특이적으로 결합한다면, 다른 에피토프와 "동일한" 것으로 정의된다. 일부 실시형태에서, 상이한 1차 아미노산 서열을 갖는 폴리펩타이드는 동일한 에피토프를 포함할 수 있다. 상이한 항체는 그것들이 에피토프와 특이적 결합을 위해 경쟁한다면 동일한 에피토프에 결합하는 것으로 언급된다.

[0028] 기준 폴리펩타이드의 "단편"은 기준 폴리펩타이드의 임의의 부분으로부터 아미노산의 연속적 신장을 지칭한다. 단편은 기준 폴리펩타이드의 길이 미만인 임의의 길이일 수 있다. 일부 실시형태에서, 단편은 특정 활성을 가지거나 또는 특정 에피토프를 함유하는 기준 폴리펩타이드의 임의의 부분으로부터 아미노산의 연속적 신장이다.

[0029] 용어 "인간 항체"는 인간 항체 서열을 함유하고, 비-인간 동물로부터 항체 서열을 함유하지 않는 단클론성 항체를 지칭한다. 일부 실시형태에서, 인간 항체는 천연 항체에서 발견되지 않는 합성 서열을 함유할 수 있다. 해당 용어는 항체가 만들어진 방식에 의해 제한되지 않는다. 예를 들어, 다양한 실시형태에서, 인간 항체는 유전자이식 마우스에서, 과지 디스플레이에 의해, 인간 B-림프구에 의해 또는 재조합 방법에 의해 만들어질 수 있다.

[0030] "인간화된" 항체는 변형되어서 그것이 인간항체에 더 가깝게 매치되는(아미노산 서열에서) 비-인간 항체를 지칭한다. 따라서 인간화된 항체는 키메라 항체의 유형이다. 일부 실시형태에서, 비-인간 항체의 가변 영역의 항원 결합 잔기 바깥쪽의 아미노산 잔기는 변형된다. 일부 실시형태에서, 인간화된 항체는 인간 항체의 하나 이상의 상보적 결정 영역(complementarity determining region, CDR)의 모두 또는 일부를 원하는 항원 결합 특이성을 갖는 비-인간 항체와 같은 다른 항체로부터 하나 이상의 CDR의 모두 또는 일부로 대체함으로써 구성된다. 일부 실시형태에서, 인간화된 항체는 가변 영역을 포함하며, CDR의 모두 또는 실질적으로 모두는 비-인간 항체의 CDR에 대응되고, 프레임워크 영역(framework region, FR)의 모두 또는 실질적으로 모두는 인간 항체의 FR에 대응된다. 일부 실시형태에서, 비-인간 항체의 하나 이상의 CDR 내에서 하나 이상의 아미노산은, 예를 들어 친화도 성숙 과정을 통해 인간화된 항체에서 변화된다. 친화도 성숙의 대표적인 방법은 당업계에 공지되어 있다. 일부 이러한 실시형태에서, 인간화된 항체는 인간 항체의 불변 영역(Fc)을 추가로 포함한다.

[0031] 달리 표시되지 않는다면, 용어 "포함한다"는 "포함한다, 그러나 제한되지 않는다"와 동일한 의미를 가지며, 용어 "포함하는"은 "포함하지만 제한되지 않는"과 동일한 의미를 가진다. 유사하게, 용어 "예컨대"는 용어 "예컨대 제한되지 않는"과 동일한 의미를 가진다.

[0032] 달리 표시되지 않는다면, 용어 "관리하다", "관리하는" 및 "관리"는 질병 또는 장애에 이미 걸린 환자에서 구체화된 질병 또는 장애의 재발을 방지하는 것 및/또는 질병 또는 장애에 걸린 환자가 회복중인 시간을 연장시키는 것을 포함한다. 용어는 질병 또는 장애의 역치, 발생 및/또는 지속기간을 조절하거나 또는 질병 또는 장애에 환

자가 반응하는 방법을 변화시키는 것을 포함한다.

- [0033] 용어 "단클론성 항체"는 동일 에피토프에 특이적으로 결합되는 항체의 실질적으로 상동성인 집단으로부터 항체를 지칭한다. 일부 실시형태에서, 단클론성 항체는 하이브리도마에 의해 분비된다. 일부 이러한 실시형태에서, 하이브리도마는 당업자에게 공지된 일부 방법에 따라서 생성된다. 예를 들어, 문헌[Kohler and Milstein (1975) *Nature* 256: 495 499]을 참조한다. 일부 실시형태에서, 단클론성 항체는 재조합 DNA 방법을 사용하여 생성된다 (예를 들어, 미국특허 제4,816,567호를 참조한다). 일부 실시형태에서, 단클론성 항체는 과지 디스플레이 라이브리로부터 분리된 항체 단편을 지칭한다. 예를 들어, 문헌[Clackson et al. (1991) *Nature* 352: 624 628, 및 Marks et al. (1991) *J. Mol. Biol.* 222: 581 597]을 참조한다. 다양한 다른 단클론성 항체 생성 기법을 위해, 예를 들어 문헌[Harlow and Lane (1988) *Antibodies: A Laboratory Manual* (Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY)]을 참조한다.
- [0034] 용어 "중화 항체" 또는 "중화하는 항체"는 항체가 특이적으로 결합되는 에피토프를 포함하는 폴리펩타이드의 적어도 하나의 활성을 감소시키는 항체를 지칭한다. 일부 실시형태에서, 중화 항체는 시험관내 및/또는 생체내 폴리펩타이드의 활성을 감소시킨다.
- [0035] 용어 "NOTUM"은 달리 특정되지 않는다면, 인간, 소, 닭, 설치류, 마우스, 래트, 돼지, 양, 영장류, 원숭이 및 기니아 피그를 포함하는 임의의 척추동물 또는 포유류 공급원으로부터의 아미노산 서열을 갖는 노텀 펩타이드에스터라제를 지칭한다. 해당 용어는 또한 천연 NOTUM의 적어도 하나의 생체내 또는 시험관내 활성을 유지하는 천연 NOTUM의 단편 및 변이체를 지칭한다. 해당 용어는 NOTUM의 전장 미처리 전구체 형태뿐만 아니라 신호 펩타이드의 번역 후 절단으로부터 초래되는 성숙 형태 및 단백질 분해 처리의 다른 형태를 포함한다. 일부 실시형태에서, 전장, 미처리 인간 NOTUM은 서열번호 1에서 제시된 아미노산 서열을 가진다. 일부 실시형태에서, 전장, 미처리 마우스 NOTUM은 서열번호 2에서 제시된 아미노산 서열을 가진다.
- [0036] 용어 "폴리펩타이드", "펩타이드" 및 "단백질"은 아미노산 잔기의 폴리머를 지칭하기 위하여 본 명세서에서 상호호환적으로 사용된다. 해당 용어는 자연적으로 발생되는 아미노산을 함유하는 아미노산 폴리머뿐만 아니라 하나 이상의 아미노산 잔기가 대응하는 자연적으로 발생되는 아미노산의 인공 화학적 유사체인 아미노산 폴리머에 적용된다. 아미노산 폴리머는 임의의 길이를 가질 수 있다. 용어 "천연 폴리펩타이드"는 자연적으로 발생되는 폴리펩타이드를 지칭한다.
- [0037] 달리 표시되지 않는다면, 용어 "예방하다", "예방하는" 및 "예방"은 질병 또는 장애의 증증도를 억제하거나 감소시키는, 환자가 구체화된 질병 또는 장애에 걸리기 전 일어나는 작용을 생각한다. 다시 말해서, 해당 용어는 예방을 포함한다.
- [0038] 달리 표시되지 않는다면, 화합물의 "예방적 유효량"은 질병 또는 질환 또는 질병과 관련된 하나 이상의 증상을 예방하거나 또는 그것의 재발을 예방하기에 충분한 양이다. 화합물의 "예방적 유효량"은 치료제 단독으로 또는 다른 작용제와 조합된 양을 의미하는데, 이는 질병의 예방에서 예방적 이점을 제공한다. 용어 "예방적 유효량"은 전반적으로 예방을 개선시키거나 또는 다른 예방제의 예방적 효능을 향상시키는 양을 포함할 수 있다.
- [0039] 항체는 단백질 및/또는 거대분자의 복합체 혼합물에서 항원을 우선적으로 인식할 때, 항원에 "특이적으로 결합한다". 일부 실시형태에서, 항체는 특정 에피토프에 특이적으로 결합되는 항원 결합 부위를 포함한다. 일부 이러한 실시형태에서, 항체는 상이한 항원이 해당 특정 에피토프를 포함한다면, 상이한 항원에 결합할 수 있다. 일부 예에서, 예를 들어 상이한 종으로부터의 상동성 단백질은 동일한 에피토프를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 항체는 해리 상수(K_D)가 $\leq 1 \mu\text{M}$ 일 때, 일부 실시형태에서, 해리 상수가 $\leq 100 \text{nM}$ 일 때, 및 일부 실시형태에서, 해리 상수(K_D)가 $\leq 10 \text{nM}$ 일 때, 항원에 특이적으로 결합하는 것으로 언급된다.
- [0040] 용어 "피험체" 및 "환자"는 인간과 동물 둘 다를 포함한다. 일부 실시형태에서, 피험체 또는 환자는 포유류이다. 일부 이러한 실시형태에서, 피험체 또는 환자는 인간이다.
- [0041] 달리 표시되지 않는다면, 화합물의 "치료적 유효량"은 질병 또는 질환의 치료 또는 관리에서 치료적 이점을 제공하거나 또는 질병 또는 질환과 관련된 하나 이상의 증상을 최소화하기에 충분한 양이다. 화합물의 "치료적 유효량"은 치료제 단독으로 또는 다른 치료제와 조합된 양을 의미하는데, 이는 질병 또는 질환의 치료 또는 관리에서 치료적 이점을 제공한다. 용어 "치료적 유효량"은 전반적인 치료를 개선시키고, 질병 또는 질환의 증상 또는 원인을 감소시키거나 또는 회피하거나, 또는 다른 치료제의 치료적 효능을 향상시키는 양을 포함할 수 있다.

- [0042] 달리 표시되지 않는다면, 용어 "치료하다", "치료하는" 및 "치료"는 질병 또는 장애의 중증도를 감소시키거나, 또는 질병 또는 장애의 진행을 지연시키거나 또는 늦추는, 환자가 구체화된 질병 또는 장애에 걸린 동안 일어나는 작용을 생각한다.
- [0043] 5.2. 항체
- [0044] 5.2.1. 대표적인 항체 구조
- [0045] 천연 항체는 전형적으로 테트라머 구조를 가진다. 테트라머는 2개의 동일한 쌍의 폴리펩타이드 쇄를 전형적으로 포함하며, 각각의 쌍은 하나의 경쇄(일부 실시형태에서, 약 25 kDa) 및 하나의 중쇄(일부 실시형태에서, 약 50-70 kDa)를 가진다. 천연 항체에서, 중쇄는 가변 영역인 VH 및 3개의 불변 영역인 CH1, CH2 및 CH3을 포함한다. VH 도메인은 중쇄의 아미노-말단에 있고, CH3 도메인은 카복시-말단에 있다. 천연 항체에서, 경쇄는 가변 영역인 VH 및 불변 영역인 CL을 포함한다. 경쇄의 가변 영역은 경쇄의 아미노-말단에 있다. 천연 항체에서, 각 경쇄/중쇄 쌍의 가변 영역은 전형적으로 항원 결합 부위를 형성한다. 불변 영역은 전형적으로 효과기 기능을 초래한다.
- [0046] 천연 인간 경쇄는 전형적으로 카파 및 람다 경쇄로서 분류된다. 천연 인간 중쇄는 전형적으로 뮤, 델타, 갑마, 알파 또는 엡실론으로서 분류되며, 각각 IgM, IgD, IgG, IgA 및 IgE로서 항체의 아이소타입을 정한다. IgG는 IgG1, IgG2, IgG3 및 IgG4를 포함하는 하위분류를 가진다. IgM은 IgM1 및 IgM2를 포함하는 하위분류를 가진다. IgA는 IgA1 및 IgA2를 포함하는 하위분류를 가진다. 천연 인간 경쇄 및 중쇄 내에서, 가변 및 불변 영역은 전형적으로 약 12개 이상의 아미노산의 "J" 영역에 의해 결합되며, 중쇄는 또한 약 10개 이상의 아미노산의 "D" 영역을 포함한다. 예를 들어, 문헌[Fundamental Immunology (1989) Ch. 7 (Paul, W., ed., 2nd ed. Raven Press, N.Y.)]을 참조한다.
- [0047] 천연 항체에서, 가변 영역은 전형적으로 동일한 일반 구조를 나타내며, 여기서 상대적으로 보존된 프레임워크 영역(FR)은 3개의 조가변 영역에 의해 결합되며, 또한 상보적 결정 영역(CDR)으로 불린다. 각 쌍의 2개의 쇄로부터 CDR은 프레임워크 영역에 의해 정렬되는데, 이는 특이적 에피토프에 결합을 가능하게 할 수 있다. N-말단으로부터 C-말단까지, 경쇄와 중쇄 가변 영역은 둘 다 전형적으로 도메인 FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 및 FR4를 포함한다. 중쇄 상의 CDR은 H1, H2 및 H3으로서 지칭되는 반면, 경쇄 상의 CDR은 L1, L2 및 L3으로서 지칭된다. 전형적으로, CDR3은 항원 결합 부위 내에서 분자 다양성의 가장 큰 공급원이다. 특정 예에서, 예를 들어 H3은 2개의 아미노산 잔기 또는 26개 초과만큼 짧을 수 있다. 각 도메인에 대한 아미노산의 정렬은 전형적으로 문헌[Kabat et al. (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest (National Institutes of Health, Publication No. 91-3242, vols. 1-3, Bethesda, MD); Chothia, C., and Lesk, A.M. (1987) J. Mol. Biol. 196:901-917; 또는 Chothia, C. et al. Nature 342:878-883 (1989)]의 정의에 따른다. 본 출원에서, 용어 "CDR"은 달리 구체화되지 않는다면 경쇄 또는 중쇄 중 하나로부터의 CDR을 지칭한다.
- [0048] "Fab" 단편은 하나의 경쇄 및 중쇄의 CH1 및 가변 영역을 포함한다. Fab 분자의 중쇄는 다른 중쇄 분자와 함께 이황화 결합을 형성할 수 없다. "Fab'" 단편은 CH1과 CH2 도메인 사이에 연장되는 추가적인 불변 영역을 포함하는 하나의 경쇄 및 하나의 중쇄를 포함한다. 쇄간 이황화 결합은 Fab' 단편의 2개의 중쇄 사이에 형성되어 "F(ab')2" 분자를 형성할 수 있다.
- [0049] "Fv" 단편은 중쇄와 경쇄 둘다로부터의 가변 영역을 포함하지만, 불변 영역은 없다. 단일쇄 Fv(single-chain Fv, scFv) 단편은 가요성 링커에 의해 연결된 중쇄 및 경쇄 가변 영역을 포함하여 항원-결합 영역과 함께 단일 폴리펩타이드를 형성한다. 대표적인 단일 쇄 항체는 WO 88/01649 및 미국특허 제4,946,778호 및 제5,260,203호에서 상세하게 논의된다. 특정 예에서, 단일 가변 영역(즉, 중쇄 가변 영역 또는 경쇄 가변 영역)은 항원을 인식하고 결합하는 능력을 가질 수 있다.
- [0050] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "중쇄"는 단독으로 또는 경쇄와 조합되어 항원 특이성을 부여하기에 충분한 중쇄 가변 영역 서열을 포함하는 폴리펩타이드를 지칭한다.
- [0051] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "경쇄"는 단독으로 또는 중쇄와 조합되어 항원 특이성을 부여하기에 충분한 경쇄 가변 영역 서열을 포함하는 폴리펩타이드를 지칭한다.
- [0052] 5.2.2. 대표적인 항체
- [0053] 일부 실시형태에서, NOTUM에 특이적으로 결합되는 단클론성 항체가 제공된다. 일부 이러한 실시형태에서, 단클론성 항체는 생체내 및/또는 시험관내 NOTUM의 적어도 하나의 활성을 감소시키는 중화 항체이다.

- [0054] 일부 실시형태에서, NOTUM에 대한 중화 항체는 시험관내 트라이소듐 8-옥타노일옥시파이렌-1,3,6-트라이설포네이트(OPTS) 분석에서 NOTUM 활성을 감소시킨다. 일부 실시형태에서, NOTUM에 대한 중화 항체는 시험관내 Wnt 신호처리 분석에서 NOTUM 활성을 감소시킨다.
- [0055] 일부 실시형태에서, NOTUM에 대한 중화 항체는 충분한 양으로 및 충분한 지속 기간 동안 피험체에게 투여될 때 생체내 혈청 PINP 수준을 증가시킨다. 충분한 지속 기간 동안 충분한 양을 투여하기 위한 대표적인 투약량 및 투약 스케줄은 본 명세서에서 논의된다. 일부 실시형태에서, NOTUM에 대한 중화 항체는 뼈 무기염 밀도를 증가시킨다. 일부 실시형태에서, NOTUM에 대한 중화 항체는 생체내 골간 대퇴골 피질 두께를 증가시킨다. 일부 실시형태에서, NOTUM에 대한 중화 항체는 생체내 골간 대퇴골 뼈 면적을 증가시킨다. 일부 실시형태에서, NOTUM에 대한 중화 항체는 생체내 골간 상완골 피질 두께를 증가시킨다. 일부 실시형태에서, NOTUM에 대한 중화 항체는 생체내 내부피질 뼈 형성을 증가시킨다. 일부 실시형태에서, NOTUM에 대한 중화 항체는 생체내 LV5 척추체에서 피질 뼈 용적의 비율을 증가시킨다. "LV5 척추체에서 피질 뼈 용적의 비율"은 LV5 척추체의 전체 용적에 대한 피질 뼈 용적의 비율을 의미한다. 일부 실시형태에서, NOTUM에 대한 중화 항체는 생체내 대퇴경부의 전체 용적에 대한 대퇴경부 뼈 용적의 비율을 증가시킨다.
- [0056] 일부 실시형태에서, 마우스 NOTUM에 특이적으로 결합되는 중화 항체가 제공된다. 일부 실시형태에서, 인간 NOTUM에 특이적으로 결합되는 중화 항체가 제공된다. 일부 실시형태에서, 인간 NOTUM의 Q47 내지 M177의 영역에 결합되는 중화 항체가 제공된다. 일부 실시형태에서, 결합을 위한 인간 NOTUM의 Q47 내지 M177의 영역에 의존하는 중화 항체가 제공된다. 일부 실시형태에서, 상이한 종으로부터 NOTUM의 동일 영역에 특이적으로 결합되는 중화 항체(즉, 교차-반응성을 증명하는 항체)가 제공된다. 일부 실시형태에서, 인간 NOTUM 및 마우스, 래트, 기니아 피그, 사이노몰구스 원숭이, 마모셋 및 붉은털 원숭이로부터 선택된 적어도 하나의 종으로부터의 NOTUM에 결합되는 중화 항체가 제공된다. 일부 이러한 실시형태에서, 항체는 비-인간 영장류 NOTUM과 인간 NOTUM 둘 다에 특이적으로 결합된다. 일부 실시형태에서, 항체는 마우스 NOTUM과 인간 NOTUM 둘 다에 특이적으로 결합된다.
- [0057] 일부 실시형태에서, Q47 내지 M177의 인간 NOTUM의 영역에 결합되는 중화 항체가 제공된다. 일부 실시형태에서, Q47 내지 M177의 인간 NOTUM의 영역에 의존하는 중화 항체가 제공된다. 일부 실시형태에서, 마우스-인간 키메라 NOTUM(서열번호 84)에 대한 친화도보다 적어도 5-배, 적어도 10-배 또는 적어도 20-배 더 강한 친화도로 인간-마우스 키메라 NOTUM(서열번호 83)에 결합하는 NOTUM 중화 항체가 제공된다. 일부 실시형태에서, 마우스-인간-마우스 키메라 NOTUM(서열번호 86)에 대한 친화도보다 적어도 5-배, 적어도 10-배 또는 적어도 20-배 더 큰 친화도로 인간-마우스-인간 키메라 NOTUM(서열번호 85)에 결합되는 중화 항체가 제공된다. 일부 실시형태에서, NOTUM D141S(서열번호 94)에 대한 친화도보다 적어도 5-배, 적어도 10-배 또는 적어도 20-배 더 강한 친화도로 인간 NOTUM(서열번호 1)에 결합되는 NOTUM 중화 항체가 제공된다. 일부 실시형태에서, 마우스 NOTUM (서열번호 2)에 대한 친화도보다 적어도 5-배, 적어도 10-배 또는 적어도 20-배 더 강한 친화도로 마우스 NOTUM S148D(서열번호 95)로 결합되는 NOTUM 중화 항체가 제공된다. 일부 실시형태에서, 인간 NOTUM R144A/R145A(서열번호 99)에 대한 친화도보다 적어도 5-배, 적어도 10-배 또는 적어도 20-배 더 강한 친화도로 인간 NOTUM(서열번호 1)에 결합되는 NOTUM 중화 항체가 제공된다.
- [0058] 일부 실시형태에서, NOTUM에 대한 중화 항체는 실시예 6.8에 기재된 바와 같이 결정된 100 nM 미만, 50 nM 미만, 40 nM 미만, 30 nM 미만, 25 nM 미만, 20 nM 미만, 15 nM 미만, 10 nM 미만, 5 nM 미만, 3 nM 미만 또는 2 nM 미만의 친화도(K_d)로 인간 NOTUM(서열번호 1)에 결합된다. 일부 실시형태에서, NOTUM에 대한 중화 항체는 실시예 6.4.1에 기재된 바와 같이 결정된 100 nM 미만, 75 nM 미만, 50 nM 미만, 40 nM 미만, 30 nM 미만, 25 nM 미만, 20 nM 미만, 15 nM 미만, 또는 10 nM 미만의 OPTS에서 IC_{50} 을 가진다. 일부 실시형태에서, NOTUM에 대한 중화 항체는 실시예 6.4.2에 기재된 바와 같이 결정된 100 nM 미만, 75 nM 미만, 50 nM 미만, 40 nM 미만, 30 nM 미만, 25 nM 미만, 20 nM 미만, 15 nM 미만, 또는 10 nM 미만의 Wnt 신호처리 분석에서 IC_{50} 을 가진다. 일부 실시형태에서, IC_{50} 은 인간 NOTUM에 대한 것이다. 일부 실시형태에서, IC_{50} 은 마우스 NOTUM에 대한 것이다.
- [0059] 일부 실시형태에서, 중화 항체는 비-인간 단클론성 항체이다. 일부 이러한 실시형태에서, 중화 항체는 설치류 단클론성 항체이다. 일부 이러한 실시형태에서, 중화 항체는 마우스 단클론성 항체이다. 일부 실시형태에서, 중화 항체는 키메라 단클론성 항체이다. 일부 실시형태에서, 중화 항체는 인간화된 단클론성 항체이다. 일부 실시형태에서, 중화 항체는 인간 단클론성 항체이다. 일부 실시형태에서, 키메라, 인간화된, 및/또는 인간 단클론성 항체는 인간에서 치료적 항체로서 유용하다.
- [0060] 일부 실시형태에서, 중화 항체는 항체 단편이다. 대표적인 항체 단편은, 이에 제한되는 것은 아니지만, Fab,

Fab' , $\text{F}(\text{ab}')_2$, Fv , scFv , Fd , 다이아바디 등을 포함한다.

[0061] 비제한적 대표적인 NOTUM 중화 항체는 MAb 1.731, 1.802, 1.815, 1.846, 2.1029, 2.55 및 2.78을 포함한다. 각각의 MAb 1.731, 1.802, 1.815, 1.846, 2.1029, 2.55 및 2.78는 NOTUM의 적어도 하나의 활성을 중화시킨다. 추가로, 적어도 MAb 1.802, 1.815, 1.846 및 2.78는 아미노산 Q47 내지 M177에 의해 결합된 인간 NOTUM의 영역의 적어도 일부 상에서 NOTUM에 결합에 의존한다. 일부 실시형태에서, NOTUM 중화 항체는 NOTUM에 대한 결합에 대해 MAb 1.731, 1.802, 1.815, 1.846, 2.1029, 2.55 및 2.78로부터 선택된 적어도 하나의 항체와 경쟁한다. 일부 실시형태에서, NOTUM 중화 항체는 MAb 1.731, 1.802, 1.815, 1.846, 2.1029, 2.55 및 2.78로부터 선택된 적어도 하나의 항체에 의해 결합된 에피토프와 적어도 부분적으로 중첩되는 NOTUM의 에피토프에 결합된다. 추가로, 일부 실시형태에서, NOTUM에 대한 결합에 대해 MAb 1.731, 1.802, 1.815, 1.846, 2.1029, 2.55 및 2.78로부터 선택된 적어도 하나의 항체와 경쟁하는 항체는 NOTUM 중화 항체가 되는 것으로 예측된다. MAb 1.731, 1.802, 1.815, 1.846, 2.1029, 2.55 및 2.78의 CDR 및 가변 영역의 서열은 이하의 부문 7에 나타낸다.

[0062] 일부 실시형태에서, MAb 1.731이 결합되는 동일 에피토프에 결합하는 NOTUM 중화 항체가 제공된다. 일부 실시형태에서, MAb 1.802가 결합되는 동일 에피토프에 결합되는 NOTUM 중화 항체가 제공된다. 일부 실시형태에서, MAb 1.815가 결합되는 동일 에피토프에 결합되는 NOTUM 중화 항체가 제공된다. 일부 실시형태에서, MAb 1.846이 결합되는 동일 에피토프에 결합되는 NOTUM 중화 항체가 제공된다. 일부 실시형태에서, MAb 2.1029가 결합되는 동일 에피토프에 결합되는 NOTUM 중화 항체가 제공된다. 일부 실시형태에서, MAb 2.55가 결합되는 동일 에피토프에 결합되는 NOTUM 중화 항체가 제공된다. 일부 실시형태에서, MAb 2.78이 결합되는 동일 에피토프에 결합되는 NOTUM 중화 항체가 제공된다.

[0063] 일부 실시형태에서, NOTUM 중화 항체는 서열번호 7, 15, 23, 31, 39 및 47로부터 선택된 중쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 실시형태에서, NOTUM 중화 항체는 서열번호 8, 16, 24, 32, 40 및 48로부터 선택된 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 실시형태에서, NOTUM 중화 항체는 서열번호 7의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역 및 서열번호 8의 아미노산 서열을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 실시형태에서, NOTUM 중화 항체는 서열번호 15의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역 및 서열번호 16의 아미노산 서열을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 실시형태에서, NOTUM 중화 항체는 서열번호 23의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역 및 서열번호 24의 아미노산 서열을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 실시형태에서, NOTUM 중화 항체는 서열번호 31의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역 및 서열번호 32의 아미노산 서열을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 실시형태에서, NOTUM 중화 항체는 서열번호 39의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역 및 서열번호 40의 아미노산 서열을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 실시형태에서, NOTUM 중화 항체는 서열번호 47의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역 및 서열번호 48의 아미노산 서열을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함한다.

[0064] 일부 실시형태에서, NOTUM 중화 항체는 서열번호 9, 17, 25, 33, 41, 49 및 90으로부터 선택된 중쇄 CDR1을 포함한다. 일부 실시형태에서, NOTUM 중화 항체는 서열번호 10, 18, 26, 34, 42 및 50으로부터 선택된 중쇄 CDR2를 포함한다. 일부 실시형태에서, NOTUM 중화 항체는 서열번호 11, 19, 27, 35, 43, 51 및 91로부터 선택된 중쇄 CDR3을 포함한다. 일부 실시형태에서, NOTUM 중화 항체는 서열번호 9의 아미노산 서열을 갖는 CDR1, 서열번호 10의 아미노산 서열을 갖는 CDR2 및 서열번호 11의 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하는 중쇄를 포함한다. 일부 실시형태에서, NOTUM 중화 항체는 서열번호 17 및 90으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 CDR1, 서열번호 18로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 CDR2 및 서열번호 19 및 91로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하는 중쇄를 포함한다. 일부 실시형태에서, NOTUM 중화 항체는 서열번호 17의 아미노산 서열을 갖는 CDR1, 서열번호 18의 아미노산 서열을 갖는 CDR2 및 서열번호 19의 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하는 중쇄를 포함한다. 일부 실시형태에서, NOTUM 중화 항체는 서열번호 25 및 90으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 CDR1, 서열번호 26의 아미노산 서열을 갖는 CDR2 및 서열번호 27의 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하는 중쇄를 포함한다. 일부 실시형태에서, NOTUM 중화 항체는 서열번호 25 및 90으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 CDR1, 서열번호 34의 아미노산 서열을 갖는 CDR2 및 서열번호 35 및 91의 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하는 중쇄를 포함한다. 일부 실시형태에서, NOTUM 중화 항체는 서열번호 33의 아미노산 서열을 갖는 CDR1, 서열번호 34의 아미노산 서열을 갖는 CDR2 및 서열번호 35의 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하는 중쇄를 포함한다. 일부 실시형태에서, NOTUM 중화 항체는 서열번호 41의 아미노산 서열을 갖는 CDR1, 서열번호 42의 아미노산 서열을 갖는 CDR2 및 서열번호 43의 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하는 중쇄를 포함한다. 일부 실시형태에서, NOTUM 중화 항체는

항체는 서열번호 33의 아미노산 서열을 갖는 CDR1, 서열번호 34의 아미노산 서열을 갖는 CDR2, 서열번호 35의 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하는 중쇄; 및 서열번호 36의 아미노산 서열을 갖는 CDR1, 서열번호 37의 아미노산 서열을 갖는 CDR2, 서열번호 38의 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시형태에서, NOTUM 중화 항체는 서열번호 41의 아미노산 서열을 갖는 CDR1, 서열번호 42의 아미노산 서열을 갖는 CDR2, 서열번호 43의 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하는 중쇄; 및 서열번호 44의 아미노산 서열을 갖는 CDR1, 서열번호 45의 아미노산 서열을 갖는 CDR2, 서열번호 46의 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시형태에서, NOTUM 중화 항체는 서열번호 49의 아미노산 서열을 갖는 CDR1, 서열번호 50의 아미노산 서열을 갖는 CDR2, 서열번호 51의 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하는 중쇄; 및 서열번호 52의 아미노산 서열을 갖는 CDR1, 서열번호 53의 아미노산 서열을 갖는 CDR2, 서열번호 54의 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시형태에서, NOTUM 중화 항체는 서열번호 57의 아미노산 서열을 갖는 CDR1, 서열번호 58의 아미노산 서열을 갖는 CDR2, 서열번호 59의 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하는 중쇄; 및 서열번호 60의 아미노산 서열을 갖는 CDR1, 서열번호 61의 아미노산 서열을 갖는 CDR2, 서열번호 62의 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시형태에서, 서열번호 90의 X₁은 Y 및 F로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 서열번호 91의 X₂는 H 및 N으로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 서열번호 92의 X₃은 I 및 S로부터 선택되며; 서열번호 92의 X₄는 T 및 E로부터 선택되고; 서열번호 92의 X₅는 M 및 I로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 서열번호 93의 X₆은 D 및 N으로부터 선택된다.

[0067] 일부 실시형태에서, 인간 NOTUM에 특이적으로 결합되는 NOTUM 중화 항체가 제공된다. 일부 실시형태에서, 상이한 종으로부터의 NOTUM에서 동일한 에피토프에 특이적으로 결합되는 NOTUM 중화 항체(즉, 교차 반응성을 증명하는 항체)가 제공된다. 일부 실시형태에서, 인간 NOTUM에 특이적으로 결합하고, 또한 마우스, 래트, 기니아피그, 사이노몰구스 원숭이, 마모셋 및 레서스 원숭이로부터 선택된 NOTUM의 적어도 하나의 종에 특이적으로 결합하는 NOTUM 중화 항체가 제공된다. 일부 실시형태에서, 인간 NOTUM에 특이적으로 결합하고, 비-인간 영장류의 적어도 하나의 종으로부터의 NOTUM에 특이적으로 결합하는 NOTUM 중화 항체가 제공된다. 일부 실시형태에서, 인간 NOTUM 및 마우스 NOTUM에 특이적으로 결합하는 NOTUM 중화 항체가 제공된다.

5.2.2.1. 키메라화 및 인간화된 단클론성 항체

[0069] 일부 실시형태에서, 비-인간 항체는 키메라화된다. 일부 실시형태에서, 인간 NOTUM에 특이적으로 결합된 마우스 단클론성 항체는 키메라화된다. 키메라 항체의 어떤 대표적인 제조 방법은, 예를 들어 문헌[Morrison et al. (1984) *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 81:6851-6855; Neuberger et al. (1984) *Nature* 312:604-608; Takeda et al. (1985) *Nature* 314:452-454]; 및 미국특허 제6,075,181호 및 제5,877,397호에서 제공된다.

[0070] 일부 실시형태에서, 비-인간 항체는 "인간화된다". 일부 실시형태에서, 인간 NOTUM에 특이적으로 결합된 마우스 단클론성 항체는 인간화된다. 일부 실시형태에서, 마우스 단클론성 항체는 마우스 NOTUM에 대해 상승되었지만, 인간 NOTUM에 특이적으로 결합되고(즉, 교차 반응되고), 인간화된다. 일부 실시형태에서, 인간화된 항체는 그것의 결합 특이성을 보유하며, 인간에 투여될 때 감소된 면역원성을 가진다(예를 들어, 감소된 인간 항-마우스 항체(HAMA) 반응). 일부 실시형태에서, 인간화는 이하에 상세하게 기재되는 바와 같이 CDR 접목(grafting) 및 인간 유전자조작을 포함하는 방법에 의해 달성된다.

[0071] 인간화된 항체의 일부 실시형태에서, 원하는 결합 특이성("공여자(donor)" 항체)을 갖는 항체의 경쇄 및 중쇄 가변 영역으로부터 하나 이상의 상보적 결정 영역(CDR)은 "수용자(acceptor)" 항체 내 인간 프레임워크 영역(FR) 상에 접목된다. 대표적인 CDR 접목은, 예를 들어 미국특허 제6,180,370호, 제5,693,762호, 제5,693,761호, 제5,585,089호 및 제5,530,101호; 문헌[Queen et al. (1989) *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 86:10029-10033]에 기재되어 있다. 일부 실시형태에서, 경쇄 및 중쇄 가변 영역으로부터 하나 이상의 CDR은 수용자 항체 내 공통(consensus) 인간 FR 상에 접목된다. 공통 인간 FR을 만들기 위하여, 몇몇 인간 중쇄 또는 경쇄 아미노산 서열로부터의 FR은 공통 아미노산 서열을 확인하도록 정렬된다.

[0072] 일부 실시형태에서, 수용자 항체 내 특정 FR 아미노산은 공여자 항체로부터의 FR 아미노산으로 대체된다. 특정의 이러한 실시형태에서, 공여자 항체로부터의 FR 아미노산은 표적 항원에 대한 공여자 항체의 친화도에 기여하는 아미노산이다. 예를 들어, 미국특허 제6,180,370호, 제5,693,762호, 제5,693,761호, 제5,585,089호 및 제5,530,101호; 문헌[Queen et al. (1989) *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 86:10029-10033]을 참조한다. 일부 실시형태에서, 컴퓨터 프로그램은 항원 결합에 수반될 가능성이 있는 잔기를 확인하고/하거나 항원 결합 부위의 구조에 기여하기 위한 공여자 및/또는 수용자 항체의 모델링을 위해 사용되고, 따라서 공여자 항체 내 대체되는

FR 잔기와 같은 잔기의 선택을 보조한다.

[0073] 일부 실시형태에서, 공여자 항체로부터의 CDR은 인간 불변 영역을 포함하는 수용자 항체 상에 접목된다. 일부 이러한 실시형태에서, FR은 또한 수용자 상에 접목된다. 일부 실시형태에서, 공여자 항체로부터의 CDR은 단일쇄 Fv 항체로부터 유래된다. 일부 실시형태에서, 공여자 항체로부터의 FR은 단일쇄 Fv 항체로부터 유래된다. 일부 실시형태에서, 인간화된 항체 내 접목된 CDR은 추가로 변형되어(예를 들어, 아미노산 치환, 결실 또는 삽입) 표적 항원에 대한 인간화된 항체의 친화도를 증가시킨다. 일부 실시형태에서, 인간화된 항체 내 접목된 FR은 추가로 변형되어(예를 들어, 아미노산 치환, 결실 또는 삽입) 표적 항원에 대한 인간화된 항체의 친화도를 증가시킨다.

[0074] 일부 실시형태에서, 비-인간 항체는 "인간 유전자조작" 방법을 사용하여 인간화될 수 있다. 예를 들어 미국특허 제5,766,886호 및 제5,869,619호를 참조한다. 인간 유전자조작의 일부 실시형태에서, 항체 가변 도메인의 구조상의 정보(예를 들어, 결정 구조 및/또는 분자 모델링으로부터 얻은 정보)는 가변 영역 내 주어진 아미노산 잔기가 (a) 항원 결합에 수반되고, (b) 항체 표면 상에 노출되고(즉, 용매에 접근가능) 또는 (c) 항체 가변 영역 내에 묻히는(즉, 가변 영역의 구조를 유지하는데 수반되는) 가능성을 평가하기 위하여 사용된다. 더 나아가, 일부 실시형태에서, 인간 가변 영역 공통 서열은 인간 가변 영역 중에서 보존된 잔기를 확인하도록 만들어진다. 일부 실시형태에서, 해당 정보는 비-인간 항체의 가변 영역 내 아미노산 잔기가 치환되어야 하는지 여부에 대한 지침을 제공한다.

[0075] 일부 실시형태에서, 인간화된 NOTUM 중화 항체는 MAb 1.731, 1.802, 1.815, 1.846, 2.1029, 2.55 및 2.78로부터 선택된 항체의 CDR1, CDR2 및 CDR3 중 적어도 하나를 포함하는 중쇄를 포함한다. 일부 실시형태에서, NOTUM 중화 항체는 MAb 1.731, 1.802, 1.815, 1.846, 2.1029, 2.55 및 2.78로부터 선택된 항체의 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함하는 중쇄를 포함한다. 일부 실시형태에서, NOTUM 중화 항체는 MAb 1.731, 1.802, 1.815, 1.846, 2.1029, 2.55 및 2.78의 CDR1, CDR2 및 CDR3 중 적어도 하나를 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시형태에서, NOTUM 중화 항체는 MAb 1.731, 1.802, 1.815, 1.846, 2.1029, 2.55 및 2.78로부터 선택된 항체의 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시형태에서, NOTUM 중화 항체는 MAb 1.731, 1.802, 1.815, 1.846, 2.1029, 2.55 및 2.78로부터 선택된 항체로부터의 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3, 및 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함한다.

[0076] 일부 실시형태에서, NOTUM 중화 항체는 서열번호 63, 67, 71, 75 및 79로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 포함한다. 일부 실시형태에서, NOTUM 중화 항체는 서열번호 64, 68, 72, 76 및 80으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 포함한다. 일부 실시형태에서, NOTUM 중화 항체는 서열번호 65, 69, 73, 77 및 81로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 포함한다. 일부 실시형태에서, NOTUM 중화 항체는 서열번호 66, 70, 74, 78 및 82로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시형태에서, NOTUM 중화 항체는 서열번호 63의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열번호 65의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시형태에서, NOTUM 중화 항체는 서열번호 67의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열번호 69의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시형태에서, NOTUM 중화 항체는 서열번호 71의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열번호 73의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시형태에서, NOTUM 중화 항체는 서열번호 75의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열번호 77의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시형태에서, NOTUM 중화 항체는 서열번호 79의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열번호 81의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시형태에서, NOTUM 중화 항체는 서열번호 64의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열번호 66의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시형태에서, NOTUM 중화 항체는 서열번호 68의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열번호 70의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시형태에서, NOTUM 중화 항체는 서열번호 72의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열번호 74의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시형태에서, NOTUM 중화 항체는 서열번호 76의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열번호 78의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시형태에서, NOTUM 중화 항체는 서열번호 80의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열번호 82의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.

5.2.2.2. 항체 아이소타입

[0077] 일부 실시형태에서, NOTUM에 대한 항체는 IgM, IgD, IgG, IgA 및 IgE로부터 선택된 임의의 아이소타입을 가진다. 일부 실시형태에서, NOTUM에 대한 항체는 IgG 아이소타입을 가진다. 특정의 이러한 실시형태에서, 항체는 하위분류 IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4를 가진다. 일부 실시형태에서, NOTUM에 대한 항체는 IgM 아이소타입을

가진다. 특정의 이러한 실시형태에서, 항체는 하위분류 IgM1 또는 IgM2를 가진다. 일부 실시형태에서, NOTUM에 대한 항체는 IgA 아이소타입을 가진다. 특정의 이러한 실시형태에서, 항체는 하위분류 IgA1 또는 IgA2를 가진다. NOTUM에 대한 항체는, 예를 들어 인간 또는 마우스 기원의 람다 또는 카파 경쇄 불변 영역을 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, NOTUM에 대한 항체는 인간 카파 경쇄 불변 영역 및 인간 IgG1, IgG2 또는 IgG4 중쇄 불변 영역을 포함한다. 일부 실시형태에서, NOTUM에 대한 항체는 마우스 카파 경쇄 및 마우스 IgG1 또는 IgG2 중쇄를 포함한다.

[0079] 5.2.2.3. 변형된 항체

[0080] 일부 실시형태에서, 항체는 그것의 특성 중 하나 이상을 변경시킬도록 변형된다. 일부 실시형태에서, 변형된 항체는 미변형 항체 이상의 이점, 예컨대 증가된 안정성, 증가된 순환시간 또는 감소된 면역원성을 소유할 수 있다(예를 들어 미국특허 제4,179,337호를 참조). 일부 실시형태에서, 항체는 비단백질성 모이어티에 그것을 연결함으로써 변형된다. 일부 실시형태에서, 항체는, 예를 들어 항체 상 탄수화물 쇄의 수, 유형, 결합 및/또는 위치를 변경시킴으로써 변형된다. 일부 실시형태에서, 항체는 변경되며, 따라서 글라이코실화되지 않는다.

[0081] 일부 실시형태에서, 하나 이상의 화학적 모이어티는 항체의 아미노산 백분 및/또는 탄수화물 잔기에 연결된다. 항체에 화학적 모이어티를 연결하기 위한 특정의 대표적인 방법은 당업자에게 공지되어 있다. 이러한 방법은, 이에 제한되는 것은 아니지만, 아실화 반응 또는 알킬화 반응을 포함한다. 예를 들어 유럽특허 제0 401 384호; 문헌[Malik et al. (1992), *Exp. Hematol.*, 20:1028-1035; Francis (1992) *Focus on Growth Factors* 3(2):4-10](영국 런던 엔20 올드 프리에른 밸네트 레인 마운튼 코트에 소재한 Mediscript에 의해 공개됨); 유럽특허 제0 154 316호; 유럽특허 제0 401 384호; WO 92/16221; WO 95/34326; WO 95/13312; WO 96/11953; WO 96/19459 및 WO 96/19459를 참조한다. 일부 실시형태에서, 이를 반응 중 어떤 것은 그것의 아미노-말단에서 화학적으로 변형된 항체를 만들기 위하여 사용된다.

[0082] 일부 실시형태에서, 항체는 효소적, 형광, 아이소토프 또는 친화도 수준과 같은 검출가능한 표지에 연결된다. 특정의 이러한 실시형태에서, 검출가능한 표지는 항체를 검출 또는 분리시킨다. 일부 실시형태에서, 검출가능한 표지는 항체에 의해 결합된 항원을 검출시킨다.

[0083] 일부 실시형태에서, 항체는 그것을 하나 이상의 폴리머에 연결함으로써 변형된다. 일부 실시형태에서, 항체는 하나 이상의 수용성 폴리머에 연결된다. 특정의 이러한 실시형태에서, 수용성 폴리머에 대한 결합은 수성 환경, 예컨대 생리적 환경에서 항체가 침전될 가능성을 감소시킨다. 일부 실시형태에서, 치료적 항체는 수용성 폴리머에 연결된다. 일부 실시형태에서, 당업자라면, 폴리머/항체 컨쥬게이트가 환자의 치료에서 사용되는지 여부 및 만약에 사용된다면, 항체의 약리학적 프로파일(예를 들어, 반감기, 투약량, 활성, 항원성 및/또는 다른 인자)을 포함하는 고려사항에 기반하여 적합한 수용성 폴리머를 선택할 수 있다.

[0084] 특정의 대표적인 임상적으로 허용가능한 수용성 폴리머는, 이에 제한되는 것은 아니지만, 폴리에틸렌 글라이콜(PEG); 폴리에틸렌 글라이콜 프로피온알데하이드; 에틸렌 글라이콜/프로필렌 글라이콜의 공중합체; 모노메톡시-폴리에틸렌 글라이콜; 카복시메틸셀룰로스; 텍스트란; 폴리비닐 알코올(PVA); 폴리비닐 피롤리돈, 폴리-1,3-다이옥솔란; 폴리-1,3,6-트라이옥산; 에틸렌/말레산 무수물 공중합체; 폴리-β-아미노산(호모폴리머 또는 무작위 공중합체 중 하나); 폴리(n-비닐 피롤리돈)폴리에틸렌 글라이콜; 폴리프로필렌 글라이콜 호모폴리머(PPG) 및 다른 폴리알킬렌 옥사이드; 폴리프로필렌 옥사이드/에틸렌 옥사이드 공중합체; 폴리옥시에틸화된 폴리올(POG)(예를 들어, 글라이콜) 및 다른 폴리옥시에틸화된 폴리올; 폴리옥시에틸화된 솔비톨, 폴리옥시에틸화된 글루코스, 콜론산 또는 다른 탄수화물 폴리머; 및 피콜, 텍스트란 또는 이들의 혼합물을 포함한다. 특정 대표적인 PEG는, 이에 제한되는 것은 아니지만, 항체 변형, 예컨대 모노-(C₁-C₁₀) 알콕시- 또는 아릴옥시-PEG와 같은 항체 변형에서 유용한 것으로 당업계에 공지된 특정 형태를 포함한다. 일부 실시형태에서, PEG 프로피온알데하이드는 그것의 수중 안정성에 기인하여 제조에서 이점을 가질 수 있다.

[0085] 일부 실시형태에서, 수용성 폴리머는 임의의 문자량을 가진다. 일부 실시형태에서, 수용성 폴리머는 분지되거나 또는 미분지된다. 일부 실시형태에서, 수용성 폴리머는 범위의 말단 지점 사이의 모든 지점을 포함하는 약 2 kDa 내지 약 100 kDa의 평균 문자량을 가진다. 일부 실시형태에서, 수용성 폴리머는 약 5 kDa 내지 약 40 kDa의 평균 문자량을 가진다. 일부 실시형태에서, 수용성 폴리머는 약 10 kDa 내지 약 35 kDa의 평균 문자량을 가진다. 일부 실시형태에서, 수용성 폴리머는 약 15 kDa 내지 약 30 kDa의 평균 문자량을 가진다.

[0086] 일부 실시형태에서, 항체는 폴리에틸렌 글라이콜에 연결된다(PEG; 즉, 항체는 "페길화된다(pegylated)"). 다양한 실시형태에서, PEG는 포유류에서 낮은 독성을 가진다. 문헌[Carpenter et al. (1971) *Toxicol. Appl.*

Pharmacol., 18:35-40]을 참조한다. 특히, 아데노신 테아미나제의 PEG 부가체는 중증의 조합된 면역결핍 증후군의 치료용으로 인간에서 사용을 위해 미국에서 승인되었다. 다양한 실시형태에서, PEG는 항체의 면역원성을 감소시킬 수 있다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 비-인간 서열을 갖는 항체에 PEG의 결합은 인간에게 투여될 때 항체의 항원성을 감소시킬 수 있다.

[0087] 일부 실시형태에서, 폴리머는 항체 내 하나 이상의 반응성 아미노산 잔기에 연결된다. 특정의 대표적인 반응성 아미노산 잔기는, 이에 제한되는 것은 아니지만, 아미노-말단 아미노산의 알파-아미노기, 리신 측쇄의 앱실론 아미노기, 시스테인 측쇄의 설프하이드릴기, 아스팔탈 및 글루타밀 측쇄의 카복실기, 카복시-말단 아미노산의 알파-카복실기, 티로신 측쇄, 및 특정 아스파라긴, 세린 또는 트레오닌 잔기에 연결된 활성화된 글라이코실 쇄를 포함한다. 단백질과 직접 반응에 적합한 PEG("PEG 시약")의 특정 대표적인 활성화 형태는 당업자에게 공지되어 있다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 아미노기에 결합에 적합한 PEG 시약은 카복실산의 활성 에스터 또는 PEG의 카보네이트 유도체, 예를 들어 이탈기가 N-하이드록시숙신이미드, p-나이트로페놀, 이미다졸 또는 1-하이드록시-2-나이트로벤젠-4-설포네이트인 것을 포함한다. 일부 실시형태에서, 말레이미도 또는 할로아세틸 기를 함유하는 PEG 시약은 설프하이드릴 기를 변형시키기 위하여 사용된다. 일부 실시형태에서, 아미노, 하이드라진 및/또는 하이드라자이드 기를 함유하는 PEG 시약은 단백질 내 탄수화물 기의 과요오드산염 산화에 의해 만들어진 알데하이드와 반응에서 사용될 수 있다.

[0088] 일부 실시형태에서, 수용성 폴리머는 적어도 하나의 반응 기를 가진다. 일부 실시형태에서, 수용성 폴리머의 활성화된 유도체, 예컨대 PEG는 수용성 폴리머를 활성화 기와 반응시킴으로써 만들어진다. 일부 실시형태에서, 활성화기는 단작용성, 이작용성 또는 다작용성일 수 있다. 둘 이상의 항체에 수용성 폴리머를 연결하기 위하여 사용될 수 있는 특정의 대표적인 활성화기는, 이에 제한되는 것은 아니지만, 다음의 기를 포함한다: 셀폰(예를 들어, 클로로셀폰, 비닐셀폰 및 다이비닐셀폰), 말레이미드, 설프하이드릴, 티올, 트라이플레이트, 트레실레이트, 아지디린, 옥시란 및 5-피리딜. 일부 실시형태에서, PEG 유도체는 전형적으로 약 11 미만의 pH에서 수성 환경 중에서 연장된 기간 동안 가수분해에 대해 안정하다. 일부 실시형태에서, 항체와 같은 다른 분자에 연결된 PEG 유도체는 해당 분자 상에서 가수분해로부터 안정성을 부여한다. 특정의 대표적인 호모2작용성 PEG 유도체는, 이에 제한되는 것은 아니지만, PEG-비스-클로로셀폰 및 PEG-비스-비닐셀폰을 포함한다(WO 95/13312를 참조).

5.2.3. 단클론성 항체의 특정 제조방법

5.2.3.1. 특정 하이브리도마 방법

[0091] 일부 실시형태에서, 단클론성 항체는 표준 기법에 의해 생성된다. 일부 실시형태에서, 단클론성 항체는 하이브리도마-기반 방법에 의해 생성된다. 어떤 이러한 방법은 당업자에게 공지되어 있다. 예를 들어, 문헌[Kohler et al. (1975) Nature 256:495-497; Harlow and Lane (1988) Antibodies: A Laboratory Manual Ch. 6 (Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY)]. 특정의 이러한 실시형태에서, 마우스, 래트, 햄스터, 원숭이 또는 다른 포유류와 같은 적합한 동물은 면역원에 의해 면역화되어 항체-분비 세포를 생성한다. 일부 실시형태에서, 항체-분비 세포는 B-세포, 예컨대 림프구 또는 비장세포이다. 일부 실시형태에서, 림프구(예를 들어, 인간 림프구)는 시험관내에서 면역화되어 항체-분비 세포를 만든다. 예를 들어, 문헌[Borreback et al. (1988) Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 85:3995-3999].

[0092] 일부 실시형태에서, 항체 분비 세포는 "불멸" 세포주, 예컨대 골수성-유형 세포주와 융합되어 하이브리도마 세포를 생성한다. 일부 실시형태에서, 원하는 항체를 생성하는 하이브리도마 세포는, 예를 들어 ELISA에 의해 확인된다. 일부 실시형태에서, 그 다음에 이러한 세포는 서브클로닝될 수 있고, 표준 방법을 사용하여 배양될 수 있다. 일부 실시형태에서, 이러한 세포는 또한 적합한 동물 숙주에서 복수(ascite) 종양으로서 생체내에서 성장될 수 있다. 일부 실시형태에서, 단클론성 항체는 친화도 크로마토그래피와 같은 표준 분리 과정을 사용하여 하이브리도마 배양 배지, 혈청 또는 복수액으로부터 분리된다. 특정 실시형태에 따른 단클론성 항체의 하이브리도마 및 정제의 생성을 위한 지침은, 예를 들어 문헌[Harlow and Lane (1988) Antibodies: A Laboratory Manual Ch. 8 (Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY)]에서 제공된다.

[0093] 일부 실시형태에서, 마우스 단클론성 항체는 유전적으로 변경된 마우스를 면역원으로 면역화시킴으로써 생성된다. 특정의 이러한 실시형태에서, 마우스는 부분적으로 또는 완전하게 NOTUM 작용을 결여하는 NOTUM-결여 마우스이다. 특정의 이러한 실시형태에서, 마우스는 유전자 암호화 NOTUM의 모두 또는 일부가 결여된 "녹아웃" 마우스이다. 일부 실시형태에서, 이러한 녹아웃 마우스는 마우스 NOTUM로 면역화된다. 일부 실시형태에서, 이러한 녹아웃 마우스는 인간 NOTUM로 면역화된다.

[0094]

일부 실시형태에서, 인간 단클론성 항체는 인간 항체를 생성할 수 있는 유전자이식 동물(예를 들어 마우스)에서 상승된다. 예를 들어 미국특허 제6,075,181 A호 및 제6,114,598 A호; 및 WO 98/24893 A2호를 참조한다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 인간 면역글로불린 유전자는 마우스 내로 도입되는데(예를 들어 효모 인공 염색체, 인간 염색체 단편 또는 생식계열 통합을 사용), 이때 내인성 Ig 유전자는 불활성화되었다. 예를 들어, 문헌 [Jakobovits et al. (1993) *Nature* 362:255-258; Tomizuka et al. (2000) *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 97:722-727; 및 Mendez et al. (1997) *Nat. Genet.* 15:146-156(유전자이식 마우스의 XenoMouse II(등록상표) 계열을 기재)]을 참조한다.

[0095]

일부 실시형태에서, 이러한 유전자이식 마우스는 면역원으로 면역화된다. 특정의 이러한 실시형태에서, 항체를 발현시키는 마우스로부터의 림프 세포(예컨대 B-세포)가 얻어진다. 특정의 이러한 실시형태에서, 이러한 회수된 세포는 "불멸" 세포주, 예컨대 골수성-유형 세포주와 융합되어 하이브리도마 세포를 생성한다. 특정의 이러한 실시형태에서, 하이브리도마 세포는 관심의 항원에 특이적인 항체를 생성하는 것을 확인하기 위하여 스크리닝되고 선택된다. 인간 단클론성 항체의 생성에 적합한 특정의 대표적인 방법 및 유전자이식 마우스는, 예를 들어 문헌 [Jakobovits et al. (1993) *Nature* 362:255-258; Jakobovits (1995) *Curr. Opin. Biotechnol.* 6:561-566; Lonberg et al. (1995) *Int'l Rev. Immunol.* 13:65-93; Fishwild et al. (1996) *Nat. Biotechnol.* 14:845-851; Mendez et al. (1997) *Nat. Genet.* 15:146-156; Green (1999) *J. Immunol. Methods* 231:11-23; Tomizuka et al. (2000) *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 97:722-727]에서 기재되고; 문헌 [Little et al. (2000) *Immunol. Today* 21:364-370]; 및 WO 98/24893에서 검토된다. 일부 실시형태에서, NOTUM에 대한 인간 단클론성 항체는 치료적 항체로서 사용에 적합하다. 이하의 부분 V.G.를 참조한다.

[0096]

5.2.3.2. 특정 디스플레이-기반 방법

[0097]

일부 실시형태에서, 인간 단클론성 항체는, 예를 들어 이하에 기재되는 것 중 어떤 것과 같은 디스플레이-기방 방법을 사용하여 생성된다.

[0098]

일부 실시형태에서, 단클론성 항체는 파지 디스플레이 기법을 사용하여 생성된다. 다양한 항체 파지 디스플레이 방법은 당업자에게 공지되어 있고, 문헌 [*Methods in Molecular Biology: Antibody Phage Display: Methods and Protocols* (2002) 178:1-37 (O'Brien and Aitken, eds., Human Press, Totowa, NJ)의 Hoogenboom, *Overview of Antibody Phage-Display Technology and Its Applications*]에 기재되어 있다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 항체의 라이브러리는 비용해성 섬유성 파지 fd 또는 M13과 같은 섬유성 파지의 표면 상에서 디스플레이된다. 일부 실시형태에서, 항체는 V_H-V_L 쌍 및 다이아바디를 안정화시키도록 유전자조작된 분자내 이황화 결합을 갖는 항체 단편, 예컨대 scFv, Fab, Fv이다. 일부 실시형태에서, 그 다음에 원하는 결합 특이성을 갖는 항체가 선택될 수 있다. 항체 파지 디스플레이 방법의 비제한적 대표적인 실시형태는 이하에서 더욱 상세하게 기재된다.

[0099]

일부 실시형태에서, 항체 파지-디스플레이 라이브러리는 당업자에게 공지된 특정 방법을 사용하여 제조될 수 있다. 예를 들어, 문헌 [*Methods in Molecular Biology: Antibody Phage Display: Methods and Protocols* (2002) 178:1-37 (O'Brien and Aitken, eds., Human Press, Totowa, NJ)의 Hoogenboom, *Overview of Antibody Phage-Display Technology and Its Applications*]을 참조한다. 일부 실시형태에서, 가변 유전자 래퍼토리는 항체-분비 세포의 mRNA로부터 유래된 게놈 DNA 또는 cDNA 유래의 PCR 증폭에 의해 제조된다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, cDNA는 B-세포의 mRNA로부터 제조된다. 일부 실시형태에서, 중쇄 및 경쇄의 가변 영역을 암호화하는 cDNA는, 예를 들어 PCR에 의해 증폭된다.

[0100]

일부 실시형태에서, 중쇄 cDNA 및 경쇄 cDNA는 적합한 벡터 내로 클로닝된다. 일부 실시형태에서, 중쇄 cDNA 및 경쇄 cDNA는 클로닝 과정 동안 무작위로 조합되며, 이에 의해 다양한 scFv 또는 Fab를 암호화하는 cDNA 라이브러리의 어셈블리를 초래한다. 일부 실시형태에서, 중쇄 cDNA 및 경쇄 cDNA는 적합한 벡터 내로 클로닝되기 전 결찰된다. 일부 실시형태에서, 중쇄 cDNA 및 경쇄 cDNA는 적합한 벡터 내로 단계적으로 클로닝에 의해 결찰된다.

[0101]

일부 실시형태에서, cDNA는 파지미드 벡터와 같은 파지 디스플레이 벡터내로 클로닝된다. pCES1와 같은 특정 대표적인 파지미드 벡터는 당업자에게 공지되어 있다. 일부 실시형태에서, 중쇄와 경쇄를 둘 다 암호화하는 cDNA는 동일 벡터 상에 존재된다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, scFv를 암호화하는 cDNA는 유전자 III의 모두 또는 일부를 갖는 프레임에서 클로닝되며, 이는 미러 파지 코트 단백질 pIII을 암호화한다. 특정의 이러한 실시형태에서, 파지미드는 파지 표면 상에서 scFv-pIII 융합의 발현을 지시한다. 대안적으로, 일부 실시형태에서, 중

쇄(또는 경쇄)를 암호화하는 cDNA는 유전자 III의 모두 또는 일부를 갖는 프레임에서 클로닝되며, 경쇄(또는 중쇄)를 암호화하는 cDNA는 동일 벡터 내 신호 서열의 하류에서 클로닝된다. 신호 서열을 숙주 세포의 주변세포질 내로 경쇄(또는 중쇄)의 발현을 지시하며, 중쇄 및 경쇄는 Fab 단편 내로 조립된다. 대안적으로, 일부 실시형태에서, 중쇄를 암호화하는 cDNA 및 경쇄를 암호화하는 cDNA는 별개의 벡터 상에서 존재한다. 특정의 이러한 실시 형태에서, 중쇄 및 경쇄 cDNA는 별개로 클로닝되며, 하나는 파지미드 내로 클로닝되고, 다른 것은 파지 벡터 내로 클로닝되는데, 둘 다 숙주 세포에서 생체내 재조합을 위한 신호를 함유한다.

[0102] 일부 실시형태에서, 재조합 파지미드 또는 파지 벡터는 적합한 박테리아 숙주, 예컨대 이콜라이(*E. coli*) 내로 도입된다. 파지미드를 사용하는 일부 실시형태에서, 숙주는 파지 구조적 단백질을 공급하기 위해 헬퍼 파지로 감염되고, 이에 의해 파지 표면 상에서 항체-pIII 융합 단백질을 운반하는 파지 입자를 발현시킨다.

[0103] 일부 실시형태에서, "합성" 항체 라이브러리는 시험관내에서 재배열된 가변 유전자의 레퍼토리를 사용하여 구성된다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 중쇄 또는 경쇄를 암호화하는 개개의 유전자 절편(각각 V-D-J 또는 V-J)은 PCR을 사용하여 무작위로 조합된다. 일부 실시형태에서, 추가적인 서열 다양성은 CDR, 및 가능하게는 FR 내로, 예를 들어 실수유발 PCR(error prone PCR)에 의해 도입될 수 있다. 일부 이러한 실시형태에서, 추가적인 서열 다양성은 CDR3, 예를 들어 중쇄의 H3 내로 도입된다.

[0104] 일부 실시형태에서, "나이브(naive)" 또는 "보편적" 파지 디스플레이 라이브러리는 비면역화된 동물로부터 혼산을 사용하여 상기 기재한 바와 같이 구성된다. 일부 실시형태에서, 비면역화된 동물은 인간이다. 일부 실시형태에서, "면역화된" 파지 디스플레이 라이브러리는 면역화된 동물로부터 혼산을 사용하여 상기 기재한 바와 같이 구성된다. 일부 실시형태에서, 면역화된 동물은 인간, 래트, 마우스, 햄스터 또는 원숭이이다. 특정의 이러한 실시형태에서, 동물은 이하에 기재되는 면역원 중 어떤 것으로 면역화된다.

[0105] 특정 대표적인 보편적 인간 항체 파지 디스플레이 라이브러리는 상업적 공급원으로부터 입수가능하다. 특정 대표적인 라이브러리는, 이에 제한되는 것은 아니지만, MorphoSys AG(독일 마르틴스리에드/뮌헨에 소재)제의 라이브러리 HuCAL(등록상표) 시리즈; MAbstract(등록상표) 기법을 사용하는 Crucell(네덜란드 레이텐에 소재)제의 라이브러리; BioInvent(스웨덴 룬드에 소재)제의 n-CoDeRTM Fab 라이브러리; 및 Cambridge Antibody Technology(영국 캠브릿지에 소재)로부터 입수가능한 라이브러리를 포함한다.

[0106] 일부 실시형태에서, 파지 디스플레이 라이브러리로부터 원하는 결합 특이성을 갖는 항체의 선택은 성공적인 패닝(panning) 단계에 의해 달성된다. 패닝의 일부 실시형태에서, 라이브러리 파지 제조물은 항원에 노출된다. 특정의 이러한 실시형태에서, 파지-항원 복합체는 세척되고, 미결합 파지는 폐기된다. 특정의 이러한 실시형태에서, 결합 파지는 회수되고, 후속하여 이콜라이를 감염시킴으로써 증폭된다. 특정의 이러한 실시형태에서, 단클론성 항체-생성 파지는 단일 플라크를 채집함으로써 클로닝될 수 있다. 일부 실시형태에서, 상기 과정은 반복된다.

[0107] 일부 실시형태에서, 패닝에서 사용된 항원은 이하에 기재된 면역원 중 어떤 것이다. 일부 실시형태에서, 항원은 친화도 크로마토그래피에 의해 항원-결합 파지를 정제시키는 고체 지지층 상에 고정된다. 일부 실시형태에서, 항원은 바이오텐화되며, 이에 의해 스트렙타비딘-코팅된 자기 비드를 사용하여 미결합 파지로부터 결합 파지를 분리시킨다. 일부 실시형태에서, 항원은 조직 동결절편(cryosection) 내 또는 막(예를 들어, 나일론 또는 나이트로셀룰로스 막) 상에서 세포(직접적 패닝을 위해) 상에 고정될 수 있다. 특정 패닝 과정의 다른 변형은 당업자에 의해 일상적으로 결정될 수 있다.

[0108] 일부 실시형태에서, 효소 디스플레이 시스템은 단클론성 항체를 생성하기 위하여 사용된다. 특정의 이러한 시스템에서, 항체는 효모 AGA2 단백질의 모두 또는 일부를 갖는 융합 단백질로서 발현되는데, 이는 효모 세포벽의 표면 상에 디스플레이된다. 특정의 이러한 실시형태에서, 원하는 결합 특이성을 갖는 항체를 발현시키는 효모 세포는 그 다음에 형광으로 표지된 항원에 세포를 노출시킴으로써 확인될 수 있다. 특정의 이러한 실시형태에서, 항원에 결합되는 효모 세포는 그 다음에 유세포 분석기에 의해 분리될 수 있다. 예를 들어, 문헌 [Boder et al. (1997) *Nat. Biotechnol.*, 15:553-557]을 참조한다.

5.2.3.3. 특정 친화도 성숙 방법

[0110] 일부 실시형태에서, 특정 항원에 대한 항체의 친화도는 항체에 시험관내 친화도 성숙(또는 "관련된 진화")을 실시함으로써 증가된다. 생체내, 천연 항체는 체세포 초돌연변이 다음에 선택을 통해 친화도 성숙을 겪는다. 일부 시험관내 방법은 생체내 과정을 모방하며, 이에 의해 천연 항체의 과정과 동일하거나 또는 천연 항체의 과정을 능가하는 친화도를 갖는 항체를 생성한다.

- [0111] 친화도 성숙의 일부 실시형태에서, 돌연변이는 원하는 결합 특이성을 갖는 항체의 가변 영역을 암호화하는 핵산 서열 내로 도입된다. 예를 들어, 문헌[Hudson et al. (2003) *Nat. Med.* 9:129-134; Brekke et al. (2002) *Nat. Reviews* 2:52-62]을 참조한다. 일부 실시형태에서, 돌연변이는 중쇄, 경쇄 또는 둘 다의 가변 영역 내로 도입된다. 일부 실시형태에서, 돌연변이는 하나 이상의 CDR 내로 도입된다. 특정의 이러한 실시형태에서, 돌연변이는 H3, L3 또는 둘 다에 도입된다. 일부 실시형태에서, 돌연변이는 하나 이상의 FR 내로 도입된다. 일부 실시형태에서, 돌연변이의 라이브러리는, 예를 들어 파지, 리보솜 또는 효모 디스플레이 라이브러리에서 만들어지며, 따라서 증가된 친화도를 갖는 항체는 표준 스크리닝 방법에 의해 확인될 수 있다. 예를 들어, 문헌[Boder et al. (2000) *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 97:10701-10705; Foote et al. (2000) *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 97:10679-10681; *Methods in Molecular Biology: Antibody Phage Display: Methods and Protocols* (2002) 178:1-37 (O'Brien and Aitken, eds., Human Press, Totowa, NJ)의 Hoogenboom, *Overview of Antibody Phage-Display Technology and Its Applications*; 및 Hanes et al. (1998) *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 95:14130-14135]을 참조한다.
- [0112] 일부 실시형태에서, 돌연변이는 항체의 구조, 예를 들어 항원 결합 부위 상의 정보에 기반한 부위-특이적 돌연변이유발에 의해 도입된다. 일부 실시형태에서, 돌연변이는 CDR의 조합 돌연변이유발을 사용하여 도입된다. 일부 실시형태에서, 가변 영역 암호 서열의 모두 또는 일부는, 예를 들어 이콜라이 돌연변이체 세포, 상동성 유전자 재배열 또는 실수 유발 PCR을 사용하여 무작위로 돌연변이유발된다. 일부 실시형태에서, 돌연변이는 "DNA 서플링(shuffling)"을 사용하여 도입된다. 예를 들어, 문헌[Crameri et al. (1996) *Nat. Med.* 2:100-102; Fermer et al. (2004) *Tumor Biol.* 25:7-13]을 참조한다.
- [0113] 일부 실시형태에서, "쇄 셔플링(chain shuffling)"은 증가된 친화도를 갖는 항체를 만들기 위해 사용된다. 쇄 셔플링의 일부 실시형태에서, 쇄, 예를 들어 경쇄 중 하나는 경쇄의 레퍼토리로 대체되는 반면, 다른 쇄, 예를 들어 중쇄는 변화되지 않고, 따라서 특이성을 제공한다. 특정의 이러한 실시형태에서, 쇄 셔플링된 항체의 라이브러리가 만들어지며, 미변화 중쇄는 경쇄의 레퍼토리로부터 각 경쇄와 조합되어 발현된다. 일부 실시형태에서, 이러한 라이브러리는 그 다음에 증가된 친화도로 항체에 대해 스크리닝될 수 있다. 일부 실시형태에서, 중쇄와 경쇄는 둘 다 순차적으로 대체된다. 일부 실시형태에서, 중쇄 및/또는 경쇄의 가변 영역만이 대체된다. 일부 실시형태에서, 가변 영역의 일부만이, 예를 들어 중쇄 및/또는 경쇄의 CDR이 대체된다. 예를 들어, 문헌[Hudson et al. (2003) *Nat. Med.* 9:129-134; Brekke et al. (2002) *Nat. Reviews* 2:52-62; Kang et al. (1991) *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 88:11120-11123; Marks et al. (1992) *Biotechnol.* 10:779-83]을 참조한다.
- [0114] 일부 실시형태에서, 인간 NOTUM에 특이적으로 결합하는 마우스 단클론성 항체(마우스 NOTUM에 대해 상승된 마우스 단클론성 항체를 포함하지만, 인간 NOTUM과 특이적으로 결합함(즉, 교차 반응함))는 순차적 쇄 셔플링이 실시된다. 일부 실시형태에서, 예를 들어 주어진 마우스 단클론성 항체의 중쇄는 인간 경쇄의 새로운 레퍼토리와 조합되며, 원하는 친화도를 갖는 항체가 선택된다. 특정의 이러한 실시형태에서, 선택된 항체의 경쇄는 그 다음에 인간 중쇄의 새로운 레퍼토리와 조합되고, 원하는 친화도를 갖는 항체가 선택된다. 따라서, 일부 실시형태에서, 원하는 항원 결합 특이성 및 친화도를 갖는 인간 항체가 선택된다.
- [0115] 대안적으로, 일부 실시형태에서, 주어진 마우스 단클론성 항체의 중쇄는 인간 경쇄의 새로운 레퍼토리와 조합되며, 원하는 친화도를 갖는 항체는 셔플링의 제1 라운드로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 본래의 마우스 단클론성 항체의 경쇄는 인간 중쇄의 새로운 레퍼토리와 조합되고, 원하는 친화도를 갖는 항체는 셔플링의 이런 제2 라운드로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 셔플링의 제1 라운드에서 선택된 항체로부터 인간 경쇄는 그 다음에 셔플링의 제2 라운드에서 선택된 항체로부터 인간 중쇄와 조합된다. 따라서, 일부 실시형태에서, 원하는 항원 결합 특이성 및 친화도를 갖는 인간 항체가 선택된다.
- [0116] 일부 실시형태에서, "리보솜 디스플레이" 방법은 친화도 성숙에 의해 항체 선택을 대체하는데 사용된다. 리보솜 디스플레이 방법의 일부 실시형태에서, 항체-암호화 핵산은 선택 단계 사이에 RT-PCR에 의해 증폭된다. 따라서, 일부 실시형태에서, 실수유발 중합효소는 핵산 내로 돌연변이를 도입하기 위하여 사용될 수 있다. 이러한 방법의 비제한적 예는 문헌[Hanes et al. (1998) *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 95:14130-14135]에 상세하게 기재되어 있다.
- [0117] 5.2.3.4. 특정 재조합 방법
- [0118] 일부 실시형태에서, 단클론성 항체는 재조합 기법에 의해 생성된다. 예를 들어, 미국특허 제4,816,567호를 참조한다. 특정의 이러한 실시형태에서, 단클론성 항체 쇄를 암호화하는 핵산은 적합한 숙주 세포에서 클로닝되고 발현된다. 단클론성 항체 쇄를 암호화하는 핵산은 적합한 숙주 세포에서 클로닝되고 발현된다. 예를 들어, 일부

실시형태에서, RNA는 표준 방법을 사용하여 성숙 B-세포 또는 하이브리도마 세포와 같이 원하는 항체를 발현시키는 세포로부터 제조될 수 있다. 일부 실시형태에서, RNA는 그 다음에 표준 방법을 사용하여 cDNA를 만들기 위해 사용될 수 있다. 일부 실시형태에서, 중쇄 또는 경쇄 폴리펩타이드를 암호화하는 cDNA는, 예를 들어 PCR에 의해 특이적 올리고뉴클레오타이드 프라이머에 의해 증폭된다. 일부 실시형태에서, cDNA는 적합한 발현 벡터내로 클로닝된다. 일부 실시형태에서, 그 다음에 발현 벡터는 내인성으로 항체를 생성하지 않는 숙주 세포와 같은 적합한 숙주 세포 내로 형질전환되거나 또는 형질감염(transfection)된다. 특정 대표적인 숙주 세포는, 이에 제한되는 것은 아니지만, 이콜라이, COS 세포, 중국 햄스터 난소(Chinese hamster ovary, CHO) 세포 및 골수종 세포를 포함한다. 일부 실시형태에서, 중쇄 및 경쇄는 동일 숙주 내에서 공동발현되며, 재구성된 항체는 분리될 수 있다.

[0119] 일부 실시형태에서, 중쇄 또는 경쇄를 암호화하는 cDNA는 변형될 수 있다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 마우스 중쇄 또는 경쇄의 불변 영역은 인간 중쇄 또는 경쇄의 불변 영역으로 대체될 수 있다. 이 방식에서, 일부 실시형태에서, 키메라 항체는 인간 항체 불변 영역을 소유하지만, 마우스 항체의 결합 특이성을 보유하도록 생성될 수 있다.

[0120] 일부 실시형태에서, 핵산분자는 NOTUM 중화 항체의 중쇄 또는 경쇄를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 단일 핵산 분자는 NOTUM 중화 항체의 중쇄를 암호화하는 제1 폴리뉴클레오타이드 서열 및 NOTUM 중화 항체의 경쇄를 암호화하는 제2 폴리뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 예를 들어, 항체가 단일-쇄 Fv(scFv)일 때, 중쇄에 대한 암호 서열 및 경쇄에 대한 암호 서열은 연속적 암호 서열의 부분이므로, 단일 폴리펩타이드가 발현되는데, 이는 항체의 중쇄와 경쇄를 둘 다 포함한다. 일부 실시형태에서, 중쇄와 경쇄를 둘 다 암호화하는 단일 핵산 분자는 별개의 폴리펩타이드로서 2개의 쇄를 발현시킬 수 있다. 일부 이러한 실시형태에서, 각각의 쇄는 별개의 프로모터의 제어하에 있다. 일부 실시형태에서, 2개의 쇄는 동일 프로모터의 제어하에 있다. 당업자라면 의도된 용도에 따라 NOTUM 중화 항체의 중쇄 및 경쇄에 대한 적합한 임체배치 및 적합한 제어 구성요소를 선택할 수 있다.

[0121] 일부 실시형태에서, 핵산은 특정 숙주 세포에서 중쇄 및/또는 경쇄를 발현시키기에 적합한 발현 벡터와 같은 벡터이다. 당업자라면 발현을 위해 사용되는 숙주 세포에 따라서 적합한 발현 벡터 또는 발현 벡터들을 선택할 수 있다. 다수의 대표적인 이러한 벡터는 당업계에 공지되어 있다.

[0122] 일부 실시형태에서, 핵산분자는 MAb 1.731, 1.802, 1.815, 1.846, 2.1029, 2.55, 2.78 및 이러한 MAb의 인간화된 형태로부터 선택된 NOTUM 중화 항체의 중쇄를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 일부 이러한 실시형태에서, 핵산분자는 서열번호 101, 103, 105, 107, 109, 111, 112, 115, 116, 119, 120, 123, 124, 127 및 128로부터 선택된 폴리뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 핵산분자는 MAb 1.731, 1.802, 1.815, 1.846, 2.1029, 2.55, 2.78 및 이러한 MAb의 인간화된 형태로부터 선택된 NOTUM 중화 항체의 경쇄를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 일부 이러한 실시형태에서, 핵산분자는 서열번호 102, 104, 106, 108, 110, 113, 114, 117, 118, 121, 122, 125, 126, 129 및 130으로부터 선택된 폴리뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 핵산분자는 MAb 1.731, 1.802, 1.815, 1.846, 2.1029, 2.55, 2.78, 및 이러한 MAb의 인간화된 형태로부터 선택된 NOTUM 중화 항체의, 중쇄를 암호화하는 제1 폴리뉴클레오타이드 서열 및 제2 폴리뉴클레오타이드 서열을 포함한다.

[0123] 일부 실시형태에서, 재조합 항체는 특정 세포주에서 발현될 수 있다. 일부 실시형태에서, 특정 항체를 암호화하는 서열은 적합한 포유류 숙주 세포의 형질전환을 위해 사용될 수 있다. 특정 실시형태에 따라, 형질전환은 숙주 세포 내로 폴리뉴클레오타이드를 도입하기 위한 임의의 공지된 방법에 의할 수 있다. 특정 대표적인 방법은, 이에 제한되는 것은 아니지만, 미국특허 제4,399,216호, 제4,912,040호, 제4,740,461호 및 제4,959,455호에 예시된 바와 같이 바이러스 내에서(또는 바이러스 벡터 내로) 폴리뉴클레오타이드를 패키징하는 단계 및 바이러스(또는 벡터)로 숙주 세포를 형질 도입하는 단계 및 당업계에 공지된 특정 형질감염 과정을 사용하는 단계를 포함한다. 일부 실시형태에서, 사용된 형질전환 과정은 형질전환되는 숙주에 의존할 수 있다. 비상동성 폴리뉴클레오타이드를 포유류 세포내로 도입하기 위한 특정 대표적인 방법은 당업계에 공지되며, 이에 제한되는 것은 아니지만, 엑스트란-매개 형질감염, 인산칼슘 침전, 폴리브レン 매개 형질감염, 프로토플라스트 융합, 전기천공법, 리포좀 내 폴리뉴클레오타이드(들)의 캡슐화 및 핵 내로 DNA의 직접적 마이크로주입을 포함한다.

[0124] 발현을 위한 숙주로서 입수가능한 특정 대표적인 포유류 세포주는 당업계에 공지되어 있고, 이에 제한되는 것은 아니지만, 중국 햄스터 난소(CHO) 세포, HeLa 세포, 새끼 햄스터 신장(baby hamster kidney, BHK) 세포, 원숭이 신장 세포(monkey kidney cell, COS), 인간 간암 세포(예를 들어 Hep G2) 및 다수의 다른 세포주를 포함하

는, 미국 미생물 보존센터(American Type Culture Collection, ATCC)로부터 입수 가능한 다수의 불멸 세포주를 포함한다. 일부 실시형태에서, 세포주가 NOTUM에 특이적으로 결합되는 높은 수준의 항체를 생성하는지를 결정함으로써 세포주가 선택될 수 있다.

[0125] 5.3. 치료 방법

본 발명은 환자에서 내부피질 뼈 형성을 자극하는 방법을 포함하는데, 이는 치료를 필요로 하는 환자에게 본 발명의 항체의 유효량을 투여하는 단계를 포함한다. 또한 치료를 필요로 하는 환자에게 본 발명의 항체의 유효량을 투여하는 단계를 포함하는, 피질 뼈 두께를 증가시키는 방법이 포함된다.

본 발명은 치료가 필요한 환자에게 본 발명의 항체의 치료적 또는 예방적 유효량을 투여하는 단계를 포함하는 뼈 손실과 관련된 질병 또는 장애를 치료하고, 관리하거나 또는 예방하는 방법을 포함한다. 질병 및 장애의 예는 골다공증(예를 들어, 폐경 후 골다공증, 스테로이드- 또는 글루코코르티코이드-유발 골다공증, 남성 골다공증 및 특발성 골다공증), 골감소증 및 파제트병을 포함한다.

또한 본 발명은 치료가 필요한 환자에게 본 발명의 항체의 치료적 또는 예방적 유효량을 투여하는 단계를 포함하는 뼈 파손을 치료하고, 관리하거나 또는 예방하는 방법이 포함된다. 특정 뼈 파손은 전이성 뼈 질병, 즉, 뼈에 전이된 암과 관련된다. 뼈에 전이될 수 있는 암의 예는 전립선암, 유방암, 폐암, 갑상선암 및 신장 암을 포함한다.

본 발명은 또한 치료가 필요한 환자에게 본 발명의 항체의 치료적 또는 예방적 유효량을 투여하는 단계를 포함하는 질병 또는 장애와 관련되거나 또는 질병 또는 장애에 의해 야기된 뼈 손실을 치료하고, 관리하거나 또는 예방하는 방법이 포함된다. 질병 및 장애의 예는 셀리악병, 크론병, 쿠싱 증후군, 부갑상선기능항진증, 염증성 장질환 및 궤양성 대장염을 포함한다.

본 발명의 방법으로부터 유리하게 될 수 있는 비제한적 대표적인 환자는 55세 이상의 남성 및 여성, 폐경기후 여성 및 신부전에 걸린 환자를 포함한다.

본 발명의 항체는 뼈에 영향을 미치는 질병 또는 질환의 치료, 관리 또는 예방에서 유용한 것으로 알려진 다른 약물과 조합되어(예를 들어 동시에 또는 상이한 시간에) 투여될 수 있다. 예는 안드로겐 수용체 조절자(modulator); 비스포스포네이트; 칼시토닌; 칼슘인지 수용체 길항물질; RANKL 항체, 카텝신 K 억제제; 에스트로겐 및 에스트로겐 수용체 조절자; 인테그린 결합제, 항체 및 수용체 길항물질; 부갑상선 호르몬(parathyroid hormone, PTH) 및 이것의 유사체 및 모방체; 및 비타민 D 및 합성 비타민 D 유사체를 포함한다.

안드로겐 수용체 조절자의 예는 피나스테라이드 및 다른 5 α -환원효소 억제제, 널루타마이드, 플루타마이드, 바이칼루타마이드, 리아로졸 및 아비라테론 아세테이트를 포함한다.

비스포스포네이트의 예는 알렌드로네이트, 시마드로네이트, 클로드로네이트, 에티드로네이트, 이반드로네이트, 인카드로네이트, 미노드로네이트, 네리드로네이트, 올파드로네이트, 파미드로네이트, 피리드로네이트, 리세드로네이트, 틸루드로네이트 및 졸렌드로네이트 및 약제학적으로 허용가능한 염 및 이것의 에스터를 포함한다.

카텝신 K 억제제의 예는 VEL-0230, AAE581(발리카팁), MV061194, SB-462795(릴라카팁), MK-0822(오다나카팁) 및 MK-1256을 포함한다.

에스트로겐 및 에스트로겐 수용체 조절자의 예는 자연적으로 발생하는 에스트로겐(예를 들어, 7-에스트라다이올, 에스트론 및 에스트라이올), 컨쥬케이트된 에스트로겐(예를 들어, 컨쥬케이트된 에퀸 에스트로겐), 경구용 피임약, 설레이트된 에스트로겐, 프로게스토겐, 에스트라다이올, 드롤록시펜, 랄록시펜, 라소록시펜, TSE-424, 타목시펜, 이독시펜, LY353381, LY117081, 토레미펜, 풀베스트란트, 4-[7-(2,2-다이메틸-1-옥소프로포시-4-메틸-2-[4-[2-(1-피페리디닐)에톡시]-페닐]-2H-1-벤조파이란-3-일]-페닐-2,2-다이메틸프로파네이트, 4,4'-다이하이드록시벤조페논-2,4-다이나이트로페닐-하이드라존 및 SH646을 포함한다.

인테그린 결합제, 항체 및 수용체 길항물질의 예는 비탁신(MEDI-522), 실렌지타이드 및 L-000845704를 포함한다.

[0137] 5.4. 약제학적 제형

본 발명은 본 발명의 하나 이상의 항체 및 선택적으로 상기 기재한 것과 같은 하나 이상의 다른 약물을 포함하는 약제학적 조성물을 포함한다.

- [0139] 일부 실시형태에서, NOTUM 중화 항체는 치료적 항체로서 사용될 수 있다. 치료적 항체로서 사용되는 대표적인 NOTUM 중화 항체는, 이에 제한되는 것은 아니지만, 키메라 항체, 인간화된 항체 및 인간 항체를 포함한다. 당업자라면 치료제로서 항체의 사용에 익숙하다.
- [0140] 일부 실시형태에서, NOTUM에 대한 항체의 유효량 및 약제학적으로 허용가능한 희석제, 담체, 가용화제, 에멀전화제, 보존제 및/또는 애주번트를 포함하는 약제학적 조성물이 제공된다. 일부 실시형태에서, NOTUM에 대한 항체의 유효량 및 약제학적으로 허용가능한 희석제, 담체, 가용화제, 에멀전화제, 보존제 및/또는 애주번트와 함께 적어도 하나의 추가적인 치료제의 유효량을 포함하는 약제학적 조성물이 제공된다. 일부 실시형태에서, 적어도 하나의 추가적인 치료제는 상기 기재된 것으로부터 선택된다.
- [0141] 일부 실시형태에서, 약제학적 조성물의 제형 물질은 사용된 투약량 및 농도에서 수용인에게 비독성이다.
- [0142] 일부 실시형태에서, 약제학적 조성물은, 예를 들어 pH, 삼투압, 점도, 선명도, 색, 등장성, 냄새, 멸균, 해리 또는 방출속도, 조성물의 흡착 또는 침투를 변형하고, 유지하거나 또는 보존하기 위한 제형 물질을 포함한다. 일부 실시형태에서, 적합한 제형 물질은, 이에 제한되는 것은 아니지만, 아미노산(예를 들어, 글라이신, 글루타민, 아스파라긴, 알기닌 및 리신); 항균제; 항산화제(예를 들어, 아스코르브산, 황산나트륨 및 아황산수소나트륨); 완충제(예를 들어, 봉산염, 중탄산염, 트리스-HCl, 시트레이트, 포스페이트 및 다른 유기산); 벌크제(예를 들어, 만니톨 및 글라이신); 퀼레이트제(예를 들어, 에틸렌다이아민 테트라아세트산(EDTA)); 착화제(예를 들어, 카페인, 폴리비닐피롤리돈, 베타-사이클로텍스트린 및 하이드록시프로필-베타-사이클로텍스트린); 충전제; 단당류, 이당류, 및 다른 탄수화물(예를 들어, 글루코스, 만노스 및 엑스트린); 단백질(예를 들어, 혈청 알부민, 젤라틴 및 면역글로불린); 착화제, 향미제 및 희석제; 에멀전화제; 친수성 폴리머(예를 들어, 폴리비닐피롤리돈); 저분자량 폴리펩타이드; 염-형성 반대이온(예를 들어, 나트륨); 보존제(예를 들어, 벤즈알코늄 클로라이드, 벤조산, 살리실산, 티메로살, 펜에틸 알코올, 메틸파라벤, 프로필파라벤, 클로르헥시딘, 소르브산 및 과산화수소); 용매(예를 들어, 글라이세린, 프로필렌 글라이콜 및 폴리에틸렌 글라이콜); 당 알코올(예를 들어, 만니톨 및 솔비톨); 혼탁제; 계면활성제 또는 습윤제(예를 들어, 플루로닉(pluronic), PEG, 솔비탄 에스터, 폴리솔베이트(예를 들어, 폴리솔베이트 20 및 폴리솔베이트 80), 트리톤, 트로메타민, 레시틴, 콜레스테롤 및 티록사팔); 안정성 향상제(예를 들어, 수크로스 및 솔비톨); 긴장성 향상제(예를 들어, 알칼리 금속 할로겐화물(예를 들어, 염화나트륨 또는 염화칼륨), 만니톨 및 솔비톨); 전달 비히클; 희석제; 부형제; 및 약제학적 애주번트를 포함한다. (*Remington's Pharmaceutical Sciences*, 18th Edition, A.R. Gennaro, ed., Mack Publishing Company (1990)).
- [0143] 일부 실시형태에서, NOTUM에 대한 항체 또는 다른 치료적 분자는 반감기 연장 비히클에 연결된다. 비제한적인 대표적 반감기 연장 비히클은 당업계에 공지된 것을 포함한다. 이러한 비히클은, 이에 제한되는 것은 아니지만, Fc 도메인, 폴리에틸렌 글라이콜 및 엑스트린을 포함한다. 대표적인 이러한 비히클은, 예를 들어 공개된 국제특허출원 WO 99/25044호에 기재되어 있다.
- [0144] 일부 실시형태에서, 최적의 약제학적 조성물은, 예를 들어 투여, 전달 형식 및 원하는 투약량의 의도된 투여 경로에 의해 결정될 것이다. 예를 들어, 문헌[*Remington's Pharmaceutical Sciences*, 상기 참조]을 참조한다. 일부 실시형태에서, 이러한 조성물은 생리적 상태, 안정성, 생체내 방출속도 또는 중화항체의 생체내 클리어런스(clearance)률에 영향을 미칠 수 있다.
- [0145] 일부 실시형태에서, 약제학적 조성을 내 1차 비히클 또는 담체는 사실상 수성 또는 비수성일 수 있다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 적합한 비히클 또는 담체는 가능하다면 비경구 투여를 위한 조성을에서 혼한 다른 물질과 함께 보충된 주사용수, 생리적 멸균 용액 또는 인공 뇌척수액일 수 있다. 대표적인 비히클은, 이에 제한되는 것은 아니지만, 중성 완충 식염수 및 혈청 알부민과 혼합된 식염수를 포함한다. 일부 실시형태에서, 약제학적 조성을 약 pH 7.0 내지 8.5의 트리스 완충제 또는 약 pH 4.0 내지 5.5의 아세테이트 완충제를 포함하며, 솔비톨 또는 그에 대해 적합한 치환물을 추가로 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 적어도 하나의 추가적인 치료제와 함께 또는 추가적인 치료제 없이 NOTUM에 대한 항체를 포함하는 조성을 동결건조된 케이크 또는 수용액의 형태로 선택적 제형화 작용제(*Remington's Pharmaceutical Sciences*, 상기 참조)와 원하는 순도를 갖는 선택된 조성을 혼합함으로써 저장을 위해 제조될 수 있다. 일부 실시형태에서, 적어도 하나의 추가적인 치료제와 함께 또는 추가적인 치료제 없이 NOTUM에 대한 항체를 포함하는 조성을 수크로스와 같은 적절한 부형제를 사용하여 동결건조물로서 제형화될 수 있다.
- [0146] 일부 실시형태에서, 약제학적 조성을 비경구 전달을 위해 선택된다. 일부 실시형태에서, 약제학적 조성을

흡입용으로 또는 경구와 같은 소화관을 통한 전달용으로 선택된다. 약제학적으로 허용가능한 조성물의 제조를 위한 다양한 기법은 당업자에게 공지되어 있다.

[0147] 일부 실시형태에서, 제형 성분은 투여 부위에 허용가능한 농도로 존재한다. 일부 실시형태에서, 완충제는 생리적 pH에서 또는 약간 더 낮은 pH에서, 전형적으로 약 5 내지 약 8의 pH 범위 내에서 조성물을 유지하기 위해 사용된다.

[0148] 일부 실시형태에서, 비경구 투여가 고려될 때, 약제학적 조성물은 약제학적으로 허용가능한 비히클에서 추가적인 치료제와 함께 또는 추가적인 치료제 없이 NOTUM에 대해 원하는 항체를 포함하는, 파이로젠(pyrogen)이 없는, 비경구로 허용가능한 수용액의 형태일 수 있다. 일부 실시형태에서, 비경구 주사용 비히클은 멸균 증류수이며, 이때 적어도 하나의 추가적인 치료제와 함께 또는 추가적인 치료제 없이 NOTUM에 대한 항체는 멸균, 등장 용액으로서 제형화되며, 적절하게 보존된다. 일부 실시형태에서, 제조는 주사가능한 마이크로스피어, 생분해성 입자, 폴리머 화합물(예컨대 폴리락트산 또는 폴리글라이콜산) 비드 또는 리포좀과 같은 작용제와 함께 원하는 분자의 제형을 수반할 수 있는데, 이는 생성물의 제어 방출 또는 지속 방출을 제공한 다음 테포 주사를 통해 전달될 수 있다. 일부 실시형태에서, 히알루론산이 또한 사용될 수 있으며, 순환에서 지속 기간을 촉진하는 효과를 가질 수 있다. 일부 실시형태에서, 이식가능한 약물 전달 장치가 사용되어 원하는 분자를 도입할 수 있다.

[0149] 일부 실시형태에서, 약제학적 조성물은 흡입을 위해 제형화될 수 있다. 일부 실시형태에서, 적어도 하나의 추가적인 치료제와 함께 또는 추가적인 치료제 없이 NOTUM에 대한 항체는 흡입을 위한 건조 분말로서 제형화될 수 있다. 일부 실시형태에서, 적어도 하나의 추가적인 치료제와 함께 또는 추가적인 치료제 없이 NOTUM에 대한 항체를 포함하는 흡입 용액은 에어로졸 전달을 위한 추진제와 함께 제형화될 수 있다. 일부 실시형태에서, 용액은 네뷸라이징(nebulize)될 수 있다.

[0150] 일부 실시형태에서, 제형은 경구로 투여될 수 있다. 일부 실시형태에서, 적어도 하나의 추가적인 치료제와 함께 또는 추가적인 치료제 없이 이런 방식으로 투여된 NOTUM에 대한 항체는 정제 및 캡슐과 같은 고체 투약형태의 조제에 관습적으로 사용되는 담체와 함께 또는 담체 없이 제형화될 수 있다. 일부 실시형태에서, 캡슐은 생체이 용가능성이 최대로되고, 침투전 분해가 최소화될 때 위장관 내 지점에서 제형의 활성 부분을 방출시키도록 설계될 수 있다. 일부 실시형태에서, 적어도 하나의 추가적인 작용제는 임의의 추가적인 치료제와 함께 또는 치료제 없이 NOTUM에 대한 항체의 흡수를 가능하게 하도록 포함될 수 있다. 일부 실시형태에서, 희석제, 향미제, 저용점 왁스, 식물성 오일, 윤활제, 혼탁제, 정제 봉해제 및/또는 결합제가 또한 사용될 수 있다.

[0151] 일부 실시형태에서, 약제학적 조성물은 정제의 제조에 적합한 비-독성 부형제와 혼합되어 적어도 하나의 추가적인 치료제와 함께 또는 치료제 없이 NOTUM에 대한 항체의 유효량을 포함한다. 일부 실시형태에서, 멸균수 또는 다른 적절한 비히클에 정제를 용해시킴으로써, 용액은 단위-투약 형태로 제조될 수 있다. 대표적인 부형제는, 이에 제한되는 것은 아니지만, 비활성 희석제(예를 들어, 탄산칼슘, 탄산나트륨, 중탄산나트륨, 락토스 및 인산 칼슘); 결합제(예를 들어 전분, 젤라틴 및 아카시아); 및 윤활제(예를 들어, 마그네슘 스테아레이트, 스테아르산 및 탈크)를 포함한다.

[0152] 추가적인 약제학적 조성물은 지속된- 또는 제어된-전달 조제물 내 적어도 하나의 추가적인 치료제와 함께 또는 추가적인 치료제 없이 NOTUM에 대한 항체를 포함하는 제형을 포함하여, 당업자에게 명백할 것이다. 대표적인 지속- 또는 제어-전달 조제물은, 이에 제한되는 것은 아니지만, 리포좀 담체, 생분해성 마이크로입자, 다공성 비드 및 테포 주사를 포함한다. 조제물을 제조하기 위한 다양한 기법은 당업자에게 공지되어 있다. 일부 실시형태에서, 지속-방출 제제는 성형된 물품, 예를 들어 필름 또는 마이크로캡슐의 형태로 반투과성 폴리머 매트릭스를 포함할 수 있다. 대표적인 지속 방출 매트릭스는, 이에 제한되는 것은 아니지만, 폴리에스터, 하이드로겔, 폴리락타이드(예를 들어 미국특허 제3,773,919호 및 유럽특허 제058,481호를 참조), L-글루탐산 및 감마 에틸-L-글루타메이트의 공중합체(예를 들어, 문헌[Sidman et al. (1983) *Biopolymers* 22:547-556]를 참조), 폴리(2-하이드록시에틸-메타크릴레이트)(예를 들어, 문헌[Langer et al. (1981) *J. Biomed. Mater. Res.* 15:167-277 및 Langer (1982) *Chem. Tech.* 12:98-105]을 참조), 에틸렌 비닐 아세테이트(Langer et al., 상기 참조), 및 폴리-D(-)-3-하이드록시뷰티르산(유럽특허 133,988호)을 포함한다. 일부 실시형태에서, 지속 방출 조성물은, 일부 실시형태에서 당업계에 공지된 임의의 몇몇 방법에 의해 제조될 수 있는 리포좀을 포함할 수 있다. 예를 들어, 문헌[Eppstein et al. (1985) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 82:3688-3692]; 유럽 특허 036,676호; 유럽 특허 088,046호; 및 유럽 특허 143,949호를 참조한다.

[0153] 일부 실시형태에서, 생체내 투여를 위해 사용되는 약제학적 조성물은 전형적으로 멸균이다. 일부 실시형태에서, 이는 멸균 여과막을 통한 여과에 의해 수행될 수 있다. 일부 실시형태에서, 조성물이 동결건조되는 경우, 이 방

법을 사용하는 멀균은 동결건조 및 재구성 전 또는 후 수행될 수 있다. 일부 실시형태에서, 비경구 투여를 위한 조성물은 동결건조된 형태로 또는 용액에 저장될 수 있다. 일부 실시형태에서, 비경구 조성물은 일반적으로 멀균 액서스 포트, 예를 들어 정맥내 용액 백 또는 피하 주사기 주사 바늘에 의해 구멍이 뚫릴 수 있는 마개를 갖는 바이알을 갖는 용기 내에 위치된다.

[0154] 일부 실시형태에서, 일단 약제학적 조성물이 제형화되면, 이는 용액, 혼탁액, 젤, 에멀전, 고체로서 또는 탈수되거나 또는 동결건조된 분말로서 멀균 바이알 내에 저장될 수 있다. 일부 실시형태에서, 이러한 조제물은 레디-투-유즈(ready-to-use) 형태로 또는 투여 전 재구성되는 형태(예를 들어 동결건조된)로 저장될 수 있다.

[0155] 일부 실시형태에서, 1회 용량 투여 단위를 생성하기 위한 키트가 제공된다. 일부 실시형태에서, 키트는 각각 원하는 단백질을 갖는 제1 용기와 수성 제형을 갖는 제2 용기를 둘 다 함유할 수 있다. 일부 실시형태에서, 1회 또는 다회-챔버의 사전-충전된 주사기(예를 들어 액체 주사기 및 리오주사기(lyosyringe))를 함유하는 키트가 포함된다.

[0156] 일부 실시형태에서, 적어도 하나의 추가적인 치료제와 함께 또는 추가적인 치료제 없이 치료적으로 사용되는 NOTUM에 대한 항체를 포함하는 약제학적 조성물의 유효량은, 예를 들어 치료 내용 및 목적에 의존할 것이다. 당업자라면 이렇게 하여 일부 실시형태에 따라 치료를 위한 적절한 투약량 수준이 전달되는 문자, 적어도 하나의 추가적인 치료제와 함께 또는 추가적인 치료제 없이 NOTUM에 대한 항체가 사용되는 적응증(indication), 투여 경로 및 크기(체중, 체표면 또는 기관 크기) 및/또는 환자의 상태(연령 및 일반적 건강상태)에 의존하여 다를 것이라는 것을 인식할 것이다. 일부 실시형태에서, 임상의는 최적의 치료 효과를 얻기 위하여 투약량을 정할 수 있고, 투여 경로를 변형할 수 있다. 일부 실시형태에서, 전형적인 투약량은 상기 언급한 인자에 의존하여 약 0.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 의 환자 체중 내지 약 100mg/kg 이상의 범위에 있을 수 있다. 일부 실시형태에서, 투약량은 앞서 언급한 임의의 종말점 사이의 모든 지점을 포함하여(분획을 포함) 0.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 내지 약 100mg/kg; 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 내지 약 100mg/kg; 또는 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 내지 약 100mg/kg의 범위에 있을 수 있다. 일부 실시형태에서, 투약량은 약 1mg/kg 체중 내지 약 60mg/kg 체중이다. 일부 실시형태에서, 투약량은 약 1mg/kg 체중, 약 3mg/kg 체중, 약 5mg/kg 체중, 약 10mg/kg 체중, 약 20mg/kg 체중, 약 30mg/kg 체중, 약 40mg/kg 체중, 약 50mg/kg 체중 또는 약 60mg/kg 체중이다.

[0157] 일부 실시형태에서, NOTUM에 대한 중화 항체의 인간 용량은 마우스, 개, 원숭이 등과 같은 다른 종에서 동일 항체의 효율적 용량에 기반하여 결정된다. 일부 실시형태에서, NOTUM에 대한 중화 항체의 인간 용량은 문헌 ["Guidance for Industry: Estimating the Maximum Safe Starting Dose in Initial Clinical Trials for Therapeutics in Adult Healthy Volunteers," U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, and Center for Drug Evaluation and Research (CDER), July 2005(Pharmacology and Toxicology)]을 사용하여 결정된다.

[0158] 일부 실시형태에서, 적합한 투약량은, 예를 들어 동물 연구에 기반하여 당업자에 의해 결정될 수 있다.

[0159] 다양한 실시형태에서, NOTUM에 대한 중화 항체는 1주당 2회, 1주당 1회, 2주당 1회, 1개월당 1회, 2개월당 1회 또는 훨씬 덜 빈번하게 환자에게 투여된다.

[0160] 일부 실시형태에서, 투약 빈도는 NOTUM에 대한 항체의 약동학적 변수 및 적용가능하다면, 사용된 조제물 내 임의의 추가적인 치료제를 고려할 것이다. 일부 실시형태에서, 임상의는 투약량이 원하는 효과를 달성하도록 도달될 때까지 조성물을 투여할 것이다. 일부 실시형태에서, 따라서 조성물은 1회 용량 또는 시간에 걸쳐 2회 이상의 용량(동일량의 원하는 분자를 함유할 수도 있고 함유하지 않을 수도 있음), 또는 이식 장치 또는 카테터를 통해 연속적 주입으로서 투여될 수 있다. 일부 실시형태에서, 적절한 투약량의 추가적인 정제는 당업자에 의해 일상적으로 만들어지며, 그것에 의해 일상적으로 수행된 작업의 범위 내에 있다. 일부 실시형태에서, 적절한 투약량은 적절한 용량-반응 데이터의 사용을 통해 확인될 수 있다. 일부 실시형태에서, 환자는 NOTUM에 대한 항체를 포함하는 1 용량의 약제학적 조성물을 받는다. 일부 실시형태에서, 1일당 1, 2, 3 또는 4 용량의 NOTUM에 대한 항체를 포함하는 약제학적 조성물을 받는다. 일부 실시형태에서, 환자는 1주당 1, 2, 3, 4, 5 또는 6 용량의 NOTUM에 대한 항체를 포함하는 약제학적 조성물을 받는다. 일부 실시형태에서, 환자는 1개월당 1, 2, 3 또는 4 용량의 NOTUM에 대한 항체를 포함하는 약제학적 조성물을 받는다.

[0161] 일부 실시형태에서, 약제학적 조성물의 투여 경로는 공지된 방법, 예를 들여 경구로, 피하, 정맥내, 복막내, 대뇌(뇌실질내), 뇌실내, 근육내, 안구내, 동맥내, 간문맥내, 병변내 경로에 따라; 지속 방출 시스템에 의해 또는 이식 장치에 의한다. 일부 실시형태에서, 조성물은 볼루스 주사 또는 연속적으로 주입에 의해, 또는 이식 장치

에 의해 투여될 수 있다.

[0162] 일부 실시형태에서, 조성물은 원하는 문자가 흡수되거나 또는 캡슐화된 막, 스폰지 또는 다른 적절한 물질의 이식을 통해 국소적으로 투여될 수 있다. 일부 실시형태에서, 이식 장치가 사용되는 경우, 장치는 임의의 적합한 조직 또는 기관 내로 이식될 수 있고, 원하는 문자의 전달은 확산, 시간-방출 볼루스 또는 연속적 투여를 통할 수 있다.

[0163] 일부 실시형태에서, 적어도 하나의 추가적인 치료제와 함께 또는 추가적인 치료제 없이 NOTUM에 대한 항체는 본 명세서에 기재된 것과 같은 방법을 사용하여 유전적으로 유전자 조작된 특정 세포를 이식함으로써 전달되어 폴리펩타이드를 발현시키고 분비한다. 일부 실시형태에서, 이러한 세포는 동물 또는 인간 세포일 수 있고, 자가조직, 이종기원 또는 이종발생일 수 있다. 일부 실시형태에서, 세포는 불멸일 수 있다. 일부 실시형태에서, 면역학적 반응의 기회를 감소시키기 위하여, 세포는 주변 조직의 침윤을 회피하도록 캡슐화될 수 있다. 일부 실시형태에서, 캡슐화 재료는 단백질 생성물(들)을 방출시키지만 환자의 면역 시스템에 의해 또는 주변 조직으로부터 다른 유해한 인자에 의해 세포의 파괴를 방지하는, 전형적으로 생체양립가능한, 반투과성 폴리머 엔클로저(enclosure) 또는 막이다.

6. 실시예

6.1. 녹-아웃 마우스

[0166] 인간 NOTUM 유전자의 뮤런 오솔로그(ortholog)에서 유전적으로 유전자조작된 돌연변이에 대한 마우스 동형 접합을 돌연변이된 뮤런 ES 세포 클론의 OMNIBANK 수집으로부터 대응하는 돌연변이된 배아 줄기(embryonic stem, ES) 세포 클론을 사용하여 만들었다(일반적으로, 미국특허 제6,080,576호를 참조). 간단히 말해서, 뮤런 NOTUM 좌우 내로 돌연변이 바이러스 삽입을 함유하는 ES 세포 클론을 차례로 가임신 암컷 숙주 내로 이식시키고 임신이 수행되는 배반포(blastocyst) 내로 미량주사하였다. 후속하여 얻어진 키메라 새끼를 C57 블랙 6마리 암컷 마우스에게 양육시켰고, 녹아웃 NOTUM 대립유전자의 생식계열 전달에 대해 새끼를 확인하였다. 돌연변이된 NOTUM 대립유전자에 이형 접합적인 동물은 후속하여 돌연변이된 NOTUM 대립유전자에 동형 접합적이고, 돌연변이된 NOTUM 대립유전자에 대해 이형 접합적인 새끼 또는 야생형 새끼를 대략 1:2:1의 비로 생성하도록 양육되었다.

[0167] NOTUM 유전자의 파괴에 대해 동형 접합적(-/-)인 마우스를 NOTUM 유전자의 파괴에 대해 이형 접합적(+/-)인 마우스 및 야생형(+/+) 한배새끼와 함께 연구하였다. 이 분석 동안, 설계된 의학적 진단 과정의 통합 세트를 사용하여 마우스에 의학적 검사를 실시하여 포유류 피험체에서 주요 기관 시스템의 기능을 평가하였다. 기재한 수의 동형 접합적(-/-) "녹아웃" 마우스를 이형 접합적 (+/-) 및 야생형(+/+) 한배새끼와 함께 연구함으로써, 더 신뢰할만하고, 반복가능한 데이터를 얻었다.

[0168] 도 1에 나타내는 바와 같이, NOTUM 유전자("hom")의 동형접합적 파괴를 갖는 수컷 마우스는 16주령에 그것의 야생형 한배새끼와 비교하여 다양한 뼈 부위에서 더 큰 피질 두께를 나타내었다(그룹 둘 다에 대한 마우스의 수 N = 10). 마이크로CT(Scanco μ CT40)에 의해 측정되는 이들 차이점은: 골간 대퇴골에서 28%(p < 0.001); 골간 상완골에서 19%(p < 0.001); 골간 경골에서 17%(p < 0.001); 및 경골-비골 접합에서 11%(p < 0.001)이었다. 도 2에 나타내는 바와 같이, 16주령에 NOTUM 돌연변이("het")에 이형 접합 마우스의 골간 대퇴골 피질 뼈 두께는 그것의 야생형 한배새끼의 골간 대퇴골 피질 뼈 두께보다 더 컸다: 수컷 het(N = 50)는 그것의 야생형 한배새끼(N = 23)와 비교하여 6%(p = 0.007) 증가를 나타내었고; 암컷 het(N = 57)는 그것의 야생형 한배새끼(N = 22)와 비교하여 9%(p < 0.001) 증가를 나타내었다.

[0169] NOTUM 동물에서 뼈 형성의 관찰된 재분배의 실행적 징후는 도 3 및 도 4에 반영되는데, 이는 표준 4-점 굽힘 시험을 사용하여 대퇴골 파괴 강도 시험의 결과를 나타낸다(SkeleTech에 의해 수행됨, 현재 Ricerca Biosciences). 16주령의 수컷 마우스에 대해 관찰한 결과를 제공하는 도 3에서 나타내는 바와 같이, het(N = 20)는 그것의 야생형 한배새끼(N = 23)와 비교하여 대퇴골 파괴 강도의 5%(p = 0.54) 증가를 나타낸 반면, hom(N = 17)은 28%(p < 0.001) 증가를 나타내었다. 다른 한편으로, NOTUM hom과 het는 둘 다의 척추 압박 시험은 야생형 대조군과 비교하여 최대 척추 압박 부하의 상당한 감소를 나타내지 않았다. 16주령의 암컷 마우스에 대해 유사한 결과를 관찰하였다. 도 4에서 나타내는 바와 같이, het(N = 20)는 그것의 야생형 한배새끼(N = 21)와 비교하여 대퇴골 파괴 강도의 12%(p = 0.04) 증가를 나타낸 반면, hom(N = 18)은 28%(p < 0.001) 증가를 나타내었다. 이들 및 다른 데이터의 분석은 피질 두께와 대퇴골 파괴 강도 사이의 강한 상관관계를 나타내었다.

6.2. 재조합 NOTUM 단백질의 생성 및 정제

[0171] 인간, 촉매적으로 불활성인 인간(S232A), 마우스, 촉매적으로 불활성인 마우스(S239A), 래트, 기니아 피그, 사

이노몰구스 원숭이 및 붉은털원숭이 NOTUM에 대한 전장 암호 서열은 각각 C-말단 6XHis 에피토프 태그를 가지며, 발현 벡터 pIRESpuro2(Clontech)로 서브클로닝시켰다. 발현 구성체를 사용하여 일시적 형질감염에 의해 분비된 NOTUM 단백질을 함유하는 조건화 배지를 만들거나 또는 조건화 배지의 더 많은 양의 생성을 위해, 예를 들어 NOTUM 단백질의 이후의 정제를 위해 안정한 형질감염체를 확립할 수 있다.

[0172] 리포펙타민2000(Lipofectamine2000)(Invitrogen)을 사용하여 HEK293F 세포를 형질감염시켰고, 진탕 플라스크에서 프리스타일(Freestyle) 293 발현 배지 (Invitrogen) 내 혼탁 배양물 중에서 성장시켰다. 일시적 형질감염을 위해, 조건화 배지를 형질감염 4일 후에 채취하였고, 멸균여과시켰으며, 4°C에서 저장하였다. NOTUM 단백질을 안정하게 발현시키는 세포주의 생성을 위하여, 퓨로마이신의 존재에서 발현 플라스미드의 유전자 통합을 선택하였다.

[0173] 항-His 항체를 사용하여 세포 용해물 및/또는 조건화 배지의 웨스턴 블롯에 의해 NOTUM 단백질의 발현 및 분비를 확인하였다. 제한 희석에 의한 NOTUM-생성 벌크 안정성 형질감염체의 서브클로닝은 상대적으로 높은 수준에서 NOTUM을 발현시키는 개개 클론의 항-His 웨스턴 블론에 의한 확인을 가능하게 하였다.

[0174] 10 내지 20 mg 규모에서 정제된 마우스 및 인간 NOTUM 단백질을 생성하기 위하여, 마우스 또는 인간 NOTUM 중 하나를 발현시키는 클론의 HEK293F 세포주를 3 l의 용적으로 혼탁 배양물 중에서 확장시켰다. 이 용적에서 세포 밀도가 ml 당 1×10^6 개의 생존 세포에 도달되었을 때, 세포를 원심분리에 의해 펠렛화하였고, 신선한 프리스타일 293 발현 배지 내에서 재현탁시켰으며, 추가적인 배지 변화 없이 추가 96시간 동안 배양물 중에서 유지시켰다. 96시간 후, 배양물을 채취하였고, 세포를 원심분리에 의해 펠렛화하였고, 조건화 배지를 멸균여과시켰으며, 이후의 과정동안 4°C에서 저장하였다.

[0175] 정제 바로 전, NOTUM-함유 조건화 배지를 3 l 내지 1 l로 농축시킨 다음, 10kDa 공칭 분자량 컷오프를 갖는 막을 사용하는 접선 유동(tangential flow) 여과에 의해 니켈 고정 금속 친화도 크로마토그래피(IMAC) 완충제(20 mM 트리스-HCl, 10 mM 이미다졸, 0.5 M NaCl, pH 7.4) 내로 완충제 교환하였다. 그 다음에 농축된, 완충 교환된 조건화 배지를 평형상태의, 니켈 부하된, 금속 칼레이트 컬럼에 적용시켰다. 결합된 단백질을 세척하였고, 이미다졸 농도 구배를 사용하여 용리시켰다. 순수한 NOTUM 단백질을 함유하는 용리 분획을 풀링시켰고, 인산염 완충 식염수에 대해 투석시켜 용리 완충제를 제거하였다. 정제된, 투석 단백질을 알리퀴트(aliquot)시켰고, -80 °C에서 냉동시켰다.

[0176] 단백질의 각 배치(batch)에 대해, 하나의 알리퀴트를 사용하여 바이신코닌산(bicinchoninic acid, BCA) 분석(일리노이주 랙포드에 소재한 Thermo Scientific)에 의해 단백질 농도, SDS PAGE 다음에 쿠마씨 또는 은 염색에 의해 순도, 무세포 OPTS 효소 분석(이하의 실시예 6.4.1에 기재됨)과 세포기반 Wnt 신호처리 분석(이하의 실시예 6.4.2에 기재됨)에서 활성, 및 리물러스 변형세포 용해물(Limulus Amoebocyte Lysate, LAL) 분석(스위스 바젤에 소재한 Lonza)에 의해 내독소 농도를 결정한다.

6.3. NOTUM에 대한 마우스 단클론성 항체의 생성

[0178] 2개의 별개의 면역화 캠페인(campaign)에서 정제된 재조합 인간 및 마우스 NOTUM 단백질에 대해 항체가 상승되었다.

[0179] 캠페인 1에서, NOTUM 유전자에서 유전자 트랩 삽입에 대해 동형 접합적이고, 따라서 내인성 NOTUM 단백질을 결여하는 마우스를 다음과 같은 인간 NOTUM 단백질로 면역화시켰다. 복막내로 주사한 완전 프로인트 애주번트 중의 20 μ g 인간 NOTUM 단백질로 마우스를 프라이밍시켰다. 2주 내지 3주마다 복막매로 주사한 불완전 프로인트 애주번트 중의 20 μ g 인간 NOTUM 단백질로 마우스를 부스팅하였다. ELISA에 의해 결정되는 바와 같이 인간 NOTUM에 대해 강한 혈청 역가를 나타내는 마우스는 정맥내(i.v.)로 주사된 PBS 중의 10 μ g 인간 NOTUM 단백질의 최종 부스트를 받았다.

[0180] 캠페인 2에서, NOTUM 유전자에서 유전자 트랩 삽입에 대해 동형 접합 마우스를 CpG DNA와 함께 TiterMax 애주번트 내 10 μ g 마우스 NOTUM 단백질의 프라이밍 면역화 다음에 3 또는 4일 간격으로 CpG DNA와 함께 알류(Alum) 애주번트 내 10 μ g 마우스 NOTUM 단백질의 10회 부스트에 의해 뒤 풋패드를 통해 면역화시켰다. PBS 중의 10 μ g 마우스 NOTUM 단백질로 최종 풋 패드 부스팅 후 높은 역가 마우스로부터 서혜부 및 슬와 림프절을 채취하였다.

[0181] i.v. 부스팅된 마우스로부터의 비장 또는 풋패드 면역화된 마우스로부터의 림프절을 최종 부스팅 4일 후 수집하였고, 민싱(mince)하고 염색하여 세포 혼탁액을 수득하였다. 적혈구 세포를 용해시키고, 비-B-세포 집단에 특이적인 항체로 코팅한 자기 비드를 사용하여 음성 선택에 의해 B-세포에 대해 세포 혼탁액을 풍부하게 하였다. 마우스 NS1 골수종 세포로 풍부하게 된 B-세포의 전기-세포 융합에 의해 하이브리도마를 만들었고, 하이포잔틴 및

아미노프테린을 함유하는 하이브리도마 배지 내 96-웰 플레이트 상에 시딩하여 생존 B-세포/골수종 세포 하이브리도마를 선택하였다.

[0182] ELISA 포맷에서 수동적으로 흡착된 NOTUM 단백질과 면역반응성을 위한 하이브리도마 조건화 배지를 분석함으로써 NOTUM-특이적 항체의 생성에 대해 하이브리도마를 스크리닝하였다. 마우스 및/또는 인간 NOTUM에 특이적인 항체를 분비하는 수백개의 하이브리도마를 면역화 캠페인 둘 다로부터 발견하였다.

6.4. NOTUM 중화 분석

6.4.1. OPTS 분석

[0184] OPTS 분석에서, 트라이소듐 8-옥타노일옥시파이レン-1,3,6-트라이설포네이트 (OPTS), 에스터라제 및 리파제의 형광계 분석을 위한 수용성 효소 기질을 사용하여 NOTUM 활성을 측정한다. OPTS에서 에스터 결합의 효소적 절단으로 형광 생성물을 수득한다.

[0185] 하이브리도마 조건화 배지는 아마도 OPTS를 또한 절단할 수 있는 가수분해효소의 죽은 세포로부터의 방출에 기인하여 OPTS 분석에서 일반적으로 간섭되는 것이 발견되었다. 이런 이유로, 본래 ELISA에 의해 가장 높은 수준의 결합 활성을 본래 나타내는 해당 계열에 대해 추가적인 하이브리도마 조건화 배지를 만들었고, 단백질 A 비드를 사용하는 친화도 크로마토그래피에 의해 96-웰 포맷에서 항체를 정제하였다. 그 다음에 이를 정제된 항체를 사전 정량화 없이 4-배 희석으로 OPTS 분석에서 시험하였다.

[0186] 384-웰 플레이트 상에서 항체를 4회 시험하였다. $4 \times$ 반응 완충제(20 mM CaCl₂, 2mM MgCl₂, 50mM 트리스-HCl, pH7.4) 중에서 125 ng의 정제한 NOTUM을 함유하는 12.5 μ l를 12.5 μ l의 정제한 항체에 첨가하였다. 혼합 후, 항체 및 NOTUM를 실온에서 20분 동안 인큐베이션시킨 다음 50 mM 트리스-HCl, pH7.4에서 25 μ l의 1.25 μ M OPTS(Sigma, catalog # 74875)를 첨가하였다. 혼합 후, 효소 반응을 실온에서 10분 동안 처리한 후, 25 μ l의 3% SDS의 첨가에 의해 반응을 중단시켰다. 485nm의 여기 과장과 535nm의 방출 과장으로 엔비전(Envision) 플레이트 판독기 상에서 플레이트를 판독하여 절단 생성물의 양을 정량화하였다.

[0187] 캠페인 1로부터 1,135 인간 NOTUM 면역반응성 하이브리도마의 스크리닝으로 인간 NOTUM의 70% 초과를 나타낸 3개의 항체를 수득하였다. 클론의 하이브리도마로부터 50ml 조건화 배지를 사용하는 단백질 A 친화도 크로마토그래피에 의한 소규모 정제 항체 생성 및 한계 희석에 의해 서브클로닝하기 위하여 OPTS 분석에서 일부 중화 정도를 나타내는 추가적인 5개 하이브리도마와 함께 이를 3개의 항체를 선택하였다.

[0188] 캠페인 2로부터 확인한 1,056 마우스 NOTUM 면역반응성 하이브리도마의 OPTS 분석 스크리닝으로 마우스 NOTUM의 50% 초과 억제를 나타낸 6개의 항체를 수득하였다. 클론의 하이브리도마로부터 50ml 조건화 배지를 사용하는 단백질 A 친화도 크로마토그래피에 의한 소규모 정제 항체 생성 및 한계 희석에 의해 서브클로닝하기 위하여 OPTS 분석에서 일부 중화 정도를 나타내는 추가적인 6개의 하이브리도마와 함께 이를 6개의 항체를 선택하였다.

6.4.2. Wnt 신호처리 분석

[0189] NOTUM은 Wnt 신호처리의 네거티브 조절자로서 작용할 수 있다. 셀센서(CellSensor(등록상표)) 기법 및 다음과 같이 제조하는 조건화 배지를 사용하는 Wnt 신호처리 분석에서 Wnt 신호처리 상의 효과를 통해 결정된 항체 중화 활성을 결정하였다. pcDNA3.1(+) 벡터에서 인간 NOTUM을 함유하는 플라스미드를 HEK293 세포 내로 형질감염시켰고, 400 μ g/ml의 G418의 존재에서 성장시킴으로써 클론을 선택하였다. 이를 세포로부터의 조건화 배지를 분석을 위해 사용하였다. Wnt3a를 과발현시키고 조건화 배지 내로 분비하는 L 세포를 ATCC로부터 구입하였다.

[0190] 분석 프로토콜은 다음과 같다. CellSensor(등록상표)LEF/TCF-bla 프리스타일(FreeStyle(상표명)) 293F 세포(Invitrogen)를 10% 투석된 FBS, 5 μ g/ml 블라스티시딘(Blasticidin)(Invitrogen, R210-01), 0.1 mM NEAA, 25 mM HEPES 및 1×GPS와 함께 DMEM 중에서 15-cm 플레이트 내 컨플류언시(confluence) 근처에서 성장시켰다. 세포를 우선 PBS로 세정한 후 5 ml 트립신을 첨가함으로써 트립신화하였고, 실온에서 2분 동안 플레이트를 인큐베이션시켰다. 그 다음에 전체 10ml의 분석 배지(Opti-MEM + 0.5% 투석된 FBS, 0.1 mM NEAA, 1mM 피루브산나트륨, 10 mM HEPES, 1× GPS)를 15cm 플레이트마다 첨가하였다. 세포를 계측하였고, ml 당 50,000개 세포에서 혼탁시켰다. 세포를 웰 마다 20 μ l당 10000개 세포의 밀도로 Biocoat 384-웰 플레이트(Fisher, 카탈로그 #356663) 내로 시팅하였다. 37°C에서 3시간 인큐베이션시킨 후, 분석 배지 내 10 μ l의 30 mM LiCl을 웰마다 첨가한 후, 37°C에서 밤새 인큐베이션시켰다. 다음날, 분석 배지 둘 다에서 15 μ l의 항체 및 15 μ l의 정제된 NOTUM를 96-웰 플레이트 내 실온에서 30분 동안 45 μ l 분석 배지의 전체 용적에서 공동인큐베이션시켰다. 사전에 결정한 농도로 NOTUM을 사용하여 분석에서 50% 억제, 전형적으로 25nM을 제공하였다. 30분 인큐베이션 후, 15 μ l의 미희석

L-Wnt3a 조건화 배지를 $45 \mu\text{l}$ 항체/NOTUM 혼합물에 첨가하였고, $10 \mu\text{l}$ 의 얻어진 혼합물을 CellSensor(등록상표) 세포를 함유하는 384-웰 플레이트의 웰에 4회 첨가하였다. 대조군은 임의의 세포가 없는 웰, NOTUM이 없는 웰 및 L-Wnt3a 조건화 배지가 없는 웰을 포함하였다. 분석 플레이트를 37°C 에서 5시간 동안 인큐베이션시켜 Wnt-매개 베타-락타마제 상향조절을 가능하게 한 다음, $8 \mu\text{l}$ LiveBLAzer(상표명)-FRET B/G 기질(CCF4-AM, Invitrogen)을 각 웰에 첨가하였으며, 플레이트를 실온에서 3시간 동안 암실 내에서 인큐베이션시켰다. 그 다음에 플레이트를 400nm 의 여기 광장 및 460nm 및 535nm 의 방출 광장을 사용하여 엔비전 플레이트 판독기 상에서 판독하였다.

[0193] 6.5. NOTUM 중화 항체의 특성규명(characterization)

클론 하이브리도마로부터 정제된 항체를 ELISA에 의한 그것의 종 교차 반응성에 대해, 웨스턴 블롯에 의해 감소되고, 변성된 NOTUM 단백질을 인식하는 그것의 능력에 대해 및 실시예 6.4에서 상기 기재된 무세포 OPTS 분석 및 세포-기반 Wnt 신호처리 분석에서 그것의 중화 효능에 대해 특성규명하였다.

캠페인 1로부터의 단클론성 항체의 기능적 시험은 1 내지 10nM 의 범위에서 IC_{50} 을 갖는 OPTS와 Wnt 신호처리 분석 둘 다에서 인간 NOTUM을 중화시키는 3개의 항체 1.802, 1.815, 1.846를 나타내었다. 이들 항체는 마우스 NOTUM의 활성에 어떤 효과를 가지지 않으며, 인간 NOTUM에 결합하지만 마우스 NOTUM에 결합하지 않는 것을 ELISA에 의해 나타내었다. 더 나아가, NOTUM 단백질이 분석 플레이트에 수동적으로 흡착되고 항-His 디스플레이된 인간 NOTUM 단백질에 대해 훨씬 더 민감할 때, 이들 항체는 단지 약하게 인간 NOTUM을 인식하였다.

표 1은 캠페인 1로부터 특정 항체에 대한 다양한 특성규명 실험 결과를 나타낸다. 이하의 실시예 6.6에 기재된 방법을 사용하여 "Bin" 열의 데이터를 만들었다.

표 1

인간 NOTUM에 대해 상승된 특정 항체의 특성규명								
항체	아이소 타입	Bin	OPTS IC_{50} (nM; 인간 NOTUM)	Wnt 신호처리 IC_{50} (nM; 인간 NOTUM)	OPTS IC_{50} (nM; 마우스 NOTUM)	Wnt 신호처리 IC_{50} (nM; 마우스 NOTUM)	마우스 NOTUM 결 합	웨스턴 블롯 결 합
1.802	IgG1	1	6.44	5.71	억제 없음	억제 없음	없음	없음
1.815	IgG1	1	7.62	6.88	억제 없음	nd	없음	없음
1.846	IgG2b	1	10.07	1.70	억제 없음	nd	없음	없음
1.731	IgG1	3	>166.67	15.52	196.74	억제 없음	있음	있음
1.655	IgG1	3	>166.67	nd	>166.67	nd	nd	있음
1.168	IgG2a	4	56.61	억제 없음	억제 없음	nd	있음	있음
1.712	IgG2a	2	125.36	58.49	억제 없음	nd	있음	있음
1.807	IgG2a	2	nd	억제 없음	억제 없음	nd	있음	있음

캠페인 2로부터 단클론성 항체의 기능적 시험은 흥미로운 활성 프로파일을 나타내었다. 특히, MAb 2.78은 3 내지 50nM 의 범위에서 IC_{50} 을 갖는 OPTS와 Wnt 신호처리 분석 둘 다에서 마우스와 인간 NOTUM을 둘 다 중화시키지만, MAb 2.1029는 5 내지 30nM 의 범위에서 IC_{50} 을 갖는 OPTS 분석에서 마우스와 인간 NOTUM을 둘 다 중화시키지만, 14nM 의 IC_{50} 을 갖는 Wnt 신호처리 분석에서 단지 인간 NOTUM을 중화시킨다. 이 후자의 관찰은 재조합 마우스 및 인간 NOTUM의 품질에서 일부 차이가 있다는 것을 확인하였다. 단백질 사이의 하나의 공지된 차이점은 재조합 마우스 NOTUM이 재조합 인간 인간 NOTUM보다 훨씬 더 큰 정도로 멀티머/옹집물로서 존재한다는 점이다. 웨스턴 블로팅에 의해 2.78로도 또는 2.1029로도 인식되지 않은 감소된, 변성 NOTUM 단백질 및 둘 다는 수동적으로 흡착된 NOTUM보다 항-His 디스플레이된 NOTUM과 실질적으로 더 면역반응성이다.

표 2는 캠페인 2로부터 특정 항체에 대해 다양한 특성규명 실험의 결과를 나타낸다. "Bin" 열의 데이터를 이하의 실시예 6.6에 기재된 방법을 사용하여 만들었다.

표 2

마우스 NOTUM에 대해 상승된 특정 항체의 특성규명								
항체	아이소 타입	Bin	OPTS IC ₅₀ (nM; 마우스 NOTUM)	Wnt 신호처리 IC ₅₀ (nM; 마우스 NOTUM)	OPTS IC ₅₀ (nM; 인간 NOTUM)	Wnt 신호처리 IC ₅₀ (nM; 인간 NOTUM)	인간 NOTUM 결합	웨스턴 블롯 결합
2.78	IgG2b	2	35.65	3.75	15.49	45.94	있음	없음
2.1029	IgG2a	3	29.19	억제 없음	5.77	14.02	있음	없음
2.816	IgG2a	3	31.70	억제 없음	억제 없음	39.11	있음	없음
2.856	IgG2b	3	37.70	억제 없음	억제 없음	억제 없음	있음	없음
2.1001	IgG2b	3	>166.67	억제 없음	억제 없음	억제 없음	없음	있음
2.55	IgG2a	1	26.13	억제 없음	억제 없음	억제 없음	있음	있음
2.1002	IgG2a	1	42.39	억제 없음	억제 없음	억제 없음	있음	있음
2.497	IgG2a	1	54.95	억제 없음	억제 없음	억제 없음	있음	있음
2.341	IgG2a	1	56.95	억제 없음	억제 없음	억제 없음	있음	있음
2.236	IgG2a	1	64.54	억제 없음	억제 없음	억제 없음	있음	있음
2.688	IgG2a	4	억제 없음	억제 없음	12.84	억제 없음	있음	없음
2.1006	IgG2a	5	>166.67	억제 없음	>166.67	억제 없음	있음	있음
[†] 최대 억제 ≈ 50%.								

6.6. NOTUM 중화 항체를 사용하는 결합 경쟁 연구

면역화 캠페인 둘 다로부터의 항체를 에피토프 결합 분석에서 NOTUM 단백질에 대해 서로의 결합을 방해하는 그 것의 능력에 대해 평가하였다. 항-His 포획 NOTUM 단백질을 사용하는 ELISA 포맷에서 이 분석을 수행하였다. 포획 NOTUM 단백질을 과량의 미표지 NOTUM-특이적 항체('차단' 항체) 다음에 비오틴화된 NOTUM-특이적 항체('프로프' 항체)와 함께 인큐베이션시켰다. 프로브 항체의 결합을 스트렙타비딘에 컨쥬게이트된 HRP를 사용하여 측정하였다. 2개의 항체가 동일 에피토프 공간 내 결합을 위해 경쟁하거나 또는 차단 항체가, 예를 들어 다른자리 임체성(allosteric) 방해에 의해 프로브 항체의 결합 능력에 달리 영향을 미친다면 신호는 만들어지지 않는다. 2개의 항체가 서로 방해하지 않는다면, 차단 항체의 부재에서 시험한 비오틴화된 항체의 신호와 유사한 신호가 만들어진다. 항체를 상호간 매트릭스 포맷에서 시험한다. 전형적으로, 항체의 쌍은 둘 중에서 프로브 항체인 차단 항체가 있는 것과 상관없이 동일 수준의 방해를 나타낼 것이다. 유사한 프로파일을 나타내는 항체는 동일 에피토프 'bin'에 배치된다.

이 방법을 사용하여, MAb 1.802, 1.815, 1.846, 2.78 및 2.1029는 모두 인간 인간 NOTUM에 대해 서로의 결합을 방해하는 반면, 그것들은 몇몇 다른 덜 강력한 중화제 또는 비-중화제의 결합을 방해하지 않는 것으로 나타났다.

6.7. NOTUM 중화 항체의 에피토프 맵핑

맵핑하기 위한 노력에서 인간 NOTUM-특이적 MAb 1.802, 1.815 및 1.846, 인간/마우스 키메라 NOTUM 단백질의 결합에 수반된 아미노산을 인간 및 마우스 서열의 혼합물에 의한 NOTUM 오픈 리딩 프레임을 암호화하는 발현 구성체의 HEK293F에서 일시적 형질감염에 의해 생성하였다. 항-His 항체에 의한 웨스턴 블로팅에 의해 및 OPTS 분석에 의해, 이들 형질감염으로부터의 조건화 배지는 기능성 NOTUM 키메라를 함유하였다.

도 5는 본 실험에 사용한 인간/마우스 키메라 NOTUM 단백질의 개략적 표현을 나타낸다. 해당 단백질의 서열을 부문 7(서열의 표)에 나타낸다. 항체 특이성을 결정하기 위하여 ELISA 포맷에서 조건화 배지를 사용하였다. 특정 키메라에 인간-특이적 MAb 결합의 손실에 기반하여, MAb 1.802, 1.815 및 1.846(이들 모두는 "Bin 1" 항체임)은 결합에 대해 Q47과 M177 사이의 인간 NOTUM 아미노산에 의존한다는 것을 결정하였다. 도 5를 참조한다. 이 영역 내에서, 마우스 및 인간 NOTUM은 5개의 위치에서 다르다(인간 서열 넘버링에 기반한 R115K, D141S, R150K, R154H 및 Y171H). 인간 NOTUM 점 돌연변이체를 이들 5개 위치 각각에서 마우스 아미노산과 함께 인간 NOTUM을 발현시키는 구성체의 일시적 형질감염에 의해 만들었고, 점 돌연변이체는 모두 OPTS 분석에서 기능적이 되는 것으로 나타났다. ELISA에 의해, MAb 1.802, 1.815 및 1.846은 인간 NOTUM D141S을 제외하고 모든 점 돌

연변이체에 결합되었는데, 이는 이 아미노산이 인간 NOTUM에 그것을 결합시키는데 중요하다는 것은 표시한다. 상호간 점 돌연변이를 갖는 마우스 NOTUM, 마우스 NOTUM S148D를 일시적 형질감염에 의해 만들었고, OPTS 분석에서 활성이 되는 것으로 나타났으며, 인간 NOTUM-특이적 MAb의 결합을 지지하는 것으로 나타났다. 따라서, MAb 1.802, 1.815 및 1.846의 종 특이성은, 천연 인간 NOTUM 단백질 내 아스팔트산인 인간 NOTUM의 위치 141에서 아미노산에 의존하는 것으로 나타났다.

[0207] 키메라 접근은 MAb 2.78 또는 2.1029의 결합에 수반된 아미노산을 맵핑하기 위하여 사용될 수 없는데, 그것들이 인간과 마우스 NOTUM 둘 다와 교차반응되기 때문이다. MAb 1.802, 1.815, 1.846, 2.78 및 2.1029이 서로의 결합을 방해한다는 발견을 기반으로, 인간 D141의 부근에서 하전된 아미노산 잔기의 알라닌 돌연변이유발을 수행하였다. 5개의 인간 NOTUM 돌연변이체를 구성하였으며, 하전된 잔기 쌍을 갖는 각각은 알라닌으로 돌연변이되었다: 인간 NOTUM N132A/R133A(서열번호 96); 인간 NOTUM E134A/N135A(서열번호 97); 인간 NOTUM D137A/R139A(서열번호 98); 인간 NOTUM R144A/R145A(서열번호 99); 및 인간 NOTUM R150A/D151A(서열번호 100). 모두 5개의 인간 돌연변이체를 효과적으로 발현시켰고, 일시적 형질감염 후 분비시켰다. 5개의 돌연변이체 중 4개가 OPTS 분석에서 상당한 활성을 나타낸 반면, 5번째(인간 NOTUM D137A/R139A)는 활성을 거의 내지 전혀 나타내지 않았다. 모두 5개의 돌연변이체를 캠페인 1 및 캠페인 2 MAb 중 적어도 일부에 의한 ELISA 포맷에서 검출하였다. MAb 2.78은 인간 NOTUM D137A/R139A 및 인간 NOTUM R144A/R145A에 결합하지 않은 반면, MAb 1.802, 1.815 및 1.846은 NOTUM R144A/R145A에만 결합하지 않았다. MAb 2.1029는 모두 5개의 알라닌 돌연변이체와 면역반응성이다.

6.8. NOTUM 중화 항체의 결합 친화도

[0209] 특정 항-NOTUM MAb의 결합 친화도를 바이아코어(Biacore) 3000을 사용하여 결정하였다. 멀티머 마우스 NOTUM 단백질에 결합을 위한 중요한 친화도 값을 얻기 위하여, 프로테아제 피신(Ficin)에 의한 전체 IgG의 분해에 의해 항체 FAb 단편을 만든 후, 단백질 A 친화도 크로마토그래피에 의해 미분해 IgG 및 Fc 단편을 제거하였다. FAb의 결합에 대한 친화도 값 및 대응되는 인간 NOTUM에 대한 전체 IgG 및 그것의 친화도 값은 표 3에서 나타내는 바와 같이 한자리 내지 낮은 두자리수의 nM 범위에 있다.

표 3

인간 및 마우스 NOTUM에 대해 상승된 특정 항체의 결합 친화도			
인간 NOTUM에 대한 친화도			
항체 또는 단편	K_D (nM)	k_{on} ($M^{-1} sec^{-1}$)	k_{off} ($M^{-1} sec^{-1}$)
1.802 IgG	1.42	2.57×10^5	3.65×10^{-4}
1.802 Fab	0.91	8.99×10^5	8.20×10^{-4}
2.78 IgG	17.6	4.79×10^4	8.41×10^{-4}
2.78 Fab	15.4	8.77×10^4	1.36×10^{-3}
2.1029 IgG	5.99	1.51×10^5	9.08×10^{-4}
마우스 NOTUM에 대한 친화도			
항체 또는 단편	K_D (nM)	k_{on} ($M^{-1} sec^{-1}$)	k_{off} ($M^{-1} sec^{-1}$)
1.802 Fab	관찰된 결합 없음		
2.78 Fab	4.99	3.91×10^4	1.95×10^{-4}

6.9. 마우스에 NOTUM 중화 항체의 투여

6.9.1. 8주 동안 매주 NOTUM 중화 항체의 투여

[0213] 8주령 수컷 F1 혼성체(129 × C57) 마우스를 8주 동안 1주일에 1회 30mg/kg으로 복강내 주사에 의해 NOTUM 중화 항체 2.1029 또는 2.78b, 또는 대조군 항체에 투여하였다. 그룹 당 12마리 마우스가 있었다. 연구의 마지막에, 마우스를 희생시켰다. 240의 역치값, 200 밀리초의 노출시간(integration time), 및 55 keV의 X-레이 튜브 전압을 갖는 Scanco μCT40를 사용하여, 마이크로CT 후 부검에 의해 뼈 질량 및 구조를 결정하였다.

[0214] 도 6에서 나타내는 바와 같이, 골간 대퇴골 피질 두께는 대조군 항체와 비교하여 NOTUM 중화 항체 2.1029의 투

여에 의해 12%($P < 0.001$), 및 NOTUM 중화 항체 2.78b의 투여에 의해 16%($P < 0.001$) 증가되었다.

[0215] 6.9.2. 4주 동안 매주 NOTUM 중화 항체 2.1029의 투여

8주령 수컷 F1 혼성체(129 × C57) 마우스에 4주 동안 1주일에 1회 3mg/kg, 10mg/kg 또는 30mg/kg로 복강내 주사에 의해 NOTUM 중화 항체 2.1029를 투여하였다. 그룹당 10마리의 마우스가 있었다. 연구의 마지막에, 마우스를 희생시켰다. 240의 역치값, 200 밀리초의 노출시간, 및 55 keV의 X-레이 튜브 전압을 갖는 Scanco μCT40를 사용하여, 마이크로CT 후 부검에 의해 뼈 질량 및 구조를 결정하였다.

도 7에서 나타내는 바와 같이, 골간 대퇴골 피질 두께는 대조군 항체의 투여에 비하여 30mg/kg NOTUM 중화 항체 2.1029의 투여에 의해 5%($P = 0.12$)만큼 증가되었다.

[0218] 6.9.3. 4주 동안 매주 NOTUM 중화 항체 2.78b의 투여

8주령 수컷 F1 혼성체(129 × C57) 마우스에 4주 동안 1주일에 1회 3mg/kg, 10mg/kg 또는 30mg/kg로 복강내 주사에 의해 NOTUM 중화 항체 2.78b를 투여하였다. 제1 실험에서 그룹당 10마리의 마우스가 있었다. 제2 실험에서, 4주 동안 1주일에 1회 0.3mg/kg, 1mg/kg 또는 3mg/kg로 복강내 주사에 의해 NOTUM 중화 항체 2.78b를 투여하였다. 제2 실험에서 그룹당 12마리의 마우스가 있었다. 각 연구의 마지막에, 마우스를 희생시켰다. 240의 역치값, 200 밀리초의 노출시간, 및 55 keV의 X-레이 튜브 전압을 갖는 Scanco μCT40를 사용하여, 마이크로CT 후 부검에 의해 뼈 질량 및 구조를 결정하였다.

도 8A에서 나타내는 바와 같이, 골간 대퇴골 피질 두께는 제1 실험에서 대조군 항체의 투여에 비하여 NOTUM 중화 항체 2.78b의 3mg/kg, 10mg/kg 및 30mg/kg 투여에 의해 각각 13%($P < 0.001$), 17%($P < 0.001$) 및 16%($P < 0.001$)만큼 증가되었다. 도 8B에서 나타내는 바와 같이, 골간 대퇴골 피질 두께는 제2 실험에서 대조군 항체의 투여에 비하여 NOTUM 중화 항체 2.78b의 0.3mg/kg, 1mg/kg 및 3mg/kg의 투여에 의해 각각 3%($P=0.46$), 7%($P = 0.01$) 및 10%($P < 0.001$)만큼 증가되었다.

[0221] 6.9.4. 콜레드로네이트 사전처리와 함께 4주 동안 매주 NOTUM 중화 항체 2.78b의 투여

28-주령 수컷 F1 혼성체 마우스(129 × C57)에 복강내 주사에 의해 1회 용량 50 μg/kg 콜레드로네이트를 투여하였다. 콜레드로네이트의 투약 4주 후, 마우스에 4주 동안 매주 복강내 주사에 의해 10mg/kg NOTUM 중화 항체 2.78b를 투여하였다. 각 연구의 마지막에, 마우스를 희생시켰다. 그룹 당 11 또는 12마리의 마우스가 있었다. 240의 역치값, 200 밀리초의 노출시간, 및 55 keV의 X-레이 튜브 전압을 갖는 Scanco μCT40를 사용하여, 마이크로CT 후 부검에 의해 뼈 질량 및 구조를 결정하였다. 추가로 Mab 2.78b의 첫번째 투약 후 제7일에 상업적으로 입수 가능한 ELISA 분석(Immunodiagnostic Systems, Scottsdale, AZ)을 사용하여 뼈 형성 마커인 PINP의 혈청 수준을 측정하였다.

도 9A에 나타내는 바와 같이, 골간 대퇴골 피질 두께는 식염수와 대조군 항체가 투여된 마우스에 비하여, 콜레드로네이트와 대조군 항체가 투여된 마우스에서 10 μm, 또는 4%($P = 0.31$)만큼 증가되었다. 골간 대퇴골 피질 두께는 식염수와 대조군 항체가 투여된 마우스에 비하여, 콜레드로네이트 사전처리 없이 NOTUM 중화 항체 2.78b 가 투여된 마우스에서 23 μm 또는 9%($P < 0.001$)만큼 증가되었고, 콜레드로네이트와 대조군 항체가 투여된 마우스에 비하여 콜레드로네이트 사전처리와 함께 NOTUM 중화 항체 2.78b가 투여된 마우스에서 14 μm 또는 5%($P = 0.06$)만큼 증가되었다. 도 9B는 식염수와 대조군 항체가 투여된 마우스에 대해 콜레드로네이트 처리 및 대조군 항체가 투여된 마우스에서 혈청 PINP 수준이 15 ng/ml 또는 50%($P < 0.001$)만큼 감소되었음을 나타낸다. PINP 수준은 식염수 및 대조군 항체가 투여된 마우스에 비해 콜레드로네이트 사전처리가 없는 NOTUM 중화 항체 2.78b 가 투여된 마우스에서 14 ng/ml 또는 47%($P < 0.001$)만큼 증가되었고, 콜레드로네이트 및 대조군 항체가 투여된 마우스에 비해 콜레드로네이트 사전처리와 함께 NOTUM 중화 항체 2.78b가 투여된 마우스에서 12 ng/ml, 또는 79%($P < 0.001$)만큼 증가되었다.

[0224] 6.9.5. 4주 동안 NOTUM 중화 항체 2.78a의 투여

이 실험에 대해, IgG2b 항체인 Mab 2.78(또한 "2.78b"로서 언급됨을 IgG2a 항체로서 개질시켰다(IgG2a 항체는 종종 IgG2b 항체보다 더 긴 반감기를 가진다). 개질된 Mab 2.78을 "2.78a"로 지칭한다.

13-주령 수컷 F1 혼성체 마우스(129 × C57)에 4주 동안 1주일에 1회 0.3mg/kg, 1mg/kg, 3mg/kg 또는 10mg/kg으로 복강내 주사에 의해 NOTUM 중화 항체 2.78a를 투여하였다. 그룹 당 10 또는 12마리의 마우스가 있었다. 각 연구의 마지막에, 마우스를 희생시켰다. 240의 역치값, 200 밀리초의 노출시간, 및 55 keV의 X-레이 튜브 전압

을 갖는 Scanco μ CT40를 사용하여, 마이크로CT 후 부검에 의해 뼈 질량 및 구조를 결정하였다.

[0227] 도 10에서 나타내는 바와 같이, 해당 실험에서 NOTUM 중화 항체 2.78a의 0.3 mg/gk, 1mg/kg, 3mg/kg 및 10mg/kg의 투여에 의해 골간 대퇴골 피질 두께는 각각 3%($P = 0.57$), 7%($P = 0.02$), 9%($P = 0.002$) 및 10%($P < 0.001$)만큼 증가되었다.

6.9.6. 12주 동안 매주 또는 2주마다 NOTUM 중화 항체 2.78a의 투여

[0229] 10주령 수컷 F1 혼성체 마우스(129 × C57)를 12주 동안 매주 복강내 주사에 의해 대조군 항체, 0.3mg/kg NOTUM 중화 항체 2.78a, 또는 12주 또는 24주 동안 2주마다(2주일마다) 복강내 주사에 의해 1mg/kg NOTUM 중화 항체 2.78a를 투여하였다. 투여 그룹마다 12마리 마우스가 있었다. 각 연구의 마지막에, 마우스를 희생시켰다. 240의 역치값, 200 밀리초의 노출시간, 및 55 keV의 X-레이 튜브 전압을 갖는 Scanco μ CT40를 사용하여, 마이크로CT 후 부검에 의해 뼈 질량 및 구조를 결정하였다.

[0230] 도 11A에서 나타내는 바와 같이, 골간 대퇴골 피질 두께는 12주 동안 NOTUM 중화 항체 2.78a의 매주 0.3mg/kg 및 2주마다 1mg/kg을 투여한 마우스에서 각각 6%($P < 0.001$) 및 9%($P < 0.001$)만큼 증가되었다. 유사하게, 도 11B에 나타내는 바와 같이, 골간 상완골 피질 두께는 12주 동안 NOTUM 중화 항체 2.78a의 매주 0.3mg/kg 및 2주마다 1mg/kg을 투여한 마우스에서 각각 5%($P = 0.007$) 및 7%($P < 0.001$)만큼 증가되었다.

[0231] 도 12a에서 나타내는 바와 같이, 골간 대퇴골 피질 두께는 24주 동안 NOTUM 중화 항체 2.78a의 매주 0.3mg/kg 및 2주마다 1mg/kg을 투여한 마우스에서 각각 7%($P = 0.002$) 및 9%($P < 0.001$)만큼 증가되었다. 도 12b에서 나타내는 바와 같이, 골간 상완골 피질 두께는 24주 동안 NOTUM 중화 항체 2.78a의 매주 0.3mg/kg 및 2주마다 1mg/kg을 투여한 마우스에서 각각 3%($P = 0.09$) 및 8%($P < 0.001$)만큼 증가되었다. 최종적으로, 도 12c에서 나타내는 바와 같이, 9번째 갈비뼈 피질 두께는 24주 동안 NOTUM 중화 항체 2.78a의 매주 0.3mg/kg 및 2주마다 1mg/kg을 투여한 마우스에서 각각 7%($P = 0.02$) 및 9%($P = 0.003$)만큼 증가되었다.

6.10. 난소절제된 마우스에 NOTUM 중화 항체의 투여

6.10.1. 난조절제술

[0234] 16주령 알비노 C57BL/6J 암컷 마우스를 난소절제하였고, 가짜 수술을 제공하였다. 상업적으로 입수 가능한 ELISA 분석(Immunodiagnostic Systems, Scottsdale, AZ)을 사용하여 난소절제술 후와 NOTUM 중화 항체의 투여 전 사이에 뼈 형성의 마커인 PINP의 혈청 수준 및 뼈 재흡수의 마커인 CTX를 측정하여 난소절제술 후 증가된 뼈 재형성이 발생한다는 것을 확인하였다.

[0235] 수술 후 및 치료의 시작 전, 난소절제된 마우스는 표 4에 나타내는 바와 같이 가짜 수술 마우스에 비해 증가된 뼈 재형성을 나타내었다. 소주 뼈는 피질 뼈보다 더 많은 뼈 세포를 함유하기 때문에, 이들 데이터는 주로 증가된 소주 뼈 재형성을 반영할 가능성이 있다.

표 4

수술 후 뼈 마커 수준				
마커	수술 후 주수	가짜 수술 (N=10)	난소절제술 (N=10)	통계
PINP (ng/ml)	1	36.4±0.9	50.6±5.3	△= 39% $P = 0.02$
CTX (ng/ml)	2	10.5±0.9	14.1±0.9	△= 33% $P = 0.01$
PINP (ng/ml)	4	41.2±2.3	54.8±2.5	△= 33% $P = 0.001$

6.10.2. 난소절제된 마우스에 NOTUM 중화 항체 2.78b의 투여

[0238] NOTUM 중화 항체 2.78b 또는 대조군 항체를 수술 후 8주에 시작하여 4주 동안 1주일 마다 1회 복강내 주사에 의해 10mg/kg로 투여하였다. 연구를 표 5에 나타낸 처리군에 포함시켰다.

표 5

[0239]

난소절제술(OVX) 연구에서 처리군		
마우스의 수	수술	항체
13	가짜	대조군
13*	가짜	NOTUM
10	OVX	대조군
11	OVX	NOTUM

*이 그룹에는 본래 14마리의 마우스가 있었지만, 한 마리의 마우스는 연구동안 사망하였다.

[0240]

새로운 뼈 형성의 위치 및 정도를 평가하기 위하여, 형광색소 뼈 표지를 처리 제7일, 제14일 및 제21일(즉, 2번째, 3번째 및 4번째 처리)에 투여하였다. 녹색으로 형광을 나타내는 칼세인을 제7일에 투여하였고; 적색으로 형광을 나타내는 알리자린을 제14일에 투여하였으며, 황색으로 형광을 나타내는 테트라사이클린을 제21일에 투여하였다. 마우스를 4주 처리의 마지막에 희생시켰다. 부검시 자궁 중량으로 난소절제술 수술이 성공적이었음을 확인하였다. (데이터 미제시)

[0241]

6.10.3. NOTUM 중화 항체-처리한 난소절제 마우스에서 뼈 질량 및 구조

[0242]

240의 역치값, 200 밀리초의 노출시간, 및 55 keV의 X-레이 튜브 전압을 갖는 Scanco μ CT40를 사용하여, 마이크로CT 후 부검에 의해 뼈 질량 및 구조를 결정하였다. 골간 대퇴골, LV5 척추체, 및 대퇴경부를 스캔하였다.

[0243]

도 13A에서 나타내는 바와 같이 골간 대퇴골 피질 두께는 대조군 항체를 투여한 가짜 수술 마우스에 비해 NOTUM 중화 항체 2.78b를 투여한 가짜 수술 마우스에서 $22 \mu\text{m}$ 또는 9%만큼 증가되었고, 대조군 항체를 투여한 난소절제된 마우스에 비해 NOTUM 중화 항체 2.78b를 투여한 난소절제된 마우스에서 $26 \mu\text{m}$ 또는 12%만큼 증가되었다. 도 13B에서 나타내는 바와 같이, 골간 대퇴골 무기염 뼈 면적은 대조군 항체를 투여한 가짜 수술 마우스에 비해 NOTUM 중화 항체 2.78b를 투여한 가짜 수술 마우스에서 0.1 mm^2 또는 11%만큼 증가되었고, 대조군 항체를 투여한 난소절제된 마우스에 비해 NOTUM 중화 항체 2.78b를 투여한 난소절제된 마우스에서 0.08 mm^2 또는 10%만큼 증가되었다.

[0244]

도 14A에서 나타내는 바와 같이, 전체(피질+소주) 뼈 용적의 전체 용적에 대한 LV5 척추체 비율은 대조군 항체를 투여한 가짜 수술 마우스에 비해 NOTUM 중화 항체 2.78b를 투여한 가짜 수술 마우스에서 9%만큼 증가되었고, 대조군 항체를 투여한 난소절제된 마우스에 비해 NOTUM 중화 항체 2.78b를 투여한 난소절제된 마우스에서 3%만큼 증가되었다. 도 14B에서 나타내는 바와 같이, 전체 용적에 대한 피질 뼈 용적의 LV5 척추체 비율은 대조군 항체를 투여한 가짜 수술 마우스에 비해 NOTUM 중화 항체 2.78b를 투여한 가짜 수술 마우스에서 13%만큼 증가되었고, 대조군 항체를 투여한 난소절제된 마우스에 비해 NOTUM 중화 항체 2.78b를 투여한 난소절제된 마우스에서 9%만큼 증가되었다. 도 14C에서 나타내는 바와 같이, 전체 용적에 대한 소주 뼈 용적의 LV5 척추체 비율은 가짜 수술 마우스 또는 난소절제된 마우스에서 NOTUM 중화 항체 2.78b의 투여에 의해 유의하게 영향을 받지 않았다.

[0245]

최종적으로, 도 15에서 나타내는 바와 같이, 전체 용적에 대한 대퇴경부 뼈 용적의 비율은 대조군 항체를 투여한 가짜 수술 마우스에 비해 NOTUM 중화 항체 2.78b를 투여한 가짜 수술 마우스에서 4%만큼 증가되었고, 대조군 항체를 투여한 난소절제된 마우스에 비해 NOTUM 중화 항체 2.78b를 투여한 난소절제된 마우스에서 6%만큼 증가되었다.

[0246]

6.10.4. NOTUM 중화 항체-처리 난소절제된 마우스에서 골조직형태계측

[0247]

뼈를 포매 프로토콜을 사용하여 대퇴골 축을 메틸메타크릴레이트 중에 포매시켰다. 문헌[Brommage and Vafai, *Calcified Tissue Int'l* 67: 479 (2000)]을 참조한다. Leica SP1600 뼈톱(bone saw)을 사용하여 약 $80 \mu\text{m}$ 의 두께를 갖는 골간 횡단면을 준비하였다. 그 다음에 올림푸스(Olympus) BX60 형광 현미경으로 부문을 시험하였다. 오스테오메 측(OsteoMeasure)(상표명) 소프트웨어(조지아주 디카터에 소재한 OsteoMetrics)를 사용하여 다양한 골조직형태계측 변수를 결정하였다. 정적 변수(예컨대 뼈 면적 및 두께)와 동적 변수(예컨대 단일 표지 표면(single label surface, SLS), 무기염 부가율(mineral aposition rater, MAR) 및 골형성률(bone formation rate, BFR))를 $100\times$ 확대로 측정하였다.

[0248]

도 16은 제7일에 투여한 칼세인, 제14일에 투여한 알리자린, 제21일에 투여한 테트라사이클린으로 표지한 골간 대퇴골 횡단면의 내부피질 표면의 백분율을 나타낸다. 표 6은 도 16의 데이터의 통계적 분석을 나타낸다. NOTUM

중화 항체 2.78b를 투여한 마우스는 대조군 항체를 투여한 마우스에 비해 제7일 및 제14일에 유의하게 더 높은 내부피질 표지를 나타내었다.

표 6

[0249]

단일-표지 표면%의 2-요인 ANOVA			
2-요인 ANOVA	제7일	제14일	제21일
난소절제술의 효과	P = 0.16	P = 0.65	P = 0.28
치료효과	P < 0.001	P < 0.001	P = 0.02
상호작용 효과	P = 0.66	P = 0.74	P = 0.77

[0250]

도 17은 대조군 항체 또는 NOTUM 중화 항체 2.78b를 투여한 가짜 수술 및 난소절제 마우스의 무기염 부가율(A) 및 용적-기준 뼈형성률(B)을 나타낸다. 칼세인 표지(제7일)와 알리자린 표지(제14일) 사이에 거리를 측정하고, 7로 나누어서 "제7일 내지 제14일 비율"을 얻었고, 알리자린 표지(제14일)와 테트라사이클린 표지(제21일) 사이의 거리를 측정하고, 7로 나누어서 "제14일 내지 21일 비율"을 얻음으로써 무기염 부가율(도 17A)을 결정하였다. 표 7은 도 17A 데이터의 통계적 분석을 나타낸다. 제7일 내지 제14일의 시간 기간 동안 NOTUM 중화 항체 2.78b를 투여한 마우스는 대조군 항체를 투여한 마우스보다 더 큰 무기염 부가율을 나타내었다.

표 7

[0251]

무기염 부가율의 2-요인 ANOVA			
2-요인 ANOVA	제7일 내지 제14일	제14일 내지 제21일	
난소절제술의 효과	P = 0.80	P = 0.70	
치료 효과	P < 0.001	P = 0.82	
상호작용 효과	P = 0.86	P = 0.02	

[0252]

내부 피질 광화(mineralization)면(이중-표지면의 백분율 + 단일 표지면의 1/2, 도 16으로부터 유래됨)에 무기염 부가율(도 17A)을 곱하는 단계를 수반하는 표준 계산에 의해 용적-기준 골형성률(도 17B)을 결정하였다. 결과는 골용적으로 골형성률을 나눈 것이고, 7일마다 백분율로서 표현한다. 표 8은 도 17B의 통계적 데이터 분석을 나타낸다. 도 17B에서 명백한 바와 같이, 골용적당 골형성률은 대조군 항체를 투여한 마우스보다 NOTUM 중화 항체 2.78b를 투여한 마우스에서 유의하게 더 높았다.

표 8

[0253]

용적-기준 뼈 형성률의 2-요인 ANOVA			
2-요인 ANOVA	제7일 내지 제14일	제14일 내지 제21일	
난소절제술의 효과	P = 0.95	P = 0.80	
치료 효과	P < 0.001	P < 0.001	
상호작용 효과	P = 0.39	P = 0.30	

[0254]

6.11. NOTUM 중화 항체를 시험하기에 적합한 종의 확인

[0255]

공공연한 도메인으로부터 취한 복수-종 단백질 서열 정렬에 기반하여, MAb 1.802, 1.815 및 1.846이 기니아 피그 NOTUM에 결합되고, 따라서 이 종이 임상전 연구에 적합할 수 있다는 것을 예측하였다. 이 가설을 시험하기 위하여, 기니아 피그 NOTUM을 클로닝하였고, 일시적 형질감염에 의해 발현시켰으며, OPTS 분석에서 활성이 되는 것으로 나타났다. ELISA에 의해 MAb 1.802, 1.815 및 1.846이 기니아 피그 NOTUM에 결합되는 것을 발견하였고, OPTS 분석에서 MAb 1.802는 기니아 피그 NOTUM 활성을 중화시키는 것으로 나타났다. MAb 2.78은 MAb 1.802보다 더 낮은 친화도로 기니아 피그 NOTUM에 결합하였으며, OPTS 분석에서 대응적으로 더 낮은 억제 활성을 가졌다. MAb 2.1029는 단지 약하게 기니아 피그 NOTUM에 결합되었지만, OPTS 분석에서 그것을 유의하게 억제시키지 않았다.

[0256]

사이노몰구스 및 붉은털원숭이 NOTUM을 해당 종으로부터의 cDNA 제조물로부터 클로닝시켰다. 서열 분석은 인간 NOTUM D141과 동일한 위치에서 아미노산이 아스파라긴이라는 것을 나타내었는데, 이는 마우스와 인간 NOTUM 둘다의 해당 위치에서의 아미노산과 다르다. 활성(OPTS 분석에 의해 결정됨) 사이노몰구스 및 붉은털원숭이 NOTUM

단백질을 일시적 형질감염에 의해 만들었고, MAb 1.802가 단백질 중 하나에 결합하지도 또는 억제하지도 않는다는 것을 발견하였다. 활성 인간 NOTUM 점 돌연변이인 인간 NOTUM D141N을 일시적 형질감염에 의해 만들었고, MAb 1.802가 해당 인간 NOTUM 점 돌연변이에 결합되지 않는다는 것을 발견하였다.

[0257] ELISA에 의해 MAb 2.78은 사이노몰구스와 붉은털원숭이 NOTUM 둘 다에 약하게 결합되었지만, OPTS 분석에서 단백질 중 하나를 유의하게 억제하지 않았다. 대조적으로, ELISA에 의해 MAb 2.1029는 사이노몰구스와 붉은털원숭이 NOTUM 둘 다에 결합될 뿐만 아니라, 인간 NOTUM에 결합되고, 또한 OPTS 분석에서 단백질 둘 다를 억제할 뿐만 아니라 인간 NOTUM을 억제하였다.

6.12. 항체 시퀀싱 및 인간화

[0259] 중쇄 및 경쇄 가변 영역을 적절한 하이브리도마 세포주로부터의 전체 RNA를 사용하는 특이적 RT-PCR 다음에 PCR 생성물의 시퀀싱에 의해 시퀀싱하였다. 4개의 캠페인 1 항체로부터의 중쇄 및 경쇄 가변 영역: 1.731, 1.802, 1.815 및 1.846, 및 3개의 캠페인 2 항체: 2.1029, 2.55 및 2.78을 시퀀싱하였다. 각각의 해당 항체에 대해 신호 서열이 없는 가변 영역 서열을 이하의 부문 7(서열의 표)에 나타낸다. 부문 7은 또한 각각의 해당 항체에 대해 중쇄 및 경쇄 가변 영역, 즉 CDR1, CDR2 및 CDR3에 대한 서열을 나타낸다. 다음의 표는 각각의 해당 항체에 대해 중쇄 및 경쇄 가변 영역, 즉 CDR1, CDR2 및 CDR3에 대응하는 서열번호를 나타낸다.

표 9

중쇄 및 경쇄 가변 영역 및 CDR에 대한 서열번호		
마우스 항체	중쇄 가변 영역 서열번호 (CDR1, CDR2, CDR3 서열번호)	경쇄 가변 영역 서열번호 (CDR1, CDR2, CDR3 서열번호)
1.731	7 (9, 10, 11)	8 (12, 13, 14)
1.802	15 (17, 18, 19)	16 (20, 21, 22)
1.815	23 (25, 26, 27)	24 (28, 29, 30)
1.846	31 (33, 34, 35)	32 (36, 37, 38)
2.1029	39 (41, 42, 43)	40 (44, 45, 46)
2.55	47 (49, 50, 51)	48 (52, 53, 54)
2.78	55 (57, 58, 59)	56 (60, 61, 62)

[0261] 특정 중쇄 및 경쇄 CDR은 시퀀싱된 항체의 2 이상에서 높은 상동성을 가지는 것을 발견하였다. MAb 1.802 및 1.846은 동일한 중쇄 CDR1(GFTFSYGMH; 서열번호 17 및 33)을 공유하는 반면, MAb 1.815 (GFTFSDFGMH; 서열번호 25)의 중쇄 CDR1은 단지 하나의 보존적 아미노산 치환(티로신(Y) 대신에 페닐알라닌(F))에 의해 MAb 1.802 및 1.846과 다르다. 해당 항체에 대한 중쇄 CDR1의 공통 서열은 따라서 GFTFSDX₁GMH(서열번호 90)이며, X₁은 F 또는 Y이다. MAb 1.802 및 1.846의 중쇄 CDR3은 단지 하나의 보존적 아미노산 치환(히스티딘(H) 대 아스파라긴(N))이 다르다. 해당 항체에 대한 중쇄 CDR3에 대한 공통 서열은 따라서 KX₂YNGGYFDV(서열번호 91)이며, X₂는 H 또는 N이다. MAb 1.802 및 1.846은 동일한 경쇄 CDR2(LASNLES; 서열번호 21 및 37)을 공유하는 반면, MAb 1.815 (LASDLES; 서열번호 29)의 경쇄 CDR2은 단지 하나의 보존적 아미노산 치환(아스파라긴(N) 대신에 아스팔트산(D))에 의해 MAb 1.802 및 1.846과 다르다. 해당 항체에 대해 경쇄 CDR2에 대한 공통 서열은 따라서 LASX₆LES(서열번호 93)이며, X₆은 D 또는 N이다. 최종적으로, 캠페인 1, 1.802, 1.846 및 1.815로부터의 3개 항체에 대해 경쇄 CDR1에 대한 공통 서열은 RASKX₃VX₄SGYSYX₅H(서열번호 92)이고, X₃은 I 또는 S이며, X₄는 T 또는 E이며, X₅는 M 또는 I이다.

[0262] 각각의 마우스 중쇄 및 경쇄 가변 영역에 대해 가장 큰 유사성을 갖는 인간 생식계열 가변 영역 서열을 확인하기 위하여 BLAST 검색을 수행하였다. AbM 정의를 사용하여, 그 다음에 마우스 가변 영역으로부터의 CDR을 인간 생식계열 CDR 대신 이들 인간 생식계열 가변 서열에 인실리코(*in silico*)로 접목시켰다. 5개의 마우스 항체(2.78, 2.1029, 1.802, 1.815 및 1.846)에 대해 얻어진 인간화된 가변 영역을 프레임내 신호 펩타이드를 암호화하는 5' 리더 서열에 의해 합성하였고, 중쇄 가변 서열의 경우에 인간 IgG2 불변 영역 또는 경쇄 가변 서열의 경우에 인간 카파 불변 영역을 암호화하는 서열의 상류를 클로닝시켰다. 각각의 인간화된 가변 영역의 서열은 전장 인간화된 중쇄 및 경쇄에 대한 서열(신호 펩타이드 없음)과 함께 이하의 부문 7(서열의 표)에 나타낸다.

[0263] 전장 인간화된 중쇄 및 경쇄에 대한 암호 서열을 포유류 발현 벡터 내로 서브클로닝시켰고, 대응하는 중쇄 및

경쇄 구성체를 CHO-S 세포 내로 공동형질감염시켰다. 얻어진 조건화 배지를 항-인간 2차 항체에 의한 웨스턴 블롯팅에 의해 확인하여 무결합 인간화 항체의 발현 및 분비를 확인하였다. 그 다음에 조건화 배지를 ELISA 포맷에서 시험하여 인간화된 항체가 인간 NOTUM 단백질에 결합하는 능력을 보유하는지 여부를 결정하였다. 인간화된 Mab 1.802, 1.815, 1.846 및 2.1029는 인간 NOTUM에 결합되는 반면, 인간화된 Mab 2.78은 인간 또는 마우스 NOTUM 중 하나에 결합을 거의 내지 전혀 나타내지 않았다.

[0264] 상기 인용된 모든 참고문헌은 그것의 전문이 임의의 목적을 위하여 본 명세서에 참조로서 포함된다.

7. 서열의 표

서열번호	설명	서열
1	인간 NOTUM	MGRGVRVLLL LSLLHCAGGS EGRKTWRRRG QQPPPPPRTE AAPAAAGQPVE SFPLDFTAVE GNMDSFMAQV KSLAQSLYPC SAQQLNEDLR LHLLLNITSVT CNDGSPAGYY LKESRGSRRW LLFLEGGWYC FNRENCDSRY DTMRLMSSA DWPRTRTGTG ILSSQPEENP YWWNNANMVFI PYCSSDVWSG ASSKSEKNEY AFMGALIIQE VVERLLGRGL SGAKVLLLAG SSAAGGTGVLL NVDRVAEQLE KLGYPAIQVR GLADSGWFELD NKQYRHTDCV DTITCAPTEA IRRGIRYNG VVPERCRRQF QEGEENCCF GYKVYPTLRC PVFVVQWLFD EAQLTVNDNH LTGQPVQEGL RLYIQNLGRE LRHTLKDVPA SFAPACLSHE IIIRSHWTDV QVKGTSLPRA LHCWDRSLHD SHKASKTPLK GCPVHLVDSC PWPHCNPSCP TVRDQFTGQE MNVAQFLMMH GFDMQTVQAQP QGLEPSELLG MLSNGS
2	마우스 NOTUM	MGGEVRVLLL LGGLHHVGGS EGRKTWRRRG QQPPQQPPPP PLPQRAEVEP GAGQPVESFP LDFTAVEGNM DSFMAQVKSL AQSLYPCSAQ QLNEDLRLHL LLNTSVTCND GSPAGYYLKE SKGSRWLLF LEGGWYCFNR ENCDSRYSTM RRLMSKDW HTRTGTGILS SQPEENPHWW NANMVFIPYC SSDVWSGASP KSDKNEYAFM GSIIIOEVVR ELLKGKLSGA KVLLLAGSSA GGTGVLNVD RVAEELLEELG YPSIQRGLA DSGWFLDNKQ YRRSDCIDTI NCAPTAIRR GIRYWSGMVP ERCQRQFKEG EEWNCFGYK VYPTLRCPVF VVQWLDEAQ LTVDNVHLTG QPVQEGQWLY IONLGRELRG TLKDQVASFA PACLSHEIII RSYWTDVQVK GTSLPRAIHC WDRSFHDHK ASKTPMKGP FHLDSCPWP HCNPSCPTIR DQFTQEMNV AQFLMHMGFD VQTVAQQQGM EPSKLLGMLS NGN
3	인간 NOTUM S232A	MGRGVRVLLL LSLLHCAGGS EGRKTWRRRG QQPPPPPRTE AAPAAAGQPVE SFPLDFTAVE GNMDSFMAQV KSLAQSLYPC SAQQLNEDLR LHLLLNITSVT CNDGSPAGYY LKESRGSRRW LLFLEGGWYC FNRENCDSRY DTMRLMSSA DWPRTRTGTG ILSSQPEENP YWWNNANMVFI PYCSSDVWSG ASSKSEKNEY AFMGALIIQE VVERLLGRGL SGAKVLLLAG SSAAGGTGVLL NVDRVAEQLE KLGYPAIQVR GLADSGWFELD NKQYRHTDCV DTITCAPTEA IRRGIRYNG VVPERCRRQF QEGEENCCF GYKVYPTLRC PVFVVQWLFD EAQLTVNDNH LTGQPVQEGL RLYIQNLGRE LRHTLKDVPA SFAPACLSHE IIIRSHWTDV QVKGTSLPRA LHCWDRSLHD SHKASKTPLK GCPVHLVDSC PWPHCNPSCP TVRDQFTGQE MNVAQFLMMH GFDMQTVQAQP QGLEPSELLG MLSNGS
4	마우스 NOTUM S239A 돌연변이체	MGGEVRVLLL LGGLHHVGGS EGRKTWRRRG QQPPQQPPPP PLPQRAEVEP GAGQPVESFP LDFTAVEGNM DSFMAQVKSL AQSLYPCSAQ QLNEDLRLHL LLNTSVTCND GSPAGYYLKE SKGSRWLLF LEGGWYCFNR ENCDSRYSTM RRLMSKDW HTRTGTGILS SQPEENPHWW NANMVFIPYC SSDVWSGASP KSDKNEYAFM GSIIIOEVVR ELLKGKLSGA KVLLLAGSSA GGTGVLNVD RVAEELLEELG YPSIQRGLA DSGWFLDNKQ YRRSDCIDTI NCAPTAIRR GIRYWSGMVP ERCQRQFKEG EEWNCFGYK VYPTLRCPVF VVQWLDEAQ LTVDNVHLTG QPVQEGQWLY IONLGRELRG TLKDQVASFA PACLSHEIII RSYWTDVQVK GTSLPRAIHC WDRSFHDHK ASKTPMKGP FHLDSCPWP HCNPSCPTIR DQFTQEMNV AQFLMHMGFD VQTVAQQQGM EPSKLLGMLS NGN
5	가나아 피그 NOTUM	MGRGVRVLF LGLLHWAGGG EGRKTWRRRG QQPAPAPPLP QRTAAAPGTG QPVESFPLDF TAVEGNMDSF MAQVKSLAQ LYPCSAQQLN EDLRLHLLLN TSVTCNDGSP AGYYLKEKG SRRLLLFLEG GWYCFSRNC DSRYDTMRL MSSKDWPOTR TGTGILSSQP EENPYWWNNAN MVFIPYCSD VWSGASSKSE KNEYVFMGAL IIREVQVELL GRGLSGAKVL LLAGSSAGGT GVLLNVDRAV EAQLEQLGYPA IQVRLADSG WFLDNKQYRR TDCVDTVTCATCA PTEAIRRGIR YWNGMVPERC RSOFKEGEEW NCFLGYKVYP TLRCPVFVQQ WLFDEAQLTA DNAHLTGQPV QEGOWLYIQN LGHELRTNLK DVPASFAPAC LSHEIIIRSH WTDVQVKGTS LPRALHCWDR SLHDHKASK TPLKGCPIL

[0266]

		VDSCPWPHCN PSCPTIRDQF TGQEMNVAQF LMHMGFDVQT VAQQQGLEPS KLLGMLSSGS
	사이노풀구스 원승이 NOTUM	MGRGVRLLLL LGHLHCAGGS EGRKTWRRRG QQPPPPRTE AAPAAGQPVE SFPLDFTAVE GNMDSFMAQV KSLAQSLYPC SAQQLNEDLR LHLLLNTSVT CNDGSPAGYY LKESRGSRRW LLFLEGGWYC FNRENCDSRY NTMRRLMSSR DWPRTRTGTG ILSSQPEENP YWWNNANMVFI PYCSSDVWSG ASSKSEKNEY AFMGALIIQF VVRELLGRGL SGAKVLLAG SSAGGTGVLL NVDRAEAEQLE ELGYPAIQVR GLADSGWFELD NKQYRHTDCV DTITCAPTEA IRRGIRYWNQ VVERCRQF QEGEEWNCF GYKIYPTLRC PVFVVQWLFD EAQLTVDNVH LTGQPVQESQ RLYIQLNLGRE LRHTLKDVPA SFAPACLSHE IIIRSHWTDV QVKGTSLPRA LHCWDRSLHD SHKTSKTPLK GCPVHLVDSC PWPHCNPSCP TVRDQFTGQE MNVAQFLMHM GFPVQTVAAQO QGPEPSKLLG LPSDGS
5	붉은털원승이 NOTUM	MGRGVRLLLL LGHLHCAGGS EGRKTWRRRG QQPPPPRTE AAPAAGQPVE SFPLDFTAVE GNMDSFMAQV KSLAQSLYPC SAQQLNEDLR LHLLLNTSVT CNDGSPAGYY LKESRGSRRW LLFLEGGWYC FNRENCDSRY NTMRRLMSSR DWPRTRTGTG ILSSQPEENP YWWNNANMVFI PYCSSDVWSG ASSKSEKNEY AFMGALIIQF VVRELLGRGL SGAKVLLAG SSAGGTGVLL NVDRAEAEQLE ELGYPAIQVR GLADSGWFELD NKQYRHTDCV DTITCAPTEA IRRGIRYWNQ VVERCRQF QEGEEWNCF GYKIYPTLRC PVFVVQWLFD EAQLTVDNVH LTGQPVQESQ RLYIQLNLGRE LRHTLKDVPA SFAPACLSHE IIIRSHWTDV QVKGTSLPRA LHCWDRSLHD SHKTSKTPLK GCPVHLVDSC PWPHCNPSCP TVRDQFTGQE MNVAQFLMHM GFPVQTVAAQO QGPEPSKLLG LPSDGS
7	Mab 1.731 중쇄 가변영역	EVQLQQSGPE LVKPGASVKV SCKASGYPFT DYFIHWVKQT HGKSLEWIGY FFPKNGANGY NQKFEKGKVTL TVDKSSSTAY MELRSLTSED SAVVYCCARRY GNYYSMDYWG QGTSVTVSSA KTTPP
8	Mab 1.731 경쇄 가변영역	SFVMTQTPKE LLVSAGDRVT ITCKASQSVG DDVAVYQQKP GQSPTLLIYR VSNRYTGVPD RFTGSGYGTQ FFTINTVQA EDLAVYFCQQ DYSSPYTFGG GTQLEVKRAD AAP
9	Mab 1.731 중쇄 CDR1	GYPFTDYFIH
10	Mab 1.731 중쇄 CDR2	YFFFKNGANG
11	Mab 1.731 중쇄 CDR3	RYGNYYSMYD
12	Mab 1.731 경쇄 CDR1	KASQSVGDDVA
13	Mab 1.731 경쇄 CDR2	RVSNRYT
14	Mab 1.731 경쇄 CDR3	QQDYSSPYT
15	Mab 1.802 중쇄 가변영역	EVQLVESGGG LVKPGGSLKL SCAASGFTFS DYGMHWRQQA PEKGLEWVAY ISSGSRVYY ADTVKGRTI SRDNAKNTLS LQMTSLRSED TAMYYCARKH YNGGYFDVWG TGTTVTVSSA KTTP
16	Mab 1.802 경쇄 가변영역	DIVLTQSPAS LAVSLGQRAT ISCRASKIVS TSGYSYMHWY QQKPGQPPKL LIYLASNLES GVPARFSGSG SGTDFTLNIH PVEEEEDAATY YCQHSRELPP TFGSGTKLEI KRADAAP
17	Mab 1.802 중쇄 CDR1	GFTFSDYGMH
18	Mab 1.802 중쇄 CDR2	YISSGSRVYY
19	Mab 1.802 중쇄 CDR3	KHYNGGYFDV
20	Mab 1.802 경쇄	RASKIVSTSGYSYMH

	CDR1	
21	Mab 1.802 경쇄 CDR2	LASNLES
22	Mab 1.802 경쇄 CDR3	QHSRELPPT
23	Mab 1.815 중쇄 가변영역	DVQLLESGGG LVQPGGSRKLC SCAASGFTFS DFGMHWVRQA PEKGLEWVAY SSSGGTTVYY ADTVKGRLTL SRDN SKNTLF LEM TSLS RSED TAM YYCARAS YDGGYFDCWG QGTSLTVSSA KTTPP
24	Mab 1.815 경쇄 가변영역	DIVLTQSPAS LAVSLGQRAT ISCRASKSVS TSGYSYIH QQKPGQPPKL LIYLASDLES GVPARFSGSG SGAAFTLN PVEEEDAATY YCHHSRELFF TFGSGTKLEI KRADAAP
25	Mab 1.815 중쇄 CDR1	GFTFSDFGMH
26	Mab 1.815 중쇄 CDR2	YSSSGGTTVY
27	Mab 1.815 중쇄 CDR3	ASYDGGYFDC
28	Mab 1.815 경쇄 CDR1	RASKSVSTSGYSYIH
29	Mab 1.815 경쇄 CDR2	LASDLES
30	Mab 1.815 경쇄 CDR3	HHSRELPFT
31	Mab 1.846 중쇄 가변영역	EVOLVESGGD LVKPGGSLKL SCAASGFTFS DFGMHWLRQA PEKGLEWVAY ISSG STTLSY ANTMKGRTI SRDNNAKKTLS LQM TSLS RSED TAI YYCARKN YNGGYFDWNG TGT TVSSA KTTPP
32	Mab 1.846 경쇄 가변영역	DIVLTQSPAS LVVSLGQRAT ISCRASKSVS ESGYSYMH QQKPGQPPKL LIYLASNLES GVPARFSGSG SGTDFTLN PVEEGDATTY YCQHSRVLPP TFGSGTKLEI KRADAAP
33	Mab 1.846 중쇄 CDR1	GFTFSDYGMH
34	Mab 1.846 중쇄 CDR2	YISSG STTLS
35	Mab 1.846 중쇄 CDR3	KNYNGGYFDV
36	Mab 1.846 경쇄 CDR1	RASKSVSESGYSYMH
37	Mab 1.846 경쇄 CDR2	LASNLES
38	Mab 1.846 경쇄 CDR3	QHSRVLPP
39	Mab 2.1029 중쇄 가변영역	QVQLKESGPG LVAPSQSLSI TCTVSGFSLT SYGVH WVRQP PGKGLEWLGV IWAGGSTNYN SALMSRLSTS KDN SKSQVEL KMNSLQFDDT AIYFCARDGD YGTIYAMDW GQTSVTVSS AKTTAPS
40	Mab 2.1029 경쇄 가변영역	DIQMTQTSS LSASLGDRVT ISCRASQDIS NYLNWYQQKP DTGTVKLLIYY TSRLHSGVPS RFTGSGSGTD YSLTISNLEQ EDIATYFCQQ GKTL PRTFEGG GTMLEIKRAD AAP
41	Mab 2.1029 중쇄 CDR1	GFSLTSYGVH
42	Mab 2.1029 중쇄 CDR2	VIWAGGSTN
43	Mab 2.1029 중쇄 CDR3	DGDYGTIYAMDY
44	Mab 2.1029 경쇄 CDR1	RASQDISNYLN
45	Mab 2.1029 경쇄 CDR2	YT SRLHS

46	Mab 2.1029 경쇄 CDR3	QQGKTLPLRT
47	Mab 2.55 중쇄 가변영역	EVQLQQSGTV LARPGALVKM SCKASGYTFT SYWMHWVKQR PGKGLEWIGV IYFGKSDFRY NQKFKDKAKL TAVTSTSTAY MDLSSLTDDED SAVYYCSRRY CNFYAMDYWG QGTTSVTVSSA KTTAPS
48	Mab 2.55 경쇄 가변영역	SIVMTQTPKF LLVSAGDRVT MTCKASQSVS NDVAWYQQKP GQSPPELLIYV ASDRYTGVPD RFTGSGYGTD FTLTISTVQA EDLAVYFCQQ DYSSPYTFGG GTKLETKRAD AAP
49	Mab 2.55 중쇄 CDR1	GYTFTSYWMH
50	Mab 2.55 중쇄 CDR2	AIYPGKSDTR
51	Mab 2.55 중쇄 CDR3	RYGNFYAMDY
52	Mab 2.55 경쇄 CDR1	KASQSVNDVA
53	Mab 2.55 경쇄 CDR2	YASDRYT
54	Mab 2.55 경쇄 CDR3	QQDYSSPYT
55	Mab 2.78 중쇄 가변영역	DVOLVESGGG LVQPGGSRKL SCAASGFTFS SFGMHWVRQA PGKGLEWVAY ITSGSGAIYY ADTVRGRFTI SRDTPKNTLF LQMITSRLSED TAMYYCARSA DGLDYWGQGT SVTVSSAKTT PPS
56	Mab 2.78 경쇄 가변영역	DIQMTQSPAS LYVSVGETVT ITCRASENIY SNLAWYQQKQ GKSPQLLVYG ATNLADGVPS RFSGSGSGTQ YSLKINSLKS EDFGSYCYQH FWGTPFTFGS GTKLEIKRAD AAP
57	Mab 2.78 중쇄 CDR1	GFTFSSFGMH
58	Mab 2.78 중쇄 CDR2	YITSGSGAIY
59	Mab 2.78 중쇄 CDR3	SADGLDY
60	Mab 2.78 경쇄 CDR1	RASENIYNSLA
61	Mab 2.78 경쇄 CDR2	GATNLAD
62	Mab 2.78 경쇄 CDR3	QHFWGTPFT
63	인간화된 Ab (HumAb) 2.78 중쇄 가변영역	EVOLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS SFGMHWVRQA PGKGLEWVSY ITSGSGAIYY ADSVKGRFTI SRDNAKNSLY LQMNSLRAED TAVYYCARSA DGLDYWGQGT TVTVSS
64	HumAb 2.78 중쇄	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS SFGMHWVRQA PGKGLEWVSY ITSGSGAIYY ADSVKGRFTI SRDNAKNSLY LQMNSLRAED TAVYYCARSA DGLDYWGQGT TVTVSSDVWG QGTTTVSSA STKGPSVFL APCRSSTSES TAALGCLVKD YFPEPVTVSM NSGALTSGVH TFPAVLQSSG LYSLSVVTV TSSNFGTQTY TCNVDHKPSN TKVDKTVERK CCVECPPCPA PPVAGPSVFL FPPPKPKDTLM ISRTPEVTCV VVDVSHEDPE VQFNWYWDGM EVHNAKTKPR EEQENSTFRV VSVLTVVHQD WLNGKEYKCK VSNKGLPAPI EKTISKTKGQ PREPQVYTLR PSREEMTKNQ VSLTCLVKGF YPSDIAVEWE SNGQPENNYK TPPMLDSDG SFFLYSKLTV DKSRWQOQNV FSCSVMHEAL HNHYTQKSLS LSPGK
65	HumAb 2.78 경쇄 가변영역	DIQMTQSPSS LSASVGDRTV ITCRASENIY SNLAWYQQKQ GKAPKLLIYV ATNLADGVPS RFSGSGSGTQ FTLTISSSLQP EDFATYYCYQH FWGTPFTFGQ GTKVEIKRVT
66	HumAb 2.78 경쇄	DIQMTQSPSS LSASVGDRTV ITCRASENIY SNLAWYQQKQ GKAPKLLIYV ATNLADGVPS RFSGSGSGTQ FTLTISSSLQP EDFATYYCYQH FWGTPFTFGQ GTKVEIKRVT AAPSVIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNFFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSKU STYSLSSSLT LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGECA
67	HumAb 2.1029 중쇄 가변영역	QVQLQESGPG LVKPSETLSL TCTVSGFSLT SYGVHWRQP PGKGLEWIGV IWAGGSTNYN PSLKSRVTIS VDTSKNQFSL KLSSVTAADT AVYYCARDGD YGTIYAMDYWG QGQTLVTVSS DVWGQGTTVT VSSASTKGPS VFPLAPCSRS TSESTAALGC LVKDYFPEPV TVSWNSGALT SGVHTFPAVL QSSGLYSLSS VVTVTSSNFG TQTYTCNVDH KPSNTKVDKT VERKCCVECP
68	HumAb 2.1029 중쇄	QVQLQESGPG LVKPSETLSL TCTVSGFSLT SYGVHWRQP PGKGLEWIGV IWAGGSTNYN PSLKSRVTIS VDTSKNQFSL KLSSVTAADT AVYYCARDGD YGTIYAMDYWG QGQTLVTVSS DVWGQGTTVT VSSASTKGPS VFPLAPCSRS TSESTAALGC LVKDYFPEPV TVSWNSGALT SGVHTFPAVL QSSGLYSLSS VVTVTSSNFG TQTYTCNVDH KPSNTKVDKT VERKCCVECP

		PCPAPPVAGP SVFLFPPKPK DTLMISRTPE VTCVVVDVSH EDPEVQFNWY VDGMEVHNK TKPREEQFNS TFRVSVLTV VHGDWLNGKE YKCKVSNKGL PAPIEKTSK TKGQPREPVY YTLPPSREEM TKNQVSLTCL VKGFYPSDIA VEWESENQPE NNYKTTPPMI DSDGSFFLYS KLTVDKSRWQ QGNVFSCSVM HEALHNHYTQ KSLSLSPGK
69	HumAb 2.1029 경 채 가변영역	DTQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQDIS NYLNWYQQKP GKAPKLLIYY TSRLHSGVPS RFSGSGSGTD FTFTISSLQP EDIATYYCQQ GTKLPRTFGG GTKVEIKRTV AAPSVEIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNFFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSDKD STYSLSSLT LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGECA
70	HumAb 2.1029 경 채	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQDIS NYLNWYQQKP GKAPKLLIYY TSRLHSGVPS RFSGSGSGTD FTFTISSLQP EDIATYYCQQ GTKLPRTFGG GTKVEIKRTV AAPSVEIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNFFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSDKD STYSLSSLT LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGECA
71	HumAb 1.802 중 채 가변영역	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS DYGMHWVRQA PGKLEWVSY ISSGSRTVYY ADSVKGRFTI SRDNAKNSLY LQMNSLRDED TAVYYCARHK YNGGYFDWNG QGTLTVVSS
72	HumAb 1.802 중 채	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS DYGMHWVRQA PGKLEWVSY ISSGSRTVYY ADSVKGRFTI SRDNAKNSLY LQMNSLRDED TAVYYCARHK YNGGYFDWNG QGTLTVVSS VWGQGTTVTV SSASTKGPSV FPLAPCSRST SESTAALGCL VKDYFPEPVT VSWNSGALPTS GVHTFPAVLQ SSGLYSLSSV VTVTSSNFGT QTYTCNVDHK PSNTKVDKTV ERKCCVECPP CPAPPVAGPS VFLFPKPKD TLMSRTPEV TCVVVDVSHE DPEVQFNWYV DGMEVHNNAKT KPREEQFNST FRVSVLTVV HQDWLNGKEY KCKVSNKGLP APIEKTSK KGQPREPVY TLPPSREEMT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQOPEN NYKTTTPMLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK
73	HumAb 1.802 경 채 가변영역	DIVMTQSPDS LAVSLGERAT INCRASKIVS TSGYSYMHVY QQKPGQPPKL LIYLASNLES GPVDRFSGSG SGTDFTLTIS SLQAEDVAVY YCQHSRELPP TFGQGTKLEI
74	HumAb 1.802 경 채	DIVMTQSPDS LAVSLGERAT INCRASKIVS TSGYSYMHVY QQKPGQPPKL LIYLASNLES GPVDRFSGSG SGTDFTLTIS SLQAEDVAVY YCQHSRELPP TFGQGTKLEI KRTVAAPSVE IFFPSDEQLK SGTASVVCCL NNFYPREAKV QWKVDNALOS GNSQESVTEQ DSKDSTYSLS STTLSKADY EKKHVYACEV THQGLSSPVT KSFNRGEC
75	HumAb 1.815 중 채 가변영역	QVQLVESGGG LVKPGGSLRL SCAASGFTFS DFGMHWIRQA PGKLEWVSY SSSGGTTVYY ADSVKGRFTI SRDNAKNSLY LQMNSLRAED TAVYYCARAS YDGGYFDCWG QGTTTVVSSD VWGQGTTVTV SSASTKGPSV FPLAPCSRST SESTAALGCL VKDYFPEPVT VSWNSGALPTS GVHTFPAVLQ SSGLYSLSSV VTVTSSNFGT QTYTCNVDHK PSNTKVDKTV ERKCCVECPP CPAPPVAGPS VFLFPKPKD TLMSRTPEV TCVVVDVSHE DPEVQFNWYV DGMEVHNNAKT KPREEQFNST FRVSVLTVV HQDWLNGKEY KCKVSNKGLP APIEKTSK KGQPREPVY TLPPSREEMT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQOPEN NYKTTTPMLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK
76	HumAb 1.815 중 채	QVQLVESGGG LVKPGGSLRL SCAASGFTFS DFGMHWIRQA PGKLEWVSY SSSGGTTVYY ADSVKGRFTI SRDNAKNSLY LQMNSLRAED TAVYYCARAS YDGGYFDCWG QGTTTVVSSD VWGQGTTVTV SSASTKGPSV FPLAPCSRST SESTAALGCL VKDYFPEPVT VSWNSGALPTS GVHTFPAVLQ SSGLYSLSSV VTVTSSNFGT QTYTCNVDHK PSNTKVDKTV ERKCCVECPP CPAPPVAGPS VFLFPKPKD TLMSRTPEV TCVVVDVSHE DPEVQFNWYV DGMEVHNNAKT KPREEQFNST FRVSVLTVV HQDWLNGKEY KCKVSNKGLP APIEKTSK KGQPREPVY TLPPSREEMT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQOPEN NYKTTTPMLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK
77	HumAb 1.815 경 채 가변영역	DIVMTQSPDS LAVSLGERAT INCRASKSVS TSGYSYIHVY QQKPGQPPKL LIYLASDLES GPVDRFSGSG SGTDFTLTIS SLQAEDVAVY YCHHSRELPP TFGQGTKLEI
78	HumAb 1.815 경 채	DIVMTQSPDS LAVSLGERAT INCRASKSVS TSGYSYIHVY QQKPGQPPKL LIYLASDLES GPVDRFSGSG SGTDFTLTIS SLQAEDVAVY YCHHSRELPP TFGQGTKLEI KRTVAAPSVE

		IFPPSDEQLK SGTASVVCLL NNFPREAKV QWKVDNALQS GNSQESVTEQ DSKDSTYSLs STLTLSKADY EKKHVYACEV THQGLSSPVT KSFNRGEC
79	HumAb 1.846 중쇄 가변영역	EVQLVESGGG LVQPGGSRLR SCAASGETFS DYGMHWVRQA PGKGLEWVSY ISSGSTTLSY ADSVKGRFTI SRDNAKNSLY LQMNSLRDED TAVYYCARKN YNGGYFDWVG QGTLTVSS
80	HumAb 1.846 중쇄	EVQLVESGGG LVQPGGSRLR SCAASGETFS DYGMHWVRQA PGKGLEWVSY ISSGSTTLSY ADSVKGRFTI SRDNAKNSLY LQMNSLRDED TAVYYCARKN YNGGYFDWVG QGTLTVSSD VWGQGTTVTV SSASTKGPSV FPLAPCSRST SESTAALGCL VKDYFPEPVY VSWNSGALT GVHTFPAVLQ SSGLYLSSV VTVTSSNFGT QTYYTCNVDHK PSNTKVDKTV ERKCCVECOP CPAPPVAGFS VELFFPKEPKD TLMSRTPEV TCVVVDSHE DPEVQFNWVY DGMEVHNNAKT KPREEQFNST FRVSVLTVV HQDWLNGKEY KCKVSNKGLP APIEKTISKY KGQPREPQVY TLPPSREEMT KNQVSLTCLV KGFPSPDIAV EWESNGQOPEN NYKTPPPMLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK
81	HumAb 1.846 경쇄 가변영역	DIVMTQSPDS LAVSLGERAT INCRASKSVS ESGYSYMHY QOKPGQPPKL LIYLASNLES GVPDRFSGSG SGTDFTLTIS SLQAEDVAVY YCQHSRVLPP TFGQGTKLEI KRTVAAPSVE IFPPSDEQLK SGTASVVCLL NNFPREAKV QWKVDNALQS GNSQESVTEQ DSKDSTYSLs STLTLSKADY EKKHVYACEV THQGLSSPVT KSFNRGEC
82	HumAb 1.846 경쇄	DIVMTQSPDS LAVSLGERAT INCRASKSVS ESGYSYMHY QOKPGQPPKL LIYLASNLES GVPDRFSGSG SGTDFTLTIS SLQAEDVAVY YCQHSRVLPP TFGQGTKLEI KRTVAAPSVE IFPPSDEQLK SGTASVVCLL NNFPREAKV QWKVDNALQS GNSQESVTEQ DSKDSTYSLs STLTLSKADY EKKHVYACEV THQGLSSPVT KSFNRGEC
90	캠페인 1 중쇄 CDR1 공통	GFTFSDX;GMH
91	캠페인 1 중쇄 CDR3 공통	KX_YNGGYFDV
92	캠페인 1 경쇄 CDR1 공통	RASKX.VSX;SGYSYX;H
93	캠페인 1 경쇄 CDR2 공통	LASX.LES
83	인간-마우스 키메라 NOTUM	MGRGVRLLLL LSLLHCAGGS EGRKTWRRRG QQPPPPPRTA AAPAAGQFVE SFPLDFTAVE CNMDSFMAQV KSLAQSLYPC SAQQLNEDLR LHLLNNTSVT CNDGSPAGYY LKESRGSSRW LLFLEGGWYC FNRENCDSRY DTMRRLMSSR DWPRTRTGTG ILSSQPEENP YWWNNANMVFI PYCSDVWSG ASSKSEKNEY AFMGALIIQE VRELLGRGL SGAKVLLLAG SSAGGTGVLL NVDRAEQLE KLGYPAIQVR GLADSGWFLD NKQYRRSDCI DTINCAPDTA IRRGIRYWSG MVPERCQRQF KEGBEWNCF GyKVYPTLRC PVFVQWLFED EAQLTVNDNH LTGQPVQEGQ WLYIQNLGRE LRGTLLKDVQA SFAPACLSHE IIIRSUYWTDV QVKGTSLPRA LHCWDRSEFHD SHKASKTPMK GCPFHILVDSC PWPHCNPSCP TIRDQFTGQE MNVAQFLMHM GFVQTVAAQO OGMEPSKLLG MLSNGN
84	마우스-인간 키메라 NOTUM	MGEVVRLLLL LGLLHHWVGGS EGRKTWRRRG QQPPQPPPPP PLPORAEEVEP GAGQPVESFP LDFTAVEGNM DSFMQVKSL AQSILYPCSAQ QLNEDLRLHL LLNTSVTCND GSPAGYYLKE SKGSRRNLLF LEGGWYCFCNR ENCDSRYSTM RRIMSSKDWP HTRTGTGILS SQPEENPHWW NANMFIPYC SSDVWSGASP KSDKNEYAFM GSЛИIQEVVR ELLKGKLSGA KVLLLAGSSA GGTGVLLNVD RVAELLELG YPSIQVRLA DSGWFLDNKQ YRHTDCVDTI TCAPTEAIRR GIRYWNNGVVI ECRRQFQEG EEWNCFFGYK VYPTLRCPVF VVQWLFDLDAQ LTVDNVHLTG QPVQEGRLRY IQNLGRELRH TLKDVFPASFA PACLSHEIII RSHWTDVQVK GTSLPRALHC WDRSLHDHK ASKTPLKGP VHLVDSCEWP HCNPSCPTVR DQFTGQEMNV AQFLMMGFD MQTVAQFQGL EPSEILGMLS NGS

85	인간-마우스-인간 카메라 NOTUM	MGRGVRVLLL LSLLHCAGGS EGRKTWRRRG QQPPPPRTE AAPAAGQVE SFPLDFTAVE GNMDSFMAOV KSLAQSLYPC SAQQLNEDLR LHLLNTSVT CNDGSPAGYY LKESRGSRRW LLFLEGGWYC FNRENCDSRY DTMRRLMSSR DWPRTRTGTG ILSSQPEENP YWWNNANMVFI PYCSSDVWSG ASPKSDKNEY AFMGSLIIQE VVRELLGKGL SGAKVILLAG SSAGGTGVLL NVDRVAEELLE ELGYPSIQVR GLADSGWFLD NKQYRSDCI DTITCAPTDA IRRGIRYWSG MVPERCQRQF KEGEENNCFF GYKVYPTLRC PVFVVQWLFD EAQLTVDNVH LTGQPVQEGL RLYIQLNLGRE LRHTLKDVPA SFAPACLSHE IIIRSHWTDV QVKGTSLPRA LHCWDRSLHD SHKASKTPLK GCPVHLVDSC PWPHCNPSCP TVRDQFTGQE MNVAQFLMHM GFDMQTVAQP QGLEPSELLG MLSNGS
86	마우스-인간-마우스 카메라 NOTUM	MGGEVRVLLL LGLLHWVGGS EGRKTWRRRG QQPPQFFFFP PLPORAEEVP GAGQPVESFP LDFTAVEGNM DSFMQAVKSL AQSLYPCSAQ QLNEDRLHL LLNTSVTCND GSPAGYYLKE SKGSRRWLLF LEGGWYCFCNR ENCDSRYSTM RRLMSSKDWP HTRTGTGILS SQPEENPHWW NAMMVEIPYC SSDVWSGASS KSEKNEYAFM GALIIQEVM ELLGRGLSGA KVLLLAGSSA GGTGVLINVD RVAEQLEKLG YPAIQVRLA DSGWFLDNKQ YRHTDCVTI TCAPTEAIRR GIRYWNGVVP ERCCRQFQEG EEWNCFEGYK VYPTLRCPVF VVQWLDEAQ LTVDNVHLTG QPVQEGQWLY IQNLGRELRG TLKDQASFA PACLSHEIII RSYWTDVQVK GTSLPRALHC WDRSFHDSHK ASKTPMKGP FHLVDSCPWP HCNPSCP TIR DQFTGQEMNV AQFLHMGMF VQTVAAQQGM EPSKLLGMLS NGN
87	인간 NOTUM (Δ1-46); 이밸리체로 CD33 신호 챕터이드	MPLLLLPLL WAGALAQPV E SFPLDFTAVE GNMDSFMAOV KSLAQSLYPC SAQQLNEDLR LHLLNTSVT CNDGSPAGYY LKESRGSRRW LLFLEGGWYC FNRENCDSRY DTMRRLMSSR DWPRTRTGTG ILSSQPEENP YWWNNANMVFI PYCSSDVWSG ASSKSEKNEY AFMGALIIQE VVRELLGRGL SGAKVILLAG SSAGGTGVLL NVDRVAEOL E KLGYPAIQVR GLADSGWFLD NKQYRHTDCV DTITCAPTEA IRRGIRYWNG VVPERCRRQF QEGEENNCFF GYKVYPTLRC PVFVVQWLFD EAQLTVDNVH LTGQPVQEGL RLYIQLNLGRE LRHTLKDVPA SFAPACLSHE IIIRSHWTDV QVKGTSLPRA LHCWDRSLHD SHKASKTPLK GCPVHLVDSC PWPHCNPSCP TVRDQFTGQE MNVAQFLMHM GFDMQTVAQP QGLEPSELLG MLSNGS
88	인간 NOTUM N96D	MGRGVRVLLL LSLLHCAGGS EGRKTWRRRG QQPPPPRTE AAPAAGQVE SFPLDFTAVE GNMDSFMAOV KSLAQSLYPC SAQQLNEDLR LHLLNTSVT CNDGSPAGYY LKESRGSRRW LLFLEGGWYC FNRENCDSRY DTMRRLMSSR DWPRTRTGTG ILSSQPEENP YWWNNANMVFI PYCSSDVWSG ASSKSEKNEY AFMGALIIQE VVRELLGRGL SGAKVILLAG SSAGGTGVLL NVDRVAEOL E KLGYPAIQVR GLADSGWFLD NKQYRHTDCV DTITCAPTEA IRRGIRYWNG VVPERCRRQF QEGEENNCFF GYKVYPTLRC PVFVVQWLFD EAQLTVDNVH LTGQPVQEGL RLYIQLNLGRE LRHTLKDVPA SFAPACLSHE IIIRSHWTDV QVKGTSLPRA LHCWDRSLHD SHKASKTPLK GCPVHLVDSC PWPHCNPSCP TVRDQFTGQE MNVAQFLMHM GFDMQTVAQP QGLEPSELLG MLSNGS
89	인간 NOTUM Q47- M177	QPVE SFPLDFTAVE GNMDSFMAOV KSLAQSLYPC SAQQLNEDLR LHLLNTSVT CNDGSPAGYY LKESRGSRRW LLFLEGGWYC FNRENCDSRY DTMRRLMSSR DWPRTRTGTG ILSSQPEENP YWWNNANM
94	인간 NOTUM D1415	MGRGVRVLLL LSLLHCAGGS EGRKTWRRRG QQPPPPRTE AAPAAGQVE SFPLDFTAVE GNMDSFMAOV KSLAQSLYPC SAQQLNEDLR LHLLNTSVT CNDGSPAGYY LKESRGSRRW LLFLEGGWYC FNRENCDSRY DTMRRLMSSR DWPRTRTGTG ILSSQPEENP YWWNNANMVFI PYCSSDVWSG ASSKSEKNEY AFMGALIIQE VVRELLGRGL SGAKVILLAG SSAGGTGVLL NVDRVAEOL E KLGYPAIQVR GLADSGWFLD NKQYRHTDCV DTITCAPTEA IRRGIRYWNG VVPERCRRQF QEGEENNCFF GYKVYPTLRC PVFVVQWLFD EAQLTVDNVH LTGQPVQEGL

		RLYIQNLGRE LRHTLKDVPA SFAPACLSHE IIIRSHWTDV QVKGTSLRA LHCWDRSLHD SHKASKTPLK GCPVHLVDSC PWPHCNPSCP TVRDQFTGQE MNVAQFLMHM GFDMQTVAQP QGLEPSELLG MLSNGS
95	마우스 NOTUM \$148D	MGGEVRVLLL LGHLHNVGGS EGRKTWRRRG QOPPPPPP PLPRAEVEP GAGQPVESFP LDFTAVEGNNM DSFMQVKS AQSLYPCSAQ QLNEDRLHLLNNTSVT CNDGSPAGYY LKE SKGSRNRLLF LEGGWYCENR ENCDSRYDTM RRLMSKDWP HTRTGTGILS SQPEENPHWW NANMFIPYC SSDVWSGASP KSDKNEYAFM GSLIIQEVVR ELLGKGLSGA KVLLLAGSSA GGTGVLLNVD RVAELLEELG YPSIQVRGLA DSGWFLDNK YRSDCIDI T NCAPTAIRR GIRYWSGMVP ERCQROFK EEWNCFGYK VYPTLRC PVFVQWLFDEAQ LTVDNVH QPVQEGQWLY IONLGRELRG TLKDVQASFA PACLSHEIII RSYQTDVQVK GTSLPRALHC WDRSFHDSHK ASKTPMKGP FHLVDSCPWP HCNPSCPTIR DQFTGQEMNV AQFLMMGFD VQTVAQQGM EPSKLLGMLS NGN
96	인간 NOTUM N132A/R133A	MGRGVRVLLL LSLLHCAGGS EGRKTWRRRG QOPPPPPP AAPAAGQPV SFPLDFTAVE GNMDSFMAQV KSLAQSLYPC SAQQLNEDLR LHLLNNTSVT CNDGSPAGYY LKE LLFLEGGWYC FNRAACDSRY DTMRRLMSSR DWPRTRTGTG ILSSQPEENP YWNNANMVFI PYCSSDVWSG ASSKSEKNEY AFMGALIIQE VRELLGRGL SGAKVLLAG SSAGGTGVLL NVDRAEQL KLGYPAIQR GLADSGWFLD NKQYRHTDCV DTITCAPTEA IRRGIRYWNG VVPERCRQF QEGEEWNCF GYKVYPTLRC PVFVQWLFED EAQLTVNDNH LTGQPVQEGL RLYIQNLGRE LRHTLKDVPA SFAPACLSHE IIIRSHWTDV QVKGTSLRA LHCWDRSLHD SHKASKTPLK GCPVHLVDSC PWPHCNPSCP TVRDQFTGQE MNVAQFLMHM GFDMQTVAQP QGLEPSELLG MLSNGS
97	인간 NOTUM E134A/N135A	MGRGVRVLLL LSLLHCAGGS EGRKTWRRRG QOPPPPPP AAPAAGQPV SFPLDFTAVE GNMDSFMAQV KSLAQSLYPC SAQQLNEDLR LHLLNNTSVT CNDGSPAGYY LKE LLFLEGGWYC FNRENCSAY DTMRRLMSSR DWPRTRTGTG ILSSQPEENP YWNNANMVFI PYCSSDVWSG ASSKSEKNEY AFMGALIIQE VRELLGRGL SGAKVLLAG SSAGGTGVLL NVDRAEQL KLGYPAIQR GLADSGWFLD NKQYRHTDCV DTITCAPTEA IRRGIRYWNG VVPERCRQF QEGEEWNCF GYKVYPTLRC PVFVQWLFED EAQLTVNDNH LTGQPVQEGL RLYIQNLGRE LRHTLKDVPA SFAPACLSHE IIIRSHWTDV QVKGTSLRA LHCWDRSLHD SHKASKTPLK GCPVHLVDSC PWPHCNPSCP TVRDQFTGQE MNVAQFLMHM GFDMQTVAQP QGLEPSELLG MLSNGS
98	인간 NOTUM D137A/R139A	MGRGVRVLLL LSLLHCAGGS EGRKTWRRRG QOPPPPPP AAPAAGQPV SFPLDFTAVE GNMDSFMAQV KSLAQSLYPC SAQQLNEDLR LHLLNNTSVT CNDGSPAGYY LKE LLFLEGGWYC FNRENCSAY DTMAALMSSR DWPRTRTGTG ILSSQPEENP YWNNANMVFI PYCSSDVWSG ASSKSEKNEY AFMGALIIQE VRELLGRGL SGAKVLLAG SSAGGTGVLL NVDRAEQL KLGYPAIQR GLADSGWFLD NKQYRHTDCV DTITCAPTEA IRRGIRYWNG VVPERCRQF QEGEEWNCF GYKVYPTLRC PVFVQWLFED EAQLTVNDNH LTGQPVQEGL RLYIQNLGRE LRHTLKDVPA SFAPACLSHE IIIRSHWTDV QVKGTSLRA LHCWDRSLHD SHKASKTPLK GCPVHLVDSC PWPHCNPSCP TVRDQFTGQE MNVAQFLMHM GFDMQTVAQP QGLEPSELLG MLSNGS
99	인간 NOTUM R144A/R145A	MGRGVRVLLL LSLLHCAGGS EGRKTWRRRG QOPPPPPP AAPAAGQPV SFPLDFTAVE GNMDSFMAQV KSLAQSLYPC SAQQLNEDLR LHLLNNTSVT CNDGSPAGYY LKE LLFLEGGWYC FNRENCSAY DTMAALMSSR DWPRTRTGTG ILSSQPEENP YWNNANMVFI PYCSSDVWSG ASSKSEKNEY AFMGALIIQE VRELLGRGL SGAKVLLAG SSAGGTGVLL NVDRAEQL KLGYPAIQR GLADSGWFLD NKQYRHTDCV

		DTITCAPTEA IRRGIRYWNG VVERCRRQF QEGEEWNCF GYKVPTLRC PVFVQWLFD EAQLTVDNVH LTGQPVQEGL RLYIQLNLGRE LRHTLKDVPA SFAPACLSHE IIIRSHWTDV QVKGTSLPRA LHCWDRSLHD SHKASKTPLK GCPVHLVDSC PWPNCNPSCP TVRDQFTGQE MNVAQFLMHM GFDMQTVAQP QGLEPSELLG MLSNGS
100	인간 NOTUM R150A/D151A	MGRGVRLILL LSLLHCAGGS EGRKTWRRRG QOPPPPPRTE AAPAAGQPVE SFPLDFTAVE GNMDSFMAQV KSLAQSLYPC SAQQLNEDLR LHLLLNNTSVT CNQGSPAGYY LKESRGSRRW LLQLEGGWYC FNRENCDSRY DTMRRLMSSA AWPRTRTG ILSSQPEENP YWNANMVFI PYCSSDWMSG ASKSEKNEY AFMGALIIQE VVRELLGRGL SGAKVLLAG SSAGGTGVLL NVDRVAEQUE KLGYPAIQVR GLADSGNFLD NKQYRHTDCV DTITCAPTEA IRRGIRYWNG VVERCRRQF QEGEEWNCF GYKVPTLRC PVFVQWLFD EAQLTVDNVH LTGQPVQEGL RLYIQLNLGRE LRHTLKDVPA SFAPACLSHE IIIRSHWTDV QVKGTSLPRA LHCWDRSLHD SHKASKTPLK GCPVHLVDSC PWPNCNPSCP TVRDQFTGQE MNVAQFLMHM GFDMQTVAQP QGLEPSELLG MLSNGS
101	1.802 중쇄 가변영 역 풀리뉴클레오타이드 서열	ATGGACTCCA GGCTCAATT AGTTTCCCT GTCCCTTATTT TAAAAGGTGT CCAGTGTGAG GTGCAGCTGG TGGAGTCTGG GGGAGGCTTA GTGAAGCCTG GAGGGTCCCT GAAACTCTCC TGTGAGGCC CTGGATTAC TITCAGTGAC TATGGAATGC ACTGTTTCG TCAGGCTCCA GAGAAGGGGC TGGACTGGGT TGCATATATT AGTAGTGGCA GTAGAACCGT CTACTATGCA GACACAGTGA AGGGCCGATT CACCATCTCC AGAGACAATG CCAAAGAACAC CCTGTCCTG CAAATGACCA GTCTGAGGTC TGAGGACACG GOCATGTATT ACTGTGCGAG GAAACATTAC AACGGTGGAT ACTTCGATGT CTGGGGCACA GGGACCACGG TCACCGTCTC CTCAGCCAAA ACGACACCCC CATCTGTCTA TCCACTGGCC CCTGGATCTG CTGCCCAAAC TAACTCCATG GTGACCCCTGG GATGC
102	1.802 경쇄 가변영 역 풀리뉴클레오타이드 서열	ATCCTCTCTT CCAGCTCTCA GAGATGGAGA CAGACACACT CCTGTATGG GTACTGCTGC TCTGGGTCTC AGGTTCCACT GGTGACATGG TGCTGACACA GTCTCCCTGCT TCCTTAGCTG TATCTCTGG GCAGAGGGCC ACCATCTCAT GCAGGGCCAG CAAAATTGTC AGTACATCTG GCTATAGTTA TATGCACTGG TACCAACAGA AACCAAGGACA GCCGCCAAA CTCCCTCATCT ATCTTGCATC CAACCTAGAA TCTGGGGTCC CTGCCAGGTT CACTGGCAGT GGGCTGGGA CAGACTTCAC CCTAACATC CATCTGTGG AGGAGGGAGGA TGCTGCAACC TATTACTGTC AGCACAGTAG GGAGCTTCTC CCTCACGTTGC GCTCGGGGAC AAAGTGGAA ATAAAACGGG CTGATGTC ACCAACTGTA TCCATCTTCC CACCATCCAG TGAGCAGTTA ACATCTGGAG GT
103	1.815 중쇄 가변영 역 풀리뉴클레오타이드 서열	TCTGACAGAG GAGCCAAGCC CTGGATTCCC AGGTCTTCAC ATTCAAGTGTATGG CAGCACTGAA CACAGACCCAC TCACCATGGA CTCCAGGCTC AATTAGTT TCCTGTCTT TATTTTAAAAA GGTGTCCAGT GTGATGTGCA ACTGCTGGAA TCTGGGGGAG GCTTAGTGCA GCCTGGAGGG TCCCGAAAC TCTCTGTGC AGCCTCTGGA TTCACTTCA GTGACTTTGC AATGCACTGG GTTCTGCTAG CTCCAGAGA GGGGCTGGAG TGGGTGCGCAT ACAGTAGTAG TGCGGTTACT ACCGCTTACT ATGCAGACAC GGTGAAGGGC CGACTCACCCTCTCCAGAGA CAATTCCAAG AACACCCCTGT TCTGGAAAT GACCAAGTCTA AGGTCTGAGG ACACGGCCAT GTATTACTGT GCAAGAGCGT CCTATGATGG AGGGTACTTT GACTGCTGGG GCCAAGGGCAC CTCTCTCACA GTCTCCTCAG CCAAAACGAC ACCCCCATCT GTCTATCCAC TGGCCCTGG ATCTGCTGCC CAAACTAACT CCATGGTGC CCTGGGATGC
104	1.815 경쇄 가변영 역 풀리뉴클레오타이드 서열	ATCCTCTCTT CCAGCTCTCA GAGATGGAGA CAGACACACT CCTGTATGG GTACTGCTGC TCTGGGTCTC AGGTTCCACT GGTGACATGG TGCTGACACA GTCTCCCTGCT TCCTTAGCTG TATCTCTGG GCAGAGGGCC ACCATCTCAT GCAGGGCCAG

		CAAAAGTGTG AGTACATCTG GCTATAGTTA TATAACTGG TACCAACAGA AACCAGGACA CCCACCCAAA CCTCTCATCT ATCTTGCTC CGACCTAGAA TCTGGGGTCC CTGCCAGGTT CAGTGGCAGT GGATCTGGGG CAGCCTTCAC CCTCAACATC CATCTGTGG AGGAGGAGGA TGCTGCAACC TATTACTGTC ACACAGTAG GGAGCTTCCA TTCACTGTCG GCTCGGGAC AAAGTGGAA ATAAAACGGG CTGATGCTGC ACCAAGTGT TCCATCTTCC CACCATCCAG TGAGCAGTTA ACATCTGGAG GTGCCTCAGT CGTGTGC
105	1.846 중쇄 가변영역 폴리뉴클레오타이드 서열	AGAGGAGCCA AACCTGGAT TCCCAGGTTCC TCACATTCA TGATCAGCAC TGAACACAGA CCACCTACCA TGGAACCTCAG GCTCAATTAA GTTTCTTGC TCCTTATTTT AAAAGGTGTC CAGTGTGAGG TGCACTGGT GGAGTCTGGG GGAGACATTAG TGAAACCTCG AGGGTCCCTG AAACCTCTCT GTGCAGCCTC TGGATTCACT TTCACTGACT ATGGAATGCA CTGGCTTCGT CAGGCTCCAG AGAAGGGGCT GGAGTGGGTT GCATATATTA GTAGTGGCAG TACTACCCCTC TCCTATGCAA ACACAATGAA GGGCGGATTC ACCATCTCCA GAGACAAATGCA CAAGAAAACC CTGCCCCCTGC AAATGACAGG TCTGAGGTCT GAGGACACGG CCATTATTA CTGTGCGGGG AAAAATTACA ACGGTGGTTA CTTCGATGTC TGGGGCAGAG GGACCACGGT CACCGTCTCC TCAGCCAAAA CAACACCCCCC ATCACTCTAT CCACACTGCC CTGGGTGAG AGATACAACCT GTTCCCTTG TGACTCTGGG ATGCCCTGGTC AAAGGG
106	1.846 경쇄 가변영역 폴리뉴클레오타이드 서열	ATCCTCTTCC CAGCTCTCA GAGATGGAGA CAGACACACT CCTGTTATGG GTACTGCTGC TCTGGGGTCC AGGTTCCACT GGTGACATTG TGCTGACACA GTCTCCCTGCT TCCTTAGTTG TATCTCTGGG GCAGAGGGCC ACCATCTCAT GCAGGGCCAG CAAAGTGTG AGTGAATCTG GCTATAGTTA TATGCACTGG TACCAACAGA AACCAAGGACA CCCACCCAAA CCTCTCATCT ATCTTGCTC CAAACCTAGAG TCTGGGGTCC CTGCCAGGTT CAGTGGCAGT GGCTCTGGG CAGACTTCAC CCTCAACATC CATCTGTGG AGGAGGGGGA TGCTACAACC TATTACTGTC AGCACAGTAG GTTCCCTTCT CCCACGTTCG GCTCGGGAC AAAGTGGAA ATAAAACGGG CTGATGCTGC ACCAAGTGT TCCATCTTCC CACCATCCAG TGAGCAGTTA ACATCTGGAG GTGC
107	2.78 중쇄 가변영역 폴리뉴클레오타이드 서열	GACAGAGGAG CCAAGCCCTG GATTCAGGAG TCCTCACATT CACTGATCAG CACTGAACAC AGACCACTCA CCATGGACTC CAGGCTCAAT TTAGTTTCC TTGCTCTTAT TTAAAGGT GTCCAGTGTG ATGTCAGCT GGTGGAGTCT GGGGGAGGCT TAGTGCAGCC TGGAGGGTCC CGGAAACTCT CCTGTGCAGC CTCTGGATTTC ACTTCTAGTA GCTTGGCAT GCACITGGGTT CGTCAGGCTC CAGAGGAGGG ACTGGAGTGG GTCCGATACA TTACTAGTGG CAGTGGTGC ATCTACTATG CAGACACAGT GAGGGGCCGA TTCACCATCT CCAGAGACAC TCCCAAGAAC ACCCCTGTCCC TGCAGATGAC CAGTCTAAGG TCTGAAGGACA CGGCCATGTA TTACTGTGCA AGATCGGCTG ATGGTTGGAA CTACTGGGTT CAAGGAACCT CAGTCACCGT CTCCCTAGGC AAAACAACAC CCCCATCAGT CTATCCACTG GCCCCTGGGT GTGGAGATAC AACTG
108	2.78 경쇄 가변영역 폴리뉴클레오타이드 서열	CAGCCTCACA CTGATCACAC ACAGACATGA GTGTGGCCAC TCAGGCTCG GGGTGTGCTGC TGCTGTGGCT TACAGATGCC AGATGTGACA TCCAGATGAC TCAGTCTCCA CCTCCCTAT ATGTATCTGT GGGAGAAACT GTCAACCATCA CATGTGAGC AAAGTGAAGAT ATTACAGTA ATTACAGTGC GTATCAGCAG AAACAGGGAA AATCTCTCA CCTCCCTGGTC TATGGTGCAA CAAACCTAGC AGATGGTGTG CCATCAAGGT TCAGTGGCAG TGGATCAGGC ACACAGTATT CCTCAAGAT CAACAGCCTG AAAGTCTGAAG ATTGTGGAG TTATTACTGT CAACATTTTT GGGGTACTCC ATTACAGTTC GGCTCGGGGA CAAAGTTGGA AATAAAACGG GCTGATGCTG CACCAACTGT ATCCATCTTC CCACCATCCA TGAGCAGTT AACATCTGGA GTTCCCTAG TCGTGTGC
109	2.1029 중쇄	ATCTCTCAC TAGAGCCCCC ATCAAGACAT GGCTGTCCCTG

	가변영역 풀리뉴클레오타이드 서열	GTGCTGTTCC TCTGCCGGT TGCATTTCCA AGCTGTGTCC TGTCCCAGGT GCAGCTGAAG GAGTCAGGAC CTGGCCTGGT GGCGCCCTCA CAGAGCTGT CCATCACTTG CACTGTCTCT GGGTTTCAT TAACCAGCTA TGGTGTACAC TGCGGCTGCC AGCCTCCAGG AAAGGGCTG GAGTGGCTGG GAGTAATATG GGCTGGTGG A GCACAAATT ATAATTGGC TCTCATGTCC AGACTGAGCA TCAGCAAAGA CAACTCCAAG AGCCAAGTTT TCTTAARAT GAACAGCTG CAAACTGATG ACACAGCCAT CTACTCTGT GCCAGAGATG GCGACTACGG TACTATCTAC GCTATGGACT ACTGGGTCA AGGAACCTCA GTCACCGTCT CCTCAGGCAA AACAAACGCC CCATCGGTCT ATCCACTGGC CCCTGTGTGT GGAGATACAA CTGGCTCCTC GGTGACTCTA GGATGCCCTGG TCAAGG
110	2.1029 경쇄 가변영역 풀리뉴클레오타이드 서열	ATTGAAGTCA AGACTCAGCC TGGACATGAT GTCCTCTGCT CAGTTCCCTTG GTCTCTTGTG GCTCTGTTTT CAAGGTACCA GATGTGATAT CCAGATGACA CAGACTACAT CCTCCCTGTC TGCCTCTCTG GGAGACAGAG TCACCATCAG TTGCAGGGCA AGTCAGGACA TTAGCAARTA TTAAACTGG TATCAGCAGA AACCAGATGG AACTGTTPAA CTCTGATCT ACTACACATC ARGATTACAC TCAGGAGTCC CATCAAGGTT CACTGGCAGT GGGCTGAA CAGATTATTC TCTCACCAATT AGCAACCTGG AGCAAGAAGA TATTGCCACT TACTTTGCC AACAGGGTAA AACGCTTCTC CGGACGTTG GTGGAGGCAC CATGCTGGAA ATCAAACGGG CTGATGCTGC ACCAACTGTA TCCATCTTCC CACCACATCCAG TGAGCAGTTA ACATCTGGAG GTGCCTCAGT CGTGTGC
111	인간화된 Ab (HumAb) 2.78 중쇄 가변영역 풀리뉴클레오타이드 서열	gagggtgcgc tggtggagag cggcgccggc ctgggtgcage ccggccgcag cctgagactg agctgcggc ccagccggctt cacattcagc agcttcggca tgcaactggg gagaacggcc ccccggcaagg gcctggagt ggtgagctac atcaccagcg gcagccggcgc catctactac gccacacagcg tgaaggccag attcaccatc acaagagaca acgccaagaa cagctgtac ctgcagatga acacccctgag agccgaggac accgcgtgt actactgcgc cagaacgcgc gacccgcctgg actactgggg ccagggeacc accgtgaccc tgagcagc
112	HumAb 2.78 중쇄 풀리뉴클레오타이드 서열	ATGCGTACTC TGGCTATCCT TGCAGCTATT CTGCTTGTG CACTGCAGGC TCAAGCGGAG GTGCAGCTGG TGAGAGCGG CGGGCGCTG GTGCAGCCCC GCGGCAGCCT GAGACTGAGC TGCGCCCTCA CGGGCTTCAC CTTCACCGAG TTGGCATG ACTGGGTGAG ACAGGCCCC GGCAAGGGCC TGAGCTGGG GAGCTACATC ACCAGCGCA GCGGCAGCCT ATACTACGCC GACAGCTGAA AGGGCAGATT CACCATCAGC AGAGACAAACG CCAAGAACAG CCTGTACCTG CAGATGAACA GCCTGAGAGC CGAGGACACC GCCGTGACT ACTGGCCCAAG AAGGCCGCAG GGCTGGACT ACTGGGGCCA GGGCACCAAC GTGACCGTGA GCAGCGATGT GTGGGGCCAC GGCAACCCAGC TGACCGTGA CAGCGCGTCG ACCAAGGGCC CATCGGTCTT CCCCTGGCG CCCTGCTCCA CGAGCACCTC CGAGACACCA GCGGCCTGG GCTGCCCTGGT CAAGGACTAC TTCCCCGAAC CGGTGACGGT GTCGTGGAAC TCAGGGCTC TGACCGCGC CGTCACACCC TTCCCGGCTG TCCTACAGTC CTCAGGACTC TACTCCCTCA GCAGCGTGGT GACCGTGACCC TCCAGCAACT TCGGCACCCA GACCTACACC TGCAACGTAG ATCACAAAGCC CAGCAACACC AAGGTGGACCA AGACAGTTGA GCGCAAATGT TGTCGAGT GCCCAACCGTG CCCAGCACCA CCTGTGGCAC GACCGTCACT CTTCCCTTTC CCCCAAAAC CCAAGGACAC CCTCATGATC TCCCGGACCC CTGAGGTCAC GTGCCTGGTG GTGGACGTGA GCCACGAAGA CCCCCGAGGTC CAGTICAACG GTTACGTGGA CGGCATGGAG GTGCATAATG CCAAGACAAA GCGCGGGAG GAGCAGTCA ACAGCACGTT CGGTGTTGTC AGCCTCCTCA CCGTCGTGCA CCAGGACTGG CTGAACGGCA AGGAGTACAA GTGCAAGGTC TCCAACAAAG GCCTCCAGC CCCCATCGAG AAAACCATCT CCAAAACCAA AGGGCAGCCC CGAGAACAC AGGTGTACAC CCTGGCCCCA TCCCGGGAGG AGATGACCAA GAACCAAGGTC AGCCTGACCT GCCTGGTCAA AGGCTTCTAC CCCAGGACCA TCGCCGTGGA GTGGAGGAGC AATGGGCAGC

		CGGAGAACAA CTACAAGACC ACACCTCCC TGCTGGACTC CGACGGCTCC TTCTTCCTCT ACAGCAAGCT CACCGTGGAC AAGAGCAGGT GGCAGCAGGG GAACGTCTTC TCATGCTCCG TGATGCATGA GGCTCTGCAC AACCACTACA CACAGAAGAG CCTCTCCCTG TCTCCGGGTA AATGA
113	HumAb 2.78 경쇄 가변영역 풀리뉴클레오파이드 서열	gacatccaga tgaccaggag cccaggcgc ctgagcgcca gcgtggcgca cagagtggacc atcacctgc gaggccaggca gaacatctac agcaacctgg cctggtagcca gcaaggcccc ggcaggccccc ccaaggctgtg gatctacggc gccaccaacc tggccggacgg cgtggcccgac agattcaggc gcaaggccgg cggccaggac ttccacctga ccatacggc cttggcaggcc gaggacttcg ccacccatcta ctggcaggac ttctggggca ccccttca cttggccggag ggacccaagg tggagatc
114	HumAb 2.78 경쇄 풀리뉴클레오파이드 서열	ATGAAAATCC TGATTCTCGG TATCTTCCTG TTTCTCTGTT CTACTCCAGC TTGGGCAGAC ATCCAGATGA CCCAGAGGCC CAGCAGCCTG AGCCGCCAGCG TGGCGGACAG AGTGACCATC ACCTGAGAG CCACCGAGAA CATCTACAGC AACCTGGCT GGTACCAAGCA AAAGCCCCGGC AAAGCCCCCA AGCTGCTGAT CTACGGCGCC ACCAACCTGG CCCACGGGGT GCCCAGCAGA TTCAGCGGCA GCGGCAGCGG CACCGACTTC ACCCTGACCA TCAGCAGCCT GCAGCCCCAG GACTTCGCA CCTACTACTG CCAGCACTTC TGGGGCACCC CCTTCACCTT CGGCCAGGGC ACCAAGGTGG AGATCAAAGG TAGGGTGCT GCACCATCTG TCTTCATCTT CCGCCCATCT GATGAGCAGT TGAAATCTGG AACCTGCTCT GTTGTGTGCCC TGCTGAATAA CTCTATCCC AGAGAGGCCA AAGTACAGTG GAAGGTGGAT AACGCCCTCC AACCTGGGAA CTCCCAAGGAG AGTGTACAG AGCAGGACAG CAAGGACAGC ACCTACAGCC TCAGCAGCAC CCTGACCGCTG AGCAAAGCAG ACTACGAGAA ACACAAAGTC TACGCCCTGCG AAGTCACCCA TCAGGGCTG AGCTCGCCCG TCACAAAGAG CTTCAACAGG GGAGAGTGTG GA
115	HumAb 2.1029 중쇄 가변영역 풀리뉴클레오파이드 서열	caggtgcaggc tgccaggagag cgccccccggc ctgtgtaaagg ccagcggagac cctggggctg acctgcaccc tgagcggtt cagccgtggcc agtacggccg tgactctggat cagacaccccc cccggcaagg gcctggggat gatcgccgtg atctggggcg gggcagcac caactacacac ccctggctga agagcagat gaccatcaggc gtggacacca gcaagaacca gttcagctgg aagctggaca gctgtggccg cggccggacacc gccgtgtact actgcggccag agacggccggc tacggccacca tctacggccat ggactactgg ggccaggcga ccctgggtac cgtgagcagc
116	HumAb 2.1029 중쇄 풀리뉴클레오파이드 서열	ATGGGTACTC TGGCTATCCT TGCAGCTATT CTGCTTGTTG CACTGCAGGC TCAAGCGAG GTGCAGCTGC AGGAGAGCGG CCCCGCCCTG GTGAAGGCCA GCGAGACCC GAGCTGACC TGACCCGTGA CGCCGCTTCAG CTCGACCCAGC TACGGCGTGC ACTGGATCAG ACAGCCCCCCC GGCAGGGGCC TGGAGTGGAT CGGGGTGATC TGGGGCGGCC GAGCACCAC CTACAACCCC AGCCTGAAGA GCAAGGTGAC CATCAGCGTG GACACCAAGCA AGAACCCAGTT CAGCTGAAAG CTGAGCAGCG TGACCGCCGC CGACACCGCC GTGTACTACT GCGCCAGAGA CGGGGACTAC GGCACCATCT ACCGCATGGA CTACTGGGGC CAGGGCACCC TGGTGACCGT GAGCAGCGAT GTGTGGGGCC AGGGCACCC CGTGACCCGTG AGCAGCGCGT CGACCAAGGG CCCATCGGTC TTCCCCCTGG CGCCCTGCTC CAGGAGCACC TCCGAGAGCA CAGGGCCCTT GGCTGCTTG GTCAAGGACT ACTTCCCCGA ACCGGTGAGC GTGTGCTGGA ACTCAGGCGC TCTGACCAGC GGGGTGCACTA CCTTCCCCGGC TGTCCCTACAG TCTCTCAGGAC TCTACTCCCT CAGCAGCGTG GTGACCGTGA CCTCCAGCAA CTTCGGCAC CAGACCTACA CCTGCAACGT AGATCACAAG CCCAGCAACA CCAAGGTGGA CAAGACAGTT GAGCGCAAAT GTTGTGTGCA GTGCCCACTGG TGCCTCAGCAC CACCTGTGGC AGGACCGTCA GTCTCCCTCT TCCCCCCTAA ACCCAAGGGAC ACCCTCATGA TCTCCCGGAC CCTGAGGTC ACGTGGCTGG TGGTGACGT GAGCCACGAA GACCCCGAGG TCCAGTTCAA CTGGTACGT GACGGCATGG AGGTGCATAA TGCCAAGACA

		AAGCCGCGGG AGGAGCAGTT CAACAGCACG TTCCGTGTGG TCACGGTCTT CACCGTCGTG CACCAGGACT GGCTGAACGG CAAGGAGTAC AAGTGCAGG TCTCCAACAA AGGCCCTCCA GCCCCCATCG AGAAAACCAT CTCCAAAACC AAAGGGCAGC CCCGAGAACC ACAGGTGTAC ACCCTGCCCG CATCCGGGA GGAGATGACC AAGAACCAAGG TCAGCCTGAC CTGCCCTGGTC AAAGGCTTCT ACCCCAGCGA CATCGCCGTG GAGTGGGAGA GCAATGGGCA GCGGAGAAC AACTACAAGA CCACACCTCC CATGCTGGAC TCCGACGGCT CCTTCTTCT CTACAGCAAG CTCACCGTGG ACAAGACCGAG GTGGCACAG GGGAAAGCTCT TCTCATGCTC CGTGATGCAT GAGGCTCTGC ACAACCACTA CACACAGAAG AGCCTCTCCC TGTCTCCGGG TAAATGA
117	HumAb 2.1029 경쇄 가변영역 폴리뉴클레오타이드 서열	gacatccaga tgaccaggag cccaggcgc ctgagcgcca gcgtggcga cagagtacc atcacctgca gagccaggcca ggacatcaggaaactaacatgtc actggtaacc gcaaaaggccc ggcaaggcccccaagctgtct gatctactac accagcagac tgcacagcgccgtggccaggc agattcagcg gcagcggcag cgccacccggatccacccatca ecacccatcgag ccctgcagcccc gaggacatcgccacactacta ctggcagcg gggaaagaccc tgcccaaggaaacttcggcggc ggccaccaagg tggagatc
118	HumAb 2.1029 경쇄 폴리뉴클레오타이드 서열	ATGAAAATCC TGATTCCTGG TATCTTCCTG TTTCCTGTT CTACTCCAGC TTGGGCAGAC ATCCAGATGA CCCAGAGGCC CAGCAGCCTG AGCGCCAGCG TGGGCAGACAG AGTGACCATC ACCTGCAGAG CCAGCCAGGA CATCAGCAAC TACCTGAACT GGTACCCAGCA GAAGCCCCGGC AAGGCCCCCA AGCTGCTGAT CTACTACACC AGCAGACTGC ACAGCGCGT GCCCAGCAGA TTCAGCGGCA GCGGCAGCGG CACCGACTTC ACCTTCACCA TCAGCAGCCT GCAGCCCCAG GACATGCCA CCTACTACTG CCAGCAGGGC AAGACCCCTGC CCAGAACCTT CGGGCGGGC ACCAAGGTGG AGATCAAACG TACGGTGGCT GCACCATCTG TCTTCATCTT CCCGGCATCT GATGAGCAGT TGAATCTGG AACTGGCTCT GTTGTGUGCC TGCTGAATAA CTTCATATCCC AGAGAGGCCA AAGTACACTG GAGGGTGGAT AACGCCCTCC AATGGGTAA CTCCCAGGAG AGTGTACAG AGCAGGACAG CAAGGACAGC ACCTACAGCC TCAGCAGCAC CCTGACGCTG ACCAAAGCAG ACTACAGGAAA ACACAAAGTC TACGCTCTGCG AAGTCACCCA TCAGGGCTG AGCTCGCCCG TCACAAAGAG CTTCACACAGGGAGTGTGA
119	HumAb 1.802 중쇄 가변영역 폴리뉴클레오타이드 서열	gagggtgcagc tggtggagag cgccggcgcc ctgggtgcagc ccggccggcag cttggagatcg agctgcggcg ccacggcgctt cacccatcaggc gactacggca tgcactgggt gagacaggcc cccgcccaagg gcctggatgt ggtgagctac atccggcagcg gcacgcggaaac ctgtgtactac gccgacagcg tgaaggccag attaccatc acgcggatc acgcggatc acgcggatc ctgcagatgc acgcggatc acgcggatc acgcggatc actactgcgc cagaaaggac tacaaacggcg gctacttcga cgtgtggggc caggccaccc ttggatccgt gaggcagc
120	HumAb 1.802 중쇄 폴리뉴클레오타이드 서열	ATCGGTACTC TGGCTATCCT TGCAGCTATT CTGCTTGTG CACTGCAGGC TCAAGCGGGAG GTGCAGCTGG TGGAGAGCGG CGGGGGCTG GTGCAAGCCCG GCGGCAGCCCT GAGACTGAGC TGCAGCCGCCA GCGGCTTCAC CTTCAAGCGAC TACGGCATGC ACTGGGTGAG ACAGGCCCCC GGCAAGGGCC TGGAGTGGGT GAGCTACATC AGCAGCGGCCA GCAGAACCGT GTACTACGCC GACAGCGTGA AGGGCAGATT CACCATCAGC AGAGACAACG CCAAGAACAG CCTGTACCTG CAGATGAACA GCCTGAGAGA CGAGGACACCC GCGGTGACT ACTGCGCCAG AAAGCACTAC AACGGCGGCT ACTTCGACGT GTGGGGCCAG GGCAACCTGG TGACCGTGAG CAGCGATGTG TGGGGCCAGG GCACCCACGT GACCGTGAGC AGCGCGTCGA CCAAGGGCCC ATCGGTCTTC CCCCCTGGGG CCTGCTCCAG GAGCACCTCC GAGAGCACAG CGGGCCCTGGG CTGCTGGTC AAGGACTACT TCCCCGAACC GGTGACGGTG TCGTGGAACT CAGGGCTCT GACCGACGGC GTGCACACCT TCCCCGCTGT CCTACAGTCC TCAAGGACTCT ACTCCCTCAG CAGCGTGGTG ACCGTGACCT CCAGCAACTT

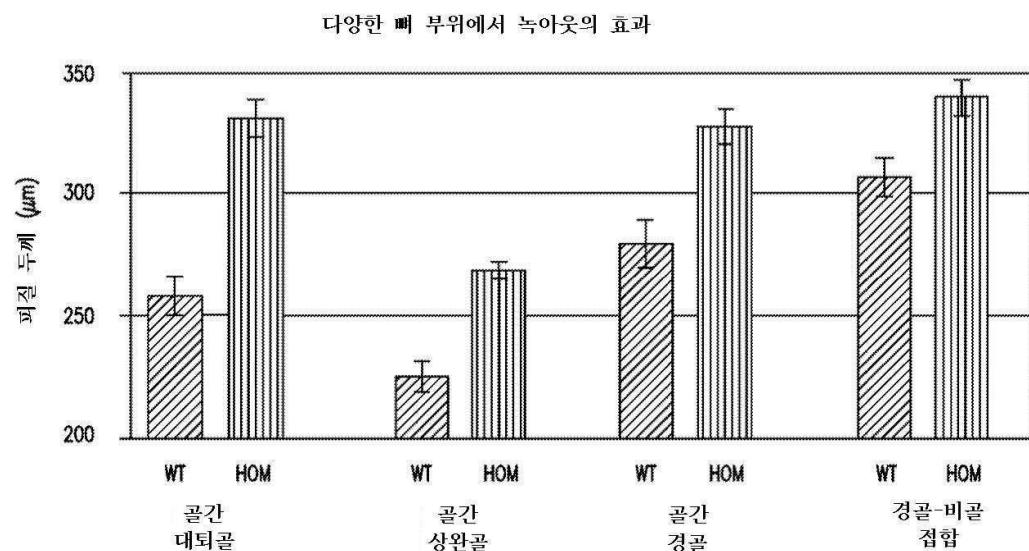
		CGGCACCCAG ACCTACACCT GCAACGTAGA TCACAAGCCC AGCAACACCA AGGTGGACAA GACAGTTGAG CGCAAATGTT GTGTCAGTG CCCACCGTGC CCAGCACCAC CTGTGCCAGG ACCGTCAGTC TTCTCTTCC CCCAAAACC CAAGGACACC CTCATGATCT CCCGGACCCC TGAGGTCACG TGCGTGTTGG TGGACGTGAG CCACGAAGAC CCCGAGGTCC AGTTCAACTG GTACGTGGAC GGCATGGAGG TGCATAATGCA CAAGACAAAG CCCCGGGAGG AGCAGTTCAA CAGCACGTTIC CGTGTGGTCA GCGCTCTCAC CGTCGTGCAC CAGGACTGGC TGAAACGGCAA GGAGTACAAG TGCAAGGTCT CCAACAAAGG CCTCCCGGCC CCCATCGAGA AAACCATCTC AAAACCAAAAGGGCAGCCCC GAGAACACCA GGTGTACACC CTGCCCCCAT CCCGGGAGGA GATGACCAAG AACOAGGTCA GCCTGACCTG CCTGGTCAAA GGCTTCTACC CCAGCGACAT CGCCGTGGAG TGGGAGAGCA ATGGGCAGCC GGAGAACAC TACAAGACCA CACCTCCCAT GCTGGACTCC GACGGCTCCT TCTTCTCTA CAGCAAGCTC ACCGTGGACA AGAGCAGGTG GCAGCAGGGG AACGTCTTCT CATGCTCCGT GATGCAATGAG GCTCTGCACA ACCACTACAC ACAGAAAGAGC CTCTCCCTGT CTCCGGTAA ATGA
121	HumAb 1.802 경 쇄 가변영역 풀리뉴클레오타이드 서열	gacatcgta tgacccagag ccccgacagc ctggccgtga gcctggcgca gagagccacc atcaactgca gagccagcaa gatcgtaggc accaggcgct acagctacat gcaactggtag cagcagaagg ccggcccgacc ccccaagctg ctgatctacc tggccagcaa cctggagagc ggctgtggcc acagattcag cgccagcgcc aqcgccaccc acttcacccct gaccatcagc aqcgccagg ccgaggacgt ggccgtgtac tactgcacgc acagcagaga gctggccccc accttcggcc agggcaccaa gctggagatc
122	HumAb 1.802 경 쇄 풀리뉴클레오타이드 서열	ATGAAATCC TGATTCCTGG TATCTTCTTG TTTCTCTGTT CTACTCCAGC TTGGGCAGAC ATCGTGTGATGA CCCAGAGCCC CGCAGCCCTG GCCGTGAGCC TGGGCGAGAG AGCCACCATC AACTGAGAG CCAGCAAGAT CGTGGACACC AGCGGCTACA GCTACATGCA CTGGTACCCAG CAGAAGCCCCG GCCAGCCCC CAAAGCTGCTG ATCTACCTGG CCAGCAACCT GGAGAGCGGC GTGCCCGACA GATTTCAGCGG CAGCGGCAGC GGCAACCGACT TCACCCCTGAC CATCAGCAGC CTGCAGGCCG AGGACGTGGC CGTGTACTAC TGCCAGCACA GCAGAGAGCT GCCCCCCCACC TTCGGCCAGG GCACCAAGCT GGAGATCAA CGTACGGTGG CTGCACCATC TGTCCTCATC TTCCCGCCAT CTGATGAGCA GTTGAAATCT GGAACGTGCT CTGTTGTGTG CCTGCTGAAT AACTTCTATC CCAGAGAGGC CAAAGTACAG TGGAAAGTGG ATAACGCCCT CCAATCGGGT AACTCCAGG AGAGTGTAC AGAGCAGGAC AGCAAGGACA GCACCTACAG CCTCAGCAGC ACCCGTGAGCC TGAGCAAAGC AGACTACGGG AAACACAAAG TCTACGGCTG CGAAGTCACC CATCAGGGCG TGAGCTGCC CGTCACAAAG AGCTCAACAA GGGGAGAGTG TTGA
123	HumAb 1.815 중 쇄 가변영역 풀리뉴클레오타이드 서열	caggtgcagc tgggtggagag cggcgccggc ctgggtgaagc ccggccggcag cttgagactg agctgcggcc cgacggcgctt caccttcagc gacttcggca tgcaactggat cagacaggcc ccccggcaagg gcctggagt ggttggactac agcagcagcg gcggcaccac cgtgtactac gccgacagcg tgaagggcg attcaccatc agcagagaca acggcaagaa cagccgttac ctgcagatgc acggctgcg agccgaggac accggccgtgt actactgcgc cagggccacca tcggacggcg gctacttcga ctgtctgggc cagggccacca cctgtgaccgt gaggcagc
124	HumAb 1.815 중 쇄 풀리뉴클레오타이드 서열	ATCGGTACTC TGGCTATCCT TGCAGCTATT CTGCTTGTG CACTGCAGGC TCAAGCGAG GTGCAGCTGG TGGAGAGCGG CGGGGGCTTG GTGAAGGCCCG CGGGCAGCCCT GAGACTGAGC TGGCCCGCCA CGGGCTTCAC CTTCAAGCCAC TTCCGGCATGC ACTGGATCAG ACAGGGCCCCC GGCAAGGGCC TGGAGTGGGT GAGCTACAGC AGCAGCGCCG GCACCCACCGT GTACTACGCC GACAGCGTGA AGGGCAGATT CACCATCAGC AGAGACAAACG CCAAGAACAG CCTGTACCTG CAGATGAACA GCCTGAGAGC CGAGGACACCC CGCGTGTACT ACTGGGCCAG AGCCAGCTAC GACGGCGGCT ACTTCGACTG CTGGGGCCAG GGCACCAACCG

		TGACCGTGAG CAGCGATGTG TGGGGCCAGG GCACCACCGT GACCGTGAGC AGCGCGTCGA CCAAGGGCCC ATCGGTCTC CCCCCTGGGC CCTGCTCCAG GAGCACCTCC GAGAGCACAG CGGCCCTGGG CTGCTGGTC AAGGACTACT TCCCCGAACC GGTGACGGTG TCCTGGAACCT CAGGGCCTCT GACCGCGGC GTGCACACCT TCCCCGCTGT CCTACAGTCC TCAGGACTCT ACTCCCTCAG CAGCGTGTTG ACCGTGACCT CCAGCAACTT CGGCACCCAG ACCTACACCT GCAACCTAGA TCACAGCCC ACCAACACCA AGGTGGACAA GACAGTTGAG CGCAAATGTT GTGTCGAGTG CCCACCGTGC CCAGCACAC CTGTGGCAGG ACCGTCAGTC TTCTCTTCC CCCCACAAAC CAAGGACACC CTCATGATCT CCGGACCCC TGAGGTACAG TGCGTGTTGG TGAGCGTGAG CCACGAAGAC CCCGAGGTCC AGTTCAACTG GTACGTGGAC GGATGGAGG TGCTATAATGC CAAGACAAAG CCCGGGGAGG AGCAGTTCAA CAGCACGTT CGTGTTGTCA GCGTCTCAC CGTCGTGCAC CAGGACTGGC TGAACGGCAA GGAGTACAAG TGCAAGTCT CCAACAAAGG CCTCCCGGCC CCCATCGAGA AAACCATCTC CAAAACAAA GGGCAGCCCC GAGAACACAA GGTGTACACE CTGCCCCCAT CCCGGGAGGA GATGACCAAG AACCAAGGACA GCCTGACCTG CCTGGTCAA GCCCTTCTACC CCAGGGACAT CGCCCTGGAG TGGGAGAGCA ATGGGAGCC GGAGAACAAAC TACAAGACCA CACCTCCCAT GCTGGACTCC GACGGCTCC TCTTCTCTA CAGCAAGGTC ACCGTGGACCA AGAGCAGGTG GCAGCAGGGG AACGCTTCT CATGCTCCGT GATGCATGAG GCTCTGCACA ACCACTACAC ACAGAAAGGC CTCTCCCTGT CTCCGGTAA ATGA
125	HumAb 1.815 경 쇄 가변영역 풀리뉴클레오타이드 서열	gacatcgta tgacccagag ccccgacagc ctggccgtga gcctggcgca gagagccacc atcaactgca gagccagcaa gagcgtaagg accagcgct acagctacat ccactggtag cagcagaagg ccggcccgcc ccccaagctg ctgtatctacc tggcccgca cctggagage ggctgtcccc acagatttag cgccagcgcc agcgccaccc acttcacccct gaccatcagc agccgtcgagg ccgaggacgt ggccgtgtac tactggccacc acagcagaaga gtggcccttc accttggccc agggcaccaa gttggagata
126	HumAb 1.815 경 쇄 풀리뉴클레오타이드 서열	ATGAAAATCC TGATTCTCGG TATCTTCTCTG TTTCTCTGTT CTACTCCAGC TTGGGCAGAC ATCGTGATGA CCCAGAGCC CGACAGCCTG GCCGTGAGCC TGGGCAGAG AGCCACCATC AACTGCAGAG CCAGCAAGAG CGTGAGCACC AGCGGCTTACA GCTACATCCA CTGGTACCGAG CAGAAGCCCCG GCCAGCCCCC CAAGCTCTG ATCTAATCTG CCAGGGACCT GGAGAGCGGC GTGCCCCACA GATTCAAGCGG CAGCGGCAGC GGACCCACT TCACCCCTGAC CATCACCGAC CTGCAAGGCC AGGACGTGGC CGTGTACTAC TGCCACCCACA GCAGAGAGCT CCCCTTCACC TTCCGGCAGG GCACCAAAGCT GGAGATCAA CGTAGGGTGG CTGCACCATC TGTCTTCATC TTCCCGCCAT CTGATGAGCA GTTGAAATCTT GGAACTGCCT CTGTTGTGT CCTGCTGAAT AACTTCTATC CCAGAGAGGC CAAAGTACAG TGGAAAGGTGG ATAACGCCCT CCAATCGGGT AACCTCCAGG AGAGTGTAC AGAGCAGGAC AGCAAGGACA GCACCTACAG CCTCAGCAGC ACCCCTGACGC TGAGCAAGGC AGACTACAGG AACACACAAAG TCTACGCCCT CGAAGTCACC CATCAGGGCC TGAGCTCGCC CGTCACAAAG AGCTTCAACA GGGGAGAGTG TTGA
127	HumAb 1.846 중 쇄 가변영역 풀리뉴클레오타이드 서열	gaggtgcaggc tgggtggagag cggcgccggc ctggtgccagc ccggccggcag cctgagactg agctcgcccg ccacgggtt caccttcaggc gactacggca tgcactgggt gagacaggcc cccgccaaagg gcctggaggat ggtgacgtac atacgcaggc gcacgaccac cttgagatc gcccacagcg tgaaggccag attcaccatc agcagagaca acgccaagaa cagccgtac ctgcagatga acagctcgag agacgaggac accggcggt actactcgcc cagaaaagaac tacaacggcg gctacttcga cgtgtgggc caggcaccct tggtgaccgt gacgac
128	HumAb 1.846 중 쇄 풀리뉴클레오타이드	ATGCGTACTC TGGCTATCCT TGCAGCTATT CTGCTTGTG CACTGCAGGC TCAAGCCGAG GTGCAGCTGG TGGAGAGCGG

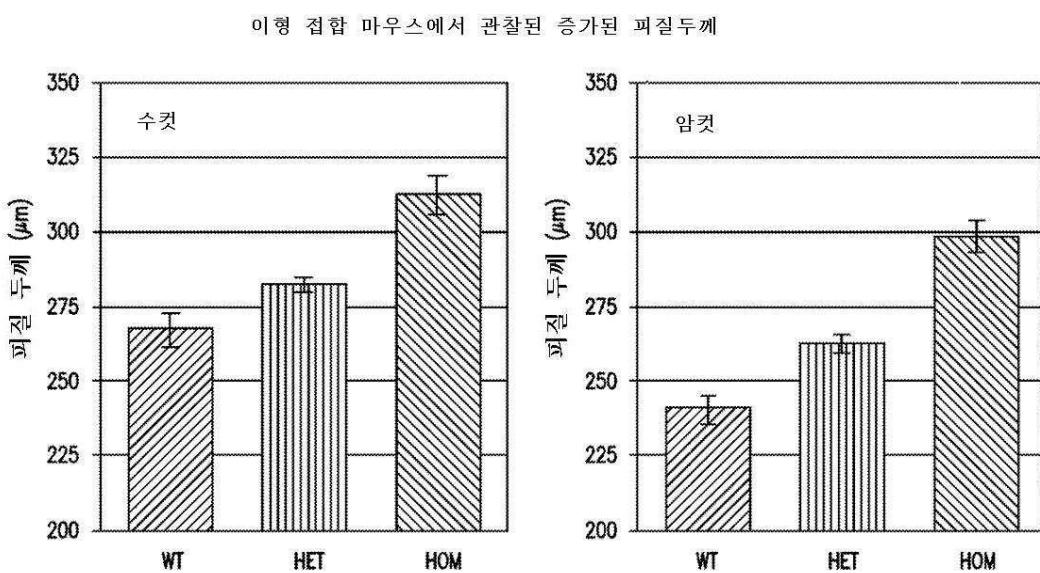
	서열	CGGGCGGCCTG GTGCAGCCCG GCGGCAGCCT GAGACTGAGC TGCCCCGCCA GCGGCTTCAC CTTCAGCGAC TACGGCATGC ACTGGGTGAG ACAGGCCCG GCAGAAGGGCC TGAGCTGGGT GAGCTACATC AGCAGCGCCA GCACCCACCT GAGCTACGCC GACAGCGTGA AGGGCAGATT CACCATCAGC AGAGACAACG CCAAGAACAG CCTGTACCTG CAGATGAACA GCCTGAGAGA CGAGGACACC GCGGTGTA CT ACTGGCCAG AAAGAACTAC AACGGCGCT ACTTCCAGT GTGGGGCCAG GGCACCCCTGG TGACCGTGA CAGCGATGTG TGGGGGCAGG GCACCCACGT GACCGTGAGC AGCCGCGTGA CCAAGGGCCC ATCGGTCTTC CCCGTGGCC CCTGCTCCAG GAGCACCTCC GAGAGCACAG CGGCCCTGGG CTGCTGGTC AAGGACTACT TCCCCGAACC GGTGACCGTG TGCTGGAAC T CAGGCCTCT GACCAGCGGC GTGACACCT TCCCCTGTG CCTACAGTCC TCAGGACTCT ACTCCCTCAG CAGCGTGGTG ACCGTGACCT CCAGCAACTT CGGCACCCAG ACCTACACCT GCAACGTAGA TCACAAGCCC AGCAACACCA AGGTGGACAA GACAGTTGAG CGCAAATGTT GTGTGAGTG CCCACCGTGC CCAGCACCAC CTGTGGCAGG ACCGTCAGTC TTCCCTCTCC CCCCAAAACC CAAGGACACC CTCATGATCT CCCGGACCCC TGAGGTACAG TCGGTGGTGG TGGACGTGAG CCACGAAGAC CCCGAGGTCC AGTTCAACTG GTACGTGGAC GGCATGGAGG TGCTATAATGC CAAGACAAAG CCGGGGGAGG AGCAAGTCAA CAGCACGTTG CGTGTGGTCA GGCTCCTCAC CGTCCTGCAC CAGGACTGGG TGAACGGCAA GGAGTACAAAG TGCAAGGTCT CCAACAAAGG CCTCCCGGCC CCCATCGAGA AAACCATCTC CAAAACCAAAGGGCAGCCCC GAGAACACAA GGTGTACACC CTGGCCCCAT CCCGGGAGGA GATGACCAAG AACCAAGGTCA GCCTGACCTG CCTGGTCAAA GGCTTCTACC CCAGCGACAT CGCCGTGGAG TGGGAGAGCA ATGGGCAGCC GGAGAACAAAC TACAAGACCA CACCTCCCAT GCTGGACTCC GACGGCTCT TCTTCTCTA CAGCAAGCTC ACCGTGGACA AGAGCAGGTG GCAGCAGGGG AACGTCCTCT CATGCTCCGT GATGCATGAG GCTCTGCACA ACCACTACAC ACAGAAGAGC CTCTCCCTGT CTCCGGTAA ATGA
129	HumAb1.846 경 쇄 가변영역 폴리뉴클레오타이드 서열	gacatcgta tgacccagag ccccgacagc ctggccgtga gcctggcga gagagccacc atcaactgca gagccagcaa gagcggtgac gagagcggtc acagctatc gcaactgttac cacgagaagc cggcccgacccc eccaagtcg ctgtatctacc tgcccgacaa ctggagagc ggctgtcccc agatattcag cgcccgacgc agcggccaccc acttccaccc tccatcagc agccctcgagg ccgaggacgt ggccgtgtac tactgccagc acagcagaaat gctggccccc accttcggcc agggcaccaa gctggagatc
130	HumAb1.846 경 쇄 폴리뉴클레오타이드 서열	ATGAAAATCC TGATTCTCGG TATCTTCCTG TTTCCTGTGTT CTACTCCAGC TTGGGCAGAC ATCGTGATGA CCCAGAGGCC CGACAGCCTG ECGGTGAGCC TGGGGAGAG AGCCACCATC AACTGCAGAG CCAGCAAGAG CGTGAGCGAG AGCGGTACA GCTACATGCA CTGGTACCG CAGAACCCCG GCGACCCCCC CAAGCTGCTG ATCTTACCTGG CCAGCAACCT GGAGAGCGGC GTGCCGACA ATTTCAGCGG CAGCGGCAGC GGCACCGACT TCACCCCTGAC CATCAGCAGC CTGCAAGGCC AGGACGTGGC CGTGTACTAC TGCCAGCACA GCAGAGTGCTT GCGCCCGCACC TTCGGGCCAGG GCACCAAGCTT GGAGATCAA CGTACGGTGG CTGCACCATC TGCTTTCATC TTCCCGCCAT CTGTTGAGCA GTTGAAATCT GGAACATGCTT CTGTTGTGTG CCTGCTGAAT AACTTCTATC CCAGAGAGGC CAAAGTACAG TGGAAAGGTGG ATAACGCCCTT CCAATCGGGT AACTCCCAGG AGAGTGTAC AGAGCAGGAC AGCAAGGACA GCACCTACAG CCTCAGCAGC ACCCGTACGC TGAGCAAAGC AGACTACGAG AAACACAAAG TCTACGCCCTG CGAAGTCACC CATCAGGGCC TGAGCTCGCC CGTCACAAAG AGCTTCAACA GGGGAGAGTG TTGA

도면

도면1

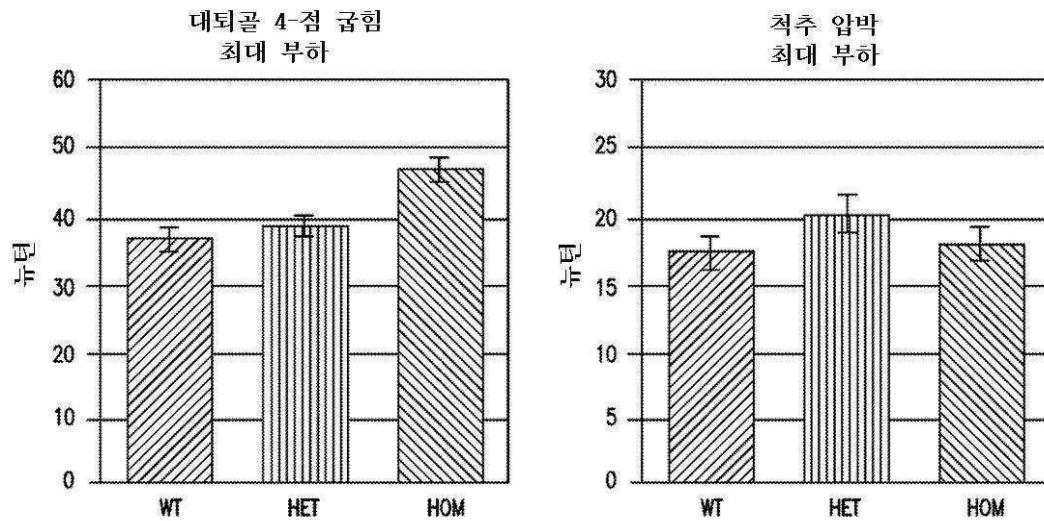


도면2

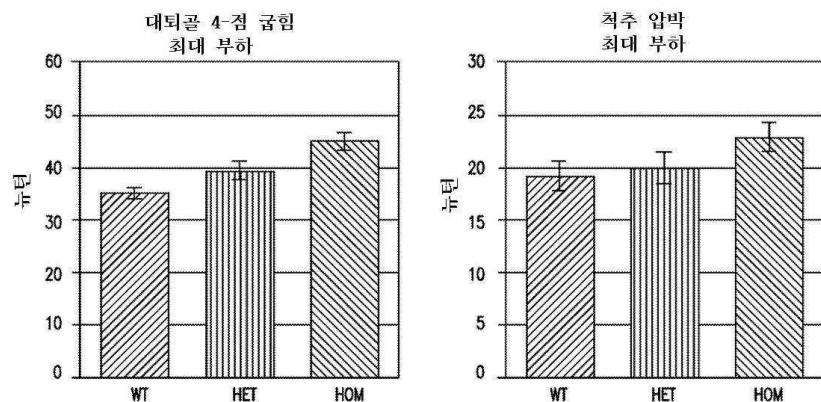


도면3

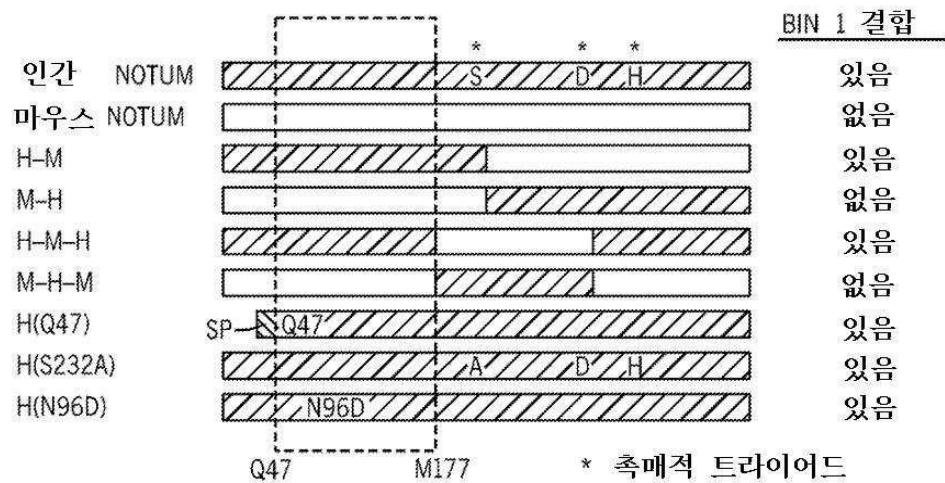
수컷 마우스는 증가된 대퇴골 파괴 강도를 나타낸다

**도면4**

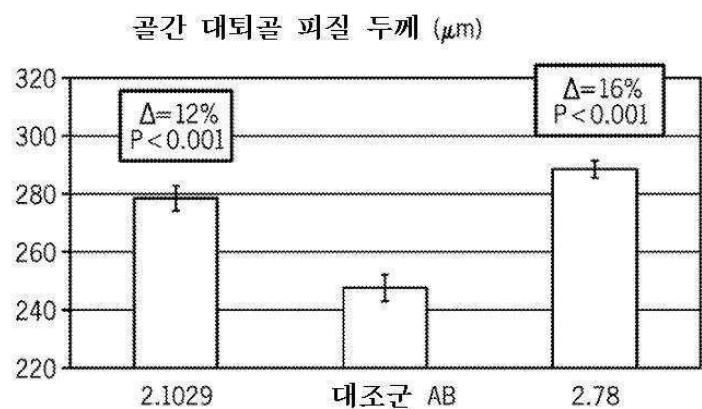
암컷 마우스는 증가된 대퇴골 파괴 강도를 나타낸다



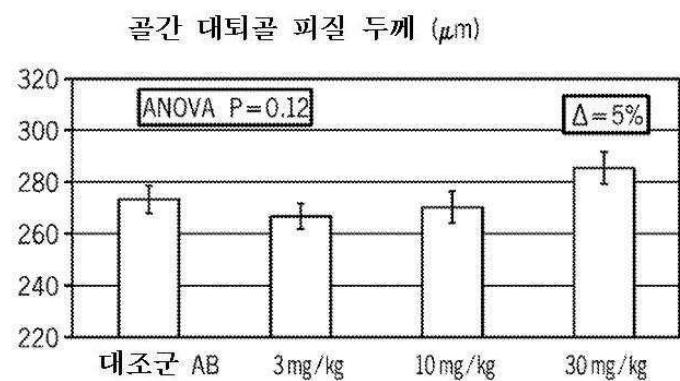
도면5



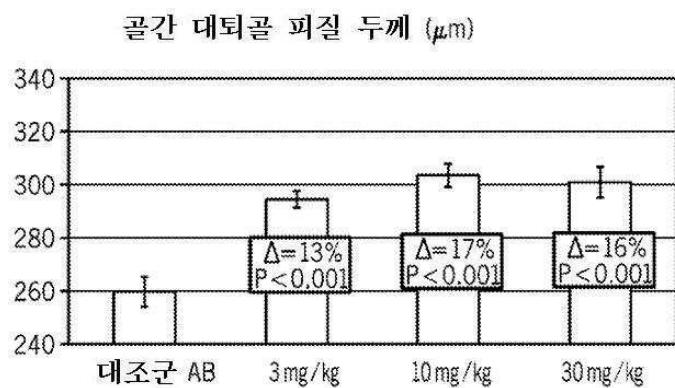
도면6



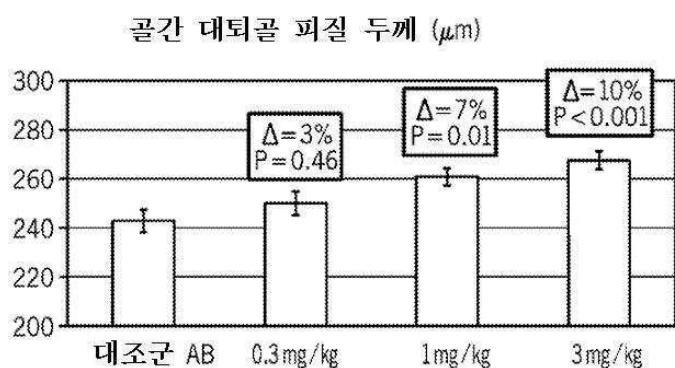
도면7



도면8

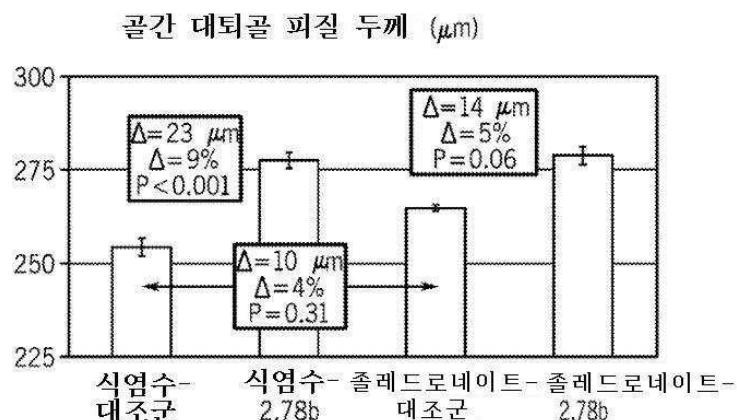


A

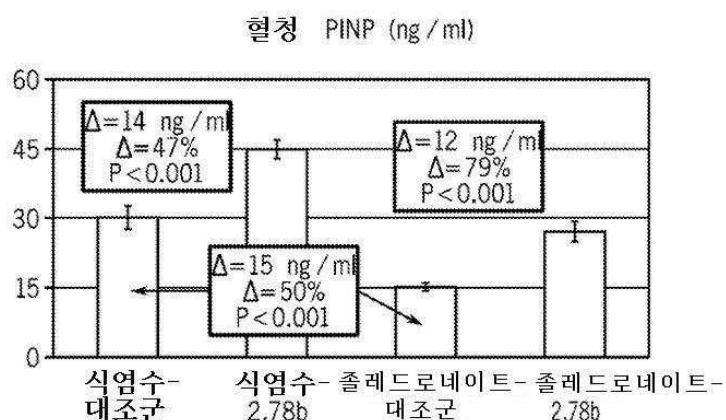


B

도면9

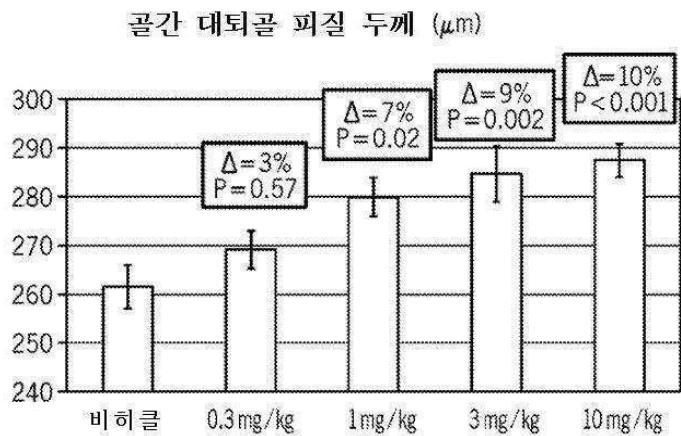


A

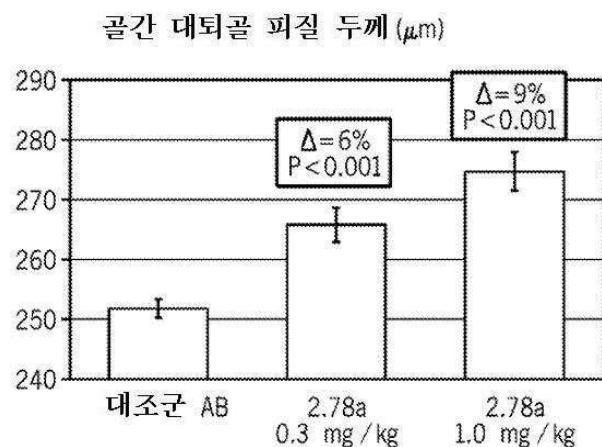


B

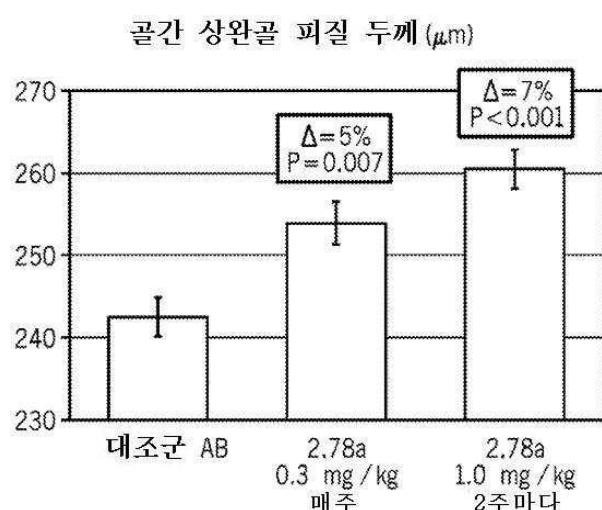
도면10



도면11

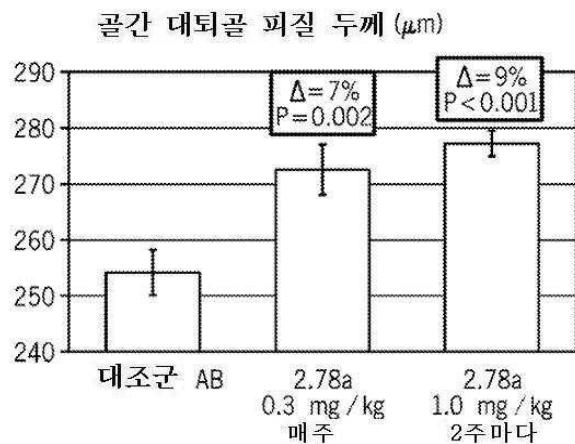


A

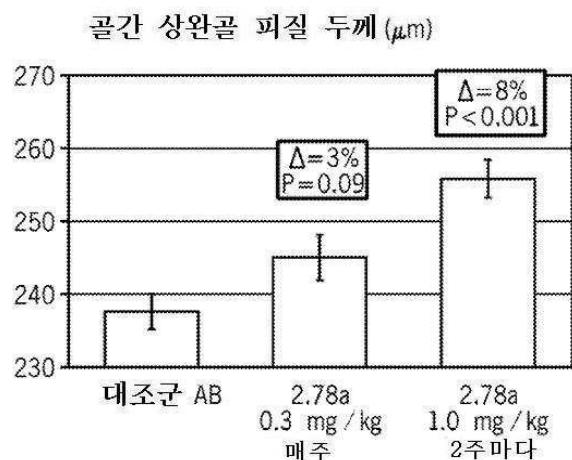


B

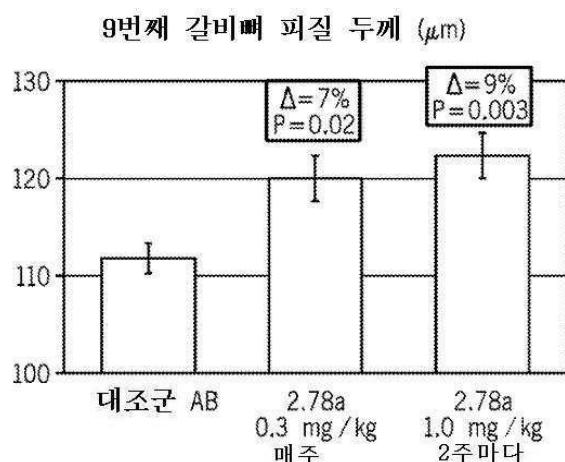
도면12a



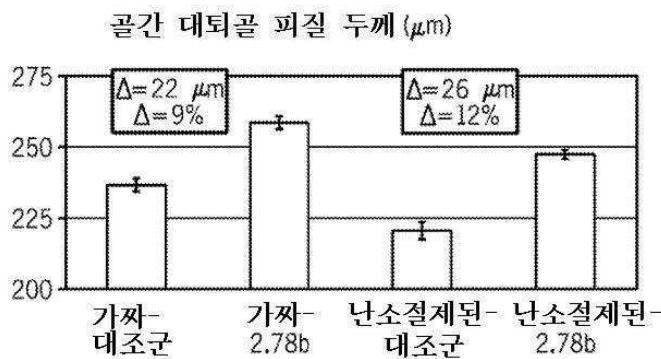
도면12b



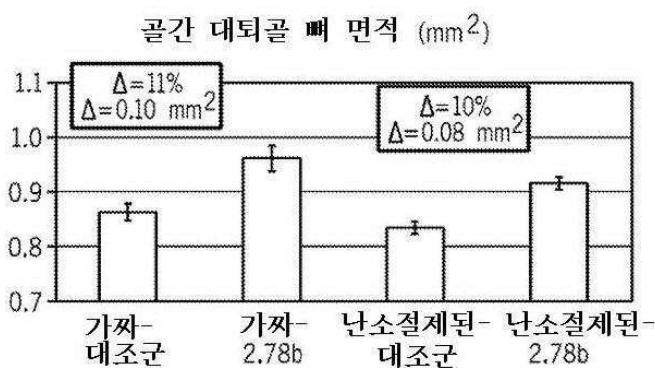
도면12c



도면13



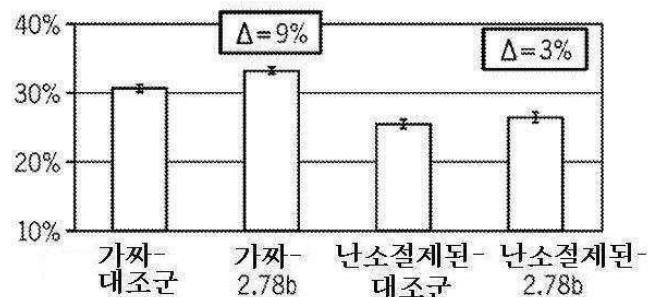
A



B

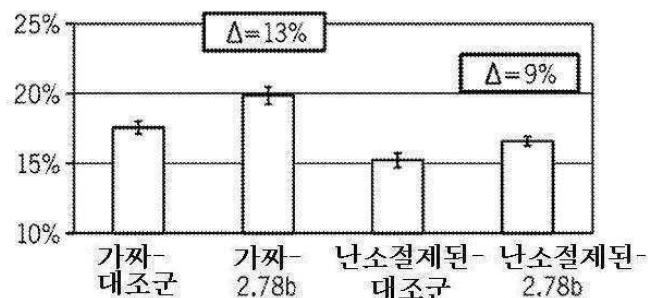
도면14

LV5 전체 BV / 전체 용적



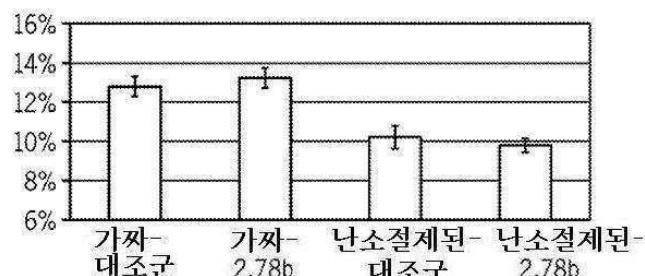
A

LV5 피질 BV / 전체 용적



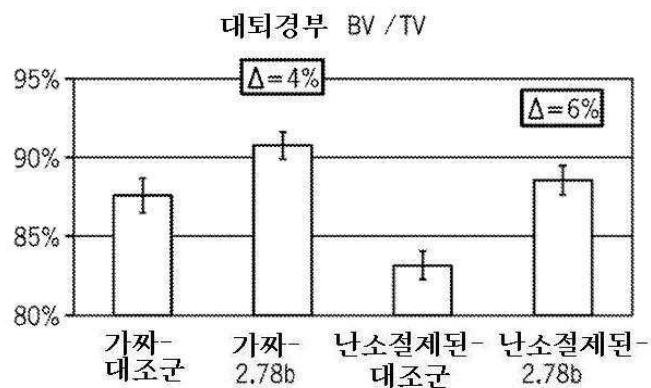
B

LV5 소주 BV / 전체 용적

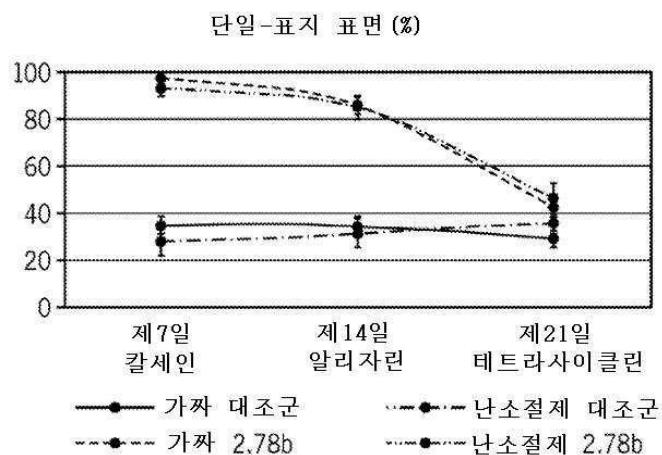


C

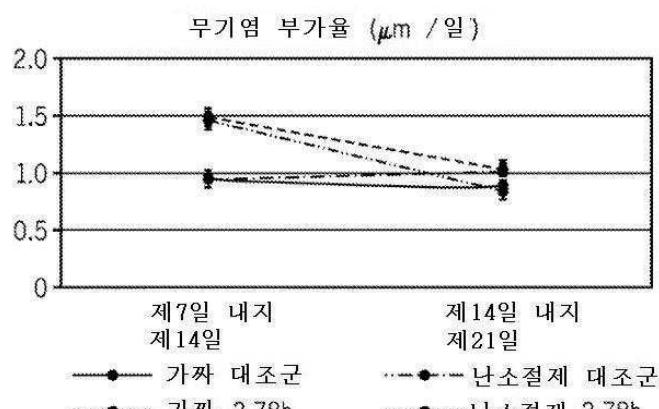
도면15



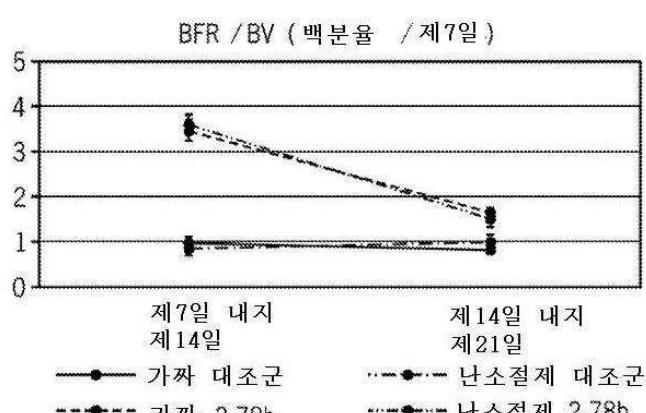
도면16



도면17



A



B

서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> LEXICON PHARMACEUTICALS, INC.

BROMMAGE, Robert Joseph, Jr.

FENG, Xiao

HONG, Seokjoo

LANDES, Greg

LIU, Jeff

POTTER, David George

POWELL, David Reed

<120> ANTIBODIES THAT BIND NOTUM PECTINACETYLESTERASE

<130> 5642-00061

<140> PCT/US2011/061785

<141> 2011-11-22

<150> US 61/416,927

<151> 2010-11-24

<160> 131

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 496

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(496)

<223> Human NOTUM

<400> 1

Met Gly Arg Gly Val Arg Val Leu Leu Leu Leu Ser Leu Leu His Cys

1	5	10	15
---	---	----	----

Ala Gly Gly Ser Glu Gly Arg Lys Thr Trp Arg Arg Arg Gly Gln Gln

20	25	30
----	----	----

Pro Pro Pro Pro Pro Arg Thr Glu Ala Ala Pro Ala Ala Gly Gln Pro

35	40	45
----	----	----

Val Glu Ser Phe Pro Leu Asp Phe Thr Ala Val Glu Gly Asn Met Asp

50	55	60
----	----	----

Ser Phe Met Ala Gln Val Lys Ser Leu Ala Gln Ser Leu Tyr Pro Cys

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

Ser Ala Gln Gln Leu Asn Glu Asp Leu Arg Leu His Leu Leu Leu Asn

85	90	95
----	----	----

Thr Ser Val Thr Cys Asn Asp Gly Ser Pro Ala Gly Tyr Tyr Leu Lys

100	105	110
-----	-----	-----

Glu Ser Arg Gly Ser Arg Arg Trp Leu Leu Phe Leu Glu Gly Gly Trp

115	120	125
-----	-----	-----

Tyr Cys Phe Asn Arg Glu Asn Cys Asp Ser Arg Tyr Asp Thr Met Arg

130	135	140
-----	-----	-----

Arg Leu Met Ser Ser Arg Asp Trp Pro Arg Thr Arg Thr Gly Thr Gly

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

Gln Val Lys Gly Thr Ser Leu Pro Arg Ala Leu His Cys Trp Asp Arg
 405 410 415
 Ser Leu His Asp Ser His Lys Ala Ser Lys Thr Pro Leu Lys Gly Cys
 420 425 430
 Pro Val His Leu Val Asp Ser Cys Pro Trp Pro His Cys Asn Pro Ser
 435 440 445
 Cys Pro Thr Val Arg Asp Gln Phe Thr Gly Gln Glu Met Asn Val Ala
 450 455 460
 Gln Phe Leu Met His Met Gly Phe Asp Met Gln Thr Val Ala Gln Pro
 465 470 475 480
 Gln Gly Leu Glu Pro Ser Glu Leu Leu Gly Met Leu Ser Asn Gly Ser
 485 490 495
 <210> 2
 <211> 503
 <212> PRT
 <213> Mouse

<220><221> misc_feature
 <222> (1)..(503)
 <223> Mouse NOTUM
 <400> 2
 Met Gly Gly Glu Val Arg Val Leu Leu Leu Leu Gly Leu Leu His Trp
 1 5 10 15
 Val Gly Gly Ser Glu Gly Arg Lys Thr Trp Arg Arg Arg Gly Gln Gln
 20 25 30
 Pro Pro Gln Pro Pro Pro Pro Pro Leu Pro Gln Arg Ala Glu Val
 35 40 45
 Glu Pro Gly Ala Gly Gln Pro Val Glu Ser Phe Pro Leu Asp Phe Thr
 50 55 60
 Ala Val Glu Gly Asn Met Asp Ser Phe Met Ala Gln Val Lys Ser Leu
 65 70 75 80
 Ala Gln Ser Leu Tyr Pro Cys Ser Ala Gln Gln Leu Asn Glu Asp Leu
 85 90 95

Arg Leu His Leu Leu Leu Asn Thr Ser Val Thr Cys Asn Asp Gly Ser

100 105 110

Pro Ala Gly Tyr Tyr Leu Lys Glu Ser Lys Gly Ser Arg Arg Trp Leu

115 120 125

Leu Phe Leu Glu Gly Gly Trp Tyr Cys Phe Asn Arg Glu Asn Cys Asp

130 135 140

Ser Arg Tyr Ser Thr Met Arg Arg Leu Met Ser Ser Lys Asp Trp Pro

145 150 155 160

His Thr Arg Thr Gly Thr Gly Ile Leu Ser Ser Gln Pro Glu Glu Asn

165 170 175

Pro His Trp Trp Asn Ala Asn Met Val Phe Ile Pro Tyr Cys Ser Ser

180 185 190

Asp Val Trp Ser Gly Ala Ser Pro Lys Ser Asp Lys Asn Glu Tyr Ala

195 200 205

Phe Met Gly Ser Leu Ile Ile Gln Glu Val Val Arg Glu Leu Leu Gly

210 215 220

Lys Gly Leu Ser Gly Ala Lys Val Leu Leu Ala Gly Ser Ser Ala

225 230 235 240

Gly Gly Thr Gly Val Leu Leu Asn Val Asp Arg Val Ala Glu Leu Leu

245 250 255

Glu Glu Leu Gly Tyr Pro Ser Ile Gln Val Arg Gly Leu Ala Asp Ser

260 265 270

Gly Trp Phe Leu Asp Asn Lys Gln Tyr Arg Arg Ser Asp Cys Ile Asp

275 280 285

Thr Ile Asn Cys Ala Pro Thr Asp Ala Ile Arg Arg Gly Ile Arg Tyr

290 295 300

Trp Ser Gly Met Val Pro Glu Arg Cys Gln Arg Gln Phe Lys Glu Gly

305 310 315 320

Glu Glu Trp Asn Cys Phe Phe Gly Tyr Lys Val Tyr Pro Thr Leu Arg

325 330 335

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

340	345	350
Val Asp Asn Val His Leu Thr Gly Gln Pro Val Gln Glu Gly Gln Trp		
355	360	365
Leu Tyr Ile Gln Asn Leu Gly Arg Glu Leu Arg Gly Thr Leu Lys Asp		
370	375	380
Val Gln Ala Ser Phe Ala Pro Ala Cys Leu Ser His Glu Ile Ile Ile		
385	390	395
Arg Ser Tyr Trp Thr Asp Val Gln Val Lys Gly Thr Ser Leu Pro Arg		
405	410	415
Ala Leu His Cys Trp Asp Arg Ser Phe His Asp Ser His Lys Ala Ser		
420	425	430
Lys Thr Pro Met Lys Gly Cys Pro Phe His Leu Val Asp Ser Cys Pro		
435	440	445
Trp Pro His Cys Asn Pro Ser Cys Pro Thr Ile Arg Asp Gln Phe Thr		
450	455	460
Gly Gln Glu Met Asn Val Ala Gln Phe Leu Met His Met Gly Phe Asp		
465	470	475
Val Gln Thr Val Ala Gln Gln Gly Met Glu Pro Ser Lys Leu Leu		
485	490	495
Gly Met Leu Ser Asn Gly Asn		
500		
<210> 3		
<211> 496		
<212> PRT		
<213> Homo sapiens		
<220><221> misc_feature		
<222> (1)..(496)		
<223> Human NOTUM S232A		
<400> 3		
Met Gly Arg Gly Val Arg Val Leu Leu Leu Ser Leu Leu His Cys		
1	5	10
Ala Gly Gly Ser Glu Gly Arg Lys Thr Trp Arg Arg Arg Gly Gln Gln		

20	25	30
Pro Pro Pro Pro Arg Thr Glu Ala Ala Pro Ala Ala Gly Gln Pro		
35	40	45
Val Glu Ser Phe Pro Leu Asp Phe Thr Ala Val Glu Gly Asn Met Asp		
50	55	60
Ser Phe Met Ala Gln Val Lys Ser Leu Ala Gln Ser Leu Tyr Pro Cys		
65	70	75
Ser Ala Gln Gln Leu Asn Glu Asp Leu Arg Leu His Leu Leu Asn		
85	90	95
Thr Ser Val Thr Cys Asn Asp Gly Ser Pro Ala Gly Tyr Tyr Leu Lys		
100	105	110
Glu Ser Arg Gly Ser Arg Arg Trp Leu Leu Phe Leu Glu Gly Gly Trp		
115	120	125
Tyr Cys Phe Asn Arg Glu Asn Cys Asp Ser Arg Tyr Asp Thr Met Arg		
130	135	140
Arg Leu Met Ser Ser Arg Asp Trp Pro Arg Thr Arg Thr Gly Thr Gly		
145	150	155
Ile Leu Ser Ser Gln Pro Glu Glu Asn Pro Tyr Trp Trp Asn Ala Asn		
165	170	175
Met Val Phe Ile Pro Tyr Cys Ser Ser Asp Val Trp Ser Gly Ala Ser		
180	185	190
Ser Lys Ser Glu Lys Asn Glu Tyr Ala Phe Met Gly Ala Leu Ile Ile		
195	200	205
Gln Glu Val Val Arg Glu Leu Leu Gly Arg Gly Leu Ser Gly Ala Lys		
210	215	220
Val Leu Leu Leu Ala Gly Ser Ala Ala Gly Gly Thr Gly Val Leu Leu		
225	230	235
Asn Val Asp Arg Val Ala Glu Gln Leu Glu Lys Leu Gly Tyr Pro Ala		
245	250	255
Ile Gln Val Arg Gly Leu Ala Asp Ser Gly Trp Phe Leu Asp Asn Lys		
260	265	270

Gln Tyr Arg His Thr Asp Cys Val Asp Thr Ile Thr Cys Ala Pro Thr

275 280 285

Glu Ala Ile Arg Arg Gly Ile Arg Tyr Trp Asn Gly Val Val Pro Glu

290 295 300

Arg Cys Arg Arg Gln Phe Gln Glu Gly Glu Trp Asn Cys Phe Phe

305 310 315 320

Gly Tyr Lys Val Tyr Pro Thr Leu Arg Cys Pro Val Phe Val Val Gln

325 330 335

Trp Leu Phe Asp Glu Ala Gln Leu Thr Val Asp Asn Val His Leu Thr

340 345 350

Gly Gln Pro Val Gln Glu Gly Leu Arg Leu Tyr Ile Gln Asn Leu Gly

355 360 365

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

370 375 380

Ala Cys Leu Ser His Glu Ile Ile Ile Arg Ser His Trp Thr Asp Val

385 390 395 400

Gln Val Lys Gly Thr Ser Leu Pro Arg Ala Leu His Cys Trp Asp Arg

405 410 415

Ser Leu His Asp Ser His Lys Ala Ser Lys Thr Pro Leu Lys Gly Cys

420 425 430

Pro Val His Leu Val Asp Ser Cys Pro Trp Pro His Cys Asn Pro Ser

435 440 445

Cys Pro Thr Val Arg Asp Gln Phe Thr Gly Gln Glu Met Asn Val Ala

450 455 460

Gln Phe Leu Met His Met Gly Phe Asp Met Gln Thr Val Ala Gln Pro

465 470 475 480

Gln Gly Leu Glu Pro Ser Glu Leu Leu Gly Met Leu Ser Asn Gly Ser

485 490 495

<210> 4

<211> 503

<212> PRT

<213> Mouse

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(503)

<223> Mouse NOTUM S239A mutant

<400> 4

Met Gly Gly Glu Val Arg Val Leu Leu Leu Leu Gly Leu Leu His Trp

1 5 10 15

Val Gly Gly Ser Glu Gly Arg Lys Thr Trp Arg Arg Arg Gly Gln Gln

20 25 30

Pro Pro Gln Pro Pro Pro Pro Pro Pro Leu Pro Gln Arg Ala Glu Val

35 40 45

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

50 55 60

Ala Val Glu Gly Asn Met Asp Ser Phe Met Ala Gln Val Lys Ser Leu

65 70 75 80

Ala Gln Ser Leu Tyr Pro Cys Ser Ala Gln Gln Leu Asn Glu Asp Leu

85 90 95

Arg Leu His Leu Leu Leu Asn Thr Ser Val Thr Cys Asn Asp Gly Ser

100 105 110

Pro Ala Gly Tyr Tyr Leu Lys Glu Ser Lys Gly Ser Arg Arg Trp Leu

115 120 125

Leu Phe Leu Glu Gly Gly Trp Tyr Cys Phe Asn Arg Glu Asn Cys Asp

130 135 140

Ser Arg Tyr Ser Thr Met Arg Arg Leu Met Ser Ser Lys Asp Trp Pro

145 150 155 160

His Thr Arg Thr Gly Thr Gly Ile Leu Ser Ser Gln Pro Glu Glu Asn

165 170 175

Pro His Trp Trp Asn Ala Asn Met Val Phe Ile Pro Tyr Cys Ser Ser

180 185 190

Asp Val Trp Ser Gly Ala Ser Pro Lys Ser Asp Lys Asn Glu Tyr Ala

195 200 205

Phe Met Gly Ser Leu Ile Ile Gln Glu Val Val Arg Glu Leu Leu Gly

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

Gly Gln Glu Met Asn Val Ala Gln Phe Leu Met His Met Gly Phe Asp
 465 470 475 480
 Val Gln Thr Val Ala Gln Gln Gln Gly Met Glu Pro Ser Lys Leu Leu
 485 490 495

Gly Met Leu Ser Asn Gly Asn

500

<210> 5

<211> 500

<212> PRT

<213> Guinea pig

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(500)

<223> Guinea pig NOTUM

<400> 5

Met Gly Arg Gly Val Arg Val Leu Phe Leu Leu Gly Leu Leu His Trp

1 5 10 15

Ala Gly Gly Glu Gly Arg Lys Thr Trp Arg Arg Arg Gly Gln Gln

20 25 30

Pro Ala Pro Ala Pro Leu Pro Pro Gln Arg Thr Glu Ala Ala Pro Gly

35 40 45

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

50 55 60

Gly Asn Met Asp Ser Phe Met Ala Gln Val Lys Ser Leu Ala Gln Ser

65 70 75 80

Leu Tyr Pro Cys Ser Ala Gln Gln Leu Asn Glu Asp Leu Arg Leu His

85 90 95

Leu Leu Leu Asn Thr Ser Val Thr Cys Asn Asp Gly Ser Pro Ala Gly

100 105 110

Tyr Tyr Leu Lys Glu Ser Lys Gly Ser Arg Arg Trp Leu Leu Phe Leu

115 120 125

Glu Gly Gly Trp Tyr Cys Phe Ser Arg Glu Asn Cys Asp Ser Arg Tyr

130 135 140

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

385 390 395 400

Trp Thr Asp Val Gln Val Lys Gly Thr Ser Leu Pro Arg Ala Leu His

405 410 415

Cys Trp Asp Arg Ser Leu His Asp Ser His Lys Ala Ser Lys Thr Pro

420 425 430

Leu Lys Gly Cys Pro Ile His Leu Val Asp Ser Cys Pro Trp Pro His

435 440 445

Cys Asn Pro Ser Cys Pro Thr Ile Arg Asp Gln Phe Thr Gly Gln Glu

450 455 460

Met Asn Val Ala Gln Phe Leu Met His Met Gly Phe Asp Val Gln Thr

465 470 475 480

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

485 490 495

Ser Ser Gly Ser

500

<210> 6

<211> 496

<212> PRT

<213> Rhesus macaque

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(496)

<223> Rhesus macaque NOTUM

<400> 6

Met Gly Arg Gly Val Arg Val Leu Leu Leu Leu Gly Leu Leu His Cys

1 5 10 15

Ala Gly Gly Ser Glu Gly Arg Lys Thr Trp Arg Arg Arg Gly Gln Gln

20 25 30

Pro Pro Pro Pro Pro Arg Thr Glu Ala Ala Pro Ala Ala Gly Gln Pro

35 40 45

Val Glu Ser Phe Pro Leu Asp Phe Thr Ala Val Glu Gly Asn Met Asp

50 55 60

Ser Phe Met Ala Gln Val Lys Ser Leu Ala Gln Ser Leu Tyr Pro Cys

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

Ser Ala Gln Gln Leu Asn Glu Asp Leu Arg Leu His Leu Leu Leu Asn

85	90	95
----	----	----

Thr Ser Val Thr Cys Asn Asp Gly Ser Pro Ala Gly Tyr Tyr Leu Lys

100	105	110
-----	-----	-----

Glu Ser Arg Gly Ser Arg Arg Trp Leu Leu Phe Leu Glu Gly Gly Trp

115	120	125
-----	-----	-----

Tyr Cys Phe Asn Arg Glu Asn Cys Asp Ser Arg Tyr Asn Thr Met Arg

130	135	140
-----	-----	-----

Arg Leu Met Ser Ser Arg Asp Trp Pro Arg Thr Arg Thr Gly Thr Gly

145	150	155	160
-----	-----	-----	-----

Ile Leu Ser Ser Gln Pro Glu Glu Asn Pro Tyr Trp Trp Asn Ala Asn

165	170	175
-----	-----	-----

Met Val Phe Ile Pro Tyr Cys Ser Ser Asp Val Trp Ser Gly Ala Ser

180	185	190
-----	-----	-----

Ser Lys Ser Glu Lys Asn Glu Tyr Ala Phe Met Gly Ala Leu Ile Ile

195	200	205
-----	-----	-----

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

210	215	220
-----	-----	-----

Val Leu Leu Leu Ala Gly Ser Ser Ala Gly Gly Thr Gly Val Leu Leu

225	230	235	240
-----	-----	-----	-----

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

245	250	255
-----	-----	-----

Ile Gln Val Arg Gly Leu Ala Asp Ser Gly Trp Phe Leu Asp Asn Lys

260	265	270
-----	-----	-----

Gln Tyr Arg His Thr Asp Cys Val Asp Thr Ile Thr Cys Ala Pro Thr

275	280	285
-----	-----	-----

Glu Ala Ile Arg Arg Gly Ile Arg Tyr Trp Asn Gly Val Val Pro Glu

290	295	300
-----	-----	-----

Arg Cys Arg Arg Gln Phe Gln Glu Gly Glu Glu Trp Asn Cys Phe Phe

305	310	315	320
-----	-----	-----	-----

Gly Tyr Lys Ile Tyr Pro Thr Leu Arg Cys Pro Val Phe Val Val Gln
 325 330 335
 Trp Leu Phe Asp Glu Ala Gln Leu Thr Val Asp Asn Val His Leu Thr
 340 345 350

Gly Gln Pro Val Gln Glu Ser Gln Arg Leu Tyr Ile Gln Asn Leu Gly
 355 360 365
 Arg Glu Leu Arg His Thr Leu Lys Asp Val Pro Ala Ser Phe Ala Pro
 370 375 380
 Ala Cys Leu Ser His Glu Ile Ile Arg Ser His Trp Thr Asp Val
 385 390 395 400
 Gln Val Lys Gly Thr Ser Leu Pro Arg Ala Leu His Cys Trp Asp Arg
 405 410 415

Ser Leu His Asp Ser His Lys Asn Ser Lys Thr Pro Leu Lys Gly Cys
 420 425 430
 Pro Val His Leu Val Asp Ser Cys Pro Trp Pro His Cys Asn Pro Ser
 435 440 445
 Cys Pro Thr Val Arg Asp Gln Phe Thr Gly Gln Glu Met Asn Val Ala
 450 455 460
 Gln Phe Leu Met His Met Gly Phe Asp Val Gln Thr Val Ala Gln Gln
 465 470 475 480

Gln Gly Pro Glu Pro Ser Lys Leu Leu Gly Leu Pro Ser Asp Gly Ser
 485 490 495

<210> 7

<211> 125

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: MAb 1.731 heavy chain variable region

<400> 7

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

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

20	25	30
----	----	----

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

35	40	45
----	----	----

Gly Tyr Phe Phe Pro Lys Asn Gly Ala Asn Gly Tyr Asn Gln Lys Phe

50	55	60
----	----	----

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

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

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

85	90	95
----	----	----

Ala Arg Arg Tyr Gly Asn Tyr Tyr Ser Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

100	105	110
-----	-----	-----

Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Pro Pro

115	120	125
-----	-----	-----

<210> 8

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: MAb 1.731 light chain variable region

<400> 8

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

1	5	10	15
---	---	----	----

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

20	25	30
----	----	----

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

35	40	45
----	----	----

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

50	55	60
----	----	----

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

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

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

85	90	95
----	----	----

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Glu Val Lys Arg Ala Asp Ala Ala

100 105 110

Pro

<210> 9

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: MAb 1.731 heavy chain CDR1

<400> 9

Gly Tyr Pro Phe Thr Asp Tyr Phe Ile His

1 5 10

<210> 10

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: MAb 1.731 heavy chain CDR2

<400> 10

Tyr Phe Phe Pro Lys Asn Gly Ala Asn Gly

1 5 10

<210> 11

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: MAb 1.731 heavy chain CDR3

<400> 11

Arg Tyr Gly Asn Tyr Tyr Ser Met Asp Tyr

1 5 10

<210> 12

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: MAb 1.731 light chain CDR1

<400> 12

Lys Ala Ser Gln Ser Val Gly Asp Asp Val Ala

1 5 10

<210> 13

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: MAb 1.731 light chain CDR2

<400> 13

Arg Val Ser Asn Arg Tyr Thr

1 5

<210> 14

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: MAb 1.731 light chain CDR3

<400> 14

Gln Gln Asp Tyr Ser Ser Pro Tyr Thr

1 5

<210> 15

<211> 124

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: MAb 1.802 heavy chain variable region

<400> 15

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Pro
 115 120

<210> 16

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: MAb 1.802 light chain variable region

<400> 16

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

1 5 10 15

Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Lys Ile Val Ser Thr Ser
 20 25 30

Gly Tyr Ser Tyr Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro

35 40 45

Lys Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ala
 50 55 60

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

Pro Val Glu Glu Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ser Arg
 85 90 95

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

100 105 110

Ala Asp Ala Ala Pro

115

<210> 17

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: MAb 1.802 heavy chain CDR1

<400> 17

Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr Gly Met His

1	5	10
---	---	----

<210> 18

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: MAb 1.802 heavy chain CDR2

<400> 18

Tyr Ile Ser Ser Gly Ser Arg Thr Val Tyr

1	5	10
---	---	----

<210> 19

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: MAb 1.802 heavy chain CDR3

<400> 19

Lys His Tyr Asn Gly Gly Tyr Phe Asp Val

1	5	10
---	---	----

<210> 20

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: MAb 1.802 light chain CDR1

<400> 20

Arg Ala Ser Lys Ile Val Ser Thr Ser Gly Tyr Ser Tyr Met His

1	5	10	15
---	---	----	----

<210> 21

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: MAb 1.802 light chain CDR2

<400> 21

Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser

1 5

<210> 22

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: MAb 1.802 light chain CDR3

<400> 22

Gln His Ser Arg Glu Leu Pro Pro Thr

1 5

<210> 23

<211> 125

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: MAb 1.815 heavy chain variable region

<400> 23

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ala Tyr Ser Ser Ser Gly Gly Thr Thr Val Tyr Tyr Ala Asp Thr Val

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Thr Ser Leu Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Pro Pro

115 120 125

<210> 24

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic: MAb 1.815 light chain variable region

<400> 24

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

1	5	10	15
---	---	----	----

Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser

20	25	30	
----	----	----	--

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

35	40	45	
----	----	----	--

Lys Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Asp Leu Glu Ser Gly Val Pro Ala

50 55 60

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

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

Pro Val Glu Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys His His Ser Arg

85	90	95	
----	----	----	--

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

100	105	110	
-----	-----	-----	--

Ala Asp Ala Ala Pro

115

<210

> 25

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: MAb 1.815 heavy chain CDR1

<400> 25

Gly Phe Thr Phe Ser Asp Phe Gly Met His

1 5 10

<210> 26

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: MAb 1.815 heavy chain CDR2

<400> 26

Tyr Ser Ser Ser Gly Gly Thr Thr Val Tyr

1 5 10

<210> 27

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: MAb 1.815 heavy chain CDR3

<400> 27

Ala Ser Tyr Asp Gly Gly Tyr Phe Asp Cys

1 5 10

<210> 28

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: MAb 1.815 light chain CDR1

<400> 28

Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser Gly Tyr Ser Tyr Ile His

1 5 10 15

<210> 29

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: MAb 1.815 light chain CDR2

<400> 29

Leu Ala Ser Asp Leu Glu Ser

1 5

<210> 30

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: MAb 1.815 light chain CDR3

<400> 30

His His Ser Arg Glu Leu Pro Phe Thr

1 5

<210> 31

<211> 125

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: MAb 1.846 heavy chain variable region

<400> 31

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ala Tyr Ile Ser Ser Gly Ser Thr Thr Leu Ser Tyr Ala Asn Thr Met

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Gln Met Thr Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Lys Asn Tyr Asn Gly Gly Tyr Phe Asp Val Trp Gly Thr Gly

100 105 110

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Pro Pro

115 120 125

<210> 32

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: MAb 1.846 light chain variable region

<400> 32

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

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

<210> 33

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: MAb 1.846 heavy chain CDR1

<400> 33

Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr Gly Met His

1	5	10
---	---	----

<210> 34

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: MAb 1.846 heavy chain CDR2

<400> 34

Tyr Ile Ser Ser Gly Ser Thr Thr Leu Ser

1 5 10

<210> 35

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: MAb 1.846 heavy chain CDR3

<400> 35

Lys Asn Tyr Asn Gly Gly Tyr Phe Asp Val

1 5 10

<210> 36

<211> 15

<212> PRT

<213>

> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: MAb 1.846 light chain CDR1

<400> 36

Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Glu Ser Gly Tyr Ser Tyr Met His

1 5 10 15

<210> 37

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: MAb 1.846 light chain CDR2

<400> 37

Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser

1 5

<210> 38

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: MAb 1.846 light chain CDR3

<400> 38

Gln His Ser Arg Val Leu Pro Pro Thr

1 5

<210> 39

<211> 127

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: MAb 2.1029 heavy chain variable region

<400> 39

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

1 5 10 15

Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Ser Tyr

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Ser Arg Leu Ser Ile Ser Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu

65 70 75 80

Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Phe Cys Ala

85 90 95

Arg Asp Gly Asp Tyr Gly Thr Ile Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Ala Pro Ser

115 120 125

<210> 40

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: MAb 2.1029 light chain variable region

<400> 40

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln

65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Lys Thr Leu Pro Arg

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Thr Met Leu Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala

100 105 110

Pro

<210> 41

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: MAb 2.1029 heavy chain CDR1

<400> 41

Gly Phe Ser Leu Thr Ser Tyr Gly Val His

1 5 10

<210> 42

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: MAb 2.1029 heavy chain CDR2

<400> 42

Val Ile Trp Ala Gly Ser Thr Asn

1 5

<210> 43

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: MAb 2.1029 heavy chain CDR3

<400> 43

Asp Gly Asp Tyr Gly Thr Ile Tyr Ala Met Asp Tyr

1 5 10

<210> 44

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: MAb 2.1029 light chain CDR1

<400> 44

Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn

1 5 10

<210> 45

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: MAb 2.1029 light chain CDR2

<400> 45

Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser

1 5

<210> 46

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: MAb 2.1029 light chain CDR3

<400> 46

Gln Gln Gly Lys Thr Leu Pro Arg Thr

1 5

<210> 47

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: MAb 2.55 heavy chain variable region

<400> 47

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Ala Pro Ser

115 120 125

<210> 48

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: MAb 2.55 light chain variable region

<400> 48

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Met Thr Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Ser Asn Asp

20 25 30

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

35 40 45

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

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

Pro

<210> 49

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: MAb 2.55 heavy chain CDR1

<400> 49

Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Trp Met His

1	5	10	
---	---	----	--

<210> 50

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: MAb 2.55 heavy chain CDR2

<400> 50

Ala Ile Tyr Pro Gly Lys Ser Asp Thr Arg

1	5	10	
---	---	----	--

<210> 51

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

223> Synthetic: MAb 2.55 heavy chain CDR3

<400> 51

Arg Tyr Gly Asn Phe Tyr Ala Met Asp Tyr

1	5	10	
---	---	----	--

<210> 52

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: MAb 2.55 light chain CDR1

<400> 52

Lys Ala Ser Gln Ser Val Ser Asn Asp Val Ala

1 5 10

<210> 53

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: MAb 2.55 light chain CDR2

<400> 53

Tyr Ala Ser Asp Arg Tyr Thr

1 5

<210> 54

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: MAb 2.55 light chain CDR3

<400> 54

Gln Gln Asp Tyr Ser Ser Pro Tyr Thr

1 5

<210> 55

<211> 123

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: MAb 2.78 heavy chain variable region

<400> 55

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Pro Pro Ser

115 120

<210> 56

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: MAb 2.78 light chain variable region

<400> 56

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Gln Gly Lys Ser Pro Gln Leu Leu Val

35 40 45

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

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Gln Tyr Ser Leu Lys Ile Asn Ser Leu Lys Ser

65 70 75 80

Glu Asp Phe Gly Ser Tyr Tyr Cys Gln His Phe Trp Gly Thr Pro Phe

85 90 95

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

100 105 110
Pro

<210> 57
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic: MAb 2.78 heavy chain CDR1
<400> 57

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe Gly Met His
1 5 10

<210> 58
<211> 10

<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic: MAb 2.78 heavy chain CDR2
<400> 58

Tyr Ile Thr Ser Gly Ser Gly Ala Ile Tyr
1 5 10

<210> 59
<211> 7
<212> PRT

<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic: MAb 2.78 heavy chain CDR3
<400> 59

Ser Ala Asp Gly Leu Asp Tyr

1 5

<210> 60
<211> 11
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic: MAb 2.78 light chain CDR1
<400> 60

Arg Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Ser Asn Leu Ala

1 5 10

<210> 61

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: MAb 2.78 light chain CDR2

<400> 61

Gly Ala Thr Asn Leu Ala Asp

1 5

<210> 62

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: MAb 2.78 light chain CDR3

<400> 62

Gln His Phe Trp Gly Thr Pro Phe Thr

1 5

<210> 63

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic: Humanized Ab (HumAb) 2.78 heavy chain variable region

<400> 63

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ser Tyr Ile Thr Ser Gly Ser Gly Ala Ile Tyr 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 Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Ser Ala Asp Gly Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val
 100 105 110
 Thr Val Ser Ser
 115
<210> 64

<211> 455
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic: HumAb 2.78 heavy chain
<400> 64

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

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

Thr Val Ser Ser Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser
 115 120 125
 Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser
 130 135 140

Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp
 145 150 155 160
 Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr
 165 170 175

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

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

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

 Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
 370 375 380
 Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys

385	390	395	400
Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser			
405		410	415
Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser			
420	425	430	

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser

435	440	445
-----	-----	-----

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

450	455
-----	-----

<210> 65

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: HumAb 2.78 light chain variable region

<400> 65

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 Glu Asn Ile Tyr Ser Asn

20	25	30
----	----	----

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

35	40	45
----	----	----

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

50	55	60
----	----	----

Ser G1y Ser G1y 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 His Phe Trp Gly Thr Pro Phe

85	90	95
----	----	----

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile

100	105
-----	-----

<210> 66

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: HumAb 2.78 light chain

<400> 66

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 Glu Asn Ile Tyr Ser Asn

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Gly Ala Thr Asn Leu Ala Asp 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 His Phe Trp Gly Thr Pro Phe

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 67

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: HumAb 2.1029 heavy chain variable region

<400> 67

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

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Ser Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Gly Val Ile Trp Ala Gly Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys

50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu

65 70 75 80

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

85 90 95

Arg Asp Gly Asp Tyr Gly Thr Ile Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 68

<211> 459

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: HumAb 2.1029 heavy chain

<400> 68

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

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Ser Tyr

20 25 30

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

35	40	45
----	----	----

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

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr
 115 120 125
 Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
 130 135 140
 Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys
 145 150 155 160
 Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
 165 170 175

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

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

Trp Tyr Val Asp Gly Met Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg

290 295 300

Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val

305 310 315 320

Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser

325 330 335

Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys

340 345 350

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

355 360 365

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe

370 375 380

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu

385 390 395 400

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe

405 410 415

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly

420 425 430

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr

435 440 445

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Pro Gly Lys

450 455

<210> 69

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: HumAb 2.1029 light chain variable region

<400> 69

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

1 5 10 15

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

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

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

<210> 70

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: HumAb 2.1029 light chain

<400> 70

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

1	5	10	15
---	---	----	----

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

20	25	30
----	----	----

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

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

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

85	90	95
----	----	----

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

100	105	110
-----	-----	-----

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

115	120	125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala		
130	135	140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln		
145	150	155
		160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser		
165	170	175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr		
180	185	190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser		
195	200	205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys		
210		

<210> 71
<211> 119
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: HumAb 1.802 heavy chain variable region
<400> 71

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly		
1	5	10
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr		
20	25	30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val		
35	40	45
Ser Tyr Ile Ser Ser Gly Ser Arg Thr Val Tyr 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
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Asp Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
85	90	95
Ala Arg Lys His Tyr Asn Gly Gly Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly		

100	105	110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser		
115		
<210> 72		
<211> 458		
<212> PRT		
<213> Artificial Sequence		
<220><223> Synthetic: HumAb 1.802 heavy chain		
<400> 72		
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly		
1	5	10
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr		
20	25	30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val		
35	40	45
Ser Tyr Ile Ser Ser Gly Ser Arg Thr Val Tyr 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
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Asp Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
85	90	95
Ala Arg Lys His Tyr Asn Gly Gly Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly		
100	105	110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val		
115	120	125
Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala		
130	135	140
Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu		
145	150	155
Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly		
165	170	175

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

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

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

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

420 425 430

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr

435 440 445

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

450 455

<210> 73

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: HumAb 1.802 light chain variable region

<400> 73

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

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Lys Ile Val Ser Thr Ser

20 25 30

Gly Tyr Ser Tyr Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His Ser Arg

85 90 95

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

100 105 110

<210> 74

<211> 218

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: HumAb 1.802 light chain

<400> 74

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

1	5	10	15												
Glu	Arg	Ala	Thr	Ile	Asn	Cys	Arg	Ala	Ser	Lys	Ile	Val	Ser	Thr	Ser
20		25			30										
Gly Tyr Ser Tyr Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro															
35		40		45											
Lys	Leu	Leu	Ile	Tyr	Leu	Ala	Ser	Asn	Leu	Glu	Ser	Gly	Val	Pro	Asp
50		55			60										
Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser
65		70		75		80									
Ser	Leu	Gln	Ala	Glu	Asp	Val	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Gln	His	Ser	Arg
85			90			95									
Glu Leu Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg															
100		105		110											
Thr	Val	Ala	Ala	Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Asp	Glu	Gln
115		120		125											
Leu	Lys	Ser	Gly	Thr	Ala	Ser	Val	Val	Cys	Leu	Leu	Asn	Asn	Phe	Tyr
130		135		140											
Pro	Arg	Glu	Ala	Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp	Asn	Ala	Gln	Ser	
145		150		155		160									
Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr															
165		170		175											
Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr	Glu	Lys
180		185		190											
His	Lys	Val	Tyr	Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	Gly	Leu	Ser	Ser	Pro
195		200		205											
Val	Thr	Lys	Ser	Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Cys						
210		215													
<210>	75														
<211>	119														
<212>															
> PRT															
<213>	Artificial Sequence														

<220><223> Synthetic: HumAb 1.815 heavy chain variable region

<400> 75

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

1	5	10	15
---	---	----	----

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

20	25	30
----	----	----

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

35	40	45
----	----	----

Ser Tyr Ser Ser Ser Gly Gly Thr Thr Val Tyr 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 Val Tyr Tyr Cys

85	90	95
----	----	----

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

100	105	110
-----	-----	-----

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 76

<211> 458

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: HumAb 1.815 heavy chain

<400> 76

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

1	5	10	15
---	---	----	----

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

20	25	30
----	----	----

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

35	40	45
----	----	----

Ser Tyr Ser Ser Ser Gly Gly Thr Thr Val Tyr 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 Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Ala Ser Tyr Asp Gly Gly Tyr Phe Asp Cys Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val
 115 120 125
 Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
 130 135 140
 Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
 145 150 155 160
 Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
 165 170 175
 Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
 180 185 190
 Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Thr Ser Ser Asn Phe
 195 200 205
 Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr
 210 215 220
 Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro
 225 230 235 240
 Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
 245 250 255
 Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
 260 265 270
 Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp
 275 280 285
 Tyr Val Asp Gly Met Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
 290 295 300
 Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val

305 310 315 320
 His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn

325 330 335
 Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly
 340 345 350

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu

355 360 365

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr

370 375 380

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn

385 390 395 400

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe

405 410 415

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn

420 425 430

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr

435 440 445

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

450 455

<210> 77

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: HumAb 1.815 light chain variable region

<400> 77

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

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser

20 25 30

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

35 40 45

Lys Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Asp Leu Glu Ser Gly Val Pro Asp

50	55	60
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser		
65	70	75
		80

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

<210> 78

<211> 218

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: HumAb 1.815 light chain

<400> 78

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

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser

20	25	30
Gly Tyr Ser Tyr Ile His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro		
35	40	45

Lys Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Asp Leu Glu Ser Gly Val Pro Asp		
50	55	60

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

Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys His His Ser Arg

85	90	95
Glu Leu Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg		
100	105	110

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln		
115	120	125

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr		
130	135	140

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser

145 150 155 160

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215

<210> 79

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: HumAb 1.846 heavy chain variable region

<400> 79

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 Asp Tyr

20 25 30

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

35 40 45

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

85 90 95

Ala Arg Lys Asn Tyr Asn Gly Gly Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 80

<211> 458

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: HumAb 1.846 heavy chain

<400> 80

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 Asp Tyr

20 25 30

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

35 40 45

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

85 90 95

Ala Arg Lys Asn Tyr Asn Gly Gly Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly

165 170 175

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

180 185 190

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Thr Ser Ser Asn Phe

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

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

450 455

<210> 81

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: HumAb 1.846 light chain variable region

<400> 81

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

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Glu Ser

20 25 30

Gly Tyr Ser Tyr Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His Ser Arg

85 90 95

Val Leu Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile

100 105 110

<210> 82

<211> 218

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: HumAb 1.846 light chain

<400> 82

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

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Glu Ser

20 25 30

Gly Tyr Ser Tyr Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His Ser Arg

85 90 95

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

100 105 110

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln

115 120 125

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

130 135 140

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser

145 150 155 160

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215

<210> 83

<211> 496

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: Human-mouse chimeric NOTUM

<400> 83

Met Gly Arg Gly Val Arg Val Leu Leu Leu Ser Leu Leu His Cys

1 5 10 15

Ala Gly Gly Ser Glu Gly Arg Lys Thr Trp Arg Arg Arg Gly Gln Gln

20 25 30

Pro Pro Pro Pro Pro Arg Thr Glu Ala Ala Pro Ala Ala Gly Gln Pro

35 40 45

Val Glu Ser Phe Pro Leu Asp Phe Thr Ala Val Glu Gly Asn Met Asp

50 55 60

Ser Phe Met Ala Gln Val Lys Ser Leu Ala Gln Ser Leu Tyr Pro Cys

65 70 75 80

Ser Ala Gln Gln Leu Asn Glu Asp Leu Arg Leu His Leu Leu Leu Asn

85 90 95

Thr Ser Val Thr Cys Asn Asp Gly Ser Pro Ala Gly Tyr Tyr Leu Lys

100 105 110

Glu Ser Arg Gly Ser Arg Arg Trp Leu Leu Phe Leu Glu Gly Gly Trp

115 120 125

Tyr Cys Phe Asn Arg Glu Asn Cys Asp Ser Arg Tyr Asp Thr Met Arg

130 135 140

Arg Leu Met Ser Ser Arg Asp Trp Pro Arg Thr Arg Thr Gly Thr Gly

145 150 155 160

Ile Leu Ser Ser Gln Pro Glu Glu Asn Pro Tyr Trp Trp Asn Ala Asn

165 170 175

Met Val Phe Ile Pro Tyr Cys Ser Ser Asp Val Trp Ser Gly Ala Ser

180 185 190

Ser Lys Ser Glu Lys Asn Glu Tyr Ala Phe Met Gly Ala Leu Ile Ile

195 200 205

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

210 215 220

Val Leu Leu Leu Ala Gly Ser Ser Ala Gly Gly Thr Gly Val Leu Leu

225 230 235 240

Asn Val Asp Arg Val Ala Glu Gln Leu Glu Lys Leu Gly Tyr Pro Ala

245 250 255

Ile Gln Val Arg Gly Leu Ala Asp Ser Gly Trp Phe Leu Asn Lys

260	265	270
Gln Tyr Arg Arg Ser Asp Cys Ile Asp Thr Ile Asn Cys Ala Pro Thr		
275	280	285
Asp Ala Ile Arg Arg Gly Ile Arg Tyr Trp Ser Gly Met Val Pro Glu		
290	295	300
Arg Cys Gln Arg Gln Phe Lys Glu Gly Glu Glu Trp Asn Cys Phe Phe		
305	310	315
Gly Tyr Lys Val Tyr Pro Thr Leu Arg Cys Pro Val Phe Val Val Gln		
325	330	335
Trp Leu Phe Asp Glu Ala Gln Leu Thr Val Asp Asn Val His Leu Thr		
340	345	350
Gly Gln Pro Val Gln Glu Gly Gln Trp Leu Tyr Ile Gln Asn Leu Gly		
355	360	365
Arg Glu Leu Arg Gly Thr Leu Lys Asp Val Gln Ala Ser Phe Ala Pro		
370	375	380
Ala Cys Leu Ser His Glu Ile Ile Arg Ser Tyr Trp Thr Asp Val		
385	390	395
Gln Val Lys Gly Thr Ser Leu Pro Arg Ala Leu His Cys Trp Asp Arg		
405	410	415
Ser Phe His Asp Ser His Lys Ala Ser Lys Thr Pro Met Lys Gly Cys		
420	425	430
Pro Phe His Leu Val Asp Ser Cys Pro Trp Pro His Cys Asn Pro Ser		
435	440	445
Cys Pro Thr Ile Arg Asp Gln Phe Thr Gly Gln Glu Met Asn Val Ala		
450	455	460
Gln Phe Leu Met His Met Gly Phe Asp Val Gln Thr Val Ala Gln Gln		
465	470	475
Gln Gly Met Glu Pro Ser Lys Leu Leu Gly Met Leu Ser Asn Gly Asn		
485	490	495
<210> 84		
<211> 503		

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: Mouse-human chimeric NOTUM

<400> 84

Met Gly Gly Glu Val Arg Val Leu Leu Leu Leu Gly Leu Leu His Trp

1 5 10 15

Val Gly Gly Ser Glu Gly Arg Lys Thr Trp Arg Arg Arg Gly Gln Gln

20 25 30

Pro Pro Gln Pro Pro Pro Pro Pro Pro Leu Pro Gln Arg Ala Glu Val

35 40 45

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

50 55 60

Ala Val Glu Gly Asn Met Asp Ser Phe Met Ala Gln Val Lys Ser Leu

65 70 75 80

Ala Gln Ser Leu Tyr Pro Cys Ser Ala Gln Gln Leu Asn Glu Asp Leu

85 90 95

Arg Leu His Leu Leu Leu Asn Thr Ser Val Thr Cys Asn Asp Gly Ser

100 105 110

Pro Ala Gly Tyr Tyr Leu Lys Glu Ser Lys Gly Ser Arg Arg Trp Leu

115 120 125

Leu Phe Leu Glu Gly Trp Tyr Cys Phe Asn Arg Glu Asn Cys Asp

130 135 140

Ser Arg Tyr Ser Thr Met Arg Arg Leu Met Ser Ser Lys Asp Trp Pro

145 150 155 160

His Thr Arg Thr Gly Thr Gly Ile Leu Ser Ser Gln Pro Glu Glu Asn

165 170 175

Pro His Trp Trp Asn Ala Asn Met Val Phe Ile Pro Tyr Cys Ser Ser

180 185 190

Asp Val Trp Ser Gly Ala Ser Pro Lys Ser Asp Lys Asn Glu Tyr Ala

195 200 205

Phe Met Gly Ser Leu Ile Ile Gln Glu Val Val Arg Glu Leu Leu Gly

210 215 220

Lys Gly Leu Ser Gly Ala Lys Val Leu Leu Leu Ala Gly Ser Ser Ala
 225 230 235 240

Gly Gly Thr Gly Val Leu Leu Asn Val Asp Arg Val Ala Glu Leu Leu
 245 250 255

Glu Glu Leu Gly Tyr Pro Ser Ile Gln Val Arg Gly Leu Ala Asp Ser
 260 265 270

Gly Trp Phe Leu Asp Asn Lys Gln Tyr Arg His Thr Asp Cys Val Asp
 275 280 285

Thr Ile Thr Cys Ala Pro Thr Glu Ala Ile Arg Arg Gly Ile Arg Tyr
 290 295 300

Trp Asn Gly Val Val Pro Glu Arg Cys Arg Arg Gln Phe Gln Glu Gly
 305 310 315 320

Glu Glu Trp Asn Cys Phe Phe Gly Tyr Lys Val Tyr Pro Thr Leu Arg
 325 330 335

Cys Pro Val Phe Val Val Gln Trp Leu Phe Asp Glu Ala Gln Leu Thr
 340 345 350

Val Asp Asn Val His Leu Thr Gly Gln Pro Val Gln Glu Leu Arg
 355 360 365

Leu Tyr Ile Gln Asn Leu Gly Arg Glu Leu Arg His Thr Leu Lys Asp
 370 375 380

Val Pro Ala Ser Phe Ala Pro Ala Cys Leu Ser His Glu Ile Ile Ile
 385 390 395 400

Arg Ser His Trp Thr Asp Val Gln Val Lys Gly Thr Ser Leu Pro Arg
 405 410 415

Ala Leu His Cys Trp Asp Arg Ser Leu His Asp Ser His Lys Ala Ser
 420 425 430

Lys Thr Pro Leu Lys Gly Cys Pro Val His Leu Val Asp Ser Cys Pro
 435 440 445

Trp Pro His Cys Asn Pro Ser Cys Pro Thr Val Arg Asp Gln Phe Thr
 450 455 460

Gly Gln Glu Met Asn Val Ala Gln Phe Leu Met His Met Gly Phe Asp

465 470 475 480

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

485 490 495

Gly Met Leu Ser Asn Gly Ser

500

<210> 85

<211> 496

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: Human-mouse-human chimeric NOTUM

<400> 85

Met Gly Arg Gly Val Arg Val Leu Leu Leu Ser Leu Leu His Cys

1 5 10 15

Ala Gly Gly Ser Glu Gly Arg Lys Thr Trp Arg Arg Arg Gly Gln Gln

20 25 30

Pro Pro Pro Pro Pro Arg Thr Glu Ala Ala Pro Ala Ala Gly Gln Pro

35 40 45

Val Glu Ser Phe Pro Leu Asp Phe Thr Ala Val Glu Gly Asn Met Asp

50 55 60

Ser Phe Met Ala Gln Val Lys Ser Leu Ala Gln Ser Leu Tyr Pro Cys

65 70 75 80

Ser Ala Gln Gln Leu Asn Glu Asp Leu Arg Leu His Leu Leu Leu Asn

85 90 95

Thr Ser Val Thr Cys Asn Asp Gly Ser Pro Ala Gly Tyr Tyr Leu Lys

100 105 110

Glu Ser Arg Gly Ser Arg Arg Trp Leu Leu Phe Leu Glu Gly Gly Trp

115 120 125

Tyr Cys Phe Asn Arg Glu Asn Cys Asp Ser Arg Tyr Asp Thr Met Arg

130 135 140

Arg Leu Met Ser Ser Arg Asp Trp Pro Arg Thr Arg Thr Gly Thr Gly

145 150 155 160

Ile Leu Ser Ser Gln Pro Glu Glu Asn Pro Tyr Trp Trp Asn Ala Asn

165 170 175

Met Val Phe Ile Pro Tyr Cys Ser Ser Asp Val Trp Ser Gly Ala Ser

180 185 190

Pro Lys Ser Asp Lys Asn Glu Tyr Ala Phe Met Gly Ser Leu Ile Ile

195 200 205

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

210 215 220

Val Leu Leu Leu Ala Gly Ser Ser Ala Gly Gly Thr Gly Val Leu Leu

225 230 235 240

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

245 250 255

Ile Gln Val Arg Gly Leu Ala Asp Ser Gly Trp Phe Leu Asp Asn Lys

260 265 270

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

275 280 285

Asp Ala Ile Arg Arg Gly Ile Arg Tyr Trp Ser Gly Met Val Pro Glu

290 295 300

Arg Cys Gln Arg Gln Phe Lys Glu Gly Glu Glu Trp Asn Cys Phe Phe

305 310 315 320

Gly Tyr Lys Val Tyr Pro Thr Leu Arg Cys Pro Val Phe Val Val Gln

325 330 335

Trp Leu Phe Asp Glu Ala Gln Leu Thr Val Asp Asn Val His Leu Thr

340 345 350

Gly Gln Pro Val Gln Glu Gly Leu Arg Leu Tyr Ile Gln Asn Leu Gly

355 360 365

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

370 375 380

Ala Cys Leu Ser His Glu Ile Ile Arg Ser His Trp Thr Asp Val

385 390 395 400

Gln Val Lys Gly Thr Ser Leu Pro Arg Ala Leu His Cys Trp Asp Arg

405 410 415

Ser Leu His Asp Ser His Lys Ala Ser Lys Thr Pro Leu Lys Gly Cys

420 425 430

Pro Val His Leu Val Asp Ser Cys Pro Trp Pro His Cys Asn Pro Ser

435 440 445

Cys Pro Thr Val Arg Asp Gln Phe Thr Gly Gln Glu Met Asn Val Ala

450 455 460

Gln Phe Leu Met His Met Gly Phe Asp Met Gln Thr Val Ala Gln Pro

465 470 475 480

Gln Gly Leu Glu Pro Ser Glu Leu Leu Gly Met Leu Ser Asn Gly Ser

485 490 495

<210> 86

<211> 503

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: Mouse-human-mouse chimeric NOTUM

<400> 86

Met Gly Gly Glu Val Arg Val Leu Leu Leu Leu Gly Leu Leu His Trp

1 5 10 15

Val Gly Gly Ser Glu Gly Arg Lys Thr Trp Arg Arg Arg Gly Gln Gln

20 25 30

Pro Pro Gln Pro Pro Pro Pro Pro Leu Pro Gln Arg Ala Glu Val

35 40 45

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

50 55 60

Ala Val Glu Gly Asn Met Asp Ser Phe Met Ala Gln Val Lys Ser Leu

65 70 75 80

Ala Gln Ser Leu Tyr Pro Cys Ser Ala Gln Gln Leu Asn Glu Asp Leu

85 90 95

Arg Leu His Leu Leu Leu Asn Thr Ser Val Thr Cys Asn Asp Gly Ser

100 105 110

Pro Ala Gly Tyr Tyr Leu Lys Glu Ser Lys Gly Ser Arg Arg Trp Leu

115 120 125

Leu Phe Leu Glu Gly Gly Trp Tyr Cys Phe Asn Arg Glu Asn Cys Asp

130 135 140

Ser Arg Tyr Ser Thr Met Arg Arg Leu Met Ser Ser Lys Asp Trp Pro

145 150 155 160

His Thr Arg Thr Gly Thr Gly Ile Leu Ser Ser Gln Pro Glu Glu Asn

165 170 175

Pro His Trp Trp Asn Ala Asn Met Val Phe Ile Pro Tyr Cys Ser Ser

180 185 190

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

195 200 205

Phe Met Gly Ala Leu Ile Ile Gln Glu Val Val Arg Glu Leu Leu Gly

210 215 220

Arg Gly Leu Ser Gly Ala Lys Val Leu Leu Ala Gly Ser Ser Ala

225 230 235 240

Gly Gly Thr Gly Val Leu Leu Asn Val Asp Arg Val Ala Glu Gln Leu

245 250 255

Glu Lys Leu Gly Tyr Pro Ala Ile Gln Val Arg Gly Leu Ala Asp Ser

260 265 270

Gly Trp Phe Leu Asp Asn Lys Gln Tyr Arg His Thr Asp Cys Val Asp

275 280 285

Thr Ile Thr Cys Ala Pro Thr Glu Ala Ile Arg Arg Gly Ile Arg Tyr

290 295 300

Trp Asn Gly Val Val Pro Glu Arg Cys Arg Arg Gln Phe Gln Glu Gly

305 310 315 320

Glu Glu Trp Asn Cys Phe Phe Gly Tyr Lys Val Tyr Pro Thr Leu Arg

325 330 335

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

340 345 350

Val Asp Asn Val His Leu Thr Gly Gln Pro Val Gln Glu Gly Gln Trp

355	360	365
Leu Tyr Ile Gln Asn Leu Gly Arg Glu Leu Arg Gly Thr Leu Lys Asp		
370	375	380
Val Gln Ala Ser Phe Ala Pro Ala Cys Leu Ser His Glu Ile Ile Ile		
385	390	395
Arg Ser Tyr Trp Thr Asp Val Gln Val Lys Gly Thr Ser Leu Pro Arg		
405	410	415
Ala Leu His Cys Trp Asp Arg Ser Phe His Asp Ser His Lys Ala Ser		

420	425	430
Lys Thr Pro Met Lys Gly Cys Pro Phe His Leu Val Asp Ser Cys Pro		
435	440	445
Trp Pro His Cys Asn Pro Ser Cys Pro Thr Ile Arg Asp Gln Phe Thr		
450	455	460
Gly Gln Glu Met Asn Val Ala Gln Phe Leu Met His Met Gly Phe Asp		
465	470	475
Val Gln Thr Val Ala Gln Gln Gly Met Glu Pro Ser Lys Leu Leu		

485	490	495
Gly Met Leu Ser Asn Gly Asn		
500		

<210> 87
<211> 466
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<220><221> misc_feature
<222> (1)..(466)
<223> Human NOTUM (Delta1-46)
<400> 87

Met Pro Leu Leu Leu Leu Pro Leu Leu Trp Ala Gly Ala Leu Ala		
1	5	10
Gln Pro Val Glu Ser Phe Pro Leu Asp Phe Thr Ala Val Glu Gly Asn		
20	25	30

Met Asp Ser Phe Met Ala Gln Val Lys Ser Leu Ala Gln Ser Leu Tyr

35 40 45

Pro Cys Ser Ala Gln Gln Leu Asn Glu Asp Leu Arg Leu His Leu Leu

50 55 60

Leu Asn Thr Ser Val Thr Cys Asn Asp Gly Ser Pro Ala Gly Tyr Tyr

65 70 75 80

Leu Lys Glu Ser Arg Gly Ser Arg Arg Trp Leu Leu Phe Leu Glu Gly

85 90 95

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

100 105 110

Met Arg Arg Leu Met Ser Ser Arg Asp Trp Pro Arg Thr Arg Thr Gly

115 120 125

Thr Gly Ile Leu Ser Ser Gln Pro Glu Glu Asn Pro Tyr Trp Trp Asn

130 135 140

Ala Asn Met Val Phe Ile Pro Tyr Cys Ser Ser Asp Val Trp Ser Gly

145 150 155 160

Ala Ser Ser Lys Ser Glu Lys Asn Glu Tyr Ala Phe Met Gly Ala Leu

165 170 175

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

180 185 190

Ala Lys Val Leu Leu Leu Ala Gly Ser Ser Ala Gly Gly Thr Gly Val

195 200 205

Leu Leu Asn Val Asp Arg Val Ala Glu Gln Leu Glu Lys Leu Gly Tyr

210 215 220

Pro Ala Ile Gln Val Arg Gly Leu Ala Asp Ser Gly Trp Phe Leu Asp

225 230 235 240

Asn Lys Gln Tyr Arg His Thr Asp Cys Val Asp Thr Ile Thr Cys Ala

245 250 255

Pro Thr Glu Ala Ile Arg Arg Gly Ile Arg Tyr Trp Asn Gly Val Val

260 265 270

Pro Glu Arg Cys Arg Arg Gln Phe Gln Glu Gly Glu Glu Trp Asn Cys

275 280 285

Phe Phe Gly Tyr Lys Val Tyr Pro Thr Leu Arg Cys Pro Val Phe Val

290 295 300

Val Gln Trp Leu Phe Asp Glu Ala Gln Leu Thr Val Asp Asn Val His

305 310 315 320

Leu Thr Gly Gln Pro Val Gln Glu Gly Leu Arg Leu Tyr Ile Gln Asn

325 330 335

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

340 345 350

Ala Pro Ala Cys Leu Ser His Glu Ile Ile Arg Ser His Trp Thr

355 360 365

Asp Val Gln Val Lys Gly Thr Ser Leu Pro Arg Ala Leu His Cys Trp

370 375 380

Asp Arg Ser Leu His Asp Ser His Lys Ala Ser Lys Thr Pro Leu Lys

385 390 395 400

Gly Cys Pro Val His Leu Val Asp Ser Cys Pro Trp Pro His Cys Asn

405 410 415

Pro Ser Cys Pro Thr Val Arg Asp Gln Phe Thr Gly Gln Glu Met Asn

420 425 430

Val Ala Gln Phe Leu Met His Met Gly Phe Asp Met Gln Thr Val Ala

435 440 445

Gln Pro Gln Gly Leu Glu Pro Ser Glu Leu Leu Gly Met Leu Ser Asn

450 455 460

Gly Ser

465

<210> 88

<211> 496

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(496)

<223> Human NOTUM N96D

<400> 88

Met Gly Arg Gly Val Arg Val Leu Leu Leu Ser Leu Leu His Cys

1 5 10 15

Ala Gly Gly Ser Glu Gly Arg Lys Thr Trp Arg Arg Arg Gly Gln Gln

20 25 30

Pro Pro Pro Pro Pro Arg Thr Glu Ala Ala Pro Ala Ala Gly Gln Pro

35 40 45

Val Glu Ser Phe Pro Leu Asp Phe Thr Ala Val Glu Gly Asn Met Asp

50 55 60

Ser Phe Met Ala Gln Val Lys Ser Leu Ala Gln Ser Leu Tyr Pro Cys

65 70 75 80

Ser Ala Gln Gln Leu Asn Glu Asp Leu Arg Leu His Leu Leu Asp

85 90 95

Thr Ser Val Thr Cys Asn Asp Gly Ser Pro Ala Gly Tyr Tyr Leu Lys

100 105 110

Glu Ser Arg Gly Ser Arg Arg Trp Leu Leu Phe Leu Glu Gly Gly Trp

115 120 125

Tyr Cys Phe Asn Arg Glu Asn Cys Asp Ser Arg Tyr Asp Thr Met Arg

130 135 140

Arg Leu Met Ser Ser Arg Asp Trp Pro Arg Thr Arg Thr Gly Thr Gly

145 150 155 160

Ile Leu Ser Ser Gln Pro Glu Glu Asn Pro Tyr Trp Trp Asn Ala Asn

165 170 175

Met Val Phe Ile Pro Tyr Cys Ser Ser Asp Val Trp Ser Gly Ala Ser

180 185 190

Ser Lys Ser Glu Lys Asn Glu Tyr Ala Phe Met Gly Ala Leu Ile Ile

195 200 205

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

210 215 220

Val Leu Leu Leu Ala Gly Ser Ser Ala Gly Gly Thr Gly Val Leu Leu

225 230 235 240

Asn Val Asp Arg Val Ala Glu Gln Leu Glu Lys Leu Gly Tyr Pro Ala

245	250	255
-----	-----	-----

Ile Gln Val Arg Gly Leu Ala Asp Ser Gly Trp Phe Leu Asp Asn Lys

260	265	270
-----	-----	-----

Gln Tyr Arg His Thr Asp Cys Val Asp Thr Ile Thr Cys Ala Pro Thr

275	280	285
-----	-----	-----

Glu Ala Ile Arg Arg Gly Ile Arg Tyr Trp Asn Gly Val Val Pro Glu

290	295	300
-----	-----	-----

Arg Cys Arg Arg Gln Phe Gln Glu Gly Glu Trp Asn Cys Phe Phe

305	310	315
-----	-----	-----

320

Gly Tyr Lys Val Tyr Pro Thr Leu Arg Cys Pro Val Phe Val Val Gln

325	330	335
-----	-----	-----

Trp Leu Phe Asp Glu Ala Gln Leu Thr Val Asp Asn Val His Leu Thr

340	345	350
-----	-----	-----

Gly Gln Pro Val Gln Glu Gly Leu Arg Leu Tyr Ile Gln Asn Leu Gly

355	360	365
-----	-----	-----

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

370	375	380
-----	-----	-----

Ala Cys Leu Ser His Glu Ile Ile Arg Ser His Trp Thr Asp Val

385	390	395
-----	-----	-----

400

Gln Val Lys Gly Thr Ser Leu Pro Arg Ala Leu His Cys Trp Asp Arg

405	410	415
-----	-----	-----

Ser Leu His Asp Ser His Lys Ala Ser Lys Thr Pro Leu Lys Gly Cys

420	425	430
-----	-----	-----

Pro Val His Leu Val Asp Ser Cys Pro Trp Pro His Cys Asn Pro Ser

435	440	445
-----	-----	-----

Cys Pro Thr Val Arg Asp Gln Phe Thr Gly Gln Glu Met Asn Val Ala

450	455	460
-----	-----	-----

Gln Phe Leu Met His Met Gly Phe Asp Met Gln Thr Val Ala Gln Pro

465	470	475
-----	-----	-----

480

Gln Gly Leu Glu Pro Ser Glu Leu Leu Gly Met Leu Ser Asn Gly Ser

485	490	495
-----	-----	-----

<210> 89
<211> 131
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<220><221> misc_feature
<222> (1)..(131)
<223> Human NOTUM Q47-M177

<400> 89
Gln Pro Val Glu Ser Phe Pro Leu Asp Phe Thr Ala Val Glu Gly Asn
1 5 10 15
Met Asp Ser Phe Met Ala Gln Val Lys Ser Leu Ala Gln Ser Leu Tyr
20 25 30
Pro Cys Ser Ala Gln Gln Leu Asn Glu Asp Leu Arg Leu His Leu
35 40 45
Leu Asn Thr Ser Val Thr Cys Asn Asp Gly Ser Pro Ala Gly Tyr Tyr
50 55 60

Leu Lys Glu Ser Arg Gly Ser Arg Arg Trp Leu Leu Phe Leu Glu Gly
65 70 75 80
Gly Trp Tyr Cys Phe Asn Arg Glu Asn Cys Asp Ser Arg Tyr Asp Thr
85 90 95
Met Arg Arg Leu Met Ser Ser Arg Asp Trp Pro Arg Thr Arg Thr Gly
100 105 110
Thr Gly Ile Leu Ser Ser Gln Pro Glu Glu Asn Pro Tyr Trp Trp Asn
115 120 125

Ala Asn Met
130
<210> 90
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic: Campaign 1 heavy chain CDR1 consensus
<220><221> misc_feature

<222> (7)..(7)

<223> X is Y or F

<400> 90

Gly Phe Thr Phe Ser Asp Xaa Gly Met His

1 5 10

<210> 91

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: Campaign 1 heavy chain CDR3 consensus

<220><221> misc_feature

<222> (2)..(2)

<223> X is H or N

<400> 91

Lys Xaa Tyr Asn Gly Gly Tyr Phe Asp Val

1 5 10

<210> 92

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: Campaign 1 light chain CDR1 consensus

<220><221> misc_feature

<222> (5)..(5)

<223> X is I or S

<220><221> misc_feature

<222> (8)..(8)

<223> X is T or E

<220><221> misc_feature

<222> (14)..(14)

<223> X is M or I

<400> 92

Arg Ala Ser Lys Xaa Val Ser Xaa Ser Gly Tyr Ser Tyr Xaa His

1 5 10 15

<210> 93

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: Campaign 1 light chain CDR2 consensus

<220><221> misc_feature

<222> (4)..(4)

<223> X is D or N

<400> 93

Leu Ala Ser Xaa Leu Glu Ser

1 5

<210> 94

<211> 496

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(496)

<223> Human NOTUM D141S

<400> 94

Met Gly Arg Gly Val Arg Val Leu Leu Leu Ser Leu Leu His Cys

1 5 10 15

Ala Gly Gly Ser Glu Gly Arg Lys Thr Trp Arg Arg Arg Gly Gln Gln

20 25 30

Pro Pro Pro Pro Pro Arg Thr Glu Ala Ala Pro Ala Gly Gln Pro

35 40 45

Val Glu Ser Phe Pro Leu Asp Phe Thr Ala Val Glu Gly Asn Met Asp

50 55 60

Ser Phe Met Ala Gln Val Lys Ser Leu Ala Gln Ser Leu Tyr Pro Cys

65 70 75 80

Ser Ala Gln Gln Leu Asn Glu Asp Leu Arg Leu His Leu Leu Asn

85 90 95

Thr Ser Val Thr Cys Asn Asp Gly Ser Pro Ala Gly Tyr Tyr Leu Lys

100 105 110

Glu Ser Arg Gly Ser Arg Arg Trp Leu Leu Phe Leu Glu Gly Gly Trp

115 120 125

Tyr Cys Phe Asn Arg Glu Asn Cys Asp Ser Arg Tyr Ser Thr Met Arg

130 135 140

Arg Leu Met Ser Ser Arg Asp Trp Pro Arg Thr Arg Thr Gly Thr Gly

145 150 155 160

Ile Leu Ser Ser Gln Pro Glu Glu Asn Pro Tyr Trp Trp Asn Ala Asn

165 170 175

Met Val Phe Ile Pro Tyr Cys Ser Ser Asp Val Trp Ser Gly Ala Ser

180 185 190

Ser Lys Ser Glu Lys Asn Glu Tyr Ala Phe Met Gly Ala Leu Ile Ile

195 200 205

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

210 215 220

Val Leu Leu Leu Ala Gly Ser Ser Ala Gly Gly Thr Gly Val Leu Leu

225 230 235 240

Asn Val Asp Arg Val Ala Glu Gln Leu Glu Lys Leu Gly Tyr Pro Ala

245 250 255

Ile Gln Val Arg Gly Leu Ala Asp Ser Gly Trp Phe Leu Asp Asn Lys

260 265 270

Gln Tyr Arg His Thr Asp Cys Val Asp Thr Ile Thr Cys Ala Pro Thr

275 280 285

Glu Ala Ile Arg Arg Gly Ile Arg Tyr Trp Asn Gly Val Val Pro Glu

290 295 300

Arg Cys Arg Arg Gln Phe Gln Glu Gly Glu Glu Trp Asn Cys Phe Phe

305 310 315 320

Gly Tyr Lys Val Tyr Pro Thr Leu Arg Cys Pro Val Phe Val Val Gln

325 330 335

Trp Leu Phe Asp Glu Ala Gln Leu Thr Val Asp Asn Val His Leu Thr

340 345 350

Gly Gln Pro Val Gln Glu Gly Leu Arg Leu Tyr Ile Gln Asn Leu Gly

355	360	365
Arg Glu Leu Arg His Thr Leu Lys Asp Val Pro Ala Ser Phe Ala Pro		
370	375	380
Ala Cys Leu Ser His Glu Ile Ile Ile Arg Ser His Trp Thr Asp Val		
385	390	395
400		

Gln Val Lys Gly Thr Ser Leu Pro Arg Ala Leu His Cys Trp Asp Arg
 405 410 415
 Ser Leu His Asp Ser His Lys Ala Ser Lys Thr Pro Leu Lys Gly Cys
 420 425 430
 Pro Val His Leu Val Asp Ser Cys Pro Trp Pro His Cys Asn Pro Ser
 435 440 445
 Cys Pro Thr Val Arg Asp Gln Phe Thr Gly Gln Glu Met Asn Val Ala
 450 455 460

<210> 95
<211> 503
<212> PRT
<213> Mouse
<220><221> misc_feature
<222> (1)..(503)
<223> Mouse NOTUM S148D
<400> 95

Met Gly Gly Glu Val Arg Val Leu Leu Leu Leu Gly Leu Leu His Trp
1 5 10 15

Val	Gly	Gly	Ser	Glu	Gly	Arg	Lys	Thr	Trp	Arg	Arg	Arg	Gly	Gln	Gln
20								25							30
Pro	Pro	Gln	Pro	Pro	Pro	Pro	Pro	Pro	Leu	Pro	Gln	Arg	Ala	Glu	Val
35								40							45
Glu	Pro	Gly	Ala	Gly	Gln	Pro	Val	Glu	Ser	Phe	Pro	Leu	Asp	Phe	Thr

50	55	60
Ala Val Glu Gly Asn Met Asp Ser Phe Met Ala Gln Val Lys Ser Leu		
65	70	75
Ala Gln Ser Leu Tyr Pro Cys Ser Ala Gln Gln Leu Asn Glu Asp Leu		
85	90	95
Arg Leu His Leu Leu Leu Asn Thr Ser Val Thr Cys Asn Asp Gly Ser		
100	105	110
Pro Ala Gly Tyr Tyr Leu Lys Glu Ser Lys Gly Ser Arg Arg Trp Leu		
115	120	125
Leu Phe Leu Glu Gly Trp Tyr Cys Phe Asn Arg Glu Asn Cys Asp		
130	135	140
Ser Arg Tyr Asp Thr Met Arg Arg Leu Met Ser Ser Lys Asp Trp Pro		
145	150	155
His Thr Arg Thr Gly Thr Gly Ile Leu Ser Ser Gln Pro Glu Glu Asn		
165	170	175
Pro His Trp Trp Asn Ala Asn Met Val Phe Ile Pro Tyr Cys Ser Ser		
180	185	190
Asp Val Trp Ser Gly Ala Ser Pro Lys Ser Asp Lys Asn Glu Tyr Ala		
195	200	205
Phe Met Gly Ser Leu Ile Ile Gln Glu Val Val Arg Glu Leu Leu Gly		
210	215	220
Lys Gly Leu Ser Gly Ala Lys Val Leu Leu Leu Ala Gly Ser Ser Ala		
225	230	235
Gly Gly Thr Gly Val Leu Leu Asn Val Asp Arg Val Ala Glu Leu Leu		
245	250	255
Glu Glu Leu Gly Tyr Pro Ser Ile Gln Val Arg Gly Leu Ala Asp Ser		
260	265	270
Gly Trp Phe Leu Asp Asn Lys Gln Tyr Arg Arg Ser Asp Cys Ile Asp		
275	280	285
Thr Ile Asn Cys Ala Pro Thr Asp Ala Ile Arg Arg Gly Ile Arg Tyr		
290	295	300

Trp Ser Gly Met Val Pro Glu Arg Cys Gln Arg Gln Phe Lys Glu Gly

305 310 315 320

Glu Glu Trp Asn Cys Phe Phe Gly Tyr Lys Val Tyr Pro Thr Leu Arg

325 330 335

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

340 345 350

Val Asp Asn Val His Leu Thr Gly Gln Pro Val Gln Glu Gly Gln Trp

355 360 365

Leu Tyr Ile Gln Asn Leu Gly Arg Glu Leu Arg Gly Thr Leu Lys Asp

370 375 380

Val Gln Ala Ser Phe Ala Pro Ala Cys Leu Ser His Glu Ile Ile Ile

385 390 395 400

Arg Ser Tyr Trp Thr Asp Val Gln Val Lys Gly Thr Ser Leu Pro Arg

405 410 415

Ala Leu His Cys Trp Asp Arg Ser Phe His Asp Ser His Lys Ala Ser

420 425 430

Lys Thr Pro Met Lys Gly Cys Pro Phe His Leu Val Asp Ser Cys Pro

435 440 445

Trp Pro His Cys Asn Pro Ser Cys Pro Thr Ile Arg Asp Gln Phe Thr

450 455 460

Gly Gln Glu Met Asn Val Ala Gln Phe Leu Met His Met Gly Phe Asp

465 470 475 480

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

485 490 495

Gly Met Leu Ser Asn Gly Asn

500

<210> 96

<211> 496

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(496)

<223> Human NOTUM N132A/R133A

<400> 96

Met Gly Arg Gly Val Arg Val Leu Leu Leu Ser Leu Leu His Cys

1	5	10	15
Ala	Gly	Ser	Glu
Gly	Arg	Gly	Arg
Lys	Thr	Trp	Arg
Arg	Arg	Arg	Gly
Gln	Gln		
20	25	30	
Pro	Pro	Pro	Pro
Pro	Arg	Thr	Glu
Ala	Ala	Pro	Ala
Ala	Gly	Gln	Pro
35	40	45	
Val	Glu	Ser	Phe
Phe	Pro	Leu	Asp
Asp	Phe	Thr	Ala
Glu	Gly	Val	Gly
Asn	Asn	Met	Asp
50	55	60	
Ser	Phe	Met	Ala
Ala	Gln	Val	Lys
Lys	Ser	Leu	Ala
Gln	Ser	Leu	Tyr
			Pro
			Cys
65	70	75	80
Ser	Ala	Gln	Gln
Gln	Leu	Asn	Glu
Asn	Glu	Asp	Leu
Arg	Leu	Arg	Leu
His	Leu	Leu	Asn
85	90	95	
Thr	Ser	Val	Thr
Cys	Asn	Asp	Gly
Gly	Ser	Pro	Ala
Tyr	Tyr	Tyr	Leu
			Lys
100	105	110	
Glu	Ser	Arg	Gly
Ser	Arg	Arg	Trp
Trp	Leu	Leu	Phe
Leu	Glu	Gly	Gly
			Trp
115	120	125	
Tyr	Cys	Phe	Ala
Ala	Ala	Glu	Asn
Cys	Asp	Ser	Arg
Tyr	Asp	Thr	Met
			Arg
130	135	140	
Arg	Leu	Met	Ser
Ser	Arg	Asp	Trp
Trp	Pro	Arg	Thr
Pro	Arg	Thr	Gly
Gly	Thr	Gly	Thr
			Gly
145	150	155	160
Ile	Leu	Ser	Ser
Gln	Pro	Glu	Glu
Glu	Asn	Pro	Tyr
Asn	Pro	Tyr	Trp
Tyr	Trp	Trp	Asn
			Ala
			Asn
165	170	175	
Met	Val	Phe	Ile
Ile	Pro	Tyr	Cys
Ser	Ser	Asp	Val
Asp	Val	Trp	Ser
Gly	Ala	Ser	
180	185	190	
Ser	Lys	Ser	Glu
Glu	Lys	Asn	Glu
Asn	Glu	Tyr	Ala
Glu	Tyr	Ala	Phe
Ala	Met	Gly	Ala
Phe	Met	Gly	Ile
			Ile
195	200	205	
Gln	Glu	Val	Val
Val	Arg	Glu	Leu
Leu	Gly	Arg	Gly
Gly	Leu	Ser	Gly
Leu	Ser	Gly	Ala
Gly	Ala	Lys	
210	215	220	
Val	Leu	Leu	Ala
Leu	Ala	Gly	Ser
Ser	Ser	Ala	Gly
Gly	Gly	Thr	Gly
Thr	Gly	Val	Leu
			Leu

225	230	235	240
Asn Val Asp Arg Val Ala Glu Gln Leu Glu Lys Leu Gly Tyr Pro Ala			
245	250	255	
Ile Gln Val Arg Gly Leu Ala Asp Ser Gly Trp Phe Leu Asp Asn Lys			
260	265	270	
Gln Tyr Arg His Thr Asp Cys Val Asp Thr Ile Thr Cys Ala Pro Thr			
275	280	285	
Glu Ala Ile Arg Arg Gly Ile Arg Tyr Trp Asn Gly Val Val Pro Glu			
290	295	300	
Arg Cys Arg Arg Gln Phe Gln Glu Gly Glu Trp Asn Cys Phe Phe			
305	310	315	320
Gly Tyr Lys Val Tyr Pro Thr Leu Arg Cys Pro Val Phe Val Val Gln			
325	330	335	
Trp Leu Phe Asp Glu Ala Gln Leu Thr Val Asp Asn Val His Leu Thr			
340	345	350	
Gly Gln Pro Val Gln Glu Gly Leu Arg Leu Tyr Ile Gln Asn Leu Gly			
355	360	365	
Arg Glu Leu Arg His Thr Leu Lys Asp Val Pro Ala Ser Phe Ala Pro			
370	375	380	
Ala Cys Leu Ser His Glu Ile Ile Arg Ser His Trp Thr Asp Val			
385	390	395	400
Gln Val Lys Gly Thr Ser Leu Pro Arg Ala Leu His Cys Trp Asp Arg			
405	410	415	
Ser Leu His Asp Ser His Lys Ala Ser Lys Thr Pro Leu Lys Gly Cys			
420	425	430	
Pro Val His Leu Val Asp Ser Cys Pro Trp Pro His Cys Asn Pro Ser			
435	440	445	
Cys Pro Thr Val Arg Asp Gln Phe Thr Gly Gln Glu Met Asn Val Ala			
450	455	460	
Gln Phe Leu Met His Met Gly Phe Asp Met Gln Thr Val Ala Gln Pro			
465	470	475	480

Gln Gly Leu Glu Pro Ser Glu Leu Leu Gly Met Leu Ser Asn Gly Ser

485 490 495

<210> 97

<211> 496

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(496)

<223> Human NOTUM E134A/N135A

<400> 97

Met Gly Arg Gly Val Arg Val Leu Leu Leu Ser Leu Leu His Cys

1 5 10 15

Ala Gly Gly Ser Glu Gly Arg Lys Thr Trp Arg Arg Gly Gln Gln

20 25 30

Pro Pro Pro Pro Pro Arg Thr Glu Ala Ala Pro Ala Ala Gly Gln Pro

35 40 45

Val Glu Ser Phe Pro Leu Asp Phe Thr Ala Val Glu Gly Asn Met Asp

50 55 60

Ser Phe Met Ala Gln Val Lys Ser Leu Ala Gln Ser Leu Tyr Pro Cys

65 70 75 80

Ser Ala Gln Gln Leu Asn Glu Asp Leu Arg Leu His Leu Leu Asn

85 90 95

Thr Ser Val Thr Cys Asn Asp Gly Ser Pro Ala Gly Tyr Tyr Leu Lys

100 105 110

Glu Ser Arg Gly Ser Arg Arg Trp Leu Leu Phe Leu Glu Gly Gly Trp

115 120 125

Tyr Cys Phe Asn Arg Ala Ala Cys Asp Ser Arg Tyr Asp Thr Met Arg

130 135 140

Arg Leu Met Ser Ser Arg Asp Trp Pro Arg Thr Arg Thr Gly Thr Gly

145 150 155 160

Ile Leu Ser Ser Gln Pro Glu Glu Asn Pro Tyr Trp Trp Asn Ala Asn

165 170 175

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

420	425	430
Pro Val His Leu Val Asp Ser Cys Pro Trp Pro His Cys Asn Pro Ser		
435	440	445
Cys Pro Thr Val Arg Asp Gln Phe Thr Gly Gln Glu Met Asn Val Ala		
450	455	460
Gln Phe Leu Met His Met Gly Phe Asp Met Gln Thr Val Ala Gln Pro		
465	470	475
Gln Gly Leu Glu Pro Ser Glu Leu Leu Gly Met Leu Ser Asn Gly Ser		
485	490	495
<210> 98		
<211> 496		
<212> PRT		
<213> Homo sapiens		
<220><221> misc_feature		
<222> (1)..(496)		
<223> Human NOTUM D137A/R139A		
<400> 98		
Met Gly Arg Gly Val Arg Val Leu Leu Leu Ser Leu Leu His Cys		
1	5	10
Ala Gly Gly Ser Glu Gly Arg Lys Thr Trp Arg Arg Arg Gly Gln Gln		
20	25	30
Pro Pro Pro Pro Pro Arg Thr Glu Ala Ala Pro Ala Ala Gly Gln Pro		
35	40	45
Val Glu Ser Phe Pro Leu Asp Phe Thr Ala Val Glu Gly Asn Met Asp		
50	55	60
Ser Phe Met Ala Gln Val Lys Ser Leu Ala Gln Ser Leu Tyr Pro Cys		
65	70	75
Ser Ala Gln Gln Leu Asn Glu Asp Leu Arg Leu His Leu Leu Leu Asn		
85	90	95
Thr Ser Val Thr Cys Asn Asp Gly Ser Pro Ala Gly Tyr Tyr Leu Lys		
100	105	110
Glu Ser Arg Gly Ser Arg Arg Trp Leu Leu Phe Leu Glu Gly Gly Trp		

115

120

125

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

130

135

140

Arg Leu Met Ser Ser Arg Asp Trp Pro Arg Thr Arg Thr Gly Thr Gly

145 150 155 160

Ile Leu Ser Ser Gln Pro Glu Glu Asn Pro Tyr Trp Trp Asn Ala Asn

165

170

175

Met Val Phe Ile Pro Tyr Cys Ser Ser Asp Val Trp Ser Gly Ala Ser

180

185

190

Ser Lys Ser Glu Lys Asn Glu Tyr Ala Phe Met Gly Ala Leu Ile Ile

195

200

205

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

210

215

220

Val Leu Leu Leu Ala Gly Ser Ser Ala Gly Gly Thr Gly Val Leu Leu

225 230 235 240

Asn Val Asp Arg Val Ala Glu Gln Leu Glu Lys Leu Gly Tyr Pro Ala

245

250

255

Ile Gln Val Arg Gly Leu Ala Asp Ser Gly Trp Phe Leu Asp Asn Lys

260

265

270

Gln Tyr Arg His Thr Asp Cys Val Asp Thr Ile Thr Cys Ala Pro Thr

275

280

285

Glu Ala Ile Arg Arg Gly Ile Arg Tyr Trp Asn Gly Val Val Pro Glu

290

295

300

Arg Cys Arg Arg Gln Phe Gln Glu Gly Glu Trp Asn Cys Phe Phe

305 310 315 320

Gly Tyr Lys Val Tyr Pro Thr Leu Arg Cys Pro Val Phe Val Val Gln

325

330

335

Trp Leu Phe Asp Glu Ala Gln Leu Thr Val Asp Asn Val His Leu Thr

340

345

350

Gly Gln Pro Val Gln Glu Gly Leu Arg Leu Tyr Ile Gln Asn Leu Gly

355

360

365

Arg Glu Leu Arg His Thr Leu Lys Asp Val Pro Ala Ser Phe Ala Pro
 370 375 380
 Ala Cys Leu Ser His Glu Ile Ile Ile Arg Ser His Trp Thr Asp Val

385 390 395 400
 Gln Val Lys Gly Thr Ser Leu Pro Arg Ala Leu His Cys Trp Asp Arg
 405 410 415
 Ser Leu His Asp Ser His Lys Ala Ser Lys Thr Pro Leu Lys Gly Cys
 420 425 430
 Pro Val His Leu Val Asp Ser Cys Pro Trp Pro His Cys Asn Pro Ser
 435 440 445
 Cys Pro Thr Val Arg Asp Gln Phe Thr Gly Gln Glu Met Asn Val Ala

450 455 460
 Gln Phe Leu Met His Met Gly Phe Asp Met Gln Thr Val Ala Gln Pro
 465 470 475 480
 Gln Gly Leu Glu Pro Ser Glu Leu Leu Gly Met Leu Ser Asn Gly Ser
 485 490 495

<210> 99

<211> 496

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(496)

<223> Human NOTUM R144A/R145A

<400> 99

Met Gly Arg Gly Val Arg Val Leu Leu Leu Leu Ser Leu Leu His Cys

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

Ser Phe Met Ala Gln Val Lys Ser Leu Ala Gln Ser Leu Tyr Pro Cys

65 70 75 80

Ser Ala Gln Gln Leu Asn Glu Asp Leu Arg Leu His Leu Leu Leu Asn

85 90 95

Thr Ser Val Thr Cys Asn Asp Gly Ser Pro Ala Gly Tyr Tyr Leu Lys

100 105 110

Glu Ser Arg Gly Ser Arg Arg Trp Leu Leu Phe Leu Glu Gly Gly Trp

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

Ile Leu Ser Ser Gln Pro Glu Glu Asn Pro Tyr Trp Trp Asn Ala Asn

165 170 175

Met Val Phe Ile Pro Tyr Cys Ser Ser Asp Val Trp Ser Gly Ala Ser

180 185 190

Ser Lys Ser Glu Lys Asn Glu Tyr Ala Phe Met Gly Ala Leu Ile Ile

195 200 205

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

210 215 220

Val Leu Leu Leu Ala Gly Ser Ser Ala Gly Gly Thr Gly Val Leu Leu

225 230 235 240

Asn Val Asp Arg Val Ala Glu Gln Leu Glu Lys Leu Gly Tyr Pro Ala

245 250 255

Ile Gln Val Arg Gly Leu Ala Asp Ser Gly Trp Phe Leu Asp Asn Lys

260 265 270

Gln Tyr Arg His Thr Asp Cys Val Asp Thr Ile Thr Cys Ala Pro Thr

275 280 285

Glu Ala Ile Arg Arg Gly Ile Arg Tyr Trp Asn Gly Val Val Pro Glu

290 295 300

Arg Cys Arg Arg Gln Phe Gln Glu Gly Glu Trp Asn Cys Phe Phe

305 310 315 320

Gly Tyr Lys Val Tyr Pro Thr Leu Arg Cys Pro Val Phe Val Val Gln

325 330 335

Trp Leu Phe Asp Glu Ala Gln Leu Thr Val Asp Asn Val His Leu Thr

340 345 350

Gly Gln Pro Val Gln Glu Gly Leu Arg Leu Tyr Ile Gln Asn Leu Gly

355 360 365

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

370 375 380

Ala Cys Leu Ser His Glu Ile Ile Ile Arg Ser His Trp Thr Asp Val

385 390 395 400

Gln Val Lys Gly Thr Ser Leu Pro Arg Ala Leu His Cys Trp Asp Arg

405 410 415

Ser Leu His Asp Ser His Lys Ala Ser Lys Thr Pro Leu Lys Gly Cys

420 425 430

Pro Val His Leu Val Asp Ser Cys Pro Trp Pro His Cys Asn Pro Ser

435 440 445

Cys Pro Thr Val Arg Asp Gln Phe Thr Gly Gln Glu Met Asn Val Ala

450 455 460

Gln Phe Leu Met His Met Gly Phe Asp Met Gln Thr Val Ala Gln Pro

465 470 475 480

Gln Gly Leu Glu Pro Ser Glu Leu Leu Gly Met Leu Ser Asn Gly Ser

485 490 495

<210> 100

<211> 496

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(496)

<223> Human NOTUM R150A/D151A

<400> 100

Met Gly Arg Gly Val Arg Val Leu Leu Leu Ser Leu Leu His Cys

1	5	10	15
Ala Gly Gly Ser Glu Gly Arg Lys Thr Trp Arg Arg Arg Gly Gln Gln			
20	25	30	
Pro Pro Pro Pro Pro Arg Thr Glu Ala Ala Pro Ala Ala Gly Gln Pro			
35	40	45	
Val Glu Ser Phe Pro Leu Asp Phe Thr Ala Val Glu Gly Asn Met Asp			
50	55	60	
Ser Phe Met Ala Gln Val Lys Ser Leu Ala Gln Ser Leu Tyr Pro Cys			
65	70	75	80
Ser Ala Gln Gln Leu Asn Glu Asp Leu Arg Leu His Leu Leu Asn			
85	90	95	
Thr Ser Val Thr Cys Asn Asp Gly Ser Pro Ala Gly Tyr Tyr Leu Lys			
100	105	110	
Glu Ser Arg Gly Ser Arg Arg Trp Leu Leu Phe Leu Glu Gly Gly Trp			
115	120	125	
Tyr Cys Phe Asn Arg Glu Asn Cys Asp Ser Arg Tyr Asp Thr Met Arg			
130	135	140	
Arg Leu Met Ser Ser Ala Ala Trp Pro Arg Thr Arg Thr Gly Thr Gly			
145	150	155	160
Ile Leu Ser Ser Gln Pro Glu Glu Asn Pro Tyr Trp Trp Asn Ala Asn			
165	170	175	
Met Val Phe Ile Pro Tyr Cys Ser Ser Asp Val Trp Ser Gly Ala Ser			
180	185	190	
Ser Lys Ser Glu Lys Asn Glu Tyr Ala Phe Met Gly Ala Leu Ile Ile			
195	200	205	
Gln Glu Val Val Arg Glu Leu Leu Gly Arg Gly Leu Ser Gly Ala Lys			
210	215	220	
Val Leu Leu Leu Ala Gly Ser Ser Ala Gly Gly Thr Gly Val Leu Leu			
225	230	235	240
Asn Val Asp Arg Val Ala Glu Gln Leu Glu Lys Leu Gly Tyr Pro Ala			

245	250	255
Ile Gln Val Arg Gly Leu Ala Asp Ser Gly Trp Phe Leu Asp Asn Lys		
260	265	270
Gln Tyr Arg His Thr Asp Cys Val Asp Thr Ile Thr Cys Ala Pro Thr		
275	280	285
Glu Ala Ile Arg Arg Gly Ile Arg Tyr Trp Asn Gly Val Val Pro Glu		
290	295	300
Arg Cys Arg Arg Gln Phe Gln Glu Gly Glu Trp Asn Cys Phe Phe		
305	310	315
Gly Tyr Lys Val Tyr Pro Thr Leu Arg Cys Pro Val Phe Val Val Gln		
325	330	335
Trp Leu Phe Asp Glu Ala Gln Leu Thr Val Asp Asn Val His Leu Thr		
340	345	350
Gly Gln Pro Val Gln Glu Gly Leu Arg Leu Tyr Ile Gln Asn Leu Gly		
355	360	365
Arg Glu Leu Arg His Thr Leu Lys Asp Val Pro Ala Ser Phe Ala Pro		
370	375	380
Ala Cys Leu Ser His Glu Ile Ile Arg Ser His Trp Thr Asp Val		
385	390	395
Gln Val Lys Gly Thr Ser Leu Pro Arg Ala Leu His Cys Trp Asp Arg		
405	410	415
Ser Leu His Asp Ser His Lys Ala Ser Lys Thr Pro Leu Lys Gly Cys		
420	425	430
Pro Val His Leu Val Asp Ser Cys Pro Trp Pro His Cys Asn Pro Ser		
435	440	445
Cys Pro Thr Val Arg Asp Gln Phe Thr Gly Gln Glu Met Asn Val Ala		
450	455	460
Gln Phe Leu Met His Met Gly Phe Asp Met Gln Thr Val Ala Gln Pro		
465	470	475
Gln Gly Leu Glu Pro Ser Glu Leu Leu Gly Met Leu Ser Asn Gly Ser		
485	490	495

<210> 101

<211> 495

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 1.802 heavy chain variable region polynucleotide sequence

<400> 101

atggactcca ggctcaattt agtttcctt gtccttattt taaaagggtt ccagtgttag 60

gtgcagctgg tggagtctgg gggaggctta gtgaaggcctg gagggtccct gaaacictcc	120
tgtgcagecct ctggattcac ttcatgtac tatggaatgc actgggttcg tcaggctcca	180
gagaaggggc tggagtgggt tgcatatatatt agtagtgcca gttagaacgt ctactatgca	240
gacacagtga agggccgatt caccatctcc agagacaatg ccaagaacac cctgtccctg	300
caaattgacca gtctgaggc tcaggacacg gccatgtatt actgtgcgag gaaacattac	360
aacgggttgc acttcgatgt ctggggcaca gggaccacgg tcaccgtctc ctcagccaaa	420
acgacaccccc catctgtcta tccactggcc cctggatctg ctgcccacaa taactccatg	480

gtgaccctgg gatgc 495

<210> 102

<211> 482

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 1.802 light chain variable region polynucleotide sequence

<400> 102

atccctcttt ccagctctca gagatggaga cagacacact cctgttatgg gtactgctgc	60
tctgggttcc aggttccact ggtgacattt tgctgacaca gtctccgtct tccttagctg	120
tatctctgg gcagagggcc accatctcat gcagggccag caaaattgtc agtacatctg	180
gctatagttt tatgcactgg taccaacaga aaccaggaca gcccacaaa ctcctcatct	240

atcttgcatc caacctagaa tctgggtcc ctgccagggtt cagtgccagt gggcttgga	300
cagacttcac cctcaacatc catcctgtgg aggaggagga tgctgcaacc tattactgtc	360
agcacagtag ggagcttctt cccacgttcg gctcgccac aaagtggaa ataaaacggg	420
ctgatgctgc accaactgta tccatctcc caccatccag tgagcgtta acatctggag	480
gt	482

<210> 103

<211> 570

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 1.815 heavy chain variable region polynucleotide

sequence

<400> 103

tctgacagag gagccaagcc ctggattccc aggtcctcac attcagtgtat cagcaactgaa	60
cacagaccac tcaccatgga ctccaggctc aattttagttt tccttgctt tattttaaaa	120
ggtgtccagt gtgatgtgca actgctggaa tctggggag gcttagtgca gcctggaggg	180
tcccgaaac tctcctgtgc agcctctgga ttcaatttca gtgactttgg aatgcactgg	240
gttcgtcagg ctccagagaa ggggctggag tgggtcgcat acagtagtag tggcggtact	300
accgtctact atgcagacac ggtgaaggcc cgactcaccc tctccagaga caattccaag	360
aacaccctgt tcctggaaat gaccagtcta aggtctgagg acacggccat gtattactgt	420

gcaagagcgt cctatgatgg agggtacttt gactgctggg gccaaaggcac ctctctcaca	480
gtctccctcag cccaaacgac accccccatct gtctatccac tggccctgg atctgctgcc	540
caaactaact ccatggtgac cctggatgc	570

<210> 104

<211> 497

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 1.815 light chain variable region polynucleotide

sequence

<400> 104

atccctcttt ccagctctca gagatggaga cagacacact cctgttatgg gtactgtgc	60
tctgggttcc aggttccact ggtgacattt tgctgacaca gtctccgtct tccttagctg	120

tatctctggg gcagagggcc accatctcat gcagggccag caaaagtgtc agtacatctg	180
gctatagttata tataacttgg taccaacaga aaccaggaca gccacccaaa ctcctcatct	240
atctgtcatc cgacctagaa tctgggtcc ctgccagggtt cagtggcagt ggatctgggg	300
cagccttcac cctcaacatc catcctgtgg aggaggagga tgctgcaacc tattactgtc	360
accacagtag ggagcttcca ttcacgttcg gctcgccggac aaagttggaa ataaaacggg	420
ctgatgtgc accaactgta tccatcttcc caccatccag tgagcagtta acatctggag	480

gtgcctcagt cgtgtgc 497

<210> 105

<211> 575

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 1.846 heavy chain variable region polynucleotide sequence

<400> 105

agaggaggca aaccctggat tcccaggicc tcacattcag tgcgtcgcac tgaacacaga	60
ccactcacca tggactccag gtcattttt gtttccctg tccttatttt aaaagggtgc	120
cagtgtaggg tgcagctggg ggagacttgg ggagacttag tgaaggctgg agggccctg	180
aaactctcct gtgcagccctc tggattcaact ttcatgtact atggaaatgca ctggcttcgt	240
caggctccag agaaggggct ggagtgggtt gcatatatta gtatggcag tactaccctc	300

tcctatgcaa acacaatgaa gggccgattc accatctcca gagacaatgc caagaaaacc	360
ctgtccctgc aaatgaccag tctgaggctt gaggacacgg ccatttatta ctgtgcgcgg	420
aaaaattaca acggtggtta cttcgatgtc tggggcacag ggaccacggt caccgtctcc	480
tcagccaaaa caacaccccc atcagtctat ccactggccc ctgggtgtgg agataacaact	540
gtttccctcg tgactctggg atgcctggc aaggg	575

<210> 106

<211> 484

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 1.846 light chain variable region polynucleotide sequence

<400> 106

atccctcttt ccagctctca gagatggaga cagacacact cctgttatgg gtactgctgc	60
tctgggttcc agttccact ggtgacattt tgctgacaca gtctccctgtc tccttagtt	120
tatctctggg gcagagggcc accatctcat gcagggccag caaaagtgtc agtgaatctg	180
gctatagttt tatgcactgg taccaacaga aaccaggaca gccacccaaa ctcctcatct	240
atcttgcattt caaccttagag tctgggttcc ctgccaggtt cagtggcagt gggcttgaa	300
cagacttcac cctcaacatc catcctgtgg aggaggggaa tgctacaacc tattactgtc	360

agcacagtag ggtccttcct cccacgttcg gtcggggac aaagtggaa ataaaacggg 420

ctgatgtgc accaactgta tccatcttcc caccatccag tgagcagttt acatctggag 480

gtgc 484

<210> 107

<211> 535

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 2.78 heavy chain variable region polynucleotide sequence

<400> 107

gacagaggag ccaagccctg gattcccagg tcctcacatt cagtgtatcg cactgaacac 60

agaccactca ccatggactc caggctcaat ttagtttcc ttgtccttat tttaaaaggt 120

gtccagtgtg atgtcagct ggtggagtct gggggaggct tagtgccatcc tggagggtcc 180

cggaaactct cctgtgcagc ctctggattc actttcagta gctttggcat gcactgggtt 240

cgtcaggctc cagagaaggg actggagtgg gtcgcataca ttacttagtgg cagtgggtcc 300

atctactatg cagacacagt gaggggcccga ttcaccatct ccagagacac tcccaagaac 360

accctgttcc tgcagatgac cagtctaagg tctgaggaca cggccatgtt ttactgtgca 420

agatcggctg atggtttggc ctactgggtt caaggaacct cagtcaccgt ctccctcagcc 480

aaaacaacac ccccatcagt ctatccactg gccccgggt gtggagatac aactg 535

<210> 108

<211> 488

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 2.78 light chain variable region polynucleotide sequence

<400> 108

cagcctcaca ctgatcacac acagacatga gtgtggccac tcaggtcctg gggttgctgc 60

tgctgtggct tacagatgcc agatgtgaca tccagatgac tcagtcctca gcctccatat 120

atgtatctgt gggagaaact gtcaccatca catgtcgagc aagtgagaat atttacagta 180

atttagcatg gtatcagcag aaacagggaa aatctcctca gtcctggtc tatggtgc当地 240

caaacttagc agatgggttg ccatcaaggct tcagtgccag tggatcaggc acacagtatt 300

ccctcaagat caacagcctg aagtctgaag attttggag ttattactgt caacatttt 360

gggttactcc attcacgttc ggctcgaaa caaagttgaa aataaaacgg gctgatgctg 420

caccaactgt atccatcttc ccaccatcca gtgagcaggta aacatctgaa ggtgcctcag 480

tcgtgtgc 488

<210> 109

<211> 536

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 2.1029 heavy chain variable region polynucleotide sequence

<400> 109

atctcctcac tagagcccc atcagagcat ggctgtcctg gtgctgttcc tctgcctgg 60

tgcatttcca agtgtgtcc tgtccaggt gcagctgaag gagtcaggac ctggcctgg 120

ggccccccta cagagcctgt ccatcaactg cactgtctct gggtttcat taaccagcta 180

tgggtacac tgggttcgcc agcctccagg aaagggtctg gagtggtgg gagtaatatg 240

ggctgggtgaa agcacaaatt ataattcggc tctcatgtcc agactgagca tcagcaaaga 300

caactccaag agccaagttt tctaaaaat gaacagtctg caaactgatg acacagccat 360

ctacttctgt gccagagatg gcgactacgg tactatctac gctatggact actgggtca 420

aggaacctca gtcaccgtct cctcagccaa aacaacagcc ccatcggtct atccactggc 480

ccctgtgtgt ggagatacaa ctggctcctc ggtgactcta ggatgcctgg tcaagg 536

<210> 110

<211> 487

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 2.1029 light chain variable region polynucleotide sequence

<400> 110

attgaagtca agactcagcc tggacatgtat gtcctctgct cagttccttg gtctcctgtt 60

gctctgtttt caaggtacca gatgtgatccat ccagatgaca cagactacat cctccctgtc 120

tgcctctctg ggagacagag tcaccatcgat ttgcaggca agtcaggaca ttagcaatta 180

tttaaactgg tatcagcaga aaccagatgg aactgttaaa ctcctgatct actacacatc 240

aagattacac tcaggagtcc catcaagggtt cactggcagt gggcttgaa cagattattc	300
tctcaccatt agcaacctgg agcaagaaga tattgccact tactttgcc aacaggtaa	360
aacgcttcct cggacgttcg gtggaggcac catgcggaa atcaaacggg ctgatgtgc	420
accaactgtt tccatcttcc caccatccag tgagcgtta acatctggag gtgcctcagt	480
cgtgtgc	487
<210> 111	
<211> 348	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Synthetic: Humanized Ab (HumAb) 2.78 heavy chain variable region polynucleotide sequence	
<400> 111	
gagggtgcagc tgggtggagag cggcgccggc ctgggtgcagc cggcgccag cctgagactg	60
agctgcgcgc ccagcggctt cacccatcagc agcttcggca tgcactgggt gagacaggcc	120
cccgcaagg gcctggagtg ggtgagctac atcaccagcg gcagcggcgc catctactac	180
gccgacagcg tgaagggcag attcaccatc agcagagaca acgccaagaa cagcctgtac	240
ctgcagatga acagccttag agccgaggac accggcgtgt actactgcgc cagaagcgcc	300
gacggcctgg actactgggg ccagggcacc accgtgaccg tgagcagc	348
<210> 112	
<211> 1425	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Synthetic: HumAb 2.78 heavy chain polynucleotide sequence	
<400> 112	
atgcgtactc tggctatcct tgcagctatt ctgcttgtt cactgcaggc tcaagcggag	60
gtgcagctgg tggagagcgg cggcgccctg gtgcagcccg gcccgcgcct gagactgagc	120
tgcggccca gcccgttac cttcagcagc ttggcatgc actgggttag acaggcccc	180
ggcaaggccc tggagtgggt gagctacatc accagcggca gcccgcgccttactacgcc	240
gacagcgtga agggcagatt caccatcagc agagacaacg ccaagaacag cctgtacctg	300
cagatgaaca gcctgagagc cgaggacacc gccgtgtact actgcgcag aagcggcgcac	360
ggcctggact actggggcca gggcaccacc gtgaccgtga gcagcgatgt gtggggccag	420

ggcaccaccc tgaccgtgag cagcgcgtcg accaagggcc catcggttt cccccctggcg	480
ccctgctcca ggagcaccc tcagagcaca gcggccctgg gtcgcctggt caaggactac	540
ttccccgaac cggtgacggt gtcgtggAAC tcaggcgctc tgaccagcgg cgtgcacacc	600
ttcccggttg tcctacagtc ctcaggactc tactccctca gcagcgtggt gaccgtgacc	660
tccagcaact tcggcaccca gacctacacc tgcaacgttag atcacaagcc cagcaacacc	720
aagggtggaca agacagttGA ggcAAatgt tgtgtcgagt gcccaccgtg cccagcacca	780
cctgtggcag gaccgtcagt ctccctttc cccccaaac ccaaggacac cctcatgtac	840

tcccgaccc ctgaggtcac gtgcgtggtg gtggacgtga gccacgaaga ccccggagtc	900
cagttaact ggtacgtgga cggcatggag gtgcataatg ccaagacaaa gccgcgggag	960
gagcagttca acagcacgtt ccgtgtggtc agcgtctca ccgtcgtgca ccaggactgg	1020
ctgaacggca aggagtacaa gtgcaaggTC tccaacaaAG gcctccCAG cccatcgag	1080
aaaaccatct ccaaaccAA agggcagccc cgagaaccac aggtgtacac cctgccccca	1140
tcccgaggAG agatgaccaa gaaccaggTC agcctgacCT gcctggtaAA aggTTTAC	1200
cccagcGaca tcgcccgtgga gtgggagagc aatgggcAGC cggagaacaa ctacaagacc	1260

acacctccca tgctggactc cgacggctcc ttcttcctct acagcaagct caccgtggac	1320
aagagcaggt ggcagcaggg gAACgtttc tcatgtccg tgatgtcatga ggctctgcac	1380
aaccactaca cacagaagag cctccctg tctccggta aatga	1425

<210> 113

<211> 318

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: HumAb 2.78 light chain variable region polynucleotide sequence

<400> 113

gacatccaga tgaccCAGAG ccccAGCAGC ctgagcGCCA gCgtggcGA cAGAGTgACC	60
atCACCTGCA gAgCCAGCGA gAACATCTAC AGCAACCTGG CCTGGTACCA GcAGAAGCCC	120

ggcaaggccc ccaagctgct gatctacggc gccaccaacc tggccgacgg cgtcccAGC	180
agattcAGCG gcAGCGGcAG cggCACCGAC ttCACCTGA CCACTAGCAG CCTGCAGCCC	240
gaggACTTCG CCACCTACTA CTGCCAGCAC ttCTGGGCA ccccTTcAC CTTGGCCAG	300
ggCACCAAGG TGGAGATC	318

<210> 114

<211> 702

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: HumAb 2.78 light chain polynucleotide sequence

<400> 114

atgaaaatcc tgattctcg ttttcctgtt ctactccagc ttggcagac 60

atccagatga cccagagccc cagcagcctg agcgcacg tggcgacag agtgcaccatc 120

acctgcagag ccagcgagaa catctacagc aacctggcct ggtaccagca gaagccggc 180

aaggccccca agctgctgat ctacggcgcc accaacctgg ccgacggcgt gcccagcaga 240

ttcagcggca gcccggcgg caccgactc accctgacca ttagcagcct gcagcccgag 300

gacttcgcca cctactactg ccagcactc tggggcaccc cttcacctt cggccaggc 360

accaagggtgg agatcaaacg tacggtggtt gcaccatctg tttcatctt cccccatct 420

gatgagcagt tggaaatctgg aactgcctt gttgtgtgcc tgctgaataa cttctatccc 480

agagaggcca aagtacagtgaaggtggat aacgcctcc aatcggtaa ctccaggag 540

agtgtcacag agcaggacag caaggacagc acctacagcc ttagcagcac cctgacgctg 600

agcaaagcag actacgagaa acacaaagtc tacgcctgca aagtccacca ttagggcctg 660

agctcgcccg tcacaagag cttcaacagg ggagagtgtt ga 702

<210> 115

<211> 360

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: HumAb 2.1029 heavy chain variable region

polynucleotide sequence

<400> 115

cagggtgcagc tgcaggagag cggcccccggc ctggtaagc ccagcgagac cctgagcctg 60

acctgcaccc ttagcggctt cagcctgacc agctacggcg tgcactggat cagacagccc 120

cccgcaagg gcctggagt gatcgccgt atctggcccg cgccgacac caactacaac 180

cccagcctga agagcagagt gaccatcagc gtggacacca gcaagaacca gttcagcctg 240

aagctgagca gcgtgaccgc cgccgacacc gccgtgtact actgcgccag agacggcgcac 300

tacggcacca tctacgccc tggactactgg ggccaggca ccctggtgac cgtgagcagc 360

<210> 116

<211> 1437

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: HumAb 2.1029 heavy chain polynucleotide sequence

<400> 116

atgcgtactc tggctatcct tgcagctatt ctgcttggc cactgcaggc tcaagcgcag	60
gtcagctgc aggagagccg ccccgccctg gtgaagccca gcgagaccct gggctgacc	120
tgcaccgtga gcccgttcag cctgaccaggc tacggcgtgc actggatcag acagcccc	180
ggcaagggcc tggagtggat cggcgtgatc tggccggcg gcagcaccaa ctacaacccc	240
agcctaaga gcaagatgac catcagcgtg gacaccaggc agaaccaggc tggctgaa	300
ctgagcagcg tgaccgcgc cgacaccgcgt gtgtactact gggccagaga cggcgtac	360
ggcacccatct acgcatgga ctactgggc cagggcaccc tggtgaccgt gagcagcgt	420

gtgtggggcc agggcaccac cgtgaccgtg agcagcgtc cgaccaaggg cccatcggtc	480
ttccccctgg cccctgctc caggagcacc tccgagagca cagggccctt gggctgcctg	540
gtcaaggact acttccccga accggtgacg gtgtcgatc actcaggcgc tctgaccaggc	600
ggcgtgacaca cctcccgcc tgcctacag tcctcaggac tctactccct cagcagcgt	660
gtgaccgtga cttccagcaa cttccggacc cagacctaca cctgcaacgt agatcacaag	720
cccaagcaaca ccaagggtgga caagacaggc gagcgcataat gttgtgtcga gtgcccaccc	780
tgcctcggcac cacctgtggc aggaccgtca gtcttcctct tcccccaaa acccaaggac	840

accctcatga tctccggac ccctgaggc acgtgcgtgg tggtgacgt gagccacgaa	900
gaccggagg tccagttcaa ctggtaatgt gacggcatgg aggtgcataa tgccaagaca	960
aagccgcggg aggaggcgtt caacagcacc ttccgtgtgg tcagcgtcct caccgtcg	1020
caccaggact ggctgaacgg caaggaggatc aagtgcaggc tctccaaacaa aggctccca	1080
gcccccatcg agaaaaccat ctccaaaacc aaagggcacc cccgagaacc acagggtgtac	1140
accctggccc catccggga ggagatgacc aagaaccagg tcagcgtac ctgcctggc	1200
aaaggcttct accccagcga catcgcgtg gagtggaga gcaatggca gccggagaac	1260

aactacaaga ccacacccatcc catgctggac tccgacggct ctttttcctt ctacagcaag	1320
ctcacccgtgg acaagagcag gtggcagcag gggaaacgtct tctcatgctc cgtatgtcat	1380
gaggctctgc acaaccacta cacacagaag agccttcctt tgcctccggg taaatgt	1437

<210> 117

<211> 318

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: HumAb 2.1029 light chain variable region

polynucleotide sequence

<400> 117

gacatccaga tgacctcagag ccccagcgc ctgagcgca gcgtggcga cagagtgacc	60
atcacctgca gagccagcca ggacatcagc aactacctga actggtagcca gcagaagccc	120

ggcaaggccc ccaagctgct gatctactac accagcagac tgcacagcgg cgtgccagc	180
agattcagcg gcagcggcag cggcaccgac ttcacccca ccatcagcag cctgcagccc	240
gaggacatcg ccacctacta ctgccagcag ggcaagaccc tgcccagaac cttccggcgc	300
ggcaccaagg tggagatc	318

<210> 118

<211> 702

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: HumAb 2.1029 light chain polynucleotide sequence

<400> 118

atgaaaatcc tgattctcg tatcttcctg ttctctgtt ctactccagc ttggcagac	60
atccagatga cccagagccc cagcagcctg agcgccagcg tggcgacag agtgaccatc	120
acctgcagag ccagccagga catcagcaac tacctgaact ggtaccagca gaagccccgc	180
aaggccccca agctgctgat ctactacacc agcagactgc acagcggcgt gcccagcaga	240
ttcagcggca gccgcggcgg caccgacttc accttcacca tcagcgcgc gcagcccgag	300
gacatcgcca cctactactg ccagcaggc aagaccctgc ccagaacctt cggcggcggc	360
accaagggtgg agatcaaacg tacggtggt gcaccatctg tttcatctt cccccatct	420
gatgagcgt tgaatctgg aactgcctct gttgtgtgcc tgctgaataa cttctatccc	480

agagaggcca aagtacagtg gaaggtggat aacgcctcc aatcggtaa ctcccaggag	540
agtgtcacag agcaggacag caaggacago acctacagcc tcaagcgcac cctgacgcgt	600
agcaaagcag actacgagaa acacaaagtc tacgcctgca aagtccacca tcaggcctg	660
agctcgcccg tcacaaagag cttcaacagg ggagagtgtt ga	702

<210> 119

<211> 357

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: HumAb 1.802 heavy chain variable region polynucleotide

sequence

<400> 119

gaggtgcagc tggtgagag cggcgccgc ctggcagc ccggcgccag cctgagactg 60

agctgcgccg ccagcgctt cacccatc gactacggca tgcactgggt gagacaggcc 120

cccggcaagg gcctggatg ggtgagctac atcagcagcg gcagcagaac cgtgtactac 180

gccgacagcg tgaagggcag attcaccatc agcagagaca acgccaagaa cagcctgtac 240

ctgcagatga acagcctgag agacgaggac accgcccgt actactgcgc cagaaagcac 300

tacaacggcg gctacttcga cgtgtgggc cagggcaccc tggtaccgt gagcagc 357

<210> 120

<211> 1434

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: HumAb 1.802 heavy chain polynucleotide sequence

<400> 120

atgcgtactc tggctatcct tgcagctatt ctgcattttt cactgcaggc tcaagcgagg 60

gtgcagctgg tggagagcgg cggcgccctg gtgcagcccg gcccgcgcct gagactgagc 120

tgcgcgcgc gcccgttcac cttcagcgcac tacggcatgc actgggttag acaggcccc 180

ggcaaggccc tggagtgggt gagctacatc agcagcggca gcagaaccgt gtactacgcc 240

gacagcgtga agggcagatt caccatcgc agagacaacg ccaagaacag cctgtacctg 300

cagatgaaca gcctgagaga cgaggacacc gcccgtgtact actgcgcgcg aaagcactac 360

aacggcggt acttcgacgt gtggggccag ggcaccctgg tgaccgttag cagcgatgtg 420

tggggccagg gcaccaccgt gaccgttagc agcgcgtcga ccaaggccc atcggtttc 480

ccccctggcgc cctgctccag gaggacccctc gagagcacag cggccctggg ctgcctggc 540

aaggactact tccccgaacc ggtgacggtg tcgtggact caggcgctt gaccagcggc 600

gtgcacaccc tcccggtgt cctacagtcc tcaggactt actccctcag cagcgtgggt 660

accgtgacct ccagcaactt cggcacccag acctacacct gcaacgtaga tcacaaggccc 720

agcaacacca agtgtggacaa gacagtttag cgcaaattttt gtgtcgagtgc cccaccgtgc 780

ccagcaccac ctgtggcagg accgtcagtc ttccctttcc cccaaaacc caaggacacc 840

ctcatgatct cccggacccc tgaggtcagc tgcgtgggg tggacgttag ccacgaagac 900

cccgagggtcc agttcaactg gtacgtggac ggcataatgc caagacaaag 960

ccgcgggagg agcagttaaa cagcacgttc cgtgtggta gcgtcctcac cgtcgtgcac 1020

caggactggc tgaacggcaa ggagtacaag tgcaaggct ccaacaaagg cctcccgacc	1080
cccatcgaga aaaccatctc caaaaacccaa gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc	1140
ctgccccat cccgggagga gatgaccaag aaccaggtaa gcctgacctg cctggtaaa	1200
ggcttctacc ccagcgacat cgccgtggag tgggagagca atggcagcc ggagaacaac	1260
tacaagacca cacctccat gctggactcc gacggctcct tttccctcta cagcaagctc	1320
accgtggaca agagcaggtg gcagcagggg aacgtttct catgctccgt gatgcata	1380
gctctgcaca accactacac acagaagac ctctccctgt ctccggtaa atga	1434
<210> 121	
<211> 330	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Synthetic: HumAb 1.802 light chain variable region polynucleotide sequence	
<400> 121	
gacatcgta tgaccagag ccccgacagc ctggccgtga gcctggcga gagagccacc	60
atcaactgca gagccagcaa gatcgtagc accagcggt acagctacat gcactggta	120
cagcagaagc cggccagcc cccaaagctg ctgatctacc tggccagcaa cctggagagc	180
ggcgtgccc acagattcag cggcagcggc agcggcacgg acttcacctt gaccatcagc	240
agcctgcagg ccgaggacgt ggccgtgtac tactgccagc acagcagaga gctggccccc	300
accttcggcc agggcaccaa gctggagatc	330
<210> 122	
<211> 714	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Synthetic: HumAb 1.802 light chain polynucleotide sequence	
<400> 122	
atgaaaatcc tgattctcggtatcttcctgtttctctgtt ctactccagc ttggcagac	60
atcgatgatca cccagagccc cgacagcctg gccgtgagcc tggcggagag agccaccatc	120
aactgcagag ccagcaagat cgtgagcacc agcggctaca gctacatgca ctggtaaccag	180
cagaagcccg gccagccccc caagctgtatctacctgg ccagcaacct ggagagcggc	240
gtgccccaca gattcagcgg cagcggcagc ggcaccgact tcaccctgac catcagcagc	300
ctgcaggcccg aggacgtggc cgtgtactac tgccagcaca gcagagagct gccccccacc	360

ttcggccagg gcaccaagct ggagatcaaa cgtacggtgg ctgcaccatc tgtcttcata	420
ttcccgccat ctgatgagca gttgaaatct ggaactgcct ctgttggtg cctgctgaat	480
aacttctatc ccagagaggc caaagtacag tggaaggtgg ataacccct ccaatcggt	540
aactcccagg agagtgtcac agagcaggac agcaaggaca gcacctacag cctcagcagc	600
accctgacgc tgagcaaagc agactacgag aaacacaagat tctacgcctg cgaagtacc	660
catcagggcc tgagctgcc cgtcacaaag agcttcaaca ggggagagtg ttga	714
<210> 123	
<211> 357	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Synthetic: HumAb 1.815 heavy chain variable region polynucleotide sequence	
<400> 123	
caggtgcagc tggggagag cggcgccggc ctggtaagc cggcgccag cctgagactg	60
agctgcgcgg ccagcggtt cacccatcagc gacttcggca tgcactggat cagacaggcc	120
cccgcaagg gcctggatgt ggtgagctac agcagcagcg gggcaccac cgtgtactac	180
gccgacagcg tgaagggcag attaccatc agcagagaca acgccaagaa cagcctgtac	240
ctgcagatga acacgcgttag agccgaggac accggcggtt actactgcgc cagagccagc	300
tacgacggcg gctacttcga ctgctgggc cagggcacca ccgtgaccgt gagcagc	357
<210> 124	
<211> 1434	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Synthetic: HumAb 1.815 heavy chain polynucleotide sequence	
<400> 124	
atgcgtactc tggctatcct tgcagctatt ctgcttggt cactgcaggc tcaagcgac	60
gtgcagctgg tggagagcgg cggcgccctg gtgaagcccg gggcagcct gagactgagc	120
tgcggccca gggcttacat cttcagcgac ttggcatgc actggatcag acaggcccc	180
ggcaaggccc tggagtgggt gagctacagc agcagcggcg gacaccacgt gtactacgcc	240
gacagcgtga agggcagatt caccatcagc agagacaacg ccaagaacag cctgtacctg	300
cagatgaaca gcctgagagc cgaggacacc ggcgtgtact actgcgccag agccagctac	360

gacggcggct acttcgactg ctggggccag ggcaccaccc tgaccgttag cagcgatgtg	420
tggggccagg gcaccaccgt gaccgttagc agcgcgtcga ccaaggccc atcggtttc	480
ccccctggcgc ccttgtccag gggcacctcc gagagcacag cggccctggg ctgcctggc	540
aaggactact tccccgaacc ggtgacggtg tcgttggact caggcgctc gaccagccg	600
gtgcacacct tcccgctgt cctacagtcc tcaggactt actccctcag cagcggtg	660
accgtgacct ccagcaactt cggcacccag acctacaccc gcaacgtaga tcacaagccc	720
agcaacacca aggtggacaa gacagtttag cgcaaatttt gtgtcgagt cccaccgtgc	780
ccagcaccac ctgtggcagg accgtcagtc ttccctttcc cccaaaacc caaggacacc	840
ctcatgatct cccggacccc tgaggtcagc tgctgggtgg tggacgttag ccacgaagac	900
cccgagggtcc agttcaactg gtacgtggac ggcattgggg tgcatatatgc caagacaag	960
ccgcgggagg agcagttcaa cagcacgttc cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcgac	1020
caggactggc tgaacggcaa ggagtacaag tgcaaggctt ccaacaaagg cctccagcc	1080
cccatcgaga aaaccatctc caaaacccaa gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc	1140
ctgccccat cccgggagga gatgaccaag aaccaggtaa gcctgacctg cctggtaaa	1200
ggcttctacc ccagcgacat cgccgtggag tggagagca atgggcagcc ggagaacaac	1260
tacaagacca cacctccat gctggactcc gacggctcct tttccctcta cagcaagctc	1320
accgtggaca agagcaggtg gcagcagggg aacgtttct catgctccgt gatgcatgag	1380
gctctgcaca accactacac acagaagacg ctctccctgt ctccggtaa atga	1434
<210> 125	
<211> 330	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Synthetic: HumAb 1.815 light chain variable region polynucleotide sequence	
<400> 125	
gacatcgtga tgacccagag ccccgacagc ctggccgtga gcctgggcga gagagccacc	60
atcaactgca gagccagcaa gagcgttagc accagcggtt acagctacat ccactggtag	120
cagcagaagc cccggccagcc ccccaagctg ctgtatctacc tggccagcga cctggagagc	180
ggcgtgccc acagatttag cggcagcggc agcggcaccc acttcacccct gaccatcagc	240
acgcctgcagg ccgaggacgt ggccgtgtac tactgccacc acagcagaga gctgcccttc	300
accttcggcc agggcaccaa gctggagatc	330

<210> 126

<211> 714

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: HumAb 1.815 light chain polynucleotide sequence

<400> 126

atgaaaatcc tgattctcg ttttcgtt ctactccagc ttggcagac 60

atcgtatga cccagagccc cgacagcctg gccgtgagcc tggcgagag agccaccatc 120

aactgcagag ccagcaagag cgtgagcacc agcggtaaca gctacatcca ctgttaccag 180

cagaagcccc gccagccccca aagctgctg atctacctgg ccagcgacct ggagagcggc 240

gtgcccgaca gattcagcg cagcgccagg ggcaccgact tcaccctgac catcagecgc 300

ctgcaggccg aggacgtggc cgtgtactac tgccaccaca gcagagagct gcccttacc 360

ttcgccagg gcaccaagct ggagatcaa cgtacggtg ctgcaccatc tgtttcatc 420

ttccgcctat ctgatgagca gttaaaatct ggaactgcct ctgttgtgt cctgctaat 480

aacttctatc ccagagaggc caaagtacag tgaaaggtagtgg ataacgcctt ccaatcggtt 540

aactcccagg agagtgtcac agaggcaggac agcaaggaca gcacccatcag cctcagcaggc 600

accctgacgc tgagcaaagc agactacgag aaacacaaag tctacgcctg cgaagtacc 660

catcagggcc tgagctcgcc cgtcacaaag agttcaaca gggagagtgt ttga 714

<210> 127

<211> 357

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: HumAb 1.846 heavy chain variable region polynucleotide

sequence

<400> 127

gagggtgcagc tgggtggagag cggcgccggc ctgggtgcagc cggcgccag cctgagactg 60

agctgcgcgg ccagcggtt cacccatc gactacggca tgcactgggt gagacaggcc 120

cccgcaagg gcctggagtg ggtgagctac atcagcagcg gcagcaccac cctgagctac 180

gccgacagcg tgaagggcag attcaccatc agcagagaca acgccaagaa cagccgtac 240

ctgcagatga acagcctgag agacgaggac accggcggt actactgcgc cagaaagaac 300

tacaacggcg gctacttcga cgtgtggggc cagggcaccc tggtgaccgt gagcagc 357

<210> 128

<211> 1434

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: HumAb 1.846 heavy chain polynucleotide sequence

<400> 128

atgcgtactc tggctatcct tgcagctatt ctgcttgtg cactgcaggc tcaagcggag	60
gtgcagctgg tggagagcgg cggcgccctg gtgcagcccg gccgcagcct gagactgagc	120
tgcgcccca gcggcttcac cttcagcgac tacggcatgc actgggttag acaggcccc	180
ggcaaggccc tggagtgggt gagctacatc agcagcggca gcaccacccct gagctacgcc	240
gacagcgtga agggcagatt caccatcago agagacaacg ccaagaacag cctgtacctg	300
cagatgaaca gcctgagaga cgaggacacc gccgtgtact actgcgccag aaagaactac	360
aacggcggct acttcgacgt gtggggccag ggcaccctgg tgaccgttag cagcgatgtg	420
tggggccagg gcaccaccgt gaccgtgagc agcgcgtcga ccaagggccc atcggtttc	480
cccccggcgc cctgtccag gagcacctcc gagagcacag cggccctggg ctgcctggc	540
aaggactact tccccgaacc ggtgacggtg tcgtgaaact cagggctct gaccagcggc	600
gtgcacacct tcccgctgt cctacagtcc tcaggactct actcccttag cagcgtggtg	660
accgtgacct ccagcaactt cggcacccag acctacacct gcaacgtaga tcacaagccc	720
agcaacacca aggtggacaa gacagtttag cgcaaatttt gtgtcgagtg cccaccgtgc	780
ccagcaccac ctgtggcagg accgtcagtc ttccctttcc cccaaaacc caaggacacc	840
ctcatgatct cccggacccc tgaggtcagc tgcgtggtag tggacgttag ccacgaagac	900
cccgagggtcc agttcaactg gtacgtggac ggcattggagg tgcataatgc caagacaaag	960
ccgcgggagg agcagttcaa cagcacgttc cgtgtggtaa gctcctcac cgtcgtgcac	1020
caggactggc tgaacggcaa ggagtacaag tgcaaggctt ccaacaaagg cctcccgacc	1080
cccatcgaga aaaccatctc caaaacaaa gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc	1140
ctgccccat cccggagga gatgaccaag aaccaggtaa gcctgacctg cctggtaaa	1200
ggcttctacc ccagcgacat cgccgtggag tggagagca atggcagcc ggagaacaac	1260
tacaagacca cacctccat gctggactcc gacggctcct tttccctcta cagcaagctc	1320
accgtggaca agagcagggtg gcagcagggg aacgtttct catgctccgt gatgcgttag	1380
gctctgcaca accactacac acagaagacg ctctccctgt ctccggtaa atga	1434

<210> 129

<211> 330

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: HumAb 1.846 light chain variable region polynucleotide sequence

<400> 129

gacatcgta	tgacccagag	ccccgacagc	ctggccgtga	gcctggcga	gagagccacc	60
atcaactgca	gagccagcaa	gagcgtgagc	gagagcggct	acagctacat	gcactggta	120

cagcagaagc	ccggccagcc	ccccaaagctg	ctgatctacc	tggccagcaa	cctggagagc	180
ggcgtgcccg	acagattcag	ccgcagcggc	agcggcaccg	acttcacccct	gaccatcagc	240
agcctgcagg	ccgaggacgt	ggccgtgtac	tactgccagc	acagcagagt	gctgcccccc	300
accttggcc	aggcaccaa	gctggagatc				330

<210> 130

<211> 714

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: HumAb 1.846 light chain polynucleotide sequence

<400> 130

atgaaaatcc	tgattctcggtatcttcctg	tttctctgtt	ctactccagc	ttggcagac	60
------------	----------------------	------------	------------	-----------	----

atcgtgatga	cccagagccc	cgacagccctg	gccgtgagcc	tggcgagag	agccaccatc	120
aactgcagag	ccagcaagag	cgtgagcggag	agcggctaca	gctacatgca	ctggtaccag	180
cagaagcccg	gccagccccc	caagctgctg	atctacctgg	ccagcaacct	ggagagcggc	240
gtgcccaca	gattcagcgg	cagcggcagc	ggcaccgact	tcaccctgac	catcagcagc	300
ctgcaggcccg	aggacgtggc	cgtgtactac	tgccagcaca	gcagagtgt	gccccccacc	360
ttcgccagg	gcaccaagct	ggagatcaaa	cgtacggtgg	ctgcaccatc	tgtcttcatc	420
ttcccgccat	ctgatgagca	gttgaatct	ggaactgcct	ctgttgtgt	cctgctaat	480

aacttctatc	ccagagaggc	caaagtacag	tggaagggtgg	ataacgcctt	ccaatcggtt	540
aactcccgagg	agagtgtcac	agagcaggac	agcaaggaca	gcacctacag	cctcagcagc	600
accctgacgc	ttagcaaagc	agactacgag	aaacacaaag	tctacgcctg	cgaagtacc	660
catcaggccc	ttagctgccc	cgtcacaaag	agcttcaaca	ggggagagtg	ttga	714

<210> 131

<211> 496

<212> PRT

<213> Cynomolgus monkey

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(496)

<223> Cynomolgus monkey NOTUM

<400> 131

Met Gly Arg Gly Val Arg Val Leu Leu Leu Leu Gly Leu Leu His Cys

1 5 10 15

Ala Gly Gly Ser Glu Gly Arg Lys Thr Trp Arg Arg Gly Gln Gln

20 25 30

Pro Pro Pro Pro Pro Arg Thr Glu Ala Ala Pro Ala Ala Gly Gln Pro

35 40 45

Val Glu Ser Phe Pro Leu Asp Phe Thr Ala Val Glu Gly Asn Met Asp

50 55 60

Ser Phe Met Ala Gln Val Lys Ser Leu Ala Gln Ser Leu Tyr Pro Cys

65 70 75 80

Ser Ala Gln Gln Leu Asn Glu Asp Leu Arg Leu His Leu Leu Asn

85 90 95

Thr Ser Val Thr Cys Asn Asp Gly Ser Pro Ala Gly Tyr Tyr Leu Lys

100 105 110

Glu Ser Arg Gly Ser Arg Arg Trp Leu Leu Phe Leu Glu Gly Gly Trp

115 120 125

Tyr Cys Phe Asn Arg Glu Asn Cys Asp Ser Arg Tyr Asn Thr Met Arg

130 135 140

Arg Leu Met Ser Ser Arg Asp Trp Pro Arg Thr Arg Thr Gly Thr Gly

145 150 155 160

Ile Leu Ser Ser Gln Pro Glu Glu Asn Pro Tyr Trp Trp Asn Ala Asn

165 170 175

Met Val Phe Ile Pro Tyr Cys Ser Ser Asp Val Trp Ser Gly Ala Ser

180 185 190

Ser Lys Ser Glu Lys Asn Glu Tyr Ala Phe Met Gly Ala Leu Ile Ile

195 200 205

Gln Glu Val Val Arg Glu Leu Leu Gly Arg Gly Leu Ser Gly Ala Lys
 210 215 220
 Val Leu Leu Leu Ala Gly Ser Ser Ala Gly Gly Thr Gly Val Leu Leu
 225 230 235 240
 Asn Val Asp Arg Val Ala Glu Gln Leu Glu Glu Leu Gly Tyr Pro Ala
 245 250 255
 Ile Gln Val Arg Gly Leu Ala Asp Ser Gly Trp Phe Leu Asn Lys
 260 265 270
 Gln Tyr Arg His Thr Asp Cys Val Asp Thr Ile Thr Cys Ala Pro Thr
 275 280 285
 Glu Ala Ile Arg Arg Gly Ile Arg Tyr Trp Asn Gly Val Val Pro Glu
 290 295 300
 Arg Cys Arg Arg Gln Phe Gln Glu Gly Glu Trp Asn Cys Phe Phe
 305 310 315 320
 Gly Tyr Lys Ile Tyr Pro Thr Leu Arg Cys Pro Val Phe Val Val Gln
 325 330 335
 Trp Leu Phe Asp Glu Ala Gln Leu Thr Val Asp Asn Val His Leu Thr
 340 345 350
 Gly Gln Pro Val Gln Glu Ser Gln Arg Leu Tyr Ile Gln Asn Leu Gly
 355 360 365
 Arg Glu Leu Arg His Thr Leu Lys Asp Val Pro Ala Ser Phe Ala Pro
 370 375 380
 Ala Cys Leu Ser His Glu Ile Ile Arg Ser His Trp Thr Asp Val
 385 390 395 400
 Gln Val Lys Gly Thr Ser Leu Pro Arg Ala Leu His Cys Trp Asp Arg
 405 410 415
 Ser Leu His Asp Ser His Lys Thr Ser Lys Thr Pro Leu Lys Gly Cys
 420 425 430
 Pro Val His Leu Val Asp Ser Cys Pro Trp Pro His Cys Asn Pro Ser
 435 440 445
 Cys Pro Thr Val Arg Asp Gln Phe Thr Gly Gln Glu Met Asn Val Ala

450	455	460	
Gln Phe Leu Met His Met Gly Phe Asp Val Gln Thr Val Ala Gln Gln			
465	470	475	480
Gln Gly Pro Glu Pro Ser Lys Leu Leu Gly Leu Pro Ser Asp Gly Ser			
485	490	495	