

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0109785

(43) 공개일자 2023년07월20일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/40 (2006.01) A61K 39/00 (2006.01)
A61P 27/02 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
C07K 16/40 (2013.01)
A61P 27/02 (2018.01)
- (21) 출원번호 10-2023-7023504(분할)
- (22) 출원일자(국제) 2015년03월26일
심사청구일자 없음
- (62) 원출원 특허 10-2016-7029832
원출원일자(국제) 2015년03월26일
심사청구일자 2020년03월25일
- (85) 번역문제출일자 2023년07월11일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2015/022715
- (87) 국제공개번호 WO 2015/148790
국제공개일자 2015년10월01일
- (30) 우선권주장
61/971,170 2014년03월27일 미국(US)

- (71) 출원인
다케다 파머수티컬 컴패니 리미티드
일본 오사카시 주오구 도쇼마찌 4 조메 1-1
- (72) 발명자
콘리, 그레고리, 피.
미국 매사추세츠주 02474 알링턴 프리몬트 스트리트 73
섹스톤, 다니엘, 제이.
미국 매사추세츠주 02176 멜로즈 마빈 로드 59
닉슨, 앤드류
미국 매사추세츠주 02339 하노버 에버그린 레인 41
- (74) 대리인
특허법인아주김장리

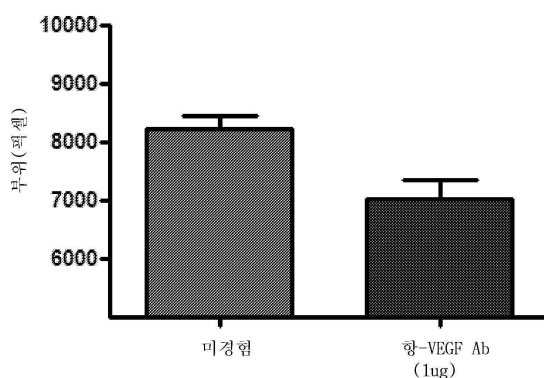
전체 청구항 수 : 총 37 항

(54) 발명의 명칭 당뇨병성 황반 부종의 치료를 위한 조성물 및 방법

(57) 요약

활성 혈장 칼리크레인(예를 들어, 인간 혈장 칼리크레인)에 특이적으로 결합하는 하나 이상의 항체를 포함하는 조성물 및 망막 질환, 예컨대 당뇨병성 황반 부종의 치료를 위해 이러한 조성물을 사용하는 방법이 본 명세서에 개시되어 있다.

대표도 - 도1a



(52) CPC특허분류

A61K 2039/505 (2013.01)

C07K 2317/30 (2013.01)

C07K 2317/55 (2013.01)

C07K 2317/76 (2013.01)

C07K 2317/92 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

대상체에서 망막 질환을 치료하는 방법으로서,

활성 혈장 칼리크레인(active plasma kallikrein: PKa1)에 특이적으로 결합하는 항체를 포함하는 조성물의 유효량을 망막 질환의 치료를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 망막 질환을 치료하는 방법.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 망막 질환은 당뇨병성 황반 부종(diabetic macular edema: DME), 연령 관련 황반 변성(age-related macular degeneration: AMD), 망막 정맥 폐쇄(retinal vein occlusion: RVO), 포도막염, 내안구염 또는 폴립모양 맥락막 혈관병(endophthalmitis, or polypoidal choroidal vasculopathy: PCV)으로 이루어진 군으로부터 선택된, 대상체에서 망막 질환을 치료하는 방법.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 망막 질환은 당뇨병성 황반 부종인, 대상체에서 망막 질환을 치료하는 방법.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 인간 프리칼리크레인에 결합하지 않는, 대상체에서 망막 질환을 치료하는 방법.

청구항 5

제4항에 있어서, 상기 항체는 인간 PKa1의 촉매 도메인에 특이적으로 결합하는, 대상체에서 망막 질환을 치료하는 방법.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 상기 활성 인간 PKa1에서 하나 이상의 아미노산 잔기와 상호작용하고, 이의 활성을 적어도 50% 저해하고, 상기 아미노산 잔기는 V410, L412, T413, A414, Q415, R416, L418, C419, H434, C435, F436, D437, G438, L439, W445, Y475, K476, V477, S478, E479, G480, D483, F524, E527, K528, Y552, D554, Y555, A564, D572, A573, C574, K575, G576, S578, T596, S597, W598, G599, E600, G601, C602, A603, R604, Q607, P608, G609, V610 및 Y611로 이루어진 군으로부터 선택된, 대상체에서 망막 질환을 치료하는 방법.

청구항 7

제6항에 있어서, 상기 항체는 상기 활성 인간 PKa1의 에피토프에 결합하고, 상기 에피토프는

- (i) V410-C419,
- (ii) H434-L439,
- (iii) Y475-G480,
- (iv) F524-K528,
- (v) Y552-Y555,
- (vi) D572-S578,
- (vii) T596-R604, 및

(viii) Q607-Y611로 이루어진 군으로부터 선택된 분절을 포함하는, 대상체에서 망막 질환을 치료하는 방법.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 상기 활성 PKa1의 활성을 적어도 80% 저해하는, 대상체에서 망막 질환을 치료하는 방법.

청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 약 1nM 미만의 겔보기 $K_i(K_{i, \text{겔보기}})$ 를 가지는, 대상체에서 망막 질환을 치료하는 방법.

청구항 10

제9항에 있어서, 상기 항체는 약 0.1nM 미만의 $K_{i, \text{겔보기}}$ 를 가지는, 대상체에서 망막 질환을 치료하는 방법.

청구항 11

제10항에 있어서, 상기 항체는 약 0.05nM 미만의 $K_{i, \text{겔보기}}$ 를 가지는, 대상체에서 망막 질환을 치료하는 방법.

청구항 12

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 10^{-6} M 미만의 활성 PKa1에 대한 결합 친화도(K_D)를 가지는, 대상체에서 망막 질환을 치료하는 방법.

청구항 13

제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 R551, Q553, Y555, T558 및 R560 위치에서 하나 이상의 돌연변이를 함유하는 활성 PKa1의 돌연변이체에 비해 상기 활성 PKa1에 우선적으로 결합하는, 대상체에서 망막 질환을 치료하는 방법.

청구항 14

제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 상보성 결정 영역 1(HC CDR1), 상보성 결정 영역 2(HC CDR2) 및 상보성 결정 영역 3(HC CDR3)을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함하고, 상기 HC CDR3은 모티프 $X_{99}R_{100}X_{101}G_{102}X_{103}P_{104}R_{105}X_{106}X_{107}X_{108}X_{109}X_{110}X_{111}$ 을 포함하고, 여기서

X_{99} 는 R 또는 Q이고,

X_{101} 은 T, I, R, S 또는 P이며,

X_{103} 은 V, I 또는 L이고,

X_{106} 은 R 또는 W이며,

X_{107} 은 D 또는 N이고,

X_{108} 은 A, S, D, E 또는 V이며,

X_{109} 는 F 또는 L이고,

X_{110} 은 D, E 또는 N이며,

X_{111} 은 I, N, M 또는 S인, 대상체에서 망막 질환을 치료하는 방법.

청구항 15

제14항에 있어서, X_{99} 는 Q이고, X_{101} 은 I, R, S 또는 P인, 대상체에서 망막 질환을 치료하는 방법.

청구항 16

제14항 또는 제15항에 있어서, X_{106} 은 W이고, X_{111} 은 N, M 또는 S인, 대상체에서 망막 질환을 치료하는 방법.

청구항 17

제14항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서, X_{101} 은 I이고, X_{108} 은 E이며, X_{103} 은 I 또는 L인, 대상체에서 망막 질환을 치료하는 방법.

청구항 18

제14항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서, X_{101} 은 I이고, X_{103} 은 I 또는 L인, 대상체에서 망막 질환을 치료하는 방법.

청구항 19

제14항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서, X_{103} 은 I 또는 L이고, X_{110} 은 D, E 또는 N인, 대상체에서 망막 질환을 치료하는 방법.

청구항 20

제14항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 중쇄 가변 영역은 HC CDR1에서의 H_{31} 을 포함하는, 대상체에서 망막 질환을 치료하는 방법.

청구항 21

제14항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 중쇄 가변 영역은 프레임워크 영역 1(FR1)에서 F_{27} , F_{29} , 또는 둘 다를 포함하는, 대상체에서 망막 질환을 치료하는 방법.

청구항 22

제14항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 상보성 결정 영역 1(LC CDR1), 상보성 결정 영역 2(LC CDR2) 및 상보성 결정 영역 3(LC CDR3)을 포함하는 경쇄 가변 영역을 추가로 포함하는, 대상체에서 망막 질환을 치료하는 방법.

청구항 23

제22항에 있어서, 상기 LC CDR2는 K_{50} , L_{54} , E_{55} , S_{56} , 또는 이들의 조합을 포함하는, 대상체에서 망막 질환을 치료하는 방법.

청구항 24

제23항에 있어서, 상기 경쇄 가변 영역은 프레임워크 영역 3(FR3)에서의 G_{57} 을 추가로 포함하는, 대상체에서 망막 질환을 치료하는 방법.

청구항 25

제22항 내지 제24항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 경쇄 가변은 프레임워크 영역 2(FR2)에서의 N_{45} 를 포함하는, 대상체에서 망막 질환을 치료하는 방법.

청구항 26

제1항 내지 제25항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 DX-2930의 중쇄(HC) CDR1, HC CDR2 및 HC CDR3 및 DX-2930의 경쇄(LC) CDR1, LC CDR2 및 LC CDR3을 포함하는, 대상체에서 망막 질환을 치료하는 방법.

청구항 27

제26항에 있어서, 상기 항체는 DX-2930의 HC 가변 도메인 및 DX-2930의 LC 가변 도메인을 포함하는, 대상체에서

망막 질환을 치료하는 방법.

청구항 28

제1항 내지 제27항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 전장 항체 또는 이의 항원 결합 단편인, 대상체에서 망막 질환을 치료하는 방법.

청구항 29

제27항 또는 제28항에 있어서, 상기 항체는 Fab인, 대상체에서 망막 질환을 치료하는 방법.

청구항 30

제1항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 인간 항체 또는 인간화 항체인, 대상체에서 망막 질환을 치료하는 방법.

청구항 31

제1항 내지 제30항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 조성물은 유리체내 주사를 통해 투여되는, 대상체에서 망막 질환을 치료하는 방법.

청구항 32

제1항 내지 제31항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 DX-2930과 동일한 에피토프에 결합하거나, DX-2930과 상기 활성 PKa1에 대한 결합에 경쟁하는, 대상체에서 망막 질환을 치료하는 방법.

청구항 33

제1항 내지 제32항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 서열 번호 3에 기재된 중쇄 가변 영역 및 서열 번호 4에 기재된 경쇄 가변 영역을 포함하는 Fab인, 대상체에서 망막 질환을 치료하는 방법.

청구항 34

활성 혈장 칼리크레인(PKa1)에 특이적으로 결합하는 항체 및 약학적으로 허용되는 담체를 포함하는, 망막 질환을 치료하는 데 사용하기 위한, 약제학적 조성물.

청구항 35

제34항에 있어서, 상기 망막 질환은 당뇨병성 황반 부종(DME), 연령 관련 황반 변성(AMD), 망막 정맥 폐쇄(RVO), 포도막염, 내안구염 또는 폴립모양 맥락막 혈관병(PCV)인, 약제학적 조성물.

청구항 36

망막 질환을 치료하는 데 사용하기 위한 약제를 제조하는 데 있어서의, 활성 혈장 칼리크레인(PKa1)에 특이적으로 결합하는 항체의 용도.

청구항 37

제36항에 있어서, 상기 망막 질환은 당뇨병성 황반 부종(DME), 연령 관련 황반 변성(AMD), 망막 정맥 폐쇄(RVO), 포도막염, 내안구염 또는 폴립모양 맥락막 혈관병(PCV)인, 용도.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 관련 출원에 대한 상호 참조

[0002] 본 출원은 2014년 3월 27일자로 출원된 미국 가출원 제61/971,170호(본 명세서에서 그 전문이 참고로 포함됨)의 35 U.S.C. § 119(e) 하의 이익을 주장한다.

배경 기술

[0003] 망막 질환은 중앙 시야를 제공하는 망막의 부위에 영향을 미친다. 많은 망막 질환은 공통의 증상을 공유하지만, 각각 독특한 특징을 가진다.

[0004] 당뇨병성 황반 부종(diabetic macular edema: DME)은 당뇨병을 앓는 환자에서 생기는 망막 혈관 누수에 의해 생기는 황반의 팽윤이다. DME는 당뇨병성 망막병증을 앓는 사람에서 실명의 주요 원인이다. 당뇨병을 앓는 사람은 그들의 삶 동안 DME를 발생시킬 위험을 10% 가진다. DME는 20년 이상 동안 당뇨병을 앓는 사람의 30%까지 영향을 미친다. 치료하지 않은 채 방치하면, DME는 중등도 내지는 중증의 실명을 발생시킬 수 있다.

발명의 내용

[0005] 본 개시내용은, 부분적으로, 당뇨병성 황반 부종 및 망막 질환의 동물 모델이 활성 PKa1에 결합하는 Fab 항체인 DX-2944에 의해 치료될 수 있다는 것을 보여주는 연구에 기초한다.

[0006] 본 개시내용의 몇몇 양태는 대상체에서 망막 질환, 예컨대 당뇨병성 황반 부종(DME), 연령 관련 황반 변성, 망막 정맥 폐쇄, 포도막염, 내안구염, 폴립모양 맥락막 혈관병(polypoidal choroidal vasculopathy: PCV) 또는 황반 부종에 의해 제시되는 임의의 다른 망막 질환을 치료하는 방법에 관한 것이고, 상기 방법은 이를 필요로 하는 대상체에게 활성 혈장 칼리크레인(active plasma kallikrein: PKa1)에 특이적으로 결합하는 항체를 포함하는 조성물의 유효량을 (예를 들어, 유리체내 주사, 안와내 주사 또는 피하 주사를 통해) 투여하는 단계를 포함한다.

[0007] 몇몇 실시형태에서, 항체는 인간 프리칼리크레인에 결합하지 않는다. 몇몇 실시형태에서, 항체는 인간 PKa1의 촉매 도메인에 특이적으로 결합한다. 몇몇 실시형태에서, 항체는 활성 인간 PKa1에서 하나 이상의 아미노산 잔기와 상호작용하고, 이의 활성을 적어도 50% 저해한다. 하나 이상의 아미노산 잔기는 V410, L412, T413, A414, Q415, R416, L418, C419, H434, C435, F436, D437, G438, L439, W445, Y475, K476, V477, S478, E479, G480, D483, F524, E527, K528, Y552, D554, Y555, A564, D572, A573, C574, K575, G576, S578, T596, S597, W598, G599, E600, G601, C602, A603, R604, Q607, P608, G609, V610 및 Y611 중 하나 이상일 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 항체는 V410-C419, H434-L439, Y475-G480, F524-K528, Y552-Y555, D572-S578, T596-R604 또는 Q607-Y611의 분절을 포함하는 에피토프에 결합한다.

[0008] 몇몇 실시형태에서, 항체는 활성 PKa1의 활성을 적어도 80% 저해한다. 몇몇 실시형태에서, 항체는 약 1nM 미만의 겉보기 K_i ($K_{i, 겉보기}$)를 가진다. 몇몇 실시형태에서, 항체는 약 0.1nM 미만의 $K_{i, 겉보기}$ 를 가진다. 몇몇 실시형태에서, 항체는 약 0.05nM 미만의 $K_{i, 겉보기}$ 를 가진다. 몇몇 실시형태에서, 항체는 10^{-6} M 미만의 활성 PKa1에 대한 결합 친화도(K_D)를 가진다. 몇몇 실시형태에서, 항체는 R551, Q553, Y555, T558 및 R560 위치에서 하나 이상의 돌연변이를 함유하는 활성 PKa1의 돌연변이체에 비해 활성 PKa1에 우선적으로 결합한다.

[0009] 몇몇 실시형태에서, 항체는 상보성 결정 영역 1(HC CDR1), 상보성 결정 영역 2(HC CDR2) 및 상보성 결정 영역 3(HC CDR3)을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함하고, HC CDR3은 모티프 $X_{99}R_{100}X_{101}G_{102}X_{103}P_{104}R_{105}X_{106}X_{107}X_{108}X_{109}X_{110}X_{111}$ 을 포함하고, 여기서 X_{99} 는 R 또는 Q이고; X_{101} 은 T, I, R, S 또는 P이며; X_{103} 은 V, I 또는 L이고; X_{106} 은 R 또는 W이며; X_{107} 은 D 또는 N이고; X_{108} 은 A, S, D, E 또는 V이며; X_{109} F 또는 L이고; X_{110} 은 D, E 또는 N이며, X_{111} 은 I, N, M 또는 S이다(서열 번호 15). 몇몇 실시형태에서, X_{99} 는 Q이고, X_{101} 은 I, R, S 또는 P이다. 몇몇 실시형태에서, X_{106} 은 W이고, X_{111} 은 N, M 또는 S이다. 몇몇 실시형태에서, X_{101} 은 I이고, X_{108} 은 E이며, X_{103} 은 I 또는 L이다. 몇몇 실시형태에서, X_{101} 은 I이고, X_{103} 은 I 또는 L이다. 몇몇 실시형태에서, X_{103} 은 I 또는 L이고, X_{110} 은 D, E 또는 N이다. 몇몇 실시형태에서, 중쇄 가변 영역은 HC CDR1에서 H_{31} 을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 중쇄 가변 영역은 프레임워크 영역 1(FR1)에서 F_{27} , F_{29} , 또는 둘 다를 포함한다.

[0010] 몇몇 실시형태에서, 항체는 상보성 결정 영역 1(LC CDR1), 상보성 결정 영역 2(LC CDR2) 및 상보성 결정 영역 3(LC CDR3)을 포함하는 경쇄 가변 영역을 추가로 포함한다. 몇몇 실시형태에서, LC CDR2는 K_{50} , L_{54} , E_{55} , S_{56} , 또는 이들의 조합을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 경쇄 가변 영역은 프레임워크 영역 3(FR3)에서 G_{57} 을 추가로 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 경쇄 가변은 프레임워크 영역 2(FR2)에서 N_{45} 또는 K_{45} 를 포함한다.

[0011] 몇몇 실시형태에서, 항체는 DX-2944와 동일한 에피토프에 결합하거나, DX-2944와 활성 PKa1에 대한 결합에 대해

경쟁한다. 이러한 항체는 DX-2930의 중쇄(HC) CDR1, HC CDR2 및 HC CDR3 및 DX-2930의 경쇄(LC) CDR1, LC CDR2 및 LC CDR3을 포함할 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 항체는 DX-2930의 HC 가변 도메인(서열 번호 3) 및 DX-2930의 LC 가변 도메인(서열 번호 4)을 포함한다. 일 예에서, 항체는 DX-2944이다.

[0012] 본 명세서에 기재된 임의의 방법에서, 항체는 전장 항체 또는 이의 항원 결합 단편일 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 항체는 Fab이다. 몇몇 실시형태에서, 항체는 인간 항체 또는 인간화 항체이다.

[0013] (i) 활성 PKa1에 결합하는 하나 이상의 항체(예를 들어, 본 명세서에 기재된 것) 및 약학적으로 허용되는 담체를 포함하는, 망막 질환(예를 들어, DME, AMD, RVO, 포도막염, 내안구염 또는 PCV)을 치료하는 데 사용하기 위한 약제학적 조성물, 및 (ii) 망막 질환을 치료하는 데 사용하기 위한 약제의 제조를 위한 이러한 조성물 또는 항체의 용도가 또한 본 개시내용의 범위 내에 있다.

[0014] 본 발명의 하나 이상의 실시형태의 상세내용이 하기 설명에 기재되어 있다. 본 발명의 다른 특징 또는 이점은 하기 도면 및 몇몇 실시형태의 상세한 설명, 및 또한 첨부된 청구항으로부터 명확할 것이다.

도면의 간단한 설명

[0015] 하기 도면은 본 명세서의 일부를 형성하고, 본 개시내용의 소정의 양태를 추가로 나타내도록 포함되고, 이 양태는 본 명세서에 제시된 특정한 실시형태의 상세한 설명과 함께 도면 중 하나 이상을 참조하여 더 잘 이해될 수 있다.

도 1a는 항-VEGF 항체(n = 5, t 시험에 의해 $p < 0.05$)의 안와내 주사에 의해 치료된 동물에서 플루오레세인 혈관조영검사 신호의 감소를 나타낸다.

도 1b는 시험 물질군(t 시험에 의해 $p < 0.05$)에 대해 비히클 군(n = 4)에 대한 DX-2944(n = 3)에 의해 치료된 동물에서 유사한 신호의 감소를 나타낸다.

도 2a는 NaCl 비히클에 의해 치료된 브라운 노르웨이 래트에서 레이저 유도된 CNV 치료 후 예시적인 눈의 사진을 나타낸다.

도 2b는 DX-2944에 의해 치료된 브라운 노르웨이 래트에서 레이저 유도된 CNV 후 예시적인 눈의 사진을 나타낸다.

도 3은, DX2930이 유래한 M0162-A04인, 모 항체의 중쇄 가변 영역(VH) 및 경쇄 가변 영역(VL)의 아미노산 서열, 및 표시된 바대로 상응하는 생식선 VH 및 VL 유전자와의 이의 정렬을 나타낸다. 생식선 서열과 비교되는 M0162-A04의 변이가 표시되어 있다(볼드체). 도 3에서의 서열은, 상부로부터 하부로, 서열 번호 16-18(경쇄 V 유전자) 및 서열 번호 19-21에 상응한다.

도 4는 인간 혈장 칼리크레인의 촉매 도메인(전장 인간 PKa1의 391-638번 잔기)의 아미노산 서열(서열 번호 22)을 나타낸다. 볼드체 및 밑줄 친 잔기는 하기 실시예 2에 기재된 결정 구조에 의해 확인된 바대로 DX2930의 Fab 단편과의 상호작용에서 관여하는 것이다.

도 5a-도 5d는, X135-A01 및 X135-A03(도 5a), M162-A04 및 X133-B02(도 5b), X133-D06 및 X133-F10(도 5c) 및 X133-G05 및 M199-A08(도 5d)을 포함하는, 인간 PKa1에 대한 M0162-A04로부터 유래한 다수의 항체 돌연변이체의 겔보기 K_i (K_i , 겔보기)를 나타내는 일련의 그래프이다.

도 6은 야생형 PKa1 및 다수의 PKa1 돌연변이체에 대한 돌연변이체 X115-F02(하기 표 2 참조)의 겔보기 K_i (K_i , 겔보기)를 나타내는 일련의 그래프이다.

도 7a-도 7b는 피치아 세포에서 생성된 다수의 PKa1 돌연변이체(촉매 도메인)의 아미노산 서열을 나타낸다. 서열은, 상부로부터 하부로, 서열 번호 23-27에 상응한다.

도 8은 15일에 브라운 노르웨이 래트에서 레이저 CNV에 대한 항-VEGF 양성 대조군과 비교된 DX-2944의 영향을 나타낸다. 항-VEGF 항체의 안와내 주사에 의해 치료된 동물에서 플루오레세인 혈관조영검사 신호에 의해 관찰된 감소는 DX-2944에 의해 치료된 동물에 의해 관찰된 신호의 감소에 필적하다(n = 7, 시험에 의해 $p < 0.05$).

도 9는 22일에 브라운 노르웨이 래트에서 레이저 CNV에 대한 항-VEGF 양성 대조군과 비교된 DX-2944의 영향을 나타낸다. 항-VEGF 항체의 안와내 주사에 의해 치료된 동물에서 플루오레세인 혈관조영검사 신호에 의해 관찰된 감소는 DX-2944에 의해 치료된 동물에 의해 관찰된 신호의 감소에 필적하다(n = 7, 시험에 의해 $p < 0.05$).

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0016] 수백만 명의 사람들이 눈의 안쪽 뒤에 이어지는 조직의 연약한 층이 손상되어 눈에 빛 신호를 보내는 능력을 감소시키는 망막 질환으로 인해 다양한 정도의 실명을 겪는다. 망막 질환은 유전 관련 및 연령 관련 인자 및 다른 질환, 예컨대 당뇨병을 포함하는 다양한 인자에 의해 야기된다. 당뇨병성 망막병증은 I형 또는 II형 당뇨병인 당뇨병을 가지는 사람에서 생기는 병증이다. 당뇨병성 망막병증은 망막의 미소혈관계에 대한 고혈당증 유도된 손상의 결과인 것으로 생각된다. 이 손상은 망막 혈관이 더 영향받기 쉽게 한다. 몇몇 경우에, 손상된 혈관은 유체, 단백질 및/또는 지질을 황반으로 누수하고, 이것은 황반이 팽윤하고 두꺼워지게 한다. 황반의 팽윤 및 두꺼워짐은 당뇨병성 황반 부종(DME)이라 칭해진다. DME의 증상은 혼탁한 시야, 시야 왜곡 및 시야에서의 점(때때로 "부유물"이라 칭해짐)을 포함한다.
- [0017] DME에 대한 표준 치료는 레이저 광응고법이다. 이 치료는 말초 시야 및/또는 암시야의 부분 손실을 포함하는 원치 않는 부작용을 가진다.
- [0018] 본 개시내용은, 부분적으로, 활성 혈장 칼리크레인(PK₁)에 결합하는 항체가 망막 질환, 예컨대 DME, AMD, RVO, 포도막염, 내안구염 또는 PCV의 동물 모델에서 치료학적으로 효과적이라는 것을 보여주는 연구에 기초한다. 따라서, 몇몇 양태에서 본 개시내용은 활성 PK₁(예를 들어, 활성 인간 PK₁)에 결합할 수 있는 항체를 사용한 망막 질환, 예컨대 DME, AMD, RVO, 포도막염, 내안구염 또는 PCV의 치료를 위한 조성물 및 방법에 관한 것이다.
- [0019] **활성 PK₁에 결합하는 항체**
- [0020] 본 개시내용은 활성 PK₁, 예를 들어 PK₁의 촉매 도메인에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공한다. 몇몇 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 항체는 프리칼리크레인(예를 들어, 인간 프리칼리크레인)에 결합하지 않는다.
- [0021] 혈장 칼리크레인은 접착 시스템의 세린 프로테아제 성분이다(Sainz I. M. et al., Thromb Haemost 98, 77-83, 2007). 접착 시스템은 프롤릴카복시펩티다제에 의해 내피 세포 표면 상의 또는 외재 또는 음으로 하전된 표면에 대한 노출 시 XIIa 인자에 의해 활성화된다(Sainz I. M. et al., Thromb Haemost 98, 77-83, 2007). 혈장 칼리크레인의 활성화는 XII 인자의 피드백 활성화를 통해 내재 응고를 증폭시키고, 전염증성 노나넵타이드 브라디키닌의 생성을 통해 염증을 증대시킨다. 순환 시 주요 키니노게나제로서, 혈장 칼리크레인은 주로 맥관구조에서 브라디키닌의 생성을 담당한다.
- [0022] 예시적인 혈장 칼리크레인 서열은 인간, 마우스, 또는 래트 혈장 칼리크레인 아미노산 서열, 이들 서열 중 하나와 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 서열, 또는 예를 들어 하기 제공된 서열의 이들의 단편을 포함할 수 있다.
- [0023] 성숙 인간 혈장 칼리크레인의 예시적인 서열은 하기 기재되어 있다(예를 들어, 문헌[Tang et al. (2005) Expression, Crystallization, and Three-dimensional Structure of the Catalytic Domain of Human Plasma Kallikrein. J of Biol Chem. 280(49): 41077-41089](본 명세서에서 참조문헌으로 포함됨) 참조). 이 예시적인 서열은 균일한 생성물의 생성을 수월하게 하는 하나의 돌연변이(S⁴⁸⁴; 볼드체)를 포함한다.
- [0024] GCLTQLYENAFFRGDVASMYTPNAQYQCQMRCFTFHPRCCLFSLFPASSINDMEKRFGCFLKDSVIGTLPKVHRTG
AVSGHSLKQCGHQISACHRDIYKGVDMRGVNFNVSKVSSVEECQKRCTSNIRQCFFSYATQTFHKAERYNNCLLK
YSPGGTPTAIKVLNVESEGFSLKPCALSEIGCHMNIFQHAFSDVDVARVLTPDAFVCRTICTYHPNCLFFTFYT
NVWKIESQRNVCLLKTSSEGTPTSSTPQENTISGYSLLTCKRTLPEPCHSKIYPGVDFGGEELNVTFVKGVNVQC
ETCTKMIRCQFFTYSLLPEDCKEEKCKCFLRLSMDGSPTRIAVGTQSSSGYSLRLCNTGDNVSVCTTKTSTR/IVG
GTNSSWGEWFPQVSLQVKLTARHLGGSLIGHQWVLTAACFDGLPLQDVWRIYSGILNLSGITKDTFPSQIKE
IIIHQNYKVSEGNHDIALIKLQAPLNYTEFQKPI^{**S**}LPKSGDTSTIYTNCWVTGWGFSKEKGEIQNILQKVNIPLV
TNEECQKRYQDYKITQRMVCAGYKEGGKDACGDSGGPLVCKHNGMWRLVGITSWGEGCARREQPGVYTKVAEYM
DWILEKTQSSDGKAMQSPA (서열 번호 11)
- [0025] XIIa 인자는 단일 부위에서 폴리펩타이드 서열을 절단(Arg371-Ile372 사이, 절단 부위는 상기 서열에서 "/"로 표시됨)하여 활성 혈장 칼리크레인을 생성함으로써 프리칼리크레인을 활성화하고, 이 칼리크레인은 이후 대략 52kDa의 중쇄 및 대략 34kDa의 촉매 도메인의 2개의 이황화 결합 폴리펩타이드로 이루어진다[Colman and Schmaier, (1997) "Contact System: A Vascular Biology Modulator With Anticoagulant, Profibrinolytic, Antiadhesive, and Proinflammatory Attributes" Blood, 90, 3819-3843].
- [0026] 예시적인 인간, 마우스 및 래트 프리칼리크레인 아미노산 서열(신호 펩타이드 포함)은 하기 예시되어 있다. 프

리칼리크레인의 서열은, 활성 혈장 칼리크레인(pKal)이 2개의 사슬을 생성시키는 단일 위치에서 절단("/")로 표시됨)된 단일 폴리펩타이드 사슬을 가진다는 것을 제외하고는, 혈장 칼리크레인과 동일하다. 하기 제공된 서열은 신호 서열을 포함하는 완전 서열이다. 발현하는 세포로부터 분비 시, 신호 서열이 제거되는 것으로 예상된다.

[0027] 인간 혈장 칼리크레인(수탁번호: NP_000883.2)

```
>gi|78191798|ref|NP_000883.2| 혈장 칼리크레인 B1 전구체 [호모 사피엔스]
MILFKQATYFISLFATVSCGCLTQLYENAFFRGGDVASMYTPNAQYQCMRCTFHPRCLLFSFLPASSIND
MEKRFGCFLKDSVTGTLPKVHRTGAVSGHSLKQCGHQISACHRDIYKGVDMRGVNFNVSKVSSVEECQKR
CTSNIRCQFFSYATQTFHKAERYNNCLLKYSPPGGTPTAIKVLNVSFSLKPCALSEIGCHMNIHQHLA
FSDVDVARVLTDPDAFVCRITICTYHPNCLFFTFYTNVWKIESQRNVCLLKTSESGTPSSSTPQENTISGYS
LLTCKRTLPEPCHSKIYPGVDFGGEELNVTFFVKGVNVQCETCTKMIRCQFFTYSLLPEDCKEEKCKCFLR
LSMDGSPTRIAAGTQSSSGYSLRLCNTGDNVCTTKTSTR/IVGGTNSSWGEPWQVSLQVKLTAQRHLCG
GSLIGHQWVLTAAHCFDGLPLQDVWRIYSGILNLSGITKDTFSPQIKEIIHQNYKVSEGNHDIALIKLQ
APLNYTEFQKPICLPSKGDSTIYTNVWVTGWGFSKEKGEIQNILQKVNIPLVNNEECQKRYQDYKITQR
MVCAGYKEGGKDACKGDSGGPLVCKHNGMWRLVGITSWGEGCARREQPGVYTKVAEYMDWILEKTQSSDG
KAQMQSPA (서열 번호 12)
```

[0028]

[0029] 마우스 혈장 칼리크레인(수탁번호: NP_032481.1)

```
>gi|6680584|ref|NP_032481.1| 칼리크레인 B, 혈장 1 [무스 무스쿨루스]
MILFNVRVGYFVSLFATVSCGCMTQLYKNTFFRGGDLAAIYTPDAQYQCKMCTFHPRCLLFSFLAVTPPKE
TNKRFGCFMKESITGTLPRIHRTGAISGHSLKQCGHQISACHRDIYKGLDMRGSNFNISKTDNIEECQKL
CTNNFHCQFFTYATSAFYRPEYRKKCLLKHSASGTPTSISADNLVSGFSLKSCALSEIGCPMDIFQHSA
FADLNVSQVITPDAFVCRITICTFHPNCLFFTFYTNWETESQRNVCFLLKTSKSGRPSPPPIQENAI SGYS
LLTCRKTRPEPCHSKIYSGVDFEGEELNVTFFVQGVADVCQETCTKTIRCQFFIYSLLPQDCKEEGCKCSLR
LSTDGSPTRITYGMQSSSGYSLRLCKLVDSPDCTTKINAR/IVGGTNASLGEWPWQVSLQVKLVSTHLCG
GSIIGRQWVLTAAHCFDGIYPDVWRIYGGILSLSEITKETPSSRIKELI HQEYKVSEGNIDIALIKLQ
TPLNYTEFQKPICLPSKADTNTIYTNVWVTGWGYTKEQGETQNILQKATIPLVNNEECQKKYRDYVINKQ
MICAGYKEGGTDACKGDSGGPLVCKHSGRWQLVGITSWGEGCGRKDQPGVYTKVSEYMDWILEKTQSSDV
RALETSSA (서열 번호 14)
```

[0030]

[0031] 래트 혈장 칼리크레인(수탁번호: NP_036857.2)

```
>gi|6680584|ref|NP_032481.1| 칼리크레인 B, 혈장 1 [라투스 노르베기쿠스]
MILFNVRVGYFVSLFATVSCGCMTQLYKNTFFRGGDLAAIYTPDAQYQCKMCTFHPRCLLFSFLAVTPPKE
TNKRFGCFMKESITGTLPRIHRTGAISGHSLKQCGHQISACHRDIYKGLDMRGSNFNISKTDNIEECQKL
CTNNFHCQFFTYATSAFYRPEYRKKCLLKHSASGTPTSISADNLVSGFSLKSCALSEIGCPMDIFQHSA
FADLNVSQVITPDAFVCRITICTFHPNCLFFTFYTNWETESQRNVCFLLKTSKSGRPSPPPIQENAI SGYS
LLTCRKTRPEPCHSKIYSGVDFEGEELNVTFFVQGVADVCQETCTKTIRCQFFIYSLLPQDCKEEGCKCSLR
LSTDGSPTRITYGMQSSSGYSLRLCKLVDSPDCTTKINAR/IVGGTNASLGEWPWQVSLQVKLVSTHLCG
GSIIGRQWVLTAAHCFDGIYPDVWRIYGGILSLSEITKETPSSRIKELI HQEYKVSEGNIDIALIKLQ
TPLNYTEFQKPICLPSKADTNTIYTNVWVTGWGYTKEQGETQNILQKATIPLVNNEECQKKYRDYVINKQ
MICAGYKEGGTDACKGDSGGPLVCKHSGRWQLVGITSWGEGCGRKDQPGVYTKVSEYMDWILEKTQSSDV
RALETSSA (서열 번호 13)
```

[0032]

[0033] 항체는 본 명세서에 기재된 방법, 예를 들어 망막 질환을 치료하는 방법에서 사용될 수 있다. 본 명세서에서 사용되는 용어 "단리된 항체"는 천연 연관 분자가 실질적으로 없는 항체를 의미하고, 즉 천연 연관 분자는 항체를 포함하는 제제의 건조 중량의 기껏해야 20%를 구성한다. 순도는 임의의 적절한 방법, 예를 들어 칼럼 크로마토 그래피, 폴리아크릴아마이드 겔 전기영동 및 HPLC에 의해 측정될 수 있다. 몇몇 예에서, 본 명세서에 개시된 항체는 활성 PKal 또는 이것 내의 에피토프에 특이적으로 결합한다.

[0034]

(본 명세서에서 상호교환적으로 사용되는) 표적 또는 에피토프에 "특이적으로 결합"하는 항체는 당해 분야에서 널리 이해되는 용어이고, 이러한 특이적 결합을 결정하는 방법은 당해 분야에 또한 널리 공지되어 있다. 분자는 대안적인 표적보다 더 빈번히, 더 빠르게, 더 긴 기간으로 및/또는 더 높은 친화도로 특정한 표적 항원과 반응하거나 회합하는 경우 "특이적 결합"을 나타낸다고 말해진다. 항체다른 물질에 결합하는 것보다 더 높은 친화도, 결합도로, 더 빠르게 및/또는 더 긴 기간으로 결합하는 경우 표적 항원에 "특이적으로 결합"한다. 예를 들어, 인간 활성 PKal 또는 이것 내의 에피토프에 특이적으로(또는 우선적으로) 결합하는 항체는 다른 항원 또는 동일한 항원 내의 다른 에피토프에 결합하는 것보다 더 높은 친화도, 결합도로, 더 빠르게 및/또는 더 긴 기간으로 이 표적 항원에 결합하는 항체이다. 이 정의를 읽어서, 예를 들어 제1 표적 항원에 특이적으로 결합하는 항체가 제2 표적 항원에 특이적으로 또는 우선적으로 결합하거나 결합하지 않을 수 있는 것이 또한 이해된다,

"특이적 결합" 또는 "우선적 결합"은 반드시 배타적 결합을 요구하지는 않는다(그러나 이것을 포함할 수 있다). 일반적으로, 반드시 아니지만, 결합의 언급은 우선적 결합을 의미한다.

[0035] 항체(상호교환되어 복수 형태로 사용됨)는, 면역글로불린 분자의 가변 영역에 위치한, 적어도 하나의 항원 인식 부위를 통해, 표적, 예컨대 탄수화물, 폴리뉴클레오타이드, 지질, 폴리펩타이드 등에 대해 특이적으로 결합할 수 있는 면역글로불린 분자이다. 본 명세서에서 사용되는 바대로, 용어 "항체"는 온전한(즉, 전장) 다중클론 또는 단일클론 항체뿐만 아니라, 이의 항원 결합 단편(예컨대, Fab, Fab', F(ab')₂, Fv), 단일 사슬(scFv), 이의 돌연변이체, 항체 부분을 포함하는 융합 단백질, 인간화 항체, 키메라 항체, 다이아바디, 선형 항체, 단쇄 항체, 다중특이적 항체(예를 들어, 이중특이적 항체), 및, 항체의 글라이코실화 변이체, 항체의 아미노산 서열 변이체 및 공유 변형된 항체를 포함하는, 필요한 특이성의 항원 인식 부위를 포함하는 면역글로불린 분자의 임의의 다른 변형된 구성을 포함한다. 항체는 임의의 종류의 항체, 예컨대 IgD, IgE, IgG, IgA 또는 IgM(또는 이의 하위종류), 및 임의의 특정한 종류일 필요는 없는 항체를 포함한다. 중쇄의 불변 도메인의 항체 아미노산 서열에 따라, 면역글로불린은 상이한 종류로 배정될 수 있다. IgA, IgD, IgE, IgG 및 IgM의 면역글로불린의 5가지의 주요 종류가 존재하고, 이들 중 몇몇은 하위종류(아이소폼), 예를 들어 IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 및 IgA2로 추가로 분할될 수 있다. 상이한 종류의 면역글로불린에 상응하는 중쇄 불변 도메인은 각각 알파, 델타, 엡실론, 감마 및 뮤라 불린다. 상이한 종류의 면역글로불린의 하위단위 구조 및 3차원 구성이 널리 공지되어 있다.

[0036] 본 명세서에 기재된 항체는 PKa1의 활성을 또한 저해할 수 있다. 몇몇 경우에, 본 명세서에 기재된 항체는 PKa1의 활성을 적어도 50%, 예를 들어 60%, 70%, 80%, 90%, 95% 이상 저해할 수 있다. 저해 상수(Ki)는 저해 역가의 측정치를 제공하고, 이는 효소 활성을 반으로 감소시키는 데 필요한 저해제의 농도이고, 효소 또는 기질 농도에 의존하지 않는다. 항-PKa1 항체의 저해 활성은 일상적 방법, 예컨대 하기 실시예 3에 기재된 방법에 의해 결정될 수 있다.

[0037] 몇몇 예에서, 항-PKa1 항체의 저해 활성은 겔보기 Ki(K_{i,겔보기}) 값에 의해 결정된다. 항체의 K_{i,겔보기} 값은 반응의 정도(예를 들어, 효소 활성)에 대한 상이한 농도의 항체의 저해 효과를 측정함으로써 상이한 기질 농도로 얻어지고; 모리슨(Morrison) 식(식 1)에 대한 저해제 농도의 함수로서의 유사 1차 속도 상수의 변화의 작도는 겔보기 Ki 값의 예측치를 생성한다. 경쟁적 저해제의 경우, Ki는 기질 농도에 대한 K_{i,겔보기}의 도면의 선형 회귀 분석으로부터 도출된 y절편으로부터 얻어진다.

$$v = v_o - v_o \left(\frac{(K_{i,겔보기} + I + E) - \sqrt{(K_{i,겔보기} + I + E)^2 - 4 \cdot I \cdot E}}{2 \cdot E} \right) \quad \text{식 1}$$

[0038]

[0039] 몇몇 예에서, 본 명세서에 기재된 항-PKa1 항체는 K_{i,겔보기} 값이 1nM 미만, 예를 들어 0.5nM, 0.2nM, 0.1nM, 0.09nM, 0.08nM, 0.07nM, 0.06nM, 0.05nM, 0.04nM, 0.03nM, 0.02nM, 0.01nM 이하이다. 항체의 K_{i,겔보기} 값은 당해 분야에서 공지되어 있고 본 명세서에 기재된 방법(실시예 2)에 따라 예측될 수 있다.

[0040] 본 명세서에 기재된 항체는 쥐과, 래트, 인간, 또는 임의의 다른 기원(키메라 또는 인간화 항체를 포함)일 수 있다. 몇몇 예에서, 항체는 변형된 불변 영역, 예컨대 면역학적으로 불활성인, 예를 들어 보체 매개 용해를 촉발시키지 않거나, 항체 의존적 세포 매개 세포독성(ADCC)을 자극하지 않는 불변 영역을 포함한다. ADCC 활성은 미국 특허 제5,500,362호에 개시된 방법을 이용하여 평가될 수 있다. 다른 실시형태에서, 불변 영역은 문헌 [Eur. J. Immunol. (1999) 29:2613-2624]; PCT 출원 제PCT/GB99/01441호; 및/또는 영국 특허 출원 제9809951.8호에 기재된 바대로 변형된다.

[0041] 본 명세서에 기재된 임의의 항체는 단일클론 또는 다중클론일 수 있다. "단일클론 항체"는 균일한 항체 집단을 의미하고, "다중클론 항체"는 이종성 항체 집단을 의미한다. 이 2개의 용어는 항체의 공급원 또는 이것이 만들어진 방식을 제한하지 않는다.

[0042] 일 예에서, 본 명세서에 기재된 방법에 사용된 항체는 인간화 항체이다. 인간화 항체는 특이적 키메라 면역글로불린, 면역글로불린 사슬, 또는 비인간 면역글로불린으로부터 유래한 최소 서열을 함유하는 이의 항원 결합 단편인, 비인간(예를 들어, 쥐과) 항체의 형태를 의미한다. 대부분의 부분의 경우, 인간화 항체는 인간 면역글로불린(수혜자 항체)이고, 여기서 수혜자의 상보성 결정 영역(CDR)으로부터의 잔기가 원하는 특이성, 친화도 및

역량을 갖는 비인간 종(공여자 항체), 예컨대 마우스, 래트 또는 토끼의 CDR로부터의 잔기에 의해 대체된다. 몇몇 경우에, 인간 면역글로불린의 Fv 프레임워크 영역(FR) 잔기는 상응하는 비인간 잔기에 의해 대체된다. 더욱이, 인간화 항체는 수혜자 항체, 및 유입된 CDR 또는 프레임워크 서열에서 발견되지는 않지만, 항체 성능을 추가로 개선하고 최적화하도록 포함된 잔기를 포함할 수 있다. 일반적으로, 인간화 항체는 적어도 1개 및 통상적으로 2개의, 가변 도메인을 실질적으로 모두 포함할 것이고, 이 도메인에서 모든 또는 실질적으로 모든 CDR 영역은 비인간 면역글로불린의 것에 상응하고, 모든 또는 실질적으로 모든 FR 영역은 인간 면역글로불린 공통 서열의 것이다. 인간화 항체는 면역글로불린 불변 영역 또는 도메인(Fc)의 적어도 일부, 통상적으로 인간 면역글로불린의 적어도 일부를 최적으로 또한 포함할 것이다. 항체는 WO 99/58572에 기재된 바대로 변형된 Fc 영역을 가질 수 있다. 인간화 항체의 다른 형태는 오리지널 항체와 관련하여 변경된 1개 이상의 CDR(1개, 2개, 3개, 4개, 5개, 6개)(오리지널 항체로부터 1개 이상의 CDR"로부터 유래한" 1개 이상의 CDR이라 또한 칭해짐)을 갖는다. 인간화 항체는 또한 친화도 성숙을 포함할 수 있다.

[0043] 또 다른 예에서, 본 명세서에 기재된 항체는 인간 항체로부터 중쇄 불변 영역 및 경쇄 불변 영역을 포함할 수 있는 키메라 항체이다. 키메라 항체는 제1 종으로부터의 가변 영역 또는 가변 영역의 일부 및 제2 종으로부터의 불변 영역을 갖는 항체를 의미한다. 통상적으로, 이 키메라 항체에서, 경쇄 및 중쇄 둘 다의 가변 영역은 포유동물(예를 들어, 비인간 포유동물, 예컨대 마우스, 토끼 및 래트)의 일 종으로부터 유래한 항체의 가변 영역을 모방하지만, 불변 부분은 또 다른 포유동물, 예컨대 인간으로부터 유래한 항체에서 서열에 상동성이다. 몇몇 실시형태에서, 아미노산 변형은 가변 영역 및/또는 불변 영역에서 만들어질 수 있다.

[0044] 몇몇 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 항-PK₁ 항체는 PK₁ 또는 이의 촉매 도메인에 대해 적합한 결합 친화도를 갖는다. 본 명세서에서 사용된 바대로, "결합 친화도"는 겔보기 결합 상수 또는 K_A를 의미한다. K_A는 분해 상수(K_D)의 역수이다. 본 명세서에 기재된 항체는 결합 친화도(K_D)가 적어도 10⁻⁵, 10⁻⁶, 10⁻⁷, 10⁻⁸, 10⁻⁹, 10⁻¹⁰ M 이하일 수 있다. 결합 친화도의 증가는 K_D의 감소에 상응한다. 제2 표적에 비해 제1 표적에 대한 항체의 더 높은 친화도 결합은 제2 표적에 대한 결합에 대한 K_A(또는 숫자 값 K_D)보다 제1 표적에 대한 결합에 대한 더 높은 K_A(또는 더 작은 숫자 값 K_D)로 표시될 수 있다. 이러한 경우에, 항체는 제2 표적(예를 들어, 제2 구성에서의 동일한 단백질 또는 이의 모방체; 또는 제2 단백질)에 비해 제1 표적(예를 들어, 제1 구성에서의 단백질 또는 이의 모방체)에 대한 특이성을 갖는다. (예를 들어, 특이성 또는 다른 비교를 위한) 결합 친화도의 차이는 적어도 1.5, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20, 37.5, 50, 70, 80, 91, 100, 500, 1000, 10,000 또는 10⁵배일 수 있다.

[0045] 결합 친화도는 평형, 투석 평형 결합, 겔 여과, ELISA, 표면 플라스몬 공명 또는 분광법(예를 들어, 형광 검정을 사용)을 포함하는 다양한 방법에 의해 결정될 수 있다. 결합 친화도를 평가하기 위한 예시적인 조건은 HBS-P 완충제(10mM HEPES pH 7.4, 150mM NaCl, 0.005%(v/v) 계면활성제 P20)에 있다. 이 기법은 표적 단백질 농도의 함수로서의 결합된 결합 단백질의 농도를 측정하도록 사용될 수 있다. 결합된 결합 단백질의 농도([결합])는 유리 표적 단백질의 농도([유리]) 및 표적에서의 결합 단백질에 대한 결합 부위의 농도와 관련되고, 여기서 (N)은 하기 식에 의한 표적 분자마다의 결합 부위의 수이다:

[0046]
$$[\text{결합}] = \frac{[N][\text{유리}]}{K_d + [\text{유리}]}$$

[0047] K_A를 정확히 결정하는 것이 항상 필요한 것은 아니지만, 때때로 이것은 예를 들어 ELISA 또는 FACS 분석과 같은 방법을 이용하여 결정된, 친화도의 정량적 측정을 얻기에 충분하므로, K_A에 비례하고, 이에 따라 친화도의 정량적 측정을 얻기 위해, 또는 예를 들어 기능적 검정, 예를 들어 실험실내 또는 생체내 검정에서 활성에 의해 친화도의 추론을 얻기 위해, 더 높은 친화도가 예를 들어 2배 더 높은지의 결정과 같은 비교를 위해 사용될 수 있다.

[0048] 몇몇 실시형태에서, 항-PK₁ 항체는 DX-2930의 중쇄 및 경쇄 CDR 또는 중쇄 및 경쇄 가변 영역을 포함한다. DX-2930의 전장 중쇄 및 경쇄의 서열이 하기 기재되어 있다. 중쇄 가변 도메인 및 경쇄 가변 도메인의 서열은 또한 하기 기재되어 있다. DX-2930의 CDR의 서열은 표 1에 기재되어 있다.

[0049]

DX-2930 중쇄 아미노산 서열(451 아미노산)

EVQLLES GGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYAD
SVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVSSAS
TKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS
LSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF
PPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV
LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCL
LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMH
EALHNHYTQKSLSLSPG (서열 번호 1)

[0050]

[0051]

DX-2930 경쇄 아미노산 서열(213 아미노산, 23419.08 Da)

DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYKASTLES GVP SRF
SGSGSGTEFTLTIS SLQPDDFATYYCQYNTYWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQL
KSGTASVVC LLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS TYSLSSLTLSKADYE
KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (서열 번호 2)

[0052]

[0053]

DX-2930 중쇄 가변 도메인 아미노산 서열

EVQLLES GGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYAD
SVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVSS

[0054]

(서열 번호 3)

[0055]

DX-2930 경쇄 가변 도메인 아미노산 서열

DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYKASTLES GVP SRF
SGSGSGTEFTLTIS SLQPDDFATYYCQYNTYWTFGQGTKVEIK (서열 번호 4)

[0056]

표 1

DX-2930에 대한 CDR.

CDR	아미노산 서열
중쇄 CDR1	HYIMM (서열 번호 5)
중쇄 CDR2	GIYSSGGITVYADSVKG (서열 번호 6)
중쇄 CDR3	RRIGVPRRDEFDI (서열 번호 7)
경쇄 CDR1	RASQSISSWLA (서열 번호 8)
경쇄 CDR2	KASTLES (서열 번호 9)
경쇄 CDR3	QQYNTYWT (서열 번호 10)

[0057]

[0058]

몇몇 실시형태에서, 항-PKα1 항체는 DX-2930의 동일한 CDR 또는 중쇄 및 경쇄 가변 영역을 포함하는 Fab이다. 예를 들어, 하기 실시예 1에 기재된 DX-2944는 DX-2930의 Fab 부분이다.

[0059]

DX-2930은 모 클론 M0162-A04로부터 유래한 완전 인간 IgG이다. M0162-A04의 V_H 및 V_L의 아미노산 서열은 도 3에 도시되어 있다. 상응하는 생식선 VH 유전자(VH3_3-23) 및 VL 유전자(VK1_L12)와의 이의 정렬은 또한 도 3에 도시되어 있다. M0162-A04의 HC CDR3과 비교하여, DX-2930의 HC CDR3은 T101I, I103V 및 A108E의 변이를 포함한다(하기 표 3 참조; DX-2930의 HC CDR3은 M0199-A08과 동일함). 초티아(Chothia) 넘버링 반응식은 본 개시내용에서 사용된다. www.bioinf.org.uk/abs/.

[0060]

하기 표 2는 DX-2930, 이의 모 항체 M0162-A04, 및 이의 변이체의 구조 정보를 제공한다.

표 2

DX-2930 변이체의 서열 특징

명칭	특성
M162-A04	<ul style="list-style-type: none"> 이것은 초기 파지 디스플레이 선택 노력에서 발견된 DX-2930의 모 항체이다($K_{i,app} = 2.5nM$). 이 항체는 중쇄 및 생식선 위치의 CDR3에서 3개의 중요한 아미노산에서 DX-2930과 다르다.
M199-A08	<ul style="list-style-type: none"> Fab는 Hv-CDR3 스파이킹(spiking) 방법을 사용하여 M0162-A04의 친화도 성숙 후에 발견되었다($K_{i,app} \sim 0.06nM$). 이 항체는 DX-2930과 가변 영역에서 동일한 아미노산을 공유하지만, 생식선이 아니고 Fc 단편을 함유하지 않는다.
X115-F02	<ul style="list-style-type: none"> 완전 인간 IgG, 카파 경쇄 경쇄에서의 1개의 아미노산은 이의 생식선 서열로 돌연변이된다. X115-F02의 DNA 서열은 CHO 세포에서 발현에 최적화된다. pRH1-CHO 벡터로 서브클로닝 후에 293T 세포에서 일시적으로 발현된다.
DX-2930	<ul style="list-style-type: none"> 완전 인간 IgG, 카파 경쇄 경쇄에서의 1개의 아미노산 및 중쇄에서의 2개의 아미노산은 이의 생식선 서열로 돌연변이된다. DX-2930의 DNA 서열은 CHO 세포에서 발현에 최적화되고, 글루타메이트 신타제 시스템을 사용하여 안정한 발현을 위해 pEh1 벡터로 클로닝된다. DX-2930의 Fc는 더 균일한 생성물을 얻기 위해 C 말단 라이신 잔기를 제거하도록 변형된다.
DX-2944	<ul style="list-style-type: none"> 이 항체는 DX-2930의 Fab이다.

[0061]

[0062]

인간 혈장 칼리크레인에서의 특이적 잔기를 표적화하는 항체

[0063]

몇몇 실시형태에서, 활성 PKa1에 특이적으로 결합하는 항체는 V410, L412, T413, A414, Q415, R416, L418, C419, H434, C435, F436, D437, G438, L439, W445, Y475, K476, V477, S478, E479, G480, D483, F524, E527, K528, Y552, D554, Y555, A564, D572, A573, C574, K575, G576, S578, T596, S597, W598, G599, E600, G601, C602, A603, R604, Q607, P608, G609, V610 및/또는 Y611(숫자는 전장 프리칼리크레인 아미노산 서열에 기초함)을 포함하는, 인간 PKa1의 촉매 도메인에서의 1개 이상의 잔기(예를 들어, 적어도 3개, 5개, 8개, 10개, 15개, 20개, 25개, 30개, 35개, 40개 또는 45개)와 상호작용한다. 이 잔기의 위치는 도 4에 표시되어 있다(볼드체 및 밑줄). 이 잔기는 하기 실시예 2에 기재된 결정 구조에 따라 DX-2930에서의 하나 이상의 잔기와 상호작용하는 것으로 확인된다.

[0064]

상호작용은 2개의 결합 파트너에 의해 형성된 복합체에서의 2개의 잔기 사이의 거리가 설정된 값보다 작다는, 예를 들어 6Å 미만, 4Å 미만, 또는 2Å 미만이라는 것을 의미한다. 예를 들어, 일 결합 파트너에서의 상호작용 잔기는 복합체화 구조에서의 다른 결합 파트너의 잔기로부터 적어도 1개의 원자의 소정의 스트레스(예를 들어, 6Å 미만, 4Å 미만, 또는 2Å 미만) 내의 적어도 1개의 원자를 가질 수 있다. 상호작용은 실제 결합을 필요로 하지 않는다. 상호작용 잔기는 항체 인식에 포함되는 것으로 제안된다.

[0065]

몇몇 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 항체는 상기 기재된 1개 이상의 잔기를 포함하는 에피토프에서 인간 활성 PKa1에 결합한다. "에피토프"는 Fab 또는 전장 항체와 같은 항체에 의해 결합된 표적 화합물에서의 부위를 의미한다. 에피토프는 선형일 수 있고, 이것은 통상적으로 길이가 6-15개의 aa이다. 대안적으로, 에피토프는 입체형성적(conformational)일 수 있다.

[0066]

몇몇 예에서, 활성 PKa1 본 명세서에 기재된 활성 PKa1에 특이적으로 결합하는 항체는 하기 분절을 포함하는 에피토프에 결합한다: V410-C419, H434-L439, Y475-G480, F524-K528, Y552-Y555, D572-S578, T596-R604, 또는 Q607-Y611. 몇몇 예에서, 항체(예를 들어, 비-DX-2930 항체)는 DX-2930과 동일한 에피토프에 결합하거나 DX-2930과 활성 PKa1에 대한 결합과 경쟁한다.

[0067]

일 예에서, 본 명세서에 기재된 항-PKa1 항체는 하나 이상의 R551, Q553, Y555, T558 및 R560에서의 돌연변이를

포함하는 돌연변이체, 예를 들어 실시예 4에 기재된 돌연변이체 2와 비교하여 야생형 PKa1에 우선적으로 결합한다. 이러한 항체는 돌연변이체와 비교하여 (예를 들어, 적어도 2배, 5배, 10배, 50배, 100배, 200배, 500배, 1,000배 이상) 훨씬 더 높은 친화도로 야생형 PKa1에 결합할 수 있다. 대안적으로 또는 또한, 항체는 돌연변이체에 비하여 (예를 들어, 적어도 2배, 5배, 10배, 50배, 100배, 200배, 500배, 1,000배 이상) 야생형 pKa1에 대해 훨씬 더 높은 저해 활성을 나타낸다.

[0068] 다른 예에서, 본 명세서에 기재된 항-PKa1 항체는 야생형 활성 PKa1 및 이의 기능적 변이체에 결합한다. 항체는 불활성 돌연변이체에 대한 이의 결합에 비해 활성 PKa1에 우선적으로 결합할 수 있다. 항체는 프리칼리크레인에 비해 활성 PKa1에 우선적으로 결합할 수 있다.

[0069] 특이적 모티프 및/또는 잔기를 갖는 항-혈장 칼리크레인 항체

[0070] 몇몇 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 항-PKa1 항체는 V_H 및 V_L 을 포함하고, 이들은 각각 프레임워크 영역에 의해 플랭킹된 3개의 CDR을 포함한다(FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4; 도 3 참조). 중쇄의 CDR3은 $X_{99}R_{100}X_{101}G_{102}X_{103}P_{104}R_{105}X_{106}X_{107}X_{108}X_{109}X_{110}X_{111}$ (여기서, X_{99} 는 R 또는 Q이고, X_{101} 은 T, I, R, S 또는 P이며, X_{103} 은 V, I 또는 L이고, X_{106} 은 R 또는 W이고, X_{107} 은 D 또는 N이고, X_{108} 은 A, S, D, E 또는 V이고, X_{109} 은 F 또는 L이고, X_{110} 은 D, E 또는 N이고, X_{111} 은 I, N, M, 또는 S임)(서열 번호 15)의 모티프를 포함할 수 있다. 몇몇 예에서, X_{99} 은 Q이고, X_{101} 은 I, R, S 또는 P이다. 대안적으로 또는 또한, X_{106} 은 W이고, X_{111} 은 N, M 또는 S이다. 다른 예에서, X_{101} 은 I이고, X_{108} 은 E이고, X_{103} 은 I 또는 L이거나; X_{101} 은 I이고, X_{103} 은 I 또는 L이다. 또 다른 예에서, X_{103} 은 I 또는 L이고, X_{110} 은 D, E 또는 N이다.

[0071] 또한, 이러한 항-pKa1 항체는 인간 PKa1의 촉매 도메인과 상호작용에 관여하는 것으로서 본 명세서에 기재된 결정 구조에 기초하여 확인된 하나 이상의 다른 잔기를 포함할 수 있다. 이 잔기는 V_H 또는 V_L 사슬에 위치할 수 있다. 예는 V_H 의 FR1에서의 E1, V2, F27, T28, F29 및 S30, HC CDR1에서의 H₃₁; LC CDR1에서의 S31 및 W32, V_L 사슬의 FR1에서의 Y49, LC CDR2에서의 K50, T53, L54 및 E55 및 S56, 및 V_L 사슬의 FR3에서의 G57 및 V58을 포함한다.

[0072] 상기 기재된 바와 같은 항-PKa1 항체는 프레임워크로서 임의의 생식선 중쇄 및 경쇄 V 유전자를 사용할 수 있다. 중쇄 V 유전자는 IGHV1-2, IGHV1-3, IGHV1-8, IGHV1-18, IGHV1-24, IGHV1-45, IGHV1-46, IGHV1-58, IGHV1-69, IGHV2-5, IGHV2-26, IGHV2-70, IGHV3-7, IGHV3-9, IGHV3-11, IGHV3-13, IGHV3-15, IGHV3-20, IGHV3-21, IGHV3-23, IGHV3-30, IGHV3-33, IGHV3-43, IGHV3-48, IGHV3-49, IGHV3-53, IGHV3-64, IGHV3-66, IGHV3-72, IGHV3-73, IGHV3-74, IGHV4-4, IGHV4-28, IGHV4-31, IGHV4-34, IGHV4-39, IGHV4-59, IGHV4-61, IGHV4-B, IGHV5-51, IGHV6-1 및 IGHV7-4-1을 포함하지만, 이들로 제한되지는 않는다.

[0073] 몇몇 예에서, 항체는 κ 경쇄를 사용한다. 경쇄 VK 유전자는 IGKV1-05, IGKV1-06, IGKV1-08, IGKV1-09, IGKV1-12, IGKV1-13, IGKV1-16, IGKV1-17, IGKV1-27, IGKV1-33, IGKV1-37, IGKV1-39, IGKV1D-16, IGKV1D-17, IGKV1D-43, IGKV1D-8, IGKV2-24, IGKV2-28, IGKV2-29, IGKV2-30, IGKV2-40, IGKV2D-26, IGKV2D-29, IGKV2D-30, IGKV3-11, IGKV3-15, IGKV3-20, IGKV3D-07, IGKV3D-11, IGKV3D-20, IGKV4-1, IGKV5-2, IGKV6-21 및 IGKV6D-41에 대한 V 유전자를 포함하지만, 이들로 제한되지는 않는다. 다른 예에서, 항체는 λ 경쇄, 예를 들어 임의의 IGLV1-IGLV10을 이용한다.

[0074] 항체는 또한 임의의 생식선 중쇄 J 분절(예를 들어, 중쇄 IGJH1-IGJH6) 및 경쇄 J 분절(예를 들어, IGJK1, IGJK2, IGJK3, IGJK4 또는 IGJK5)을 이용할 수 있고, 이들은 C 말단, N 말단, 또는 둘 다에서 결실과 같은 변이로 처리될 수 있다.

[0075] 생식선 항체 유전자/분절 서열은 당해 분야에 널리 공지되어 있다. 예를 들어, www.vbase2.org/vbstat.php를 참조한다.

[0076] 몇몇 예에서, 본 명세서에 기재된 항-PKa1 항체는 중쇄 및/또는 경쇄에 대한 프레임워크로서 VH3_3-23 및/또는 VK1_L12를 이용한다. 이것은 M0162-A04에서 상응하는 CDR 영역과 비교하여, 예를 들어 5개 이하, 4개, 3개, 2개 또는 1개의 아미노산 잔기 변이를 포함하는, M0162-A04에서의 것과 실질적으로 유사한, HC CDR1, HC CDR2 및/또는 HC CDR3, 및 LC CDR1, LC CDR2 및/또는 LC CDR3을 포함할 수 있다(도 1).

[0077] 다른 예에서, 항-PKa1 항체는 M0162-A04의 상응하는 V_H CDR과 적어도 75%(예를 들어, 80%, 85%, 90%, 95% 또는

98%) 동일한 V_H CDR1, V_H CDR2 및 V_H CDR3을 포함하는 V_H 사슬, 및 M0162-A04의 상응하는 V_L CDR과 적어도 75% (예를 들어, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 98%) 동일한 V_L CDR1, V_L CDR2 및 V_L CDR3을 포함하는 V_L 사슬을 포함한다.

[0078] 대안적으로, 항-PKα1 항체는 M0162-A04의 V_H 사슬(성숙 또는 전구체)과 적어도 75%(예를 들어, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 98%) 동일한 V_H 사슬 및/또는 M0162-A04의 V_L 사슬(전구체의 성숙)과 적어도 75%(예를 들어, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 98%) 동일한 V_L 사슬을 포함한다.

[0079] 2개의 아미노산 서열의 "백분율 동일성"은 문헌[Karlin and Altschul *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:5873-77, 1993]에서처럼 변형된 문헌[Karlin and Altschul *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87:2264-68, 1990]의 알고리즘을 이용하여 결정된다. 이러한 알고리즘은 문헌[Altschul, *et al. J. Mol. Biol.* 215:403-10, 1990]의 NBLAST 및 XBLAST 프로그램(버전 2.0)으로 통합된다. BLAST 단백질 조사는 관심 있는 단백질 분자와 상동성인 아미노산 서열을 얻기 위해 XBLAST 프로그램, 스코어 = 50, 워드 길이 = 3으로 수행될 수 있다. 2개의 서열 사이의 갭이 존재할 때, 갭드(Gapped) BLAST는 문헌[Altschul *et al., Nucleic Acids Res.* 25(17):3389-3402, 1997]에 기재된 바대로 이용될 수 있다. BLAST 및 갭드 BLAST 프로그램을 이용할 때, 각각의 프로그램(예를 들어, XBLAST 및 NBLAST)의 디폴트 매개변수를 사용할 수 있다.

[0080] 몇몇 경우에, 예를 들어 결정 구조에 기초하여 결정되는 것처럼 PKα1과의 상호작용에 잔기가 관여되지 않을 것 같은 위치에서, 보존적 돌연변이가 M0162-A04에서의 CDR로 도입될 수 있다. 본 명세서에서 사용된 바대로, "보존적 아미노산 치환"은 아미노산 치환이 이루어진 단백질의 상대 전하 또는 크기 특징을 변경하지 않는 아미노산 치환을 의미한다. 변이체는 당해 분야의 당업자에게 공지된 폴리펩타이드 서열을 변경하기 위한 방법에 따라 제조될 수 있고, 예컨대 이러한 방법을 수록한 참조문헌, 예를 들어 문헌[Molecular Cloning: A Laboratory Manual, J. Sambrook, *et al.*, eds., Second Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, 1989], 또는 문헌[Current Protocols in Molecular Biology, F.M. Ausubel, *et al.*, eds., John Wiley & Sons, Inc., New York]에서 확인된다. 아미노산의 보존적 치환은 하기 그룹 내의 아미노산 중에 이루어진 치환을 포함한다: (a) M, I, L, V; (b) F, Y, W; (c) K, R, H; (d) A, G; (e) S, T; (f) Q, N; 및 (g) E, D.

[0081] **당뇨병성 황반 부종(DME)을 치료하기 위한 항-PKα1 항체의 용도**

[0082] 본 개시내용의 양태는 망막 질환, 예를 들어 DME, AMD, RVO, 포도막염, 내안구염 또는 PCV를 앓거나, 앓는 것으로 의심되거나, 앓을 위험에 있는 대상체의 치료에 관한 것이다. 몇몇 실시형태에서, 이러한 대상체를 치료하는 방법이 제공되고, 여기서 본 명세서에 기재된 바대로 활성 PKα1에 특이적으로 결합하는 항체의 유효량을 포함하는 조성물이 적합한 경로를 통해 대상체에게 투여된다.

[0083] 본 명세서에 개시된 방법을 실행하기 위해, 본 명세서에 기재된 유효량의 조성물(예를 들어, 약제학적 조성물)은 적합한 경로, 예컨대 정맥내 투여(예를 들어, 일정 시간에 걸쳐 볼루스로서 또는 연속 점적주사에 의해)를 통해 안와내 주사, 유리체내 주사 또는 피하 주사에 의해 치료를 필요로 하는 대상체(예를 들어, 인간)에게 투여될 수 있다. 조성물은 활성 인간 PKα1에 결합하는 하나 이상의 항체를 포함할 수 있다. 대안적으로, 조성물은 적합한 프로모터에 작동 가능한 연결로 있을 수 있는 항-PKα1 항체를 코딩하는 핵산(들)을 포함할 수 있다. 이러한 핵산은 발현 벡터일 수 있다.

[0084] 본 명세서에 기재된 조성물 및 방법에 의해 치료하고자 하는 대상체는 포유동물, 더 바람직하게는 인간, 예를 들어 당뇨병을 앓는 인간일 수 있다. 포유동물은 농장 동물, 스포츠 동물, 애완동물, 영장류, 말, 개, 고양이, 마우스 및 래트를 포함하지만, 이들로 제한되지는 않는다. 치료를 필요로 하는 인간 대상체는 DME, AMD, RVO, 포도막염, 내안구염 또는 PCV 포함하는 망막 질환을 앓거나, 앓는 것으로 의심되거나, 앓을 위험에 있는 것으로 의심되는 인간 환자일 수 있다. 연령 관련 황반 변성(AMD)은 눈의 황반의 퇴행 또는 분해이다. 황반 변성에 의해, 대상체는 증상 예컨대 중앙 시야의 흐릿함, 어두운 부분 또는 왜곡과 같은 증상, 및 임의로 영구적인 중앙 시야의 소실을 가질 수 있다. 망막 정맥 폐쇄(RVO)는 망막으로부터 혈액을 운반하는 작은 정맥의 폐쇄이다. 이는 대개 동맥의 경화(죽상동맥경화증) 및 혈전의 형성에 의해 생긴다. 당뇨병성 황반 부종(DME)은 망막 층의 팽윤, 신생혈관화, 혈관 누수, 및 황반 내의 혈관으로부터 유체의 누수로 인한 진성 당뇨병의 망막 비후화를 특징으로 하는 당뇨병성 망막병증의 증식성 형태이다. 폴립모양 맥락막 혈관병(PCV)은 맥락막 맥관구조의 질환이다. 이것은 많은 인종의 남성 및 여성 둘 다에 존재하고, 흔히 망막하 섬유증을 발생시킬 수 있는 삼출성 변화 및 색소 상피의 장애혈액상 탈착을 특징으로 한다. 포도막염은 눈의 중간 층인 포도막의 팽윤 및 자극이다. 포도막

은 망막에 대부분의 혈액 공급을 제공한다. 이는 류마티스성 관절염 또는 강직성 척추염을 포함하는 자가면역 장애에 의해 생길 수 있다. 이것은 또한 감염 또는 독소에 대한 노출에 의해 생길 수 있다. 많은 경우에, 원인은 알려지지 않았다. 내안구염은 감염에 의해 보통 생기는 안와내 동공(즉, 수성액 및/또는 유리액)의 염증성 병증이다.

[0085] 이러한 망막 질환을 가지는 대상체는 일상적 의학 검사, 예를 들어 시력 검사, 안압측정, 광학 간섭성 단층촬영, 색상 스테레오(color stereo) 안저촬영, 플루오레세인 혈관촬영, 또는 이들의 조합에 의해 확인될 수 있다. 망막 질환을 가지는 것으로 의심되는 대상체는 혼탁한 시야, 왜곡된 시야 또는 시야에서의 점과 같은 질환 중 하나 이상의 증상을 나타낼 것이다. 망막 질환에 대한 위험에 있는 대상체는 위험 인자 중 하나 이상을 가지는 대상체일 수 있다. 예를 들어, DME에 대한 위험에 있는 대상체는 고혈압, 혈액 저류, 저알부민혈증, 또는 고지혈증의 위험 인자 중 하나 이상을 가질 수 있다. RVO와 연관된 위험 인자는 죽상동맥경화증, 당뇨병, 높은 혈압(고혈압) 및 다른 눈 병증, 예컨대 녹내장, 황반 부종 또는 초자체 출혈을 포함한다.

[0086] 몇몇 실시형태에서, 대상체는 DME에 대한 또 다른 치료와 조합되어 본 명세서에 기재된 바대로 항체에 의해 치료될 수 있다. DME에 대한 치료의 비제한적인 예는 레이저 광응고법, 스테로이드, VEGF 경로 표적화 물질(예를 들어, Lucentis(등록상표)(라니비주맙) 또는 Eylea(등록상표)(아프리베르셉트)) 및/또는 항-PDGF 물질을 포함한다.

[0087] 본 명세서에서 사용된 바와 같은 "유효량"은 단독으로 또는 하나 이상의 다른 활성제와 조합되어 대상체에서 치료학적 효과를 부여하도록 필요한 각각의 활성제의 양을 의미한다. 유효량은, 당해 분야의 당업자가 인식하는 것처럼, 치료하고자 하는 특정한 병증, 병증의 중등도, 나이, 신체 컨디션, 몸집, 성별 및 체중을 포함하는 개별 환자 매개변수, 치료의 기간, (있다면) 병행 치료의 성질, 특정한 투여 경로, 및 보건 실행자의 지식 및 전문지식 내의 유사한 인자에 따라 변한다. 이 인자는 당해 분야의 당업자에게 널리 공지되어 있고, 단지 일상적 실험으로 해결될 수 있다. 개별 성분의 최대 용량 또는 이들의 조합, 즉 충분한 의학 판단에 따라 가장 높은 안전한 용량이 사용되는 것이 일반적으로 바람직하다. 그러나, 당해 분야의 당업자는, 환자가 의학적 이유, 정신적 이유 또는 실질적으로 임의의 다른 이유로 더 낮은 용량 또는 관용적 용량을 고집하는 것으로 이해할 것이다.

[0088] 반감기와 같은 실증적 고려는 일반적으로 투약량의 결정에 기여할 것이다. 예를 들어, 인간 면역계와 상용성인 항체, 예컨대 인간화 항체 또는 완전 인간 항체는 항체의 반감기를 연장하고, 항체가 숙주의 면역계에 의해 공격받는 것을 막기 위해 사용될 수 있다. 투여의 빈도는 치료 기간에 걸쳐 결정되고 조정될 수 있고, 반드시 아니지만 일반적으로 DME의 치료 및/또는 억제 및/또는 경감 및/또는 지연에 기초한다. 대안적으로, 항-PK1의 지속적인 연속적 방출 제형이 적절할 수 있다. 지속적인 방출을 성취하기 위한 다양한 제형 및 장치가 당해 분야에 공지되어 있다.

[0089] 일 예에서, 본 명세서에 기재된 항-PK1 항체에 대한 투약량은 항체의 하나 이상의 투여(들)를 받는 개인에서 실증적으로 결정될 수 있다. 개인은 길항제의 증분 투약량을 받는다. 길항제의 효능을 평가하기 위해, 망막 질환의 표시자가 뒤따를 수 있다.

[0090] 일반적으로, 본 명세서에 기재된 임의의 항체의 투여를 위해, 초기 후보 투약량은 약 2mg/kg일 수 있다. 본 개시내용의 목적을 위해, 통상적인 1일 투약량은 상기 언급된 인자에 따라 0.1 μ g/kg 내지 3 μ g/kg 내지 30 μ g/kg 내지 300 μ g/kg 내지 3mg/kg, 내지 30mg/kg 내지 100mg/kg 이상 중 임의의 범위일 것이다. 수일 또는 그 이상의 반복 투여를 위해, 컨디션에 따라, 원하는 증상의 억제가 발생할 때까지 또는 DME, 또는 이의 증상을 경감시키기 위해 충분한 치료학적 수치가 성취될 때까지 치료가 지속된다. 예시적인 투약 섭생은 약 2mg/kg의 초기 용량, 이어서 항체의 약 1mg/kg의 매주 유지 용량, 또는 이어서 격주 약 1mg/kg의 유지 용량을 투여하는 것을 포함한다. 그러나, 다른 투약량 섭생은 의사가 성취하기를 원하는 약동학적 감도의 패턴에 따라 유용할 수 있다. 예를 들어, 1주 1-4회의 투약이 고려된다. 몇몇 실시형태에서, 약 3 μ g/mg 내지 약 2mg/kg(예컨대 약 3 μ g/mg, 약 10 μ g/mg, 약 30 μ g/mg, 약 100 μ g/mg, 약 300 μ g/mg, 약 1mg/kg 및 약 2mg/kg)의 범위의 투약을 이용할 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 투약 빈도는 매주 1회, 2주 1회, 4주 1회, 5주 1회, 6주 1회, 7주 1회, 8주 1회, 9주 1회 또는 10주 1회; 또는 1달 1회, 2달 1회, 또는 3달 1회, 또는 그 이상이다. 이 치료의 진행은 종래의 기법 및 검정에 의해 용이하게 모니터링된다. 투약 섭생(사용된 항체를 포함)은 시간에 따라 변할 수 있다.

[0091] 몇몇 실시형태에서, 정상 체중의 성인 환자의 경우, 약 0.3 내지 5.00mg/kg의 범위의 용량을 투여할 수 있다. 특정한 투약량 섭생, 즉 용량, 시기 및 반복은 특정한 개인 및 그 개인의 의학 병력, 및 개별 물질의 특성(예컨대, 물질의 반감기 및 당해 분야에 널리 공지된 다른 고려사항)에 따라 달라질 것이다.

- [0092] 본 개시내용의 목적을 위해, 항-PKα1 항체의 적절한 투약량은 사용된 특정한 항체(또는 이의 조성물), 망막 질환(예를 들어, DME, AMD, RVO, 포도막염, 내안구염 또는 PCV)의 유형 및 중증도, 항체가 예방학적 또는 치료학적 목적을 위해 투여되는지의 여부, 이전의 치료, 환자의 임상학적 병력 및 길항제에 대한 반응 및 주치의의 재량에 따라 달라질 것이다. 통상적으로 임상적으 원하는 결과를 성취하는 투약량이 도달될 때까지 항-PKα1 항체를 투여할 것이다. 항-PKα1 항체의 투여는 예를 들어 수혜자의 생리학적 컨디션, 투여의 목적이 치료학적 또는 예방학적인지의 여부 및 숙련자에게 공지된 다른 인자에 따라 연속적 또는 간헐적일 수 있다. 항-PKα1 항체의 투여는 미리 결정된 기간에 걸쳐 본질적으로 연속적일 수 있거나, 예를 들어 망막 질환을 발생시키기 전에, 발생시키는 동안에 또는 발생시킨 후에 일련의 이격 용량일 수 있다.
- [0093] 본 명세서에서 사용되는 바대로, 용어 "치료하는"은 망막 질환, 질환의 증상, 또는 질환에 대한 소인을 고치거나, 치유하거나, 경감시키거나, 완화하거나, 변경하거나, 해소하거나, 향상시키거나, 개선하거나, 영향을 미칠 목적으로, 망막 질환(예를 들어, DME, AMD, RVO, 포도막염, 내안구염 또는 PCV)의 증상, 또는 망막 질환에 대한 소인을 갖는 대상체에 대한 하나 이상의 활성제를 포함하는 조성물의 도포 또는 투여를 의미한다.
- [0094] 망막 질환, 예컨대 DME, AMD, RVO, 포도막염, 내안구염 또는 PCV의 경감은 질환의 발생 또는 진행의 지연, 또는 질환 중증도의 감소를 포함한다. 질환의 경감은 치유 결과를 반드시 요하지 않는다. 본 명세서에서 사용되는 바대로, 망막 질환의 발생의 "지연"은 질환의 진행을 미루거나/미루고, 방해하거나/하고, 느리게 하거나/하고, 지연시키거나/시키고, 안정화시키거나/시키고, 연기시키는 것을 의미한다. 이 지연은 치료되는 개인 및/또는 질환의 병력에 따라 다양한 기간일 수 있다. 질환의 발생을 "지연시키거나" 경감시키거나, 질환의 발병을 지연시키는 방법은, 이 방법을 사용하지 않는 것과 비교할 때, 소정의 시간 프레임에서 질환의 하나 이상의 증상을 발생시킬 확률을 감소시키고/시키거나, 소정의 시간 프레임에서 증상의 정도를 감소시키는 방법이다. 이러한 비교는 통계학적으로 중요한 결과를 제공하기에 충분한 다수의 대상체를 사용하여 통상적으로 임상학적 연구에 기초한다.
- [0095] 질환의 "발생" 또는 "진행"은 질환의 초기 표출 및/또는 뒤이은 진행을 의미한다. 질환의 발생은 당해 분야에 널리 공지된 표준 임상학적 기법을 이용하여 검출 가능하고 평가될 수 있다. 그러나, 발생은 또한 검출 가능하지 않을 수 있는 진행을 의미한다. 본 개시내용의 목적을 위해, 발생 또는 진행은 증상의 생물학적 과정을 의미한다. "발생"은 발생, 재발 및 발병을 포함한다. 본 명세서에서 사용된 바대로, 망막 질환의 "발병" 또는 "발생"은 초기 발병 및/또는 재발을 포함한다.
- [0096] 몇몇 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 항-PKα1 항체는 PKα1의 활성을 생체내 적어도 20%(예를 들어, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% 이상) 저해하기에 충분한 양으로 치료를 필요로 하는 대상체에게 투여된다. 다른 실시형태에서, 항체는 PKα1 수치를 적어도 20%(예를 들어, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% 이상) 감소시키는 데 효과적인 양으로 투여된다.
- [0097] 의학 분야의 당업자에게 공지된 종래의 방법은 치료하고자 하는 질환의 유형 또는 질환의 부위에 따라 대상체에게 약제학적 조성물을 투여하도록 사용될 수 있다. 이 조성물은 다른 종래의 경로를 통해, 예를 들어 경구로, 비경구로, 흡입 스프레이에 의해, 국소로, 직장으로, 비강으로, 협측으로, 질내로 또는 이식 저장소를 통해 또한 투여될 수 있다. 본 명세서에서 사용된 바대로 용어 "비경구"는 유리체내, 피하, 피내, 정맥내, 근육내, 관절강내, 동맥내, 활액내, 흉골내, 척추강내, 병변내 및 두개내 주사 또는 점적주사 기법을 포함한다. 또한, 이것은 예컨대 1개월, 3개월 또는 6개월 데포트 주사용 또는 생분해성 재료 및 방법을 사용하여 주사용 데포트 투여 경로를 통해 대상체에게 투여될 수 있다. 조성물은 본 명세서에 기재된 바대로 치료가 필요한 환자의 눈에 투여된다. 일 예에서, 이것은 국소로 투여된다. 또 다른 예에서, 이것은 안와내 또는 유리체내 주사된다.
- [0098] 주사용 조성물은 다양한 담체, 예컨대 식물성 오일, 다이메틸아세트아마이드, 다이메틸폼아마이드, 에틸 락테이트, 에틸 카보네이트, 아이소프로필 미리스테이트, 에탄올 및 폴리올(글라이세롤, 프로필렌 글라이콜, 액체 폴리에틸렌 글라이콜 등)을 함유할 수 있다. 정맥내 주사를 위해, 수용성 항체는 드립 방법에 의해 투여될 수 있고, 이에 의해 항체 및 생리학적으로 허용되는 부형제를 함유하는 약제학적 제형이 점적주사된다. 생리학적으로 허용되는 부형제는 예를 들어 5% 텍스트로스, 0.9% 식염수, 링거액 또는 다른 적합한 부형제를 포함할 수 있다. 근육내 제제, 예를 들어 항체의 적합한 가용성 염 형태의 무균 제형은 약제학적 부형제, 예컨대 주사용수, 0.9% 식염수, 또는 5% 글루코스 용액 중에 용해되거나 투여될 수 있다.
- [0099] 일 실시형태에서, 항-PKα1 항체는 부위 특이적 또는 표적화 국소 전달 기법을 통해 투여된다. 부위 특이적 또는 표적화 국소 전달 기법의 예는 항-PKα1 항체의 다양한 이식형 데포트 공급원 또는 국소 전달 카테터, 예컨대 인퓨전 카테터, 유치 카테터, 또는 니들 카테터, 합성 그래프트, 외막 랩(adventitial wrap), 셉트 및 스텐트 또는

다른 이식형 장치, 부위 특정한 캐리어, 직접 주사, 또는 직접 도포를 포함한다. 예를 들어, PCT 공보 제WO 00/53211호 및 미국 특허 제5,981,568호를 참조한다.

[0100] 안티센스 폴리뉴클레오타이드, 발현 벡터, 또는 서브게놈 폴리뉴클레오타이드를 함유하는 치료학적 조성물의 표적화 전달을 또한 사용할 수 있다. 수용체 매개 DNA 전달 기법은 예를 들어 문헌[Findeis et al., Trends Biotechnol. (1993) 11:202; Chiou et al., Gene Therapeutics: Methods And Applications Of Direct Gene Transfer (J. A. Wolff, ed.) (1994); Wu et al., J. Biol. Chem. (1988) 263:621; Wu et al., J. Biol. Chem. (1994) 269:542; Zenke et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1990) 87:3655; Wu et al., J. Biol. Chem. (1991) 266:338]에 기재되어 있다.

[0101] 폴리뉴클레오타이드(예를 들어, 본 명세서에 기재된 항-PKα1 항체를 코딩하는 것)를 함유하는 치료학적 조성물은 유전자 치료 프로토콜에서 국소 투여를 위해 약 100ng 내지 약 200mg의 DNA의 범위로 투여된다. 몇몇 실시형태에서, 약 500ng 내지 약 50mg, 약 1μg 내지 약 2mg, 약 5μg 내지 약 500μg, 및 약 20μg 내지 약 100μg의 DNA 또는 그 이상의 농도 범위를 유전자 치료 프로토콜 동안 또한 사용할 수 있다.

[0102] 본 명세서에 기재된 항-PKα1 항체는 유전자 전달 비히클을 사용하여 전달될 수 있다. 유전자 전달 비히클은 바이러스 또는 비바이러스 기원일 수 있다(일반적으로, 문헌[Jolly, Cancer Gene Therapy (1994) 1:51; Kimura, Human Gene Therapy (1994) 5:845; Connelly, Human Gene Therapy (1995) 1:185; 및 Kaplitt, Nature Genetics (1994) 6:148]을 참조한다). 이러한 코딩 서열의 발현은 내인성 포유동물 또는 비상동성 프로모터 및/또는 인핸서를 사용하여 유도될 수 있다. 코딩 서열의 발현은 구성적 또는 조절될 수 있다.

[0103] 원하는 폴리뉴클레오타이드의 전달 및 원하는 세포에서의 발현을 위한 바이러스계 벡터는 당해 분야에 널리 공지되어 있다. 예시적인 바이러스계 비히클은 재조합 레트로바이러스(예를 들어, PCT 공보 제WO 90/07936호; 제WO 94/03622호; 제WO 93/25698호; 제WO 93/25234호; 제WO 93/11230호; 제WO 93/10218호; 제WO 91/02805호; 미국 특허 제5,219,740호 및 제4,777,127호; GB 특허 제2,200,651호; 및 EP 특허 제0 345 242호 참조), 알파바이러스계 벡터(예를 들어, 신드비스 바이러스 벡터, 셈리키 포레스트(Semliki forest) 바이러스(ATCC VR-67; ATCC VR-1247), 로스 리버(Ross River) 바이러스(ATCC VR-373; ATCC VR-1246) 및 베네주엘라 말 뇌염(Venezuelan equine encephalitis) 바이러스(ATCC VR-923; ATCC VR-1250; ATCC VR 1249; ATCC VR-532)) 및 아데노 관련 바이러스(AAV) 벡터(예를 들어, PCT 공보 제WO 94/12649호, 제WO 93/03769호; 제WO 93/19191호; 제WO 94/28938호; 제WO 95/11984호 및 제WO 95/00655호 참조)를 포함하지만, 이들로 제한되지는 않는다. 문헌[Curiel, Hum. Gene Ther. (1992) 3:147]에 기재된 사멸된 아데노바이러스에 연결된 DNA의 투여를 또한 이용할 수 있다.

[0104] 단독의 사멸된 아데노바이러스에 연결되지 않거나 연결된 다중양이온성 응축 DNA(예를 들어, 문헌[Curiel, Hum. Gene Ther. (1992) 3:147] 참조); 리간드 연결 DNA(예를 들어, 문헌[Wu, J. Biol. Chem. (1989) 264:16985] 참조); 진핵 세포 전달 비히클 세포(예를 들어, 미국 특허 제5,814,482호; PCT 공보 제WO 95/07994호; 제WO 96/17072호; 제WO 95/30763호; 및 제WO 97/42338호 참조) 및 핵 전하 중화 또는 세포막과의 융합(이들로 제한되지는 않음)을 포함하는 비바이러스 전달 비히클 및 방법을 또한 이용할 수 있다. 네이키드 DNA를 또한 이용할 수 있다. 예시적인 네이키드 DNA 도입 방법은 PCT 공보 제WO 90/11092호 및 미국 특허 제5,580,859호에 기재되어 있다. 유전자 전달 비히클로서 작용할 수 있는 리포솜은 미국 특허 제5,422,120호; PCT 공보 제WO 95/13796호; 제WO 94/23697호; 제WO 91/14445호; 및 EP 특허 제0524968호에 기재되어 있다. 추가의 접근법은 문헌[Philip, Mol. Cell. Biol. (1994) 14:2411, 및 Woffendin, Proc. Natl. Acad. Sci. (1994) 91:1581]에 기재되어 있다.

[0105] 본 명세서에 기재된 방법에서 사용되는 특정한 투약량 섭생, 즉 용량, 시기 및 반복은 특정한 대상체 및 그 대상체의 의학 병력에 따라 달라질 것이다.

[0106] 몇몇 실시형태에서, 하나 초과항-PKα1 항체, 또는 항-PKα1 항체와 또 다른 적합한 치료제의 조합을 치료를 필요로 하는 대상체에게 투여할 수 있다. 길항제는 서로 동일한 유형 또는 상이한 유형일 수 있다. 항-PKα1 항체는 물질의 효효성을 증대시키고/시킴거나 보완하도록 작용하는 다른 물질과 함께 또한 사용될 수 있다.

[0107] 망막 질환에 대한 치료 효능은 당해 분야에 널리 공지된 방법에 의해, 예를 들어 플루오레세인 혈관조영검사에 의해 평가될 수 있다.

[0108] 항체 제조

[0109] 본 명세서에 기재된 바대로 PKα1에 결합할 수 있는 항체는 당해 분야에 공지된 임의의 방법에 의해 이루어질 수

있다. 예를 들어, 문헌[Harlow and Lane, (1988) Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, New York]을 참조한다.

[0110] 몇몇 실시형태에서, 표적 항원에 특이적인 항체(예를 들어, 인간 PKa1 또는 이의 촉매 도메인)는 종래의 하이브리도마 기술에 의해 만들어질 수 있다. KLH와 같은 운반 단백질에 임의로 커플링된, 전장 표적 항원 또는 이의 단편은 이 항원에 결합하는 항체를 생성하기 위한 숙주 동물을 면역화하도록 사용될 수 있다. 숙주 동물의 면역화의 경로 및 스케줄은, 본 명세서에 추가로 기재된 바대로, 항체 자극 및 생성에 대해 확립된 종래의 기법을 일반적으로 준수한다. 마우스, 인간화 및 인간 항체를 생성하기 위한 일반적인 기법은 당해 분야에 공지되어 있고, 본 명세서에 기재되어 있다. 인간 또는 이로부터의 항체 생성 세포를 포함하는 임의의 포유동물 대상체는 인간 하이브리도마 세포주를 포함하는 포유동물의 생성을 위한 기준으로서 작용하도록 조작될 수 있는 것으로 고려된다. 통상적으로, 숙주 동물은 본 명세서에 기재된 바대로 일정한 양의 면역원이 복강내로, 근육내로, 경구로, 피하로, 족부로 및/또는 진피내로 접종된다.

[0111] 하이브리도마는 문헌[Kohler, B. and Milstein, C. (1975) Nature 256:495-497]의 일반적인 체세포 하이브리드화 기법을 이용하여 또는 문헌[Buck, D. W., et al., In Vitro, 18:377-381 (1982)]에 의해 변형된 바대로 림프구 및 불활화 골수종 세포로부터 제조될 수 있다. X63-Ag8.653 및 세포 유통 센터(Cell Distribution Center), 솔트 연구소(Salk Institute)(미국 캘리포니아주 샌 디에고)로부터의 것(이들로 제한되지는 않음)을 포함하는, 구입 가능한 골수종 세포주를 하이브리드화에서 사용할 수 있다. 일반적으로, 이 기법은 융합유도물질(fusogen), 예컨대 폴리에틸렌 글라이콜을 사용하여, 또는 당해 분야의 당업자에게 널리 공지된 전기 수단에 의해 골수종 세포 및 림프구성 세포를 융합하는 것을 포함한다. 융합 후, 세포를 융합 배지로부터 분리하고 선택적 성장 배지, 예컨대 하이포산틴-아미노프테린-티미딘(hypoxanthine-aminopterin-thymidine: HAT) 배지 중에 성장시켜서, 비하이브리드화 모 세포를 제거한다. 혈청에 의해 보충되거나 보충되지 않은, 본 명세서에 기재된, 임의의 배지는 단일클론 항체를 분비하는 하이브리도마를 배양하기 위해 사용될 수 있다. 세포 융합 기법에 대한 또 다른 대안으로서, EBV 불활화 B 세포는 본 명세서에 기재된 항-PKa1 단일클론 항체를 생성하도록 사용될 수 있다. 하이브리도마는 원하는 경우 증식되고 서브클로닝되고, 상청액은 종래의 면역검정 절차(예를 들어, 방사면역검정, 효소 면역검정 또는 형광 면역검정)에 의해 항-면역원 활성화에 대해 평가된다.

[0112] 항체의 공급원으로서 사용될 수 있는 하이브리도마는 PKa1 활성을 방해할 수 있는 단일클론 항체를 생성하는 모 하이브리도마의 모든 유도체, 자손 세포를 포함한다. 이러한 항체를 생성하는 하이브리도마는 공지된 절차를 이용하여 실험실내 또는 생체내 성장될 수 있다. 단일클론 항체는 원하는 경우 종래의 면역글로불린 정제 절차, 예컨대 황산암모늄 침전, 겔 전기영동, 투석, 크로마토그래피 및 한외여과에 의해 배양 배지 또는 신체 유체로부터 분리될 수 있다. 원치 않는 활성은, 존재하는 경우, 예를 들어 고상에 부착된 면역원으로 이루어진 흡착제 위로의 제조의 실행 및 면역원으로부터 원하는 항체의 용리 또는 방출에 의해 제거될 수 있다. 이작용성제 또는 유도체화제, 예를 들어 말레이미도벤조일 설포숙신이미드 에스터(시스테인 잔기를 통한 접합), N-하이드록시숙신이미드(라이신 잔기를 포함), 글루타르알데하이드, 숙신산 무수물, SOCl₂, 또는 R1N=C=NR(여기서, R 및 R1은 상이한 알킬기임)를 사용한, 키홀 림페트(keyhole limpet) 헤모사이아닌, 혈청 알부민, 소 티로글로불린, 또는 대두 트립신 저해제와 같은, 면역화시키고자 하는 종에서 면역원성인 단백질에 접합된 표적 아미노산 서열을 함유하는 표적 항원 또는 단편에 의한 숙주 동물의 면역화는 항체(예를 들어, 단일클론 항체)의 집단을 생성시킬 수 있다.

[0113] 원하는 경우, 관심 있는(예를 들어, 하이브리도마에 의해 생성된) 항체(단일클론 또는 다중클론)는 서열분석될 수 있고, 폴리뉴클레오타이드 서열은 이후 발현 또는 전파를 위해 벡터로 클로닝될 수 있다. 관심 있는 항체를 코딩하는 서열은 숙주 세포에서 벡터에서 유지될 수 있고, 숙주 세포는 이후 미래의 사용을 위해 증식되고 냉동될 수 있다. 대안으로, 폴리뉴클레오타이드 서열은 항체를 "인간화"하기 위해 또는 친화도(친화도 성숙), 또는 항체의 다른 특징을 개선하기 위해 유전자 조작에 사용될 수 있다. 예를 들어, 항체가 임상 실험 및 인간에서의 치료에서 사용되는 경우, 면역 반응을 피하기 위해 불변 영역은 인간 불변 영역을 더 닮도록 조작될 수 있다. 표적 항원에 대한 더 높은 친화도 및 PKa1의 활성을 저해하는 데 있어서의 더 높은 효능을 얻기 위해 항체 서열을 유전적으로 조작하는 것이 바람직할 수 있다. 하나 이상의 폴리뉴클레오타이드 변화가 항체에 이루어질 수 있고, 표적 항원에 대한 이의 결합 특이성을 여전히 유지할 수 있다는 것이 당해 분야의 당업자에게 명확할 것이다.

[0114] 다른 실시형태에서, 특이적 인간 면역글로불린 단백질을 발현하도록 조작된 상업적으로 구입 가능한 마우스를 사용함으로써 완전 인간 항체를 얻을 수 있다. 더 바람직한(예를 들어, 완전 인간 항체) 또는 더 튼튼한 면역 반응을 생성하도록 설계된 형질전환 동물이 인간화 또는 인간 항체의 생성에 또한 사용될 수 있다. 이러한 기술

의 예는 암젠, 인코포레이션(Amgen, Inc.)(캘리포니아주 프레몬트)사제의 제노마우스(Xenomouse)(등록상표) 및 메다렉스, 인코포레이션(Medarex, Inc.)(뉴저지주 프린스턴)사제의 HuMAb-Mouse(등록상표) 및 TC Mouse(상표명)이다. 또 다른 대안으로, 파지 디스플레이 또는 효모 기술에 의해 재조합으로 항체를 만들 수 있다. 예를 들어, 미국 특허 제5,565,332호; 제5,580,717호; 제5,733,743호; 및 제6,265,150호; 및 문헌[Winter et al., (1994) Annu. Rev. Immunol. 12:433-455]을 참조한다. 대안적으로, 파지 디스플레이 기술(McCafferty et al., (1990) Nature 348:552-553)은 비면역화 공여자로부터의 면역글로불린 가변(V) 도메인 유전자 레퍼토리로부터의 인간 항체 및 항체 단편을 실험실내 생성하도록 사용될 수 있다.

[0115] 온전한 항체(전장 항체)의 항원 결합 단편은 일상적 방법에 의해 제조될 수 있다. 예를 들어, F(ab')₂ 단편은 F(ab')₂ 단편의 이황화 브릿지를 환원시킴으로써 생성될 수 있는 Fab 단편, 및 항체 분자의 펩신 분해에 의해 제조될 수 있다.

[0116] 유전 조작된 항체, 예컨대 인간화 항체, 키메라 항체, 단쇄 항체, Fab 및 이중특이적 항체는 예를 들어 종래의 재조합 기술을 통해 제조될 수 있다. 일 예에서, 표적 항원에 특이적인 단일클론 항체를 코딩하는 DNA는 종래의 절차를 이용하여(예를 들어, 단일클론 항체의 중쇄 및 경쇄를 코딩하는 유전자에 특이적으로 결합할 수 있는 올리고뉴클레오타이드 프로브를 사용함으로써) 용이하게 단리되고 서열분석될 수 있다. 하이브리도마 세포는 이러한 DNA의 바람직한 공급원으로서 작용한다. 단리되면, DNA는 하나 이상의 발현 벡터로 위치할 수 있고, 이 벡터는 이후 재조합 숙주 세포에서 단일클론 항체의 합성을 얻기 위해, 숙주 세포, 예컨대 이. 콜라이 세포, 유인원 COS 세포, 중국 햄스터 난소(CHO) 세포, 또는 골수종 세포로 형질감염된다(그렇지 않으면, 면역글로불린 단백질을 생성하지 않음). 예를 들어, PCT 공보 제WO 87/04462호를 참조한다. 이후, 예를 들어 상동성 쪼개기 서열[Morrison et al., (1984) Proc. Nat. Acad. Sci. 81:6851] 대신에 인간 중쇄 및 경쇄 불변 도메인에 대해 코딩 서열을 치환함으로써, 또는 비면역글로불린 폴리펩타이드에 대한 코딩 서열의 전부 또는 일부를 면역글로불린 코딩 서열에 공유 연결시킴으로써, DNA가 변형될 수 있다. 이러한 방식으로, 표적 항원의 결합 특이성을 갖는, 유전 조작된 항체, 예컨대 "키메라" 또는 "하이브리드" 항체가 제조될 수 있다.

[0117] Fab를 제조하기 위한 기법은 또한 당해 분야에 공지되어 있다(예를 들어 PCT 공보 제WO1993006217호 및 제WO2005038031호(참조문헌으로 본 명세서에서 포함됨) 참조). 다양한 숙주-발현 벡터 시스템은 Fab를 재조합으로 발현하도록 이용될 수 있다. 이러한 숙주-발현 시스템은, 적절한 뉴클레오타이드 코딩 서열에 의해 형질변환 또는 형질감염될 때, 본 명세서에 기재된 Fab를 발현할 수 있는 세포를 나타낸다. 이것은 본 명세서에 기재된 Fab 항체를 코딩하는 코딩 서열을 함유하는 재조합 박테리오파지 DNA, 플라스미드 DNA 또는 코스미드 DNA 발현 벡터에 의해 형질변환된 미생물, 예컨대 박테리아(예를 들어, 이. 콜라이 및 비. 서브틸리스); 본 명세서에 기재된 Fab 항체를 코딩하는 서열을 함유하는 재조합 효모 발현 벡터에 의해 형질변환된 효모(예를 들어, 사카로마이세스 피치아); 본 명세서에 기재된 Fab 항체를 코딩하는 서열을 함유하는 재조합 바이러스 발현 벡터(예를 들어, 바클로바이러스)에 의해 감염된 곤충 세포 시스템; 본 명세서에 기재된 Fab 항체를 코딩하는 서열을 함유하는 재조합 바이러스 발현 벡터(예를 들어, 꽃양배추 모자이크 바이러스(CaMV) 및 담배 모자이크 바이러스(TMV)에 의해 감염되거나 재조합 플라스미드 발현 벡터(예를 들어, Ti 플라스미드)에 형질변환된 식물 세포 시스템; 또는 본 명세서에 기재된 Fab 항체를 코딩하는 재조합 발현 작제물을 보유하는 포유동물 세포 시스템(예를 들어, COS, CHO, BHK, 293, 293T, 3T3 세포), 림프성 세포를 포함하지만, 이들로 제한되지는 않는다. 몇몇 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 Fab는 재조합으로 발현된 이 콜라이이다. Fab가 재조합으로 발현되면, 이것은 폴리펩타이드 또는 항체의 정제를 위한 당해 분야에 공지된 임의의 방법에 의해, 예를 들어 크로마토그래피(예를 들어, 이온 교환, 친화도 또는 사이징 칼럼 크로마토그래피), 원심분리, 차등 용해도에 의해, 또는 폴리펩타이드 또는 항체의 정제를 위한 임의의 다른 표준 기법에 의해 정제될 수 있다.

[0118] "키메라 항체"의 생성에 개발된 기법은 당해 분야에 널리 공지되어 있다. 예를 들어, 문헌[Morrison et al. (1984) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81, 6851; Neuberger et al. (1984) Nature 312, 604; 및 Takeda et al. (1984) Nature 314:452]을 참조한다.

[0119] 인간화 항체를 작제하는 방법은 당해 분야에 또한 널리 공지되어 있다. 예를 들어, 문헌[Queen et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 86:10029-10033 (1989)]을 참조한다. 일 예에서, 모 비인간 항체의 VH 및 VL의 가변 영역은 당해 분야에 공지된 방법에 따라 3차원 분자 모델링 분석으로 처리된다. 다음에, 정확한 CDR 구조의 형성에 중요한 것으로 예측되는 프레임워크 아미노산 잔기는 동일한 분자 모델링 분석을 이용하여 확인된다. 동시에, 모 비인간 항체의 것에 상동성인 아미노산 서열을 갖는 인간 VH 및 VL 사슬은 조사 쿼리(search query)로서 모 VH 및 VL 서열을 사용하여 임의의 항체 유전자 데이터베이스로부터 확인된다. 인간 VH 및 VL 역선택

유전자가 이후 선택된다.

[0120] 선택된 인간 엑셉터 유전자 내의 CDR 영역은 모 비인간 항체 또는 이의 기능적 변이체로부터의 CDR 영역으로 대체될 수 있다. 필요한 경우, CDR 영역과의 상호작용에 중요한 것(상기 설명 참조)으로 예측되는 모 사슬의 프레임워크 영역 내의 잔기는 인간 엑셉터 유전자에서 상응하는 잔기를 치환하도록 사용될 수 있다.

[0121] 단쇄 항체는 중쇄 가변 영역을 코딩하는 뉴클레오타이드 서열 및 경쇄 가변 영역을 코딩하는 뉴클레오타이드 서열을 연결함으로써 재조합 기술을 통해 제조될 수 있다. 바람직하게는, 가요성 링커는 2개의 가변 영역 사이에 혼입된다. 대안적으로, 단쇄 항체의 생성에 기재된 기법(미국 특허 제4,946,778호 및 제4,704,692호)은 파지 또는 효모 scFv 라이브러리를 제조하도록 적합화될 수 있고, PKa1에 특이적인 scFv 클론은 일상적 절차에 따라 라이브러리로부터 확인될 수 있다. 포지티브 클론은 PKa1 활성을 저해하는 것을 확인하기 위해 추가의 스크리닝으로 처리될 수 있다.

[0122] 당해 분야에 공지되고 본 명세서에 기재된 방법에 따라 얻은 항체는 당해 분야에 널리 공지된 방법을 이용하여 규명될 수 있다. 예를 들어, 일 방법은 항원이 결합하는 에피토프, 또는 "에피토프 맵핑"을 확인하는 것이다. 예를 들어 문헌[Harlow and Lane, Using Antibodies, a Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., 1999]의 11장에 기재된 바와 같은, 항체-항원 복합체의 결정 구조를 밝혀내는 것, 경쟁 검정, 유전자 단편 발현 검정 및 합성 펩타이드 기반 검정을 포함하는, 단백질 상의 에피토프의 위치를 맵핑하고 규명하기 위한 당해 분야에 공지된 많은 방법이 존재한다. 추가의 예에서, 에피토프 맵핑은 항체가 결합하는 서열을 결정하기 위해 이용될 수 있다. 에피토프는 선형 에피토프, 즉 아미노산의 단일 스트레치에 함유된 것, 또는 단일 스트레치(1차 구조 선형 서열)에 반드시 함유될 필요는 없는 아미노산의 3차원 상호작용에 의해 형성된 입체형태 에피토프일 수 있다. 다양한 길이(예를 들어, 적어도 4개 내지 6개의 아미노산 길이)의 펩타이드는 (예를 들어, 재조합으로) 단리되고 합성될 수 있고, 항체와의 결합 검정에 사용될 수 있다. 또 다른 예에서, 항체가 결합하는 에피토프는 표적 항원 서열로부터 유래한 중첩 펩타이드를 사용하고 항체에 의한 결합을 결정함으로써 전신 스크리닝에서 결정될 수 있다. 유전자 단편 발현 검정에 따라, 표적 항원을 코딩하는 오픈 리딩 프레임(open reading frame)은 램덤으로 또는 특이적 유전자 작제에 의해 단편화되고, 시험하고자 하는 항체와의 항원의 발현된 단편의 반응성이 결정된다. 유전자 단편은 예를 들어 PCR에 의해 제조되고, 이후 방사성 아미노산의 존재 하에 실험실내 단백질로 전사되고 번역될 수 있다. 방사성 표지된 항원 단편에 대한 항체의 결합은 이후 면역침전 및 겔 전기영동에 의해 결정된다. 소정의 에피토프는 파지 입자(파지 라이브러리)의 표면에 디스플레이된 랜덤 펩타이드 서열의 큰 라이브러리를 사용함으로써 또한 확인될 수 있다. 대안적으로, 중첩 펩타이드 단편의 한정된 라이브러리는 단순한 결합 검정에서 시험 항체에 대한 결합에 대해 시험될 수 있다. 추가의 예에서, 에피토프 결합에 필요하고/하거나, 충분하고/하거나, 필수적인 잔기를 확인하기 위해, 항원 결합 도메인의 돌연변이유발, 도메인 스와핑 실험 및 알려진 주사 돌연변이유발을 수행할 수 있다. 예를 들어, PKa1 폴리펩타이드의 다양한 단편이, 밀접히 관련되지만 항원과 관련하여 구별되는 단백질(예컨대, 뉴로트로핀 단백질 패밀리의 또 다른 구성원)로부터의 서열로 대체(스와핑)된, 표적 항원의 돌연변이체를 사용하여 도메인 스와핑 실험을 수행할 수 있다. 돌연변이체 PKa1(예를 들어, 하기 실시예 2에 기재된 돌연변이체)에 대한 항체의 결합을 평가함으로써, 항체 결합에 대한 특정한 항원 단편의 중요성을 평가할 수 있다.

[0123] 대안적으로, 항체가 다른 항체와 동일한 에피토프에 결합하는지를 결정하기 위해 동일한 항원에 결합하는 것으로 공지된 다른 항체를 사용하여 경쟁 검정을 수행할 수 있다. 경쟁 검정은 당해 분야의 당업자에게 널리 공지되어 있다.

[0124] 항-PKa1 항체가 본 명세서에 기재된 PKa1에서 하나 이상의 특이적 잔기/분절에 결합하는지를 결정하기 위해 당해 분야에 공지된 임의의 적합한 방법, 예를 들어 본 명세서에 기재된 에피토프 맵핑 방법이 적용될 수 있다. 추가로, 항체와 PKa1에서의 하나 이상의 한정된 잔기와의 상호작용은 일상적 기술에 의해 결정될 수 있다. 예를 들어, 결정 구조는 하기 실시예 1에 개시된 방법에 따라 결정될 수 있고, PKa1에서의 잔기와 항체에서의 1개 이상의 잔기 사이의 거리는 이에 따라 결정될 수 있다. 이러한 거리에 기초하여, PKa1에서의 특이적 잔기가 항체에서의 1개 이상의 잔기와 상호작용하는지를 결정할 수 있다. 추가로, 또 다른 표적, 예컨대 돌연변이체 PKa1과 비교하여 PKa1에 대한 후보 항-PKa1 항체의 우선적 결합을 결정하기 위해 적합한 방법, 예컨대 경쟁 검정 및 표적 돌연변이유발 검정이 적용될 수 있다.

[0125] **약제학적 조성물**

[0126] 상기 기재된 항-PKa1 항체 중 하나 이상은 완충제를 포함하는 약학적으로 허용되는 담체(부형제)와 혼합되어, DME를 경감시키기 위해 사용하기 위한 약제학적 조성물을 형성할 수 있다. "허용되는"은 담체가 조성물의 활성

성분과 상용성이고(그리고 바람직하게는, 활성 성분을 안정화시킬 수 있음), 치료하고자 하는 대상체에게 해롭지 않아야 한다는 것을 의미한다. 완충제를 포함하는 약학적으로 허용되는 부형제(담체)는 당해 분야에 널리 공지되어 있다. 예를 들어, 문헌[Remington: The Science and Practice of Pharmacy 20th Ed. (2000) Lippincott Williams and Wilkins, Ed. K. E. Hoover]을 참조한다. 일 예에서, 본 명세서에 기재된 약제학적 조성물은 활성 PKal의 상이한 에피토프/잔기를 인식하는 하나 초과와 항-PKal 항체를 함유한다.

[0127] 본 방법에서 사용하고자 하는 약제학적 조성물은 동결건조 제형 또는 수용액의 형태로 약학적으로 허용되는 담체, 부형제, 또는 안정화제를 포함할 수 있다. (Remington: The Science and Practice of Pharmacy 20th Ed. (2000) Lippincott Williams and Wilkins, Ed. K. E. Hoover). 허용되는 담체, 부형제, 또는 안정화제는 사용되는 투약량 및 농도에서 수혜자에게 비독성이고, 완충제, 예컨대 포스페이트, 시트레이트 및 다른 유기산; 아스코르브산 및 메티오닌을 포함하는 항산화제; 보존제(예컨대, 옥타데실다이메틸벤질 암모늄 클로라이드; 헥사메토늄 클로라이드; 벤즈알코늄 클로라이드, 벤즈에토늄 클로라이드; 페놀, 뷰틸 또는 벤질 알콜; 알킬 파라벤, 예컨대 메틸 또는 프로필 파라벤; 카테콜; 레소르시놀; 사이클로헥산올; 3-펜탄올; 및 m-크레솔); 저분자량(약 10개 미만의 잔기) 폴리펩타이드; 단백질, 예컨대 혈청 알부민, 젤라틴, 또는 면역글로불린; 친수성 중합체, 예컨대 폴리비닐피롤리돈; 아미노산, 예컨대 글라이신, 글루타민, 아스파라긴, 히스티딘, 아르기닌, 또는 라이신; 모노사카라이드, 다이사카라이드, 및 글루코스, 만노스 또는 텍스트란을 포함하는 다른 탄수화물; 킬레이트화제, 예컨대 EDTA; 당, 예컨대 수크로스, 만니톨, 트레할로스 또는 솔비톨; 염 형성 반대이온, 예컨대 나트륨; 금속 착물(예를 들어, Zn-단백질 착물); 및/또는 비이온성 계면활성제, 예컨대 트윈(TWEEN)(상표명), 플루로닉스(PLURONICS)(상표명) 또는 폴리에틸렌 글라이콜(PEG)을 포함할 수 있다. 약학적으로 허용되는 부형제는 본 명세서에 추가로 기재되어 있다.

[0128] 몇몇 예에서, 본 명세서에 기재된 약제학적 조성물은 항-PKal 항체를 함유하는 리포솜을 포함하고, 이것은 문헌[Epstein, et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82:3688 (1985); Hwang, et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4030 (1980)]; 및 미국 특허 제4,485,045호 및 제4,544,545호에 기재된 것처럼 당해 분야에 공지된 방법에 의해 제조될 수 있다. 순환 시간이 향상된 리포솜은 미국 특허 제5,013,556호에 개시되어 있다. 특히 유용한 리포솜은 포스파티딜콜린, 콜레스테롤 및 PEG 유도체화 포스파티딜에탄올아민(PEG-PE)을 포함하는 지질 조성물에 의한 역상 증발 방법에 의해 생성될 수 있다. 리포솜은 원하는 직경을 갖는 리포솜을 생성하기 위해 소정의 기공 크기의 필터를 통해 압출된다.

[0129] 항-PKal 항체는 예를 들어 코아세르베이션 기법 또는 계면 중합에 의해 제조된 마이크로캡슐, 예를 들어, 콜로이드성 약물 전달 시스템(예를 들어, 리포솜, 알부민 마이크로구, 마이크로에멀션, 나노-입자 및 나노캡슐) 또는 마크로에멀션 중의, 각각 하이드록시메틸셀룰로스 또는 젤라틴-마이크로캡슐 및 폴리-(메틸메타크릴레이트) 마이크로캡슐에 또한 포획될 수 있다. 이러한 기법은 당해 분야에 공지되어 있고, 예를 들어, 문헌[Remington, The Science and Practice of Pharmacy 20th Ed. Mack Publishing (2000)]을 참조한다.

[0130] 다른 예에서, 본 명세서에 기재된 약제학적 조성물은 지속 방출 포맷으로 제제화될 수 있다. 지속 방출 제제의 적합한 예는 항체를 함유하는 고체 소수성 중합체의 반투과성 매트릭스를 포함하고, 매트릭스는 성형 물품, 예를 들어 필름 또는 마이크로캡슐의 형태이다. 지속 방출 매트릭스의 예는 폴리에스터, 하이드로겔(예를 들어 폴리(2-하이드록시에틸-메타크릴레이트), 또는 폴리(비닐알콜)), 폴리락타이드(미국 특허 제3,773,919호), L-글루탐산 및 7 에틸-L-글루타메이트의 공중합체, 비분해성 에틸렌-비닐 아세테이트, 분해성 락트산-글라이콜산 공중합체, 예컨대 루프론 데포트(LUPRON DEPOT)(상표명)(락트산-글라이콜산 공중합체 및 류프롤라이드 아세테이트로 이루어진 주사용 마이크로구), 수크로스 아세테이트 아이소뷰티레이트 및 폴리-D-(-)-3-하이드록시뷰티르산을 포함한다.

[0131] 생체내 투여에 사용하고자 하는 약제학적 조성물은 무균이어야 한다. 이는 예를 들어 무균 여과 막을 통한 여과에 의해 용이하게 성취된다. 치료학적 항체 조성물은 일반적으로 무균 접근 포트를 갖는 용기, 예를 들어 정맥내 용액 팩 또는 피하 주사 바늘침이 관통할 수 있는 스톱퍼를 갖는 바이알로 위치한다.

[0132] 본 명세서에 기재된 약제학적 조성물은 경구, 비경구 또는 직장 투여, 또는 흡입 또는 통기법에 의한 투여를 위한, 단위 투약량 형태, 예컨대 정제, 환제, 캡슐, 산제, 과립, 용액 또는 현탁액, 또는 좌제일 수 있다. 정제와 같은 고체 조성물의 제조를 위해, 주요 활성 성분은 약제학적 담체, 예를 들어 종래의 타정 성분, 예컨대 옥수수 전분, 락토스, 수크로스, 솔비톨, 탈크, 스테아르산, 스테아르산마그네슘, 인산이칼슘 또는 검. 및 다른 약제학적 희석제, 예를 들어 물과 혼합되어, 본 발명의 화합물, 또는 이의 비독성의 약학적으로 허용되는 염의 균일한 혼합물을 함유하는 고체 예비제제 조성물이 형성될 수 있다. 이 예비제제 조성물을 균일하다고 말할 때,

조성물이 동등하게 효과적인 단위 투약량 형태, 예컨대 정제, 환제 및 캡슐로 용이하게 세분될 수 있도록, 활성 성분이 조성물에 걸쳐 균등하게 분산된다는 것을 의미한다. 이 고체 예비제제 조성물은 이후 본 발명의 0.1 내지 약 500mg의 활성 성분을 함유하는 상기 기재된 유형의 단위 투약량 형태로 세분된다. 신규한 조성물의 정제 또는 환제는 코팅되거나 달리 배합되어, 연장된 작용의 이점을 제공하는 투약량 형태를 제공할 수 있다. 예를 들어, 정제 또는 환제는 내부 투약량 및 외부 투약량 성분을 포함할 수 있고, 후자는 전자에 비해 봉입체(envelope)의 형태이다. 2개의 성분은 위에서의 봉해에 저항을 제공하고, 내부 성분이 십이지장으로 온전히 통과하거나 방출에서 지연되도록 허용하는 장용 층에 의해 분리될 수 있다. 다양한 재료는 이러한 장용 층 또는 코팅에 사용될 수 있고, 이러한 재료는 다수의 중합체 산 및 셀락(shellac), 세틸 알콜 및 셀룰로스 아세테이트와 같은 재료와의 중합체 산의 혼합물을 포함한다.

[0133] 적합한 표면 활성제는 특히 비이온성 물질, 예컨대 폴리옥시에틸렌솔비탄(예를 들어 트윈(상표명) 20, 40, 60, 80 또는 85) 및 다른 솔비탄(예를 들어 스팬(Span)(상표명) 20, 40, 60, 80 또는 85)을 포함한다. 표면 활성제를 갖는 조성물은 편리하게는 0.05% 내지 5%의 표면 활성제를 포함하고, 0.1% 내지 2.5%일 수 있다. 다른 성분, 예를 들어 필요한 경우 만니톨 또는 다른 약학적으로 허용되는 비히클이 첨가될 수 있는 것으로 이해될 것이다.

[0134] 적합한 에멀션은 상업적으로 구입 가능한 지방 에멀션, 예컨대 인트라리피드(Intralipid)(상표명), 리포신(Liposyn)(상표명), 인포누트롤(Infonutrol)(상표명), 리포펀딘(Lipofundin)(상표명) 및 리피피산(Lipiphysan)(상표명)을 사용하여 제조될 수 있다. 활성 성분은 예비혼합 에멀션 조성물 중에 용해될 수 있거나, 대안적으로 이것은 오일(예를 들어, 대두유, 홍화유, 면실유, 참깨유, 옥수수유 또는 아몬드유) 및 인지질(예를 들어, 에그 인지질, 대두 인지질 또는 대두 레시틴) 및 물과 혼합시 형성된 에멀션 중에 용해될 수 있다. 에멀션의 등장성을 조정하기 위해 다른 성분, 예를 들어 글라이세롤 또는 글루코스가 첨가될 수 있는 것으로 이해될 것이다. 적합한 에멀션은 통상적으로 20% 이하, 예를 들어, 5% 내지 20%의 오일을 함유할 것이다. 지방 에멀션은 0.1 내지 1.0.im, 특히 0.1 내지 0.5.im의 지방 액적을 포함하고, 5.5 내지 8.0의 범위의 pH를 가질 수 있다.

[0135] 에멀션 조성물은 항-PKα1 항체를 인트라리피드(상표명) 또는 이의 성분(대두 오일, 에그 인지질, 글라이세롤 및 물)과 혼합함으로써 제조된 것일 수 있다.

[0136] 흡입 또는 통기법을 위한 약제학적 조성물은 약학적으로 허용되는, 수성 또는 유기 용매 중의 용액 및 현탁액, 또는 이들의 혼합물 및 분말을 포함한다. 액체 또는 고체 조성물은 상기 기재된 바대로 적합한 약학적으로 허용되는 부형제를 함유할 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 조성물은 국소 또는 전신 효과를 위해 경구 또는 비강 호흡기 경로에 의해 투여된다.

[0137] 바람직하게는 무균 약학적으로 허용되는 용매 중의 조성물은 가스의 사용에 의해 분무될 수 있다. 분무된 용액은 분무 장치로부터 직접적으로 호흡될 수 있거나, 분무 장치는 페이스 마스크, 텐트 또는 간헐적 양압 호흡기에 부착될 수 있다. 용액, 현탁액 또는 분말 조성물은 적절한 방식으로 제형을 전달하는 장치로부터 바람직하게는 경구로 또는 비강으로 투여될 수 있다.

[0138] 망막 질환을 치료하는 데 사용하기 위한 키트

[0139] 본 개시내용은 망막 질환, 예컨대 DME, AMD, RVO, 포도막염, 내안구염 또는 PCV를 치료하는 데 사용하기 위한 키트를 또한 제공한다. 이러한 키트는 항-PKα1 항체, 예를 들어 본 명세서에 기재된 임의의 것, 예를 들어 DX-2944를 포함하는 하나 이상의 용기를 포함할 수 있다.

[0140] 몇몇 실시형태에서, 키트는 본 명세서에 기재된 임의의 방법에 따라 사용하기 위한 설명서를 포함할 수 있다. 포함된 설명서는 망막 질환을 치료하거나, 이의 발병을 지연시키거나, 경감시키기 위한 항-PKα1 항체의 투여의 설명을 포함할 수 있다. 키트는 개인이 망막 질환을 가지거나 가질 위험에 있는지를 확인하는 것에 기초하여 치료에 적합한 개인을 선택하는 것의 설명을 추가로 포함할 수 있다. 훨씬 다른 실시형태에서, 설명서는 표적 질환의 위험이 있는 개인에게 항체를 투여하는 것의 설명을 포함한다.

[0141] 항-PKα1 항체의 사용과 관련된 설명서는 일반적으로 의도되는 치료에 대한 투여의 투약량, 투약 스케줄 및 경로와 관련된 정보를 포함한다. 용기는 단위 용량, 벌크 패키지(예를 들어, 다용량 패키지) 또는 하위단위 용량일 수 있다. 본 발명의 키트에 제공된 설명서는 통상적으로 라벨 또는 패키지 인서트 상의 서면 설명서(예를 들어, 키트에 포함된 종이 시트)이지만, 기계 판독 가능 설명서(예를 들어, 자기 또는 광학 저장 디스크에 동반된 설명서)가 또한 허용된다.

[0142] 본 개시내용의 키트는 적합한 패키징에 있다. 적합한 패키징은 바이알, 병, 단지(jar), 가요성 패키징(예를 들

어, 밀봉 마일러(Mylar) 또는 플라스틱 백) 등을 포함하지만, 이들로 제한되지는 않는다. 특수 장치, 예컨대 주사기 또는 점적주사 장치, 예컨대 미니펌프와 함께 사용하기 위한 패키지가 또한 고려된다. 키트는 무균 접근 포트를 가질 수 있다(예를 들어, 용기는 정맥내 용액 백 또는 피하 주사 바늘침이 관통할 수 있는 스톱퍼를 갖는 바이알일 수 있다). 용기는 무균 접근 포트를 또한 가질 수 있다(예를 들어, 용기는 정맥내 용액 백 또는 피하 주사 바늘침이 관통할 수 있는 스톱퍼를 갖는 바이알일 수 있다). 조성물에서의 적어도 하나의 활성제는 본 명세서에 기재된 바와 같은 항-PKα1 항체이다.

[0143] **일반적인 기법**

[0144] 본 발명의 실행은, 달리 기재되지 않은 한, 당해 분야의 지식 내에 있는 분자 생물학(제조합 기법 포함), 미생물학, 세포 생물학, 생화학 및 면역학의 종래의 기법을 이용할 것이다. 이러한 기법은 문헌[Molecular Cloning: A Laboratory Manual, second edition (Sambrook, et al., 1989) Cold Spring Harbor Press; Oligonucleotide Synthesis (M. J. Gait, ed., 1984); Methods in Molecular Biology, Humana Press; Cell Biology: A Laboratory Notebook (J. E. Cellis, ed., 1998) Academic Press; Animal Cell Culture (R. I. Freshney, ed., 1987); Introduction to Cell and Tissue Culture (J. P. Mather and P. E. Roberts, 1998) Plenum Press; Cell and Tissue Culture: Laboratory Procedures (A. Doyle, J. B. Griffiths, and D. G. Newell, eds., 1993-8) J. Wiley and Sons; Methods in Enzymology (Academic Press, Inc.); Handbook of Experimental Immunology (D. M. Weir and C. C. Blackwell, eds.); Gene Transfer Vectors for Mammalian Cells (J. M. Miller and M. P. Calos, eds., 1987); Current Protocols in Molecular Biology (F. M. Ausubel, et al., eds., 1987); PCR: The Polymerase Chain Reaction, (Mullis, et al., eds., 1994); Current Protocols in Immunology (J. E. Coligan et al., eds., 1991); Short Protocols in Molecular Biology (Wiley and Sons, 1999); Immunobiology (C. A. Janeway and P. Travers, 1997); Antibodies (P. Finch, 1997); Antibodies: a practical approach (D. Catty., ed., IRL Press, 1988-1989); Monoclonal antibodies: a practical approach (P. Shepherd and C. Dean, eds., Oxford University Press, 2000); Using antibodies: a laboratory manual (E. Harlow and D. Lane (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1999); The Antibodies (M. Zanetti and J. D. Capra, eds., Harwood Academic Publishers, 1995)]과 같은 문헌에 완전히 설명되어 있다.

[0145] 추가의 노력 없이, 당해 분야의 당업자는, 상기 설명에 기초하여, 본 발명을 이의 가장 완전한 정도로 이용할 수 있다고 믿는다. 따라서, 하기 구체적인 실시형태는 단지 예시적이고, 무엇이든 임의의 방식으로 본 개시내용의 나머지를 제한하지 않는 것으로 해석되어야 한다. 본 명세서에서 인용된 모든 공보는 본 명세서에 언급된 목적 또는 대상을 위해 참조문헌으로 포함된다.

[0146] **실시예**

[0147] **실시예 1: 레이저 유도된 맥락막 신생혈관화(레이저 CNV) 질환 모델에서의 DX-2944의 영향**

[0148] DX-2944는 이. 콜라이 발현 시스템으로부터 발현되고 정제된 DX-2930의 제조합 Fab 버전이다. 레이저 CNV 모델은 인간 망막 질환, 예컨대 연령 관련 황반 변성(AMD), 망막 정맥 폐쇄 및 황반 부종과 연관된 합병증의 확립된 설치류 모델이다. 이 연구를 위해 이용된 실험 설계는 하기 기재되어 있다.

[0149] **실험 설계**

[0150] ● 1일: 눈마다 3개소의 병변을 생성하는 양측 레이저 처리

[0151] ● 3일: 시험 물질, 비히클 또는 양성 대조군(항-VEGF Ab)의 양측 유리체내 주사

[0152] ● 22일: 생체내 플루오레세인 혈관조영검사

[0153] 도 1a-도 1b 및 도 2a-도 2b에서의 결과는, DX-2944가 관찰된 CNV를 양성 대조군(항-VEGF 항체)과 대략 동일한 정도로 감소시킨다는 것을 나타낸다. 항-VEGF치료군에 대한 플루오레세인 혈관조영검사 평균 신호는 7023 형광 단위이고, 이 형광 단위는 7071 형광 단위에서 DX-2944 치료군에 관찰된 것과 유사하다.

[0154] **실시예 2: DX-2930-PKα1 복합체의 결정 구조에 기초한 인간 혈장 칼리크레인의 촉매 도메인에서의 중요한 잔기의 확인**

[0155] His 태그와 융합된 인간 혈장 칼리크레인의 촉매 도메인은 곤충 세포에서 발현되고, 니켈 친화도 칼럼에서 초기

에 정제되었다. His 태그는 트립신 분해를 통해 혈장 칼리크레인으로 부터 제거되고, 유리 혈장 칼리크레인은 벤즈아미딘 친화도 칼럼, 이어서 SEC 칼럼에 의해 정제되었다. 정제된 생성물을 PAGE 겔에서 조사하였다. 결과는 인간 혈장 칼리크레인의 촉매 도메인이 적절히 발현되고 정제된다는 것을 나타낸다.

- [0156] DX-2930은 일상적 제조합 기술을 통해 제조되고 정제되었다. DX-2930의 제조합 Fab 단편은 일상적 방법을 통해 제조되고 정제되었다.
- [0157] 인간 혈장 칼리크레인의 촉매 도메인 및 DX-2930 Fab 단편은 항체-PKα1 복합체의 형성을 허용하는 적합한 조건 하에 다양한 농도로 혼합된다. 이렇게 형성된 복합체는 복합체에서의 항체-PKα1 비율을 결정하기 위해 HPLC를 사용하여 조사되었다. 따라서, 항체 및 PKα1 둘 다의 적합한 농도가 1:1 복합체의 형성에 대해 확인되었다.
- [0158] 항체-PKα1 복합체는 결정화를 허용하는 다양한 조건 하에 유지되었다. 결정화된 복합체에서 회절 분석을 수행하였다. 회절 통계에 기초하여 결정 구조(2.1Å 및 2.4Å)를 결정하였다.
- [0159] 결정 구조에 따라, DX-2930과의 상호작용에 관련한 인간 PKα1의 촉매 도메인에서의 잔기가 확인되었다. 이 잔기는 도 4에서 표시되어서(볼드체 및 밑줄), 인간 PKα1의 촉매 도메인의 아미노산 서열(인간 PKα1의 391번 내지 638번 잔기)을 제공한다.
- [0160] 또한, 중쇄 가변 영역에서의 E1, V2, F27, T28, F29, S30, H31, R100, I101, G102, V103, P104, R105, R106, D107, G107, K108 및 D111, 및 경쇄 가변 영역에서의 S31, W32, Y49, K50, T53, L54, E55, S56, G57 및 V58을 포함하는, PKα1과 상호작용하는 DX-2930에서의 잔기가 결정 구조에 기초하여 또한 확인되었다.
- [0161] 이 결과는 HC CDR3 of DX-2930이 PKα1과 상호작용하는 주요 영역이고, HC CDR1 및 FR1에서의 몇 개의 잔기가 또한 PKα1과의 상호작용에 기여할 것이라는 것을 나타낸다. 경쇄에서, LC CDR2 영역은 상호작용에 기여하는 것으로 밝혀졌다.
- [0162] 추가로, 결과는 HC CDR3 영역을 갖는 소정의 위치에서의 변이가 허용될 수 있다는 것을 또한 나타낸다. 예를 들어, 103번 위치는 작은 소수성 잔기, 예컨대 V 또는 I를 요한다. 또 다른 예로서, R106은 W로 대체될 수 있고, E108은 PKα1 결합 활성에 실질적으로 영향을 미치지 않으면서 S 또는 D로 대체될 수 있다. 유사하게, D110은 E로 대체될 것이다.
- [0163] **실시예 3: 친화도 성숙 결과는 결정 구조로부터 유도된 구조 정보와 일치한다**
- [0164] 항체 M0162-A04의 중쇄 가변 영역, 특히 HC CDR3 영역은 친화도 성숙으로 처리되었다. HC CDR3 영역에서의 하나 이상의 위치에서의 아미노산 변이를 갖는 다양한 돌연변이체가 생성되었고, 이의 $K_{i,결보기}$ 값이 일상적 방법에 따라 결정되었다.
- [0165] 간단히 말하면, 다양한 농도의 Fab 및 PKα1을 30°C에서 1시간 동안 함께 항온처리하였다. 이후, 기질 펩타이드(PKα1에 의해 개열 가능)를 이 PKα1-Fab 혼합물에 첨가하였다. 이후, 기질 펩타이드 개열/단백분해의 속도를 측정하고, Fab의 농도에 대해 작도하였다. 이후, 이 도면을 $K_{i,결보기}$ 값을 계산하는 모리스 식에 대입하였다. 이렇게 얻은 결과는 도 5a-도 5d 및 하기 표 3에 기재되어 있다:

표 3

Hv-CDR3 친화도 성숙 결과의 요약

초기 명칭	Hv CDR3	Ki, 절보기 (nM)
M0162-A04	RRTGIPRRDAFDI	2.5
M0199-A11	--R-----	2
M0201-F11	--S-----	3
M0202-A08	-----W-----	2.8
M0201-A06	-----V---	3.8
M0202-E03	-----E-	2
M0199-B01	-----N	1.6
M0200-B01	-----S	3.6
M0201-H06	----V-----	0.6
M0202-H05	----V----V---	0.26
M0201-H08	----V-----L-N	0.8
M0200-E11	----V-----N	0.4
M0200-H07	----V---N---N	0.4
M0202-F06	----V--W-----	0.33
M0200-A10	----V----S---	0.25
M0202-G03	----V----S-E-	0.4
M0202-A12	Q---V----S-N-	0.1
M0202-H03	----V--W-D---	0.1
M0201-A07	----V----E---	0.1
M0202-C02	--P-V-----	0.6
M0202-B04	--S-V-----	0.2
M0202-E06	--R-V----D---	0.06
M0202-A01	--I-V-----	0.3
M0202-D09	--I-V----S---	0.2
M0200-D03	--I-V----S--M	0.1
M0202-C09	--I-V----D---	0.06
M0199-A08	--I-V----E---	0.06
X133-B02	--I-----	2.2
X133-D06	--I-----E---	0.33
X135-A01	----A-----	247.7
X133-G05	----S-----	1405.6
X133-F10	----L-----	14.7
X135-A03	-----E---	1.1

[0166]

[0167]

친화도 성숙 결과는 HC CDR3 영역 내의 소정의 위치에서의 변이가 모 M0162-A04 클론과 비교하여 고친화도/저해 항-PKα1 항체를 발생시킨다는 것을 나타낸다. 이 결과는 상기 실시예 2에 제공된 구조 정보와 일치한다. 클론 M0199-A08의 HC CDR3 영역이 DX-2930과 동일하다는 것에 유의한다.

[0168]

실시예 4: 항체 저해 활성에 대한 혈장 칼리크레인에서의 돌연변이의 영향

[0169]

다양한 PKα1 돌연변이체에 대한 돌연변이체 X115-F02의 저해 활성을 조사하였다.

[0170]

X115-F02가 DX-2930에 존재하는 않는 C 말단 라이신 잔기를 함유하고, CHO 세포보다는 HEK293T 세포에서 발현된다는 것을 제외하고는, 이것은 DX-2930과 동일한 IgG이다(상기 표 2). X115-F02의 결합 특이성 및 친화도는 DX-2930과 동일하다.

[0171]

이 연구에서 사용된 혈장 칼리크레인의 야생형 및 4개의 돌연변이체(도 7a-도 7b)는 피치아 파스토리스(*pichia pastoris*)로부터 발현되고 정제된 재조합 촉매 도메인이다. 돌연변이체 1은 활성 부위의 S3 하위부위에서 하기 돌연변이를 함유한다: S478A, N481A, S506A, Y507A)(숫자는 전장 프리칼리크레인 아미노산 서열에 기초함). 돌연변이체 2는 활성 부위의 S1' 하위부위에서 하기 돌연변이를 함유한다: R551A, Q553A, Y555A, T558A, R560A. 돌연변이체 4는 활성 부위로부터 먼 하기 돌연변이를 함유한다: N396A, S398A, W399A. 돌연변이체 3은 불활성인 것으로 밝혀졌고, 이에 따라 활성 검정에서 시험되지 않았다. 돌연변이체 3은 활성 부위의 S1' 하위부위에서 하

기 돌연변이를 함유한다: D572A, K575A, D577A.

[0172] 야생형 PKa1 및 돌연변이체에 대한 X115-F02의 저해 활성은 상기 실시예 3에 기재된 방법을 이용하여 수행되고, K_i , $K_{0.5}$ 값이 결정되었다. 도 6에 도시된 것처럼, 돌연변이체 1 및 4에서의 돌연변이는 혈장 칼리크레인의 X115-F02 저해의 효력에 상당히 영향을 미치지 않았다. 놀랍게도, 돌연변이체 2에서의 돌연변이는 효력을 대략 65배 감소시켰다. 이 결과는 잔기 R551A, Q553A, Y555A, T558A, R560A 및 이의 인접한 잔기가 X115-F02(DX-2930)의 저해 활성에 중요할 것이라는 것을 나타낸다.

[0173] **실시예 5: 레이저 유도된 맥락막 신생혈관화(레이저 CNV) 질환 모델에서 DX-2944의 영향 - 연구 3**

[0174] DX-2944는 본 명세서에 기재된 바대로 이. 콜라이 발현 시스템으로부터 발현되고 정제되었다. 이 연구에서 사용된 레이저 CNV 모델은 인간 망막 질환, 예컨대 연령 관련 황반 변성(AMD), 망막 정맥 폐쇄 및 황반 부종과 연관된 합병증의 확립된 설치류 모델이다. 수행된 실험 설계는 하기 요약되어 있다.

[0175] 실험 설계: 래트에서의 레이저 유도된 맥락막 신생혈관화(CNV)

[0176] 1일: 눈마다 3개소의 병변을 생성하는 양측 레이저 처리

[0177] 3일: 시험 물질, 비히클 및 양성 대조군의 양측 유리체내 주사

[0178] 10일: 시험 물질, 비히클 및 양성 대조군의 양측 유리체내 주사

[0179] 15일: 생체내 플루오레세인 혈관조영검사

[0180] 22일: 생체내 플루오레세인 혈관조영검사

[0181] 도 8에 도시된 결과는, DX-2944가 연구 15일에 관찰된 CNV를 양성 대조군(항-VEGF 항체)과 대략 동일한 정도로 감소시킨다는 것을 나타낸다. 항-VEGF 치료군에 대한 플루오레세인 혈관조영검사 평균 신호는 4627 형광 단위이고, 이 형광 단위는 4917 형광 단위에서 DX-2944 치료군에 관찰된 것과 유사하다. 도 9에 도시된 결과는, DX-2944가 연구 22일에 관찰된 CNV를 양성 대조군과 대략 동일한 정도로 감소시킨다는 것을 나타낸다. 항-VEGF 치료군에 대한 플루오레세인 혈관조영검사 평균 신호는 4551 형광 단위이고, 이 형광 단위는 5011 형광 단위에서 DX-2944 치료군에 관찰된 것과 유사하다.

[0182] 이 결과는 DX-2944가 동물 모델에서 CNV를 감소시키는 데 효과적이라는 것을 보여주어, 이 항체가 인간 망막 질환, 예컨대 연령 관련 황반 변성(AMD), 망막 정맥 폐쇄 및 황반 부종을 치료하는 데 있어서 효과적일 것이라는 것을 나타낸다.

[0183] 다른 실시형태

[0184] 본 명세서에 개시된 모든 특징은 임의의 조합으로 조합될 수 있다. 본 명세서에 개시된 각각의 특징은 대안적인 특징에 의해 대체되어 동일한, 동등한 또는 유사한 목적을 제공할 수 있다. 따라서, 달리 명확히 기재되지 않은 한, 개시된 각각의 특징은 오직 동등한 또는 유사한 특징의 총체적 시리즈의 예이다.

[0185] 상기 설명으로부터, 당해 분야의 당업자는 본 발명의 필수적인 특징을 쉽게 확신할 수 있고, 이의 정신 및 범위를 벗어남이 없이, 본 발명의 다양한 변화 및 변형을 다양한 용법 및 조건에 적용하도록 이것을 만들 수 있다. 따라서, 다른 실시형태가 또한 청구범위 내에 있다.

[0186] 균등물

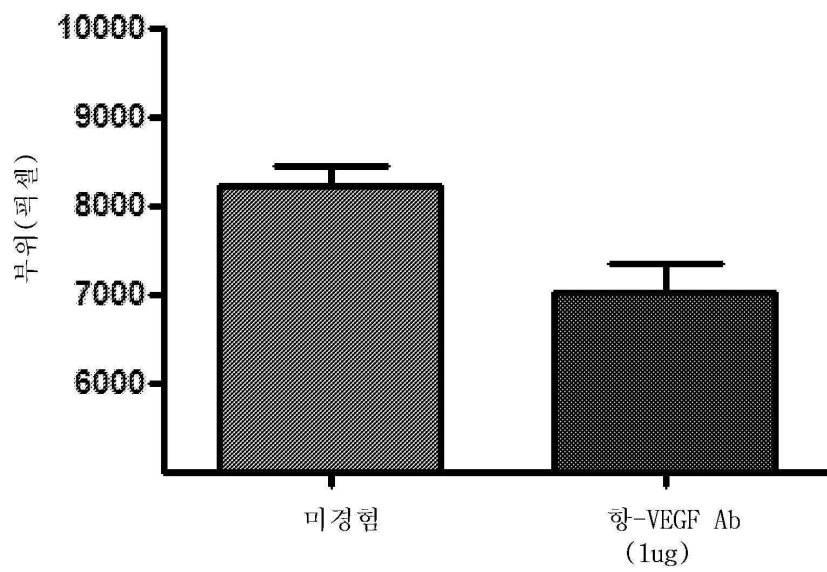
[0187] 몇몇의 본 발명 실시형태가 본 명세서에서 기재되고 예시되어 있지만, 당해 분야의 당업자는 기능을 수행하고/하거나, 본 명세서에 기재된 이점 중 하나 이상 및/또는 결과를 얻기 위해 다양한 다른 수단 및/또는 구조를 용이하게 고안할 것이고, 이러한 변경 및/또는 변형의 각각은 본 명세서에 기재된 본 발명 실시형태의 범위 내에 있는 것으로 간주된다. 더 일반적으로, 당해 분야의 당업자는, 본 명세서에 기재된 모든 매개변수, 치수, 재료 및 구성이 예시적인 것으로 의도되고, 실제 매개변수, 치수, 재료 및/또는 구성이 본 발명 교시내용이 사용되는 특정한 출원 또는 출원들에 의존할 것이라는 것을 용이하게 이해할 것이다. 당해 분야의 당업자는, 단지 일상적 실험을 이용하여, 본 명세서에 기재된 특정한 본 발명 실시형태에 대한 많은 균등물을 인식하거나, 확신할 수 있을 것이다. 따라서, 상기 실시형태가 오직 예로서 제시되고, 첨부된 청구항 및 이의 균등물의 범위 내에, 본 발명 실시형태가 구체적으로 기재되고 청구된 것과 달리 실행될 수 있는 것으로 이해되어야 한다. 본 개시내용의 본 발명 실시형태는 본 명세서에 기재된 각각의 개별적인 특징, 시스템, 물품, 재료, 키트 및/또는 방법에 관한 것이다. 또한, 2개 이상의 이러한 특징, 시스템, 물품, 재료, 키트 및/또는 방법의 임의의 조합은, 이러한

특징, 시스템, 물품, 재료, 키트 및/또는 방법이 서로 불일치하지 않는 경우, 본 개시내용의 본 발명 범위 내에 포함된다.

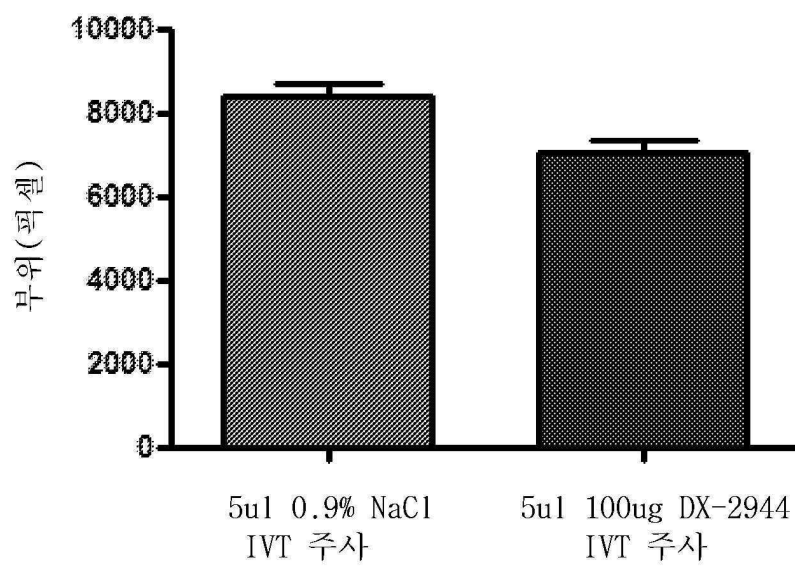
- [0188] 모든 정의는, 본 명세서에서 정의되고 사용되는 바대로, 사전적 정의에 비해 지배적인 것으로 이해되어야 하고, 문헌 내의 정의는 참조문헌 및/또는 정의된 용어의 일반 의미로 포함된다.
- [0189] 명세서 및 청구항에서 "일" 및 "하나"의 부정 관사는, 명확히 반대로 표시되지 않는 한, "적어도 하나"를 의미하는 것으로 이해되어야 한다.
- [0190] 구절 "및/또는"은, 명세서 및 청구항에서 본 명세서에서 사용되는 바대로, 이렇게 결합된 구성요소의 "어느 하나 또는 둘 다"를 의미하는 것으로 이해되어야 하고, 즉 구성요소는 몇몇 경우에 공동으로 존재하고 다른 경우에 분리적으로 존재한다. "및/또는"과 함께 기재된 다수의 구성요소는 동일한 방식으로, 즉 이렇게 결합된 구성요소의 "하나 이상"으로 해석되어야 한다. 다른 구성요소는, 구체적으로 확인된 이 구성요소와 관련되든 또는 관련되지 않든, "및/또는" 절에 의해 구체적으로 확인된 구성요소 이외에 임의로 존재할 수 있다. 따라서, 비제한적인 예로서, "A 및/또는 B"의 언급은, "포함하는"과 같은 개방 말단 언어와 함께 사용될 때, 일 실시형태에서, A 단독(B 이외의 구성요소를 임의로 포함); 또 다른 실시형태에서, B 단독(A 이외의 구성요소를 임의로 포함); 훨씬 또 다른 실시형태에서, A 및 B 둘 다(다른 구성요소를 임의로 포함); 등을 의미할 수 있다.
- [0191] 명세서 및 청구항에서 본 명세서에서 사용되는 바대로, "또는"은 상기 정의된 바대로 "및/또는"과 동일한 의미를 가지는 것으로 이해되어야 한다. 예를 들어, 목록에서 항목을 분리할 때, "또는" 또는 "및/또는"은 포괄적인, 즉 구성요소의 번호 또는 목록, 및 임의로, 추가적인 목록에 없는 항목 중 적어도 하나의 포함, 및 이들 중 하나 초과 포함인 것으로 해석되어야 한다. "중 오직 하나" 또는 "중 정확히 하나", 또는, 청구항에서 사용될 때, "이루어지는"과 같은, 명확히 반대로 표시된 용어만이 구성요소의 번호 또는 목록 중 정확히 하나의 구성요소의 포함을 의미할 것이다. 일반적으로, 용어 "또는"은, 본 명세서에서 사용되는 바대로, "어느 하나", "중 하나", "중 오직 하나", 또는 "중 정확히 하나"와 같은 배타성의 용어가 선행할 때, 배타적인 대안(즉 "하나 또는 다른 하나 및 둘 다")을 표시하는 것으로 오직 해석되어야 한다. "필수적으로 이루어진"은, 청구항에서 사용될 때, 특허법의 범위에서 사용되는 이의 통상적인 의미를 가져야 한다.
- [0192] 명세서 및 청구항에서 본 명세서에서 사용되는 바대로, 구절 "적어도 하나"은, 하나 이상의 구성요소의 목록을 참조하여, 구성요소의 목록에서 구성요소 중 임의의 하나 이상으로부터 선택된 적어도 하나의 구성요소를 의미하는 것으로 이해되어야 하지만, 구성요소의 목록 내에 구체적으로 수재된 각각의 및 모든 구성요소 중 적어도 하나를 반드시 포함하지 않고 구성요소의 목록에서 구성요소의 임의의 조합을 배제하지 않는다. 이 정의는 또한, 구체적으로 확인된 이 구성요소와 관련되든 또는 관련되지 않든, 구절 "적어도 하나"가 언급하는 구성요소의 목록 내에 구체적으로 확인된 구성요소 이외에 구성요소가 임의로 존재할 수 있도록 허용한다. 따라서, 비제한적인 예로서, "A 및 B 중 적어도 하나"(또는, 동등하게, "A 또는 B 중 적어도 하나", 또는, 동등하게, "A 및/또는 B 중 적어도 하나")는, 일 실시형태에서, B가 존재하지 않으면서 하나 초과 A를 임의로 포함(및 B 이외의 구성요소를 임의로 포함)하는 적어도 하나; 또 다른 실시형태에서, A가 존재하지 않으면서 하나 초과 B를 임의로 포함(및 A 이외의 구성요소를 임의로 포함)하는 적어도 하나; 훨씬 또 다른 실시형태에서, 하나 초과 A, 및 적어도 하나를 임의로 포함하고, 하나 초과 B를 임의로 포함(및 구성요소를 임의로 포함)하는 적어도 하나; 등을 의미할 수 있다.
- [0193] 명확히 반대로 표시되지 않는 한, 하나 초과 단계 또는 조합을 포함하는 본 명세서에서 청구된 임의의 방법에서, 방법의 단계 또는 조합의 순서가 방법의 단계 또는 조합이 기재된 순서로 반드시 제한되지는 않는 것으로 또한 이해되어야 한다.
- [0194] 청구항 및 상기 명세서에서, "포함하는", "포함", "보유하는", "가지는", "함유하는", "수반하는", "갖는", "이루어진" 등과 같은 모든 전환 구절은 개방 말단인 것으로, 즉 포함하지만, 이들로 제한되지는 않는 것을 의미하는 것으로 이해되어야 한다. "이루어진" 및 "필수적으로 이루어진"의 전환 구절만이, 특허 심사 절차의 미국 특허청 매뉴얼, 섹션 2111.03에 기재된 바대로, 각각 폐쇄 또는 반폐쇄 전환 구절이어야 한다.

도면

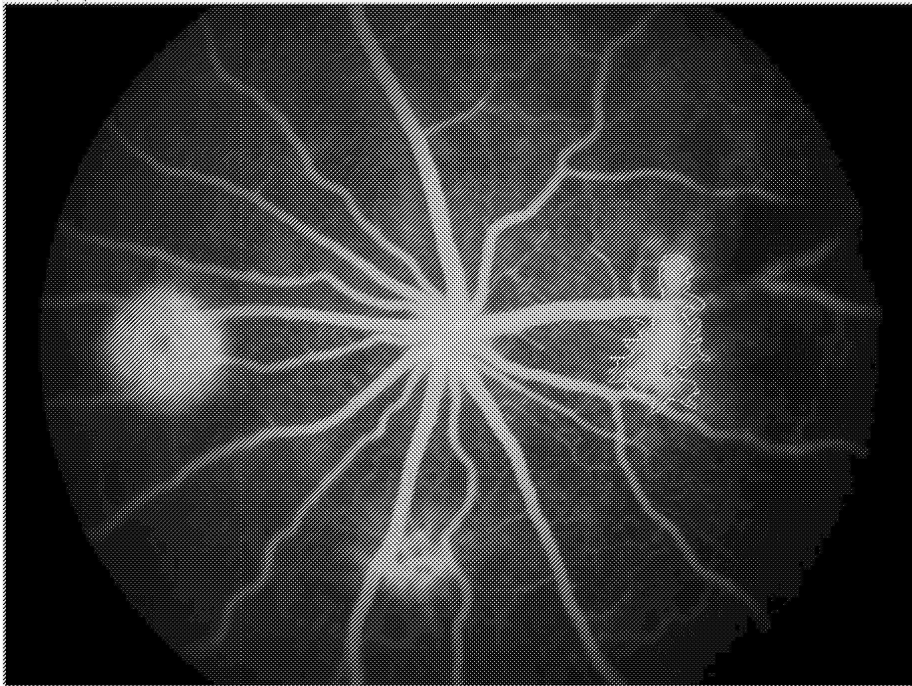
도면1a



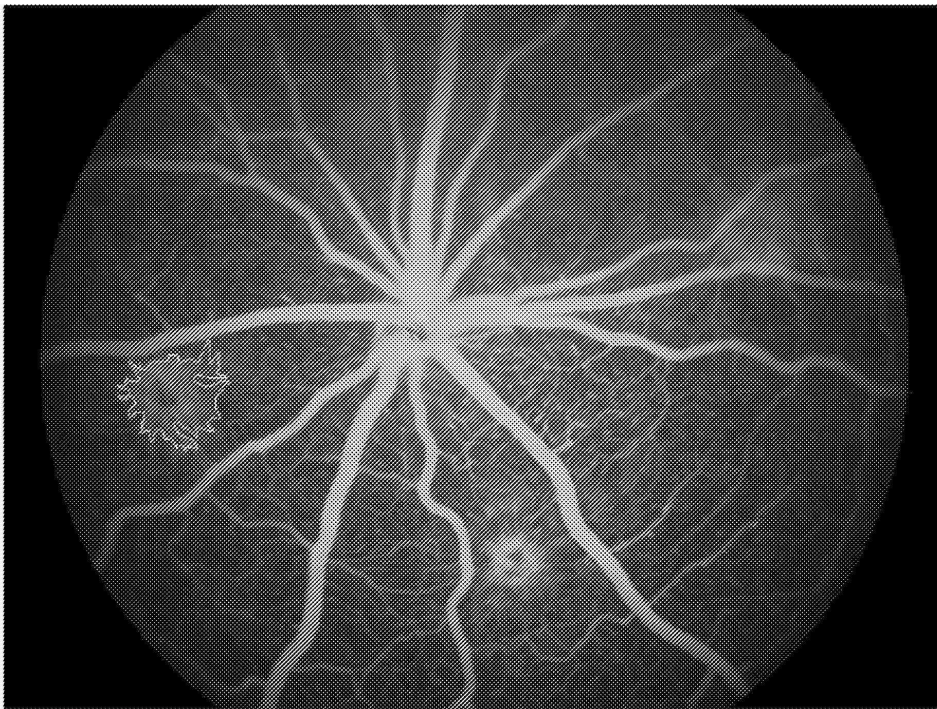
도면1b



도면2a



도면2b



도면3

정쇄 V 유전자 = **VK1_L12 HK102/V1/L12a**; J 유전자 = **JK1**

	FR1	CDR1	FR2	CDR2
559A-M0162-A04:	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITC	RASQSISSWLA	WYQQKPGKAP N LLIY	KASTLES
생식선 :	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITC	RASQSISSWLA	WYQQKPGKAP LLIY	AS+LES
	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITC	RASQSISSWLA	WYQQKPGKAP N LLIY	DASSLES

	FR3	CDR3	FR4
559A-M0162-A04:	GVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPD D FATYYC	QQYNTYWT	FGQGTKVEIK
생식선 :	GVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPD D FATYYC	QQYN+YWT	FGQGTKVEIK
	GVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPD D FATYYC	QQYNSYWT	<u>FGQGTKVEIK</u>

중쇄 V 유전자 = **VH3_3-23**; J 유전자 = **JH3**

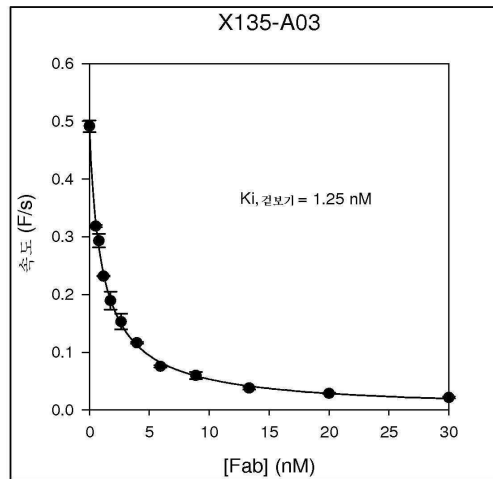
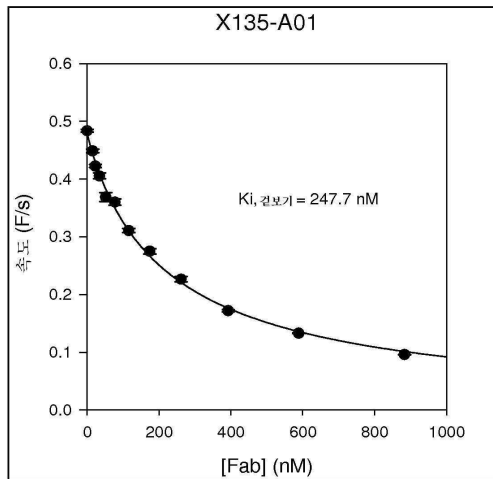
	FR1	CDR1	FR2	CDR2
559A-M0162-A04:	EVQLLES G GG L VQPGGSLRLS C AASGFTFS	HYIMM	WVRQAPGKGLEWVS	GIYSSGGITVYADSVKG
생식선 :	EVQLLES G GG L VQPGGSLRLS C AASGFTFS	Y M	WVRQAPGKGLEWVS	I SGG T YADSVKG
	EVQLLES G GG L VQPGGSLRLS C AASGFTFS	SYAMS	WVRQAPGKGLEWVS	AISGSGGSTYYADSVKG

	FR3	CDR3	FR4
559A-M0162-A04:	RFTISRDN S KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCA Y	RRTGIPRRDAF D I	WGQGTMTV V SS
생식선 :	RFTISRDN S KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCA Y	AFDI	WGQGTMTV V SS
	RFTISRDN S KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCA Y	<u>AFDI</u>	<u>WGQGTMTVVSS</u>

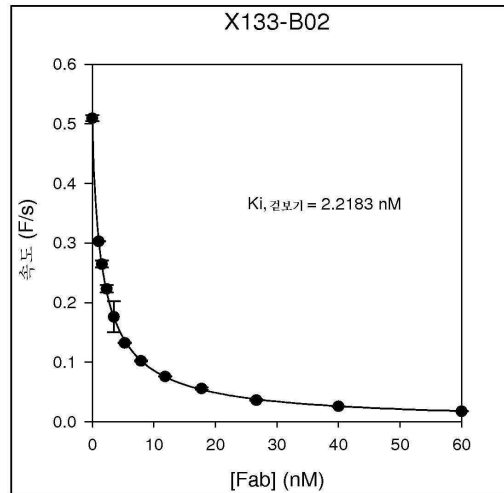
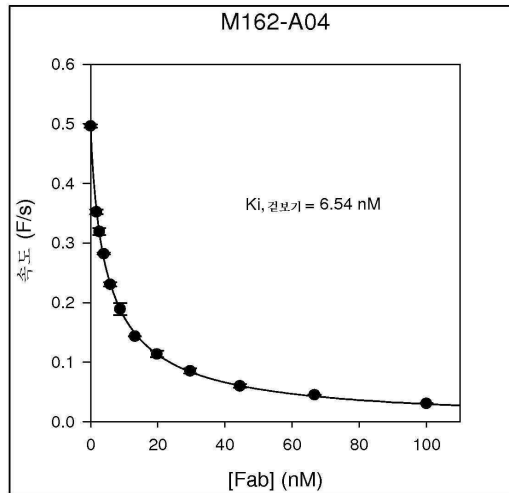
도면4

391	440
IVGGTNSSWG EWPWQVSLQ V	KLTAQRHLCG GSLIGHQWVL TAA HCFDGLP
441	490
LQDV W RIYSG ILNLS D ITKD TPFSQIKEII IHQN YKVSEG	NH D IALIKLQ
491	540
APLNYTEFQK PICLPSK G DT STIYTNCWVT GWG F SK EK GE IQNILQKVNI	
541	590
PLVTNEECQK R YQDY KITQR MVCAGYKEGG KDACKGDS GG PLVCKHNGMW	
591	638
RLVGIT TSWGE G CARRE QPGV Y TKVAEYMDW ILEKTQSSDG KAQM Q SPA	

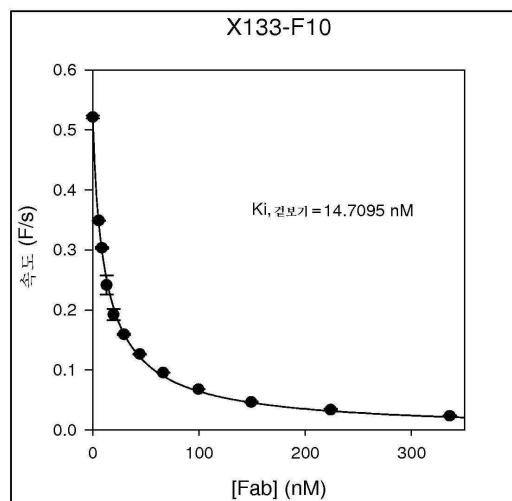
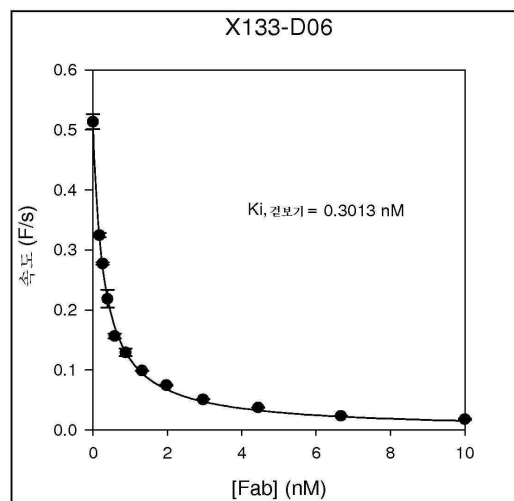
도면5a



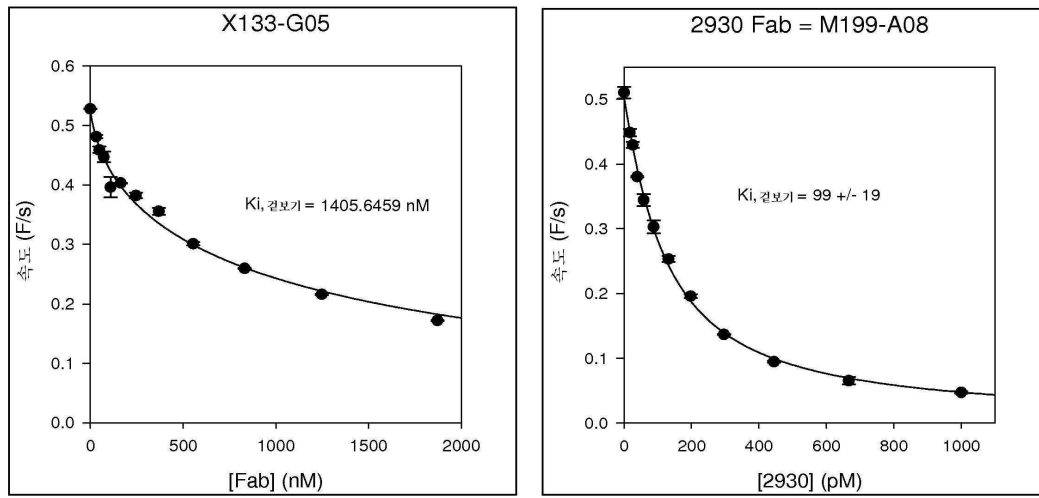
도면5b



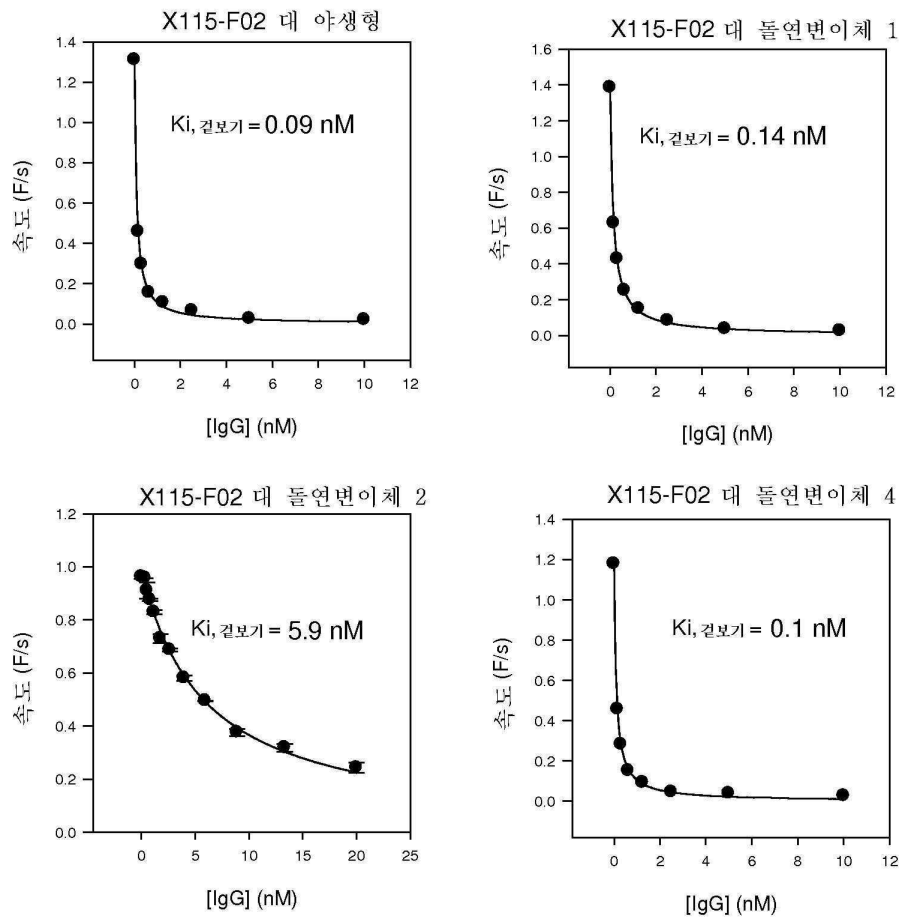
도면5c



도면5d



도면6



도면7a

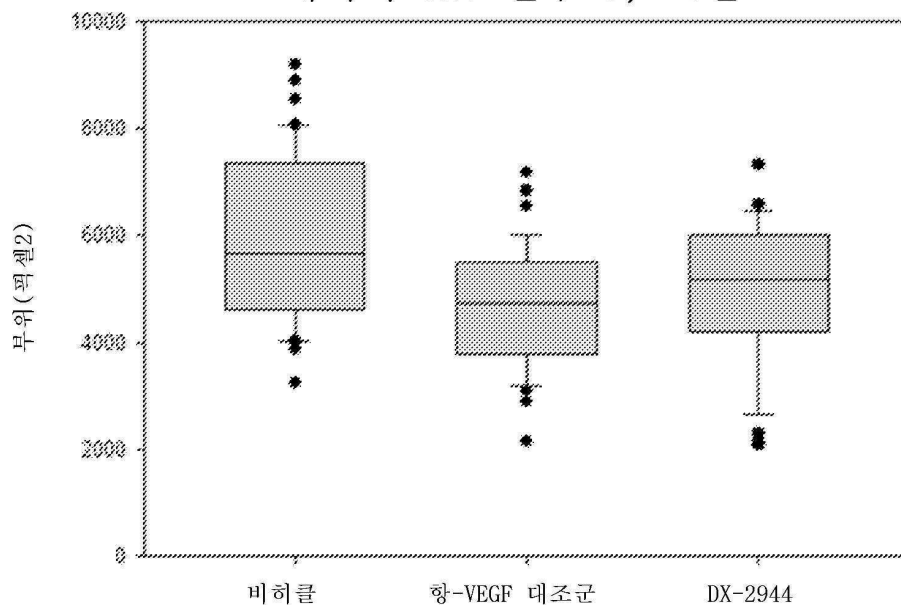
	391		440
(klkb1) - 피치아에 대한 돌연변이체1	IVGGTNSSWG	EWPWQVSLQV	KLTAQRHLCG
(klkb1) - 피치아에 대한 돌연변이체2	IVGGTNSSWG	EWPWQVSLQV	KLTAQRHLCG
(klkb1) - 피치아에 대한 돌연변이체3	IVGGTNSSWG	EWPWQVSLQV	KLTAQRHLCG
(klkb1) - 피치아에 대한 돌연변이체4	IVGGTASAAAG	EWPWQVSLQV	KLTAQRHLCG
(klkb1) - 피치아에 대한 모	IVGGTNSSWG	EWPWQVSLQV	KLTAQRHLCG
	441		490
(klkb1) - 피치아에 대한 돌연변이체1	LQDVWRIYSG	ILNLSDITKD	TPFSQIKEII
(klkb1) - 피치아에 대한 돌연변이체2	LQDVWRIYSG	ILNLSDITKD	TPFSQIKEII
(klkb1) - 피치아에 대한 돌연변이체3	LQDVWRIYSG	ILNLSDITKD	TPFSQIKEII
(klkb1) - 피치아에 대한 돌연변이체4	LQDVWRIYSG	ILNLSDITKD	TPFSQIKEII
(klkb1) - 피치아에 대한 모	LQDVWRIYSG	ILNLSDITKD	TPFSQIKEII
	491		540
(klkb1) - 피치아에 대한 돌연변이체1	APLNYTEFQK	PISLPAAGDT	STIYTNCWVT
(klkb1) - 피치아에 대한 돌연변이체2	APLNYTEFQK	PISLPSKGGT	STIYTNCWVT
(klkb1) - 피치아에 대한 돌연변이체3	APLNYTEFQK	PISLPSKGGT	STIYTNCWVT
(klkb1) - 피치아에 대한 돌연변이체4	APLNYTEFQK	PISLPSKGGT	STIYTNCWVT
(klkb1) - 피치아에 대한 모	APLNYTEFQK	PISLPSKGGT	STIYTNCWVT
	541		590
(klkb1) - 피치아에 대한 돌연변이체1	PLVTNEECQK	RYQDYKITQR	MVCAGYKEGG
(klkb1) - 피치아에 대한 돌연변이체2	PLVTNEECQK	RYQDYKITQR	MVCAGYKEGG
(klkb1) - 피치아에 대한 돌연변이체3	PLVTNEECQK	RYQDYKITQR	MVCAGYKEGG
(klkb1) - 피치아에 대한 돌연변이체4	PLVTNEECQK	RYQDYKITQR	MVCAGYKEGG
(klkb1) - 피치아에 대한 모	PLVTNEECQK	RYQDYKITQR	MVCAGYKEGG

도면7b

	591		638
(klkb1) - 피치아에 대한 돌연변이체1	RLVGITSWG	GARREQPGV	YTKVAEYMDW
(klkb1) - 피치아에 대한 돌연변이체2	RLVGITSWG	GARREQPGV	YTKVAEYMDW
(klkb1) - 피치아에 대한 돌연변이체3	RLVGITSWG	GARREQPGV	YTKVAEYMDW
(klkb1) - 피치아에 대한 돌연변이체4	RLVGITSWG	GARREQPGV	YTKVAEYMDW
(klkb1) - 피치아에 대한 모	RLVGITSWG	GARREQPGV	YTKVAEYMDW

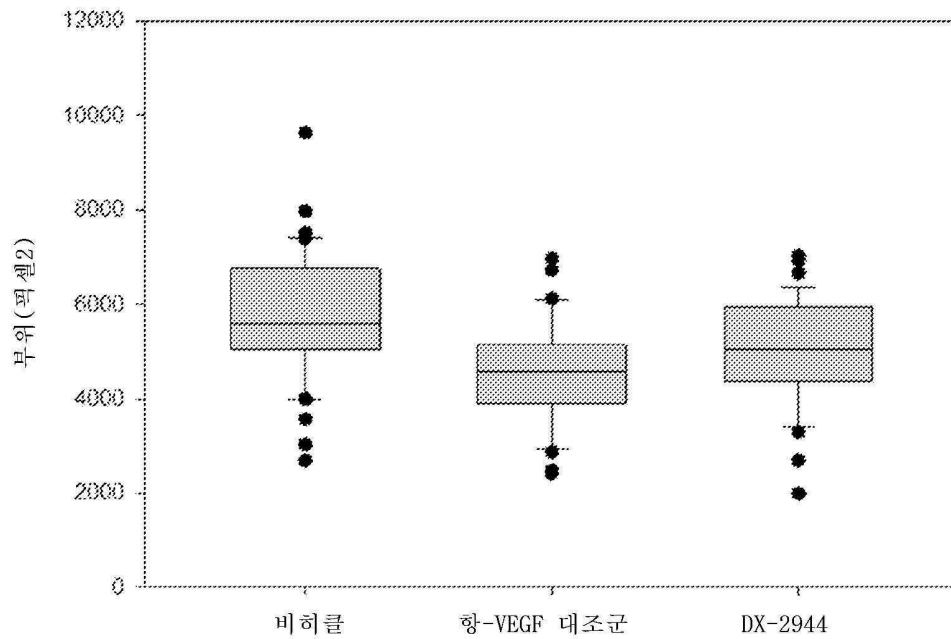
도면8

레이저 CNV 연구 3, 15일



도면9

레이저 CNV 연구 3 - 22일



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> DYAX CORP.

<120> COMPOSITIONS AND METHODS FOR TREATMENT OF DIABETIC MACULAR EDEMA

<130> WO 2015/148790

<140> PCT/US2015/022715

<141> 2015-03-26

<150> US 61/971,170

<151> 2014-03-27

<160> 27

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 451

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 1

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

1 5 10 15

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

 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Tyr Arg Arg Ile Gly Val Pro Arg Arg Asp Glu Phe Asp Ile Trp
 100 105 110
 Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
 115 120 125
 Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
 130 135 140

 Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
 145 150 155 160
 Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
 165 170 175
 Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
 180 185 190
 Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
 195 200 205

 His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser
 210 215 220
 Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
 225 230 235 240
 Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
 245 250 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
260 265 270

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
275 280 285

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
290 295 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305 310 315 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
325 330 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
340 345 350

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
355 360 365

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

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385 390 395 400

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
405 410 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
420 425 430

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
435 440 445

Ser Pro Gly
450

<210> 2

<211> 213

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 2

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Trp
20 25 30

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

Tyr Lys Ala Ser Thr Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Thr Tyr Trp Thr
85 90 95

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
100 105 110

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

Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
130 135 140

Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
145 150 155 160

Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
165 170 175

Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
180 185 190

Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
195 200 205

Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 3

<211> 122

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 3

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Tyr Arg Arg Ile Gly Val Pro Arg Arg Asp Glu Phe Asp Ile Trp

100 105 110

Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 4

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 4

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

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

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

<210> 5

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 5

His Tyr Ile Met Met

1 5

<210> 6

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 6

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

1 5 10 15

Gly

<210> 7

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 7

Arg Arg Ile Gly Val Pro Arg Arg Asp Glu Phe Asp Ile

1 5 10

<210> 8

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 8

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Trp Leu Ala

1 5 10

<210> 9

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223>

Synthetic Polypeptide

<400> 9

Lys Ala Ser Thr Leu Glu Ser

1 5

<210> 10

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 10

Gln Gln Tyr Asn Thr Tyr Trp Thr

1 5

<210> 11

<211> 619

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 11

Gly Cys Leu Thr Gln Leu Tyr Glu Asn Ala Phe Phe Arg Gly Gly Asp

1 5 10 15

Val Ala Ser Met Tyr Thr Pro Asn Ala Gln Tyr Cys Gln Met Arg Cys

20

25

30

Thr Phe His Pro Arg Cys Leu Leu Phe Ser Phe Leu Pro Ala Ser Ser
 35 40 45
 Ile Asn Asp Met Glu Lys Arg Phe Gly Cys Phe Leu Lys Asp Ser Val
 50 55 60
 Thr Gly Thr Leu Pro Lys Val His Arg Thr Gly Ala Val Ser Gly His
 65 70 75 80
 Ser Leu Lys Gln Cys Gly His Gln Ile Ser Ala Cys His Arg Asp Ile
 85 90 95
 Tyr Lys Gly Val Asp Met Arg Gly Val Asn Phe Asn Val Ser Lys Val
 100 105 110
 Ser Ser Val Glu Glu Cys Gln Lys Arg Cys Thr Ser Asn Ile Arg Cys
 115 120 125
 Gln Phe Phe Ser Tyr Ala Thr Gln Thr Phe His Lys Ala Glu Tyr Arg
 130 135 140
 Asn Asn Cys Leu Leu Lys Tyr Ser Pro Gly Gly Thr Pro Thr Ala Ile
 145 150 155 160
 Lys Val Leu Ser Asn Val Glu Ser Gly Phe Ser Leu Lys Pro Cys Ala
 165 170 175
 Leu Ser Glu Ile Gly Cys His Met Asn Ile Phe Gln His Leu Ala Phe
 180 185 190
 Ser Asp Val Asp Val Ala Arg Val Leu Thr Pro Asp Ala Phe Val Cys
 195 200 205
 Arg Thr Ile Cys Thr Tyr His Pro Asn Cys Leu Phe Phe Thr Phe Tyr
 210 215 220
 Thr Asn Val Trp Lys Ile Glu Ser Gln Arg Asn Val Cys Leu Leu Lys
 225 230 235 240
 Thr Ser Glu Ser Gly Thr Pro Ser Ser Ser Thr Pro Gln Glu Asn Thr
 245 250 255
 Ile Ser Gly Tyr Ser Leu Leu Thr Cys Lys Arg Thr Leu Pro Glu Pro
 260 265 270
 Cys His Ser Lys Ile Tyr Pro Gly Val Asp Phe Gly Gly Glu Glu Leu

275 280 285
 Asn Val Thr Phe Val Lys Gly Val Asn Val Cys Gln Glu Thr Cys Thr
 290 295 300
 Lys Met Ile Arg Cys Gln Phe Phe Thr Tyr Ser Leu Leu Pro Glu Asp
 305 310 315 320
 Cys Lys Glu Glu Lys Cys Lys Cys Phe Leu Arg Leu Ser Met Asp Gly
 325 330 335
 Ser Pro Thr Arg Ile Ala Tyr Gly Thr Gln Gly Ser Ser Gly Tyr Ser

 340 345 350
 Leu Arg Leu Cys Asn Thr Gly Asp Asn Ser Val Cys Thr Thr Lys Thr
 355 360 365
 Ser Thr Arg Ile Val Gly Gly Thr Asn Ser Ser Trp Gly Glu Trp Pro
 370 375 380
 Trp Gln Val Ser Leu Gln Val Lys Leu Thr Ala Gln Arg His Leu Cys
 385 390 395 400
 Gly Gly Ser Leu Ile Gly His Gln Trp Val Leu Thr Ala Ala His Cys

 405 410 415
 Phe Asp Gly Leu Pro Leu Gln Asp Val Trp Arg Ile Tyr Ser Gly Ile
 420 425 430
 Leu Asn Leu Ser Asp Ile Thr Lys Asp Thr Pro Phe Ser Gln Ile Lys
 435 440 445
 Glu Ile Ile Ile His Gln Asn Tyr Lys Val Ser Glu Gly Asn His Asp
 450 455 460
 Ile Ala Leu Ile Lys Leu Gln Ala Pro Leu Asn Tyr Thr Glu Phe Gln

 465 470 475 480
 Lys Pro Ile Ser Leu Pro Ser Lys Gly Asp Thr Ser Thr Ile Tyr Thr
 485 490 495
 Asn Cys Trp Val Thr Gly Trp Gly Phe Ser Lys Glu Lys Gly Glu Ile
 500 505 510
 Gln Asn Ile Leu Gln Lys Val Asn Ile Pro Leu Val Thr Asn Glu Glu
 515 520 525

Cys Gln Lys Arg Tyr Gln Asp Tyr Lys Ile Thr Gln Arg Met Val Cys

530

535

540

Ala Gly Tyr Lys Glu Gly Gly Lys Asp Ala Cys Lys Gly Asp Ser Gly

545

550

555

560

Gly Pro Leu Val Cys Lys His Asn Gly Met Trp Arg Leu Val Gly Ile

565

570

575

Thr Ser Trp Gly Glu Gly Cys Ala Arg Arg Glu Gln Pro Gly Val Tyr

580

585

590

Thr Lys Val Ala Glu Tyr Met Asp Trp Ile Leu Glu Lys Thr Gln Ser

595

600

605

Ser Asp Gly Lys Ala Gln Met Gln Ser Pro Ala

610

615

<210> 12

<211> 638

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 12

Met Ile Leu Phe Lys Gln Ala Thr Tyr Phe Ile Ser Leu Phe Ala Thr

1

5

10

15

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

20

25

30

Gly Gly Asp Val Ala Ser Met Tyr Thr Pro Asn Ala Gln Tyr Cys Gln

35

40

45

Met Arg Cys Thr Phe His Pro Arg Cys Leu Leu Phe Ser Phe Leu Pro

50

55

60

Ala Ser Ser Ile Asn Asp Met Glu Lys Arg Phe Gly Cys Phe Leu Lys

65

70

75

80

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

85

90

95

Ser Gly His Ser Leu Lys Gln Cys Gly His Gln Ile Ser Ala Cys His

100

105

110

Arg Asp Ile Tyr Lys Gly Val Asp Met Arg Gly Val Asn Phe Asn Val
 115 120 125
 Ser Lys Val Ser Ser Val Glu Glu Cys Gln Lys Arg Cys Thr Ser Asn
 130 135 140
 Ile Arg Cys Gln Phe Phe Ser Tyr Ala Thr Gln Thr Phe His Lys Ala
 145 150 155 160
 Glu Tyr Arg Asn Asn Cys Leu Leu Lys Tyr Ser Pro Gly Gly Thr Pro
 165 170 175
 Thr Ala Ile Lys Val Leu Ser Asn Val Glu Ser Gly Phe Ser Leu Lys
 180 185 190
 Pro Cys Ala Leu Ser Glu Ile Gly Cys His Met Asn Ile Phe Gln His
 195 200 205
 Leu Ala Phe Ser Asp Val Asp Val Ala Arg Val Leu Thr Pro Asp Ala
 210 215 220
 Phe Val Cys Arg Thr Ile Cys Thr Tyr His Pro Asn Cys Leu Phe Phe
 225 230 235 240
 Thr Phe Tyr Thr Asn Val Trp Lys Ile Glu Ser Gln Arg Asn Val Cys
 245 250 255
 Leu Leu Lys Thr Ser Glu Ser Gly Thr Pro Ser Ser Ser Thr Pro Gln
 260 265 270
 Glu Asn Thr Ile Ser Gly Tyr Ser Leu Leu Thr Cys Lys Arg Thr Leu
 275 280 285
 Pro Glu Pro Cys His Ser Lys Ile Tyr Pro Gly Val Asp Phe Gly Gly
 290 295 300
 Glu Glu Leu Asn Val Thr Phe Val Lys Gly Val Asn Val Cys Gln Glu
 305 310 315 320
 Thr Cys Thr Lys Met Ile Arg Cys Gln Phe Phe Thr Tyr Ser Leu Leu
 325 330 335
 Pro Glu Asp Cys Lys Glu Glu Lys Cys Lys Cys Phe Leu Arg Leu Ser
 340 345 350
 Met Asp Gly Ser Pro Thr Arg Ile Ala Tyr Gly Thr Gln Gly Ser Ser

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

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

 485 490 495
 Glu Phe Gln Lys Pro Ile Cys Leu Pro Ser Lys Gly Asp Thr Ser Thr
 500 505 510
 Ile Tyr Thr Asn Cys Trp Val Thr Gly Trp Gly Phe Ser Lys Glu Lys
 515 520 525
 Gly Glu Ile Gln Asn Ile Leu Gln Lys Val Asn Ile Pro Leu Val Thr
 530 535 540
 Asn Glu Glu Cys Gln Lys Arg Tyr Gln Asp Tyr Lys Ile Thr Gln Arg

 545 550 555 560
 Met Val Cys Ala Gly Tyr Lys Glu Gly Gly Lys Asp Ala Cys Lys Gly
 565 570 575
 Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Lys His Asn Gly Met Trp Arg Leu
 580 585 590
 Val Gly Ile Thr Ser Trp Gly Glu Gly Cys Ala Arg Arg Glu Gln Pro
 595 600 605

Gly Val Tyr Thr Lys Val Ala Glu Tyr Met Asp Trp Ile Leu Glu Lys

610

615

620

Thr Gln Ser Ser Asp Gly Lys Ala Gln Met Gln Ser Pro Ala

625

630

635

<210> 13

<211> 638

<212> PRT

<213> Rattus norvegicus

<400> 13

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

1

5

10

15

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

20

25

30

Gly Gly Asp Leu Ala Ala Ile Tyr Thr Pro Asp Ala Gln His Cys Gln

35

40

45

Lys Met Cys Thr Phe His Pro Arg Cys Leu Leu Phe Ser Phe Leu Ala

50

55

60

Val Ser Pro Thr Lys Glu Thr Asp Lys Arg Phe Gly Cys Phe Met Lys

65

70

75

80

Glu Ser Ile Thr Gly Thr Leu Pro Arg Ile His Arg Thr Gly Ala Ile

85

90

95

Ser Gly His Ser Leu Lys Gln Cys Gly His Gln Leu Ser Ala Cys His

100

105

110

Gln Asp Ile Tyr Glu Gly Leu Asp Met Arg Gly Ser Asn Phe Asn Ile

115

120

125

Ser Lys Thr Asp Ser Ile Glu Glu Cys Gln Lys Leu Cys Thr Asn Asn

130

135

140

Ile His Cys Gln Phe Phe Thr Tyr Ala Thr Lys Ala Phe His Arg Pro

145

150

155

160

Glu Tyr Arg Lys Ser Cys Leu Leu Lys Arg Ser Ser Ser Gly Thr Pro

165

170

175

Thr Ser Ile Lys Pro Val Asp Asn Leu Val Ser Gly Phe Ser Leu Lys
180 185 190

Ser Cys Ala Leu Ser Glu Ile Gly Cys Pro Met Asp Ile Phe Gln His
195 200 205

Phe Ala Phe Ala Asp Leu Asn Val Ser His Val Val Thr Pro Asp Ala
210 215 220

Phe Val Cys Arg Thr Val Cys Thr Phe His Pro Asn Cys Leu Phe Phe
225 230 235 240

Thr Phe Tyr Thr Asn Glu Trp Glu Thr Glu Ser Gln Arg Asn Val Cys
245 250 255

Phe Leu Lys Thr Ser Lys Ser Gly Arg Pro Ser Pro Pro Ile Ile Gln
260 265 270

Glu Asn Ala Val Ser Gly Tyr Ser Leu Phe Thr Cys Arg Lys Ala Arg
275 280 285

Pro Glu Pro Cys His Phe Lys Ile Tyr Ser Gly Val Ala Phe Glu Gly
290 295 300

Glu Glu Leu Asn Ala Thr Phe Val Gln Gly Ala Asp Ala Cys Gln Glu
305 310 315 320

Thr Cys Thr Lys Thr Ile Arg Cys Gln Phe Phe Thr Tyr Ser Leu Leu
325 330 335

Pro Gln Asp Cys Lys Ala Glu Gly Cys Lys Cys Ser Leu Arg Leu Ser
340 345 350

Thr Asp Gly Ser Pro Thr Arg Ile Thr Tyr Glu Ala Gln Gly Ser Ser
355 360 365

Gly Tyr Ser Leu Arg Leu Cys Lys Val Val Glu Ser Ser Asp Cys Thr
370 375 380

Thr Lys Ile Asn Ala Arg Ile Val Gly Gly Thr Asn Ser Ser Leu Gly
385 390 395 400

Glu Trp Pro Trp Gln Val Ser Leu Gln Val Lys Leu Val Ser Gln Asn
405 410 415

His Met Cys Gly Gly Ser Ile Ile Gly Arg Gln Trp Ile Leu Thr Ala

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

 Ser Tyr Asp Ile Ala Leu Ile Lys Leu Gln Thr Pro Leu Asn Tyr Thr
 485 490 495
 Glu Phe Gln Lys Pro Ile Cys Leu Pro Ser Lys Ala Asp Thr Asn Thr
 500 505 510
 Ile Tyr Thr Asn Cys Trp Val Thr Gly Trp Gly Tyr Thr Lys Glu Arg
 515 520 525
 Gly Glu Thr Gln Asn Ile Leu Gln Lys Ala Thr Ile Pro Leu Val Pro
 530 535 540

 Asn Glu Glu Cys Gln Lys Lys Tyr Arg Asp Tyr Val Ile Thr Lys Gln
 545 550 555 560
 Met Ile Cys Ala Gly Tyr Lys Glu Gly Gly Ile Asp Ala Cys Lys Gly
 565 570 575
 Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Lys His Ser Gly Arg Trp Gln Leu
 580 585 590
 Val Gly Ile Thr Ser Trp Gly Glu Gly Cys Ala Arg Lys Glu Gln Pro
 595 600 605

 Gly Val Tyr Thr Lys Val Ala Glu Tyr Ile Asp Trp Ile Leu Glu Lys
 610 615 620
 Ile Gln Ser Ser Lys Glu Arg Ala Leu Glu Thr Ser Pro Ala
 625 630 635
 <210> 14
 <211> 638
 <212> PRT
 <213> Mus musculus
 <400> 14

Met Ile Leu Phe Asn Arg Val Gly Tyr Phe Val Ser Leu Phe Ala Thr
1 5 10 15
Val Ser Cys Gly Cys Met Thr Gln Leu Tyr Lys Asn Thr Phe Phe Arg
20 25 30
Gly Gly Asp Leu Ala Ala Ile Tyr Thr Pro Asp Ala Gln Tyr Cys Gln
35 40 45
Lys Met Cys Thr Phe His Pro Arg Cys Leu Leu Phe Ser Phe Leu Ala
50 55 60
Val Thr Pro Pro Lys Glu Thr Asn Lys Arg Phe Gly Cys Phe Met Lys
65 70 75 80
Glu Ser Ile Thr Gly Thr Leu Pro Arg Ile His Arg Thr Gly Ala Ile
85 90 95
Ser Gly His Ser Leu Lys Gln Cys Gly His Gln Ile Ser Ala Cys His
100 105 110
Arg Asp Ile Tyr Lys Gly Leu Asp Met Arg Gly Ser Asn Phe Asn Ile
115 120 125
Ser Lys Thr Asp Asn Ile Glu Glu Cys Gln Lys Leu Cys Thr Asn Asn
130 135 140
Phe His Cys Gln Phe Phe Thr Tyr Ala Thr Ser Ala Phe Tyr Arg Pro
145 150 155 160
Glu Tyr Arg Lys Lys Cys Leu Leu Lys His Ser Ala Ser Gly Thr Pro
165 170 175
Thr Ser Ile Lys Ser Ala Asp Asn Leu Val Ser Gly Phe Ser Leu Lys
180 185 190
Ser Cys Ala Leu Ser Glu Ile Gly Cys Pro Met Asp Ile Phe Gln His
195 200 205
Ser Ala Phe Ala Asp Leu Asn Val Ser Gln Val Ile Thr Pro Asp Ala
210 215 220
Phe Val Cys Arg Thr Ile Cys Thr Phe His Pro Asn Cys Leu Phe Phe
225 230 235 240
Thr Phe Tyr Thr Asn Glu Trp Glu Thr Glu Ser Gln Arg Asn Val Cys

245 250 255
 Phe Leu Lys Thr Ser Lys Ser Gly Arg Pro Ser Pro Pro Ile Pro Gln
 260 265 270
 Glu Asn Ala Ile Ser Gly Tyr Ser Leu Leu Thr Cys Arg Lys Thr Arg

 275 280 285
 Pro Glu Pro Cys His Ser Lys Ile Tyr Ser Gly Val Asp Phe Glu Gly
 290 295 300
 Glu Glu Leu Asn Val Thr Phe Val Gln Gly Ala Asp Val Cys Gln Glu
 305 310 315 320
 Thr Cys Thr Lys Thr Ile Arg Cys Gln Phe Phe Ile Tyr Ser Leu Leu
 325 330 335
 Pro Gln Asp Cys Lys Glu Glu Gly Cys Lys Cys Ser Leu Arg Leu Ser

 340 345 350
 Thr Asp Gly Ser Pro Thr Arg Ile Thr Tyr Gly Met Gln Gly Ser Ser
 355 360 365
 Gly Tyr Ser Leu Arg Leu Cys Lys Leu Val Asp Ser Pro Asp Cys Thr
 370 375 380
 Thr Lys Ile Asn Ala Arg Ile Val Gly Gly Thr Asn Ala Ser Leu Gly
 385 390 395 400
 Glu Trp Pro Trp Gln Val Ser Leu Gln Val Lys Leu Val Ser Gln Thr

 405 410 415
 His Leu Cys Gly Gly Ser Ile Ile Gly Arg Gln Trp Val Leu Thr Ala
 420 425 430
 Ala His Cys Phe Asp Gly Ile Pro Tyr Pro Asp Val Trp Arg Ile Tyr
 435 440 445
 Gly Gly Ile Leu Ser Leu Ser Glu Ile Thr Lys Glu Thr Pro Ser Ser
 450 455 460
 Arg Ile Lys Glu Leu Ile Ile His Gln Glu Tyr Lys Val Ser Glu Gly

 465 470 475 480
 Asn Tyr Asp Ile Ala Leu Ile Lys Leu Gln Thr Pro Leu Asn Tyr Thr
 485 490 495

Glu Phe Gln Lys Pro Ile Cys Leu Pro Ser Lys Ala Asp Thr Asn Thr
500 505 510
Ile Tyr Thr Asn Cys Trp Val Thr Gly Trp Gly Tyr Thr Lys Glu Gln
515 520 525
Gly Glu Thr Gln Asn Ile Leu Gln Lys Ala Thr Ile Pro Leu Val Pro
530 535 540
Asn Glu Glu Cys Gln Lys Lys Tyr Arg Asp Tyr Val Ile Asn Lys Gln
545 550 555 560
Met Ile Cys Ala Gly Tyr Lys Glu Gly Gly Thr Asp Ala Cys Lys Gly
565 570 575
Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Lys His Ser Gly Arg Trp Gln Leu
580 585 590
Val Gly Ile Thr Ser Trp Gly Glu Gly Cys Gly Arg Lys Asp Gln Pro
595 600 605
Gly Val Tyr Thr Lys Val Ser Glu Tyr Met Asp Trp Ile Leu Glu Lys
610 615 620
Thr Gln Ser Ser Asp Val Arg Ala Leu Glu Thr Ser Ser Ala
625 630 635
<210> 15
<211> 13
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic Polypeptide
<220><221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> Xaa is Arg or Gln
<220><221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> Xaa is Thr, Ile, Arg, Ser, or Pro
<220><221> MISC_FEATURE
<222> (5)..(5)
<223> Xaa is Val, Ile, or Leu

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (8)..(8)

<223> Xaa is Arg or Trp

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (9)..(9)

<223> Xaa is Asp or Asn

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (10)..(10)

<223> Xaa is Ala, Ser, Asp, Glu, or Val

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (11)..(11)

<223> Xaa is Phe or Leu

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (12)..(12)

<223> Xaa is Asp, Glu, or Asn

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (13)..(13)

<223> Xaa is Ile, Asn, Met, or Ser

<400> 15

Xaa Arg Xaa Gly Xaa Pro Arg Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

1 5 10

<210> 16

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 16

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Lys Ala Ser Thr Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Thr Tyr Trp Thr

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

<210> 17

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 17

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Trp
20 25 30

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

Ala Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser
50 55 60

Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp Asp Phe
65 70 75 80

Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Tyr Trp Thr Phe Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Lys Val Glu Ile Lys
100

<210> 18

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 18

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Trp Thr

85 90 95

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 19

<211> 122

<212>

> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 19

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

<210> 20

<211> 104

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 20

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

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

<210> 21

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 21

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

<210> 22

<211> 248

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 22

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

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

<210> 23

<211> 248

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 23

Ile Val Gly Gly Thr Asn Ser Ser Trp Gly Glu Trp Pro Trp Gln Val
1 5 10 15
Ser Leu Gln Val Lys Leu Thr Ala Gln Arg His Leu Cys Gly Gly Ser
20 25 30

Leu Ile Gly His Gln Trp Val Leu Thr Ala Ala His Cys Phe Asp Gly
35 40 45

Leu Pro Leu Gln Asp Val Trp Arg Ile Tyr Ser Gly Ile Leu Asn Leu
50 55 60

Ser Asp Ile Thr Lys Asp Thr Pro Phe Ser Gln Ile Lys Glu Ile Ile
65 70 75 80

Ile His Gln Asn Tyr Lys Val Ala Glu Gly Ala His Asp Ile Ala Leu
85 90 95

Ile Lys Leu Gln Ala Pro Leu Asn Tyr Thr Glu Phe Gln Lys Pro Ile
100 105 110

Ser Leu Pro Ala Ala Gly Asp Thr Ser Thr Ile Tyr Thr Asn Cys Trp
115 120 125

Val Thr Gly Trp Gly Phe Ser Lys Glu Lys Gly Glu Ile Gln Asn Ile
130 135 140

Leu Gln Lys Val Asn Ile Pro Leu Val Thr Asn Glu Glu Cys Gln Lys
145 150 155 160

Arg Tyr Gln Asp Tyr Lys Ile Thr Gln Arg Met Val Cys Ala Gly Tyr
165 170 175

Lys Glu Gly Gly Lys Asp Ala Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu
180 185 190

Val Cys Lys His Asn Gly Met Trp Arg Leu Val Gly Ile Thr Ser Trp
195 200 205

Gly Glu Gly Cys Ala Arg Arg Glu Gln Pro Gly Val Tyr Thr Lys Val
210 215 220

Ala Glu Tyr Met Asp Trp Ile Leu Glu Lys Thr Gln Ser Ser Asp Gly
225 230 235 240

Lys Ala Gln Met Gln Ser Pro Ala
245

<210> 24

<211> 248

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 24

Ile Val Gly Gly Thr Asn Ser Ser Trp Gly Glu Trp Pro Trp Gln Val

1 5 10 15

Ser Leu Gln Val Lys Leu Thr Ala Gln Arg His Leu Cys Gly Gly Ser

20 25 30

Leu Ile Gly His Gln Trp Val Leu Thr Ala Ala His Cys Phe Asp Gly

35 40 45

Leu Pro Leu Gln Asp Val Trp Arg Ile Tyr Ser Gly Ile Leu Asn Leu

50 55 60

Ser Asp Ile Thr Lys Asp Thr Pro Phe Ser Gln Ile Lys Glu Ile Ile

65 70 75 80

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

85 90 95

Ile Lys Leu Gln Ala Pro Leu Asn Tyr Thr Glu Phe Gln Lys Pro Ile

100 105 110

Ser Leu Pro Ser Lys Gly Asp Thr Ser Thr Ile Tyr Thr Asn Cys Trp

115 120 125

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

130 135 140

Leu Gln Lys Val Asn Ile Pro Leu Val Thr Asn Glu Glu Cys Gln Lys

145 150 155 160

Ala Tyr Ala Asp Ala Lys Ile Ala Gln Ala Met Val Cys Ala Gly Tyr

165 170 175

Lys Glu Gly Gly Lys Asp Ala Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu

180 185 190

Val Cys Lys His Asn Gly Met Trp Arg Leu Val Gly Ile Thr Ser Trp

195 200 205

Gly Glu Gly Cys Ala Arg Arg Glu Gln Pro Gly Val Tyr Thr Lys Val

210 215 220

Ala Glu Tyr Met Asp Trp Ile Leu Glu Lys Thr Gln Ser Ser Asp Gly

225 230 235 240

Lys Ala Gln Met Gln Ser Pro Ala

245

<210> 25

<211> 248

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 25

Ile Val Gly Gly Thr Asn Ser Ser Trp Gly Glu Trp Pro Trp Gln Val

1 5 10 15

Ser Leu Gln Val Lys Leu Thr Ala Gln Arg His Leu Cys Gly Gly Ser

20 25 30

Leu Ile Gly His Gln Trp Val Leu Thr Ala Ala His Cys Phe Asp Gly

35 40 45

Leu Pro Leu Gln Asp Val Trp Arg Ile Tyr Ser Gly Ile Leu Asn Leu

50 55 60

Ser Asp Ile Thr Lys Asp Thr Pro Phe Ser Gln Ile Lys Glu Ile Ile

65 70 75 80

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

85 90 95

Ile Lys Leu Gln Ala Pro Leu Asn Tyr Thr Glu Phe Gln Lys Pro Ile

100 105 110

Ser Leu Pro Ser Lys Gly Asp Thr Ser Thr Ile Tyr Thr Asn Cys Trp

115 120 125

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

130 135 140

Leu Gln Lys Val Asn Ile Pro Leu Val Thr Asn Glu Glu Cys Gln Lys

145 150 155 160

Arg Tyr Gln Asp Tyr Lys Ile Thr Gln Arg Met Val Cys Ala Gly Tyr

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

Ala Glu Tyr Met Asp Trp Ile Leu Glu Lys Thr Gln Ser Ser Asp Gly
225 230 235 240
Lys Ala Gln Met Gln Ser Pro Ala
245

<210> 26

<211> 248

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 26

Ile Val Gly Gly Thr Ala Ser Ala Ala Gly Glu Trp Pro Trp Gln Val
1 5 10 15
Ser Leu Gln Val Lys Leu Thr Ala Gln Arg His Leu Cys Gly Gly Ser

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

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

115 120 125
 Val Thr Gly Trp Gly Phe Ser Lys Glu Lys Gly Glu Ile Gln Asn Ile
 130 135 140
 Leu Gln Lys Val Asn Ile Pro Leu Val Thr Asn Glu Glu Cys Gln Lys

 145 150 155 160
 Arg Tyr Gln Asp Tyr Lys Ile Thr Gln Arg Met Val Cys Ala Gly Tyr
 165 170 175
 Lys Glu Gly Gly Lys Asp Ala Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu
 180 185 190
 Val Cys Lys His Asn Gly Met Trp Arg Leu Val Gly Ile Thr Ser Trp
 195 200 205
 Gly Glu Gly Cys Ala Arg Arg Glu Gln Pro Gly Val Tyr Thr Lys Val

 210 215 220
 Ala Glu Tyr Met Asp Trp Ile Leu Glu Lys Thr Gln Ser Ser Asp Gly
 225 230 235 240
 Lys Ala Gln Met Gln Ser Pro Ala
 245
 <210> 27
 <211> 248
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic Polypeptide
 <400> 27
 Ile Val Gly Gly Thr Asn Ser Ser Trp Gly Glu Trp Pro Trp Gln Val
 1 5 10 15

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

65					70				75				80			
Ile	His	Gln	Asn	Tyr	Lys	Val	Ser	Glu	Gly	Asn	His	Asp	Ile	Ala	Leu	
				85				90				95				
Ile	Lys	Leu	Gln	Ala	Pro	Leu	Asn	Tyr	Thr	Glu	Phe	Gln	Lys	Pro	Ile	
				100				105				110				
Ser	Leu	Pro	Ser	Lys	Gly	Asp	Thr	Ser	Thr	Ile	Tyr	Thr	Asn	Cys	Trp	
				115				120				125				
Val	Thr	Gly	Trp	Gly	Phe	Ser	Lys	Glu	Lys	Gly	Glu	Ile	Gln	Asn	Ile	
				130				135				140				
Leu	Gln	Lys	Val	Asn	Ile	Pro	Leu	Val	Thr	Asn	Glu	Glu	Cys	Gln	Lys	
145				150				155				160				
Arg	Tyr	Gln	Asp	Tyr	Lys	Ile	Thr	Gln	Arg	Met	Val	Cys	Ala	Gly	Tyr	
				165				170				175				
Lys	Glu	Gly	Gly	Lys	Asp	Ala	Cys	Lys	Gly	Asp	Ser	Gly	Gly	Pro	Leu	
				180				185				190				
Val	Cys	Lys	His	Asn	Gly	Met	Trp	Arg	Leu	Val	Gly	Ile	Thr	Ser	Trp	
				195				200				205				
Gly	Glu	Gly	Cys	Ala	Arg	Arg	Glu	Gln	Pro	Gly	Val	Tyr	Thr	Lys	Val	
210				215				220								
Ala	Glu	Tyr	Met	Asp	Trp	Ile	Leu	Glu	Lys	Thr	Gln	Ser	Ser	Asp	Gly	
225				230				235				240				
Lys	Ala	Gln	Met	Gln	Ser	Pro	Ala									
245																