



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2016-0070136
(43) 공개일자 2016년06월17일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/18 (2006.01) *A61K 39/00* (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01) *A61K 45/06* (2006.01)
A61K 47/48 (2006.01) *C07K 16/30* (2006.01)
- (52) CPC특허분류
C07K 16/18 (2013.01)
A61K 39/3955 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2016-7012644
- (22) 출원일자(국제) 2014년10월17일
 심사청구일자 **없음**
- (85) 번역문제출일자 2016년05월13일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2014/061215
- (87) 국제공개번호 WO 2015/058132
 국제공개일자 2015년04월23일
- (30) 우선권주장
 61/893,141 2013년10월18일 미국(US)
 62/056,324 2014년09월26일 미국(US)

- (71) 출원인
제넨테크, 임크.
 미합중국 캘리포니아 (우편번호 94080-4990) 사우
 쓰샌프란시스코 디엔에이 웨이 1
- (72) 발명자
스톰, 일레인
 미국 94080 캘리포니아주 사우쓰 샌프란시스코 디
 엔에이 웨이 1 제넨테크 임크. 내
드 소바쥬, 프레드릭 제이.
 미국 94080 캘리포니아주 사우쓰 샌프란시스코 디
 엔에이 웨이 1 제넨테크 임크. 내
 (뒷면에 계속)
- (74) 대리인
양영준, 이귀동

전체 청구항 수 : 총 56 항

(54) 발명의 명칭 항-RSP02 및/또는 항-RSP03 항체 및 그의 용도

(57) 요 약

본원은 항-RSP0 항체, 특히 항-RSP02 항체 및/또는 항-RSP03 항체, 및 그의 사용 방법을 제공한다.

(52) CPC특허분류

A61K 45/06 (2013.01)
A61K 47/48538 (2013.01)
C07K 16/3046 (2013.01)
A61K 2039/505 (2013.01)
C07K 2317/24 (2013.01)
C07K 2317/34 (2013.01)
C07K 2317/56 (2013.01)
C07K 2317/76 (2013.01)
C07K 2317/92 (2013.01)

(72) 발명자

머레이, 제레미 엠.

미국 94080 캘리포니아주 사우쓰 샌프란시스코 디
엔에이 웨이 1 제넨테크 인크. 내

놀란드, 카메론 엘.

미국 94080 캘리포니아주 사우쓰 샌프란시스코 디
엔에이 웨이 1 제넨테크 인크. 내

우, 얀

미국 94080 캘리포니아주 사우쓰 샌프란시스코 디
엔에이 웨이 1 제넨테크 인크. 내

탄, 크리스틴

미국 94080 캘리포니아주 사우쓰 샌프란시스코 디
엔에이 웨이 1 제넨테크 인크. 내

홍고, 조-앤

미국 94080 캘리포니아주 사우쓰 샌프란시스코 디
엔에이 웨이 1 제넨테크 인크. 내

챈, 용메이

미국 94080 캘리포니아주 사우쓰 샌프란시스코 디
엔에이 웨이 1 제넨테크 인크. 내

명세서

청구범위

청구항 1

RSP02와 막횡단 E3 유비퀴티나제의 상호작용을 억제하는, RSP02에 결합하는 단리된 항체.

청구항 2

제1항에 있어서, RSP02와 LGR4, LGR5 및/또는 LGR6 중 1종 이상의 상호작용은 억제하지 않는 (예를 들어, RSP02와 LGR4, LGR5 및/또는 LGR6 중 1종 이상의 상호작용을 증진시키는) 단리된 항체.

청구항 3

(a) (i) 서열 53의 아미노산 서열을 포함하는 초가변 영역-L1 (HVR-L1), (ii) 서열 54의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및 (iii) 서열 55의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함하는 경쇄 가변 도메인 (VL), 및 (b) (i) 서열 56의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1, (ii) 서열 57의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 및 (iii) 서열 58의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함하는 중쇄 가변 도메인 (VH)을 포함하는, RSP02에 결합하는 단리된 항체.

청구항 4

제3항에 있어서, (a) 서열 105의 VL 서열 및 서열 106의 VH 서열을 포함하는 단리된 항체.

청구항 5

제1항에 있어서, RSP02와 LGR4, LGR5 및/또는 LGR6 중 1종 이상의 상호작용을 억제하는 단리된 항체.

청구항 6

(a) (i) 서열 59의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, (ii) 서열 60의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및 (iii) 서열 61의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함하는 VL; 및 (i) 서열 62의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1, (ii) 서열 63의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 및 (iii) 서열 64의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함하는 VH;

(b) (i) 서열 65의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, (ii) 서열 66의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및 (iii) 서열 67의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함하는 VL; 및 (i) 서열 68의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1, (ii) 서열 69의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 및 (iii) 서열 70의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함하는 VH; 또는

(c) (i) 서열 71의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, (ii) 서열 72의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및 (iii) 서열 73의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함하는 VL; 및 (i) 서열 74의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1, (ii) 서열 75의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 및 (iii) 서열 76의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함하는 VH

를 포함하는, RSP02에 결합하는 단리된 항체.

청구항 7

제6항에 있어서,

- (a) 서열 107의 VL 서열 및 서열 108의 VH 서열;
- (b) 서열 109의 VL 서열 및 서열 110의 VH 서열; 또는
- (c) 서열 111의 VL 서열 및 서열 112의 VH 서열

을 포함하는 단리된 항체.

청구항 8

RSP03과 막횡단 E3 유비퀴티나제의 상호작용을 억제하는, RSP03에 결합하는 단리된 항체.

청구항 9

제8항에 있어서, RSP03과 LGR4, LGR5 및/또는 LGR6 중 1종 이상의 상호작용을 억제하는 단리된 항체.

청구항 10

(a) (i) 서열 5의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, (ii) 서열 6의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및 (iii) 서열 7의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함하는 VL; 및 (i) 서열 8의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1, (ii) 서열 9의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 및 (iii) 서열 10의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함하는 VH;

(b) (i) 서열 11의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, (ii) 서열 12의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및 (iii) 서열 13의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함하는 VL; 및 (i) 서열 14의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1, (ii) 서열 15의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 및 (iii) 서열 16의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함하는 VH;

(c) (i) 서열 17의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, (ii) 서열 18의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및 (iii) 서열 19의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함하는 VL; 및 (i) 서열 20의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1, (ii) 서열 21의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 및 (iii) 서열 22의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함하는 VH;

(d) (i) 서열 23의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, (ii) 서열 24의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및 (iii) 서열 25의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함하는 VL; 및 (i) 서열 26의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1, (ii) 서열 27의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 및 (iii) 서열 28의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함하는 VH;

(e) (i) 서열 29의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, (ii) 서열 30의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및 (iii) 서열 31의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함하는 VL; 및 (i) 서열 32의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1, (ii) 서열 33의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 및 (iii) 서열 34의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함하는 VH;

(f) (i) 서열 35의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, (ii) 서열 36의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및 (iii) 서열 37의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함하는 VL; 및 (i) 서열 38의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1, (ii) 서열 39의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 및 (iii) 서열 40의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함하는 VH;

(g) (i) 서열 41의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, (ii) 서열 42의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및 (iii) 서열 43의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함하는 VL; 및 (i) 서열 44의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1, (ii) 서열 45의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 및 (iii) 서열 46의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함하는 VH;

(h) (i) 서열 23의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, (ii) 서열 24의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및 (iii) 서열 25의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함하는 VL; 및 (i) 서열 26의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1, (ii) 서열 27의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 및 (iii) 서열 188의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함하는 VH; 또는

(i) (i) 서열 23의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, (ii) 서열 24의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및 (iii) 서열 25의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함하는 VL; 및 (i) 서열 26의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1, (ii) 서열 27의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 및 (iii) 서열 189의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함하는 VH

를 포함하는, RSP03에 결합하는 단리된 항체.

청구항 11

제10항에 있어서,

- (a) 서열 89의 VL 서열 및 서열 90의 VH 서열;
- (b) 서열 91의 VL 서열 및 서열 92의 VH 서열;
- (c) 서열 93의 VL 서열 및 서열 94의 VH 서열;
- (d) 서열 95의 VL 서열 및 서열 96의 VH 서열;
- (e) 서열 97의 VL 서열 및 서열 98의 VH 서열;
- (f) 서열 99의 VL 서열 및 서열 100의 VH 서열;
- (g) 서열 101의 VL 서열 및 서열 102의 VH 서열;
- (h) 서열 190의 VL 서열 및 서열 191의 VH 서열;
- (i) 서열 192의 VL 서열 및 서열 193의 VH 서열;
- (j) 서열 194의 VL 서열 및 서열 195의 VH 서열;
- (k) 서열 196의 VL 서열 및 서열 197의 VH 서열;
- (l) 서열 198의 VL 서열 및 서열 199의 VH 서열;
- (m) 서열 200의 VL 서열 및 서열 201의 VH 서열;
- (n) 서열 202의 VL 서열 및 서열 203의 VH 서열;
- (o) 서열 204의 VL 서열 및 서열 205의 VH 서열;
- (p) 서열 206의 VL 서열 및 서열 207의 VH 서열;
- (q) 서열 208의 VL 서열 및 서열 209의 VH 서열;
- (r) 서열 210의 VL 서열 및 서열 211의 VH 서열;
- (w) 서열 212의 VL 서열 및 서열 213의 VH 서열; 또는
- (x) 서열 214의 VL 서열 및 서열 215의 VH 서열

을 포함하는 단리된 항체.

청구항 12

RSP02 및 RSP03에 결합하는 단리된 항체.

청구항 13

제12항에 있어서, RSP02 및 RSP03과 막횡단 E3 유비퀴티나제의 상호작용을 억제하는 단리된 항체.

청구항 14

제12항 또는 제13항에 있어서, RSP03과 LGR4, LGR5 및/또는 LGR6 중 1종 이상의 상호작용을 억제하는 단리된 항체.

청구항 15

제12항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, RSP02와 LGR4, LGR5 및/또는 LGR6 중 1종 이상의 상호작용을 억제하는 단리된 항체.

청구항 16

제12항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, RSP02와 LGR4, LGR5 및/또는 LGR6 중 1종 이상의 상호작용을 억제하지 않는 (예를 들어, LGR4, LGR5 및/또는 LGR6 중 1종 이상에 대한 RSP02의 결합을 증진시키는) 단리된 항체.

청구항 17

제12항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 가변 도메인 및 제2 가변 도메인을 포함하며, 여기서 제1 가변 도메인은 제1 세트의 6개의 HVR을 포함하고 제2 가변 도메인은 제2 세트의 6개의 HVR을 포함하며, 여기서 제1 및 제2 세트의 6개의 HVR은 동일한 것인 단리된 항체.

청구항 18

(a) (i) 서열 47의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, (ii) 서열 48의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및 (iii) 서열 49의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함하는 VL; 및 (b) (i) 서열 50의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1, (ii) 서열 51의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 및 (iii) 서열 52의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함하는 VH를 포함하는, RSP02 및 RSP03에 결합하는 단리된 항체.

청구항 19

제18항에 있어서, (a) 서열 103의 VL 서열 및 서열 104의 VH 서열을 포함하는 단리된 항체.

청구항 20

제12항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 가변 도메인 및 제2 가변 도메인을 포함하며, 여기서 제1 가변 도메인은 제1 세트의 6개의 HVR을 포함하고 제2 가변 도메인은 제2 세트의 6개의 HVR을 포함하며, 여기서 제1 및 제2 세트의 6개의 HVR은 상이한 것인 단리된 항체.

청구항 21

제12항 내지 제16항 및 제20항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 세트의 6개의 HVR이 4H1, 4D4, 5C2, 5D6, 5E11, 6E9, 및 21C2 중 어느 하나의 6개의 HVR이고, 제2 세트의 6개의 HVR이 1A1, 11F11, 36D2, 및 49G5 중 어느 하나의 6개의 HVR인 단리된 항체.

청구항 22

제21항에 있어서, 제1 세트의 6개의 HVR이 4H1, 4D4, 5C2, 5D6, 5E11, 6E9, 및 21C2 중 어느 하나의 6개의 HVR이고, 제2 세트의 6개의 HVR이 1A1의 6개의 HVR인 단리된 항체.

청구항 23

제1항, 제2항, 제5항, 제8항, 제9항, 제13항 내지 제17항, 및 제20항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, 막횡단 E3 유비퀴티나제가 ZNRF3 및/또는 RNF43인 단리된 항체.

청구항 24

(a) (i) 서열 77의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, (ii) 서열 78의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및 (iii) 서열 79의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함하는 VL; 및 (i) 서열 80의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1, (ii) 서열 81의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 및 (iii) 서열 82의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함하는 VH;

(b) (i) 서열 83의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, (ii) 서열 84의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및 (iii) 서열 85의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함하는 VL; 및 (i) 서열 86의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1, (ii) 서열 87의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 및 (iii) 서열 88의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함하는 VH; 또는

(c) (i) 서열 77의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, (ii) 서열 78의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및 (iii) 서열 79의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함하는 VL; 및 (i) 서열 80의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1, (ii) 서열 81의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 및 (iii) 서열 216의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함하는 VH

를 포함하는, RSP03에 결합하는 단리된 항체.

청구항 25

RSP03의 아미노산 47-108 내의 영역 (예를 들어, 49-108)에 결합하는, RSP03에 결합하는 단리된 항체.

청구항 26

RSP03 에피토프에 결합하며, 여기서 RSP03 에피토프는 RSP03의 아미노산 잔기: Gln72, Pro90, Asp91, 및 Lys94를 포함하는 것인 단리된 항체.

청구항 27

제26항에 있어서, RSP03 에피토프가 RSP03의 아미노산: Asn52, Leu55, Phe63, Gln72, Tyr89, Pro90, Asp91, Lys94, 및 Lys97을 포함하는 것인 단리된 항체.

청구항 28

제27항에 있어서, RSP03 에피토프가 RSP03의 아미노산 잔기: Ser49, Asn52, Cys54, Leu55, Ser56, Phe63, Leu65, Gln72, Ile73, Gly74, Tyr84, Tyr89, Pro90, Asp91, Ile92, Lys94, Lys97, 및 Lys108을 포함하는 것인 단리된 항체.

청구항 29

RSP03 에피토프에 결합하며, 여기서 RSP03 에피토프는 RSP03의 아미노산: Thr47, Leu55, Gln72, Pro90, Asp91, 및 Lys94를 포함하는 것인 단리된 항체.

청구항 30

제29항에 있어서, RSP03 에피토프가 RSP03의 아미노산: Thr47, Asn52, Leu55, Phe63, Gln72, Tyr89, Pro90, Asp91, Ile92, Lys94, 및 Lys97을 포함하는 것인 항체.

청구항 31

제30항에 있어서, RSP03 에피토프가 RSP03의 아미노산 잔기: Thr47, Asn52, Cys54, Leu55, Ser56, Phe63, Leu65, Gln72, Tyr84, Tyr89, Pro90, Asp91, Ile92, Asn93, Lys94, Lys97, 및 Lys108을 포함하는 것인 단리된 항체.

청구항 32

제1항 내지 제31항 중 어느 한 항에 있어서, RSP02 및/또는 RSP03 매개 wnt 신호전달을 억제하는 단리된 항체.

청구항 33

제32항에 있어서, RSP02 및/또는 RSP03에 결합하는 항체 단편인 단리된 항체.

청구항 34

제1항 내지 제33항 중 어느 한 항에 있어서, 모노클로날 항체인 항체.

청구항 35

제1항 내지 제34항 중 어느 한 항에 있어서, 인간 항체, 인간화 항체 또는 키메라 항체인 항체.

청구항 36

제1항 내지 제35항 중 어느 한 항에 있어서, 전장 IgG1 또는 IgG2a 항체인 항체.

청구항 37

제1항 내지 제36항 중 어느 한 항의 항체를 코딩하는 단리된 핵산.

청구항 38

제37항의 핵산을 포함하는 숙주 세포.

청구항 39

제38항의 숙주 세포를 항체가 생산되도록 배양하는 것을 포함하는, 항체를 생산하는 방법.

청구항 40

제39항에 있어서, 숙주 세포로부터 항체를 회수하는 것을 추가로 포함하는 방법.

청구항 41

제1항 내지 제36항 중 어느 한 항의 항체 및 세포독성제를 포함하는 면역접합체.

청구항 42

제1항 내지 제36항 중 어느 한 항의 항체 및 제약상 허용되는 담체를 포함하는 제약 제제.

청구항 43

제42항에 있어서, 추가의 치료제를 추가로 포함하는 제약 제제.

청구항 44

제1항 내지 제36항 중 어느 한 항에 있어서, 의약으로서 사용하기 위한 항체.

청구항 45

제1항 내지 제36항 중 어느 한 항에 있어서, 암을 치료하는데 사용하기 위한 항체.

청구항 46

제45항에 있어서, 암이 위장암, 위암, 결장암, 결장직장암, 폐암 또는 직장암인 항체.

청구항 47

제1항 내지 제36항 중 어느 한 항에 있어서, wnt 신호전달을 억제하고/거나, 혈관신생 및/또는 혈관생성을 억제하고/거나, 세포 증식을 억제하는데 사용하기 위한 항체.

청구항 48

암의 치료를 위한 의약의 제조에서의 제1항 내지 제36항 중 어느 한 항의 항체의 용도.

청구항 49

암이 위장암, 위암, 결장암, 결장직장암, 폐암 또는 직장암인, 제1항 내지 제36항 중 어느 한 항의 항체의 용도.

청구항 50

wnt 신호전달을 억제하고/거나, 혈관신생 및/또는 혈관생성을 억제하고/거나, 세포 증식을 억제하기 위한 의약의 제조에서의 제1항 내지 제36항 중 어느 한 항의 항체의 용도.

청구항 51

제1항 내지 제36항 중 어느 한 항의 항체의 유효량을 암에 걸린 개체에게 투여하는 것을 포함하는, 암에 걸린 개체를 치료하는 방법.

청구항 52

제51항에 있어서, 암이 위장암, 위암, 결장암, 결장직장암, 폐암 또는 직장암인 방법.

청구항 53

제51항 또는 제52항에 있어서, 추가의 치료제를 개체에게 투여하는 것을 추가로 포함하는 방법.

청구항 54

제1항 내지 제36항 중 어느 한 항의 항체의 유효량을 개체에게 투여하여 wnt 신호전달을 억제하고/거나, 혈관신생 및/또는 혈관생성을 억제하고/거나, 세포 증식을 억제하는 것을 포함하는, 개체에서 wnt 신호전달을 억제하고/거나, 혈관신생 및/또는 혈관생성을 억제하고/거나, 세포 증식을 억제하는 방법.

청구항 55

제45항, 제46항, 제48항, 제49항, 및 제51항 내지 제53항 중 어느 한 항에 있어서, 암이 참조와 비교하여 1종 이상의 RSPO (예를 들어, RSPO2 및/또는 RSPO3)의 증가된 발현을 특징으로 하는 것인 항체, 용도, 또는 방법.

청구항 56

제45항, 제46항, 제48항, 제49항, 및 제51항 내지 제53항 중 어느 한 항에 있어서, 암이 RSPO 전위 (예를 들어, RSPO2 전위 및/또는 RSPO3 전위)를 특징으로 하는 것인 항체, 용도, 또는 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001]

관련 출원에 대한 상호 참조

[0002]

본 출원은 35 U.S.C. § 119 하에 2013년 10월 18일에 출원된 미국 출원 번호 61/893,141 및 2014년 9월 26일에 출원된 62/056,324에 대한 이익을 주장하며, 그 내용은 그 전문이 본원에 참조로 포함된다.

[0003]

서열 목록

[0004]

본 출원은 EFS-웹을 통해 제출되고 그 전문이 본원에 참조로 포함되는 서열 목록을 함유한다. 2014년 10월 14일에 생성된 상기 ASCII 카피는 P5719R1-WO_SequenceListing.txt로 명명되고, 124950 바이트 크기이다.

[0005]

분야

[0006]

본원은 항-RSPO 항체, 특히 항-RSPO2 항체 및/또는 항-RSPO3 항체, 및 그의 사용 방법을 제공한다.

배경 기술

[0007]

R-스폰дин (RSPO) 패밀리는 척추동물 배아 및 성체에서 광범위하게 발현되는 4종의 분비 단백질 (RSPO1-RSPO4)의 소형 군이다. RSPO는 Wnt 경로 활성화를 강력하게 증진시킴으로써 발생 및 줄기 세포 성장에서 다면발현 기능을 갖는다 (Kazanskaya et al., Dev. Cell 7:525-534 (2004); Kim et al., Cell Cycle 5:23-26 (2006); WO 2005/040418). 포유동물 RSPO1-RSPO4는 40%-60% 아미노산 서열 동일성을 공유하고, 신호 펩티드, 2개의 인접한 푸린-유사 시스테인-풍부 도메인 (FU-CRD)에 이어서 트롬보스폰딘 유형 I 반복부 (TSR) 도메인, 및 양으로 하전된 C-말단 영역으로 이루어진다. 2개의 FU-CRD는 Wnt/β-카테닌 신호전달을 촉진하는데 필수적이고 충분하다 (Kazanskaya et al., Dev. Cell 7:525-534 (2004); WO 2005/040418).

[0008]

LGR4 (류신-풍부 반복부 [LRR]-함유 G-단백질-커플링된 수용체 [GPCR] 4), LGR5, 및 LGR6 (Hsu et al., Mol. Endocrinol. 12:1830-1845 (1998) 및 Hsu et al., Mol. Endocrinol. 14:1257-1271 (2000))은 RSPO에 대한 수용체이다. LGR4/5/6 수용체의 공통 특색은 특유한 유형의 성체 줄기 세포에서의 그의 발현이다. LGR5는 소장, 결장, 위, 및 모낭을 비롯한 Wnt-의존성 구획 내의 상주 줄기 세포에 대한 마커로서 이미 기재되어 있다 (Barker and Clevers Gastroenterology 138:1681-1696 (2010); Seshagiri et al., Nature 488:660-664 (2012)). LGR6은 또한 표피 내의 다능 줄기 세포의 마커로서 기능한다 (Snippert et al., Science 327:1385-1389 (2010)). LGR4는 중식성 세포에서 광범위하게 발현되고 (Van Schoore et al., Histochem Cell Biol. 124:35-50 (2005)), 그의 녹아웃 마우스는 골, 신장, 고환, 피부 및 담낭을 비롯한 많은 기관에서 발달 결함을 보인다 (Mustata et al., EMBO Rep 12:558-564 (2011)). LGR4/5/6 수용체는 7개의 막횡단 나선 전의 세포외 도메인 내 N- 및 C-말단 둘 다에서 시스테인-풍부 서열에 의해 플랭킹된 17개 LRR의 중심 어레이를 갖고, 세포 외 도메인은 RSPO과의 높은-친화도 결합을 위해 필수적이며 충분하다 (de Lau et al., Genome Biol. 13:242 (2011) 및 Wang et al., Genes & Dev. 27:1339-1344 (2013)).

[0009]

LGR4/5/6 수용체는 RSPO 인식 후에 저밀도 지단백질 수용체-관련 단백질 5/6 (LRP5/6)과 물리적으로 상호작용할 수 있고, 그에 의해 RSPO 및 Wnt 리간드는 함께 작용하여 Wnt/β-카테닌 신호전달을 활성화시킨다 (de Lau et al., Genome Biol. 13:242 (2011); Carmon et al., Proc Natl Acad Sci 108:11452-11457 (2012)). RSPO는 또

한 프리즐드 및 LRP5/6 수용체를 안정화시킴으로써 Wnt/β-카테닌 신호전달을 촉진할 수 있다 (Hao et al., *Nature* 485:195-200 (2012)). 아연 및 RING 평거 3 (ZNRF3) 및 그의 상동체, RING 평거 43 (RNF43)은 세포 표면 상의 프리즐드 및 LRP6 수용체의 턴오버를 촉진하는 막횡단 E3 유비퀴틴 리가제이다 (Hao et al., *Nature* 485:195-200 (2012); Koo et al., *Nature* 488:665-669 (2012)). RSP0는 LGR4/5/6의 세포외 도메인 및 ZNRF3/RNF43과의 상호작용에 의해 막으로부터 ZNRF3의 클리어런스를 유도할 수 있고, 이는 프리즐드 및 LRP6 수용체를 안정화시켜 Wnt/β-카테닌 신호전달을 증진시킨다 (Hao et al., *Nature* 485:195-200 (2012)).

[0010] 특히 출원 및 공개를 비롯하여 본원에 인용된 모든 참고문헌은 그 전문이 참조로 포함된다.

발명의 내용

[0011] 본 발명은 항-RSP0 항체, 특히 RSP02, RSP03, 및/또는 RSP02 및 RSP03 둘 다에 결합하는 항체, 및 그의 사용 방법을 제공한다.

[0012] 본원은 RSP02와 막횡단 E3 유비퀴티나제의 상호작용을 억제하는, RSP02에 결합하는 단리된 항체를 제공한다. 일부 실시양태에서, 막횡단 E3 유비퀴티나제는 ZNRF3 및/또는 RNF43이다.

[0013] 일부 실시양태에서, 항체는 RSP02와 LGR4, LGR5 및/또는 LGR6 중 1종 이상의 상호작용을 억제하지 않는다 (예를 들어, RSP02와 LGR4, LGR5 및/또는 LGR6 중 1종 이상의 상호작용을 증진시킨다). 예를 들어, 본원은 (a) (i) 서열 53의 아미노산 서열을 포함하는 초가변 영역-L1 (HVR-L1), (ii) 서열 54의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및 (iii) 서열 55의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함하는 경쇄 가변 도메인 (VL), 및 (b) (i) 서열 56의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1, (ii) 서열 57의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 및 (iii) 서열 58의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함하는 중쇄 가변 도메인 (VH)을 포함하는, RSP02에 결합하는 단리된 항체를 제공한다. 일부 실시양태에서, 항체는 (a) 서열 105의 VL 서열 및 서열 106의 VH 서열을 포함한다.

[0014] 일부 실시양태에서, 항체는 RSP02와 LGR4, LGR5 및/또는 LGR6 중 1종 이상의 상호작용을 억제한다. 예를 들어, 본원은 (a) (i) 서열 59의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, (ii) 서열 60의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및 (iii) 서열 61의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함하는 VL; 및 (i) 서열 62의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1, (ii) 서열 63의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 및 (iii) 서열 64의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함하는 VH; (b) (i) 서열 65의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, (ii) 서열 66의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및 (iii) 서열 67의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함하는 VL; 및 (i) 서열 68의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1, (ii) 서열 69의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 및 (iii) 서열 70의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함하는 VH; 또는 (c) (i) 서열 71의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, (ii) 서열 72의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및 (iii) 서열 73의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함하는 VL; 및 (i) 서열 74의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1, (ii) 서열 75의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 및 (iii) 서열 76의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함하는 VH를 포함하는, RSP02에 결합하는 단리된 항체를 제공한다. 일부 실시양태에서, 단리된 항체는 (a) 서열 107의 VL 서열 및 서열 108의 VH 서열; (b) 서열 109의 VL 서열 및 서열 110의 VH 서열; 또는 (c) 서열 111의 VL 서열 및 서열 112의 VH 서열을 포함한다.

[0015] 본원은 또한 RSP03과 막횡단 E3 유비퀴티나제의 상호작용을 억제하는, RSP03에 결합하는 단리된 항체를 제공한다. 일부 실시양태에서, 막횡단 E3 유비퀴티나제는 ZNRF3 및/또는 RNF43이다.

[0016] 일부 실시양태에서, 항체는 RSP03과 LGR4, LGR5 및/또는 LGR6 중 1종 이상의 상호작용을 억제하지 않는다 (예를 들어, LGR4, LGR5 및/또는 LGR6 중 1종 이상에 대한 RSP03의 결합을 증진시킨다).

[0017] 일부 실시양태에서, 항체는 RSP03과 LGR4, LGR5 및/또는 LGR6 중 1종 이상의 상호작용을 억제한다. 예를 들어, 본원은 (a) (i) 서열 5의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, (ii) 서열 6의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및 (iii) 서열 7의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함하는 VL; 및 (i) 서열 8의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1, (ii) 서열 9의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 및 (iii) 서열 10의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함하는 VH; (b) (i) 서열 11의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, (ii) 서열 12의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및 (iii) 서열 13의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함하는 VL; 및 (i) 서열 14의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1, (ii) 서열 15의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 및 (iii) 서열 16의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함하는 VH; (c) (i) 서열 17의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, (ii) 서열 18의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및 (iii) 서열 19의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함하는 VL; 및 (i) 서열 20의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1, (ii) 서열 21의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 및 (iii)

일부 실시양태에서, 항체는 (a) 서열 89의 VL 서열 및 서열 90의 VH 서열; (b) 서열 91의 VL 서열 및 서열 92의 VH 서열; (c) 서열 93의 VL 서열 및 서열 94의 VH 서열; (d) 서열 95의 VL 서열 및 서열 96의 VH 서열; (e) 서열 97의 VL 서열 및 서열 98의 VH 서열; (f) 서열 99의 VL 서열 및 서열 100의 VH 서열; 또는 (g) 서열 101의 VL 서열 및 서열 102의 VH 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, RSP03에 결합하는 단리된 항체는 (a) 서열 208의 VL 서열 및 서열 209의 VH 서열, (b) 서열 212의 VL 서열 및 서열 213의 VH 서열, 또는 (c) 서열 214의 VL 서열 및 서열 205의 VH 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, RSP03에 결합하는 단리된 항체는 (a) 서열 208의 VL 서열 및 서열 209의 VH 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, RSP03에 결합하는 단리된 항체는 (a) 서열 212의 VL 서열 및 서열 213의 VH 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, RSP03에 결합하는 단리된 항체는 (a) 서열 214의 VL 서열 및 서열 215의 VH 서열을 포함한다.

본원은 RSPO2 및 RSPO3에 결합하는 단리된 항체 (항-RSPO2/3 항체)를 제공한다. 일부 실시양태에서, 항체는

RSP02 및 RSP03과 막횡단 E3 유비퀴티나제의 상호작용을 억제한다. 일부 실시양태에서, 막횡단 E3 유비퀴티나제는 ZNRF3 및/또는 RNF43이다. 일부 실시양태에서, 항체는 RSP03과 LGR4, LGR5 및/또는 LGR6 중 1종 이상의 상호작용을 억제한다. 일부 실시양태에서, 항체는 RSP03과 LGR4, LGR5 및/또는 LGR6 중 1종 이상의 상호작용을 억제하지 않는다 (예를 들어, LGR4, LGR5 및/또는 LGR6 중 1종 이상에 대한 RSP03의 결합을 증진시킨다). 일부 실시양태에서, 항체는 RSP02와 LGR4, LGR5 및/또는 LGR6 중 1종 이상의 상호작용을 억제한다. 일부 실시양태에서, 항체는 RSP02와 LGR4, LGR5 및/또는 LGR6 중 1종 이상의 상호작용을 억제하지 않는다 (예를 들어, LGR4, LGR5 및/또는 LGR6 중 1종 이상에 대한 RSP02의 결합을 증진시킨다).

[0020] 예를 들어, 본원은 (a) (i) 서열 47의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, (ii) 서열 48의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및 (iii) 서열 49의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함하는 VL; 및 (b) (i) 서열 50의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1, (ii) 서열 51의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 및 (iii) 서열 52의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함하는 VH를 포함하는, RSP02 및 RSP03에 결합하는 항체를 제공한다. 일부 실시양태에서, 항체는 (a) 서열 103의 VL 서열 및 서열 104의 VH 서열을 포함한다.

[0021] 임의의 항-RSP02/3 항체의 일부 실시양태에서, 항체는 제1 가변 도메인 및 제2 가변 도메인을 포함하며, 여기서 제1 가변 도메인은 제1 세트의 6개의 HVR을 포함하고 제2 가변 도메인은 제2 세트의 6개의 HVR을 포함하며, 여기서 제1 및 제2 세트의 6개의 HVR은 동일하다. 일부 실시양태에서, 제1 세트의 6개의 HVR 및 제2 세트의 6개의 HVR은 26E11의 6개의 HVR이다.

[0022] 임의의 항-RSP02/3 항체의 일부 실시양태에서, 항체는 제1 가변 도메인 및 제2 가변 도메인을 포함하며, 여기서 제1 가변 도메인은 제1 세트의 6개의 HVR을 포함하고 제2 가변 도메인은 제2 세트의 6개의 HVR을 포함하며, 여기서 제1 및 제2 세트의 6개의 HVR은 상이하다. 일부 실시양태에서, 제1 세트의 6개의 HVR은 4H1, 4D4, 5C2, 5D6, 5E11, 6E9, 및 21C2 중 어느 하나의 6개의 HVR이고, 제2 세트의 6개의 HVR은 1A1, 11F11, 36D2, 및 49G5 중 어느 하나의 6개의 HVR이다. 일부 실시양태에서, 제1 세트의 6개의 HVR은 4H1, 4D4, 5C2, 5D6, 5E11, 6E9, 및 21C2 중 어느 하나의 6개의 HVR이고, 제2 세트의 6개의 HVR은 1A1의 6개의 HVR이다.

[0023] 본원은 또한 (a) (i) 서열 77의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, (ii) 서열 78의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및 (iii) 서열 79의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함하는 VL; 및 (i) 서열 80의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1, (ii) 서열 81의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 및 (iii) 서열 82의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함하는 VH; 또는 (b) (i) 서열 83의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, (ii) 서열 84의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및 (iii) 서열 85의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함하는 VL; 및 (i) 서열 86의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1, (ii) 서열 87의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 및 (iii) 서열 88의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함하는 VH를 포함하는, RSP03에 결합하는 단리된 항체를 제공한다. 본원은 또한 (a) (i) 서열 77의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, (ii) 서열 78의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및 (iii) 서열 79의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함하는 VL; 및 (i) 서열 80의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1, (ii) 서열 81의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 및 (iii) 서열 216의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함하는 VH를 포함하는, RSP03에 결합하는 단리된 항체를 제공한다.

[0024] 본원은 또한 RSP03의 아미노산 47-108 내의 영역 (예를 들어, 49-108)에 결합하는, RSP03에 결합하는 단리된 항체를 제공한다.

[0025] 본원은 또한 RSP03 에피토프에 결합하는 단리된 항체를 제공하고, 임의의 항체의 일부 실시양태에서 RSP03 에피토프는 RSP03의 아미노산 잔기: Gln72, Pro90, Asp91, 및 Lys94를 포함한다. 일부 실시양태에서, RSP03 에피토프는 RSP03의 아미노산: Asn52, Leu55, Phe63, Gln72, Tyr89, Pro90, Asp91, Lys94, 및 Lys97을 포함한다. 일부 실시양태에서, RSP03 에피토프는 RSP03의 아미노산 잔기: Ser49, Asn52, Cys54, Leu55, Ser56, Phe63, Leu65, Gln72, Ile73, Gly74, Tyr84, Tyr89, Pro90, Asp91, Ile92, Lys94, Lys97, 및 Lys108을 포함한다.

[0026] 본원은 또한 RSP03 에피토프에 결합하는 단리된 항체를 제공하고, 임의의 항체의 일부 실시양태에서 RSP03 에피토프는 RSP03의 아미노산: Thr47, Leu55, Gln72, Pro90, Asp91, 및 Lys94를 포함한다. 일부 실시양태에서, RSP03 에피토프는 RSP03의 아미노산: Thr47, Asn52, Leu55, Phe63, Gln72, Tyr89, Pro90, Asp91, Ile92, Lys94, 및 Lys97을 포함한다. 일부 실시양태에서, RSP03 에피토프는 RSP03의 아미노산 잔기: Thr47, Asn52, Cys54, Leu55, Ser56, Phe63, Leu65, Gln72, Tyr84, Tyr89, Pro90, Asp91, Ile92, Asn93, Lys94, Lys97, 및 Lys108을 포함한다.

[0027] 본원은 또한 RSP03 에피토프에 결합하는 단리된 항체를 제공하고, 임의의 항체의 일부 실시양태에서 RSP03 에피

토프는 RSP03의 Ser 49, Asn52, Cys54, Leu55, Ser56, Phe63, Leu65, Gln72, Ile73, Gly74, Tyr84, Tyr89, Pro90, Asp91, Ile92, Lys94, 및 Lys108로부터 선택된 1개 이상의 아미노산을 포함한다. 일부 실시양태에서, RSP03 에피토프는 RSP03의 아미노산 잔기: Ser 49, Asn52, Cys54, Leu55, Ser56, Phe63, Leu65, Gln72, Ile73, Gly74, Tyr84, Tyr89, Pro90, Asp91, Ile92, Lys94, 및 Lys108을 포함한다.

[0028] 본원은 또한 RSP03 에피토프에 결합하는 단리된 항체를 제공하고, 임의의 항체의 일부 실시양태에서 RSP03 에피토프는 RSP03의 Ser 49, Asn52, Cys54, Leu55, Ser56, Phe63, Leu65, Gln72, Ile73, Gly74, Tyr84, Tyr89, Pro90, Asp91, Ile92, Lys94, Lys97, 및 Lys108로부터 선택된 1개 이상의 아미노산을 포함한다. 일부 실시양태에서, RSP03 에피토프는 RSP03의 아미노산 잔기: Ser 49, Asn52, Cys54, Leu55, Ser56, Phe63, Leu65, Gln72, Ile73, Gly74, Tyr84, Tyr89, Pro90, Asp91, Ile92, Lys94, Lys97, 및 Lys108을 포함한다.

[0029] 본원은 또한 RSP03 에피토프에 결합하는 단리된 항체를 제공하고, 여기서 RSP03 에피토프는 RSP03의 Thr47, Asn52, Cys54, Leu55, Ser56, Phe63, Leu65, Gln72, Tyr84, Tyr89, Pro90, Asp91, Ile92, Asn93, Lys94, Lys97, 및 Lys108로부터 선택된 1개 이상의 아미노산을 포함한다. 일부 실시양태에서, RSP03 에피토프는 RSP03의 아미노산 잔기: Thr47, Asn52, Cys54, Leu55, Ser56, Phe63, Leu65, Gln72, Tyr84, Tyr89, Pro90, Asp91, Ile92, Asn93, Lys94, Lys97, 및 Lys108을 포함한다.

[0030] 임의의 항체의 일부 실시양태에서, 항체는 RSP02 및 RSP03과 막횡단 E3 유비퀴티나제의 상호작용을 억제한다. 일부 실시양태에서, 막횡단 E3 유비퀴티나제는 ZNRF3 및/또는 RNF43이다. 일부 실시양태에서, 항체는 RSP03과 LGR4, LGR5 및/또는 LGR6 중 1종 이상의 상호작용을 억제한다.

[0031] 임의의 항-RSP0 항체의 일부 실시양태에서, 항체는 RSP02 및/또는 RSP03 매개 wnt 신호전달을 억제한다. 임의의 항-RSP0 항체의 일부 실시양태에서, 항체는 RSP02 및/또는 RSP03에 결합하는 항체 단편이다. 임의의 항-RSP0 항체의 일부 실시양태에서, 항체 단편은 RSP02 및/또는 RSP03 매개 wnt 신호전달을 억제한다. 임의의 항-RSP0 항체의 일부 실시양태에서, 항체는 암 줄기 세포 성장을 억제한다. 임의의 항-RSP0 항체의 일부 실시양태에서, 항체는 암 세포 (예를 들어, 암 줄기 세포) 분화 (예를 들어, 말단 분화 및/또는 전구 세포로의 분화)를 유도 및/또는 촉진한다.

[0032] 임의의 항-RSP0 항체의 일부 실시양태에서, 항체는 모노클로날 항체이다. 임의의 항-RSP0 항체의 일부 실시양태에서, 항체는 인간 항체, 인간화 항체 또는 키메라 항체이다. 임의의 항-RSP0 항체의 일부 실시양태에서, 항체는 전장 IgG1 항체이다. 임의의 항-RSP0 항체의 일부 실시양태에서, 항체는 감소된 또는 고갈된 이펙터 기능을 갖는다. 임의의 항-RSP0 항체의 일부 실시양태에서, 항-RSP0 항체는 EU 넘버링 규정에 따른 아미노산 위치 297에서 조작된 알라닌을 포함한다. 임의의 항-RSP0 항체의 일부 실시양태에서, 항-RSP0 항체는 EU 넘버링 규정에 따른 아미노산 위치 265에서 조작된 알라닌을 포함한다.

[0033] 임의의 항-RSP0 항체의 일부 실시양태에서, 항체는 의약으로서 사용하기 위한 것이다. 임의의 항-RSP0 항체의 일부 실시양태에서, 항체는 암을 치료하는데 사용하기 위한 것이다. 일부 실시양태에서, 암은 위장암, 위암, 결장암, 결장직장암 또는 직장암이다. 일부 실시양태에서, 암은 참조와 비교하여 1종 이상의 RSP0 (예를 들어, RSP02 및/또는 RSP03)의 증가된 발현을 특징으로 한다. 일부 실시양태에서, 암은 RSP0 전위 (예를 들어, RSP02 전위 및/또는 RSP03 전위)를 특징으로 한다. 임의의 항-RSP0 항체의 일부 실시양태에서, 항체는 wnt 신호전달을 억제하고/거나, 혈관신생 및/또는 혈관생성을 억제하고/거나, 세포 증식을 억제하는데 사용하기 위한 것이다.

[0034] 본원은 또한 본원에 기재된 항체를 코딩하는 단리된 핵산을 제공한다. 추가로 본원은 본원에 기재된 항체의 핵산을 포함하는 숙주 세포를 제공한다. 본원은 본원에 기재된 항체가 생산되도록 항체의 핵산을 포함하는 숙주 세포를 배양하는 것을 포함하는, 본원에 기재된 항체를 생산하는 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 생산하는 방법은 숙주 세포로부터 항체를 회수하는 것을 추가로 포함한다.

[0035] 본원은 본원에 기재된 항체 및 세포독성제를 포함하는 면역접합체를 제공한다.

[0036] 추가로 본원은 본원에 기재된 항체 및 제약상 허용되는 담체를 포함하는 제약 제제를 제공한다. 일부 실시양태에서, 제약 제제는 추가의 치료제를 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 추가의 치료제는 탁산이다. 일부 실시양태에서, 탁산은 파클리탁셀 또는 도세탁셀이다. 일부 실시양태에서, 추가의 치료제는 백금 작용제이다. 일부 실시양태에서, 백금 작용제는 카르보플라틴, 옥살리플라틴 및/또는 시스플라틴이다. 일부 실시양태에서, 추가의 치료제는 토포이소머라제 억제제이다. 일부 실시양태에서, 토포이소머라제 억제제는 이리노테칸, 토포테칸, 에토포시드 및/또는 미톡산트론이다. 일부 실시양태에서, 추가의 치료제는 폴린산 (예를 들어,

류코보린)이다. 일부 실시양태에서, 추가의 치료제는 뉴클레오시드 대사 억제제이다. 일부 실시양태에서, 뉴클레오시드 대사 억제제는 플루오로우라실, 카페시타빈 및/또는 켐시타빈이다. 일부 실시양태에서, 추가의 치료제는 폴린산, 5-플루오로우라실 및/또는 옥살리플라틴이다. 일부 실시양태에서, 추가의 치료제는 5-플루오로우라실 및 이리노테칸이다. 일부 실시양태에서, 추가의 치료제는 탁산 및 백금 작용제이다. 일부 실시양태에서, 추가의 치료제는 파클리탁셀 및 카르보플라틴이다. 일부 실시양태에서, 추가의 치료제는 페메트렉세드이다. 일부 실시양태에서, 추가의 치료제는 헷지호그 억제제 (예를 들어, 비스모데깁)이다.

[0037] 본원은 암의 치료를 위한 의약의 제조에서의 본원에 기재된 항체의 용도를 제공한다. 일부 실시양태에서, 암은 위장암, 위암, 결장암, 결장직장암 또는 직장암이다. 일부 실시양태에서, 암은 폐암이다. 일부 실시양태에서, 암은 참조와 비교하여 1종 이상의 RSPO (예를 들어, RSPO2 및/또는 RSPO3)의 증가된 발현을 특징으로 한다. 일부 실시양태에서, 암은 RSPO 전위 (예를 들어, RSPO2 전위 및/또는 RSPO3 전위)를 특징으로 한다. 추가로, 본원은 wnt 신호전달을 억제하고/거나, 혈관신생 및/또는 혈관생성을 억제하고/거나, 세포 증식을 억제하기 위한 의약의 제조에서의 본원에 기재된 항체의 용도를 제공한다. 일부 실시양태에서, 항-RSPO 항체는 추가의 치료제와 조합되어 사용된다 (예를 들어, 순차적으로 또는 공동으로 투여됨). 일부 실시양태에서, 추가의 치료제는 탁산이다. 일부 실시양태에서, 탁산은 파클리탁셀 또는 도세탁셀이다. 일부 실시양태에서, 추가의 치료제는 백금 작용제이다. 일부 실시양태에서, 백금 작용제는 카르보플라틴, 옥살리플라틴 및/또는 시스플라틴이다. 일부 실시양태에서, 추가의 치료제는 토포이소머라제 억제제이다. 일부 실시양태에서, 토포이소머라제 억제제는 이리노테칸, 토포테칸, 에토포시드 및/또는 미토산트론이다. 일부 실시양태에서, 추가의 치료제는 폴린산 (예를 들어, 류코보린)이다. 일부 실시양태에서, 추가의 치료제는 뉴클레오시드 대사 억제제이다. 일부 실시양태에서, 뉴클레오시드 대사 억제제는 플루오로우라실, 카페시타빈 및/또는 켐시타빈이다. 일부 실시양태에서, 추가의 치료제는 폴린산, 5-플루오로우라실 및/또는 옥살리플라틴이다. 일부 실시양태에서, 추가의 치료제는 5-플루오로우라실 및 이리노테칸이다. 일부 실시양태에서, 추가의 치료제는 탁산 및 백금 작용제이다. 일부 실시양태에서, 추가의 치료제는 파클리탁셀 및 카르보플라틴이다. 일부 실시양태에서, 추가의 치료제는 페메트렉세드이다. 일부 실시양태에서, 추가의 치료제는 헷지호그 억제제 (예를 들어, 비스모데깁)이다.

[0038] 본원은 본원에 기재된 항체의 유효량을 암에 걸린 개체에게 투여하는 것을 포함하는, 암에 걸린 개체를 치료하는 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 암은 위장암, 위암, 결장암, 결장직장암 또는 직장암이다. 일부 실시양태에서, 암은 폐암이다. 일부 실시양태에서, 상기 방법은 추가의 치료제를 개체에게 투여하는 것을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 암은 참조와 비교하여 1종 이상의 RSPO (예를 들어, RSPO2 및/또는 RSPO3)의 증가된 발현을 특징으로 한다. 일부 실시양태에서, 암은 RSPO 전위 (예를 들어, RSPO2 전위 및/또는 RSPO3 전위)를 특징으로 한다. 또한, 본원은 본원에 기재된 항체의 유효량을 개체에게 투여하여 wnt 신호전달을 억제하고/거나, 혈관신생 및/또는 혈관생성을 억제하고/거나, 세포 증식을 억제하는 것을 포함하는, 개체에서 wnt 신호전달을 억제하고/거나, 혈관신생 및/또는 혈관생성을 억제하고/거나, 세포 증식을 억제하는 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 상기 방법은 추가의 치료제를 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 추가의 치료제는 탁산이다. 일부 실시양태에서, 탁산은 파클리탁셀 또는 도세탁셀이다. 일부 실시양태에서, 추가의 치료제는 백금 작용제이다. 일부 실시양태에서, 백금 작용제는 카르보플라틴, 옥살리플라틴 및/또는 시스플라틴이다. 일부 실시양태에서, 추가의 치료제는 토포이소머라제 억제제이다. 일부 실시양태에서, 토포이소머라제 억제제는 이리노테칸, 토포테칸, 에토포시드 및/또는 미토산트론이다. 일부 실시양태에서, 추가의 치료제는 폴린산 (예를 들어, 류코보린)이다. 일부 실시양태에서, 추가의 치료제는 뉴클레오시드 대사 억제제이다. 일부 실시양태에서, 뉴클레오시드 대사 억제제는 플루오로우라실, 카페시타빈 및/또는 켐시타빈이다. 일부 실시양태에서, 추가의 치료제는 폴린산, 5-플루오로우라실 및/또는 옥살리플라틴이다. 일부 실시양태에서, 추가의 치료제는 5-플루오로우라실 및 이리노테칸이다. 일부 실시양태에서, 추가의 치료제는 탁산 및 백금 작용제이다. 일부 실시양태에서, 추가의 치료제는 파클리탁셀 및 카르보플라틴이다. 일부 실시양태에서, 추가의 치료제는 페메트렉세드이다. 일부 실시양태에서, 추가의 치료제는 헷지호그 억제제 (예를 들어, 비스모데깁)이다.

도면의 간단한 설명

[0039] 도 1A-B. 한 패널의 항-RSPO2 및 항-RSPO3 항체를 재조합 인간 (rh) RSPO2-자극된 (A) 및/또는 rhRSPO3-자극된 (B) WNT 리포터 활성을 차단하는 능력에 대해 시험하였다. 항체의 하위세트는 rhRSPO2- 및/또는 rhRSPO3-자극된 WNT 리포터 활성을 차단한다. WNT 리포터 세포는 10 ng/ml 재조합 마우스 (rm)Wnt3a, 50 pM rhRSPO2 (A) 또는 rhRSPO3 (B), 및 증가하는 농도의 표시된 항체 클론으로 자극되었다. 데이터는 항체의 부재 하에 존재하

는 자극의 양에 대해 정규화되었다.

도 2A-I. 한 패널의 항-RSP02 및 항-RSP03 항체를 RSP03-발현 세포 펠럿 (A-C), RSP02-발현 세포 펠럿 (D-F), RSP01-발현 세포 펠럿 (G), RSP04-발현 세포 펠럿 (H), 및 비-RSP01-4 발현 세포 (293 세포) (I)에 대한 IHC 반응성에 대해 시험하였다. 도 2에 제시된 바와 같이, 항체 49G5는 IHC 반응성에 의해 결정된 바와 같이 RSP02-발현 세포 펠럿은 인식한 반면에, RSP03, RSP01, RSP04, 및 비-RSP01-4 발현 세포 펠럿은 인식하지 못했다. IHC 반응성에 대해 시험된 항체의 완전한 표는 표 4에 제시된다. 표 4의 모든 시험된 항체는 IHC 반응성에 의해 결정된 바와 같이 RSP01, RSP04, 및 비-RSP01-4 발현 세포 펠럿을 인식하지 못했다.

도 3A-D. 한 패널의 항-RSP02 및 항-RSP03 항체를 wnt 리포터 활성의 rhRSP02 (A), 재조합 시노몰구스 (rcyno) RSP02 (B), 마우스 (m) RSP02 (C), 및 rhRSP02 L186P 변이체 (D) 자극을 억제하는 능력에 대해 시험하였다. WNT 리포터 세포는 10 ng/ml rmWnt3a, 50 pM rhRSP02 (A), 8 pM rcynoRSP02 (제넨테크(Genentech)) (B), 90 pM mRSP02 (알엔디 시스템즈(R&D Systems)) (C), 또는 38 pM rhRSP02 L186P (제넨테크) (D) 및 증가하는 농도의 표시된 항체 클론으로 자극되었다.

도 4A-D. 한 패널의 항-RSP02 및 항-RSP03 항체를 rhRSP03 (A), rcynoRSP03 (B), mRSP03 (C), 및 PTPRK 융합-RSP03 (D)에 의해 자극된 WNT 리포터 활성을 억제하는 능력에 대해 시험하였다. WNT 리포터 세포는 10 ng/ml rmWnt3a, 50 pM rhRSP03 (A), 13 pM cynoRSP03 (제넨테크) (B), 또는 17 pM mRSP03 (알엔디 시스템즈) (C) 및 증가하는 농도의 표시된 항체 클론으로 자극되었다. 도 4D에서, WNT 리포터 세포는 10 ng/ml rmWNT3a, 표시된 DNA로 형질감염된 293T 세포로부터 제조된 조건화 배지로, 항-RSP03의 부재 또는 존재 (5 ug/ml) 하에 자극되었다.

도 5. 9종의 항-RSP02 및 항-RSP03 클론의 친화도 및 IC50 측정치. 표시된 재조합 (r) RSP02 및 rRSP03에 대한 표시된 클론의 Fab의 친화도를 표면 플라즈몬 공명에 의해 결정하였다. 표시된 클론의 IC50 측정치는 WNT 리포터 검정을 표시된 rRSP0의 EC50 및 증가하는 농도의 각각의 항체로 자극하여 결정하였다. H, 인간; C, 시노몰구스; M, 마우스; -, 결합 없음 또는 IC50 > 500 nM.

도 6A-B. 한 패널의 항-RSP02 및 항-RSP03 항체를 rhRSP02 (A) 및 rhRSP03 (B)에 대한 LGR4 결합을 억제하는 그의 능력에 대해 시험하였다. 개개의 항체 클론을, 경쟁적 결합 ELISA에 의해 rhRSP02 (A) 또는 rhRSP03 (B)에 대한 어느 하나의 LGR4-ECD의 결합을 억제하는 능력에 대해 시험하였다. 유사한 결과가 LGR5에 의해 관찰되었다 (데이터는 제시되지 않음). 결과의 요약에 대해 표 5를 참조한다.

도 7A-B. 한 패널의 항-RSP02 및 항-RSP03 항체를 rhRSP02 (A) 및 rhRSP03 (B)에 대한 RNF43 결합을 억제하는 그의 능력에 대해 시험하였다. 개개의 항체 클론을, 경쟁적 결합 ELISA에 의해 rhRSP02 (A) 또는 rhRSP03 (B)에 대한 RNF43-ECD의 결합을 억제하는 능력에 대해 시험하였다. 유사한 결과가 LGR5에 의해 관찰되었다 (데이터는 제시되지 않음). 결과의 요약에 대해 표 5를 참조한다.

도 8A-B. Fab 26E11과의 복합체로의 결정화 RSP03 (33-210) 모델 (A). Fab26E11/RSP03 상호작용을 확대한 것을 (B)에 제시한다.

도 9a-b. 5D6, 26E11, 4H1, 5C2, 5E11, 4D4, 6E9 및 21C2의 가변 경쇄 영역 서열 (a) 및 가변 중쇄 영역 서열 (b)의 정렬. 카바트(Kabat) 정의에 따른 CDR 서열을 밑줄로 나타낸다.

도 10a-b. 11F11, 1A1, 36D2, 및 49G5의 가변 경쇄 영역 서열 (a) 및 가변 중쇄 영역 서열 (b)의 정렬. 카바트 정의에 따른 CDR 서열을 밑줄로 나타낸다.

도 11A-D. 항-RSP03 항체 (5D6) 30 mg/kg 또는 항-돼지풀 항체 (대조군)를 사용한 처리 시, 4종의 결장직장암 환자 유래 모델 (A-D)의 평균 종양 부피 (mm^3)에서의 변화. 도 11D는 또한 이리노테칸 (100 mg/kg, 제0일 및 제3일)과 조합된 항-RSP03 항체 (5D6) 또는 항-돼지풀 항체 (대조군) 및 이리노테칸 (100 mg/kg, 제0일 및 제3일)을 사용한 처리 시, CRCD 결장직장암 환자 유래 모델의 평균 종양 부피 (mm^3)에서의 변화를 보여준다.

도 12A-D. 혜마톡실린 및 에오신 염색 (H&E 염색) (A 및 C) 및 알시안 블루 염색 (B 및 D)에 의한, 최종 투여 2-3주 후의 항-돼지풀 항체 (대조군) 또는 항-RSP03 항체 (5D6) 30 mg/kg으로 처리된 결장직장암 환자 유래 모델 종양의 염색. 항-RSP03 처리된 종양은 특유한 조직병리학, 특히 항-돼지풀 항체 대조군과 비교하여 알시안 블루 염색에 의해 나타난 바와 같은 점액의 유의한 증가를 갖는다.

도 13A-C. (A)는 (i) 항-RSP03 항체 (5D6), (ii) 항-돼지풀 항체 (대조군), (iii) 이리노테칸 (100 mg/kg, 제

0일)과 조합된 항-RSP03 항체 (5D6), 또는 항-돼지풀 항체 (대조군) 및 이리노테칸 (100 mg/kg, 제0일)을 사용한 처리 시, CRCC 결장직장암 환자 유래 모델의 평균 종양 부피 (mm^3)를 보여준다. (B-C)는 (a) 항-RSP03 항체 (5D6) 또는 항-돼지풀 항체 (대조군; 30 mg/kg)로 처리되고, (b) 이식되고, 항-RSP03 항체 (5D6) 또는 항-돼지풀 항체 (대조군)로 처리된 결장직장암 환자 유래 모델에서의 연속 이식 실험을 보여준다. (B)는 처음에 또는 연속 이식 시점에 항-RSP03 항체 (5D6)를 사용한 처리 시, 연속 이식된 종양의 백분율 종양 (이식) 생착율에서의 실질적 감소를 보여준다. (C)는 처음에 또는 연속 이식 시점에 항-RSP03 항체 (5D6)를 사용한 처리 시, 연속 이식된 종양의 평균 종양 부피 변화에서의 유의한 감소를 보여준다.

도 14a-b. 5D6, 5D6v1, 5D6v2.1, 5D6v2.2, 5D6v2.3, 5D6v2.4, 5D6v2.8, 5D6v2.10, 5D6v3.2, 5D6v3.3, 5D6v4.1, 5D6v4.3, 5D6v5.1, 및 5D6v5.2의 가변 경쇄 영역 서열 (a) 및 가변 중쇄 영역 서열 (b)의 정렬. 카바트 정의에 따른 CDR 서열을 밑줄로 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

I. 정의

[0040] 본원에 사용된 용어 "R-스폰딘" 및 "RSPO"는, 달리 나타내지 않는 한, 포유동물, 예컨대 영장류 (예를 들어, 인간) 및 설치류 (예를 들어, 마우스 및 래트)를 비롯한 임의의 척추동물 공급원으로부터의 임의의 천연 RSPO (예를 들어, RSPO1, RSPO2, RSPO3, 및/또는 RSPO4)를 지칭한다. 상기 용어는 "전장" 비프로세싱 RSPO 뿐만 아니라, 세포 내 프로세싱으로부터 생성된 임의의 형태의 RSPO를 포함한다. 상기 용어는 또한 RSPO의 자연 발생 변이체, 예를 들어 스플라이스 변이체 또는 대립유전자 변이체를 포함한다. 일부 실시양태에서, 예시적인 인간 RSPO의 아미노산 서열은, 예를 들어 서열 3에 제시된 바와 같은 RSPO1이다. 일부 실시양태에서, 예시적인 인간 RSPO의 아미노산 서열은, 예를 들어 서열 1에 제시된 바와 같은 RSPO2이다. 일부 실시양태에서, 예시적인 인간 RSPO의 아미노산 서열은, 예를 들어 서열 2에 제시된 바와 같은 RSPO3이다. 일부 실시양태에서, 예시적인 인간 RSPO의 아미노산 서열은, 예를 들어 서열 4에 제시된 바와 같은 RSPO4이다.

[0042] 본원에 사용된 용어 "R-스폰딘 2" 및 "RSPO2"는, 달리 나타내지 않는 한, 포유동물, 예컨대 영장류 (예를 들어, 인간) 및 설치류 (예를 들어, 마우스 및 래트)를 비롯한 임의의 척추동물 공급원으로부터의 임의의 천연 RSPO2를 지칭한다. 상기 용어는 "전장" 비프로세싱 RSPO2 뿐만 아니라, 세포 내 프로세싱으로부터 생성된 임의의 형태의 RSPO2를 포함한다. 상기 용어는 또한 RSPO2의 자연 발생 변이체, 예를 들어 스플라이스 변이체 또는 대립유전자 변이체를 포함한다. 일부 실시양태에서, 예시적인 인간 RSPO2의 아미노산 서열은 2013년 10월 18일 당시의 UNIPROT Q6UXX9-1이다. 일부 실시양태에서, 예시적인 인간 RSPO2의 아미노산 서열은 2013년 10월 18일 당시의 UNIPROT Q6UXX9-2이다. 일부 실시양태에서, 예시적인 인간 RSPO2의 아미노산 서열은 2013년 10월 18일 당시의 UNIPROT Q6UXX9-3이다. 일부 실시양태에서, 예시적인 인간 RSPO2의 아미노산 서열은 서열 1에 제시된다.

[0043] 본원에 사용된 용어 "R-스폰딘 3" 및 "RSPO3"은, 달리 나타내지 않는 한, 포유동물, 예컨대 영장류 (예를 들어, 인간) 및 설치류 (예를 들어, 마우스 및 래트)를 비롯한 임의의 척추동물 공급원으로부터의 임의의 천연 RSPO3을 지칭한다. 상기 용어는 "전장" 비프로세싱 RSPO3 뿐만 아니라, 세포 내 프로세싱으로부터 생성된 임의의 형태의 RSPO3을 포함한다. 상기 용어는 또한 RSPO3의 자연 발생 변이체, 예를 들어 스플라이스 변이체 또는 대립유전자 변이체를 포함한다. 일부 실시양태에서, 예시적인 인간 RSPO3의 아미노산 서열은 2013년 10월 18일 당시의 UNIPROT Q9BXY4-1이다. 일부 실시양태에서, 예시적인 인간 RSPO3의 아미노산 서열은 2013년 10월 18일 당시의 UNIPROT Q9BXY4-2이다. 일부 실시양태에서, 예시적인 인간 RSPO3의 아미노산 서열은 서열 2에 제시된다.

[0044] 본원의 목적상 "수용자 인간 프레임워크"는 하기 정의되는 바와 같은, 인간 이谬노글로불린 프레임워크 또는 인간 컨센서스 프레임워크로부터 유래된 경쇄 가변 도메인 (VL) 프레임워크 또는 중쇄 가변 도메인 (VH) 프레임워크의 아미노산 서열을 포함하는 프레임워크이다. 인간 이谬노글로불린 프레임워크 또는 인간 컨센서스 프레임워크 "로부터 유래된" 수용자 인간 프레임워크는 그의 동일한 아미노산 서열을 포함할 수 있거나, 또는 아미노산 서열 변화를 함유할 수 있다. 일부 실시양태에서, 아미노산 변화의 수는 10개 이하, 9개 이하, 8개 이하, 7개 이하, 6개 이하, 5개 이하, 4개 이하, 3개 이하, 또는 2개 이하이다. 일부 실시양태에서, VL 수용자 인간 프레임워크는 VL 인간 이谬노글로불린 프레임워크 서열 또는 인간 컨센서스 프레임워크 서열과 서열이 동일하다.

[0045] "친화도"는 분자 (예를 들어, 항체)의 단일 결합 부위와 그의 결합 파트너 (예를 들어, 항원) 사이의 비공유 상호작용의 총 합계의 강도를 지칭한다. 달리 나타내지 않는 한, 본원에 사용된 "결합 친화도"는 결합 쌍의 구성 원들 (예를 들어, 항체 및 항원) 사이의 1:1 상호작용을 반영하는 내인성 결합 친화도를 지칭한다. 분자 X의 그의 파트너 Y에 대한 친화도는 일반적으로 해리 상수 (K_d)에 의해 나타내어질 수 있다. 친화도는 본원에 기재

된 것들을 비롯하여 관련 기술분야에 공지된 통상의 방법에 의해 측정될 수 있다. 결합 친화도의 측정을 위한 구체적인 설명적 및 예시적 실시양태가 하기 기재된다.

[0046] "친화도 성숙" 항체는 항원에 대한 항체의 친화도에서의 개선을 생성하는 변경을 보유하지 않는 모 항체와 비교하여 1개 이상의 초가변 영역 (HVR)에서 1개 이상의 변경을 갖는 항체를 지칭한다.

[0047] 용어 "항-RSP02 항체" 및 "RSP02에 결합하는 항체"는 RSP02를 표적화하는데 있어서 항체가 진단제 및/또는 치료제로서 유용하도록 충분한 친화도로 RSP02에 결합할 수 있는 항체를 지칭한다. 한 실시양태에서, 비-RSP02 단백질에 대한 항-RSP02 항체의 결합의 정도는, 예를 들어 방사선면역검정 (RIA)에 의한 측정 시 RSP02에 대한 항체의 결합의 약 10% 미만이다. 특정 실시양태에서, RSP02에 결합하는 항체는 $\leq 1 \mu\text{M}$, $\leq 100 \text{nM}$, $\leq 10 \text{nM}$, $\leq 1 \text{nM}$, $\leq 0.1 \text{nM}$, $\leq 0.01 \text{nM}$, 또는 $\leq 0.001 \text{nM}$ (예를 들어, 10^{-8}M 이하, 예를 들어 10^{-8}M 내지 10^{-13}M , 예를 들어 10^{-9}M 내지 10^{-13}M)의 해리 상수 (K_d)를 갖는다. 특정 실시양태에서, 항-RSP02 항체는 상이한 종으로 부터의 RSP02 사이에 보존된 RSP02의 에피토프에 결합한다.

[0048] 용어 "항-RSP03 항체" 및 "RSP03에 결합하는 항체"는 RSP03을 표적화하는데 있어서 항체가 진단제 및/또는 치료제로서 유용하도록 충분한 친화도로 RSP03에 결합할 수 있는 항체를 지칭한다. 한 실시양태에서, 비-RSP03 단백질에 대한 항-RSP03 항체의 결합의 정도는, 예를 들어 방사선면역검정 (RIA)에 의한 측정 시 RSP03에 대한 항체의 결합의 약 10% 미만이다. 특정 실시양태에서, RSP03에 결합하는 항체는 $\leq 1 \mu\text{M}$, $\leq 100 \text{nM}$, $\leq 10 \text{nM}$, $\leq 1 \text{nM}$, $\leq 0.1 \text{nM}$, $\leq 0.01 \text{nM}$, 또는 $\leq 0.001 \text{nM}$ (예를 들어, 10^{-8}M 이하, 예를 들어 10^{-8}M 내지 10^{-13}M , 예를 들어 10^{-9}M 내지 10^{-13}M)의 해리 상수 (K_d)를 갖는다. 특정 실시양태에서, 항-RSP03 항체는 상이한 종으로 부터의 RSP03 사이에 보존된 RSP03의 에피토프에 결합한다.

[0049] 용어 "항-RSP02/3 항체" 및 "RSP02 및 RSP03에 결합하는 항체"는 RSP02 및 RSP03을 표적화하는데 있어서 항체가 진단제 및/또는 치료제로서 유용하도록 충분한 친화도로 RSP02 및 RSP03에 결합할 수 있는 항체를 지칭한다. 한 실시양태에서, 비-RSP02 또는 비-RSP03 단백질에 대한 항-RSP02/3 항체의 결합의 정도는, 예를 들어 방사선면역검정 (RIA)에 의한 측정 시 RSP02 및 RSP03에 대한 항체의 결합의 약 10% 미만이다. 특정 실시양태에서, RSP02 및 RSP03에 결합하는 항체는 $\leq 1 \mu\text{M}$, $\leq 100 \text{nM}$, $\leq 10 \text{nM}$, $\leq 1 \text{nM}$, $\leq 0.1 \text{nM}$, $\leq 0.01 \text{nM}$, 또는 $\leq 0.001 \text{nM}$ (예를 들어, 10^{-8}M 이하, 예를 들어 10^{-8}M 내지 10^{-13}M , 예를 들어 10^{-9}M 내지 10^{-13}M)의 해리 상수 (K_d)를 갖는다. 특정 실시양태에서, 항-RSP02/3 항체는 상이한 종으로 부터의 RSP02 및/또는 RSP03 사이에 보존된 RSP02 및/또는 RSP03의 에피토프에 결합한다.

[0050] 본원에서 용어 "항체"는 가장 넓은 의미로 사용되고, 모노클로날 항체, 폴리클로날 항체, 다중특이적 항체 (예를 들어, 이중특이적 항체), 및 목적하는 항원-결합 활성을 나타내는 한 항체 단편을 포함하나 이에 제한되지는 않는 다양한 항체 구조를 포괄한다.

[0051] "항체 단편"은 무손상 항체가 결합하는 항원에 결합하는 무손상 항체의 일부를 포함하는, 무손상 항체 이외의 분자를 지칭한다. 항체 단편의 예는 Fv, Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab')₂; 디아바디; 선형 항체; 단일-쇄 항체 분자 (예를 들어, scFv); 및 항체 단편으로부터 형성된 다중특이적 항체를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0052] 참조 항체"와 결합에 대해 경쟁하는 항체"는 경쟁 검정에서 참조 항체의 그의 항원에 대한 결합을 50% 이상 차단하는 항체를 지칭하고, 반대로 참조 항체는 경쟁 검정에서 항체의 그의 항원에 대한 결합을 50% 이상 차단한다. 예시적인 경쟁 검정이 본원에 제공된다.

[0053] 용어 "키메라" 항체는 중쇄 및/또는 경쇄의 일부가 특정한 공급원 또는 종으로부터 유래된 반면에, 중쇄 및/또는 경쇄의 나머지가 상이한 공급원 또는 종으로부터 유래된 항체를 지칭한다.

[0054] 항체의 "부류"는 그의 중쇄가 보유하는 불변 도메인 또는 불변 영역의 유형을 지칭한다. 5종의 주요 부류의 항체: IgA, IgD, IgE, IgG 및 IgM이 존재하고, 이를 중 몇몇은 하위부류 (이소형), 예를 들어 IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄, IgA₁, 및 IgA₂로 추가로 나뉘어질 수 있다. 상이한 부류의 이뮤노글로불린에 상응하는 중쇄 불변 도메인은 각각 α , δ , ϵ , γ 및 μ 로 불린다.

[0055] "이펙터 기능"은 항체 이소형에 따라 달라지는, 항체의 Fc 영역에서 기인하는 생물학적 활성을 지칭한다. 항체 이펙터 기능의 예는 C1q 결합 및 보체 의존성 세포독성 (CDC); Fc 수용체 결합; 항체-의존성 세포-매개 세포독성 (ADCC); 식세포작용; 세포 표면 수용체 (예를 들어, B 세포 수용체)의 하향 조절; 및 B 세포 활성화를 포함

한다.

- [0056] 본원에서 용어 "Fc 영역"은 불변 영역의 적어도 일부를 함유하는 이뮤노글로불린 중쇄의 C-말단 영역을 정의하기 위해 사용된다. 상기 용어는 천연 서열 Fc 영역 및 변이체 Fc 영역을 포함한다. 한 실시양태에서, 인간 IgG 중쇄 Fc 영역은 Cys226 또는 Pro230으로부터 중쇄의 카르복실-말단으로 연장된다. 그러나, Fc 영역의 C-말단 리신 (Lys447)은 존재할 수 있거나 존재하지 않을 수 있다. 본원에서 달리 명시되지 않는 한, Fc 영역 또는 불변 영역 내의 아미노산 잔기의 넘버링은 문헌 [Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991]에 기재된 바와 같은, EU 인덱스로도 지칭되는 EU 넘버링 시스템에 따른다.
- [0057] "프레임워크" 또는 "FR"은 초가변 영역 (HVR) 잔기 이외의 가변 도메인 잔기를 지칭한다. 가변 도메인의 FR은 일반적으로 4개의 FR 도메인: FR1, FR2, FR3 및 FR4로 이루어진다. 따라서, HVR 및 FR 서열은 일반적으로 VH (또는 VL)에서 하기 순서로 나타난다: FR1-H1(L1)-FR2-H2(L2)-FR3-H3(L3)-FR4.
- [0058] 용어 "전장 항체", "무손상 항체" 및 "전체 항체"는 천연 항체 구조와 실질적으로 유사한 구조를 갖거나 또는 본원에 정의된 Fc 영역을 함유하는 중쇄를 갖는 항체를 지칭하는 것으로 본원에서 상호교환가능하게 사용된다.
- [0059] 용어 "숙주 세포", "숙주 세포주" 및 "숙주 세포 배양물"은 상호교환가능하게 사용되고, 외인성 핵산이 도입된 세포 (이러한 세포의 자손 포함)를 지칭한다. 숙주 세포는 "형질전환체" 및 "형질전환된 세포"를 포함하며, 이는 1차 형질전환된 세포 및 계대 횟수와 관계없이 그로부터 유래된 자손을 포함한다. 자손은 모 세포와 핵산 함량이 완전히 동일하지 않을 수 있지만, 돌연변이를 함유할 수 있다. 원래 형질전환된 세포에 대해 스크리닝 되거나 선택된 것과 동일한 기능 또는 생물학적 활성을 갖는 돌연변이체 자손이 본원에 포함된다.
- [0060] "인간 항체"는 인간 또는 인간 세포에 의해 생산되거나, 또는 인간 항체 레퍼토리 또는 다른 인간 항체-코딩 서열을 사용하는 비-인간 공급원으로부터 유래된 항체의 아미노산 서열에 상응하는 아미노산 서열을 보유하는 항체이다. 인간 항체의 이러한 정의에서 비-인간 항원-결합 잔기를 포함하는 인간화 항체는 구체적으로 제외된다.
- [0061] "인간 컨센서스 프레임워크"는 인간 이뮤노글로불린 VL 또는 VH 프레임워크 서열의 선택 시 가장 흔히 발생하는 아미노산 잔기를 나타내는 프레임워크이다. 일반적으로, 인간 이뮤노글로불린 VL 또는 VH 서열의 선택은 가변 도메인 서열의 하위군으로부터 행한다. 일반적으로, 서열의 하위군은 문헌 [Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, NIH Publication 91-3242, Bethesda MD (1991), vols. 1-3]에서와 같은 하위군이다. 한 실시양태에서, VL의 경우에 하위군은 상기 문헌 [Kabat et al.]에서와 같은 하위군 카파 I이다. 한 실시양태에서, VH의 경우에 하위군은 상기 문헌 [Kabat et al.]에서와 같은 하위군 III이다.
- [0062] "인간화" 항체는 비-인간 HVR로부터의 아미노산 잔기 및 인간 FR로부터의 아미노산 잔기를 포함하는 키메라 항체를 지칭한다. 특정 실시양태에서, 인간화 항체는 적어도 1개, 및 전형적으로 2개의 가변 도메인을 실질적으로 모두 포함할 것이며, 여기서 모든 또는 실질적으로 모든 HVR (예를 들어, CDR)은 비-인간 항체의 그것에 상응하고, 모든 또는 실질적으로 모든 FR은 인간 항체의 그것에 상응한다. 인간화 항체는 임의로 인간 항체로부터 유래된 항체 불변 영역의 적어도 일부를 포함할 수 있다. 항체, 예를 들어 비-인간 항체의 "인간화 형태"는 인간화를 거친 항체를 지칭한다.
- [0063] 본원에 사용된 용어 "초가변 영역" 또는 "HVR"은 서열에서 초가변적 ("상보성 결정 영역" 또는 "CDR")이고/거나 구조적으로 한정된 루프 ("초가변 루프")를 형성하고/거나 항원-접촉 잔기 ("항원 접촉")를 함유하는 항체 가변 도메인의 각각의 영역을 지칭한다. 일반적으로, 항체는 6개의 HVR: VH 내에 3개 (H1, H2, H3) 및 VL 내에 3개 (L1, L2, L3)를 포함한다. 본원의 예시적인 HVR은:
- [0064] (a) 아미노산 잔기 26-32 (L1), 50-52 (L2), 91-96 (L3), 26-32 (H1), 53-55 (H2), 및 96-101 (H3) (Chothia and Lesk, J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987))에서 발생한 초가변 루프;
- [0065] (b) 아미노산 잔기 24-34 (L1), 50-56 (L2), 89-97 (L3), 31-35b (H1), 50-65 (H2), 및 95-102 (H3) (Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991))에서 발생한 CDR;
- [0066] (c) 아미노산 잔기 27c-36 (L1), 46-55 (L2), 89-96 (L3), 30-35b (H1), 47-58 (H2), 및 93-101 (H3) (MacCallum et al. J. Mol. Biol. 262: 732-745 (1996))에서 발생한 항원 접촉; 및

- [0067] (d) HVR 아미노산 잔기 46-56 (L2), 47-56 (L2), 48-56 (L2), 49-56 (L2), 26-35 (H1), 26-35b (H1), 49-65 (H2), 93-102 (H3), 및 94-102 (H3)를 포함하는 (a), (b), 및/또는 (c)의 조합
- [0068] 을 포함한다.
- [0069] 한 실시양태에서, HVR 잔기는 도 9a-b 및/또는 도 10a-b, 또는 본 명세서의 다른 부분에서 확인되는 것을 포함한다.
- [0070] 달리 나타내지 않는 한, HVR 잔기 및 가변 도메인 내의 다른 잔기 (예를 들어, FR 잔기)는 상기 문헌 [Kabat et al.]에 따라 본원에서 넘버링된다.
- [0071] 용어 "가변 영역" 또는 "가변 도메인"은 항원에 대한 항체의 결합에 관여하는 항체 중쇄 또는 경쇄의 도메인을 지칭한다. 천연 항체의 중쇄 및 경쇄의 가변 도메인 (각각 VH 및 VL)은 일반적으로 유사한 구조를 갖고, 각각의 도메인은 4개의 보존된 프레임워크 영역 (FR) 및 3개의 초가변 영역 (HVR)을 포함한다. (예를 들어, 문헌 [Kindt et al. Kuby Immunology, 6th ed., W.H. Freeman and Co., page 91 (2007)] 참조.) 단일 VH 또는 VL 도메인은 항원-결합 특이성을 부여하기에 충분할 수 있다. 또한, 특정한 항원에 결합하는 항체는 각각 상보적 VL 또는 VH 도메인의 라이브러리를 스크리닝하기 위해 항원에 결합하는 항체로부터의 VH 또는 VL 도메인을 사용하여 단리될 수 있다. 예를 들어, 문헌 [Portolano et al., J. Immunol. 150:880-887 (1993); Clarkson et al., Nature 352:624-628 (1991)]을 참조한다.
- [0072] 본원에 사용된 용어 "벡터"는, 연결된 또 다른 핵산을 증식시킬 수 있는 핵산 분자를 지칭한다. 상기 용어는 자기-복제 핵산 구조로서의 벡터 뿐만 아니라, 도입된 숙주 세포의 게놈 내로 혼입된 벡터를 포함한다. 특정 벡터는 작동가능하게 연결된 핵산의 발현을 지시할 수 있다. 이러한 벡터는 본원에서 "발현 벡터"로 지칭된다.
- [0073] "면역접합체"는 세포독성제를 포함하나 이에 제한되지는 않는 1종 이상의 이종 분자(들)에 접합된 항체이다.
- [0074] "단리된" 항체는 그의 자연 환경의 성분에서 분리된 것이다. 일부 실시양태에서, 항체는 예를 들어, 전기영동 (예를 들어, SDS-PAGE, 등전 포커싱 (IEF), 모세관 전기영동) 또는 크로마토그래피 (예를 들어, 이온 교환 또는 역상 HPLC)에 의해 결정된 바와 같이 95% 또는 99% 초과의 순도로 정제된다. 항체 순도의 평가 방법의 검토를 위해, 예를 들어 문헌 [Flatman et al., J. Chromatogr. B 848:79-87 (2007)]을 참조한다.
- [0075] "단리된" 핵산은 그의 자연 환경의 성분으로부터 분리된 핵산 분자를 지칭한다. 단리된 핵산은 핵산 분자를 통상적으로 함유하는 세포 내에 함유된 핵산 분자를 포함하지만, 핵산 분자는 염색체외에 또는 그의 천연 염색체 위치와 상이한 상이한 염색체 위치에 존재한다.
- [0076] "항-RSP02 항체를 코딩하는 단리된 핵산"은 항체 중쇄 및 경쇄 (또는 그의 단편)를 코딩하는 1개 이상의 핵산 분자 (단일 벡터 또는 개별 벡터 내의 이러한 핵산 분자(들) 및 숙주 세포 내 1개 이상의 위치에 존재하는 이러한 핵산 분자(들) 포함)를 지칭한다.
- [0077] "항-RSP03 항체를 코딩하는 단리된 핵산"은 항체 중쇄 및 경쇄 (또는 그의 단편)를 코딩하는 1개 이상의 핵산 분자 (단일 벡터 또는 개별 벡터 내의 이러한 핵산 분자(들) 및 숙주 세포 내 1개 이상의 위치에 존재하는 이러한 핵산 분자(들) 포함)를 지칭한다.
- [0078] 본원에 사용된 용어 "모노클로날 항체"는 실질적으로 동종인 항체 집단으로부터 수득된 항체를 지칭하고, 즉 상기 집단을 구성하는 개개의 항체는, 일반적으로 소량으로 존재하는 예를 들어 자연 발생 돌연변이를 함유하거나 모노클로날 항체 제제의 생산 동안 생성되는 가능한 변이체 항체를 제외하고, 동일하고/거나 동일한 에피토프에 결합한다. 전형적으로 상이한 결정기 (에피토프)에 대해 지시되는 상이한 항체를 포함하는 폴리클로날 항체 제제와는 대조적으로, 모노클로날 항체 제제의 각각의 모노클로날 항체는 항원 상의 단일 결정기에 대해 지시된다. 따라서, 수식어 "모노클로날"은 항체의 실질적으로 동종인 집단으로부터 수득된 항체의 특성을 나타내고, 임의의 특정한 방법에 의한 항체 생산을 필요로 하는 것으로서 해석되지 않아야 한다. 예를 들어, 본 발명에 따라 사용될 모노클로날 항체는 하이브리도마 방법, 재조합 DNA 방법, 파지-디스플레이 방법, 및 인간 이뮤노글로불린 유전자좌의 전부 또는 일부를 함유하는 트랜스제닉 동물을 이용하는 방법을 포함하나 이에 제한되지는 않는 다양한 기술에 의해 제조될 수 있고, 이러한 방법 및 모노클로날 항체를 제조하는 다른 예시적인 방법이 본원에 기재되어 있다.
- [0079] "네이키드 항체"는 이종 모이어티 (예를 들어, 세포독성 모이어티) 또는 방사성표지에 접합되지 않은 항체를 지칭한다. 네이키드 항체는 제약 제제에 존재할 수 있다.

- [0080] "천연 항체"는 다양한 구조를 갖는 자연 발생 이谬노글로불린 분자를 지칭한다. 예를 들어, 천연 IgG 항체는 디솔피드-결합된 2개의 동일한 경쇄 및 2개의 동일한 중쇄로 구성된 약 150,000 달톤의 이종사량체 당단백질이다. N-말단에서 C-말단으로, 각각의 중쇄는 가변 중쇄 도메인 또는 중쇄 가변 도메인으로도 불리는 가변 영역(VH)에 이어서 3개의 불변 도메인(CH1, CH2 및 CH3)을 갖는다. 유사하게, N-말단에서 C-말단으로, 각각의 경쇄는 가변 경쇄 도메인 또는 경쇄 가변 도메인으로도 불리는 가변 영역(VL)에 이어서 불변 경쇄(CL) 도메인을 갖는다. 항체의 경쇄는 그의 불변 도메인의 아미노산 서열에 기초하여, 카파(κ) 및 람다(λ)로 불리는 2가지 유형 중 1가지로 할당될 수 있다.
- [0081] 용어 "패키지 삽입물"은 치료 제품의 사용에 관한 적응증, 용법, 투여량, 투여, 조합 요법, 금기 및/또는 경고에 대한 정보가 담긴, 이러한 치료 제품의 상업용 패키지에 통상적으로 포함되는 지침을 지칭하는 것으로 사용된다.
- [0082] 참조 폴리펩티드 서열에 대한 "퍼센트 (%) 아미노산 서열 동일성"은 서열을 정렬시키고 필요한 경우에 최대 퍼센트 서열 동일성을 달성하기 위해 캡을 도입한 후 임의의 보존적 치환은 서열 동일성 부분으로 간주하지 않으면서 참조 폴리펩티드 서열 내의 아미노산 잔기와 동일한 후보 서열 내의 아미노산 잔기의 백분율로서 정의된다. 퍼센트 아미노산 서열 동일성을 결정하기 위한 정렬은 관련 기술분야 기술 내의 다양한 방식으로, 예를 들어 공개적으로 입수 가능한 컴퓨터 소프트웨어, 예컨대 BLAST, BLAST-2, ALIGN 또는 메갈라인(Megalign) (DNASTAR) 소프트웨어를 사용하여 달성할 수 있다. 통상의 기술자는 비교할 전장 서열에 대한 최대 정렬을 달성하는데 필요한 임의의 알고리즘을 비롯하여 서열 정렬을 위한 적절한 파라미터를 결정할 수 있다. 그러나, 본원의 목적상, % 아미노산 서열 동일성 값은 서열 비교 컴퓨터 프로그램 ALIGN-2를 사용하여 생성된다. ALIGN-2 서열 비교 컴퓨터 프로그램은 제넨테크, 인크.(Genentech, Inc.) 소유로서, 소스 코드는 미국 저작권청(20559 워싱턴 디.씨.)에 사용자 문서로 제출되어 있고, 미국 저작권 등록 번호 TXU510087 하에 등록되어 있다. ALIGN-2 프로그램은 제넨테크, 인크. (캘리포니아주 사우스 샌프란시스코)로부터 공개적으로 입수 가능하거나, 소스 코드로부터 컴파일링될 수 있다. ALIGN-2 프로그램은 디지털 UNIX V4.0D를 비롯한 UNIX 운영 시스템에서의 사용을 위해 컴파일링되어야 한다. 모든 서열 비교 파라미터는 ALIGN-2 프로그램에 의해 설정되어 있으며 변하지 않는다.
- [0083] ALIGN-2가 아미노산 서열 비교를 위해 사용되는 경우에, 주어진 아미노산 서열 B에 대한, 주어진 아미노산 서열 B와의, 또는 주어진 아미노산 서열 B 대비 주어진 아미노산 서열 A의 % 아미노산 서열 동일성 (대안적으로, 주어진 아미노산 서열 B에 대한, 주어진 아미노산 서열 B와의, 또는 주어진 아미노산 서열 B 대비 특정 % 아미노산 서열 동일성을 갖거나 또는 이를 포함하는 주어진 아미노산 서열 A라는 어구로 기재될 수 있음)은 하기와 같이 계산되며:
- [0084] X/Y 분율 x 100
- [0085] 여기서 X는 A 및 B의 프로그램 정렬 시 서열 정렬 프로그램 ALIGN-2에 의해 동일한 매치로 스코어링된 아미노산 잔기의 수이고, Y는 B의 아미노산 잔기의 총 수이다. 아미노산 서열 A의 길이가 아미노산 서열 B의 길이와 동일하지 않은 경우에는 B에 대한 A의 % 아미노산 서열 동일성이 A에 대한 B의 % 아미노산 서열 동일성과 동일하지 않을 것임을 인식할 것이다. 달리 구체적으로 언급되지 않는 한, 본원에 사용된 모든 % 아미노산 서열 동일성 값은 ALIGN-2 컴퓨터 프로그램을 사용하여 직전 단락에 기재된 바와 같이 수득한다.
- [0086] 용어 "R-스폰딘 전위" 및 "RSPO 전위"는 본원에서, 예를 들어 R-스폰딘, 그의 변이체 또는 단편, 또는 제2 유전자, 그의 변이체 또는 단편을 비롯한 염색체의 부분이 상이한 염색체 위치, 예를 들어 R-스폰딘 본래 위치와 상이한 염색체 위치 또는 제2 유전자의 본래 위치와 상이한 R-스폰딘 본래 위치 내의 및/또는 그 주위의 염색체 위치에 재부착된 R-스폰딘을 지칭한다. R-스폰딘 전위는 RSP01 전위, RSP02 전위, RSP03 전위, 및/또는 RSP04 전위일 수 있다.
- [0087] 용어 "R-스폰딘-전위 융합 폴리뉴클레오티드" 및 "RSPO-전위 융합 폴리뉴클레오티드"는 본원에서 R-스폰딘 전위 유전자 산물 또는 융합 폴리뉴클레오티드의 핵산 서열을 지칭한다. R-스폰딘-전위 융합 폴리뉴클레오티드는 RSP01-전위 융합 폴리뉴클레오티드, RSP02-전위 융합 폴리뉴클레오티드, RSP03-전위 융합 폴리뉴클레오티드, 및/또는 RSP04-전위 융합 폴리뉴클레오티드일 수 있다. 용어 "R-스폰딘-전위 융합 폴리펩티드" 및 "RSPO-전위 융합 폴리펩티드"는 본원에서 R-스폰딘 전위 유전자 산물 또는 융합 폴리뉴클레오티드의 아미노산 서열을 지칭한다. R-스폰딘-전위 융합 폴리펩티드는 RSP01-전위 융합 폴리펩티드, RSP02-전위 융합 폴리펩티드, RSP03-전위 융합 폴리펩티드, 및/또는 RSP04-전위 융합 폴리펩티드일 수 있다.

- [0088] 용어 "검출"은 직접 및 간접 검출을 비롯한 임의의 검출 수단을 포함한다.
- [0089] 본원에 사용된 용어 "바이오마커"은 샘플에서 검출될 수 있는 표지자, 예를 들어 예측, 진단, 및/또는 예후 표지자를 지칭한다. 바이오마커는 특정의, 문자적, 병리학적, 조직학적 및/또는 임상적 특색을 특징으로 하는 질환 또는 장애 (예를 들어, 암)의 특정한 하위유형의 표지자로서 역할을 할 수 있다. 일부 실시양태에서, 바이오마커는 유전자이다. 일부 실시양태에서, 바이오마커는 유전자의 변이 (예를 들어, 돌연변이 및/또는 다형성)이다. 일부 실시양태에서, 바이오마커는 전위이다. 바이오마커는 폴리뉴클레오티드 (예를 들어, DNA 및/또는 RNA), 폴리펩티드, 폴리펩티드 및 폴리뉴클레오티드 변형 (예를 들어, 번역후 변형), 탄수화물 및/또는 당지질-기지 분자 마커를 포함하나 이에 제한되지는 않는다.
- [0090] 개체에의 증가된 임상 이익과 연관된 바이오마커의 "존재", "양" 또는 "수준"은 샘플에서 검출가능한 수준이다. 이는 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지되고 또한 본 발명에 개시된 방법에 의해 측정될 수 있다. 평가되는 바이오마커의 발현 수준 또는 양은 치료에 대한 반응을 결정하기 위해 사용될 수 있다.
- [0091] 용어 "발현의 수준" 또는 "발현 수준"은 일반적으로 상호교환가능하게 사용되고, 일반적으로 샘플 내 바이오마커의 양을 지칭한다. "발현"은 일반적으로 정보 (예를 들어, 유전자-코딩된 및/또는 후성적)가 세포 내에 존재하고 작동하는 구조로 전환되는 과정을 지칭한다. 따라서, 본원에 사용된 "발현"은 폴리뉴클레오티드로의 전사, 폴리펩티드로의 번역, 또는 심지어 폴리뉴클레오티드 및/또는 폴리펩티드 변형 (예를 들어, 폴리펩티드의 번역후 변형)을 지칭할 수 있다. 전사된 폴리뉴클레오티드, 번역된 폴리펩티드, 또는 폴리뉴클레오티드 및/또는 폴리펩티드 변형 (예를 들어, 폴리펩티드의 번역후 변형)의 단편도 또한, 이들이 대안적 스플라이싱에 의해 생성된 전사체 또는 분해된 전사체로부터 유래하든지 또는 예를 들어 단백질분해에 의한 폴리펩티드의 번역후 프로세싱으로부터 유래하든지 관계없이, 발현된 것으로 간주될 것이다. "발현된 유전자"는 mRNA로서 폴리뉴클레오티드로 전사되고 이어서 폴리펩티드로 번역된 것, 및 또한 RNA로 전사되지만 폴리펩티드로 번역되지 않은 것 (예를 들어, 전달 및 리보솜 RNA)을 포함한다.
- [0092] "상승된 발현", "상승된 발현 수준" 또는 "상승된 수준"은 대조군, 예컨대 질환 또는 장애 (예를 들어, 암)를 앓고 있지 않는 개체 또는 개체들 또는 내부 대조군 (예를 들어, 하우스키핑 바이오마커)에 비해 개체에서의 바이오마커의 증가된 발현 또는 증가된 수준을 지칭한다.
- [0093] "감소된 발현", "감소된 발현 수준" 또는 "감소된 수준"은 대조군, 예컨대 질환 또는 장애 (예를 들어, 암)를 앓고 있지 않는 개체 또는 개체들 또는 내부 대조군 (예를 들어, 하우스키핑 바이오마커)에 비해 개체에서의 바이오마커의 감소된 발현 또는 감소된 수준을 지칭한다.
- [0094] 용어 "하우스키핑 바이오마커"는 전형적으로 모든 세포 유형에서 유사하게 존재하는 바이오마커 또는 바이오마커의 군 (예를 들어, 폴리뉴클레오티드 및/또는 폴리펩티드)을 지칭한다. 일부 실시양태에서, 하우스키핑 바이오마커는 "하우스키핑 유전자"이다. "하우스키핑 유전자"는 본원에서 그의 활성이 세포 기능의 유지에 필수적인 단백질을 코딩하고 전형적으로 모든 세포 유형에서 유사하게 존재하는 유전자 또는 유전자의 군을 지칭한다.
- [0095] 본원에 사용된 "증폭"은 일반적으로 목적하는 서열의 다중 카피를 생성하는 과정을 지칭한다. "다중 카피"는 적어도 2개의 카피를 의미한다. "카피"가 반드시 주형 서열에 대한 완전한 서열 상보성 또는 동일성을 의미하는 것은 아니다. 예를 들어, 카피는 뉴클레오티드 유사체, 예컨대 테옥시이노신, 의도적 서열 변경 (예컨대, 주형에 혼성화가능하지만 상보성이지 않은 서열을 포함하는 프라이머를 통해 도입되는 서열 변경), 및/또는 증폭 동안 발생하는 서열 오류를 포함할 수 있다.
- [0096] 용어 "진단"은 본원에서 문자 또는 병리학적 상태, 질환 또는 상태 (예를 들어, 암)의 확인 또는 분류를 지칭하기 위해 사용된다. 예를 들어, "진단"은 특정한 유형의 암의 확인을 지칭할 수 있다. "진단"은 또한 예를 들어 조직병리학적 기준에 의한, 또는 문자적 특색 (예를 들어, 바이오마커 (예를 들어, 특정한 유전자 또는 상기 유전자에 의해 코딩된 단백질) 중 1개 또는 그의 조합의 발현을 특징으로 하는 하위유형)에 의한 특정한 하위유형의 암의 분류를 지칭할 수 있다.
- [0097] 샘플은 1차 또는 배양된 세포 또는 세포주, 세포 상청액, 세포 용해물, 혈소판, 혈청, 혈장, 유리체액, 림프액, 활액, 여포액, 정액, 양수, 유액, 전혈, 혈액-유래 세포, 소변, 뇌척수액, 타액, 객담, 누액, 땀, 점액, 종양 용해물, 및 조직 배양 배지, 조직 추출물, 예컨대 균질화된 조직, 종양 조직, 세포 추출물, 및 그의 조합을 포함하나 이에 제한되지는 않는다.
- [0098] 본원에 사용된 "참조 샘플", "참조 세포", "참조 조직", "대조 샘플", "대조 세포" 또는 "대조 조직"은 비교 목

적을 위해 사용되는 샘플, 세포, 조직, 표준 또는 수준을 지칭한다. 한 실시양태에서, 참조 샘플, 참조 세포, 참조 조직, 대조 샘플, 대조 세포 또는 대조 조직은 동일한 대상체 또는 개체의 건강한 및/또는 비-이환된 신체 일부 (예를 들어, 조직 또는 세포)로부터 수득된다. 예를 들어, 건강한 및/또는 비-이환된 세포 또는 조직은 이환된 세포 또는 조직 (예를 들어, 종양에 인접한 세포 또는 조직)에 인접하여 있다. 또 다른 실시양태에서, 참조 샘플은 동일한 대상체 또는 개체의 신체의 비처리 조직 및/또는 세포로부터 수득된다. 또 다른 실시양태에서, 참조 샘플, 참조 세포, 참조 조직, 대조 샘플, 대조 세포 또는 대조 조직은 대상체 또는 개체가 아닌 개체의 건강한 및/또는 비-이환된 신체의 일부 (예를 들어, 조직 또는 세포)로부터 수득된다. 또 다른 실시양태에서, 참조 샘플, 참조 세포, 참조 조직, 대조 샘플, 대조 세포 또는 대조 조직은 대상체 또는 개체가 아닌 개체의 신체의 비처리 조직 및/또는 세포로부터 수득된다.

[0099] 본원에 사용된 어구 "실질적으로 유사한"은 관련 기술분야의 통상의 기술자가 2개의 수치 값 (일반적으로 하나는 문자와 연관되고, 다른 것은 참조/비교 문자와 연관됨) (예를 들어, Kd 값)에 의해 측정된 생물학적 특징과 관련하여 2개의 값 사이의 차이를 통계적 유의성이 없는 것으로 간주하게 할, 상기 값 사이의 충분히 높은 정도의 유사성을 지칭한다. 상기 2개의 값 사이의 차이는 참조/비교 값의 함수로서 예를 들어 약 20% 미만, 약 10% 미만 및/또는 약 5% 미만일 수 있다.

[0100] 어구 "실질적으로 상이한"은 관련 기술분야의 통상의 기술자가 2개의 수치 값 (일반적으로 하나는 문자와 연관되고, 다른 것은 참조/비교 문자와 연관됨) (예를 들어, Kd 값)에 의해 측정된 생물학적 특징과 관련하여 2개 값 사이의 차이를 통계적 유의성이 있는 것으로 간주하게 할, 상기 값 사이의 충분히 높은 정도의 차이를 지칭한다. 상기 2개의 값 사이의 차이는 참조/비교 문자에 대한 값의 함수로서 예를 들어 약 10% 초과, 약 20% 초과, 약 30% 초과, 약 40% 초과, 및/또는 약 50% 초과일 수 있다.

[0101] 본원에 사용된 용어 "세포독성제"는 세포 기능을 억제 또는 방지하고/거나 세포 사멸 또는 파괴를 유발하는 물질을 지칭한다. 세포독성제는, 방사성 동위원소 (예를 들어, At^{211} , I^{131} , I^{125} , Y^{90} , Re^{186} , Re^{188} , Sm^{153} , Bi^{212} , P^{32} , Pb^{212} 및 Lu 의 방사성 동위원소); 화학요법제 또는 약물 (예를 들어, 메토트렉세이트, 아드리아미신, 빈카알칼로이드 (빈크리스틴, 빈블라스틴, 에토포시드), 독소루비신, 멜팔란, 미토마이신 C, 클로람부실, 다우노루비신 또는 다른 삽입제); 성장 억제제; 효소 및 그의 단편, 예컨대 혼산분해 효소; 항생제; 독소, 예컨대 소분자 독소 또는 박테리아, 진균, 식물 또는 동물 기원의 효소적 활성 독소 (그의 단편 및/또는 변이체 포함); 및 본원에 개시되어 있는 다양한 항종양제 또는 항암제를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0102] "화학요법제"는 암의 치료에 유용한 화학적 화합물을 지칭한다. 화학요법제의 예는 알킬화제, 예컨대 티오텐파 및 시클로포스파미드 (시톡산(CYTOXAN)®); 알킬 술포네이트, 예컨대 부술판, 임프로술판 및 피포술판; 아지리딘, 예컨대 벤조도파, 카르보쿠온, 메투레도파 및 우레도파; 알트레타민, 트리에틸렌멜라민, 트리에틸렌포스포르아미드, 트리에틸렌티오포스포르아미드 및 트리메틸로멜라민을 비롯한 에틸렌이민 및 메틸라멜라민; 아세토게닌 (특히 불라타신 및 불라타시논); 멜타-9-테트라하이드로칸나비놀 (드로나비놀, 마리놀(MARINOL)®); 베타-라파콘; 라파콜; 콜키신; 베타린산; 캄프토테신 (합성 유사체 토포테칸 (하이캄틴(HYCANTIN)®), CPT-11 (이리노테칸, 캄프토사르(CAMPTOSAR)®), 아세틸캄프토테신, 스코폴렉틴, 및 9-아미노캄프토테신 포함); 브리오스타틴; 칼리스타틴; CC-1065 (그의 아도젤레신, 카르젤레신 및 비겔레신 합성 유사체 포함); 포도필로톡신; 포도필린산; 테니포시드; 크립토피신 (특히 크립토피신 1 및 크립토피신 8); 돌라스타틴; 두오카르마이신 (합성 유사체, KW-2189 및 CB1-TM1 포함); 엘레우테로빈; 판크라티스타틴; 사르코디티인; 스폰지스타틴; 질소 머스타드, 예컨대 클로람부실, 클로르나파진, 클로로포스파미드, 에스트라무스틴, 이포스파미드, 메클로레타민, 메클로레타민 옥시드 히드로클로라이드, 멜팔란, 노벰비킨, 페네스테린, 프레드니무스틴, 트로포스파미드, 우라실머스타드; 니트로소우레아, 예컨대 카르무스틴, 클로로조토신, 포테무스틴, 로무스틴, 니무스틴 및 라니무스틴; 항생제, 예컨대 에네디인 항생제 (예를 들어, 칼리케아미신, 특히 칼리케아미신 감마II 및 칼리케아미신 오메가II (예를 들어, 문헌 [Nicolaou et al., Angew. Chem Int'l. Ed. Engl., 33: 183-186 (1994)] 참조); CDP323, 경구 알파-4 인테그린 억제제; 디네미신 A를 비롯한 디네미신; 에스페라미신; 뿐만 아니라 네오카르지노스타틴 발색단 및 관련 색소단백질 에네디인 항생제 발색단), 아클라시노마이신, 약티노마이신, 아우트라마이신, 아자세린, 블레오마이신, 카티노마이신, 카라비신, 카르미노마이신, 카르지노필린, 크로모마이신, 닥티노마이신, 다우노루비신, 테토루비신, 6-디아조-5-옥소-L-노르류신, 독소루비신 (아드리아마이신(ADRIAMYCIN)®, 모르폴리노-독소루비신, 시아노모르폴리노-독소루비신, 2-파롤리노-독소루비신, 독소루비신 HCl 리포솜 주사 (독실(DOXIL)®), 리포솜 독소루비신 TLC D-99 (미오세트(MYOCET)®), 페길화 리보솜 독소루비신 (캐리스(CAELYX)®), 및 데옥시독소루비신 포함), 에피루비신, 에소루비신, 이다루비신, 마르셀로마이신, 미토마이신, 예컨대 미토마이-

신 C, 미코페놀산, 노갈라마이신, 올리보마이신, 폐플로마이신, 포르피로마이신, 퓨로마이신, 쿠엘라마이신, 로도루비신, 스트렙토니그린, 스트렙토조신, 투베르시딘, 우베니벡스, 지노스타틴, 조루비신; 항-대사물, 예컨대 메토트렉세이트, 쟈시타빈 (젬자르(GEMZAR)®), 테가푸르 (유프토랄(UFTORAL)®), 카페시타빈 (젤로다(XELODA)®), 에포티론 및 5-플루오로우라실 (5-FU); 폴산 유사체, 예컨대 테노프테린, 메토트렉세이트, 프테로프테린, 트리메트렉세이트; 퓨린 유사체, 예컨대 플루다라빈, 6-메르캅토퓨린, 티아미프린, 티오구아닌; 피리미딘 유사체, 예컨대 암시타빈, 아자시티딘, 6-아자우리딘, 카르모푸르, 시타라빈, 디데옥시우리딘, 독시플루리딘, 에노시타빈, 플록수리딘; 앤드로겐, 예컨대 칼루스테론, 드로모스타놀론 프로피오네이트, 에피티오스타놀, 메피티오스탄, 테스토락톤; 항부신제, 예컨대 아미노글루테티미드, 미토탄, 트릴로스탄; 폴산 보충제, 예컨대 프롤린산; 아세글라톤; 알도포스파미드 글리코시드; 아미노레불린산; 에닐우라실; 암사크린; 베스트라부실; 비산트伦; 에다트락세이트; 테포파민; 테메콜신; 디아지쿠온; 엘포르니틴; 엘립티늄 아세테이트; 에포티론; 에토글루시드; 질산갈륨; 히드록시우레아; 렌티난; 로니다이닌; 메이탄시노이드, 예컨대 메이탄신 및 암사미토신; 미토구아준; 미톡산트론; 모피단몰; 니트라에린; 웬토스타틴; 페나메트; 피라루비신; 로속산트론; 2-에틸히드라지드; 프로카르바진; PSK® 폴리사카라이드 복합체 (JHS 내츄럴 프로덕츠(JHS Natural Products), 오레곤주 유진); 라족산; 리족신; 시조피란; 스피로게르마늄; 테누아준산; 트리아지쿠온; 2,2',2'-트리클로로트리에틸아민; 트리코테센 (특히 T-2 독소, 베라큐린 A, 로리딘 A 및 암구이딘); 우레탄; 빈데신 (엘디신(ELDISINE)®), 필데신(FILDESIN)®); 다카르바진; 만노무스틴; 미토브로니톨; 미토락톨; 피포브로만; 가시토신; 아라비노시드 ("Ara-C"); 티오텐파; 탁소이드, 예를 들어 파클리탁센 (탁솔(TAXOL)®), 파클리탁센의 알부민-조작 나노입자 제제 (아브락산(ABRAXANE)™) 및 도세탁센 (탁소테레(TAXOTERE)®); 클로란부실; 6-티오구아닌; 메르캅토퓨린; 메토트렉세이트; 백금 작용제, 예컨대 시스플라틴, 옥살리플라틴 (예를 들어, 엘록사틴(ELOXATIN)®) 및 카르보플라틴; 빈블라스틴 (벨반(VELBAN)®), 빈크리스틴 (온코빈(ONCOVIN)®), 빈데신 (엘디신(ELDISINE)®), 필데신(FILDESIN)® 및 비노렐빈 (나벨빈(NAVELBINE)®)을 비롯한, 튜불린 중합이 미세관을 형성하는 것을 방지하는 빈카; 에토포시드 (VP-16); 이포스파미드; 미톡산트론; 류코보린; 노반트론; 에다트렉세이트; 다우노마이신; 아미노프테린; 이반드로네이트; 토포이소머라제 억제제 RFS 2000; 디플루오로메틸오르니틴 (DMFO); 베사로텐 (탈그레틴(TARGRETIN)®)을 비롯한 레티노이드, 예컨대 레티노산; 비스포스포네이트, 예컨대 클로드로네이트 (예를 들어, 보네포스(BONEFOS)® 또는 오스탁(OSTAC)®), 에티드로네이트 (디드로칼(DIDROCAL)®), NE-58095, 졸레드론산/졸레드로네이트 (조메타(ZOMETA)®), 알렌드로네이트 (포사맥스(FOSAMAX)®), 파미드로네이트 (아레디아(AREDIA)®), 텔루드로네이트 (스켈리드(SKELID)®), 또는 리세드로네이트 (악토넬(ACTONEL)®); 트록사시타빈 (1,3-디옥솔란 뉴클레오시드 시토신 유사체); 안티센스 올리고뉴클레오티드, 특히 이상 세포 증식에 연루된 신호전달 경로에서 유전자의 발현을 억제하는 것, 예컨대 예를 들어 PKC-알파, Raf, H-Ras, 및 표피 성장 인자 수용체 (EGF-R); 백신, 예컨대 테라토프(THERATOPE)® 백신 및 유전자 요법 백신, 예를 들어 알로벡틴 (ALLOVECTIN)® 백신, 류벡틴(LEUVECTIN)® 백신, 및 박시드(VAXID)® 백신; 토포이소머라제 1 억제제 (예를 들어, 르르토테칸(LURTOTECAN)®); rmRH (예를 들어, 아바렐릭스(ABARELIX)®); BAY439006 (소라페닙; 바이엘(Bayer)); SU-11248 (수니티닙, 수텐트(SUTENT)®, 화이자(Pfizer)); 페리포신, COX-2 억제제 (예를 들어, 셀레콕시브 또는 에토리콕시브), 프로테오솜 억제제 (예를 들어, PS341); 보르테조닙 (벨케이드(VELCADE)®); CCI-779; 티파파르닙 (R11577); 오라페닙, ABT510; Bcl-2 억제제, 예컨대 오블리메르센 소듐 (게나센스(GENASENSE)®); 핵산트론; EGFR 억제제 (하기 정의 참조); 티로신 키나제 억제제 (하기 정의 참조); 세린-트레오닌 키나제 억제제, 예컨대 라파마이신 (시롤리무스, 라파뮨(RAPAMUNE)®); 파르네실트랜스페라제 억제제, 예컨대 로나파르닙 (SCH 6636, 사라사르(SARASAR)™); 및 임의의 상기의 제약상 허용되는 염, 산 또는 유도체; 뿐만 아니라 상기 중 2종 이상의 조합, 예컨대 시클로포스파미드, 독소루비신, 빈크리스틴 및 프레드니솔론의 조합 요법에 대한 약어인 CHOP; 및 5-FU 및 류코보린과 조합된 옥살리플라틴 (엘록사틴(ELOXATIN)™)에 의한 치료요법에 대한 약어인 FOLFOX를 포함한다.

[0103] 본원에 정의된 바와 같은 화학요법제는 암의 성장을 촉진할 수 있는 호르몬의 효과를 조절, 감소, 차단 또는 억제하는 작용을 하는 "항호르몬제" 또는 "내분비 치료제"를 포함한다. 이는 혼합된 효능제/길항제 프로파일을 갖는 항에스트로겐, 예를 들어 타목시펜 (놀바텍스(NOLVADEX)®), 4-히드록시타목시펜, 토레미펜 (파레스톤(FARESTON)®), 이독시펜, 드롤록시펜, 랄록시펜 (에비스타(EVISTA)®), 트리옥시펜, 케옥시펜, 및 선택적 에스트로겐 수용체 조절제 (SERM), 예컨대 SERM3; 효능제 특성을 갖지 않는 순수한 항에스트로겐, 예컨대 폴베스트란트 (파슬로텍스(FASLODEX)®) 및 EM800 (이러한 작용제는 에스트로겐 수용체 (ER) 이량체화를 차단하고/거나, DNA 결합을 억제하고/거나, ER 턴오버를 증가시키고/거나, ER 수준을 억제할 수 있음); 아로마타제 억제제, 예를 들어 스테로이드성 아로마타제 억제제, 예컨대 포르메스탄 및 엑세메스탄 (아로마신(AROMASIN)®), 및 비스테로이드성 아로마타제 억제제, 예컨대 아나스트라졸 (아리미렉스(ARIMIDEX)®), 레트로졸 (페마라(FEMARA)®)

및 아미노글루테티미드, 및 다른 아로마타제 억제제, 예를 들어 보로졸 (리비소르(RIVISOR)®), 메게스트롤 아세테이트 (메가세(MEGASE)®), 파드로졸 및 4(5)-이미다졸; 황체화 호르몬-방출 호르몬 효능제, 예를 들어 류프롤리드 (루프론(LUPRON)® 및 엘리가드(ELIGARD)®), 고세렐린, 부세렐린 및 트립테렐린; 성 스테로이드, 예를 들어 프로게스틴, 예컨대 메게스트롤 아세테이트 및 메드록시프로게스테론 아세테이트, 에스트로겐, 예컨대 디에틸스틸베스트롤 및 프레마린, 및 안드로겐/레티노이드, 예컨대 플루옥시메스테론, 모든 트랜스테리온산 및 펜레티니드; 오나프리스톤; 항프로게스테론; 에스트로겐 수용체 하향 조절제 (ERD); 항안드로겐, 예컨대 플루타미드, 닐루타미드 및 비칼루타미드; 및 임의의 상기의 제약상 허용되는 염, 산 또는 유도체; 뿐만 아니라 상기 중 2종 이상의 조합을 포함하나 이에 제한되지는 않는, 호르몬 그 자체일 수 있다.

[0104] 용어 "세포증식억제제"는 시험판내 또는 생체내에서 세포의 성장을 정지시키는 화합물 또는 조성물을 지칭한다. 따라서, 세포증식억제제는 S 기에서 세포의 백분율을 유의하게 감소시키는 것일 수 있다. 세포증식억제제의 추가의 예는 G0/G1 정지 또는 M-기 정지를 유도함으로써 세포 주기 진행을 차단하는 작용제를 포함한다. 인간화 항-Her2 항체 트라스투주맙 (헤르셉틴(HERCEPTIN)®)은 G0/G1 정지를 유도하는 세포증식억제제의 예이다. 전통적인 M-기 차단제는 빈카 (빈크리스틴 및 빈블라스틴), 탁산, 및 토포이소머라제 II 억제제, 예컨대 독소루비신, 에피루비신, 다우노루비신, 에토포시드 및 블레오마이신을 포함한다. G1을 정지시키는 특정 작용제, 예를 들어 DNA 알킬화제, 예컨대 타목시펜, 프레드니손, 다카르바진, 메클로테라민, 시스플라틴, 메토트렉세이트, 5-플루오로우라실 및 ara-C는 또한 S-기 정지로 이어진다. 추가의 정보는 문헌 [Mendelsohn and Israel, eds., *The Molecular Basis of Cancer*, Chapter 1, entitled "Cell cycle regulation, oncogenes, and antineoplastic drugs" by Murakami et al. (W.B. Saunders, Philadelphia, 1995)], 예를 들어 p. 13에서 찾아볼 수 있다. 탁산 (파클리탁셀 및 도세탁셀)은 둘 다 주목으로부터 유래된 항암 약물이다. 유럽 주목으로부터 유래된 도세탁셀 (탁소테레®, 롱-프랑 로러(Rhone-Poulenc Rorer))은 파클리탁셀 (탁솔®, 브리스톨-마이어스 스水库(Bristol-Myers Squibb))의 반합성 유사체이다. 파클리탁셀 및 도세탁셀은 튜불린 이량체로부터 미세관 어셈블리를 촉진하고, 탈중합을 방지함으로써 미세관을 안정화시켜, 세포에서의 유사분열 억제를 발생시킨다.

[0105] 본원에 사용된 용어 "EGFR 억제제"는 EGFR에 결합하거나 또는 다르게는 EGFR과 직접 상호작용하고, 그의 신호전달 활성을 방지하거나 감소시키는 화합물을 지칭하며, 대안적으로 "EGFR 길항제"로 지칭된다. 이러한 작용제의 예는 EGFR에 결합하는 항체 및 소분자를 포함한다. EGFR에 결합하는 항체의 예는 MAb 579 (ATCC CRL HB 8506), MAb 455 (ATCC CRL HB8507), MAb 225 (ATCC CRL 8508), MAb 528 (ATCC CRL 8509) (미국 특허 번호 4,943, 533 (Mendelsohn et al.) 참조) 및 그의 변이체, 예컨대 키메라화 225 (C225 또는 세톡시맙; 에르부티스(ERBUTIX)®) 및 재형성된 인간 225 (H225) (WO 96/40210 (임클론 시스템스 인크.(Imclone Systems Inc.)) 참조); IMC-11F8, 완전 인간, EGFR-표적화된 항체 (임클론); 유형 II 돌연변이체 EGFR에 결합하는 항체 (미국 특허 번호 5,212,290); 미국 특허 번호 5,891,996에 기재된 바와 같은 EGFR에 결합하는 인간화 및 키메라 항체; 및 EGFR에 결합하는 인간 항체, 예컨대 ABX-EGF 또는 파니투무맙 (WO98/50433 (아브게닉스(Abgenix)/암젠(Amgen)) 참조); EMD 55900 (Stragliotto et al. Eur. J. Cancer 32A:636-640 (1996)); EMD7200 (마투주맙), EGFR 결합에 대해 EGF 및 TGF-알파 둘 다와 경쟁하는 EGFR에 대해 지시된 인간화 EGFR 항체 (EMD/머크(Merck)); 인간 EGFR 항체, 휴맥스-EGFR(HuMax-EGFR) (젠팝(GenMab)); E1.1, E2.4, E2.5, E6.2, E6.4, E2.11, E6. 3 및 E7.6.3으로 공지되어 있으며 US 6,235,883에 기재된 완전 인간 항체; MDX-447 (메다렉스 인크.(Medarex Inc.)); 및 mAb 806 또는 인간화 mAb 806 (Johns et al., J. Biol. Chem. 279(29):30375-30384 (2004))을 포함한다. 항-EGFR 항체는 세포독성제와 접합될 수 있으며, 이에 따라 면역접합체를 생성한다 (예를 들어, EP659,439A2, 머크 페이턴트 게엠베하(Merck Patent GmbH) 참조). EGFR 길항제는 미국 특허 번호 5,616,582, 5,457,105, 5,475,001, 5,654,307, 5,679,683, 6,084,095, 6,265,410, 6,455,534, 6,521,620, 6,596,726, 6,713,484, 5,770,599, 6,140,332, 5,866,572, 6,399,602, 6,344,459, 6,602,863, 6,391,874, 6,344,455, 5,760,041, 6,002,008, 및 5,747,498, 뿐만 아니라 하기 PCT 공보: WO98/14451, WO98/50038, WO99/09016, 및 WO99/24037에 기재된 화합물과 같은 소분자를 포함한다. 특정한 소분자 EGFR 길항제는 OSI-774 (CP-358774, 에를로티닙, 타르세바(TARCEVA)® 제넨테크(OSI) 파마슈티칼스(OSI Pharmaceuticals)); PD 183805 (CI 1033, 2-프로펜아미드, N-[4-[(3-클로로-4-플루오로페닐)아미노]-7-[3-(4-모르폴리닐)프로폭시]-6-퀴나졸리닐]-, 디히드로클로라이드, 화이자 인크.(Pfizer Inc.)); ZD1839, 계피티닙 (이레사(IRESSA)J) 4-(3'-클로로-4'-플루오로아닐리노)-7-메톡시-6-(3-모르폴리노프로폭시)퀴나졸린, 아스트라제네카(AstraZeneca)); ZM 105180 ((6-아미노-4-(3-메틸페닐-아미노)-퀴나졸린, 제네카(Zeneca)); BIBX-1382 (N8-(3-클로로-4-플루오로페닐)-N2-(1-메틸-피페리딘-4-일)-피리미도[5,4-d]피리미딘-2,8-디아민, 베링거 잉겔하임(Boehringer Ingelheim)); PKI-166 ((R)-4-[4-[(1-페닐에틸)아미노]-1H-피롤로[2,3-d]피리미딘-6-일]-페놀); (R)-6-(4-히드

록시페닐)-4-[(1-페닐에틸)아미노]-7H-피롤로[2,3-d]파리미딘); CL-387785 (N-[4-[(3-브로모페닐)아미노]-6-퀴나졸리닐]-2-부틴아미드); EKB-569 (N-[4-[(3-클로로-4-플루오로페닐)아미노]-3-시아노-7-에톡시-6-퀴나졸리닐]-4-(디메틸아미노)-2-부텐아미드) (와이어쓰(Wyeth)); AG1478 (화이자); AG1571 (SU 5271; 화이자); 이중 EGFR/HER2 티로신 키나제 억제제, 예컨대 라파티닙 (타이커브(TYKERB)®, GSK572016 또는 N-[3-클로로-4-[(3-플루오로페닐)메톡시]페닐]6[5[[2메틸솔포닐]에틸]아미노]메틸]-2-푸라닐]-4-퀴나졸린아민; 글락소-스미스클라인(Glaxo-SmithKline))을 포함한다.

- [0106] 용어 "종양"은 악성이든 또는 양성이든 모든 신생물성 세포 성장 및 증식, 및 모든 전암성 및 암성 세포 및 조직을 지칭한다. 용어 "암", "암성", "세포 증식성 장애", "증식성 장애" 및 "종양"은 본원에 지칭된 바와 같이 상호 배타적이지 않다.
- [0107] 용어 "세포 증식성 장애" 및 "증식성 장애"는 어느 정도의 비정상 세포 증식과 연관된 장애를 지칭한다. 한 실시양태에서, 세포 증식성 장애는 암이다.
- [0108] 용어 "암" 및 "암성"은, 전형적으로 비조절된 세포 성장/증식을 특징으로 하는 포유동물의 생리학적 상태를 지칭하거나 기재한다. 암의 예는 암종, 림프종 (예를 들어, 호지킨 및 비호지킨 림프종), 모세포종, 육종 및 백혈병을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 이러한 암의 보다 특정한 예는 편평 세포암, 소세포 폐암, 비소세포 폐암, 폐의 선암종, 폐의 편평세포 암종, 복막암, 간세포성암, 위장암, 췌장암, 신경교종, 자궁경부암, 난소암, 간암, 방광암, 간세포암, 유방암, 결장암, 결장직장암, 자궁내막 또는 자궁 암종, 타액선 암종, 신장암, 간암, 전립선암, 외음부암, 갑상선암, 간 암종, 백혈병 및 다른 림프증식성 장애, 및 다양한 유형의 두경부암을 포함한다.
- [0109] 용어 "결장 종양" 또는 "결장암"은 결장 (맹장에서부터 직장까지의 대장)의 임의의 종양 또는 암을 지칭한다.
- [0110] 용어 "결장직장 종양" 또는 "결장직장암"은 결장 (맹장에서부터 직장까지의 대장)과 직장을 포함하는 대장의 임의의 종양 또는 암 (예를 들어 선암종 및 덜 보편적인 형태, 예컨대 림프종 및 편평 세포 암종 포함)을 지칭한다.
- [0111] 작용제, 예를 들어 제약 제제의 "유효량"은 필요한 투여량에서 필요한 기간 동안 목적하는 치료 또는 예방 결과를 달성하기에 유효한 양을 지칭한다.
- [0112] 용어 "제약 제제"는 그 안에 함유된 활성 성분의 생물학적 활성이 유효하도록 하는 형태로 존재하며, 제제가 투여될 대상체에게 허용되지 않는 독성인 추가의 성분을 함유하지 않는 제제를 지칭한다.
- [0113] "제약상 허용되는 담체"는 대상체에게 비독성인, 활성 성분 이외의 다른 제약 제제 내의 성분을 지칭한다. 제약상 허용되는 담체는 완충제, 부형제, 안정화제 또는 보존제를 포함하나 이에 제한되지는 않는다.
- [0114] "개체" 또는 "대상체"는 포유동물이다. 포유동물은 가축 (예를 들어, 소, 양, 고양이, 개, 및 말), 영장류 (예를 들어, 인간 및 비-인간 영장류, 예컨대 원숭이), 토끼, 및 설치류 (예를 들어, 마우스 및 래트)를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 특정 실시양태에서, 개체 또는 대상체는 인간이다.
- [0115] 본원에 사용된 "치료" (및 "치료하다" 또는 "치료하는")과 같은 그의 문법적 변형)는 치료되는 개체의 자연적 과정을 변경시키기 위한 시도로의 임상 개입을 지칭하고, 임상 병리상태의 예방을 위해 또는 그 과정 동안 수행될 수 있다. 바람직한 치료 효과는 질환의 발생 또는 재발을 방지하는 것, 증상의 완화, 질환의 임의의 직접적 또는 간접적인 병리학적 결과의 감소, 전이를 방지하는 것, 질환 진행의 속도를 감소시키는 것, 질환 상태의 개선 또는 경감, 및 완화 또는 개선된 예후를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 항체는 질환 발달을 지연시키는데 또는 질환 진행을 느리게 하는데 사용된다.
- [0116] "감소시키다" 또는 "억제하다"는 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 또는 그 초과의 전반적 감소를 생성하는 능력을 의미한다. 일부 실시양태에서, 감소시키다 또는 억제하다는 참조 (예를 들어, 생물학적 활성 (예를 들어, wnt 신호전달) 또는 결합의 참조 수준)와 비교하여 상대적인 감소를 지칭할 수 있다. 일부 실시양태에서, 감소시키다 또는 억제하다는 치료 중인 장애의 증상, 전이의 존재 또는 크기, 또는 원발성 종양의 크기를 지칭할 수 있다.
- [0117] 관련 기술분야의 통상의 기술자에 의해 이해되는 바와 같이, 본원에서 "약" 값 또는 파라미터에 대한 언급은 그 값 또는 파라미터 자체에 대한 실시양태를 포함(하고 이를 기재)한다. 예를 들어, "약 X"를 언급하는 기재는 "X"의 기재를 포함한다.

- [0118] 본원에 기재된 본 발명의 측면 및 실시양태는 측면 및 실시양태로 "이루어지는" 및/또는 "본질적으로 이루어지는" 것을 포함하는 것으로 이해된다. 본원에 사용된 단수 형태는 달리 나타내지 않는 한 복수 지시대상을 포함한다.
- [0119] II. 조성물 및 방법
- [0120] 본원은 항-RSP0 항체 및 그의 용도를 제공한다. 특정 실시양태에서, RSP02 및/또는 RSP03에 결합하는 항체가 제공된다. 제공되는 항체는, 예를 들어 결장직장암과 같은 암의 진단 또는 치료에 유용하다.
- [0121] 일부 측면에서, 본원은 한 패널의 항-RSP0 항체를 제공한다. RSP02 및/또는 RSP03에 결합하는 능력에 기초하여, IHC에 의해 RSP02 및/또는 RSP03을 검출하는 능력, RSP02 및/또는 RSP03 및 LGR 폴리펩티드, 예를 들어 LGR4 및/또는 LGR5의 상호작용을 억제하는 능력, RSP02 및/또는 RSP03 및 E3 유비퀴티나제 폴리펩티드, 예를 들어 RNF43 및/또는 ZNRF3의 상호작용을 억제하는 능력, 및 RSP02, RSP03, RSP02 다형성, 및/또는 RSP02 전위 산물, 및 하위세트에 의해 자극된 wnt 신호전달을 억제하는 능력을 포함하나 이에 제한되지는 않는 다중 특성에 대해 특징화된 항체 패널이 확인되었다.
- [0122] 한 측면에서, 본원은 RSP02 및/또는 RSP03에 결합하는 단리된 항체를 제공한다. 일부 실시양태에서, 항체는 RSP02에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항체는 RSP02에 결합하고 RSP03에는 유의하게 결합하지 않는다. 일부 실시양태에서, 항체는 RSP03에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항체는 RSP03에 결합하고 RSP02에는 유의하게 결합하지 않는다. 일부 실시양태에서, 항체는 RSP02 및 RSP03 둘 다에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항체는 다중특이적 항체이다. 일부 실시양태에서, 다중특이적 항체는 이중특이적 항체이다. 일부 실시양태에서, 이중특이적 항체는 RSP02에 결합하는 제1 가변 도메인 및 RSP03에 결합하는 제2 가변 도메인을 포함한다.
- [0123] 특정 실시양태에서, RSP02 및/또는 RSP03에 결합하는 항체는 RSP02에 결합하는 항체이다. 일부 실시양태에서, 항-RSP02 항체는 RSP02에 결합하며, 여기서 RSP02는 서열 1에 제시된 서열을 갖는다. 일부 실시양태에서, 항-RSP02 항체는 RSP02에 결합하며, 여기서 RSP02는 신호전달 웨티드 서열이 결여되어 있다 (예를 들어, 서열 1의 아미노산 22-243 내의 아미노산에 결합함). 일부 실시양태에서, 항-RSP02 항체는 RSP02의 1개 이상의 푸린-유사 시스테인-풍부 도메인에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항-RSP02 항체는 서열 1의 아미노산 34 내지 134 내의 영역에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항-RSP02 항체는 서열 1의 아미노산 39 내지 134 내의 영역에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항-RSP02 항체는 서열 1의 아미노산 34 내지 84 내의 영역에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항-RSP02 항체는 서열 1의 아미노산 90 내지 134 내의 영역에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항-RSP02 항체는 RSP02의 트롬보스폰딘 유형 1 도메인에 결합하지 않는다 (예를 들어, 서열 1의 아미노산 144-204 내의 영역에 결합하지 않음). 일부 실시양태에서, 항-RSP02 항체는 RSP02의 트롬보스폰딘 유형 1 도메인에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항-RSP02 항체는 서열 1의 아미노산 144-204 내의 영역에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항-RSP02 항체는 wnt 신호전달을 억제한다. 일부 실시양태에서, 항-RSP02 항체는 RSP02 다형성 (예를 들어, RSP02 L186P 다형성)을 갖는 개체 및/또는 암에서 wnt 신호전달을 억제한다. 일부 실시양태에서, 항-RSP02 항체는 RSP02 및 LGR4, LGR5 및/또는 LGR6 중 1종 이상의 상호작용을 억제한다. 일부 실시양태에서, 항-RSP02 항체는 RSP02 및 LGR4, LGR5 및/또는 LGR6 중 1종 이상의 상호작용을 억제하지 않는다 (예를 들어, LGR4, LGR5 및/또는 LGR6 중 1종 이상에 대한 RSP02의 결합을 증진시킴). 일부 실시양태에서, 항-RSP02 항체는 RSP02 및 막횡단 E3 유비퀴티나제 (예를 들어, ZNRF3 및/또는 RNF43 중 1개 이상)의 상호작용을 억제한다. 일부 실시양태에서, 항-RSP02 항체는 RSP02 및 막횡단 E3 유비퀴티나제 (예를 들어, Sdc4)의 상호작용을 억제한다. 일부 실시양태에서, 항-RSP02 항체는 RSP02 및 LGR4, LGR5 및/또는 LGR6 중 1종 이상의 상호작용을 억제하고, RSP02 및 막횡단 E3 유비퀴티나제 (예를 들어, ZNRF3 및/또는 RNF43 중 1개 이상)의 상호작용을 억제한다 (예를 들어, 11F11, 36D2, 49G5, 및/또는 26E11). 일부 실시양태에서, 항-RSP02 항체는 RSP02 및 막횡단 E3 유비퀴티나제 (예를 들어, ZNRF3 및/또는 RNF43 중 1개 이상)의 상호작용을 억제하고, RSP02 및 LGR4, LGR5 및/또는 LGR6 중 1종 이상의 상호작용은 억제하지 않는다 (예를 들어, LGR4, LGR5 및/또는 LGR6 중 1종 이상에 대한 RSP02의 결합을 증진시킴) (예를 들어, 1A1). 일부 실시양태에서, 항-RSP02 항체는 암 줄기 세포 성장을 억제한다. 일부 실시양태에서, 항-RSP02 항체는 암 세포 (예를 들어, 암 줄기 세포) 분화 (예를 들어, 말단 분화 및/또는 전구 세포로의 분화)를 유도 및/또는 촉진한다. 일부 실시양태에서, 항-RSP03 항체는 장세포, 배상 세포 및/또는 장내분비 세포로의 암 세포 (예를 들어, 암 줄기 세포) 분화를 유도 및/또는 촉진한다.
- [0124] 특정 실시양태에서, RSP02 및/또는 RSP03에 결합하는 항체는 RSP03에 결합하는 항체이다. 일부 실시양태에서, 항-RSP03 항체는 RSP03에 결합하며, 여기서 RSP03은 서열 2에 제시된 서열을 갖는다. 일부 실시양태에서, 항-RSP03 항체는 RSP03에 결합하며, 여기서 RSP03은 신호전달 웨티드 서열이 결여되어 있다 (예를 들어, 서열 2의

아미노산 22-272 내의 아미노산에 결합함). 일부 실시양태에서, 항-RSP03 항체는 RSP03의 1개 이상의 푸린-유사 시스테인-풍부 도메인에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항-RSP03 항체는 서열 2의 아미노산 35 내지 135 내의 영역에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항-RSP03 항체는 서열 2의 아미노산 35 내지 86 내의 영역에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항-RSP03 항체는 RSP03의 트롬보스폰딘 유형 1 도메인에 결합하지 않는다 (예를 들어, 서열 2의 아미노산 147-207 내의 아미노산에 결합하지 않음). 일부 실시양태에서, 항-RSP03 항체는 RSP03의 트롬보스폰딘 유형 1 도메인에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항-RSP03 항체는 서열 2의 아미노산 147-207 내의 영역에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항-RSP03 항체는 wnt 신호전달을 억제한다. 일부 실시양태에서, 항-RSP03 항체는 RSP03 및 LGR4, LGR5 및/또는 LGR6 중 1종 이상의 상호작용을 억제한다. 일부 실시양태에서, 항-RSP03 항체는 RSP03 및 LGR4, LGR5 및/또는 LGR6 중 1종 이상의 상호작용을 억제하지 않는다 (예를 들어, LGR4, LGR5 및/또는 LGR6 중 1종 이상에 대한 RSP03의 결합을 증진시킴). 일부 실시양태에서, 항-RSP03 항체는 RSP03 및 막횡단 E3 유비퀴티나제 (예를 들어, ZNRF3 및/또는 RNF43 중 1개 이상)의 상호작용을 억제한다. 일부 실시양태에서, 항-RSP03 항체는 RSP03 및 LGR4, LGR5 및/또는 LGR6 중 1종 이상의 상호작용을 억제하고, RSP03 및 막횡단 E3 유비퀴티나제 (예를 들어, ZNRF3 및/또는 RNF43 중 1개 이상)의 상호작용을 억제한다. 일부 실시양태에서, 항-RSP03 항체는 암 줄기 세포 성장을 억제한다. 일부 실시양태에서, 항-RSP03 항체는 암 세포 (예를 들어, 암 줄기 세포) 분화 (예를 들어, 말단 분화 및/또는 전구 세포로의 분화)를 유도 및/또는 촉진한다. 일부 실시양태에서, 항-RSP03 항체는 전이-증식 세포로의 암 세포 (예를 들어, 암 줄기 세포) 분화를 유도 및/또는 촉진한다. 일부 실시양태에서, 항-RSP03 항체는 장세포, 배상 세포 및/또는 장내분비 세포로의 암 세포 (예를 들어, 암 줄기 세포) 분화를 유도 및/또는 촉진한다.

[0125]

일부 실시양태에서, 항-RSP03 항체는 서열 2의 아미노산 49 내지 108 내의 영역에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항-RSP03 항체는 RSP03 (예를 들어, 서열 2)의 Ser49, Asn52, Cys54, Leu55, Ser56, Phe63, Leu65, Gln72, Ile73, Gly74, Tyr84, Tyr89, Pro90, Asp91, Ile92, Lys94, 및 Lys108로부터 선택된 1개 이상의 아미노산을 포함하는 에피토프에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항-RSP03 항체는 RSP03 (예를 들어, 서열 2)의 아미노산 Ser 49, Asn52, Cys54, Leu55, Ser56, Phe63, Leu65, Gln72, Ile73, Gly74, Tyr84, Tyr89, Pro90, Asp91, Ile92, Lys94, 및 Lys108을 포함하는 에피토프에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항-RSP03 항체는 RSP03 (예를 들어, 서열 2)의 아미노산 잔기: Ser 49, Asn52, Cys54, Leu55, Ser56, Phe63, Leu65, Gln72, Ile73, Gly74, Tyr84, Tyr89, Pro90, Asp91, Ile92, Lys94, 및 Lys108을 포함하는 에피토프에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항-RSP03 항체는 RSP03 (예를 들어, 서열 2)의 아미노산을 포함하는 에피토프에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항-RSP03 항체는 RSP03 (예를 들어, 서열 2)의 아미노산 Ser 49, Asn52, Cys54, Leu55, Ser56, Phe63, Leu65, Gln72, Ile73, Gly74, Tyr84, Tyr89, Pro90, Asp91, Ile92, Lys94, Lys97, 및 Lys108로부터 선택된 1개 이상의 아미노산을 포함하는 에피토프에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항-RSP03 항체는 RSP03 (예를 들어, 서열 2)의 아미노산 Ser 49, Asn52, Cys54, Leu55, Ser56, Phe63, Leu65, Gln72, Ile73, Gly74, Tyr84, Tyr89, Pro90, Asp91, Ile92, Lys94, Lys97, 및 Lys108을 포함하는 에피토프에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항-RSP03 항체는 RSP03에 결합된 경우에 RSP03 (예를 들어, 서열 2)의 1개 이상의 아미노산 Ser 49, Asn52, Cys54, Leu55, Ser56, Phe63, Leu65, Gln72, Ile73, Gly74, Tyr84, Tyr89, Pro90, Asp91, Ile92, Lys94, 및 Lys108로부터 4 옹스트롬 이하의 위치에 위치한다. 일부 실시양태에서, 항-RSP03 항체는 RSP03에 결합된 경우에 RSP03 (예를 들어, 서열 2)의 아미노산 잔기: Ser 49, Asn52, Cys54, Leu55, Ser56, Phe63, Leu65, Gln72, Ile73, Gly74, Tyr84, Tyr89, Pro90, Asp91, Ile92, Lys94, 및 Lys108로부터 4 옹스트롬 이하의 위치에 위치한다. 일부 실시양태에서, 항-RSP03 항체는 RSP03에 결합된 경우에 RSP03 (예를 들어, 서열 2)의 1개 이상의 아미노산 Ser 49, Asn52, Cys54, Leu55, Ser56, Phe63, Leu65, Gln72, Ile73, Gly74, Tyr84, Tyr89, Pro90, Asp91, Ile92, Lys94, Lys97, 및 Lys108로부터 4 옹스트롬 이하의 위치에 위치한다. 일부 실시양태에서, 항-RSP03 항체는 RSP03에 결합된 경우에 RSP03 (예를 들어, 서열 2)의 아미노산 잔기: Ser 49, Asn52, Cys54, Leu55, Ser56, Phe63, Leu65, Gln72, Ile73, Gly74, Tyr84, Tyr89, Pro90, Asp91, Ile92, Lys94, Lys97, 및 Lys108로부터 4 옹스트롬 이하의 위치에 위치한다. 일부 실시양태에서, 항-RSP03 항체는 RSP03에 결합된 경우에 RSP03 (예를 들어, 서열 2)의 1개 이상의 아미노산 Asn52, Leu55, Phe63, Gln72, Tyr89, Pro90, Asp91, Lys94, 및 Lys97로부터 3.5 옹스트롬 이하의 위치에 위치한다. 일부 실시양태에서, 항-RSP03 항체는 RSP03에 결합된 경우에 RSP03 (예를 들어, 서열 2)의 1개 이상의 아미노산 Gln72, Pro90, Asp91, 및 Lys94로부터 3 옹스트롬 이하의 위치에 위치한다. 일부 실시양태에서, 항-RSP03 항체는 RSP03에 결합된 경우에 RSP03 (예를 들어, 서열 2)의 Gln72, Pro90,

Asp91, 및 Lys94로부터 3 옹스트롬 이하의 위치에 위치한다. 일부 실시양태에서, 항-RSP03 항체는 RSP03에 결합된 경우에 상기 제공된 1개 이상의 아미노산으로부터 약 임의의 4, 3.75, 3.5, 3.25, 또는 3 옹스트롬의 위치에 위치한다. 일부 실시양태에서, 1개 이상의 아미노산 및/또는 1개 이상의 아미노산 잔기는 약 임의의 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 및/또는 12개의 아미노산 및/또는 아미노산 잔기이다. 일부 실시양태에서, 에피토프는 결정학 (예를 들어, 실시예에 기재된 결정학 방법)에 의해 결정된다.

[0126] 일부 실시양태에서, 항-RSP03 항체는 서열 2의 아미노산 47 내지 108 내의 아미노산에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항-RSP03 항체는 RSP03 (예를 들어, 서열 2)의 Thr47, Asn52, Cys54, Leu55, Ser56, Phe63, Leu65, Gln72, Tyr84, Tyr89, Pro90, Asp91, Ile92, Asn93, Lys94, Lys97, 및 Lys108로부터 선택된 1개 이상의 아미노산을 포함하는 에피토프에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항-RSP03 항체는 RSP03 (예를 들어, 서열 2)의 아미노산 Thr47, Asn52, Cys54, Leu55, Ser56, Phe63, Leu65, Gln72, Tyr84, Tyr89, Pro90, Asp91, Ile92, Asn93, Lys94, Lys97, 및 Lys108을 포함하는 에피토프에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항-RSP03 항체는 RSP03 (예를 들어, 서열 2)의 아미노산 잔기: Thr47, Asn52, Cys54, Leu55, Ser56, Phe63, Leu65, Gln72, Tyr84, Tyr89, Pro90, Asp91, Ile92, Asn93, Lys94, Lys97, 및 Lys108을 포함하는 에피토프에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항-RSP03 항체는 RSP03 (예를 들어, 서열 2)의 1개 이상의 아미노산 Thr47, Asn52, Cys54, Leu55, Ser56, Phe63, Leu65, Gln72, Tyr84, Tyr89, Pro90, Asp91, Ile92, Asn93, Lys94, Lys97, 및 Lys108로부터 4 옹스트롬 이하의 위치에 위치한다. 일부 실시양태에서, 항-RSP03 항체는 RSP03에 결합된 경우에 RSP03 (예를 들어, 서열 2)의 아미노산 잔기: Thr47, Asn52, Cys54, Leu55, Ser56, Phe63, Leu65, Gln72, Tyr84, Tyr89, Pro90, Asp91, Ile92, Asn93, Lys94, Lys97, 및 Lys108로부터 4 옹스트롬 이하의 위치에 위치한다. 일부 실시양태에서, 항-RSP03 항체는 RSP03에 결합된 경우에 RSP03 (예를 들어, 서열 2)의 1개 이상의 아미노산 Thr47, Asn52, Leu55, Phe63, Gln72, Tyr84, Pro90, Asp91, Ile92, Lys94, 및 Lys97로부터 3.5 옹스트롬 이하의 위치에 위치한다. 일부 실시양태에서, 항-RSP03 항체는 RSP03에 결합된 경우에 RSP03 (예를 들어, 서열 2)의 아미노산 Thr47, Asn52, Leu55, Phe63, Gln72, Tyr84, Pro90, Asp91, Ile92, Lys94, 및 Lys97로부터 3.5 옹스트롬 이하의 위치에 위치한다. 일부 실시양태에서, 항-RSP03 항체는 RSP03에 결합된 경우에 RSP03 (예를 들어, 서열 2)의 1개 이상의 아미노산 Thr47, Leu55, Gln72, Pro90, Asp91, 및 Lys94로부터 3 옹스트롬 이하의 위치에 위치한다. 일부 실시양태에서, 항-RSP03 항체는 RSP03에 결합된 경우에 상기 제공된 1개 이상의 아미노산으로부터 약 임의의 4, 3.75, 3.5, 3.25, 또는 3 옹스트롬의 위치에 위치한다. 일부 실시양태에서, 1개 이상의 아미노산 및/또는 1개 이상의 아미노산 잔기는 약 임의의 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 및/또는 12개의 아미노산 및/또는 아미노산 잔기이다. 일부 실시양태에서, 항-RSP03 항체는 또한 RSP02에 결합한다. 일부 실시양태에서, 에피토프는 결정학 (예를 들어, 실시예에 기재된 결정학 방법)에 의해 결정된다.

[0127] 일부 실시양태에서, 결정학에 의해 결정되는 바와 같은 에피토프는 RSP03의 아미노산 M33-E210을 사용하여 결정된다. 일부 실시양태에서, 결정학에 의해 결정되는 바와 같은 에피토프는 랩사이트 에코(Labcyte Echo) 액체 핸들러를 사용하여, 100 nL 시팅 드롭을 사용한 여러 스파스 매트릭스 결정 스크린을 설정하는 것에 의해 수행된다. 스크린은 18°C에서 저장되었다. 일부 실시양태에서, 결정은 모액으로서 100 mM MIB pH 9 및 25% PEG 1500을 함유하는 드롭에서 수득될 수 있다. 일부 실시양태에서, 결정은 모액으로서 200 mM 포름산나트륨 및 20% (w/v) PEG 3,350을 함유하는 드롭에서 수득될 수 있다. 일부 실시양태에서, 결정은 수거되고, 동결보호 용액 중에 10초 동안 침지되고, 액체 질소 중에서 급속-동결될 수 있다. 일부 실시양태에서, 동결보호 용액은 1 μL 70% 글리세롤을 1.8 μL 저장 용액과 혼합하는 것에 의해 제조될 수 있다. 일부 실시양태에서, 결정은 PEG-기반 조건, 예를 들어 약 20-25% PEG 3,350 중에서 성장될 수 있다. 일부 실시양태에서, 결정은 약 20% PEG 6,000, 약 20-25% PEG 4,000, 및 약 25% PEG 1,500 중에서 성장될 수 있다. 일부 실시양태에서, pH는 약 3.5 - 9, 예를 들어 약 7 내지 약 8의 범위일 수 있다. 일부 실시양태에서, 염 농도는 약 200 mM이다.

[0128] 특정 실시양태에서, RSP02 및/또는 RSP03에 결합하는 항체는 RSP02 및 RSP03에 결합하는 항체 (예를 들어, 항-RSP02/3 항체)이다. 일부 실시양태에서, 항-RSP02/3 항체는 서열 1에 제시된 서열을 갖는 RSP02에 결합하고, 서열 2에 제시된 서열을 갖는 RSP03에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항-RSP02/3 항체는 wnt 신호전달을 억제한다.

[0129] 일부 측면에서, RSP02 및 RSP03 둘 다와 교차 반응할 수 있는 항체가 확인되었다. 이를 항-RSP02/3 항체의 활성의 비체한적 예는 RSP02 및 RSP03에 결합하고/거나, IHC에 의해 RSP02 및 RSP03을 검출하고/거나, RSP02 및 RSP03 및 LGR 폴리펩티드, 예를 들어 LGR4 및/또는 LGR5의 상호작용을 억제하고/거나, RSP02 및 RSP03 및 E3

유비퀴티나제 폴리펩티드, 예를 들어 RNF43 및/또는 ZNRF3의 상호작용을 억제하고/거나, RSP02, RSP03, RSP02 다형성, 및 RSP02 전위 산물에 의해 자극된 wnt 신호전달을 억제하는 능력을 포함할 수 있다.

[0130] 관련 기술분야의 통상의 기술자는 일부 실시양태에서, 임의의 항-RSP02 항체 및/또는 항-RSP03 항체가 RSP02 및 RSP03 둘 다와 반응성이도록 하는 항체 포맷, 특히 이중특이적 포맷으로 조작될 수 있다는 것을 추가로 인식할 것이다. 이를 항-RSP02/3 이중특이적 항체는 RSP02 및 RSP03에 결합하고/거나, IHC에 의해 RSP02 및 RSP03을 검출하고/거나, RSP02 및 RSP03 및 LGR 폴리펩티드, 예를 들어 LGR4 및/또는 LGR5의 상호작용을 억제하고/거나, RSP02 및 RSP03 및 E3 유비퀴티나제 폴리펩티드, 예를 들어 RNF43 및/또는 ZNRF3의 상호작용을 억제하고/거나, RSP02, RSP03, RSP02 다형성, 및 RSP02 전위 산물에 의해 자극된 wnt 신호전달을 억제하는 능력을 포함할 수 있다.

[0131] 임의의 항-RSP02/3 항체의 일부 실시양태에서, 항-RSP02/3 항체는 RSP02 및 RSP03 및 LGR4, LGR5 및/또는 LGR6 중 1종 이상의 상호작용을 억제한다. 일부 실시양태에서, 항체는 이중 아암 항체이다. 일부 실시양태에서, 항-RSP02/3 항체는 각각의 가변 도메인 상에 26E11의 6개의 HVR을 포함하는 제1 및 제2 가변 도메인을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항체는 이중특이적 항체이다. 일부 실시양태에서, 항-RSP02/3 항체는 5D6 또는 5E11의 6개의 HVR을 포함하는 제1 가변 도메인 및 36D2의 6개의 HVR을 포함하는 제2 가변 도메인을 포함한다.

[0132] 임의의 항-RSP02/3 항체의 일부 실시양태에서, 항-RSP02/3 항체는 RSP03 및 LGR4, LGR5 및/또는 LGR6 중 1종 이상의 상호작용을 억제하고, RSP02 및 LGR4, LGR5 및/또는 LGR6 중 1종 이상의 상호작용은 억제하지 않는다 (예를 들어, LGR4, LGR5 및/또는 LGR6 중 1종 이상에 대한 RSP02의 결합을 증진시킴). 일부 실시양태에서, 항체는 이중특이적 항체이다. 일부 실시양태에서, 항-RSP02/3 항체는 5D6 또는 5E11의 6개의 HVR을 포함하는 제1 가변 도메인 및 1A1의 6개의 HVR을 포함하는 제2 가변 도메인을 포함한다.

[0133] 임의의 항-RSP02/3 항체의 일부 실시양태에서, 항-RSP02/3 항체는 RSP02 및 RSP03과 막횡단 E3 유비퀴티나제 (예를 들어, ZNRF3 및/또는 RNF43 중 1개 이상)의 상호작용을 억제한다. 일부 실시양태에서, 항체는 이중 아암 항체이다. 일부 실시양태에서, 항-RSP02/3 항체는 각각의 가변 도메인 상에 26E11의 6개의 HVR을 포함하는 제1 및 제2 가변 도메인을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항체는 이중특이적 항체이다. 일부 실시양태에서, 항-RSP02/3 항체는 5D6 또는 5E11의 6개의 HVR을 포함하는 제1 가변 도메인 및 36D2 또는 1A1의 6개의 HVR을 포함하는 제2 가변 도메인을 포함한다.

[0134] 임의의 항-RSP02/3 항체의 일부 실시양태에서, 항-RSP02/3 항체는 RSP02 및 RSP03과 LGR4, LGR5 및/또는 LGR6 중 1종 이상 및 RSP02의 상호작용을 억제하고, RSP02 및 RSP03과 막횡단 E3 유비퀴티나제 (예를 들어, ZNRF3 및/또는 RNF43 중 1개 이상)의 상호작용을 억제한다. 일부 실시양태에서, 항체는 이중 아암 항체이다. 일부 실시양태에서, 항-RSP02/3 항체는 각각의 가변 도메인 상에 26E11의 6개의 HVR을 포함하는 제1 및 제2 가변 도메인을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항체는 이중특이적 항체이다. 일부 실시양태에서, 항-RSP02/3 항체는 5D6 또는 5E11의 6개의 HVR을 포함하는 제1 가변 도메인 및 36D2의 6개의 HVR을 포함하는 제2 가변 도메인을 포함한다.

[0135] 임의의 항-RSP02/3 항체의 일부 실시양태에서, 항-RSP02/3 항체는 RSP03 및 LGR4, LGR5 및/또는 LGR6 중 1종 이상 및 RSP02의 상호작용을 억제하고, RSP02 및 RSP03과 막횡단 E3 유비퀴티나제 (예를 들어, ZNRF3 및/또는 RNF43 중 1개 이상)의 상호작용을 억제하고, RSP02 및 LGR4, LGR5 및/또는 LGR6 중 1종 이상의 상호작용은 억제하지 않는다 (예를 들어, LGR4, LGR5 및/또는 LGR6 중 1종 이상에 대한 RSP02의 결합을 증진시킴). 일부 실시양태에서, 항체는 이중특이적 항체이다. 일부 실시양태에서, 항-RSP02/3 항체는 5D6 또는 5E11의 6개의 HVR을 포함하는 제1 가변 도메인 및 1A1의 6개의 HVR을 포함하는 제2 가변 도메인을 포함한다.

[0136] 한 측면에서 본원은 항체 4H1, 4D4, 5C2, 5D6, 5E11, 6E9, 21C2, 및/또는 26E11 중 1종 이상과 동일하거나 중첩되는 에피토프에 결합하는 항-RSP03 항체를 제공한다. 추가로, 한 측면에서 본원은 RSP03에의 결합에 대해 항체 4H1, 4D4, 5C2, 5D6, 5E11, 6E9, 21C2, 및/또는 26E11 중 1종 이상과 경쟁하는 항-RSP03 항체를 제공한다. 한 측면에서 본원은 항체 1A1, 11F11, 26E11, 36D2, 및/또는 49G5 중 1종 이상과 동일하거나 중첩되는 에피토프에 결합하는 항-RSP02 항체를 제공한다. 추가로, 한 측면에서 본원은 RSP02에의 결합에 대해 항체 1A1, 11F11, 26E11, 36D2, 및/또는 49G5 중 1종 이상과 경쟁하는 항-RSP02 항체를 제공한다. 한 측면에서 본원은 1A1과 동일하거나 중첩되는 에피토프에 결합하는 항-RSP02 항체를 제공한다. 추가로, 한 측면에서 본원은 RSP02에의 결합에 대해 1A1과 경쟁하는 항-RSP02 항체를 제공한다. 일부 실시양태에서, 항체는 비아코어 (BIACORE), 경쟁적 ELISA, 및/또는 본원에 기재되어 있고 관련 기술분야에 공지되어 있는 임의의 다른 방법에 의하면 또 다른 항체와 결합에 대해 경쟁한다. 에피토프를 결정하는 방법은 관련 기술분야에 공지되어 있고 본

원에 기재되어 있다. 일부 실시양태에서, 에피토프는 선형 에피토프이다. 일부 실시양태에서, 에피토프는 입체형태적 에피토프이다. 일부 실시양태에서, 에피토프는 웹티드 단편에 대한 항체 결합에 의해 결정된다. 일부 실시양태에서, 에피토프는 질량 분광측정법에 의해 결정된다. 일부 실시양태에서, 에피토프는 결정학 (예를 들어, 결정 구조의 분석)에 의해 결정된다.

[0137] 모노클로날 항체 4H1 및 특정의 다른 항체 실시양태

[0138] 한 측면에서, 본 발명은 (a) 서열 8의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 9의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; (c) 서열 10의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3; (d) 서열 5의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (e) 서열 6의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (f) 서열 7의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3으로부터 선택된 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6개의 HVR을 포함하는 항-RSP03 항체를 제공한다.

[0139] 한 측면에서, 본 발명은 (a) 서열 8의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 9의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; 및 (c) 서열 10의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3으로부터 선택된 적어도 1, 적어도 2, 또는 모든 3개의 VH HVR 서열을 포함하는 항체를 제공한다. 한 실시양태에서, 항체는 서열 10의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 항체는 서열 10의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3 및 서열 7의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함한다. 추가 실시양태에서, 항체는 서열 10의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3, 서열 7의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3, 및 서열 9의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2를 포함한다. 추가 실시양태에서, 항체는 (a) 서열 8의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 9의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; 및 (c) 서열 10의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함한다.

[0140] 또 다른 측면에서, 본 발명은 (a) 서열 5의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (b) 서열 6의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (c) 서열 7의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3으로부터 선택된 적어도 1, 적어도 2, 또는 모든 3개의 VL HVR 서열을 포함하는 항체를 제공한다. 한 실시양태에서, 항체는 (a) 서열 5의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (b) 서열 6의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (c) 서열 7의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함한다.

[0141] 또 다른 측면에서, 본 발명의 항체는 (a) (i) 서열 8의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1, (ii) 서열 9의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 및 (iii) 서열 10으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3으로부터 선택된 적어도 1, 적어도 2, 또는 모든 3개의 VH HVR 서열을 포함하는 VH 도메인; 및 (b) (i) 서열 5의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, (ii) 서열 6의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및 (c) 서열 7의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3으로부터 선택된 적어도 1, 적어도 2, 또는 모든 3개의 VL HVR 서열을 포함하는 VL 도메인을 포함한다.

[0142] 또 다른 측면에서, 본 발명은 (a) 서열 8의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 9의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; (c) 서열 10의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3; (d) 서열 5의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (e) 서열 6의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (f) 서열 7로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함하는 항체를 제공한다.

[0143] 또 다른 측면에서, 상기 제공된 임의의 실시양태에서와 같은 VH 및 상기 제공된 임의의 실시양태에서와 같은 VL을 포함하는 항-RSP03 항체가 제공된다. 한 실시양태에서, 항체는 각각 서열 89 및 서열 90의 VH 및 VL 서열을 포함한다 (그러한 서열의 번역후 변형 포함).

[0144] 모노클로날 항체 4D4 및 특정의 다른 항체 실시양태

[0145] 한 측면에서, 본 발명은 (a) 서열 14의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 15의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; (c) 서열 16의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3; (d) 서열 11의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (e) 서열 12의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (f) 서열 13의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3으로부터 선택된 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6개의 HVR을 포함하는 항-RSP03 항체를 제공한다.

[0146] 한 측면에서, 본 발명은 (a) 서열 14의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 15의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; 및 (c) 서열 16의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3으로부터 선택된 적어도 1, 적어도 2, 또는 모든 3개의 VH HVR 서열을 포함하는 항체를 제공한다. 한 실시양태에서, 항체는 서열 16의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 항체는 서열 16의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3 및 서열 13의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함한다. 추가 실시양태에서, 항체는 서열 16의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3, 서열 13의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3, 및 서열 15의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2를 포함한다. 추가 실시양태에서, 항체는 (a) 서열 14의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 15의 아미노

산 서열을 포함하는 HVR-H2; 및 (c) 서열 16의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함한다.

[0147] 또 다른 측면에서, 본 발명은 (a) 서열 11의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (b) 서열 12의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (c) 서열 13의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3으로부터 선택된 적어도 1, 적어도 2, 또는 모든 3개의 VL HVR 서열을 포함하는 항체를 제공한다. 한 실시양태에서, 항체는 (a) 서열 11의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (b) 서열 12의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (c) 서열 13의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함한다.

[0148] 또 다른 측면에서, 본 발명의 항체는 (a) (i) 서열 14의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1, (ii) 서열 15의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 및 (iii) 서열 16으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3으로부터 선택된 적어도 1, 적어도 2, 또는 모든 3개의 VH HVR 서열을 포함하는 VH 도메인; 및 (b) (i) 서열 11의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, (ii) 서열 12의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및 (c) 서열 13의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3으로부터 선택된 적어도 1, 적어도 2, 또는 모든 3개의 VL HVR 서열을 포함하는 VL 도메인을 포함한다.

[0149] 또 다른 측면에서, 본 발명은 (a) 서열 14의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 15의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; (c) 서열 16의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3; (d) 서열 11의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (e) 서열 12의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (f) 서열 13으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함하는 항체를 제공한다.

[0150] 또 다른 측면에서, 상기 제공된 임의의 실시양태에서와 같은 VH 및 상기 제공된 임의의 실시양태에서와 같은 VL을 포함하는 항-RSP03 항체가 제공된다. 한 실시양태에서, 항체는 각각 서열 91 및 서열 92의 VH 및 VL 서열을 포함한다 (그러한 서열의 번역후 변형 포함).

[0151] 모노클로날 항체 5C2 및 특정의 다른 항체 실시양태

[0152] 한 측면에서, 본 발명은 (a) 서열 20의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 21의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; (c) 서열 22의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3; (d) 서열 17의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (e) 서열 18의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (f) 서열 19의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3으로부터 선택된 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6개의 HVR을 포함하는 항-RSP03 항체를 제공한다.

[0153] 한 측면에서, 본 발명은 (a) 서열 20의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 21의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; 및 (c) 서열 22의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3으로부터 선택된 적어도 1, 적어도 2, 또는 모든 3개의 VH HVR 서열을 포함하는 항체를 제공한다. 한 실시양태에서, 항체는 서열 22의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 항체는 서열 22의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3 및 서열 19의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함한다. 추가 실시양태에서, 항체는 서열 22의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3, 서열 19의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3, 및 서열 21의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2를 포함한다. 추가 실시양태에서, 항체는 (a) 서열 20의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 21의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; 및 (c) 서열 22의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함한다.

[0154] 또 다른 측면에서, 본 발명은 (a) 서열 17의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (b) 서열 18의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (c) 서열 19의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3으로부터 선택된 적어도 1, 적어도 2, 또는 모든 3개의 VL HVR 서열을 포함하는 항체를 제공한다. 한 실시양태에서, 항체는 (a) 서열 17의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (b) 서열 18의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (c) 서열 19의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함한다.

[0155] 또 다른 측면에서, 본 발명의 항체는 (a) (i) 서열 20의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1, (ii) 서열 21의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 및 (iii) 서열 22로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3으로부터 선택된 적어도 1, 적어도 2, 또는 모든 3개의 VH HVR 서열을 포함하는 VH 도메인; 및 (b) (i) 서열 17의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, (ii) 서열 18의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및 (c) 서열 19의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3으로부터 선택된 적어도 1, 적어도 2, 또는 모든 3개의 VL HVR 서열을 포함하는 VL 도메인을 포함한다.

[0156] 또 다른 측면에서, 본 발명은 (a) 서열 20의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 21의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; (c) 서열 22의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3; (d) 서열 17의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (e) 서열 18의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (f) 서열 19로부터 선택된 아미노산 서열을 포함

하는 HVR-L3을 포함하는 항체를 제공한다.

[0157] 또 다른 측면에서, 상기 제공된 임의의 실시양태에서와 같은 VH 및 상기 제공된 임의의 실시양태에서와 같은 VL을 포함하는 항-RSP03 항체가 제공된다. 한 실시양태에서, 항체는 각각 서열 93 및 서열 94의 VH 및 VL 서열을 포함한다 (그러한 서열의 번역후 변형 포함).

[0158] 모노클로날 항체 5D6 및 특정의 다른 항체 실시양태

[0159] 한 측면에서, 본 발명은 (a) 서열 26의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 27의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; (c) 서열 28의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3; (d) 서열 23의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (e) 서열 24의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (f) 서열 25의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3으로부터 선택된 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6개의 HVR을 포함하는 항-RSP03 항체를 제공한다.

[0160] 한 측면에서, 본 발명은 (a) 서열 26의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 27의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; 및 (c) 서열 28의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3으로부터 선택된 적어도 1, 적어도 2, 또는 모든 3개의 VH HVR 서열을 포함하는 항체를 제공한다. 한 실시양태에서, 항체는 서열 28의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 항체는 서열 28의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3 및 서열 25의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함한다. 추가 실시양태에서, 항체는 서열 28의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3, 서열 25의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3, 및 서열 27의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2를 포함한다. 추가 실시양태에서, 항체는 (a) 서열 26의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 27의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; 및 (c) 서열 28의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함한다.

[0161] 또 다른 측면에서, 본 발명은 (a) 서열 23의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (b) 서열 24의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (c) 서열 25의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3으로부터 선택된 적어도 1, 적어도 2, 또는 모든 3개의 VL HVR 서열을 포함하는 항체를 제공한다. 한 실시양태에서, 항체는 (a) 서열 23의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (b) 서열 24의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (c) 서열 25의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함한다.

[0162] 또 다른 측면에서, 본 발명의 항체는 (a) (i) 서열 26의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1, (ii) 서열 27의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 및 (iii) 서열 28로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3으로부터 선택된 적어도 1, 적어도 2, 또는 모든 3개의 VH HVR 서열을 포함하는 VH 도메인; 및 (b) (i) 서열 23의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, (ii) 서열 24의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및 (c) 서열 25의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3으로부터 선택된 적어도 1, 적어도 2, 또는 모든 3개의 VL HVR 서열을 포함하는 VL 도메인을 포함한다.

[0163] 또 다른 측면에서, 본 발명은 (a) 서열 26의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 27의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; (c) 서열 28의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3; (d) 서열 23의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (e) 서열 24의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (f) 서열 25로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함하는 항체를 제공한다.

[0164] 한 측면에서, 본 발명은 (a) 서열 26의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 27의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; (c) 서열 188 또는 서열 189의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3; (d) 서열 23의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (e) 서열 24의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (f) 서열 25의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3으로부터 선택된 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6개의 HVR을 포함하는 항-RSP03 항체를 제공한다. 일부 실시양태에서, HVR-H3은 서열 188의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, HVR-H3은 서열 189의 아미노산 서열을 포함한다.

[0165] 한 측면에서, 본 발명은 (a) 서열 26의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 27의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; 및 (c) 서열 188 또는 서열 189의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3으로부터 선택된 적어도 1, 적어도 2, 또는 모든 3개의 VH HVR 서열을 포함하는 항체를 제공한다. 한 실시양태에서, 항체는 서열 188 또는 서열 189의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 항체는 서열 188 또는 서열 189의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3 및 서열 25의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함한다. 추가 실시양태에서, 항체는 서열 188 또는 서열 189의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3, 서열 25의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3, 및 서열 27의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2를 포함한다. 추가 실시양태에서, 항체는 (a) 서열 26의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 27의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; 및 (c) 서열 188 또는 서열 189의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함한다. 일부 실시양태에서, HVR-H3은 서열 188의

아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, HVR-H3은 서열 189의 아미노산 서열을 포함한다.

[0166] 또 다른 측면에서, 본 발명은 (a) 서열 23의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (b) 서열 24의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (c) 서열 25의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3으로부터 선택된 적어도 1, 적어도 2, 또는 모든 3개의 VL HVR 서열을 포함하는 항체를 제공한다. 한 실시양태에서, 항체는 (a) 서열 23의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (b) 서열 24의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (c) 서열 25의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함한다.

[0167] 또 다른 측면에서, 본 발명의 항체는 (a) (i) 서열 26의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1, (ii) 서열 27의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 및 (iii) 서열 188 또는 서열 189로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3으로부터 선택된 적어도 1, 적어도 2, 또는 모든 3개의 VH HVR 서열을 포함하는 VH 도메인; 및 (b) (i) 서열 23의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, (ii) 서열 24의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및 (c) 서열 25의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3으로부터 선택된 적어도 1, 적어도 2, 또는 모든 3개의 VL HVR 서열을 포함하는 VL 도메인을 포함한다. 일부 실시양태에서, HVR-H3은 서열 188의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, HVR-H3은 서열 189의 아미노산 서열을 포함한다.

[0168] 또 다른 측면에서, 본 발명은 (a) 서열 26의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 27의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; (c) 서열 188 또는 서열 189의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3; (d) 서열 23의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (e) 서열 24의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (f) 서열 25로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함하는 항체를 제공한다. 일부 실시양태에서, HVR-H3은 서열 188의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, HVR-H3은 서열 189의 아미노산 서열을 포함한다.

[0169] 또 다른 측면에서, 상기 제공된 임의의 실시양태에서와 같은 VH 및 상기 제공된 임의의 실시양태에서와 같은 VL을 포함하는 항-RSP03 항체가 제공된다. 한 실시양태에서, 항체는 각각 서열 95 및 서열 96의 VH 및 VL 서열을 포함한다 (그러한 서열의 번역후 변형 포함).

[0170] 임의의 상기 실시양태에서, 항-RSP03 항체는 인간화된다. 한 실시양태에서, 항-RSP03 항체는 임의의 상기 실시양태에서와 같은 HVR을 포함하고, 인간 수용자 프레임워크, 예를 들어 인간 이뮤노글로불린 프레임워크 또는 인간 컨센서스 프레임워크를 추가로 포함한다. 특정 실시양태에서, 인간 수용자 프레임워크는 인간 VL 카파 I 컨센서스 (VL_{KI}) 프레임워크 및/또는 VH 프레임워크 VH_1 이다. 특정 실시양태에서, 인간 수용자 프레임워크는 하기 돌연변이 중 어느 하나를 포함하는 인간 VL 카파 I 컨센서스 (VL_{KI}) 프레임워크 및/또는 VH 프레임워크 VH_1 이다.

[0171] 또 다른 측면에서, 항-RSP03 항체는 서열 191, 193, 195, 197, 199, 201, 203, 205, 207, 209, 211, 213, 또는 215의 아미노산 서열과 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 도메인 (VH) 서열을 포함한다. 특정 실시양태에서, 서열 191, 193, 195, 197, 199, 201, 203, 205, 207, 209, 211, 213, 또는 215의 아미노산 서열과 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일성을 갖는 VH 서열은 참조 서열에 비해 치환 (예를 들어, 보존적 치환), 삽입 또는 결실을 함유하지만, 그러한 서열을 포함하는 항-RSP03 항체는 RSP03에 결합하는 능력을 보유한다. 특정 실시양태에서, 총 1 내지 10개의 아미노산이 서열 191, 193, 195, 197, 199, 201, 203, 205, 207, 209, 211, 213, 또는 215에서 치환, 삽입 및/또는 결실된다. 특정 실시양태에서, 총 1 내지 5개의 아미노산이 서열 191, 193, 195, 197, 199, 201, 203, 205, 207, 209, 211, 213, 또는 215에서 치환, 삽입 및/또는 결실된다. 특정 실시양태에서, 치환, 삽입, 또는 결실은 HVR 외부 영역에서 (즉, FR에서) 일어난다. 임의로, 항-RSP03 항체는 서열 191, 193, 195, 197, 199, 201, 203, 205, 207, 209, 211, 213, 또는 215의 VH 서열을 포함한다 (그러한 서열의 번역후 변형 포함). 특정한 실시양태에서, VH는 (a) 서열 26의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1, (b) 서열 27의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 및 (c) 서열 28, 서열 188, 또는 서열 189의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3으로부터 선택된 1, 2 또는 3개의 HVR을 포함한다.

[0172] 또 다른 측면에서, 서열 190, 192, 194, 196, 198, 200, 202, 204, 206, 208, 210, 212, 또는 214의 아미노산 서열과 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 도메인 (VL)을 포함하는 항-RSP03 항체가 제공된다. 특정 실시양태에서, 서열 190, 192, 194, 196, 198, 200, 202, 204, 206, 208, 210, 212, 또는 214의 아미노산 서열과 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일성을 갖는 VL 서열은 참조 서열에 비해 치환 (예를 들어, 보존적 치환), 삽입 또는 결실을 함유하지만, 그러한 서열을 포함하는 항-RSP03 항체는 RSP03에 결합하는 능력을 보유한다. 특정 실시양태에서, 총 1 내지 10개의 아미노산이 서열 190, 192, 194, 196, 198, 200, 202, 204, 206, 208, 210, 212, 또는 214에

서 치환, 삽입 및/또는 결실된다. 특정 실시양태에서, 총 1 내지 5개의 아미노산이 서열 190, 192, 194, 196, 198, 200, 202, 204, 206, 208, 210, 212, 또는 214에서 치환, 삽입 및/또는 결실된다. 특정 실시양태에서, 치환, 삽입, 또는 결실은 HVR 외부 영역에서 (즉, FR에서) 일어난다. 임의로, 항-RSP03 항체는 서열 190, 192, 194, 196, 198, 200, 202, 204, 206, 208, 210, 212, 또는 214의 VL 서열을 포함한다 (그러한 서열의 번역후 변형 포함). 특정한 실시양태에서, VL은 (a) 서열 23의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (b) 서열 24의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (c) 서열 25의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3으로부터 선택된 1, 2 또는 3개의 HVR을 포함한다.

[0173] 또 다른 측면에서, 상기 제공된 임의의 실시양태에서와 같은 VH 및 상기 제공된 임의의 실시양태에서와 같은 VL을 포함하는 항-RSP03 항체가 제공된다.

[0174] 한 실시양태에서, 항체는 각각 서열 190 및 서열 191의 VH 및 VL 서열을 포함한다 (그러한 서열의 번역후 변형 포함). 한 실시양태에서, 항체는 각각 서열 192 및 서열 193의 VH 및 VL 서열을 포함한다 (그러한 서열의 번역후 변형 포함). 한 실시양태에서, 항체는 각각 서열 194 및 서열 195의 VH 및 VL 서열을 포함한다 (그러한 서열의 번역후 변형 포함). 한 실시양태에서, 항체는 각각 서열 196 및 서열 197의 VH 및 VL 서열을 포함한다 (그러한 서열의 번역후 변형 포함). 한 실시양태에서, 항체는 각각 서열 198 및 서열 199의 VH 및 VL 서열을 포함한다 (그러한 서열의 번역후 변형 포함). 한 실시양태에서, 항체는 각각 서열 200 및 서열 201의 VH 및 VL 서열을 포함한다 (그러한 서열의 번역후 변형 포함). 한 실시양태에서, 항체는 각각 서열 202 및 서열 203의 VH 및 VL 서열을 포함한다 (그러한 서열의 번역후 변형 포함). 한 실시양태에서, 항체는 각각 서열 204 및 서열 205의 VH 및 VL 서열을 포함한다 (그러한 서열의 번역후 변형 포함). 한 실시양태에서, 항체는 각각 서열 206 및 서열 207의 VH 및 VL 서열을 포함한다 (그러한 서열의 번역후 변형 포함). 한 실시양태에서, 항체는 각각 서열 208 및 서열 209의 VH 및 VL 서열을 포함한다 (그러한 서열의 번역후 변형 포함). 한 실시양태에서, 항체는 각각 서열 210 및 서열 211의 VH 및 VL 서열을 포함한다 (그러한 서열의 번역후 변형 포함). 한 실시양태에서, 항체는 각각 서열 212 및 서열 213의 VH 및 VL 서열을 포함한다 (그러한 서열의 번역후 변형 포함). 한 실시양태에서, 항체는 각각 서열 214 및 서열 215의 VH 및 VL 서열을 포함한다 (그러한 서열의 번역후 변형 포함).

[0175] 추가 측면에서, 본원은 본원에 제공된 항-RSP03 항체와 동일한 에피토프에 결합하는 항체를 제공한다. 예를 들어, 특정 실시양태에서, 각각 서열 191, 193, 195, 197, 199, 201, 203, 205, 207, 209, 211, 213, 또는 215의 VH 서열 및 서열 190, 192, 194, 196, 198, 200, 202, 204, 206, 208, 210, 212, 또는 214의 VL 서열을 포함하는 항-RSP03 항체와 동일한 에피토프에 결합하는 항체가 제공된다. 일부 실시양태에서, 에피토프는 결정학에 의해 결정된다.

[0176] 본 발명의 추가 측면에서, 임의의 상기 실시양태에 따른 항-RSP03 항체는 인간 항체를 비롯하여 모노클로날 항체이다. 한 실시양태에서, 항-RSP03 항체는 항체 단편, 예를 들어 Fv, Fab, Fab', scFv, 디아바디, 또는 F(ab')₂ 단편이다. 또 다른 실시양태에서, 항체는 실질적으로 전장 항체, 예를 들어 IgG1 항체, IgG2a 항체 또는 본원에 정의된 바와 같은 다른 항체 부류 또는 이소형이다.

[0177] 모노클로날 항체 5E11 및 특정의 다른 항체 실시양태

[0178] 한 측면에서, 본 발명은 (a) 서열 32의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 33의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; (c) 서열 34의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3; (d) 서열 29의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (e) 서열 30의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (f) 서열 31의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3으로부터 선택된 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6개의 HVR을 포함하는 항-RSP03 항체를 제공한다.

[0179] 한 측면에서, 본 발명은 (a) 서열 32의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 33의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; 및 (c) 서열 34의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3으로부터 선택된 적어도 1, 적어도 2, 또는 모든 3개의 VH HVR 서열을 포함하는 항체를 제공한다. 한 실시양태에서, 항체는 서열 34의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 항체는 서열 34의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3 및 서열 31의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함한다. 추가 실시양태에서, 항체는 서열 34의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3, 서열 31의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3, 및 서열 33의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2를 포함한다. 추가 실시양태에서, 항체는 (a) 서열 32의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 33의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; 및 (c) 서열 34의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함한다.

[0180] 또 다른 측면에서, 본 발명은 (a) 서열 29의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (b) 서열 30의 아미노산 서열을

포함하는 HVR-L2; 및 (c) 서열 31의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3으로부터 선택된 적어도 1, 적어도 2, 또는 모든 3개의 VL HVR 서열을 포함하는 항체를 제공한다. 한 실시양태에서, 항체는 (a) 서열 29의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (b) 서열 30의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (c) 서열 31의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함한다.

[0181] 또 다른 측면에서, 본 발명의 항체는 (a) (i) 서열 32의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1, (ii) 서열 33의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 및 (iii) 서열 34로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3으로부터 선택된 적어도 1, 적어도 2, 또는 모든 3개의 VH HVR 서열을 포함하는 VH 도메인; 및 (b) (i) 서열 29의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, (ii) 서열 30의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및 (c) 서열 31의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3으로부터 선택된 적어도 1, 적어도 2, 또는 모든 3개의 VL HVR 서열을 포함하는 VL 도메인을 포함한다.

[0182] 또 다른 측면에서, 본 발명은 (a) 서열 32의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 33의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; (c) 서열 34의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3; (d) 서열 29의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (e) 서열 30의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (f) 서열 31로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함하는 항체를 제공한다.

[0183] 또 다른 측면에서, 상기 제공된 임의의 실시양태에서와 같은 VH 및 상기 제공된 임의의 실시양태에서와 같은 VL을 포함하는 항-RSP03 항체가 제공된다. 한 실시양태에서, 항체는 각각 서열 97 및 서열 98의 VH 및 VL 서열을 포함한다 (그러한 서열의 번역후 변형 포함).

[0184] 모노클로날 항체 6E9 및 특정의 다른 항체 실시양태

[0185] 한 측면에서, 본 발명은 (a) 서열 38의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 39의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; (c) 서열 40의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3; (d) 서열 35의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (e) 서열 36의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (f) 서열 37의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3으로부터 선택된 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6개의 HVR을 포함하는 항-RSP03 항체를 제공한다.

[0186] 한 측면에서, 본 발명은 (a) 서열 38의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 39의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; 및 (c) 서열 40의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3으로부터 선택된 적어도 1, 적어도 2, 또는 모든 3개의 VH HVR 서열을 포함하는 항체를 제공한다. 한 실시양태에서, 항체는 서열 40의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 항체는 서열 40의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3 및 서열 37의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함한다. 추가 실시양태에서, 항체는 서열 40의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3, 서열 37의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3, 및 서열 39의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2를 포함한다. 추가 실시양태에서, 항체는 (a) 서열 38의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 39의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; 및 (c) 서열 40의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함한다.

[0187] 또 다른 측면에서, 본 발명은 (a) 서열 35의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (b) 서열 36의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (c) 서열 37의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3으로부터 선택된 적어도 1, 적어도 2, 또는 모든 3개의 VL HVR 서열을 포함하는 항체를 제공한다. 한 실시양태에서, 항체는 (a) 서열 35의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (b) 서열 36의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (c) 서열 37의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함한다.

[0188] 또 다른 측면에서, 본 발명의 항체는 (a) (i) 서열 38의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1, (ii) 서열 39의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 및 (iii) 서열 40으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3으로부터 선택된 적어도 1, 적어도 2, 또는 모든 3개의 VH HVR 서열을 포함하는 VH 도메인; 및 (b) (i) 서열 35의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, (ii) 서열 36의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및 (c) 서열 37의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3으로부터 선택된 적어도 1, 적어도 2, 또는 모든 3개의 VL HVR 서열을 포함하는 VL 도메인을 포함한다.

[0189] 또 다른 측면에서, 본 발명은 (a) 서열 38의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 39의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; (c) 서열 40의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3; (d) 서열 35의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (e) 서열 36의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (f) 서열 37로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함하는 항체를 제공한다.

[0190] 또 다른 측면에서, 상기 제공된 임의의 실시양태에서와 같은 VH 및 상기 제공된 임의의 실시양태에서와 같은 VL을 포함하는 항-RSP03 항체가 제공된다. 한 실시양태에서, 항체는 각각 서열 99 및 서열 100의 VH 및 VL 서열

을 포함한다 (그러한 서열의 번역후 변형 포함).

[0191] 모노클로날 항체 21C2 및 특정의 다른 항체 실시양태

한 측면에서, 본 발명은 (a) 서열 44의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 45의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; (c) 서열 46의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3; (d) 서열 41의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (e) 서열 42의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (f) 서열 43의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3으로부터 선택된 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6개의 HVR을 포함하는 항-RSP03 항체를 제공한다.

[0193] 한 측면에서, 본 발명은 (a) 서열 44의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 45의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; 및 (c) 서열 46의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3으로부터 선택된 적어도 1, 적어도 2, 또는 모든 3개의 VH HVR 서열을 포함하는 항체를 제공한다. 한 실시양태에서, 항체는 서열 46의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 항체는 서열 46의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3 및 서열 43의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함한다. 추가 실시양태에서, 항체는 서열 46의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3, 서열 43의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3, 및 서열 45의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2를 포함한다. 추가 실시양태에서, 항체는 (a) 서열 44의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 45의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; 및 (c) 서열 46의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함한다.

[0194] 또 다른 측면에서, 본 발명은 (a) 서열 41의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (b) 서열 42의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (c) 서열 43의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3으로부터 선택된 적어도 1, 적어도 2, 또는 모든 3개의 VL HVR 서열을 포함하는 항체를 제공한다. 한 실시양태에서, 항체는 (a) 서열 41의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (b) 서열 42의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (c) 서열 43의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함한다.

[0195] 또 다른 측면에서, 본 발명의 항체는 (a) (i) 서열 44의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1, (ii) 서열 45의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 및 (iii) 서열 46으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3으로부터 선택된 적어도 1, 적어도 2, 또는 모든 3개의 VH HVR 서열을 포함하는 VH 도메인; 및 (b) (i) 서열 41의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, (ii) 서열 42의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및 (c) 서열 43의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3으로부터 선택된 적어도 1, 적어도 2, 또는 모든 3개의 VL HVR 서열을 포함하는 VL 도메인을 포함한다.

[0196] 또 다른 측면에서, 본 발명은 (a) 서열 44의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 45의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; (c) 서열 46의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3; (d) 서열 41의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (e) 서열 42의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (f) 서열 43으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함하는 항체를 제공한다.

[0197] 또 다른 측면에서, 상기 제공된 임의의 실시양태에서와 같은 VH 및 상기 제공된 임의의 실시양태에서와 같은 VL을 포함하는 항-RSP03 항체가 제공된다. 한 실시양태에서, 항체는 각각 서열 101 및 서열 102의 VH 및 VL 서열을 포함한다 (그러한 서열의 번역후 변형 포함).

[0198] 모노클로날 항체 26E11 및 특정의 다른 항체 실시양태

[0199] 한 측면에서, 본 발명은 (a) 서열 50의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 51의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; (c) 서열 52의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3; (d) 서열 47의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (e) 서열 48의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (f) 서열 49의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3으로부터 선택된 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6개의 HVR을 포함하는 항-RSP02/3 항체를 제공한다.

[0200] 한 측면에서, 본 발명은 (a) 서열 50의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 51의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; 및 (c) 서열 52의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3으로부터 선택된 적어도 1, 적어도 2, 또는 모든 3개의 VH HVR 서열을 포함하는 항체를 제공한다. 한 실시양태에서, 항체는 서열 52의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 항체는 서열 52의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3 및 서열 49의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함한다. 추가 실시양태에서, 항체는 서열 52의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3, 서열 49의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3, 및 서열 51의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2를 포함한다. 추가 실시양태에서, 항체는 (a) 서열 50의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 51의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; 및 (c) 서열 52의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함한다.

[0201] 또 다른 측면에서, 본 발명은 (a) 서열 47의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (b) 서열 48의 아미노산 서열을

포함하는 HVR-L2; 및 (c) 서열 49의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3으로부터 선택된 적어도 1, 적어도 2, 또는 모든 3개의 VL HVR 서열을 포함하는 항체를 제공한다. 한 실시양태에서, 항체는 (a) 서열 47의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (b) 서열 48의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (c) 서열 49의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함한다.

[0202] 또 다른 측면에서, 본 발명의 항체는 (a) (i) 서열 50의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1, (ii) 서열 51의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 및 (iii) 서열 52로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3으로부터 선택된 적어도 1, 적어도 2, 또는 모든 3개의 VH HVR 서열을 포함하는 VH 도메인; 및 (b) (i) 서열 47의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, (ii) 서열 48의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및 (c) 서열 49의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3으로부터 선택된 적어도 1, 적어도 2, 또는 모든 3개의 VL HVR 서열을 포함하는 VL 도메인을 포함한다.

[0203] 또 다른 측면에서, 본 발명은 (a) 서열 50의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 51의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; (c) 서열 52의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3; (d) 서열 47의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (e) 서열 48의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (f) 서열 49로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함하는 항체를 제공한다.

[0204] 또 다른 측면에서, 상기 제공된 임의의 실시양태에서와 같은 VH 및 상기 제공된 임의의 실시양태에서와 같은 VL을 포함하는 항-RSP02/3 항체가 제공된다. 한 실시양태에서, 항체는 각각 서열 103 및 서열 104의 VH 및 VL 서열을 포함한다 (그러한 서열의 번역후 변형 포함).

항-RSP03 모노클로날 항체 및 특정의 다른 항체 실시양태

[0205] 한 측면에서, 본 발명은 (a) 서열 80의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 81의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; (c) 서열 82의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3; (d) 서열 77의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (e) 서열 78의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (f) 서열 79의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3으로부터 선택된 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6개의 HVR을 포함하는 항-RSP03 항체를 제공한다.

[0206] 한 측면에서, 본 발명은 (a) 서열 80의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 81의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; 및 (c) 서열 82의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3으로부터 선택된 적어도 1, 적어도 2, 또는 모든 3개의 VH HVR 서열을 포함하는 항체를 제공한다. 한 실시양태에서, 항체는 서열 82의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 항체는 서열 82의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3 및 서열 79의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함한다. 추가 실시양태에서, 항체는 서열 82의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3, 서열 79의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3, 및 서열 81의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2를 포함한다. 추가 실시양태에서, 항체는 (a) 서열 80의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 81의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; 및 (c) 서열 82의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함한다.

[0207] 또 다른 측면에서, 본 발명은 (a) 서열 77의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (b) 서열 78의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (c) 서열 79의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3으로부터 선택된 적어도 1, 적어도 2, 또는 모든 3개의 VL HVR 서열을 포함하는 항체를 제공한다. 한 실시양태에서, 항체는 (a) 서열 77의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (b) 서열 78의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (c) 서열 79의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함한다.

[0208] 또 다른 측면에서, 본 발명의 항체는 (a) (i) 서열 80의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1, (ii) 서열 81의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 및 (iii) 서열 82로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3으로부터 선택된 적어도 1, 적어도 2, 또는 모든 3개의 VH HVR 서열을 포함하는 VH 도메인; 및 (b) (i) 서열 77의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, (ii) 서열 78의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및 (c) 서열 79의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3으로부터 선택된 적어도 1, 적어도 2, 또는 모든 3개의 VL HVR 서열을 포함하는 VL 도메인을 포함한다.

[0209] 또 다른 측면에서, 본 발명은 (a) 서열 80의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 81의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; (c) 서열 82의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3; (d) 서열 77의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (e) 서열 78의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (f) 서열 79로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함하는 항체를 제공한다.

[0210] 한 측면에서, 본 발명은 (a) 서열 86의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 87의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; (c) 서열 88의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3; (d) 서열 83의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-

L1; (e) 서열 84의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (f) 서열 85의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3으로부터 선택된 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6개의 HVR을 포함하는 항-RSP03 항체를 제공한다.

[0212] 한 측면에서, 본 발명은 (a) 서열 86의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 87의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; 및 (c) 서열 88의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3으로부터 선택된 적어도 1, 적어도 2, 또는 모든 3개의 VH HVR 서열을 포함하는 항체를 제공한다. 한 실시양태에서, 항체는 서열 88의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 항체는 서열 88의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3 및 서열 85의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함한다. 추가 실시양태에서, 항체는 서열 88의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3, 서열 85의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3, 및 서열 87의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2를 포함한다. 추가 실시양태에서, 항체는 (a) 서열 86의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 87의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; 및 (c) 서열 88의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함한다.

[0213] 또 다른 측면에서, 본 발명은 (a) 서열 83의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (b) 서열 84의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (c) 서열 85의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3으로부터 선택된 적어도 1, 적어도 2, 또는 모든 3개의 VL HVR 서열을 포함하는 항체를 제공한다. 한 실시양태에서, 항체는 (a) 서열 83의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (b) 서열 84의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (c) 서열 85의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함한다.

[0214] 또 다른 측면에서, 본 발명의 항체는 (a) (i) 서열 86의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1, (ii) 서열 87의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 및 (iii) 서열 88로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3으로부터 선택된 적어도 1, 적어도 2, 또는 모든 3개의 VH HVR 서열을 포함하는 VH 도메인; 및 (b) (i) 서열 83의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, (ii) 서열 84의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및 (c) 서열 85의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3으로부터 선택된 적어도 1, 적어도 2, 또는 모든 3개의 VL HVR 서열을 포함하는 VL 도메인을 포함한다.

[0215] 또 다른 측면에서, 본 발명은 (a) 서열 86의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 87의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; (c) 서열 88의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3; (d) 서열 83의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (e) 서열 84의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (f) 서열 85로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함하는 항체를 제공한다.

[0216] 모노클로날 항체 1A1 및 특정의 다른 항체 실시양태

[0217] 한 측면에서, 본 발명은 (a) 서열 56의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 57의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; (c) 서열 58의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3; (d) 서열 53의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (e) 서열 54의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (f) 서열 55의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3으로부터 선택된 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6개의 HVR을 포함하는 항-RSP02 항체를 제공한다.

[0218] 한 측면에서, 본 발명은 (a) 서열 56의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 57의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; 및 (c) 서열 58의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3으로부터 선택된 적어도 1, 적어도 2, 또는 모든 3개의 VH HVR 서열을 포함하는 항체를 제공한다. 한 실시양태에서, 항체는 서열 58의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 항체는 서열 58의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3 및 서열 55의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함한다. 추가 실시양태에서, 항체는 서열 58의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3, 서열 55의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3, 및 서열 57의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2를 포함한다. 추가 실시양태에서, 항체는 (a) 서열 56의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 57의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; 및 (c) 서열 58의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함한다.

[0219] 또 다른 측면에서, 본 발명은 (a) 서열 53의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (b) 서열 54의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (c) 서열 55의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3으로부터 선택된 적어도 1, 적어도 2, 또는 모든 3개의 VL HVR 서열을 포함하는 항체를 제공한다. 한 실시양태에서, 항체는 (a) 서열 53의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (b) 서열 54의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (c) 서열 55의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함한다.

[0220] 또 다른 측면에서, 본 발명의 항체는 (a) (i) 서열 56의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1, (ii) 서열 57의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 및 (iii) 서열 58로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3으로부터 선택된 적어도 1, 적어도 2, 또는 모든 3개의 VH HVR 서열을 포함하는 VH 도메인; 및 (b) (i) 서열 53의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, (ii) 서열 54의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및 (c) 서열 55의 아미노산 서열을

포함하는 HVR-L3으로부터 선택된 적어도 1, 적어도 2, 또는 모든 3개의 VL HVR 서열을 포함하는 VL 도메인을 포함한다.

[0221] 또 다른 측면에서, 본 발명은 (a) 서열 56의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 57의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; (c) 서열 58의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3; (d) 서열 53의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (e) 서열 54의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (f) 서열 55로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함하는 항체를 제공한다.

[0222] 또 다른 측면에서, 상기 제공된 임의의 실시양태에서와 같은 VH 및 상기 제공된 임의의 실시양태에서와 같은 VL을 포함하는 항-RSP02 항체가 제공된다. 한 실시양태에서, 항체는 각각 서열 105 및 서열 106의 VH 및 VL 서열을 포함한다 (그러한 서열의 번역후 변형 포함).

[0223] 모노클로날 항체 11F11 및 특정의 다른 항체 실시양태

[0224] 한 측면에서, 본 발명은 (a) 서열 62의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 63의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; (c) 서열 64의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3; (d) 서열 59의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (e) 서열 60의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (f) 서열 61의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3으로부터 선택된 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6개의 HVR을 포함하는 항-RSP02 항체를 제공한다.

[0225] 한 측면에서, 본 발명은 (a) 서열 62의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 63의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; 및 (c) 서열 64의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3으로부터 선택된 적어도 1, 적어도 2, 또는 모든 3개의 VH HVR 서열을 포함하는 항체를 제공한다. 한 실시양태에서, 항체는 서열 64의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 항체는 서열 64의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3 및 서열 61의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함한다. 추가 실시양태에서, 항체는 서열 64의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3, 서열 61의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3, 및 서열 63의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2를 포함한다. 추가 실시양태에서, 항체는 (a) 서열 62의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 63의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; 및 (c) 서열 64의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함한다.

[0226] 또 다른 측면에서, 본 발명은 (a) 서열 59의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (b) 서열 60의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (c) 서열 61의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3으로부터 선택된 적어도 1, 적어도 2, 또는 모든 3개의 VL HVR 서열을 포함하는 항체를 제공한다. 한 실시양태에서, 항체는 (a) 서열 59의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (b) 서열 60의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (c) 서열 61의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함한다.

[0227] 또 다른 측면에서, 본 발명의 항체는 (a) (i) 서열 62의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1, (ii) 서열 63의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 및 (iii) 서열 64로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3으로부터 선택된 적어도 1, 적어도 2, 또는 모든 3개의 VH HVR 서열을 포함하는 VH 도메인; 및 (b) (i) 서열 59의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, (ii) 서열 60의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및 (c) 서열 61의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3으로부터 선택된 적어도 1, 적어도 2, 또는 모든 3개의 VL HVR 서열을 포함하는 VL 도메인을 포함한다.

[0228] 또 다른 측면에서, 본 발명은 (a) 서열 62의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 63의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; (c) 서열 64의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3; (d) 서열 59의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (e) 서열 60의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (f) 서열 61로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함하는 항체를 제공한다.

[0229] 또 다른 측면에서, 상기 제공된 임의의 실시양태에서와 같은 VH 및 상기 제공된 임의의 실시양태에서와 같은 VL을 포함하는 항-RSP02 항체가 제공된다. 한 실시양태에서, 항체는 각각 서열 107 및 서열 108의 VH 및 VL 서열을 포함한다 (그러한 서열의 번역후 변형 포함).

[0230] 모노클로날 항체 36D2 및 특정의 다른 항체 실시양태

[0231] 한 측면에서, 본 발명은 (a) 서열 68의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 69의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; (c) 서열 70의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3; (d) 서열 65의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (e) 서열 66의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (f) 서열 67의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3으로부터 선택된 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6개의 HVR을 포함하는 항-RSP02 항체를 제공한다.

[0232] 한 측면에서, 본 발명은 (a) 서열 68의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 69의 아미노산 서열을 포함

하는 HVR-H2; 및 (c) 서열 70의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3으로부터 선택된 적어도 1, 적어도 2, 또는 모든 3개의 VH HVR 서열을 포함하는 항체를 제공한다. 한 실시양태에서, 항체는 서열 70의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 항체는 서열 70의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3 및 서열 67의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함한다. 추가 실시양태에서, 항체는 서열 70의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3, 서열 67의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3, 및 서열 69의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2를 포함한다. 추가 실시양태에서, 항체는 (a) 서열 68의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 69의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; 및 (c) 서열 70의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함한다.

[0233] 또 다른 측면에서, 본 발명은 (a) 서열 65의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (b) 서열 66의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (c) 서열 67의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3으로부터 선택된 적어도 1, 적어도 2, 또는 모든 3개의 VL HVR 서열을 포함하는 항체를 제공한다. 한 실시양태에서, 항체는 (a) 서열 65의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (b) 서열 66의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (c) 서열 67의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함한다.

[0234] 또 다른 측면에서, 본 발명의 항체는 (a) (i) 서열 68의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1, (ii) 서열 69의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 및 (iii) 서열 70으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3으로부터 선택된 적어도 1, 적어도 2, 또는 모든 3개의 VH HVR 서열을 포함하는 VH 도메인; 및 (b) (i) 서열 65의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, (ii) 서열 66의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및 (c) 서열 67의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3으로부터 선택된 적어도 1, 적어도 2, 또는 모든 3개의 VL HVR 서열을 포함하는 VL 도메인을 포함한다.

[0235] 또 다른 측면에서, 본 발명은 (a) 서열 68의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 69의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; (c) 서열 70의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3; (d) 서열 65의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (e) 서열 66의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (f) 서열 67로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함하는 항체를 제공한다.

[0236] 또 다른 측면에서, 상기 제공된 임의의 실시양태에서와 같은 VH 및 상기 제공된 임의의 실시양태에서와 같은 VL을 포함하는 항-RSP02 항체가 제공된다. 한 실시양태에서, 항체는 각각 서열 109 및 서열 110의 VH 및 VL 서열을 포함한다 (그러한 서열의 번역후 변형 포함).

[0237] 모노클로날 항체 49G5 및 특정의 다른 항체 실시양태

[0238] 한 측면에서, 본 발명은 (a) 서열 74의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 75의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; (c) 서열 76의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3; (d) 서열 71의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (e) 서열 72의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (f) 서열 73의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3으로부터 선택된 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6개의 HVR을 포함하는 항-RSP02 항체를 제공한다.

[0239] 한 측면에서, 본 발명은 (a) 서열 74의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 75의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; 및 (c) 서열 76의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3으로부터 선택된 적어도 1, 적어도 2, 또는 모든 3개의 VH HVR 서열을 포함하는 항체를 제공한다. 한 실시양태에서, 항체는 서열 76의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 항체는 서열 76의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3 및 서열 73의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함한다. 추가 실시양태에서, 항체는 서열 76의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3, 서열 73의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3, 및 서열 75의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2를 포함한다. 추가 실시양태에서, 항체는 (a) 서열 74의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 75의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; 및 (c) 서열 76의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함한다.

[0240] 또 다른 측면에서, 본 발명은 (a) 서열 71의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (b) 서열 72의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (c) 서열 73의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3으로부터 선택된 적어도 1, 적어도 2, 또는 모든 3개의 VL HVR 서열을 포함하는 항체를 제공한다. 한 실시양태에서, 항체는 (a) 서열 71의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (b) 서열 72의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (c) 서열 73의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함한다.

[0241] 또 다른 측면에서, 본 발명의 항체는 (a) (i) 서열 74의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1, (ii) 서열 75의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 및 (iii) 서열 76으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3으로부터 선택된 적어도 1, 적어도 2, 또는 모든 3개의 VH HVR 서열을 포함하는 VH 도메인; 및 (b) (i) 서열 71의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, (ii) 서열 72의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및 (c) 서열 73의 아미노산 서

열을 포함하는 HVR-L3으로부터 선택된 적어도 1, 적어도 2, 또는 모든 3개의 VL HVR 서열을 포함하는 VL 도메인을 포함한다.

[0242] 또 다른 측면에서, 본 발명은 (a) 서열 74의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 75의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; (c) 서열 76의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3; (d) 서열 71의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (e) 서열 72의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (f) 서열 73으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함하는 항체를 제공한다.

[0243] 또 다른 측면에서, 상기 제공된 임의의 실시양태에서와 같은 VH 및 상기 제공된 임의의 실시양태에서와 같은 VL을 포함하는 항-RSP02 항체가 제공된다. 한 실시양태에서, 항체는 각각 서열 111 및 서열 112의 VH 및 VL 서열을 포함한다 (그러한 서열의 번역후 변형 포함).

[0244] 임의의 상기 실시양태에서, 항-RSP0 항체는 인간화된다. 예를 들어, 임의의 상기 항-RSP0 항체의 인간화 형태. 한 실시양태에서, 항-RSP0 항체는 임의의 상기 실시양태에서와 같은 HVR을 포함하고, 수용자 인간 프레임워크, 예를 들어 인간 이谬노글로불린 프레임워크 또는 인간 컨센서스 프레임워크를 추가로 포함한다.

[0245] 본 발명의 추가 측면에서, 임의의 상기 실시양태에 따른 항-RSP0 항체는 키메라, 인간화 또는 인간 항체를 비롯한 모노클로날 항체이다. 한 실시양태에서, 항-RSP0 항체는 항체 단편, 예를 들어 Fv, Fab, Fab', scFv, 디아바디, 또는 F(ab')₂ 단편이다. 또 다른 실시양태에서, 항체는 전장 항체, 예를 들어 무손상 IgG1 또는 IgG2a 항체 또는 본원에 정의된 바와 같은 다른 항체 부류 또는 이소형이다.

[0246] 추가 측면에서, 임의의 상기 실시양태에 따른 항-RSP0 항체는 하기 섹션 1-7에 기재된 바와 같은 임의의 특색을 단독으로 또는 조합하여 포함할 수 있다:

1. 항체 친화도

[0248] 특정 실시양태에서, 본원에 제공된 항체는 $\leq 1 \mu M$, $\leq 100 nM$, $\leq 10 nM$, $\leq 1 nM$, $\leq 0.1 nM$, $\leq 0.01 nM$, 또는 $\leq 0.001 nM$ (예를 들어, $10^{-8} M$ 이하, 예를 들어 $10^{-8} M$ 내지 $10^{-13} M$, 예를 들어 $10^{-9} M$ 내지 $10^{-13} M$)의 해리 상수 (Kd)를 갖는다.

[0249] 한 실시양태에서, Kd는 방사성표지된 항원 결합 검정 (RIA)에 의해 측정된다. 한 실시양태에서, RIA는 관심 항체의 Fab 버전 및 그의 항원을 사용하여 수행된다. 예를 들어, 항원에 대한 Fab의 용액 결합 친화도는 비표지된 항원의 적정 시리즈의 존재 하에 최소 농도의 (¹²⁵I)-표지된 항원으로 Fab를 평형화시킨 후, 항-Fab 항체-코팅된 플레이트를 사용하여 결합된 항원을 포획함으로써 측정한다 (예를 들어, 문헌 [Chen et al., J. Mol. Biol. 293:865-881(1999)] 참조). 검정 조건을 확립하기 위해, 마이크로타이터(MICROTITER)® 멀티-웰 플레이트 (써모 사이언티픽(Thermo Scientific))를 50 mM 탄산나트륨 (pH 9.6) 중의 5 $\mu g/ml$ 포획 항-Fab 항체 (카펠 랩스(Cappel Labs))로 밤새 코팅한 후, PBS 중의 2% (w/v) 소 혈청 알부민으로 2 내지 5시간 동안 실온 (대략 23°C)에서 차단한다. 비-흡착 플레이트 (눈크(Nunc) #269620)에서는 100 pM 또는 26 pM [¹²⁵I]-항원을 관심 Fab의 연속 희석물과 혼합한다 (예를 들어, 문헌 [Presta et al., Cancer Res. 57:4593-4599 (1997)]의 항-VEGF 항체, Fab-12의 평가와 일치함). 이어서, 관심 Fab를 밤새 인큐베이션하지만; 평형에 도달하는 것을 확실하게 하기 위해 더 오랜 기간 (예를 들어, 약 65시간) 동안 계속 인큐베이션할 수 있다. 이후에, 혼합물을 포획 플레이트로 옮겨 실온에서 (예를 들어, 1시간 동안) 인큐베이션한다. 이어서, 용액을 제거하고, 플레이트를 PBS 중의 0.1% 폴리소르베이트 20 (트윈-20®)으로 8회 세척한다. 플레이트가 건조된 경우에, 150 μl /웰의 섬광제 (마이크로신트(MICROSCINT)-20™; 팩커드(Packard))를 첨가하고, 플레이트를 탐카운트(TOPCOUNT)™ 감마계수기 (팩커드) 상에서 10분 동안 계수한다. 최대 결합의 20% 이하를 제공하는 각 Fab의 농도를 선택하여 경쟁적 결합 검정에 사용한다.

[0250] 또 다른 실시양태에 따르면, Kd는 비아코어® 표면 플라즈몬 공명 검정을 사용하여 측정된다. 예를 들어, 비아코어®-2000 또는 비아코어®-3000 (비아코어, 인크.(BIAcore, Inc.), 뉴저지주 피스카타웨이)를 사용하는 검정은 ~10 반응 단위 (RU)로 고정된 항원 CM5 칩을 사용하여 25°C에서 수행된다. 한 실시양태에서, 카르복시메틸화 텍스트란 바이오센서 칩 (CM5, 비아코어, 인크.)을 공급업체의 지침에 따라 N-에틸-N'-(3-디메틸아미노프로필)-카르보디이미드 히드로클로라이드 (EDC) 및 N-히드록시숙신이미드 (NHS)로 활성화시킨다. 항원을 10 mM 아세트산나트륨, pH 4.8을 사용하여 5 $\mu g/ml$ (~0.2 μM)로 희석한 후에 커플링된 단백질의 대략 10 반응 단위 (RU)가 달성되도록 5 μl /분의 유량으로 주입한다. 항원의 주입 후, 1 M 에탄올아민을 주입하여 미반응기를 차단한다. 동역학적 측정을 위해, Fab의 2-배 연속 희석물 (0.78 nM 내지 500 nM)을 대략 25 μl /분의 유량으로

25°C에서 0.05% 폴리소르베이트 20 (트윈-20™) 계면활성제를 갖는 PBS (PBST) 내에 주입한다. 간단한 일-대-일 랭뮤어 결합 모델 (비아코어® 평가 소프트웨어 버전 3.2)을 사용하여 회합 및 해리 센소그램을 동시에 피팅 시켜 회합률 (k_{on}) 및 해리율 (k_{off})을 계산한다. 평형 해리 상수 (K_d)는 k_{off}/k_{on} 의 비로 계산한다. 예를 들어, 문헌 [Chen et al., J. Mol. Biol. 293:865-881 (1999)]을 참조한다. 온-레이트가 상기 표면 플라즈몬 공명 검정에 의해 $10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 을 초과하는 경우에, 온-레이트는 분광계, 예컨대 정지-유동 설비 분광광도계 (아비브 인스트루먼츠) 또는 교반 큐벳이 장착된 8000-시리즈 SLM-아민코™ 분광광도계 (씨모스펙트로닉)에서 측정되는 바와 같은, 증가하는 농도의 항원의 존재 하에 PBS, pH 7.2 중 20 nM의 항-항원 항체 (Fab 형태)의 25°C에서의 형광 방출 강도 (여기 = 295 nm; 방출 = 340 nm, 16 nm 대역-통과)의 증가 또는 감소를 측정하는 형광 켄칭 기술을 사용하는 것에 의해 결정될 수 있다.

[0251] 2. 항체 단편

특정 실시양태에서, 본원에 제공된 항체는 항체 단편이다. 항체 단편은 Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab')₂, Fv, 및 scFv 단편, 및 하기 기재된 다른 단편을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 특정 항체 단편의 검토를 위해, 문헌 [Hudson et al., Nat. Med. 9:129-134 (2003)]을 참조한다. scFv 단편의 검토를 위해, 예를 들어 문헌 [Pluckthuen, in The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, vol. 113, Rosenburg and Moore eds., (Springer-Verlag, New York), pp. 269-315 (1994)]을 참조하고; 또한 WO 93/16185; 및 미국 특허 번호 5,571,894 및 5,587,458을 참조한다. 셀비지 수용체 결합 에피토프 잔기를 포함하고 증가된 생체내 반감기를 갖는 Fab 및 F(ab')₂ 단편의 논의에 대해서는, 미국 특허 번호 5,869,046을 참조한다.

디아바디는 2가 또는 이중특이적일 수 있는 2개의 항원-결합 부위를 갖는 항체 단편이다. 예를 들어, EP 404,097; WO 1993/01161; 문헌 [Hudson et al., Nat. Med. 9:129-134 (2003); 및 Hollinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 6444-6448 (1993)]을 참조한다. 트리아바디 및 테트라바디는 또한 문헌 [Hudson et al., Nat. Med. 9:129-134 (2003)]에 기재되어 있다.

단일-도메인 항체는 항체의 중쇄 가변 도메인의 전부 또는 일부 또는 경쇄 가변 도메인의 전부 또는 일부를 포함하는 항체 단편이다. 특정 실시양태에서, 단일-도메인 항체는 인간 단일-도메인 항체이다 (도만티스, 인크.(Domantis, Inc.), 매사추세츠주 월섬; 예를 들어 미국 특허 번호 6,248,516 참조).

항체 단편은 본원에 기재된 바와 같이, 무손상 항체의 단백질분해적 소화 뿐만 아니라 재조합 숙주 세포 (예를 들어, 이. 콜라이(E. coli) 또는 파지)에 의한 생산을 포함하나 이에 제한되지는 않는 다양한 기술에 의해 제조될 수 있다.

[0256] 3. 키메라 및 인간화 항체

특정 실시양태에서, 본원에 제공된 항체는 키메라 항체이다. 특정 키메라 항체는 예를 들어 미국 특허 번호 4,816,567; 및 문헌 [Morrison et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81:6851-6855 (1984)]에 기재되어 있다. 한 예에서, 키메라 항체는 비-인간 가변 영역 (예를 들어, 마우스, 래트, 햄스터, 토끼 또는 비-인간 영장류, 예컨대 원숭이로부터 유래된 가변 영역) 및 인간 불변 영역을 포함한다. 추가의 예에서, 키메라 항체는 부류 또는 하위부류가 모 항체의 것으로부터 변화된 "부류 교체된" 항체이다. 키메라 항체는 그의 항원-결합 단편을 포함한다.

특정 실시양태에서, 키메라 항체는 인간화 항체이다. 전형적으로, 비-인간 항체는 모 비-인간 항체의 특이성 및 친화도를 보유하면서 인간에 대한 면역원성이 감소되도록 인간화된다. 일반적으로, 인간화 항체는 HVR, 예를 들어 CDR (또는 그의 일부)이 비-인간 항체로부터 유래되고, FR (또는 그의 일부)이 인간 항체 서열로부터 유래된 1개 이상의 가변 도메인을 포함한다. 인간화 항체는 또한 임의로 인간 불변 영역의 적어도 일부를 포함할 것이다. 일부 실시양태에서, 인간화 항체 내의 일부 FR 잔기는, 예를 들어 항체 특이성 또는 친화도를 복원하거나 또는 개선시키기 위해, 비-인간 항체 (예를 들어, HVR 잔기가 유래된 항체)로부터의 상응하는 잔기로 치환된다.

인간화 항체 및 그의 제조 방법은 예를 들어 문헌 [Almagro and Fransson, Front. Biosci. 13:1619-1633 (2008)]에서 검토되었고, 예를 들어 문헌 [Riechmann et al., Nature 332:323-329 (1988); Queen et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 86:10029-10033 (1989)]; 미국 특허 번호 5,821,337, 7,527,791, 6,982,321, 및 7,087,409; 문헌 [Kashmiri et al., Methods 36:25-34 (2005) (특이성 결정 영역 (SDR) 그라프팅 기재); Padlan, Mol. Immunol. 28:489-498 (1991) ("재표면화" 기재); Dall'Acqua et al., Methods 36:43-60 (2005)

("FR 셔플링" 기재); 및 Osbourn et al., *Methods* 36:61-68 (2005) 및 Klimka et al., *Br. J. Cancer*, 83:252-260 (2000) (FR 셔플링에 대한 "유도 선택" 접근법 기재)]에 추가로 기재되어 있다.

[0260] 인간화에 사용될 수 있는 인간 프레임워크 영역은, "최적-피트" 방법을 사용하여 선택된 프레임워크 영역 (예를 들어, 문헌 [Sims et al. *J. Immunol.* 151: 2296 (1993)] 참조); 경쇄 또는 중쇄 가변 영역의 특정한 하위군의 인간 항체의 컨센서스 서열로부터 유래된 프레임워크 영역 (예를 들어, 문헌 [Carter et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 89:4285 (1992); 및 Presta et al. *J. Immunol.*, 151:2623 (1993)] 참조); 인간 성숙 (체세포 성숙) 프레임워크 영역 또는 인간 배선 프레임워크 영역 (예를 들어, 문헌 [Almagro and Fransson, *Front. Biosci.* 13:1619-1633 (2008)] 참조); 및 FR 라이브러리 스크리닝으로부터 유래된 프레임워크 영역 (예를 들어, 문헌 [Baca et al., *J. Biol. Chem.* 272:10678-10684 (1997) 및 Rosok et al., *J. Biol. Chem.* 271:22611-22618 (1996)] 참조)을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

4. 인간 항체

[0262] 특정 실시양태에서, 본원에 제공된 항체는 인간 항체이다. 인간 항체는 관련 기술분야에 공지된 다양한 기술을 사용하여 생산될 수 있다. 인간 항체는 일반적으로 문헌 [van Dijk and van de Winkel, *Curr. Opin. Pharmacol.* 5: 368-74 (2001) 및 Lonberg, *Curr. Opin. Immunol.* 20:450-459 (2008)]에 기재되어 있다.

[0263] 인간 항체는 항원 챠린지에 반응하여 인간 가변 영역을 갖는 무손상 인간 항체 또는 무손상 항체를 생산하도록 변형된 트랜스제닉 동물에게 면역원을 투여하는 것에 의해 제조할 수 있다. 이러한 동물은 전형적으로 내인성 이뮤노글로불린 유전자좌를 대체하거나 또는 염색체외에 존재하거나 동물의 염색체로 무작위적으로 통합된 인간 이뮤노글로불린 유전자좌의 전부 또는 일부를 함유한다. 이러한 트랜스제닉 마우스에서, 내인성 이뮤노글로불린 유전자좌는 일반적으로 불활성화된다. 트랜스제닉 동물로부터 인간 항체를 수득하는 방법의 검토를 위해, 문헌 [Lonberg, *Nat. Biotech.* 23:1117-1125 (2005)]을 참조한다. 또한, 예를 들어 제노마우스(XENOMOUSE)TM 기술을 기재하는 미국 특허 번호 6,075,181 및 6,150,584; 휴맙(HuMab)[®] 기술을 기재하는 미국 특허 번호 5,770,429; K-M 마우스(K-M MOUSE)[®] 기술을 기재하는 미국 특허 번호 7,041,870, 및 벨로시마우스 (VelociMouse)[®] 기술을 기재하는 미국 특허 출원 공개 번호 US 2007/0061900을 참조한다. 이러한 동물에 의해 생성된 무손상 항체로부터의 인간 가변 영역은 예를 들어 상이한 인간 불변 영역과 조합시키는 것에 의해 추가로 변형될 수 있다.

[0264] 인간 항체는 또한 하이브리도마-기반 방법에 의해 제조될 수 있다. 인간 모노클로날 항체의 생산을 위한 인간 골수종 및 마우스-인간 이종골수종 세포주가 기재되어 있다. (예를 들어, 문헌 [Kozbor *J. Immunol.*, 133: 3001 (1984); Brodeur et al., *Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications*, pp. 51-63 (Marcel Dekker, Inc., New York, 1987); 및 Boerner et al., *J. Immunol.*, 147: 86 (1991)] 참조.) 인간 B-세포 하이브리도마 기술을 통해 생성된 인간 항체는 또한 문헌 [Li et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 103:3557-3562 (2006)]에 기재되어 있다. 추가의 방법은, 예를 들어 미국 특허 번호 7,189,826 (하이브리도마 세포주로부터의 모노클로날 인간 IgM 항체의 생산 기재) 및 문헌 [Ni, *Xiandai Mianyxue*, 26(4):265-268 (2006)] (인간-인간 하이브리도마 기재)에 기재된 것을 포함한다. 인간 하이브리도마 기술 (트리오마(Trioma) 기술)은 또한 문헌 [Vollmers and Brandlein, *Histology and Histopathology*, 20(3):927-937 (2005) 및 Vollmers and Brandlein, *Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology*, 27(3):185-91 (2005)]에 기재되어 있다.

[0265] 인간 항체는 또한 인간-유래 파지 디스플레이 라이브러리로부터 선택된 Fv 클론 가변 도메인 서열을 단리하는 것에 의해 생성될 수 있다. 이어서, 이러한 가변 도메인 서열은 목적하는 인간 불변 도메인과 조합될 수 있다. 항체 라이브러리로부터 인간 항체를 선택하는 기술은 하기 기재된다.

5. 라이브러리-유래 항체

[0267] 본 발명의 항체는 목적 활성 또는 활성들을 갖는 항체에 대해 조합 라이브러리를 스크리닝하는 것에 의해 단리될 수 있다. 예를 들어, 파지 디스플레이 라이브러리를 생성하고, 목적하는 결합 특성을 보유하는 항체에 대해 이러한 라이브러리를 스크리닝하는 다양한 방법이 관련 기술분야에 공지되어 있다. 이러한 방법은 예를 들어 문헌 [Hoogenboom et al. in *Methods in Molecular Biology* 178:1-37 (O'Brien et al., ed., Human Press, Totowa, NJ, 2001)]에 검토되어 있고, 예를 들어 문헌 [McCafferty et al., *Nature* 348:552-554; Clackson et al., *Nature* 352: 624-628 (1991); Marks et al., *J. Mol. Biol.* 222: 581-597 (1992); Marks and Bradbury, in *Methods in Molecular Biology* 248:161-175 (Lo, ed., Human Press, Totowa, NJ, 2003); Sidhu et al., *J.*

Mol. Biol. 338(2): 299-310 (2004); Lee et al., J. Mol. Biol. 340(5): 1073-1093 (2004); Fellouse, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 101(34): 12467-12472 (2004); 및 Lee et al., J. Immunol. Methods 284(1-2): 119-132(2004)]에 추가로 기재되어 있다.

[0268] 특정 파지 디스플레이 방법에서, VH 및 VL 유전자의 레페토리는 개별적으로 폴리머라제 연쇄 반응 (PCR)에 의해 클로닝되고, 파지 라이브러리에 무작위 재조합되며, 이는 이어서 문헌 [Winter et al., Ann. Rev. Immunol., 12: 433-455 (1994)]에 기재된 바와 같이 항원-결합 파지에 대해 스크리닝될 수 있다. 파지는 전형적으로 항체 단편을 단일-쇄 Fv (scFv) 단편 또는 Fab 단편으로 디스플레이한다. 면역화된 공급원으로부터의 라이브러리는 하이브리도마를 구축할 필요없이 면역원에 대한 고-친화도 항체를 제공한다. 대안적으로, 나이브 레페토리를 클로닝 (예를 들어, 인간으로부터)하여, 문헌 [Griffiths et al., EMBO J., 12: 725-734 (1993)]에 기재된 바와 같이 어떠한 면역화도 없이 광범위한 비-자기 및 또한 자기 항원에 대한 항체의 단일 공급원을 제공할 수 있다. 마지막으로, 문헌 [Hoogenboom and Winter, J. Mol. Biol., 227: 381-388 (1992)]에 기재된 바와 같이, 줄기 세포로부터의 비재배열 V-유전자 절편을 클로닝하고, 고도의 가변 CDR3 영역을 코딩하고 시험관내 재배열이 달성되도록 무작위 서열을 함유하는 PCR 프라이머를 사용함으로써, 나이브 라이브러리를 또한 합성적으로 제조할 수 있다. 인간 항체 파지 라이브러리를 기재하고 있는 특허 공개는, 예를 들어 미국 특허 번호 5,750,373, 및 미국 특허 공개 번호 2005/0079574, 2005/0119455, 2005/0266000, 2007/0117126, 2007/0160598, 2007/0237764, 2007/0292936, 및 2009/0002360을 포함한다.

[0269] 인간 항체 라이브러리로부터 단리된 항체 또는 항체 단편은 본원에서 인간 항체 또는 인간 항체 단편으로 간주된다.

6. 다중특이적 항체

[0271] 특정 실시양태에서, 본원에 제공된 항체는 다중특이적 항체, 예를 들어 이중특이적 항체이다. 다중특이적 항체는 적어도 2개의 상이한 부위에 대해 결합 특이성을 갖는 모노클로날 항체이다. 특정 실시양태에서, 결합 특이성 중 하나는 RSPO (예를 들어, RSPO2 및/또는 RSPO3)에 대한 것이고, 다른 것은 임의의 다른 항원에 대한 것이다. 특정 실시양태에서, 이중특이적 항체는 RSPO의 2개의 상이한 에피토프에 결합할 수 있다. 이중특이적 항체는 또한 세포독성제를 RSPO (예를 들어, RSPO2 및/또는 RSPO3)를 발현하는 세포에 국재화시키는데 사용될 수 있다. 일부 실시양태에서, 다중특이적 항체 (예를 들어, 이중특이적 항체)는 RSPO2 및 RSPO3에 결합한다. 일부 실시양태에서, 다중특이적 항체 (예를 들어, 이중특이적 항체)는 5E11의 HVR을 포함하는 제1 가변 도메인 및 36D2의 HVR을 포함하는 제2 가변 도메인을 포함한다. 일부 실시양태에서, 다중특이적 항체 (예를 들어, 이중특이적 항체)는 5D6의 HVR을 포함하는 제1 가변 도메인 및 36D2의 HVR을 포함하는 제2 가변 도메인을 포함한다. 일부 실시양태에서, 다중특이적 항체 (예를 들어, 이중특이적 항체)는 5E11의 HVR을 포함하는 제1 가변 도메인 및 1A1의 HVR을 포함하는 제2 가변 도메인을 포함한다. 일부 실시양태에서, 다중특이적 항체 (예를 들어, 이중특이적 항체)는 5D6의 HVR을 포함하는 제1 가변 도메인 및 1A1의 HVR을 포함하는 제2 가변 도메인을 포함한다. 이중특이적 항체는 전장 항체 또는 항체 단편으로서 제조될 수 있다.

[0272] 다중특이적 항체를 제조하는 기술은 상이한 특이성을 갖는 2개의 이뮤노클로불린 종쇄-경쇄 쌍의 재조합 공-발현 (문헌 [Milstein and Cuello, Nature 305: 537 (1983)], WO 93/08829, 및 [Traunecker et al., EMBO J. 10: 3655 (1991)] 참조), 및 "노브-인-홀" 조작 (예를 들어, 미국 특허 번호 5,731,168 참조)을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 다중-특이적 항체는 또한 항체 Fc-이종이량체 분자를 제조하기 위한 정전기적 스티어링 효과를 조작하는 것 (WO 2009/089004A1); 2개 이상의 항체 또는 단편을 가교하는 것 (예를 들어, 미국 특허 번호 4,676,980, 및 문헌 [Brennan et al., Science, 229: 81 (1985)] 참조); 이중특이적 항체를 생성하기 위해 류신 지퍼를 사용하는 것 (예를 들어, 문헌 [Kostelny et al., J. Immunol., 148(5):1547-1553 (1992)] 참조); 이중특이적 항체 단편을 제조하기 위한 "디아바디" 기술을 사용하는 것 (예를 들어, 문헌 [Hollinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90:6444-6448 (1993)] 참조); 및 단일-쇄 Fv (sFv) 이량체를 사용하는 것 (예를 들어, 문헌 [Gruber et al., J. Immunol., 152:5368 (1994)] 참조); 및 예를 들어 문헌 [Tutt et al. J. Immunol. 147: 60 (1991)]에 기재된 바와 같이 삼중특이적 항체를 제조하는 것에 의해 제조될 수 있다.

[0273] "옥토퍼스 항체"를 비롯하여, 3개 이상의 기능적 항원 결합 부위를 갖는 조작된 항체가 또한 본원에 포함된다 (예를 들어, US 2006/0025576 참조).

[0274] 본원의 항체 또는 단편은 또한 다중 RSPO (예를 들어, RSPO2 및/또는 RSPO3)에 결합하는 항원 결합 부위를 포함하는 "이중 작용 FAb" 또는 "DAF"를 포함한다 (예를 들어, US 2008/0069820 참조).

[0275] 7. 항체 변이체

특정 실시양태에서, 본원에 제공된 항체의 아미노산 서열 변이체가 고려된다. 예를 들어, 항체의 결합 친화도 및/또는 다른 생물학적 특성을 개선시키는 것이 바람직할 수 있다. 항체의 아미노산 서열 변이체는 항체를 코딩하는 뉴클레오티드 서열에 적절한 변형을 도입하는 것에 의해 또는 웨티드 합성에 의해 제조할 수 있다. 이러한 변형은 예를 들어 항체의 아미노산 서열 내 잔기의 결실 및/또는 삽입 및/또는 치환을 포함한다. 최종 구축물에 도달하기 위해 결실, 삽입 및 치환의 임의의 조합이 이루어질 수 있고, 단 최종 구축물은 목적하는 특성, 예를 들어 항원-결합을 보유한다.

[0277] a) 치환, 삽입 및 결실 변이체

특정 실시양태에서, 1개 이상의 아미노산 치환을 갖는 항체 변이체가 제공된다. 치환 돌연변이유발을 위한 관심 부위는 HVR 및 FR을 포함한다. 보존적 치환은 표 1에서 "바람직한 치환"의 표제 하에 제시된다. 보다 실질적인 변화는 표 1에서 "예시적인 치환"의 표제 하에 제공되고, 아미노산 측쇄 부류에 관하여 하기에 추가로 기재된다. 아미노산 치환은 관심 항체에 도입될 수 있고, 산물은 목적 활성, 예를 들어 보유/개선된 항원 결합, 감소된 면역원성 또는 개선된 ADCC 또는 CDC에 대해 스크리닝될 수 있다.

[0279] <표 1>

원래 잔기	예시적인 치환	바람직한 치환
Ala (A)	Val; Leu; Ile	Val
Arg (R)	Lys; Gln; Asn	Lys
Asn (N)	Gln; His; Asp, Lys; Arg	Gln
Asp (D)	Glu; Asn	Glu
Cys (C)	Ser; Ala	Ser
Gln (Q)	Asn; Glu	Asn
Glu (E)	Asp; Gln	Asp
Gly (G)	Ala	Ala
His (H)	Asn; Gln; Lys; Arg	Arg
Ile (I)	Leu; Val; Met; Ala; Phe; 노르류신	Leu
Leu (L)	노르류신; Ile; Val; Met; Ala; Phe	Ile
Lys (K)	Arg; Gln; Asn	Arg
Met (M)	Leu; Phe; Ile	Leu
Phe (F)	Trp; Leu; Val; Ile; Ala; Tyr	Tyr
Pro (P)	Ala	Ala
Ser (S)	Thr	Thr
Thr (T)	Val; Ser	Ser
Trp (W)	Tyr; Phe	Tyr
Tyr (Y)	Trp; Phe; Thr; Ser	Phe
Val (V)	Ile; Leu; Met; Phe; Ala; 노르류신	Leu

[0280]

[0281] 아미노산은 공통적인 측쇄 특성에 따라 그룹화될 수 있다:

[0282] (1) 소수성: 노르류신, Met, Ala, Val, Leu, Ile;

[0283] (2) 중성 친수성: Cys, Ser, Thr, Asn, Gln;

[0284] (3) 산성: Asp, Glu;

[0285] (4) 염기성: His, Lys, Arg;

- [0286] (5) 쇄 배향에 영향을 미치는 잔기: Gly, Pro;
- [0287] (6) 방향족: Trp, Tyr, Phe.
- [0288] 비-보존적 치환은 이를 부류 중 하나의 구성원을 또 다른 부류로 교환하는 것을 수반할 것이다.
- [0289] 치환 변이체의 한 유형은 모 항체 (예를 들어, 인간화 또는 인간 항체)의 1개 이상의 초가변 영역 잔기를 치환하는 것을 수반한다. 일반적으로, 추가의 연구를 위해 선택된 생성된 변이체(들)는 모 항체에 비해 특정 생물학적 특성 (예를 들어, 증가된 친화도, 감소된 면역원성)에서 변형 (예를 들어, 개선)을 가질 것이고/거나 모 항체의 특정 생물학적 특성을 실질적으로 보유할 것이다. 예시적인 치환 변이체는 예를 들어 본원에 기재된 것과 같은 과지 디스플레이-기반 친화도 성숙 기술을 사용하여 편리하게 생성될 수 있는 친화도 성숙 항체이다. 간략하게, 1개 이상의 HVR 잔기가 돌연변이되고, 변이체 항체가 과지 상에 디스플레이되고, 특정한 생물학적 활성 (예를 들어, 결합 친화도)에 대해 스크리닝된다.
- [0290] 변경 (예를 들어, 치환)은 예를 들어 항체 친화도를 개선시키기 위해 HVR에서 이루어질 수 있다. 이러한 변경은 HVR "핫스팟", 즉 채세포 성숙 과정 동안 높은 빈도로 돌연변이를 겪는 코돈에 의해 코딩된 잔기 (예를 들어, 문헌 [Chowdhury, Methods Mol. Biol. 207:179-196 (2008)] 참조), 및/또는 항원에 접촉하는 잔기에서 이루어질 수 있으며, 생성된 변이체 VH 또는 VL는 결합 친화도에 대해 시험된다. 2차 라이브러리로부터 구축 및 재선택하는 것에 의한 친화도 성숙은 예를 들어 문헌 [Hoogenboom et al. in Methods in Molecular Biology 178:1-37 (O'Brien et al., ed., Human Press, Totowa, NJ, (2001))]에 기재되어 있다. 친화도 성숙의 일부 실시양태에서, 다양성은 임의의 다양한 방법 (예를 들어, 오류-유발 PCR, 쇄 셔플링, 또는 올리고뉴클레오티드-지시된 돌연변이유발)에 의한 성숙을 위해 선택된 가변 유전자로 도입된다. 이어서, 2차 라이브러리가 생성된다. 이어서, 라이브러리를 스크리닝하여 목적 친화도를 갖는 임의의 항체 변이체를 확인한다. 다양성을 도입하는 또 다른 방법은 HVR-지시된 접근법을 수반하며, 여기서 여러 HVR 잔기 (예를 들어, 한 번에 4-6개 잔기)가 무작위화된다. 항원 결합에 수반되는 HVR 잔기는 예를 들어 알라닌 스캐닝 돌연변이유발 또는 모델링을 사용하여 구체적으로 확인될 수 있다. 특히, CDR-H3 및 CDR-L3이 종종 표적화된다.
- [0291] 특정 실시양태에서, 치환, 삽입 또는 결실은 이러한 변경이 항체가 항원에 결합하는 능력을 실질적으로 감소시키지 않는 한, 1개 이상의 HVR 내에서 일어날 수 있다. 예를 들어, 결합 친화도를 실질적으로 감소시키지 않는 보존적 변경 (예를 들어, 본원에 제공된 바와 같은 보존적 치환)이 HVR에서 이루어질 수 있다. 이러한 변경은 예를 들어 HVR 내의 항원 접촉 잔기의 외부일 수 있다. 상기 제공된 변이체 VH 및 VL 서열의 특정 실시양태에서, 각각의 HVR은 변경되지 않거나, 또는 1, 2 또는 3개 이하의 아미노산 치환을 함유한다.
- [0292] 문헌 [Cunningham and Wells (1989) Science, 244:1081-1085]에 기재된 바와 같이, 돌연변이유발을 위해 표적화될 수 있는 항체의 잔기 또는 영역의 확인에 유용한 방법은 "알라닌 스캐닝 돌연변이유발"로 불린다. 이 방법에서, 잔기 또는 표적 잔기의 군 (예를 들어, 하전된 잔기, 예컨대 Arg, Asp, His, Lys, 및 Glu)이 확인되고, 중성 또는 음으로 하전된 아미노산 (예를 들어, 알라닌 또는 폴리알라닌)에 의해 대체되어 항체와 항원의 상호작용에 영향을 미치는지 여부를 결정한다. 추가의 치환은 초기 치환에 대한 기능적 감수성이 입증된 아미노산 위치에 도입될 수 있다. 대안적으로 또는 추가로, 항체와 항원 사이의 접촉점을 확인하기 위해 항원-항체 복합체의 결정 구조가 사용된다. 이러한 접촉 잔기 및 이웃 잔기는 치환을 위한 후보로 표적화되거나 또는 제거될 수 있다. 변이체는 그들이 목적하는 특성을 함유하는지 여부를 결정하기 위해 스크리닝될 수 있다.
- [0293] 아미노산 서열 삽입은 길이 범위가 1개의 잔기 내지 100개 이상의 잔기를 함유하는 폴리펩티드에 이르는 아미노- 및/또는 카르복실-말단 융합, 뿐만 아니라 단일 또는 다수 아미노산 잔기의 서열내 삽입을 포함한다. 말단 삽입의 예는 N-말단 메티오닐 잔기를 갖는 항체를 포함한다. 항체 분자의 다른 삽입 변이체는 항체의 N- 또는 C-말단에 대한 효소 (예를 들어, ADEPT의 경우) 또는 항체의 혈청 반감기를 증가시키는 폴리펩티드의 융합을 포함한다.
- [0294] b) 글리코실화 변이체
- [0295] 특정 실시양태에서, 본원에 제공된 항체는 항체가 글리코실화되는 정도를 증가시키거나 감소시키도록 변경된다. 항체에 대한 글리코실화 부위의 부가 또는 결실은 1개 이상의 글리코실화 부위가 생성되거나 제거되도록 아미노산 서열을 변경함으로써 편리하게 달성될 수 있다.
- [0296] 항체가 Fc 영역을 포함하는 경우에, 이에 부착된 탄수화물이 변경될 수 있다. 포유동물 세포에 의해 생산된 천연 항체는 전형적으로 Fc 영역의 CH2 도메인의 Asn297에의 N-연결에 의해 일반적으로 부착되는 분지형, 이중안

테나 올리고사카라이드를 포함한다. 예를 들어 문헌 [Wright et al. TIBTECH 15:26-32 (1997)]을 참조한다. 올리고사카라이드는 다양한 탄수화물, 예를 들어 만노스, N-아세틸 글루코사민 (GlcNAc), 갈락토스 및 시알산 뿐만 아니라 이중안테나 올리고사카라이드 구조의 "줄기" 내의 GlcNAc에 부착된 푸코스를 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 항체 내의 올리고사카라이드의 변형은 특정 개선된 특성을 갖는 항체 변이체를 생성하기 위해 이루어질 수 있다.

[0297]

한 실시양태에서, Fc 영역에 (직접적 또는 간접적으로) 부착된 푸코스가 결여된 탄수화물 구조를 갖는 항체 변이체가 제공된다. 예를 들어, 이러한 항체에서 푸코스의 양은 1% 내지 80%, 1% 내지 65%, 5% 내지 65% 또는 20% 내지 40%일 수 있다. 푸코스의 양은 예를 들어 WO 2008/077546에 기재된 바와 같이 MALDI-TOF 질량 분광 측정법에 의한 측정 시, Asn297에 부착된 모든 당구조물 (예를 들어, 복합체, 하이브리드 및 높은 만노스 구조물)의 합계에 관하여 Asn297에서 당 쇄 내의 푸코스의 평균 양을 계산하는 것에 의해 결정된다. Asn297은 Fc 영역 내의 약 위치 297 (Fc 영역 잔기의 Eu 넘버링)에 위치한 아스파라긴 잔기를 지칭하지만; Asn297은 또한 항체에서의 부차적 서열 변이로 인해 위치 297의 약 ± 3 아미노산 상류 또는 하류, 즉 위치 294 및 300 사이에 위치할 수 있다. 이러한 푸코실화 변이체는 개선된 ADCC 기능을 가질 수 있다. 예를 들어, 미국 특허 공개 번호 US 2003/0157108 (Presta, L.); US 2004/0093621 (교와 핫코 고교 캄파니 리미티드(Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd))을 참조한다. "탈푸코실화" 또는 "푸코스-결핍" 항체 변이체와 관련된 공개 문헌의 예는 US 2003/0157108; WO 2000/61739; WO 2001/29246; US 2003/0115614; US 2002/0164328; US 2004/0093621; US 2004/0132140; US 2004/0110704; US 2004/0110282; US 2004/0109865; WO 2003/085119; WO 2003/084570; WO 2005/035586; WO 2005/035778; WO 2005/053742; WO 2002/031140; 문헌 [Okazaki et al. J. Mol. Biol. 336:1239-1249 (2004); Yamane-Ohnuki et al. Biotech. Bioeng. 87: 614 (2004)]을 포함한다. 탈푸코실화 항체를 생산할 수 있는 세포주의 예는 단백질 푸코실화가 결핍된 Lec13 CHO 세포 (Ripka et al. Arch. Biochem. Biophys. 249:533-545 (1986); 미국 특허 출원 번호 US 2003/0157108, Presta, L; 및 WO 2004/056312 A1, Adams et al., 특히 실시예 11에서), 및 녹아웃 세포주, 예컨대 알파-1,6-푸코실트랜스퍼라제 유전자, FUT8, 녹아웃 CHO 세포 (예를 들어, 문헌 [Yamane-Ohnuki et al. Biotech. Bioeng. 87: 614 (2004); Kanda, Y. et al., Biotechnol. Bioeng., 94(4):680-688 (2006)]; 및 WO 2003/085107 참조)를 포함한다.

[0298]

이등분된 올리고사카라이드를 갖는 항체 변이체가 추가로 제공되며, 예를 들어 여기서 항체의 Fc 영역에 부착된 이중안테나 올리고사카라이드는 GlcNAc에 의해 이등분된다. 이러한 항체 변이체는 감소된 푸코실화 및/또는 개선된 ADCC 기능을 가질 수 있다. 이러한 항체 변이체의 예가, 예를 들어 WO 2003/011878 (Jean-Mairet et al.); 미국 특허 번호 6,602,684 (Umana et al.); 및 US 2005/0123546 (Umana et al.)에 기재되어 있다. Fc 영역에 부착된 올리고사카라이드 내에 적어도 1개의 갈락토스 잔기를 갖는 항체 변이체가 또한 제공된다. 이러한 항체 변이체는 개선된 CDC 기능을 가질 수 있다. 이러한 항체 변이체는, 예를 들어 WO 1997/30087 (Patel et al.); WO 1998/58964 (Raju, S.); 및 WO 1999/22764 (Raju, S.)에 기재되어 있다.

[0299]

c) Fc 영역 변이체

[0300]

특정 실시양태에서, 1개 이상의 아미노산 변형이 본원에 제공된 항체의 Fc 영역에 도입되어, 그에 의해 Fc 영역 변이체가 생성될 수 있다. Fc 영역 변이체는 1개 이상의 아미노산 위치에서 아미노산 변형 (예를 들어, 치환)을 포함하는 인간 Fc 영역 서열 (예를 들어, 인간 IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4 Fc 영역)을 포함할 수 있다.

[0301]

특정 실시양태에서, 본 발명은 생체내에서 항체의 반감기가 중요하지만 특정의 이펙터 기능 (예컨대 보체 및 ADCC)은 불필요하거나 해로운 적용에 대해 바람직한 후보가 되게 하는, 모든 이펙터 기능은 아니지만 일부 이펙터 기능을 보유하는 항체 변이체를 고려한다. CDC 및/또는 ADCC 활성의 감소/고갈을 확인하기 위해 시험판내 및/또는 생체내 세포독성 검정을 수행할 수 있다. 예를 들어, 항체에 FcγR 결합이 결여되어 있지만 (따라서 ADCC 활성이 결여될 수 있음), FcRn 결합 능력은 보유함을 확실하게 하기 위해 Fc 수용체 (FcR) 결합 검정을 수행할 수 있다. ADCC를 매개하는 1차 세포인 NK 세포는 FcγRIII만을 발현하는 반면에, 단핵구는 FcγRI, FcγRII 및 FcγRIII를 발현한다. 조혈 세포 상에서의 FcR 발현은 문헌 [Ravetch and Kinet, Annu. Rev. Immunol. 9:457-492 (1991)]의 페이지 464, 표 3에 요약되어 있다. 관심 분자의 ADCC 활성을 평가하기 위한 시험판내 검정의 비제한적 예가 미국 특허 번호 5,500,362 (예를 들어, 문헌 [Hellstrom, I. et al. Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 83:7059-7063 (1986)] 참조) 및 문헌 [Hellstrom, I. et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 82:1499-1502 (1985)]; 5,821,337 (문헌 [Bruggemann, M. et al., J. Exp. Med. 166:1351-1361 (1987)] 참조)에 기재되어 있다. 대안적으로, 비-방사성 검정 방법을 사용할 수 있다 (예를 들어, 유동 세포측정법을 위한 액티 (ACTI)™ 비-방사성 세포독성 검정 (셀테크놀로지, 인크.(CellTechnology, Inc.), 캘리포니아주 마운틴 뷰); 및 사이토톡스(CytoTox) 96® 비-방사성 세포독성 검정 (프로메가(Promega), 위스콘신주 매디슨) 참조). 이러한

검정에 유용한 이펙터 세포는 말초 혈액 단핵 세포 (PBMC) 및 자연 킬러 (NK) 세포를 포함한다. 대안적으로 또는 추가로, 관심 분자의 ADCC 활성은 생체내에서, 예를 들어 문헌 [Clynes et al. Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 95:652-656 (1998)]에 기재된 바와 같이 동물 모델에서 평가될 수 있다. 또한, C1q 결합 검정을 수행하여, 항체가 C1q에 결합할 수 없고 따라서 CDC 활성이 결여되어 있음을 확인할 수 있다. 예를 들어, WO 2006/029879 및 WO 2005/100402에서 C1q 및 C3c 결합 ELISA를 참조한다. 보체 활성화를 평가하기 위해 CDC 검정을 수행할 수 있다 (예를 들어, 문헌 [Gazzano-Santoro et al., J. Immunol. Methods 202:163 (1996); Cragg, M.S. et al., Blood 101:1045-1052 (2003); 및 Cragg, M.S. and M.J. Glennie, Blood 103:2738-2743 (2004)] 참조). FcRn 결합 및 생체내 클리어런스/반감기 결정은 또한 관련 기술분야에 공지된 방법을 사용하여 수행될 수 있다 (예를 들어, 문헌 [Petkova, S.B. et al., Int'l. Immunol. 18(12):1759-1769 (2006)] 참조).

[0302] 감소된 이펙터 기능을 갖는 항체는 Fc 영역 잔기 238, 265, 269, 270, 297, 327 및 329 중 1개 이상의 치환을 갖는 것을 포함한다 (미국 특허 번호 6,737,056). 이러한 Fc 돌연변이체는, 잔기 265 및 297이 알라닌으로 치환된 소위 "DANA" Fc 돌연변이체를 비롯하여, 아미노산 위치 265, 269, 270, 297 및 327 중 2개 이상에서 치환을 갖는 Fc 돌연변이체를 포함한다 (미국 특허 번호 7,332,581). 일부 실시양태에서, 항체는 EU 넘버링 규정에 따라 아미노산 위치 265에서 조작된 알라닌을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항체는 EU 넘버링 규정에 따라 아미노산 위치 297에서 조작된 알라닌을 포함한다.

[0303] FcR에 대해 개선되거나 감소된 결합을 갖는 특정 항체 변이체가 기재되어 있다. (예를 들어, 미국 특허 번호 6,737,056; WO 2004/056312, 및 문헌 [Shields et al., J. Biol. Chem. 9(2): 6591-6604 (2001)] 참조.)

[0304] 특정 실시양태에서, 항체 변이체는 ADCC를 개선시키는 1개 이상의 아미노산 치환, 예를 들어 Fc 영역의 위치 298, 333 및/또는 334 (잔기의 EU 넘버링)에서 치환을 갖는 Fc 영역을 포함한다.

[0305] 일부 실시양태에서, 예를 들어 미국 특허 번호 6,194,551, WO 99/51642, 및 문헌 [Idusogie et al. J. Immunol. 164: 4178-4184 (2000)]에 기재된 바와 같이, 변경된 (즉, 개선된 또는 감소된) C1q 결합 및/또는 보체 의존성 세포독성 (CDC)을 생성하는 변경이 Fc 영역에서 이루어진다.

[0306] 증가된 반감기, 및 모체 IgG를 태아에게 전달하는 것을 담당하는 신생아 Fc 수용체 (FcRn)에 대한 개선된 결합을 갖는 항체 (Guyer et al., J. Immunol. 117:587 (1976) 및 Kim et al., J. Immunol. 24:249 (1994))가 US2005/0014934 (Hinton et al.)에 기재되어 있다. 이들 항체는 FcRn에 대한 Fc 영역의 결합을 개선시키는 1개 이상의 치환을 그 내부에 갖는 Fc 영역을 포함한다. 이러한 Fc 변이체는 Fc 영역 잔기: 238, 256, 265, 272, 286, 303, 305, 307, 311, 312, 317, 340, 356, 360, 362, 376, 378, 380, 382, 413, 424 또는 434 중 1개 이상에서 치환, 예를 들어 Fc 영역 잔기 434의 치환을 갖는 것을 포함한다 (미국 특허 번호 7,371,826). Fc 영역 변이체의 다른 예에 관하여 또한 문헌 [Duncan & Winter, Nature 322:738-40 (1988)]; 미국 특허 번호 5,648,260; 미국 특허 번호 5,624,821; 및 WO 94/29351을 참조한다.

[0307] d) 시스테인 조작된 항체 변이체

[0308] 특정 실시양태에서, 항체의 1개 이상의 잔기를 시스테인 잔기로 치환시킨 시스테인 조작된 항체, 예를 들어 "티오MAB"를 생성하는 것이 바람직할 수 있다. 특정한 실시양태에서, 치환된 잔기는 항체의 접근가능한 부위에서 생성된다. 이들 잔기를 시스테인으로 치환함으로써 그에 의해 반응성 티올 기가 항체의 접근가능한 부위에 위치하게 되고, 이것을 사용하여 항체를 다른 모이어티, 예컨대 약물 모이어티 또는 링카-약물 모이어티에 접합시켜 본원에 추가로 기재되는 바와 같은 면역접합체를 생성할 수 있다. 특정 실시양태에서, 하기 잔기 중 어느 1개 이상이 시스테인으로 치환될 수 있다: 경쇄의 V205 (카바트 넘버링); 중쇄의 A118 (EU 넘버링); 및 중쇄 Fc 영역의 S400 (EU 넘버링). 시스테인 조작된 항체는, 예를 들어 미국 특허 번호 7,521,541에 기재된 바와 같이 생성될 수 있다.

[0309] e) 항체 유도체

[0310] 특정 실시양태에서, 본원에 제공된 항체는 관련 기술분야에 공지되고 용이하게 입수가능한 추가의 비단백질성 모이어티를 함유하도록 추가로 변형될 수 있다. 항체의 유도체화에 적합한 모이어티는 수용성 중합체를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 수용성 중합체의 비제한적 예는 폴리에틸렌 글리콜 (PEG), 에틸렌 글리콜/프로필렌 글리콜의 공중합체, 카르복시메틸셀룰로스, 텍스트란, 폴리비닐 알콜, 폴리비닐 피롤리돈, 폴리-1,3-디옥솔란, 폴리-1,3,6-트리옥산, 에틸렌/말레산 무수물 공중합체, 폴리아미노산 (단독중합체 또는 랜덤 공중합체), 및 텍스트란 또는 폴리(n-비닐 피롤리돈)폴리에틸렌 글리콜, 프로프로필렌 글리콜 단독중합체, 폴리프로필렌 옥시드/에틸렌 옥시드 공중합체, 폴리옥시에틸화 폴리올 (예를 들어, 글리세롤), 폴리비닐 알콜, 및 그의 혼합물을

포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 폴리에틸렌 글리콜 프로피온알데히드가 물에서의 안정성으로 인해 제조에 이점을 가질 수 있다. 중합체는 임의의 분자량을 가질 수 있고, 분지형 또는 비분지형일 수 있다. 항체에 부착되는 중합체의 수는 달라질 수 있고, 1개 초과의 중합체가 부착되는 경우에 이들은 동일하거나 상이한 분자일 수 있다. 일반적으로, 유도체화에 사용되는 중합체의 수 및/또는 유형은 개선시킬 항체의 특정한 특성 또는 기능, 항체 유도체가 요법에서 규정된 조건 하에 사용될 것인지 여부 등을 포함하나 이에 제한되지는 않는 고려사항을 기초로 하여 결정될 수 있다.

[0311] 또 다른 실시양태에서, 항체, 및 방사선 노출에 의해 선택적으로 가열될 수 있는 비단백질성 모이어티의 접합체가 제공된다. 한 실시양태에서, 비단백질성 모이어티는 탄소 나노튜브이다 (Kam et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 102: 11600-11605 (2005)). 방사선은 임의의 파장의 것일 수 있고, 통상적인 세포에는 해를 끼치지 않지만 항체-비단백질성 모이어티에 근접한 세포는 사멸시키는 온도로 비단백질성 모이어티를 가열하는 파장을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0312] B. 재조합 방법 및 조성물

[0313] 항체는, 예를 들어 미국 특허 번호 4,816,567에 기재된 바와 같이 재조합 방법 및 조성물을 사용하여 생산할 수 있다. 한 실시양태에서, 본원에 기재된 항-RSPO 항체를 코딩하는 단리된 핵산이 제공된다. 이러한 핵산은 항체의 VL을 포함하는 아미노산 서열 및/또는 VH를 포함하는 아미노산 서열 (예를 들어, 항체의 경쇄 및/또는 중쇄)을 코딩할 수 있다. 추가 실시양태에서, 이러한 핵산을 포함하는 1개 이상의 벡터 (예를 들어, 발현 벡터)가 제공된다. 추가 실시양태에서, 이러한 핵산을 포함하는 숙주 세포가 제공된다. 하나의 이러한 실시양태에서, 숙주 세포는 (1) 항체의 VL을 포함하는 아미노산 서열 및 항체의 VH를 포함하는 아미노산 서열을 코딩하는 핵산을 포함하는 벡터, 또는 (2) 항체의 VL을 포함하는 아미노산 서열을 코딩하는 핵산을 포함하는 제1 벡터 및 항체의 VH를 포함하는 아미노산 서열을 코딩하는 핵산을 포함하는 제2 벡터를 포함한다 (예를 들어, 이들로 형질감염된다). 한 실시양태에서, 숙주 세포는 진핵, 예를 들어 차이니즈 햄스터 난소 (CHO) 세포 또는 림프성 세포 (예를 들어, Y0, NS0, Sp20 세포)이다. 한 실시양태에서, 항-RSPO 항체를 코딩하는 핵산을 포함하는 숙주 세포를 항체의 발현에 적합한 조건 하에 배양하는 것 및 숙주 세포 (또는 숙주 세포 배양 배지)로부터 상기 항체를 임의로 회수하는 것을 포함하는, 상기에 제공된 바와 같은 항체를 제조하는 방법이 제공된다.

[0314] 항-RSPO 항체의 재조합 생산을 위해, 예를 들어 상기 기재된 바와 같은 항체를 코딩하는 핵산을 단리하고, 추가의 클로닝 및/또는 숙주 세포에서의 발현을 위해 1개 이상의 벡터에 삽입한다. 이러한 핵산은 통상의 절차를 사용하여 용이하게 단리되고 서열분석될 수 있다 (예를 들어, 항체의 중쇄 및 경쇄를 코딩하는 유전자에 특이적으로 결합할 수 있는 올리고뉴클레오티드 프로브를 사용하는 것에 의함).

[0315] 항체-코딩 벡터의 클로닝 또는 발현에 적합한 숙주 세포는 본원에 기재된 원핵 또는 진핵 세포를 포함한다. 예를 들어, 특히 글리코실화 및 Fc 이펙터 기능이 필요하지 않은 경우에, 항체를 박테리아에서 생산할 수 있다. 박테리아에서의 항체 단편 및 폴리펩티드의 발현에 대해서는, 예를 들어 미국 특허 번호 5,648,237, 5,789,199 및 5,840,523을 참조한다. (또한, 이. 콜라이에서 항체 단편의 발현을 기재하는 문헌 [Charlton, Methods in Molecular Biology, Vol. 248 (B.K.C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ, 2003), pp. 245-254] 참조.) 발현 후에, 가용성 분획에서 박테리아 세포 페이스트로부터 항체를 단리할 수 있고, 추가로 정제할 수 있다.

[0316] 원핵생물에 더하여, 진핵 미생물, 예컨대 글리코실화 경로가 "인간화"되어 부분 또는 완전 인간 글리코실화 패턴을 갖는 항체가 생산되게 하는 진균 및 효모 균주를 비롯한 사상 진균 또는 효모가 항체-코딩 벡터의 클로닝 또는 숙주 발현에 적합하다. 문헌 [Gerngross, Nat. Biotech. 22:1409-1414 (2004), 및 Li et al., Nat. Biotech. 24:210-215 (2006)]을 참조한다.

[0317] 글리코실화 항체의 발현에 적합한 숙주 세포는 또한 다세포 유기체 (무척추동물 및 척추동물)로부터 유래된다. 무척추동물 세포의 예는 식물 및 곤충 세포를 포함한다. 다수의 바콜로바이러스 균주가 곤충 세포와 함께, 특히 스포도프테라 프루기페르다 (Spodoptera frugiperda) 세포를 형질감염시키는데 사용될 수 있는 것으로 확인되어 있다.

[0318] 식물 세포 배양물을 또한 숙주로서 사용할 수 있다. 예를 들어, 미국 특허 번호 5,959,177, 6,040,498, 6,420,548, 7,125,978, 및 6,417,429 (트랜스제닉 식물에서 항체를 생산하기 위한 플랜티바디스(PLANTIBODIES)™ 기술을 기재함)를 참조한다.

[0319] 척추동물 세포를 또한 숙주로서 사용할 수 있다. 예를 들어, 혼탁액 중에서 성장시키는데 적합화된 포유동물 세포주가 유용할 수 있다. 유용한 포유동물 숙주 세포주의 다른 예는 SV40에 의해 형질전환된 원숭이 신장 CV1

세포주 (COS-7); 인간 배아 신장 세포주 (예를 들어, 문헌 [Graham et al., *J. Gen Virol.* 36:59 (1977)])에 기재된 바와 같은 293 또는 293 세포); 새끼 햄스터 신장 세포 (BHK); 마우스 세르톨리 세포 (예를 들어, 문헌 [Mather, *Biol. Reprod.* 23:243-251 (1980)]에 기재된 바와 같은 TM4 세포); 원숭이 신장 세포 (CV1); 아프리카 녹색 원숭이 신장 세포 (VERO-76); 인간 자궁경부 암종 세포 (HELA); 개 신장 세포 (MDCK); 벼팔로 래트 간 세포 (BRL 3A); 인간 폐 세포 (W138); 인간 간 세포 (Hep G2); 마우스 유방 종양 (MMT 060562); 예를 들어 문헌 [Mather et al., *Annals N.Y. Acad. Sci.* 383:44-68 (1982)]에 기재된 바와 같은 TRI 세포; MRC 5 세포; 및 FS4 세포이다. 다른 유용한 포유동물 숙주 세포주는 DHFR⁻ CHO 세포를 비롯한 차이니즈 햄스터 난소 (CHO) 세포 (Urlaub et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77:4216 (1980)); 및 골수종 세포주, 예컨대 Y0, NS0 및 Sp2/0을 포함한다. 항체 생산에 적합한 특정 포유동물 숙주 세포주의 검토를 위해, 예를 들어 문헌 [Yazaki and Wu, *Methods in Molecular Biology*, Vol. 248 (B.K.C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ), pp. 255-268 (2003)]을 참조한다.

[0320] C. 검정

[0321] 본원에 제공된 항-RSPO 항체는 관련 기술분야에 공지된 다양한 검정에 의해 확인되거나, 그의 물리적/화학적 특성 및/또는 생물학적 활성에 대해 스크리닝되거나 특징화될 수 있다.

[0322] 1. 결합 검정 및 다른 검정

[0323] 한 측면에서, 본 발명의 항체는 예를 들어 ELISA, 웨스턴 블로트 등과 같은 공지된 방법에 의해 그의 항원 결합 활성에 대해 시험된다.

[0324] 결합 친화도를 결정하는 방법은 관련 기술분야에 공지되어 있다. 일부 실시양태에서, 결합 친화도는 본원의 실시예 1에 기재된 바와 같은 비아코어® 검정에 따라 결정될 수 있다. 구체적으로, 일부 실시양태에서, Kd는 비아코어®-3000 (비아코어, 잉크., 뉴저지주 피스카타웨이)을 사용하는 표면 플라즈몬 공명 검정에 의해 측정될 수 있다.

[0325] RSPO의 LGR (예를 들어, LGR4, 5, 및/또는 6), 신데칸 (예를 들어, SDC4), 및/또는 E3 유비퀴티나제 (예를 들어, ZNRF3 및/또는 RNF43)에 대한 결합을 방해 및/또는 억제하는 항-RSPO 항체의 능력을 결정하는 방법은 관련 기술분야에 공지되어 있다. 예를 들어, 그 전문이 본원에 참조로 포함되는 WO2011/076932, WO2013012747, 문헌 [Lau et al. *Nature* 476:293-297 (2011), Hao et al. *Nature* 485:195-200 (2012)]을 참조한다. 일부 실시양태에서, R-스폰돈 (RSPO)의 LGR, 신데칸 및/또는 E3 유비퀴티나제에 대한 결합을 유의하게 방해하는 항-RSPO 항체의 능력은 유동 세포측정법, 비아코어 검정 및/또는 ELISA (예를 들어, 경쟁적 결합 ELISA)에 의해 결정될 수 있다. 일부 실시양태에서, RSPO의 LGR (예를 들어, LGR4, 5, 및/또는 6), 신데칸 (SDC4), 및/또는 E3 유비퀴티나제 (예를 들어, ZNRF3 및/또는 RNF43)에 대한 결합을 방해 및/또는 억제하는 항-RSPO 항체의 능력은 본원의 실시예 1에 기재된 바와 같이 경쟁적 결합 ELISA에 따라 결정될 수 있다.

[0326] 또 다른 측면에서, 경쟁 검정은 RSPO (예를 들어, RSP02 및/또는 RSP03)에의 결합에 대해 4H1, 4D4, 5C2, 5D6, 5E11, 6E9, 21C2, 26E11, 1A1, 11F11, 36D2, 및/또는 49G5와 경쟁하는 항체를 확인하기 위해 사용될 수 있다.

[0327] 항체 경쟁을 결정하는 방법은 관련 기술분야에 공지되어 있다. 예시적인 경쟁 검정에서, 고정된 RSPO (예를 들어, RSP02 및/또는 RSP03)는 RSPO (예를 들어, RSP02 및/또는 RSP03)에 결합하는 제1 표지된 항체 (예를 들어, 4H1, 4D4, 5C2, 5D6, 5E11, 6E9, 21C2, 26E11, 1A1, 11F11, 36D2, 및/또는 49G5) 및 RSPO (예를 들어, RSP02 및/또는 RSP03)에의 결합에 대해 제1 항체와 경쟁하는 그의 능력에 대해 시험될 제2 비표지된 항체를 포함하는 용액 중에서 인큐베이션된다. 제2 항체는 하이브리도마 상청액 중에 존재할 수 있다. 대조군으로서, 고정된 RSPO (예를 들어, RSP02 및/또는 RSP03)는 제1 표지된 항체를 포함하나 제2 비표지된 항체는 포함하지 않는 용액 중에서 인큐베이션된다. RSPO (예를 들어, RSP02 및/또는 RSP03)에 대한 제1 항체의 결합을 허용하는 조건 하에 인큐베이션한 후에, 잉여량의 미결합 항체를 제거하고, 고정된 RSPO (예를 들어, RSP02 및/또는 RSP03)와 회합된 표지의 양을 측정한다. 고정된 RSPO (예를 들어, RSP02 및/또는 RSP03)와 회합된 표지의 양이 대조군 샘플에 비해 시험 샘플에서 실질적으로 감소된 경우에, 이는 제2 항체가 RSPO (예를 들어, RSP02 및/또는 RSP03)에의 결합에 대해 제1 항체와 경쟁한다는 것을 나타낸다. 문헌 [Harlow and Lane (1988) *Antibodies: A Laboratory Manual* ch.14 (Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY)]을 참조한다.

[0328] 에피토프 비닝 및/또는 2개의 항체가 결합에 대해 경쟁하는지 여부를 결정하는데 유용한 또 다른 예시적인 경쟁 검정이 실시예 1에 기재되어 있다. 일부 실시양태에서, 에피토프 비닝 및/또는 2개의 항체가 결합에 대해 경쟁하는지 여부를 결정하는 것은 본원의 실시예 1에 기재된 바와 같은 옥텟(Octet)® 검정에 따라 결정될 수 있

다.

[0329] 특정 실시양태에서, 항체는 4H1, 4D4, 5C2, 5D6, 5E11, 6E9, 21C2, 26E11, 1A1, 11F11, 36D2, 및/또는 49G5가 결합하는 동일한 에피토프 (예를 들어, 선형 또는 입체형태적 에피토프)에 결합한다. 항체가 결합하는 에피토프를 맵핑하는 상세한 예시적인 방법은 문헌 [Morris (1996) "Epitope Mapping Protocols," in Methods in Molecular Biology vol. 66 (Humana Press, Totowa, NJ)]에 제공된다. 일부 실시양태에서, 에피토프는 펩티드 경쟁에 의해 결정된다. 일부 실시양태에서, 에피토프는 질량 분광측정법에 의해 결정된다. 일부 실시양태에서, 에피토프는 결정학에 의해 결정된다. 결정학의 예시적인 방법은 실시예 1에 기재되어 있다.

2. 활성 검정

[0331] 한 측면에서, 생물학적 활성을 갖는 그의 항-RSPO 항체를 확인하기 위한 검정이 제공된다. 생물학적 활성은, 예를 들어 wnt 신호전달을 억제하고/거나, 혈관신생을 억제하고/거나, 세포 증식을 억제하고/거나, 암 줄기 세포 증식을 억제하고/거나, 암 줄기 세포를 고갈시키는 것을 포함할 수 있다. 생체내 및/또는 시험관내에서 이러한 생물학적 활성을 갖는 항체가 또한 제공된다.

[0332] wnt/베타-카테닌 신호전달을 방해하는 항-RSPO 항체의 능력을 결정하는 방법은 관련 기술분야에 공지되어 있다. 예를 들어, 그 전문이 본원에 참조로 포함되는 WO2005/040418 및 WO2013/012747을 참조한다. 일부 실시양태에서, wnt/베타-카테닌 신호전달을 유의하게 방해하는 항-RSPO 항체의 능력을 리포터 유전자 검정을 사용하여 결정될 수 있다. 일부 실시양태에서, 예를 들어 wnt/베타-카테닌 반응성 프로모터 (예컨대, 예를 들어 다양체화 TCF/LEF DNA-결합 부위를 포함하는 프로모터)의 제어 하의 리포터 유전자 (예컨대, 예를 들어 루시페라제 유전자)를 포함하는 리포터 구축물을 세포 내로 형질감염시킬 수 있다. 이어서 세포를 Wnt 리간드, 예컨대 Wnt3a, 및 RSPO, 예컨대 RSP01, RSP02, RSP03, 및/또는 RSP04와 RSPO 항체의 존재 및 부재 하에 접촉시키고, 루시페라제 발현을 측정한다.

[0333] 혈관신생 및/또는 혈관생성을 억제하는 항-RSPO 항체의 능력을 결정하는 방법은 관련 기술분야에 공지되어 있다. 예를 들어, 그 전문이 본원에 참조로 포함되는 WO2008/046649를 참조한다. 검정의 예는 생체내 매트리겔 플러그 및 각막 신생혈관화 검정, 생체내/시험관내 병아리 융모요막 (CAM) 검정, 시험관내 세포 (증식, 이동, 투브 형성) 및 기관형 (대동맥환) 검정, 병아리 대동맥궁 검정, 및 매트리겔 스폰지 검정을 포함한다.

[0334] 줄기 세포 분화 및/또는 암 줄기 세포 고갈을 유도하는 항-RSPO 항체의 능력을 결정하는 방법은 관련 기술분야에 공지되어 있다. 예를 들어, 그 전문이 본원에 참조로 포함되는 WO2013/036867을 참조한다. 일부 실시양태에서, 줄기 세포 분화는 항-RSPO 항체의 존재 및 부재 하에 소장 내 신속-순환 줄기 세포인 음와 기저 원주 세포 (CBC)의, 예를 들어 장세포, 배상 세포 및/또는 장내분비 세포로의 분화 능력을 결정함으로써 결정될 수 있다.

[0335] 특정 실시양태에서, 본 발명의 항체는 본원 및 WO2005/040418, WO2008/046649, WO2011/076932, WO2013/012747, WO2013/054307, 문헌 [Lau et al. Nature 476:293-297 (2011), Hao et al. Nature 485:195-200 (2012)]에 기재된 검정에 의해 이러한 생물학적 활성 및/또는 결합 상호작용에 대해 시험되며, 상기 문헌은 그 전문이 본원에 참조로 포함된다.

[0336] 일부 실시양태에서, 에피토프는 결정학에 의해 결정된다. 일부 실시양태에서, 결정학에 의해 결정되는 바와 같은 에피토프는 RSPO3의 아미노산 M33-E210을 사용하여 결정된다. 일부 실시양태에서, 결정학에 의해 결정되는 바와 같은 에피토프는 랙사이트 에코 액체 핸들러를 사용하여, 100 nL 시팅 드롭을 사용한 여러 스파스 매트릭스 결정 스크린을 설정하는 것에 의해 수행된다. 스크린은 18°C에서 저장되었다. 일부 실시양태에서, 결정은 모액으로서 100 mM MIB pH 9 및 25% PEG 1500을 함유하는 드롭에서 수득될 수 있다. 일부 실시양태에서, 결정은 모액으로서 200 mM 포름산나트륨 및 20% (w/v) PEG 3,350을 함유하는 드롭에서 수득될 수 있다. 일부 실시양태에서, 결정은 수거되고, 동결보호 용액 중에 10초 동안 침지되고, 액체 질소 중에서 급속-동결될 수 있다. 일부 실시양태에서, 동결보호 용액은 1 μ L 70% 글리세롤을 1.8 μ L 저장 용액과 혼합하는 것에 의해 제조될 수 있다. 일부 실시양태에서, 결정은 PEG-기반 조건, 예를 들어 약 20-25% PEG 3,350 중에서 성장될 수 있다. 일부 실시양태에서, 결정은 약 20% PEG 6,000, 약 20-25% PEG 4,000, 및 약 25% PEG 1,500 중에서 성장될 수 있다. 일부 실시양태에서, pH는 약 3.5 - 9, 예를 들어 약 7 내지 약 8의 범위일 수 있다. 일부 실시양태에서, 염 농도는 약 200 mM이다.

D. 면역접합체

[0338] 본 발명은 또한 1종 이상의 세포독성제, 예컨대 화학요법제 또는 약물, 성장 억제제, 독소 (예를 들어, 단백질

독소, 박테리아, 진균, 식물 또는 동물 기원의 효소적 활성 독소, 또는 그의 단편) 또는 방사성 동위원소에 접합된 본원의 항-RSPO 항체를 포함하는 면역접합체를 제공한다.

[0339] 한 실시양태에서, 면역접합체는 항체가 메이탄시노이드 (미국 특허 번호 5,208,020, 5,416,064 및 유럽 특허 EP 0 425 235 B1 참조); 아우리스타틴, 예컨대 모노메틸아우리스타틴 약물 모이어티 DE 및 DF (MMAE 및 MMAF) (미국 특허 번호 5,635,483 및 5,780,588, 및 7,498,298 참조); 돌라스타틴; 칼리케아미신 또는 그의 유도체 (미국 특허 번호 5,712,374, 5,714,586, 5,739,116, 5,767,285, 5,770,701, 5,770,710, 5,773,001, 및 5,877,296; 문헌 [Hinman et al., Cancer Res. 53:3336-3342 (1993); 및 Lode et al., Cancer Res. 58:2925-2928 (1998)] 참조); 안트라시클린, 예컨대 다우노마이신 또는 독소루비신 (문헌 [Kratz et al., Current Med. Chem. 13:477-523 (2006); Jeffrey et al., Bioorganic & Med. Chem. Letters 16:358-362 (2006); Torgov et al., Bioconj. Chem. 16:717-721 (2005); Nagy et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 97:829-834 (2000); Dubowchik et al., Bioorg. & Med. Chem. Letters 12:1529-1532 (2002); King et al., J. Med. Chem. 45:4336-4343 (2002)]; 및 미국 특허 번호 6,630,579 참조); 메토트렉세이트; 빈데신; 탁산, 예컨대 도세탁셀, 파클리탁셀, 라로탁셀, 테세탁셀 및 오르타탁셀; 트리코테센; 및 CC1065를 포함하나 이에 제한되지는 않는 1종 이상의 약물에 접합된, 항체-약물 접합체 (ADC)이다.

[0340] 또 다른 실시양태에서, 면역접합체는 디프테리아 A 쇄, 디프테리아 독소의 비결합 활성 단편, 외독소 A 쇄 (슈도모나스 아에루기노사(Pseudomonas aeruginosa)로부터), 리신 A 쇄, 아브린 A 쇄, 모데신 A 쇄, 알파-샤르신, 알레우리테스 포르디이(Aleurites fordii) 단백질, 디안틴 단백질, 피토라카 아메리카나(Phytolaca americana) 단백질 (PAPI, PAPII, 및 PAP-S), 모모르디카 카란티아(momordica charantia) 억제제, 쿠르신, 크로틴, 사파오나리아 오피시날리스(sapaonaria officinalis) 억제제, 젤로닌, 미토겔린, 레스트릭토신, 페노마이신, 에노마이신 및 트리코테센을 포함하나 이에 제한되지는 않는 효소적 활성 독소 또는 그의 단편에 접합된 본원에 기재된 바와 같은 항체를 포함한다.

[0341] 또 다른 실시양태에서, 면역접합체는 방사성접합체를 형성하기 위해 방사성 원자에 접합된 본원에 기재된 바와 같은 항체를 포함한다. 다양한 방사성 동위원소가 방사성접합체의 생산을 위해 이용가능하다. 예는 At²¹¹, I¹³¹, I¹²⁵, Y⁹⁰, Re¹⁸⁶, Re¹⁸⁸, Sm¹⁵³, Bi²¹², P³², Pb²¹² 및 Lu의 방사성 동위원소를 포함한다. 방사성접합체가 검출을 위해 사용되는 경우에, 신티그래피 연구를 위한 방사성 원자, 예를 들어 Tc99m 또는 I123, 또는 핵 자기 공명 (NMR) 영상화 (자기 공명 영상화, MRI로도 공지됨)를 위한 스핀 표지, 예컨대 마찬가지로 아이오딘-123, 아이오딘-131, 인듐-111, 플루오린-19, 탄소-13, 질소-15, 산소-17, 가돌리늄, 망가니즈 또는 철을 포함할 수 있다.

[0342] 항체 및 세포독성제의 접합체는 다양한 이관능성 단백질 커플링제, 예컨대 N-숙신이미딜-3-(2-페리딜디티오) 프로피오네이트 (SPDP), 숙신이미딜-4-(N-말레이미도메틸) 시클로헥산-1-카르복실레이트 (SMCC), 이미노티올란 (IT), 이미도에스테르의 이관능성 유도체 (예컨대 디메틸 아디프이미데이트 HC1), 활성 에스테르 (예컨대 디숙신이미딜 수베레이트), 알데히드 (예컨대 글루타르알데히드), 비스-아지도 화합물 (예컨대 비스 (p-아지도벤조일) 헥산디아민), 비스-디아조늄 유도체 (예컨대 비스-(p-디아조늄벤조일)-에틸렌디아민), 디이소시아네이트 (예컨대 톨루엔 2,6-디이소시아네이트), 및 비스-활성 플루오린 화합물 (예컨대 1,5-디플루오로-2,4-디니트로벤젠)을 사용하여 제조될 수 있다. 예를 들어, 리신 면역독소는 문헌 [Vitetta et al., Science 238:1098 (1987)]에 기재된 바와 같이 제조될 수 있다. 탄소-14-표지된 1-이소티오시아네이토벤질-3-메틸디에틸렌 트리아민펜타아세트산 (MX-DTPA)은 항체에 방사성뉴클레오티드를 접합시키기 위한 예시적인 킬레이트화제이다. WO94/11026을 참조한다. 링커는 세포에서 세포독성 약물의 방출을 용이하게 하는 "절단가능한 링커"일 수 있다. 예를 들어, 산-불안정성 링커, 웹티다제-감수성 링커, 광불안정성 링커, 디메틸 링커 또는 디슬피드-함유 링커 (Chari et al., Cancer Res. 52:127-131 (1992); 미국 특허 번호 5,208,020)가 사용될 수 있다.

[0343] 본원의 면역접합체 또는 ADC는 상업적으로 입수가능한 (예를 들어, 피어스 바이오테크놀로지, 인크.(Pierce Biotechnology, Inc.), 미국 일리노이주 록포드로부터) BMPS, EMCS, GMBS, HBVS, LC-SMCC, MBS, MPBH, SBAP, SIA, SIAB, SMCC, SMPB, SMPH, 술포-EMCS, 술포-GMBS, 술포-KMUS, 술포-MBS, 술포-SIAB, 술포-SMCC, 및 술포-SMPB, 및 SVSB (숙신이미딜-(4-비닐술폰)벤조에이트)를 포함하나 이에 제한되지는 않는 가교 시약을 사용하여 제조된 이러한 접합체를 명백하게 고려하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0344] E. 진단 및 검출을 위한 방법 및 조성물

[0345] 특정 실시양태에서, 본원에 제공된 임의의 항-RSPO 항체는 샘플에서 RSPO의 존재를 검출하는데 유용하다. 본원

에 사용된 용어 "검출하는"은 정량적 또는 정성적 검출을 포함한다. 특정 실시양태에서, 샘플은 세포 또는 조직, 예컨대 위장, 위, 식도, 결장, 직장 및/또는 결장직장 조직을 포함한다. 일부 실시양태에서, 샘플은 세포 또는 조직, 예컨대 부신, 방광, 뇌, 유방, 자궁경부, 결장, 두경부, 신장, 백혈병, 간, 폐, 램프, 난소, 췌장, 전립선, 직장, 피부, 위, 갑상선 및/또는 자궁 조직을 포함한다. 일부 실시양태에서, 샘플은 세포 또는 조직, 예컨대 폐, 난소, 유방, 간 또는 다발성 골수종 조직을 포함한다.

[0346] 한 실시양태에서, 진단 또는 검출 방법에 사용하기 위한 항-RSPO 항체가 제공된다. 추가 측면에서, 샘플에서 RSPO의 존재를 검출하는 방법이 제공된다. 특정 실시양태에서, 상기 방법은 RSPO에 대한 항-RSPO 항체의 결합을 허용하는 조건 하에 샘플을 본원에 기재된 바와 같은 항-RSPO 항체와 접촉시키는 것, 및 항-RSPO 항체와 RSPO 사이에 복합체가 형성되는지 여부를 검출하는 것을 포함한다. 이러한 방법은 시험관내 또는 생체내 방법일 수 있다. 한 실시양태에서, 항-RSPO 항체는 예를 들어 RSPO가 환자의 선택을 위한 바이오마커인 경우에 항-RSPO 항체를 사용한 요법에 적격인 대상체를 선택하는데 사용된다. 일부 실시양태에서, RSPO는 RSPO2이다. 일부 실시양태에서, RSPO는 RSPO3이다. 일부 실시양태에서, RSPO는 RSPO2 및 RSPO3이다. 일부 실시양태에서, 개체 및/또는 암은 1종 이상의 줄기 세포 바이오마커를 갖는다. 일부 실시양태에서, 줄기 세포 바이오마커는 Myc, Axin2, LGR5, TERT, BIRC5, 및/또는 Ascl2를 포함한다. 일부 실시양태에서, 개체 및/또는 암은 1종 이상의 분화 바이오마커의 감소된 발현을 갖는다. 일부 실시양태에서, 분화 바이오마커는 CEACAM7, SLC26A3, CA1, SYT15, CA4, TFF1, 및/또는 KRT20을 포함한다.

[0347] 예를 들어, 본원은 개체에게 항-RSPO 항체의 유효량을 투여하는 것을 포함하는 개체에서 암을 치료하는 방법을 제공하며, 여기서 암은 1종 이상의 바이오마커를 포함한다. 또한, 본원은 개체에게 항-RSPO 항체의 유효량을 투여하는 것을 포함하는 개체에서 암을 치료하는 방법을 제공하며, 여기서 치료는 1종 이상의 바이오마커를 포함하는 암에 걸린 개체를 기반으로 한다.

[0348] 전위는 종종 표적 유전자에 대해 다중 효과를 갖기 때문에 특별히 강력한 암 돌연변이이고: 단일 '돌연변이'에서 이는 발현을 극적으로 변화시킬 수 있거나, 조절 도메인을 제거할 수 있거나, 올리고머화를 강제할 수 있거나, 단백질의 세포하 위치를 변화시킬 수 있거나, 또는 이를 신규 결합 도메인에 연결시킬 수 있다. 이는, 일부 신생물이 특정한 융합 유전자의 존재에 따라 분류 또는 관리된다는 사실에서 임상적으로 반영된다. 임의의 방법의 일부 실시양태에서, 1종 이상의 바이오마커는 표 2에 열거된 1개 이상의 유전자의 전위 (예를 들어, 염색체내 전위, 염색체간 전위, 재배열 및/또는 융합)를 포함한다.

[0349] 임의의 방법의 일부 실시양태에서, 전위는 PVT1이다. 일부 실시양태에서, PVT1 전위는 PVT1 및 MYC를 포함한다. 일부 실시양태에서, RSPO2 전위는 PVT1 및 IncDNA를 포함한다. 임의의 방법의 일부 실시양태에서, 전위는 R-스폰딘 전위이다. 일부 실시양태에서, R-스폰딘 전위는 RSPO1 전위이다. 일부 실시양태에서, R-스폰딘 전위는 RSPO2이다. 일부 실시양태에서, RSPO2 전위는 EMC2 및 RSPO2를 포함한다. 일부 실시양태에서, RSPO2 전위는 EIF3E 및 RSPO2를 포함한다. 일부 실시양태에서, RSPO2 전위는 EIF3E 엑손 1 및 RSPO2 엑손 2를 포함한다. 일부 실시양태에서, RSPO2 전위는 EIF3E 엑손 1 및 RSPO2 엑손 3을 포함한다. 일부 실시양태에서, RSPO2 전위는 서열 71을 포함한다. 일부 실시양태에서, RSPO2 전위는 서열 114, 143, 및/또는 145를 포함하는 프라이머에 의해 검출될 수 있다. 일부 실시양태에서, RSPO2 전위는 EIF3E 프로모터에 의해 유도된다. 일부 실시양태에서, RSPO2 전위는 RSPO2 프로모터에 의해 유도된다. 일부 실시양태에서, R-스폰딘 전위는 RSPO3 전위이다. 일부 실시양태에서, RSPO3 전위는 PTPRK 및 RSPO3을 포함한다. 일부 실시양태에서, RSPO3 전위는 PTPRK 엑손 1 및 RSPO3 엑손 2를 포함한다. 일부 실시양태에서, RSPO3 전위는 PTPRK 및 RSPO3을 포함한다. 일부 실시양태에서, RSPO3 전위는 PTPLRK 엑손 7 및 RSPO3 엑손 2를 포함한다. 일부 실시양태에서, RSPO3 전위는 서열 171 및/또는 서열 172를 포함한다. 일부 실시양태에서, RSPO3 전위는 서열 115, 116, 145, 및/또는 146을 포함하는 프라이머에 의해 검출될 수 있다. 일부 실시양태에서, RSPO3 전위는 PTPLRK 프로모터에 의해 유도된다. 일부 실시양태에서, RSPO3 전위는 RSPO3 프로모터에 의해 유도된다. 일부 실시양태에서, RSPO3 전위는 PTPLRK 분비 신호 서열을 포함한다 (및/또는 RSPO3 분비 신호 서열을 포함하지 않는다).

[0350]

<표 2> 유전자 융합

5 유전자명칭	3-유전자명칭		유형	기준 위치	5'PCR 프라이머	3'PCR 프라이머	bp
	상	하					
PVT1	ENST0000020882	암 세포내	6:128509890-8:1284753074	CTTGGCGAGAAAGGATGTGCG (서열 113)	TGGATCCAGAGAGAGAG (서열 142)		
EMC2	RSF02		6:139456927-8:10068535	CACCGCGCTCTGGCTGGATGAGGAG AGGTCGAGGAGGAGGAGGAGGAG (서열 179)	GTTCTGGCGAG (서열 150)		150
EF5(E1)	RSF02(e2)	질실	6:139268942-8:10068535	ACTACTGCGATGGCGAC (서열 114)	GGGAGGACTCGAGGGAGAC (서열 155)		155
EF5(E1)	RSF02(e2)	질실	6:139268942-8:10068535	ACTACTGCGATGGCGAC (서열 114)	GGGAGGACTCGAGGGAGAC (서열 143)		143
PTPRK(e1)	RSF02(e2)	질실	6:139268942-8:10068535	ACTACTGCGATGGCGAC (서열 114)	TGAGGAACTCTTACTGT (서열 144)		144
PTPRK(e1)	RSF02(e2)	암	6:139268942-8:10068535	ACTACTGCGATGGCGAC (서열 114)	TGAGGAACTCTTACTGT (서열 144)		144
PTPRK(e1)	RSF03(e2)	암	6:128541404-6:12746893	AAACTCGCGATGGAGAGAC (서열 115)	GCTTCATGGCAATTCTTCC (서열 145)		145
PTPRK(e1)	RSF03(e2)	암	6:128541404-6:12746893	AAACTCGCGATGGAGAGAC (서열 115)	GCTTCATGGCAATTCTTCC (서열 145)		145
PTPRK(e7)	RSF03(e2)	암	6:128505577-6:1246893	TGCAGTCATGGCGAC (서열 116)	GCAATTCCTTCAGAGCA (서열 146)		146
ETV6	NTRK3	암 세포-간	6:121202983-15:3845394	AAGCCGATCAACCTCTCA (서열 117)	GGCTGAGGTGAGCACT (서열 147)		147
ANXA2	RORA	암 세포-내	15:6057541-15:6062450	CTCACACCGCGAAAGTGTGAT (서열 118)	TGAGCGCAATAGGATCTG (서열 148)		148
TUBGCP3		암 세포-간	13:113200013-13:1224770	ACAGGAGGAG (서열 119)	GGCTCATGGCAATTCTTCC (서열 145)		145
ARHGAP18	NCRNA00157	암 세포-간	19:7460133-21:95212970	CAACGCTGCTACTGTGCA (서열 120)	ACTAGGTGGTCAGGGGTG (서열 149)		149
NT5C2	ASAH2	질실	10:104898163-10:105197830	TGAACCGAGTITGGCAATGG (서열 121)	TGCTCAAGCAGGAAATAATG (서열 150)		150
NRBP2	VPS28	암 세포-내	6:144931921-11:145649851	TGAGTCACITTCACCCAC (서열 122)	ATGGTCCTCCATGACGCTCG (서열 151)		151
CDCA4SE2	KIAA04146	암 세포-간	5:130551837-8:38612385	AAGGCGCGAACATTGAGGTG (서열 123)	AAACTGAAATCCCGCTGT (서열 153)		153
MEN1L	LAG3	암	12:1168752-73:24856857	GTGATGCGCGCTGATGCT (서열 124)	GGTOCAGTCACGAAAGGAG (서열 154)		154
PEX5	LOC398934	암	12:7592039-12:9695937	CATGCGGAGAACGAG (서열 125)	TGTGAGGTCCTCGCTGTC (서열 155)		155
PLCE1	CYP2C19	질실	10:15792039-12:9695937	CTTATGCTGCGATGTC (서열 126)	TGGGATGCTGCTGAT (서열 156)		156
TPM3	NTRK1	암	1:154142876-1:15644563	CAGACGACCGCTGTTGGTT (서열 127)	CCAAAGGTGTTGCTGCTT (서열 157)		157
PAN3	RFC3	질실	13:28152072-13:13458569	GAATTCGGCTTAAACAT (서열 128)	CAATTTCACATCCAAQACC (서열 158)		158
CIMC27	RNF180	암 세포-내	5:6413157-5:63656542	AACGGAACTTACAGCA (서열 129)	GGTOCAGTCACGAAAGGAG (서열 154)		154
CAPN1	SPDYC	암 세포-내	11:64356217-11:64939414	GAGACGTCATGGCGGAGITC (서열 130)	TGTGAGGTCCTCGCTGTC (서열 155)		155
C08	TERF2	암 세포-내	16:683767040-19:16:2839464	TGCGCTTGGCGATTA (서열 131)	CCAAAGGTGTTGCTGCTT (서열 157)		157
TADADA	MEF2A	암 세포-간	17:355767040-19:16:2839462	GAATTCGGCTTAAACAT (서열 128)	CAATTTCACATCCAAQACC (서열 158)		158
STARPA	DEINDD1A	암 세포-내	9:12593896-9:26222092	GGTGGAAACCTGCTGCA (서열 131)	CATGTCACACACATCCAC (서열 159)		159
ANKR017	HGST1	암 세포-내	47:39863844-11:1451737	GGAAATCTCGATTTGGCA (서열 137)	CATGTCACACACATCCAC (서열 163)		163
BMBM7	ATP8A1	암	12:1168752-12:96959308	GGTGGAAACCTGCTGCA (서열 134)	CACCGTTTCAATTCCGT (서열 164)		164
MED13L	CD4	암	12:1168752-12:96959308	GGTGGAAACCTGCTGCA (서열 134)	TCCAAAGGGCTCTCTGCA (서열 165)		165
PRR12	PRRG2	암 세포-내	19:5039978-21:19:501983157	ATGAACTTATGCGCT (서열 135)	GTCTGTGACCCAGAGGCT (서열 166)		166
ATP9A	ARHGEP2	암	20:50307278-20:4670166	ATGTTACGCGAGAACGCGCA (서열 136)	GTGGAGGAAATTGGCTATG (서열 167)		167
STIRP		암 세포-내	9:12593896-9:26222092	GGTGGAAACCTGCTGCA (서열 131)	ACGAGGCTTCCACAGAA (서열 163)		163
ANKR017	HGST1	암 세포-내	47:39863844-11:1451737	GGAAATCTCGATTTGGCA (서열 137)	ACGAGGCTTCCACAGAA (서열 163)		163
BMBM7	ATP8A1	암 세포-내	12:1168752-12:96959308	GGTGGAAACCTGCTGCA (서열 134)	GGTGGAAACCTGCTGCA (서열 164)		164
FRS2	RAP1B	암	12:6893078-12:68942479	AGACCGACGAGGAGCTAACAG (서열 138)	GGTGGAAACCTGCTGCA (서열 165)		165
CHEK2	PARVB	암	22:2813757-22:44553862	GGTGGAAACCTGCTGCA (서열 137)	CAAGCGACACTTCACCG (서열 167)		167
SH1	TPST2	암	22:31904362-22:26290841	GGCGGTTAGAGGGAGGA (서열 141)	CACTCTCATCTGCGCTC (서열 172)		172

일부 실시양태에서, R-스폰딘 전위는 RSP04 전위이다. 일부 실시양태에서, R-스폰딘 전위는 R-스폰딘의 상승된 발현 수준을 발생시킨다 (예를 들어, R-스폰딘 전위가 없는 참조와 비교하여). 일부 실시양태에서, R-스폰딘 전위는 R-스폰딘의 상승된 활성 및/또는 활성화를 발생시킨다 (예를 들어, R-스폰딘 전위가 없는 참조와 비교하여). 일부 실시양태에서, 1종 이상의 바이오마커의 존재는 R-스폰딘 전위, 예컨대 표 2의 전위, 및 KRAS 및/또는 BRAF를 포함한다. 일부 실시양태에서, 1종 이상의 바이오마커의 존재는 R-스폰딘 전위 (예를 들어, 재배열 및/또는 융합), 예컨대 표 2의 전위, 및 변이 (예를 들어, 다형성 또는 돌연변이) KRAS 및/또는 BRAF의 존재이다. 일부 실시양태에서, 개체 및/또는 암은 KRAS 및/또는 BRAF의 변이 (다형성 또는 돌연변이)를 포함한다. 일부 실시양태에서, 1종 이상의 바이오마커의 존재는 R-스폰딘 전위, 예컨대 표 2의 전위의 존재이고, 1종 이상의 바이오마커의 부재는 변이 (예를 들어, 다형성 또는 돌연변이) CTNNB1 및/또는 APC의 부재이다.

임의의 전위 (예를 들어, 염색체내 전위, 염색체간 전위, 재배열 및/또는 융합)의 일부 실시양태에서, 전위 (예를 들어, 염색체내 전위, 염색체간 전위, 재배열 및/또는 융합)는 체성 전위 (예를 들어, 염색체내 전위, 염색

체간 전위, 재배열 및/또는 융합)이다. 일부 실시양태에서, 전위는 염색체내 전위이다. 일부 실시양태에서, 전위는 염색체간 전위이다. 일부 실시양태에서, 전위는 역전이다. 일부 실시양태에서, 전위는 결실이다. 일부 실시양태에서, 전위는 기능성 전위 융합 폴리뉴클레오티드 (예를 들어, 기능성 R-스폰딘-전위 융합 폴리뉴클레오티드) 및/또는 기능성 전위 융합 폴리펩티드 (예를 들어, 기능성 R-스폰딘-전위 융합 폴리펩티드)이다. 일부 실시양태에서, 기능성 전위 융합 폴리펩티드 (예를 들어, 기능성 R-스폰딘-전위 융합 폴리펩티드)는 전위된 유전자 중 1종에 의해 조정되는 것으로 공지된 경로 (예를 들어, wnt 신호전달 경로)를 활성화시킨다. 일부 실시양태에서, 경로는 정규 wnt 신호전달 경로이다. 일부 실시양태에서, 경로는 비정규 wnt 신호전달 경로이다. 일부 실시양태에서, 경로 활성화를 결정하는 방법은 관련 기술분야에 공지되어 있고, 본원에 기재된 바와 같은 루시페라제 리포터 검정을 포함한다. 일부 실시양태에서, 방법은 그 전문이 본원에 참조로 포함되는 문헌 [Seshagiri et al., Nature 488:660-664 (2012)] 및/또는 WO 2013/120056에 기재된 1종 이상의 방법이다.

[0354]

본 발명의 항체를 사용하여 진단될 수 있는 예시적인 장애는 종양, 세포 증식성 장애, 암, 위장암, 위암, 결장직장암, 결장암 및/또는 직장암을 포함한다. 본 발명의 항체를 사용하여 진단될 수 있는 예시적인 장애는 추가로 부신암, 방광암, 뇌암, 유방암, 자궁경부암, 결장암, 두경부암, 신장암, 백혈병, 간암, 폐암 (예를 들어, NSCLC), 림프성 암, 난소암, 췌장암, 전립선암, 직장암, 피부암 (예를 들어, 흑색종), 위암, 갑상선암 및/또는 자궁암을 포함한다. 본 발명의 항체를 사용하여 진단될 수 있는 예시적인 장애는 또한 폐암 (예를 들어, NSCLC), 난소암, 유방암, 간암 또는 다발성 골수종을 포함한다.

[0355]

샘플은 1차 또는 배양된 세포 또는 세포주, 세포 상청액, 세포 용해물, 혈소판, 혈청, 혈장, 유리체액, 림프액, 활액, 여포액, 정액, 양수, 유액, 전혈, 혈액-유래 세포, 소변, 뇌척수액, 타액, 객담, 누액, 땀, 점액, 종양 용해물, 및 조직 배양 배지, 조직 추출물, 예컨대 균질화된 조직, 종양 조직 및 세포 추출물, 및 그의 조합을 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 일부 실시양태에서, 샘플은 위장, 위, 식도, 결장, 직장 및/또는 결장직장 조직으로부터의 샘플이다. 일부 실시양태에서, 샘플은 부신, 방광, 뇌, 유방, 자궁경부, 결장, 두경부, 신장, 백혈병, 간, 폐, 림프, 난소, 췌장, 전립선, 직장, 피부, 위, 갑상선 및/또는 자궁 조직으로부터의 샘플이다. 일부 실시양태에서, 샘플은 폐, 난소, 유방, 간 또는 다발성 골수종 조직으로부터의 샘플이다.

[0356]

특정 실시양태에서, 표지된 항-RSP0 항체가 제공된다. 표지는 직접적으로 검출되는 표지 또는 모이어티 (예컨대, 형광, 발색, 전자-밀집, 화학발광 및 방사성 표지) 뿐만 아니라 간접적으로, 예를 들어 효소적 반응 또는 분자 상호작용을 통해 검출되는 모이어티, 예컨대 효소 또는 리간드를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 예시적인 표지는 방사성동위원소 ^{32}P , ^{14}C , ^{125}I , ^3H , 및 ^{131}I , 형광단, 예컨대 희토류 킬레이트 또는 플루오레세인 및 그의 유도체, 로다민 및 그의 유도체, 단실, 웜밸리페론, 루시페라제, 예를 들어 반딧불이 루시페라제 및 박테리아 루시페라제 (미국 특허 번호 4,737,456), 루시페린, 2,3-디히드로프탈라진디온, 양고추냉이 퍼옥시다제 (HRP), 알칼리성 포스파타제, β -갈락토시다제, 글루코아밀라제, 리소자임, 사카라이드 옥시다제, 예를 들어 글루코스 옥시다제, 갈락토스 옥시다제, 및 글루코스-6-포스페이트 테하이드로게나제, 염료 전구체를 산화시키기 위해 과산화수소를 사용하는 효소, 예컨대 HRP, 락토퍼옥시다제, 또는 마이크로퍼옥시다제와 커플링된 헤테로시클릭 옥시다제, 예컨대 우리카제 및 크산틴 옥시다제, 비오틴/아비딘, 스핀 표지, 박테리오파지 표지, 안정한 자유 라디칼 등을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0357]

임의의 방법의 일부 실시양태에서, 상승된 발현은 참조 샘플, 참조 세포, 참조 조직, 대조 샘플, 대조 세포, 또는 대조 조직과 비교하여 표준 관련 기술분야 공지의 방법, 예컨대 본원에 기재된 것에 의해 검출된 바이오마커 (예를 들어, 단백질 또는 핵산 (예를 들어, 유전자 또는 mRNA))의 수준에서의 약 임의의 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 초과의 전반적 증가를 지칭한다. 특정 실시양태에서, 상승된 발현은 샘플에서 바이오마커의 발현 수준/양의 증가를 지칭하며, 여기서 증가는 참조 샘플, 참조 세포, 참조 조직, 대조 샘플, 대조 세포 또는 대조 조직에서의 각각의 바이오마커의 발현 수준/양의 적어도 약 임의의 1.5X, 1.75X, 2X, 3X, 4X, 5X, 6X, 7X, 8X, 9X, 10X, 25X, 50X, 75X, 또는 100X이다. 일부 실시양태에서, 상승된 발현은 참조 샘플, 참조 세포, 참조 조직, 대조 샘플, 대조 세포, 대조 조직 또는 내부 대조군 (예를 들어, 하우스키핑 유전자)과 비교하여 약 1.5배, 약 1.75배, 약 2배, 약 2.25배, 약 2.5배, 약 2.75배, 약 3.0배, 또는 약 3.25배 초과의 전반적 증가를 지칭한다.

[0358]

임의의 방법의 일부 실시양태에서, 감소된 발현은 참조 샘플, 참조 세포, 참조 조직, 대조 샘플, 대조 세포, 또는 대조 조직과 비교하여 표준 관련 기술분야 공지의 방법, 예컨대 본원에 기재된 것에 의해 검출된 바이오마커 (예를 들어, 단백질 또는 핵산 (예를 들어, 유전자 또는 mRNA))의 수준에서의 약 임의의 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 초과의 전반적 감소를 지칭한다. 특정 실시양태

에서, 감소된 발현은 샘플에서 바이오마커의 발현 수준/양의 감소를 지칭하며, 여기서 감소는 참조 샘플, 참조 세포, 참조 조직, 대조 샘플, 대조 세포, 또는 대조 조직에서의 각각의 바이오마커의 발현 수준/양의 적어도 약 10%의 0.9X, 0.8X, 0.7X, 0.6X, 0.5X, 0.4X, 0.3X, 0.2X, 0.1X, 0.05X, 또는 0.01X이다.

[0359]

샘플 중 다양한 바이오마커의 존재 및/또는 발현 수준/양은 면역조직화학 ("IHC"), 웨스턴 블롯 분석, 면역침전, 분자 결합 검정, ELISA, ELIFA, 형광 활성화 세포 분류 ("FACS"), 매스어레이(MassARRAY), 단백질체학, 정량적 혈액 기반 검정 (예를 들어, 혈청 ELISA로서), 생화학적 효소적 활성 검정, 계내 혼성화, 서던 분석, 노던 분석, 전체 게놈 서열분석, 폴리머라제 연쇄 반응 ("PCR") (정량적 실시간 PCR ("qRT-PCR") 및 다른 증폭 유형 검출 방법, 예컨대 예를 들어 분지형 DNA, SISBA, TMA 등 포함), RNA-Seq, FISH, 마이크로어레이 분석, 유전자 발현 프로파일링 및/또는 유전자 발현의 연속 분석 ("SAGE"), 뿐만 아니라 단백질, 유전자 및/또는 조직 어레이 분석에 의해 수행될 수 있는 매우 다양한 검정 중 어느 하나를 포함하거나 이에 제한되지는 않는 다수의 방법론에 의해 분석될 수 있으며, 이들 중 많은 것은 관련 기술분야에 공지되어 있고 통상의 기술자에 의해 이해된다. 유전자 및 유전자 산물의 상태를 평가하기 위한 전형적인 프로토콜은, 예를 들어 문헌 [Ausubel et al., eds., 1995, Current Protocols In Molecular Biology, Units 2 (노던 블롯팅), 4 (서던 블롯팅), 15 (이뮤노블롯팅) 및 18 (PCR 분석)]에서 발견된다. 또한, 멀티플렉스화 면역검정, 예컨대 룰즈 베이스드 메디신 (Rules Based Medicine) 또는 메조 스케일 디스커버리(Meso Scale Discovery) ("MSD")로부터 입수가능한 것이 사용될 수 있다.

[0360]

일부 실시양태에서, 바이오마커의 존재 및/또는 발현 수준/양은 (a) 샘플 (예컨대, 대상체 암 샘플)에 대해 유전자 발현 프로파일링, PCR (예컨대, rtPCR), RNA-seq, 마이크로어레이 분석, SAGE, 매스어레이 기술, 또는 FISH를 수행하는 것; 및 b) 샘플에서 바이오마커의 존재 및/또는 발현 수준/양을 결정하는 것을 포함하는 방법을 사용하여 결정된다. 일부 실시양태에서, 마이크로어레이 방법은 엄격한 조건 하에 상기 언급된 유전자를 코딩하는 핵산 분자에 혼성화할 수 있는 1종 이상의 핵산 분자를 갖거나 또는 상기 언급된 유전자에 의해 코딩되는 단백질 중 1종 이상에 결합할 수 있는 1종 이상의 폴리펩티드 (예컨대, 웹티드 또는 항체)를 갖는 마이크로어레이 칩의 사용을 포함한다. 한 실시양태에서, PCR 방법은 qRT-PCR이다. 한 실시양태에서, PCR 방법은 멀티플렉스-PCR이다. 일부 실시양태에서, 유전자 발현은 마이크로어레이에 의해 측정된다. 일부 실시양태에서, 유전자 발현은 qRT-PCR에 의해 측정된다. 일부 실시양태에서, 발현은 멀티플렉스-PCR에 의해 측정된다.

[0361]

F. 제약 제제

[0362]

본원에 기재된 바와 같은 항-RSPO 항체의 제약 제제는 목적하는 정도의 순도를 갖는 이러한 항체를 1종 이상의 임의적인 제약상 허용되는 담체와 동결건조 제제 또는 수용액의 형태로 혼합하는 것에 의해 제조된다 (Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980)). 제약상 허용되는 담체는 일반적으로 사용된 투여량 및 농도에서 수용자에게 비독성이고, 완충제, 예컨대 포스페이트, 시트레이트, 및 다른 유기 산; 아스코르브산 및 메티오닌을 비롯한 항산화제; 보존제 (예컨대 옥타데실디메틸벤질 암모늄 클로라이드; 헥사메토늄 클로라이드; 벤즈알코늄 클로라이드, 벤제토늄 클로라이드; 페놀, 부틸 또는 벤질 알콜; 알킬 파라벤, 예컨대 메틸 또는 프로필 파라벤; 카테콜; 레조르시놀; 시클로헥산올; 3-펜탄올; 및 m-크레졸); 저분자량 (약 10개 미만의 잔기) 폴리펩티드; 단백질, 예컨대 혈청 알부민, 젤라틴 또는 이뮤노글로불린; 친수성 중합체, 예컨대 폴리비닐피롤리돈; 아미노산, 예컨대 글리신, 글루타민, 아스파라긴, 히스티딘, 아르기닌 또는 리신; 모노사카라이드, 디사카라이드, 및 글루코스, 만노스 또는 텍스트린을 비롯한 다른 탄수화물; 칼레이트화제, 예컨대 EDTA; 당, 예컨대 수크로스, 만니톨, 트레할로스 또는 소르비톨; 염-형성 반대-이온, 예컨대 나트륨; 금속착물 (예를 들어, Zn-단백질 착물); 및/또는 비-이온성 계면활성제, 예컨대 폴리에틸렌 글리콜 (PEG)을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 본원에서 예시적인 제약상 허용되는 담체는 간질성 약물 분산액 작용제, 예컨대 가용성 중성-활성 히알루로니다제 당단백질 (sHASEGP), 예를 들어 인간 가용성 PH-20 히알루로니다제 당단백질, 예컨대 rHuPH20 (힐레넥스(HYLENEX)®, 백스터 인터내셔널, 인크.(Baxter International, Inc.))을 추가로 포함한다. rHuPH20을 비롯한, 특정의 예시적인 sHASEGP 및 사용 방법은 미국 특허 공개 번호 2005/0260186 및 2006/0104968에 기재되어 있다. 한 측면에서, sHASEGP는 1개 이상의 추가의 글리코사미노글리카나제, 예컨대 콘드로이티나제와 조합된다.

[0363]

예시적인 동결건조 항체 제제는 미국 특허 번호 6,267,958에 기재되어 있다. 수성 항체 제제는 미국 특허 번호 6,171,586 및 WO2006/044908에 기재된 것을 포함하고, 후자의 제제는 히스티딘-아세테이트 완충제를 포함한다.

[0364]

본원의 제제는 또한 치료되는 특정한 적응증에의 필요에 따라 1종 초과의 활성 성분, 바람직하게는 서로 유해한 영향을 미치지 않는 보완적 활성을 갖는 것을 함유할 수 있다. 이러한 활성 성분은 의도된 목적에 유효한 양으

로 조합되어 적합하게 존재한다.

[0365] 활성 성분은 예를 들어 코아세르베이션 기술 또는 계면 종합에 의해 제조되는 마이크로캡슐, 예를 들어 각각 히드록시메틸셀룰로스 또는 젤라틴-마이크로캡슐 및 폴리-(메틸메타크릴레이트) 마이크로캡슐 내에, 콜로이드성 약물 전달 시스템 (예를 들어, 리포솜, 알부민 마이크로구체, 마이크로에멀젼, 나노입자 및 나노캡슐) 내에, 또는 마크로에멀젼 내에 포획될 수 있다. 이러한 기술은 문헌 [Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980)]에 개시되어 있다.

[0366] 지속-방출 제제가 제조될 수 있다. 지속-방출 제제의 적합한 예는 항체를 함유하는 고체 소수성 중합체의 반투과성 매트릭스를 포함하고, 이 매트릭스는 성형품, 예를 들어 필름 또는 마이크로캡슐의 형태이다.

[0367] 생체내 투여에 사용되는 제제는 일반적으로 멸균성이다. 멸균은 예를 들어 멸균 여과 막을 통한 여과에 의해 용이하게 달성될 수 있다.

G. 치료 방법 및 조성물

[0369] 본원에 제공된 임의의 항-RSPO 항체가 치료 방법에 사용될 수 있다.

[0370] 한 측면에서, 의약으로서 사용하기 위한 항-RSPO 항체가 제공된다. 추가 측면에서, 종양, 세포 증식성 장애, 및/또는 암을 치료하는데 사용하기 위한 항-RSPO 항체가 제공된다. 일부 실시양태에서, 암 세포의 말단 분화를 비롯한 세포의 분화를 촉진시키는데 사용하기 위한 항-RSPO 항체가 제공된다. 특정 실시양태에서, 치료 방법에 사용하기 위한 항-RSPO 항체가 제공된다. 특정 실시양태에서, 본 발명은 종양, 세포 증식성 장애, 및/또는 암에 걸린 개체에게 항-RSPO 항체의 유효량을 투여하는 것을 포함하는 상기 개체를 치료하는 방법에 사용하기 위한 항-RSPO 항체를 제공한다. 일부 실시양태에서, 암은 결장직장암이다. 하나의 이러한 실시양태에서, 상기 방법은 개체에게 예를 들어 하기 기재된 바와 같은 적어도 1종의 추가의 치료제의 유효량을 투여하는 것을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, RSPO는 RSPO2이다. 일부 실시양태에서, RSPO는 RSPO3이다. 일부 실시양태에서, RSPO는 RSPO2 및 RSPO3이다. 추가 실시양태에서, 본 발명은 wnt 신호전달을 억제하고/거나, 혈관신생을 억제하고/거나, 세포 증식을 억제하고/거나, 암 줄기 세포 증식을 억제하고/거나, 암 줄기 세포를 고갈시키는데 사용하기 위한 항-RSPO 항체를 제공한다. 특정 실시양태에서, 본 발명은 개체에게 항-RSPO 항체의 유효량을 투여하여 wnt 신호전달을 억제하고/거나, 혈관신생을 억제하고/거나, 세포 증식을 억제하고/거나, 암 줄기 세포 증식을 억제하고/거나, 암 줄기 세포를 고갈시키는 것을 포함하는, 개체에서 wnt 신호전달을 억제하고/거나, 혈관신생을 억제하고/거나, 세포 증식을 억제하고/거나, 암 줄기 세포 증식을 억제하고/거나, 암 줄기 세포를 고갈시키는 방법에 사용하기 위한 항-RSPO 항체를 제공한다. 임의의 상기 실시양태에 따른 "개체"는 바람직하게는 인간이다. 일부 실시양태에서, 개체 및/또는 암은 1종 이상의 바이오마커를 갖는다. 일부 실시양태에서, 1종 이상의 바이오마커는 RSPO 전위를 포함한다. 일부 실시양태에서, RSPO 전위는 RSPO2 및/또는 RSPO3 전위를 포함한다. 일부 실시양태에서, 개체 및/또는 암은 1종 이상의 바이오마커의 증가된 발현을 갖는다. 일부 실시양태에서, 1종 이상의 바이오마커는 RSPO, 예를 들어 RSPO2 및/또는 RSPO3을 포함한다. 일부 실시양태에서, 1종 이상의 바이오마커는 줄기 세포 바이오마커를 포함한다. 일부 실시양태에서, 줄기 세포 바이오마커는 Myc, Axin2, LGR5, TERT, BIRC5, 및/또는 Asc12를 포함한다. 일부 실시양태에서, 개체 및/또는 암은 1종 이상의 분화 바이오마커의 감소된 발현을 갖는다. 일부 실시양태에서, 분화 바이오마커는 CEACAM7, SLC26A3, CA1, SYT15, CA4, TFF1, 및/또는 KRT20을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-RSPO 항체를 사용한 치료는 1종 이상의 줄기 세포 바이오마커, 예를 들어 Myc, Axin2, LGR5, TERT, BIRC5, 및/또는 Asc12의 발현을 감소시킨다. 일부 실시양태에서, 항-RSPO 항체를 사용한 치료는 1종 이상의 분화 바이오마커, 예를 들어 CEACAM7, SLC26A3, CA1, SYT15, CA4, TFF1, 및/또는 KRT20의 발현을 증가시킨다. 일부 실시양태에서, 암은 부신암, 방광암, 뇌암, 유방암, 자궁경부암, 결장암, 두경부암, 신장암, 백혈병, 간암, 폐암 (예를 들어, NSCLC), 림프성 암, 난소암, 췌장암, 전립선암, 직장암, 피부암 (예를 들어, 흑색종), 위암, 갑상선암, 및/또는 자궁암이다. 일부 실시양태에서, 암은 폐암 (예를 들어, NSCLC), 난소암, 유방암, 간암, 또는 다발성 골수종이다. 일부 실시양태에서, 암은 결장직장암이다.

[0371] 추가 측면에서, 본 발명은 의약의 제작 또는 제조에서의 항-RSPO 항체의 용도를 제공한다. 한 실시양태에서, 의약은 종양, 세포 증식성 장애, 및/또는 암의 치료를 위한 것이다. 추가 실시양태에서, 의약은 종양, 세포 증식성 장애, 및/또는 암에 걸린 개체에게 의약의 유효량을 투여하는 것을 포함하는, 종양, 세포 증식성 장애, 및/또는 암을 치료하는 방법에 사용하기 위한 것이다. 일부 실시양태에서, 암은 결장직장암이다. 하나의 이러한 실시양태에서, 상기 방법은 개체에게 예를 들어 하기 기재된 바와 같은 적어도 1종의 추가의 치료제의 유효량을 투여하는 것을 추가로 포함한다. 추가 실시양태에서, 의약은 wnt 신호전달을 억제하고/거나, 혈관신생을 억제

하고/거나, 세포 증식을 억제하고/거나, 암 줄기 세포 증식을 억제하고/거나, 암 줄기 세포를 고갈시키기 위한 것이다. 추가 실시양태에서, 의약은 개체에게 의약의 유효량을 투여하여 wnt 신호전달을 억제하고/거나, 혈관신생을 억제하고/거나, 세포 증식을 억제하고/거나, 암 줄기 세포 증식을 억제하고/거나, 암 줄기 세포를 고갈시키는 것을 포함하는, 개체에서 wnt 신호전달을 억제하고/거나, 혈관신생을 억제하고/거나, 세포 증식을 억제하고/거나, 암 줄기 세포 증식을 억제하고/거나, 암 줄기 세포를 고갈시키는 방법에 사용하기 위한 것이다. 임의의 상기 실시양태에 따른 "개체"는 인간일 수 있다. 일부 실시양태에서, 개체 및/또는 암은 1종 이상의 바이오마커를 갖는다. 일부 실시양태에서, 1종 이상의 바이오마커는 RSPO 전위를 포함한다. 일부 실시양태에서, RSPO 전위는 RSPO2 및/또는 RSPO3 전위를 포함한다. 일부 실시양태에서, 개체 및/또는 암은 1종 이상의 바이오마커의 증가된 발현을 갖는다. 일부 실시양태에서, 1종 이상의 바이오마커는 RSPO, 예를 들어 RSPO2 및/또는 RSPO3을 포함한다. 일부 실시양태에서, 1종 이상의 바이오마커는 줄기 세포 바이오마커를 포함한다. 일부 실시양태에서, 줄기 세포 바이오마커는 Myc, Axin2, LGR5, TERT, BIRC5, 및/또는 Ascl12를 포함한다. 일부 실시양태에서, 개체 및/또는 암은 1종 이상의 분화 바이오마커의 감소된 발현을 갖는다. 일부 실시양태에서, 분화 바이오마커는 CEACAM7, SLC26A3, CA1, SYT15, CA4, TFF1, 및/또는 KRT20을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-RSPO 항체를 사용한 치료는 1종 이상의 줄기 세포 바이오마커, 예를 들어 Myc, Axin2, LGR5, TERT, BIRC5, 및/또는 Ascl12의 발현을 감소시킨다. 일부 실시양태에서, 항-RSPO 항체를 사용한 치료는 1종 이상의 분화 바이오마커, 예를 들어 CEACAM7, SLC26A3, CA1, SYT15, CA4, TFF1, 및/또는 KRT20의 발현을 증가시킨다. 일부 실시양태에서, 암은 부신암, 방광암, 뇌암, 유방암, 자궁경부암, 결장암, 두경부암, 신장암, 백혈병, 간암, 폐암(예를 들어, NSCLC), 림프성 암, 난소암, 췌장암, 전립선암, 직장암, 피부암(예를 들어, 흑색종), 위암, 갑상선암, 및/또는 자궁암이다. 일부 실시양태에서, 암은 폐암(예를 들어, NSCLC), 난소암, 유방암, 간암, 또는 다발성 골수종이다.

[0372] 추가 측면에서, 본 발명은 종양, 세포 증식성 장애, 및/또는 암을 치료하는 방법을 제공한다. 한 실시양태에서, 상기 방법은 이러한 종양, 세포 증식성 장애, 및/또는 암에 걸린 개체에게 항-RSPO 항체의 유효량을 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 암은 결장직장암이다. 하나의 이러한 실시양태에서, 상기 방법은 개체에게 예를 들어 하기 기재된 바와 같은 적어도 1종의 추가의 치료제의 유효량을 투여하는 것을 추가로 포함한다. 임의의 상기 실시양태에 따른 "개체"는 인간일 수 있다. 일부 실시양태에서, 개체 및/또는 암은 1종 이상의 바이오마커를 갖는다. 일부 실시양태에서, 1종 이상의 바이오마커는 RSPO 전위를 포함한다. 일부 실시양태에서, RSPO 전위는 RSPO2 및/또는 RSPO3 전위를 포함한다. 일부 실시양태에서, 개체 및/또는 암은 1종 이상의 바이오마커의 증가된 발현을 갖는다. 일부 실시양태에서, 1종 이상의 바이오마커는 RSPO, 예를 들어 RSPO2 및/또는 RSPO3을 포함한다. 일부 실시양태에서, 1종 이상의 바이오마커는 줄기 세포 바이오마커를 포함한다. 일부 실시양태에서, 줄기 세포 바이오마커는 Myc, Axin2, LGR5, TERT, BIRC5, 및/또는 Ascl12를 포함한다. 일부 실시양태에서, 개체 및/또는 암은 1종 이상의 분화 바이오마커의 감소된 발현을 갖는다. 일부 실시양태에서, 분화 바이오마커는 CEACAM7, SLC26A3, CA1, SYT15, CA4, TFF1, 및/또는 KRT20을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-RSPO 항체를 사용한 치료는 1종 이상의 줄기 세포 바이오마커, 예를 들어 Myc, Axin2, LGR5, TERT, BIRC5, 및/또는 Ascl12의 발현을 감소시킨다. 일부 실시양태에서, 항-RSPO 항체를 사용한 치료는 1종 이상의 분화 바이오마커, 예를 들어 CEACAM7, SLC26A3, CA1, SYT15, CA4, TFF1, 및/또는 KRT20의 발현을 증가시킨다. 일부 실시양태에서, 암은 부신암, 방광암, 뇌암, 유방암, 자궁경부암, 결장암, 두경부암, 신장암, 백혈병, 간암, 폐암(예를 들어, NSCLC), 림프성 암, 난소암, 췌장암, 전립선암, 직장암, 피부암(예를 들어, 흑색종), 위암, 갑상선암, 및/또는 자궁암이다. 일부 실시양태에서, 암은 폐암(예를 들어, NSCLC), 난소암, 유방암, 간암, 또는 다발성 골수종이다.

[0373] 추가 측면에서, 본 발명은 개체에서 wnt 신호전달을 억제하고/거나, 혈관신생을 억제하고/거나, 세포 증식을 억제하고/거나, 암 줄기 세포 증식을 억제하고/거나, 암 줄기 세포를 고갈시키는 방법을 제공한다. 한 실시양태에서, 상기 방법은 개체에게 항-RSPO 항체의 유효량을 투여하여 wnt 신호전달을 억제하고/거나, 혈관신생을 억제하고/거나, 세포 증식을 억제하고/거나, 암 줄기 세포 증식을 억제하고/거나, 암 줄기 세포를 고갈시키는 것을 포함한다. 한 실시양태에서, "개체"는 인간이다. 일부 실시양태에서, 개체 및/또는 암은 1종 이상의 바이오마커를 갖는다. 일부 실시양태에서, 1종 이상의 바이오마커는 RSPO 전위를 포함한다. 일부 실시양태에서, RSPO 전위는 RSPO2 및/또는 RSPO3 전위를 포함한다. 일부 실시양태에서, 개체 및/또는 암은 1종 이상의 바이오마커의 증가된 발현을 갖는다. 일부 실시양태에서, 1종 이상의 바이오마커는 RSPO, 예를 들어 RSPO2 및/또는 RSPO3을 포함한다. 일부 실시양태에서, 1종 이상의 바이오마커는 줄기 세포 바이오마커를 포함한다. 일부 실시양태에서, 줄기 세포 바이오마커는 Myc, Axin2, LGR5, TERT, BIRC5, 및/또는 Ascl12를 포함한다. 일부 실시양태에서, 개체 및/또는 암은 1종 이상의 분화 바이오마커의 감소된 발현을 갖는다. 일부 실시양태에서, 분화

바이오마커는 CEACAM7, SLC26A3, CA1, SYT15, CA4, TFF1, 및/또는 KRT20을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-RSPO 항체를 사용한 치료는 1종 이상의 줄기 세포 바이오마커, 예를 들어 Myc, Axin2, LGR5, TERT, BIRC5, 및/또는 Ascl12의 발현을 감소시킨다. 일부 실시양태에서, 항-RSPO 항체를 사용한 치료는 1종 이상의 분화 바이오마커, 예를 들어 CEACAM7, SLC26A3, CA1, SYT15, CA4, TFF1, 및/또는 KRT20의 발현을 증가시킨다. 일부 실시양태에서, 암은 부신암, 방광암, 뇌암, 유방암, 자궁경부암, 결장암, 두경부암, 신장암, 백혈병, 간암, 폐암(예를 들어, NSCLC), 림프성 암, 난소암, 췌장암, 전립선암, 직장암, 피부암(예를 들어, 흑색종), 위암, 갑상선암, 및/또는 자궁암이다. 일부 실시양태에서, 암은 폐암(예를 들어, NSCLC), 난소암, 유방암, 간암, 또는 다발성 골수종이다. 일부 실시양태에서, 암은 결장직장암이다.

[0374] 추가 측면에서, 본 발명은 예를 들어 임의의 상기 치료 방법에 사용하기 위한, 본원에 제공된 임의의 항-RSPO 항체를 포함하는 제약 제제를 제공한다. 한 실시양태에서, 제약 제제는 본원에 제공된 임의의 항-RSPO 항체 및 제약상 허용되는 담체를 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 제약 제제는 본원에 제공된 임의의 항-RSPO 항체, 및 예를 들어 하기 기재된 바와 같은 적어도 1종의 추가의 치료제를 포함한다. 일부 실시양태에서, RSPO는 RSPO2이다. 일부 실시양태에서, RSPO는 RSPO3이다. 일부 실시양태에서, RSPO는 RSPO2 및 RSPO3이다. 일부 실시양태에서, 개체 및/또는 암은 1종 이상의 바이오마커의 증가된 발현을 갖는다. 일부 실시양태에서, 1종 이상의 바이오마커는 RSPO, 예를 들어, RSPO2 및/또는 RSPO3을 포함한다. 일부 실시양태에서, 1종 이상의 바이오마커는 줄기 세포 바이오마커를 포함한다. 일부 실시양태에서, 줄기 세포 바이오마커는 Myc, Axin2, LGR5, TERT, BIRC5, 및/또는 Ascl12를 포함한다. 일부 실시양태에서, 개체 및/또는 암은 1종 이상의 분화 바이오마커의 감소된 발현을 갖는다. 일부 실시양태에서, 분화 바이오마커는 CEACAM7, SLC26A3, CA1, SYT15, CA4, TFF1, 및/또는 KRT20을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-RSPO 항체를 사용한 치료는 1종 이상의 줄기 세포 바이오마커, 예를 들어 Myc, Axin2, LGR5, TERT, BIRC5, 및/또는 Ascl12의 발현을 감소시킨다. 일부 실시양태에서, 항-RSPO 항체를 사용한 치료는 1종 이상의 분화 바이오마커, 예를 들어 CEACAM7, SLC26A3, CA1, SYT15, CA4, TFF1, 및/또는 KRT20의 발현을 증가시킨다. 일부 실시양태에서, 암은 부신암, 방광암, 뇌암, 유방암, 자궁경부암, 결장암, 두경부암, 신장암, 백혈병, 간암, 폐암(예를 들어, NSCLC), 림프성 암, 난소암, 췌장암, 전립선암, 직장암, 피부암(예를 들어, 흑색종), 위암, 갑상선암, 및/또는 자궁암이다. 일부 실시양태에서, 암은 폐암(예를 들어, NSCLC), 난소암, 유방암, 간암, 또는 다발성 골수종이다. 일부 실시양태에서, 암은 결장직장암이다.

[0375] 본 발명의 항체는 요법에서 단독으로 또는 다른 작용제와 조합되어 사용될 수 있다. 예를 들어, 본 발명의 항체는 적어도 1종의 추가의 치료제와 공-투여될 수 있다. 특정 실시양태에서, 추가의 치료제는 세포독성제, 화학요법제, 세포증식억제제, 항호르몬제 및/또는 EGFR 억제제이다.

[0376] 상기 언급된 이러한 조합 요법은 조합 투여(2종 이상의 치료제가 동일 또는 개별 제제에 포함됨) 및 개별 투여를 포함하고, 이러한 경우에 본 발명의 항체의 투여는 추가의 치료제 또는 치료제들의 투여 전에, 그와 동시에, 및/또는 그 후에 이루어질 수 있다. 한 실시양태에서, 항-RSPO 항체의 투여 및 추가의 치료제의 투여는 서로 약 1개월 내, 또는 약 1, 2 또는 3주 내, 또는 약 1, 2, 3, 4, 5 또는 6일 내에 이루어진다. 또한, 본 발명의 항체는 방사선 요법과 조합되어 사용될 수 있다.

[0377] 본 발명의 항체(및 임의의 추가의 치료제)는 비경구, 폐내 및 비강내를 비롯한 임의의 적합한 수단에 의해 투여될 수 있고, 원하는 경우에 국부 치료를 위해 병변내 투여될 수 있다. 비경구 주입은 근육내, 정맥내, 동맥내, 복강내 또는 피하 투여를 포함한다. 투여는 임의의 적합한 경로, 예를 들어 부분적으로는 투여가 단기적인지 장기적인지에 따라 정맥내 또는 피하 주사와 같은 주사에 의해 이루어질 수 있다. 단일 투여 또는 다양한 시점에 걸친 다중 투여, 볼루스 투여 및 펄스 주입을 포함하나 이에 제한되지는 않는 다양한 투여 스케줄이 본원에서 고려된다.

[0378] 본 발명의 항체는 우수한 의료 행위에 부합하는 방식으로 제제화, 투약 및 투여될 것이다. 이와 관련하여 고려할 인자는 치료할 특정한 장애, 치료할 특정한 포유동물, 개개의 환자의 임상 상태, 장애의 원인, 작용제의 전달 부위, 투여 방법, 투여 스케줄링, 및 진료의에게 공지된 다른 인자를 포함한다. 항체는, 그러할 필요는 없지만, 해당 장애를 예방 또는 치료하는데 현재 사용되는 1종 이상의 작용제와 함께 임의로 제제화된다. 이러한 다른 작용제의 유효량은 제제 내에 존재하는 항체의 양, 장애 또는 치료의 유형, 및 상기 논의된 다른 인자에 의존한다. 이는 일반적으로 상기 기재된 바와 동일한 투여량 및 투여 경로로, 또는 본원에 기재된 투여량의 약 1 내지 99%로, 또는 실험적으로/임상적으로 적절한 것으로 결정된 임의의 투여량 및 임의의 경로에 의해 사용된다.

[0379]

질환의 예방 또는 치료를 위해, 본 발명의 항체의 적절한 투여량 (단독으로, 또는 1종 이상의 다른 추가의 치료제와 조합되어 사용되는 경우)는 치료할 질환의 유형, 항체의 유형, 질환의 중증도 및 경과, 항체가 예방 또는 치료 목적으로 투여되는지 여부, 선행 요법, 환자의 임상 병력 및 항체에 대한 반응, 및 담당의의 판단에 따라 다를 것이다. 항체는 한번에 또는 일련의 치료에 걸쳐 환자에게 적합하게 투여된다. 질환의 유형 및 중증도에 따라, 예를 들어 1회 이상의 개별 투여에 의한 것이든 또는 연속 주입에 의한 것이든 관계없이, 약 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 내지 15 mg/kg (예를 들어, 0.1 mg/kg -10 mg/kg)의 항체가 환자에의 투여를 위한 초기 후보 투여량일 수 있다. 한 전형적인 1일 투여량은 상기 언급된 인자에 따라 약 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 내지 100 mg/kg 또는 그 초과의 범위일 수 있다. 수일 이상에 걸친 반복 투여의 경우에, 상태에 따라 치료는 일반적으로 질환 증상의 목적하는 억제가 발생할 때까지 지속될 것이다. 항체의 하나의 예시적인 투여량은 약 0.05 mg/kg 내지 약 10 mg/kg 의 범위 내일 것이다. 따라서, 약 0.5 mg/kg , 2.0 mg/kg , 4.0 mg/kg 또는 10 mg/kg (또는 그의 임의의 조합) 중 1종 이상의 용량이 환자에게 투여될 수 있다. 이러한 용량은 간헐적으로, 예를 들어 매주 또는 3주마다 투여될 수 있다 (예를 들어, 약 2회 내지 약 20회, 또는 예를 들어 약 6회 용량의 항체가 환자에게 제공되도록). 초기의 보다 높은 부하 용량에 이어서, 1회 이상의 보다 낮은 용량이 투여될 수 있다. 그러나, 다른 투여 요법이 유용할 수 있다. 이러한 요법의 진행은 통상적인 기술 및 검정에 의해 용이하게 모니터링된다.

[0380]

임의의 상기 제제 또는 치료 방법은 항-RSP0 항체를 대신하여 또는 이에 더하여 본 발명의 면역접합체를 사용하여 수행될 수 있는 것으로 이해된다.

[0381]

H. 제조 물품

[0382]

본 발명의 또 다른 측면에서, 상기 기재된 장애의 치료, 예방 및/또는 진단에 유용한 물질을 함유하는 제조 물품이 제공된다. 제조 물품은 용기, 및 용기 상에 있거나 용기와 회합된 라벨 또는 패키지 삽입물을 포함한다. 적합한 용기는 예를 들어 병, 바이알, 시린지, IV 용액 백 등을 포함한다. 용기는 다양한 물질, 예컨대 유리 또는 플라스틱으로 형성될 수 있다. 용기는 조성물을 그 자체로 수용하거나 또는 상태의 치료, 예방 및/또는 진단에 유효한 또 다른 조성물과 조합하여 수용하며, 멀균 접근 포트를 가질 수 있다 (예를 들어, 용기는 피하주사 바늘로 뽑을 수 있는 마개를 갖는 정맥내 용액 백 또는 바이알일 수 있음). 조성물 중 적어도 1종의 활성제는 본 발명의 항체이다. 라벨 또는 패키지 삽입물은 조성물이 선택된 상태를 치료하는데 사용된다는 것을 나타낸다. 또한, 제조 물품은 (a) 내부에 본 발명의 항체를 포함하는 조성물이 수용된 제1 용기; 및 (b) 내부에 추가의 세포독성제 또는 다른 치료제를 포함하는 조성물이 수용된 제2 용기를 포함할 수 있다. 본 발명의 이러한 실시양태에서 제조 물품은 조성물이 특정한 상태를 치료하는데 사용될 수 있음을 나타내는 패키지 삽입물을 추가로 포함할 수 있다. 대안적으로 또는 추가로, 제조 물품은 제약상 허용되는 완충제, 예컨대 정박테리아 주사용수 (BWFI), 포스페이트-완충 염수, 링거액 및 텍스트로스 용액을 포함하는 제2 (또는 제3) 용기를 추가로 포함할 수 있다. 이는 다른 완충제, 희석제, 필터, 바늘 및 시린지를 비롯하여, 상업적 및 사용자 관점에서 바람직한 다른 물질을 추가로 포함할 수 있다.

[0383]

임의의 상기 제조 물품은 항-RSP0 항체를 대신하여 또는 이에 더하여 본 발명의 면역접합체를 포함할 수 있는 것으로 이해된다.

[0384]

III. 실시예

[0385]

다음은 본 발명의 방법 및 조성물의 실시예이다. 상기 제공된 일반적 설명을 고려하여 다양한 다른 실시양태가 실시될 수 있는 것으로 이해된다.

[0386]

방법

[0387]

클로닝 및 정제: FLAG-태그부착된 RNF43을 항-FLAG 친화성 크로마토그래피 (제넨테크)에 이어 크기-배제 크로마토그래피 (슈퍼덱스(Superdex) 75, 지이 헬스케어(GE Healthcare))에 의해 정제하였다. FLAG-태그부착된 R-스폰딘 (hRSP02, hRSP02 L186, cynoRSP02, hRSP03, 및 cynoRSP03FLAG)은 항-FLAG 친화성 크로마토그래피에 이어 양이온 교환 크로마토그래피 (모노 에스(Mono S), 지이 헬스케어)에 의해 정제하였다. 인간 IgG1 Fc-태그부착된 LGR 세포와 도메인은 친화성 크로마토그래피 (맵셀렉트 슈어(MabSelect SuRe), 지이 헬스케어)에 이어 크기-배제 크로마토그래피 (슈퍼덱스 200, 지이 헬스케어)에 의해 정제하였다.

[0388]

WNT 리포터 검정: 96 웰 플레이트에서, 웰당 4,500 293T 세포를 2.5% 소 태아 혈청으로 보충된 90 ul DMEM 중에 플레이팅하였다. 배양 16-20시간 후에, 퓨젠(Fugene) 6 (프로메가, 위스콘신주 매디슨)을 사용하여 10 ul 형질감염 믹스 중 0.04 ug 탑브라이트(Topbrrite) 25 및 0.02 ug SV40 레닐라(Renilla) DNA로 세포를 공동-형질감염시켰다. 추가의 배양 16-20시간 후에, 세포를 25 ul 5X 용액으로 37°C에서 6시간 동안 자극하였다. 상청

액 스크린을 위해, 세포를 50 ng/ml rmWNT3a (알엔디 시스템즈, 미네소타주 미네아폴리스) 및 250 pM rhRSPO2 또는 rhRSPO3 (알엔디 시스템즈, 미네소타주 미네아폴리스)으로 보충된 하이브리도마 상청액으로 자극하였다. 클로닝된 항체를 사용한 검정을 위해, 10% 소 태아 혈청, 50 ng/ml rmWNT3a, 250 pM 또는 5X 계산된 EC50 rhRSPO (지시된 바와 같음) 및 증가하는 농도의 항체로 보충된 DMEM을 첨가하였다. 조건화 배지를 시험하는 검정을 위해, 퓨젠 6을 제조업체의 지침 (프로메가, 위스콘신주 매디슨)에 따라 사용하여 지시된 유전자로 293T를 형질감염시켜 배지를 제조하였다. 형질감염 3일 후에 조건화 배지를 수집하고, 50 ng/ml rmWNT3a +/- 항-RSPO 항체로 보충하고, 리포터 세포에 첨가하였다. 6시간 동안의 자극 후에, 루시페라제 활성을 프로메가 듀얼-글로 (Dual-Glo) 시스템 (프로메가, 위스콘신주 매디슨)을 사용하여 검출하였다. 데이터를 반딧불이/레닐라 (RLU WNT 리포터) 비로서 분석하거나, 또는 항체 부재 하에 값을 정규화하였다 (항체 존재 하의 RLU/항체 부재 하의 RLU). IC50 측정치는 증가하는 농도의 항체와 함께 rhRSPO의 EC50으로 세포를 자극하는 것에 의해 결정하였다. Log 변환 데이터를 그라프패드(GraphPad) 프리즘을 사용하여 4-파라미터 용량-반응 방정식에 피팅시켰다.

[0389] RSPO-발현 세포 펠럿의 생성: pGCIG는 pGIPZ의 R -CMV_{ie}-tGFP-IRES-Puro^R-shRNA-WRE 내용물 (오픈 바이오시스 템즈(Open Biosystems))을 CMVie 프로모터, 다중 클로닝 부위 (MCS), 내부 리보솜 진입 부위 (IRES) 및 증진된 녹색 형광 단백질 (eGFP)을 함유하는 단편으로 대체하는 것에 의해 생성된 HIV-기반 자가-불활성화 렌티바이러스 벡터이다. 인간 R-스폰дин 1-4 오픈 리딩 프레임 (ORF)을 PCR에 의해 C-말단에 HA 에피토프 (YPYDVPDYA)로 태그부착시키고, pGCIG의 MCS 내로 삽입하였다. 형질감염 24시간 전에, HEK-293 세포를 15-cm 디쉬 상의 10% 열 불활성화된 FBS를 함유하는 DMEM 고 글루코스 중 15×10^6 개 세포/플레이트로 플레이팅하였다. pGCIG-hRSPO 6 ug, 패키징 벡터 Δ 8.9 12 ug (Zufferey et al., 1997), 외피 벡터 pVSV-G 3 ug (클론테크(Clontech)) 및 형질감염 시약 진주스(Genejuice) (노바젠(Novagen))를 사용한 공동형질감염에 의해 렌티바이러스 상청액을 제조하였다. 형질감염 12시간 후에 배양 배지를 대체하고, 24시간 후에 바이러스 상청액을 수집하고, 0.45 μ m PES 필터 (날진(Nalgene))를 통해 여과하고, 추가의 가공까지 4°C에서 저장하였다. HEK-293 세포를 10-cm 디쉬 상의 10% 열 불활성화된 FBS를 함유하는 DMEM 고 글루코스 중 1×10^6 개 세포/플레이트로 플레이팅하였다. 세포가 12시간 동안 부착되게 한 후에, 배지를 10 ml의 바이러스 상청액으로 대체하였다. 바이러스 상청액을 세포 상에 60시간 동안 잔류시킨 후에, 세포를 수거하고, FACS에 의해 형광 단백질 발현을 분석하였다. 각각의 바이러스 구축물에 대해 2×10^5 저, 중 및 고 eGFP 발현 세포가 분류되도록 게이트를 설정하였다. 세포주를 확장시키고, HIV-1 p24 항원 ELISA 2.0 키트 (젭토메트릭스 코포레이션(ZeptoMetrix Corporation))를 사용하여 복제 적격 바이러스 (RCV) 생산의 부재에 대해 시험하였다. 농축된 세포 배양 상청액의 항-HA 웨스턴 블로팅에 의해 인간 R-스폰дин의 발현 및 분비를 확인하였고, 이는 eGFP 발현 수준과 잘 상관되었다.

[0390] IHC 반응성 스크리닝: 포르말린-고정 파라핀-포매 세포 플레이트를 4 μ m로 절편화하였다. 슬라이드를 시트레이트-계 pH 6.0 완충제 (다코(Dako) cat no. S1699, 캘리포니아주 카핀테리아)로 99°C에서 20분 동안 사전-처리하였다. 10% 혈청 차단 후에, 항-RSPO 혈청을 1:250으로 사용하고, 하이브리도마 상청액을 구동시켰다. 1:250의 면역-전 혈청 또는 총 농도 10 ug/ml의 나이브 마우스 IgG1, 2a, 및 2b를 음성 대조군으로서 사용하였다. 비오티닐화 당나귀 항-마우스 2차 (잭슨 이뮤노(Jackson Immuno) cat no 715-065-151, 펜실베니아주 웨스터 그로브)를 5ug/ml로 사용하였다. 벡타스테인 엘리트(VECTASTAIN Elite) ABC 키트 (표준*) (벡터 랩스(Vector Labs) cat no PK-6100)를 검출을 위해 사용하였고, 신호는 피어스(Pierce) 메탈 인핸스드 DAB (씨모(Thermo) cat no 34065, 일리노이주 록포드)로 가시화하였다.

[0391] 에피토프 비닝: 옥테트 레드384 기기 (포르테바이오(ForteBio))를 사용하여 항-RSPO 항체의 에피토프 비닝을 수행하였다. 재조합 RSPO (알엔디 시스템즈, 미네소타주 미네아폴리스)를 비오티닐화하고, 스트렙타비딘 바이오센서 상에 120초 동안 10 μ g/ml로 포획시켰다. 제1 항체의 포화상태까지의 결합은 10 μ g/ml를 600초 동안 첨가하는 것에 의해 달성되었다. 동일한 바이오센서를 5 μ g/ml의 경쟁 항체 내로 침지시키고, 300초 동안 결합을 측정하였다. 제1 항체의 포화량의 존재 하에서의 제2 항체의 결합 실패는 2종의 항체가 동일한 에피토프 빈에 존재함을 나타내었다.

[0392] 친화도 측정: 항-RSPO 항체의 결합 친화도는 비아코어™-2000 기기를 사용하는 표면 플라즈몬 공명 (SPR)에 의해 측정하였다. CM5 바이오센서 칩을 N-에틸-N'-(3-디메틸아미노프로필)-카르보디이미드 히드로클로라이드 (EDC) 및 N-히드록시숙신이미드 (NHS) 시약으로 공급업체 (지이 헬스케어 바이오사이언시스(GE Healthcare Biosciences), 뉴저지주 피스카타웨이)의 지침에 따라 활성화시켰다. RSPO 항원을 바이오센서 칩 상에 고정시켜 대략 250 반응 유닛 (RU)을 달성한 다음, 1M 에탄올아민으로 차단시켰다.

- [0393] 동역학 측정을 위해, 항-RSPO Fab의 2-배 연속 희석물을 HBS-P 완충제 (0.01M HEPES pH 7.4, 0.15M NaCl, 0.005% 계면활성제 P20) 중에 25°C에서 30 μl/분의 유량으로 주입하였다. 단순 1-대-1 랜덤어 결합 모델 (비아코어 평가 소프트웨어 버전 3.2)을 사용하여 결합률 (k_{on}) 및 해리율 (k_{off})을 계산하였다. 평형 해리 상수 (K D)는 비 k_{off}/k_{on} 으로서 계산하였다.
- [0394] 경쟁적 결합 ELISA: RSPO에 대한 LGR4 및 -5 ECD의 결합을 차단하는데 있어서 항-RSPO 항체의 활성을 측정하기 위해, 맥시소르프(MaxiSorp) 384-웰 마이크로웰 플레이트 (써모 사이언티픽 눈크(Thermo Scientific Nunc), 덴마크 로스킬데)를 50 mM 카르보네이트 완충제, pH 9.6 중 0.5 μg/ml hRSPO2 또는 hRSPO3 (제넨테크)의 25 u1/웰로 4°C에서 밤새 코팅시켰다. 플레이트를 포스페이트 완충 염수 (PBS), pH 7.4 중 0.5% 소 혈청 알부민, 15 백만분율 프로클린(Proclin) 300의 80 u1/웰로 1시간 동안 차단시켰다. 검정 완충제 (PBS 중 0.5% BSA, 0.05% 폴리소르베이트 20, 15 백만분율 프로클린 300) 중 0.1 μg/ml LGR4-Fc 또는 0.015 μg/ml LGR5-Fc를 함유하는 연속 희석된 항-RSPO 항체 (3-배 연속 희석물 플러스 완충제 블랭크 중 0.078-10 ng/ml)를 플레이트에 25 u1/웰로 첨가하였다. 2-시간 인큐베이션 후에, 플레이트에 결합된 LGR4-Fc 및 LGR5-Fc를 페옥시다제 표지된 염소 F(ab')2 항-인간 Fc (잭슨 이뮤노리서치(Jackson ImmunoResearch), 펜실베니아주 웨스트 그로브)를 사용하여 검출하였다. 1시간 인큐베이션 후에, 기질 3,3',5,5'-테트라메틸 벤지딘 (모스 인크.(Moss Inc.), 매릴랜드주 파사데나)을 플레이트에 첨가하고, 1 M 인산을 첨가하여 반응을 정지시켰다. 단계 사이에는 플레이트를 0.05% 트원 20을 함유하는 PBS, pH 7.4로 세척하고, 코팅 단계 후의 모든 인큐베이션 단계는 오비탈 전탕기 상에서 실온에서 수행하였다. 흡광도를 멀티스캔 아센트 판독기 (써모 사이언티픽, 뉴햄프셔주 허드슨) 상에서 450 nm에서 판독하였다.
- [0395] RSPO에 대한 RNF43의 결합을 차단하는데 있어서 항-RSPO 항체의 활성은 0.5 ng/ml 비오티닐화 RNF43-Flag (RSPO2 코팅된 플레이트에 대해) 또는 20 ng/ml 비오티닐화 RNF43-Flag (RSPO3 코팅된 플레이트에 대해)를 사용하여 유사하게 측정하였다. 결합된 비오티닐화 RNF43-Flag는 페옥시다제 표지된 스트렙타비딘 (지이 헬스케어, 뉴저지주 피스카타웨이)에 이어 상기 기재된 바와 같은 기질을 사용하여 검출하였다.
- [0396] 항-RSPO3 항체의 인간화: 모노클로날 항체 5D6을 하기 기재된 바와 같이 인간화하였다. 잔기 번호는 문헌 [Kabat et al., Sequences of proteins of immunological interest, 5th Ed., Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991)]에 따른다.
- [0397] 5D6의 인간화 동안 구축된 변이체를 Fab 형태로 평가하였다. 뮤린 5D6으로부터의 VL 및 VH 도메인을 인간 VL 카파 I (VLKI) 및 인간 VH 하위군 IV (VH4) 컨센서스 서열과 정렬시켰다. 뮤린 항체로부터의 초가변 영역을 VLKI 및 VHI 수용자 프레임워크로 조작하였다. 구체적으로, mu5D6 VL 도메인으로부터, 위치 24-34 (L1), 50-56 (L2) 및 89-97 (L3)을 VLKI에 그라프팅시키고, mu5D6 VH 도메인으로부터; 위치 26-35 (H1), 50-65 (H2) 및 95-102 (H3)를 VHI에 그라프팅시켰다. mu5D6으로부터의 모든 VL 및 VH 베니어 위치를 또한 VLK1 및 VH4에 각각 그라프팅시켰다. 이러한 그라프트를 v1이라 지칭한다.
- [0398] 본 섹션에서 항체의 결합 친화도는 비아코어™ T200 포맷에 의해 결정하였다. 간략하게, 비아코어™ 연구 등급 CM5 칩을 1-에틸-3-(3-디메틸아미노프로필) 카르보디이미드 (EDC) 및 N-히드록시숙신이미드 (NHS) 시약으로 공급업체의 지침에 따라 활성화시켰다. huRSPO3을 고정시켜 각각의 유동 셀 내에 대략 50 반응 유닛 (RU)을 달성하였다. 미반응 커플링 기를 1M 에탄올아민으로 차단시켰다. 동역학 측정을 위해, 변이체 항체의 4-배 연속 희석물을 25°C에서 HBS-P 완충제 (0.01M HEPES pH7.4, 0.15M NaCl, 0.005% 계면활성제 P20) 중에 30 μl/분의 유량으로 주입하였다. 결합률 (k_{on}) 및 해리율 (k_{off})을 1:1 랜덤어 결합 모델 (비아코어™ T200 평가 소프트웨어 버전 2.0)을 사용하여 계산하였다. 평형 해리 상수 (Kd)는 비 k_{off}/k_{on} 으로서 계산하였다.
- [0399] 결정학 RSPO3 (M33-E210) 정제: N-말단 His-MBP 태그를 함유하는 RSPO3 (M33-E210)을 키푸넨신으로 처리한 배지에서 성장시킨 SF9 세포에서 비태그부착된 EndoH와 공동-발현시켰다. 세포 상청액을 수거하고, 세척 완충제 (25 mM 트리스-HCl pH 7.5, 500 mM NaCl, 20 mM 이미다졸, 5% 글리세롤) 중에서 사전-평형화시킨 10 mL 니켈-NTA 아가로스 칼럼 상에 통과시켰다. 이어서 칼럼을 10 칼럼 부피의 세척 완충제로 세척하였다. 5 칼럼 부피의 용리 완충제 (25 mM 트리스-HCl pH 7.5, 500 mM NaCl, 300 mM 이미다졸, 10% 글리세롤)를 사용하여 칼럼으로부터 단백질을 용리시키고, 30 mL 미만으로 농축시켰다. TEV 프로테아제를 첨가하고, 샘플을 투석 완충제 (25 mM 트리스-HCl pH 7.5, 500 mM NaCl, 10 mM 이미다졸, 10% 글리세롤)에 대해 4°C에서 밤새 투석시켰다. 투석 후에, 샘플을 세척 완충제로 사전-평형화시킨 5 mL HisTrap 칼럼을 통해 통과시켰다. 이어서 샘플을 2 mL 미만으로 농축시키고, 겔 여과 완충제 (25 mM 트리스-HCl pH 7.5, 300 mM NaCl, 5% 글리세롤)로 사전-평형화시킨 슈퍼넥스 75 16/60 칼럼에 적용하였다. RSPO3 (M33-E210)을 함유하는 분획을 풀링하고 농축시켰다. 분취물

을 -80°C 에서 저장하였다.

- [0400] 결정학 Fab 정제: Fab 5D6 및 26E11을 이. 콜라이 세포에서 발현시켰다. 세포 페이스트를 용해 완충제 (25 mM EDTA 및 1 mM PMSF로 보충된 PBS) 중에 재현탁시키고, 미세유동화기를 통한 3회 통과에 의해 세포를 용해시켰다. 이어서 용해물을 12,000 rpm에서 1시간 동안 회전시키고, 청정화된 용해물을 0.8 μm 필터를 통해 여과하였다. 청정화된 용해물을 25 mM EDTA로 보충된 PBS로 사전-평형화시킨 25 mL 단백질 G 칼럼에 직접 적용하였다. 칼럼을 10 칼럼 부피의 PBS로 세척하고, 단백질을 0.58% 아세트산으로 용리시켰다. 이어서 용리물을 완충제 A (20 mM MES pH 5.5)로 사전-평형화시킨 HiTrap SP HP 칼럼 상에 로딩하였다. 칼럼을 10 칼럼 부피의 완충제 A로 세척하고, 단백질을 완충제 A에서 완충제 B (20 mM MES pH 5.5, 500 mM NaCl)의 20 칼럼 부피 선형 구배로 용리시켰다. Fab를 함유하는 분획을 풀링하고, 2 mL 미만으로 농축시키고, 겔 여과 완충제로 사전-평형화시킨 슈퍼텍스 75 26/60 칼럼에 적용하였다. Fab를 함유하는 분획을 풀링하고 농축시켰다. 분취물을 -80°C 에서 저장하였다.
- [0401] 결정학 RSP03/Fab 복합체 정제: 복합체를 형성하기 위해, 1.25-배 몰 과량의 RSP03 (M33-E210)을 겔 여과 완충제를 함유하는 800 μL 결합 반응물 중 어느 하나의 Fab 150 nmol에 첨가하였다. 결합 반응물을 냉장에서 1시간 동안 인큐베이션시켰다. 이어서 반응물을 4°C 에서 13,000 rpm으로 회전시키고, 겔 여과 완충제로 사전-평형화시킨 슈퍼텍스 75 16/60 칼럼 상에 로딩하였다. 복합체를 함유하는 분획을 풀링하고, 20 mg/mL로 농축시켰다. 분취물을 -80°C 에서 저장하였다.
- [0402] 결정학: RSP03 (M33-E210)/Fab 5D6의 경우에, 랩사이트 에코 액체 핸들러를 사용하여 100 nL 시팅 드롭을 사용한 여러 스파스 매트릭스 결정 스크린을 설정하였다. 스크린을 18°C 에서 저장하였다. 모액으로서 100 mM MIB pH 9 및 25% PEG 1500을 함유하는 드롭에서 결정을 수득하였다. 1 μL 70% 글리세롤을 1.8 μL 저장 용액과 혼합하여 동결보호 용액을 제조하였다. 단결정을 수거하고, 동결보호 용액 중에 10초 동안 침지시키고, 액체 질소 중에서 급속-동결시켰다.
- [0403] RSP03 (M33-E210)/Fab 26E11의 경우에, 랩사이트 에코 액체 핸들러를 사용하여 100 nL 시팅 드롭을 사용한 여러 스파스 매트릭스 결정 스크린을 설정하였다. 스크린을 18°C 에서 저장하였다. 모액으로서 200 mM 포름산나트륨 및 20% (w/v) PEG 3,350을 함유하는 드롭에서 결정을 수득하였다. 1 μL 70% 에틸렌 글리콜을 1.8 μL 저장 용액과 혼합하여 동결보호 용액을 제조하였다. 단결정을 수거하고, 동결보호 용액 중에 10초 동안 침지시키고, 액체 질소 중에서 급속-동결시켰다.
- [0404] 둘 다의 복합체를 광범위한 유사한 조건에서 결정화시켰다. 거의 모든 결정이 PEG-기반 조건에서 성장하였고, 가장 통상적인 것은 20-25% PEG 3,350이었다. 다른 성공적인 침전체는 20% PEG 6,000, 20-25% PEG 4,000, 및 25% PEG 1,500을 포함하였다. pH 범위는 3.5 - 9였고, 7 및 8 사이에서 대부분의 결정 성장이 관찰되었다. 200 mM 농도의 다양한 염이 결정 성장을 보조하였다.
- [0405] 결정 구조 결정 및 정밀화: 2종의 RSP03/Fab 복합체에 대한 회절 데이터를 싱크로트론에서 수집하였다. 데이터를 인덱스화하고, 통합하고, XDS 및 SCALA를 사용하여 규모화하였다. RSP03/5D6 및 RSP03/26E11의 결정 구조를 검색 모델로서 Fab 구조를 사용하여 분자 대체에 의해 해석하였다. 초기 분자 대체 해석을 위한 상을 PHENIX를 사용하여 용매 편평화 및 밀도 변형에 의해 개선시켰다. 정밀화 및 재구축의 반복 라운드를 사용하여 RSP03 구조를 구축하였다. RSP03/5D6 및 RSP03/26E11에 대한 결정학적 통계를 하기에 나타낸다.

[0406]

<표 1> 데이터 수집 및 정밀화 통계.

	RSPO3/5D6	RSPO3/26E11
파장 (Å)	1.0	0.976
해상도 범위 (Å)	46.94 - 2.15 (2.22 - 2.15)	48.0 - 2.51 (2.6 - 2.51)
공간군	P 1 21 1	P 1 21 1
단위 셀	87.6 52.1 91.8 90 116.87 90	95.7 47.7 96.4 90 114.7 90
고유 반사	40700 (3821)	27615 (2713)
다중도	3.4 (3.6)	3.7 (3.7)
완전성 (%)	99.40 (95.05)	99.87 (99.67)
평균 I/I ₀ 그마(I)	10.92 (2.52)	13.2 (2.8)
월슨 B-인자	37.38	42.12
R-머지	0.046 (0.4)	0.083 (0.388)
R/R프리	0.191/0.237 (0.276/0.314)	0.185/0.241 (0.249/0.296)
비-수소 원자의 수	4888	4731
단백질 잔기	596	594
RMS(결합)	0.029	0.004
RMS(각)	1.06	0.83
라마찬드란 F/A/D	86.2/13.8/0	81.6/18.3/0

최고-해상도 셀에 대한 통계는 괄호 내에 제시함.

[0407]

[0408]

생체내 효능 실험: RSPO3-융합 양성 환자-유래 종양을 Balbc/누드 마우스 내에서 피하로 성장시켰다. 종양이 대략 200 mm³의 크기에 도달하면, 마우스를 대조 항체 또는 항-RSPO3 항체 (5D6) 30 mg/kg으로, 3-4주 동안 1주에 2회 처리하였다. 항-RSPO3 항체 (5D6)를 이리노테칸과 조합하여 사용한 실험의 경우에, 항-RSPO3 항체를 상기 기재된 바와 같이 투여하고, 이리노테칸은 제0일 또는 제0일 및 제3일에 100 mg/kg으로 투여하였다.

[0409]

연속 이식 연구의 경우에, RSPO3-융합 양성 환자-유래 종양을 이식한 마우스를 대조 항체 또는 항-RSPO3 항체로 상기 기재된 바와 같이 처리하였다. 성장 곡선이 분리되기 시작하면, 종양 단편을 제거하고, 나이브 Balbc/누드 마우스 내로 이식하였다. 이어서 이식된 종양 단편을 갖는 마우스를 대조군 또는 항-RSPO3 항체로 상기 기재된 바와 같이 처리하였다.

[0410]

결과

[0411]

기능 차단 및 IHC 반응성 항-RSPO 항체의 생성

[0412]

항-RSPO 항체를 생성하기 위해, 마우스 및 햄스터를 재조합 인간 RSPO2 및/또는 인간 RSPO3으로 면역화하고, 하이브리도마 세포주를 생산하였다. 이를 세포로부터의 상청액을 먼저 ELISA에 의해 hRSPO1, hRSPO2, hRSPO3 및 hRSPO4에의 결합에 대해 스크리닝하였다. 이어서 hRSPO2 및/또는 hRSPO3 결합을 나타낸 상청액을 WNT 리포터 활성의 hRSPO2 및 hRSPO3 자극을 차단하는 능력에 대해 시험하였다. 이어서 후보를 클로닝하고, 발현시키고, 정제하였다. 도 1에 제시된 바와 같이, 정제된 클론의 하위세트는 rhRSPO2 자극된 WNT 리포터 활성 (도 1A) 및/또는 rhRSPO3 자극된 WNT 리포터 활성 (도 1B)을 억제하였다.

[0413]

또한, IHC 시약으로서 사용될 수 있는 항-RSPO 항체를 확인하기 위해 상청액을 스크리닝하였다. 높은, 중간, 또는 낮은 수준의 hRSPO2 또는 hRSPO3을 안정하게 발현하는 293 세포로부터 포르말린-고정 파라핀 포매된 세포 펠릿을 제조하였다. 또한, 293 세포 및 hRSPO1 또는 hRSPO4를 안정하게 발현하는 293 세포로부터 세포 펠릿을 제조하였다. 하이브리도마 상청액 및 항체 클론을 제조된 세포 펠릿에 대한 IHC 반응성에 대해 시험하였다. 도 2에 제시된 바와 같이, 항체 49G5는 IHC 반응성에 의해 높은, 중간, 및 낮은 수준의 hRSPO2 발현 (D-F)을 인식하는 반면에, hRSPO3 (A-C), hRSPO1 (G), hRSPO4 (H), 또는 비-hRSPO1-4 (I)는 인식하지 못했다. 시험된 모든 항체에 대한 결과의 요약을 하기 표 4에 제시한다. 항체 4H1, 4D4, 5C2, 5D6, 5E11, 21C2는 hRSPO3을 특이적으로 인식하였다. 항체 1A1, 36D2, 49G5는 hRSPO2를 특이적으로 인식하였다. 항체 6E9 및 26E11은 hRSPO2 및 hRSPO3을 인식하였다.

[0414]

<표 4> 항-RSPO 항체 패널의 IHC 반응성

항체	RSPO2 양성	RSPO2 중성	RSPO2 부정	293 양성	RSPO3 양성	RSPO3 중성	RSPO3 부정	RSPO1 양성	RSPO4 양성
4H1	+	-	-	-	++ 90%	++ 60%	+	30%	-
4D4	+	-	-	-	++ > 95%	++ 70%	++ 40%	-	-
5C2	+	-	-	-	++ > 95%	++ 60%	++ 40%	-	-
5D6	-	-	-	-	++ > 95%	++ 70%	++ 30%	-	-
5E11	-	-	-	-	+++ 90%	++ 80%	++ 20%	-	-
6E9	++ 50%	+	10%	-	++ > 95%	++ 70%	+	50%	-
21C2	+	-	-	-	++ 95%	++ 60%	+	10%	-
26E11	++ 70%	+	40%	10%	-	+++ 90%	++ 70%	++ 50%	-
1A1	++ 80%	+	40%	+	30%	-	-	-	-
11F11	-	-	-	-	-	-	-	-	-
36D2	++ > 95%	++ 50%	+	<5%	-	-	-	-	-
49G5	++ 95%	++ 60%	+	40%	-	-	-	-	-
IgG	-	-	-	-	-	-	-	-	-
나이브 마우스 IgG2a	-	-	-	-	-	-	-	-	-

-, +, ++, +++는 상대 강도를 나타내고, -는 유의한 염색이 아닌 것이고 +++는 최고 수준의 염색임;
백분율은 세포 염색의 상대 백분율을 나타냄

[0415]

항-RSPO 항체의 에피토프 비닝

[0416]

항-RSPO 항체를 추가로 특징화하기 위해, 옥테트 레드 검정을 사용하여 항체가 속하는 고유한 에피토프 빈의 수를 결정하였다. 먼저 항체를 친화도 등급화하였다. 가장 높은 친화도를 갖는 항체는 hRSPO2 또는 hRSPO3 결합 바이오센서에 포화상태까지 결합하였다. 이어서 제2 항체에 의한 결합을 평가하였다. 시험된 항-RSPO2 항체는 1A1 또는 11F11과 경쟁하는 능력에 의해 규정된 2개의 고유한 에피토프 빈에 속하였다. 제1 고유한 에피토프 빈은 1A1, 49G5, 및 36D2를 포함하였고, 제2 고유한 에피토프 빈은 11F11을 포함하였다. 시험된 항-RSPO3 항체는 26E11, 4H1, 또는 21C2와 경쟁하는 능력에 의해 규정된 3개의 고유한 에피토프 빈에 속하였다. 제1 고유한 에피토프 빈은 26E11, 5D6, 5E11, 및 6E9를 포함하였고, 제2 고유한 에피토프 빈은 4H1을 포함하였고, 제3 고유한 에피토프 빈은 5C2 및 21C2를 포함하였다.

[0418] 항-RSPO 항체의 결합 특이성 및 친화도

[0419] 항-RSPO 항체를 추가로 특징화하기 위해, 활성을 차단하는 그의 기능을 마우스 RSPO2 (알엔디 시스템즈) 및 시노몰구스 RSPO2 (제넨테크)에 대해 시험하였다. 항체 클론의 하위세트는 WNT 리포터 세포의 hRSPO2, cynoRSPO2, 및 mRSPO2 자극을 차단할 수 있었다 (도 3A-C). RSPO2의 위치 186에서의 다형성이 인간 집단에서 확인되었다. 이러한 환자 집단에서 이러한 다형성에 대한 항-RSPO 항체의 기능적 차단 활성 및 잠재적 유용성을 평가하기 위해, 먼저 hRSPO2 L186P 단백질을 정제한 다음 WNT 리포터 세포를 자극하는데 사용하였다. 항-RSPO 항체의 하위세트는 hRSPO2 L186P의 기능을 차단할 수 있었다 (도 3D).

[0420] 또한, 항-RSPO 항체를 마우스 RSPO3 (알엔디 시스템즈) 및 시노몰구스 RSPO3 (제넨테크)의 기능을 차단하는 그의 능력에 대해 시험하였다. 항체의 하위세트는 hRSPO3, cynoRSPO3, mRSPO3의 WNT 리포터 세포 자극을 억제할 수 있었다 (도 4A-C). 항-RSPO 항체를 결장직장 종양에서 최근 확인된 RSPO3-융합 유전자 (Seshagiri et al., *Nature* 488:660-664 (2012))를 억제하는 그의 능력에 대해 추가로 시험하였다. 확인된 2개의 PTPRK-RSPO3 융합 유전자 (서열 176 및 178)를 코딩하는 구축물을 형질감염시켜 조건화 배지를 제조하였다. RSPO3 또는 RSPO3-융합 유전자를 함유하는 조건화 배지는 WNT 리포터 활성을 자극시킬 수 있었다. 항-RSPO3 항체는 리포터 세포의 RSPO3-융합 유전자 자극을 억제할 수 있었다 (도 4D). 이러한 결과는 항-RSPO3 항체가 RSPO 전위-매개 wnt 신호전달을 억제할 수 있음을 나타낸다.

[0421] 표면 플라즈몬 공명을 사용하여 인간, 마우스, 및 시노몰구스 RSPO에 대한 결합 특이성 및 친화도를 확인하였다. 항체 클론으로부터의 Fab 단편을 소화시키고, 정제한 다음, 비아코어™-2000 기기를 사용하여 재조합 단백질에의 결합에 대해 검정하였다. 항체는 3가지 군에 속하였다: RSPO2에 특이적인 것, RSPO3에 특이적인 것, 및 어느 정도의 교차-반응성을 갖는 것 (도 5). 결합 친화도는 나노몰 미만에서 낮은 나노몰 범위 내였다 (범위 0.073 - 80 nM).

[0422] 항-RSPO 항체의 결합 특징

[0423] RSPO 단백질은 2가지 상이한 부류의 막횡단 단백질: E3-리가제 (RNF43 및 ZNRF3) 및 LGR (LGR4 및 LGR5)에 결합할 수 있는 것으로 이전에 밝혀진 바 있다 (Hao et al., *Nature* 485(7397):195-200 (2012)). 항-RSPO 항체가 이들 2가지 부류의 단백질과의 결합을 억제할 수 있는지 여부를 시험하기 위해, 경쟁적 결합 ELISA 검정을 개발하였다. 항-RSPO 항체는, hRSPO2 및 hRSPO3에 대한 LGR4 또는 LGR5 결합을 억제하는 능력에 대해 시험한 경우에, 3가지 카테고리에 속하였다: LGR4 및 LGR5의 상호작용을 억제할 수 있는 것, 그의 상호작용을 억제하지 못하는 것, 및 그의 상호작용을 촉진하는 것 (도 6A-B 및 테이터는 제시되지 않음). 마찬가지로, 항-RSPO 항체 패널의 하위세트는 hRSPO2 또는 hRSPO3에 대한 RNF43 결합을 억제하였다 (도 7A-B). 항-RSPO 결과의 요약을 하기 제시한다 (표 5).

[0424] 항-RSPO 항체의 인간화

[0425] 인간화 5D6v1 (hu5D6v1로 지칭됨) 항체의 결합 친화도를 키메라 5D6과 비교하였다. hu5D6v1의 뮤린 버니어 위치를 인간 잔기로 역전환시켜 hRSPO3에의 결합에 대한 뮤린 버니어 위치의 기여를 평가하였다. 4개의 추가의 경쇄 (L1: v1 + Y36 (v2.1로 지칭됨), v1+L46 (v2.2로 지칭됨), v1+T69 (v2.3으로 지칭됨), v1+F71 (v2.4로 지칭됨)) 및 4개의 추가의 중쇄 (v1+V71 (v2.8로 지칭됨), v1+R94 (v2.10으로 지칭됨), v1+W47+I48+F78 (v3.2로 지칭됨), v1+W47+I48+v67+F78 (v3.3으로 지칭됨)). 경쇄 상의 F36 및 T46은 주요 마우스 버니어 잔기이고, 중쇄 상의 V71 및 R94는 상기 기재된 변이체 항체의 결합 친화도 평가에 기초하여 주요 마우스 버니어 잔기인 것으로 결정되었다 (테이터는 제시되지 않음). 키메라 5D6은 3.3E-11 M의 KD로 결합한 반면에, v1+T69 (LC) + (W47+I48+V67+F78 (HC)) (hu5D6v4.1로 지칭됨), v1+T69 (LC) + (W47+I48+F78 (HC)) (hu5D6v4.3으로 지칭됨)은 각각 6.3E-11M 및 7.0E-11M의 KD로 결합하였다.

[0426] hu5D6v4.1 및 키메라 5D6을, 결합 검정에서 시노 또는 뮤린 RSPO3을 huRSPO3으로 대체한 것을 제외하고, 상기 기재된 바와 같이 시노 및 마우스 RSPO3에 결합하는 그의 능력에 대해 시험하였다. 인간화 항체에 대한 결합 특성을 하기 표 5에 제시한다.

항체	huKD (M)	huka (1/Ms)	hukd (1/s)	cynoKD (M)	cynoka (1/Ms)	cynokd (1/s)	muKD (M)	muka (1/Ms)	mukd (1/s)
5D6 키메라	3.31 E-11	3.51 E+06	1.16 E-04	4.53 E-11	4.96 E+06	2.24 E-04	5.78 E-11	4.10 E+06	2.37 E-04
Hu5D6v4.1	6.35 E-11	3.60 E+06	2.29E-04	8.11 E-11	5.35 E+06	4.34 E-04	9.93 E-11	4.26 E+06	4.23 E-04

[0427]

[0428] 인간화 항체 hu5D6v4.1을 열 응력 (40°C, pH 5.5, 2주) 및 2,2'-아조비스 (2-아미디노프로판) 헤드로클로라이드 (AAPH) 분석 하에 시험하였다. 이어서 생성물의 보관 수명을 초과하는 안정성을 모방하기 위해 샘플에 열 응력을 가하였다. 샘플을 20mM His 아세테이트, 240mM 수크로스, pH 5.5로 완충제 교환하고, 1 mg/mL의 농도로 희석시켰다. 샘플 1 mL에 40°C에서 2주 동안 응력을 가하고, 제2를 대조군으로서 -70°C에서 저장하였다. 이어서 둘 다의 샘플을 트립신을 사용하여 소화시켜 웨티드를 생성하였고, 이는 액체 크로마토그래피 (LC) - 질량 분광 측정 (MS) 분석을 사용하여 분석할 수 있었다. 샘플 체류 시간 중 각각의 웨티드에 대해 LC로부터 뿐만 아니라, 고해상도의 정확한 질량 및 웨티드 이온 단편화 정보 (아미노산 서열 정보)를 MS에서 획득하였다. +-10 ppm 원도우에서 데이터 세트로부터 관심 웨티드 (천연 및 변형된 웨티드 이온)에 대한 추출된 이온 크로마토그램 (XIC)을 취하고, 피크를 통합하여 면적을 결정하였다. (변형된 웨티드의 면적)을 (변형된 웨티드의 면적 플러스 천연 웨티드의 면적)으로 나누고 100을 곱하여 각각의 샘플에 대해 변형의 상대적 백분율을 계산하였다.

[0429]

열 응력 시험에 의해 결정된 바와 같이, hu5D6v4.1은 CDR-H3에서 W^{100b}를 가졌고, 이는 산화에 감수성이었다 (트립토관 산화에서 11.5% 증가. 대조군에서 24.1%로부터 AAPH 응력 후 35.6%). 잠재적 산화를 감소시키기 위해 F100b (hu5D6v5.1로 지칭됨) 및 W100bH (hu5D6v5.2로 지칭됨) 변이체를 구축하였다.

[0430]

결정학에 의한 애피토프 맵핑

[0431]

항-RSP03 항체를 추가로 특징화하기 위해, RSP03/Fab 복합체 (5D6 및 26E11)의 결정을 상기 기재된 바와 같이 제조하고, 결정 구조를 결정하였다. 표 8을 참조한다. 표 6은 5D6 및 RSP03 (F 쇄)의 중쇄 (HC) 및 경쇄 (LC) 사이의 접촉 목록을 함유한다. 표 6의 경우에 컷오프는 4 옹스트롬이다. 표 7은 26E11 및 RSP03 (F 쇄)의 중쇄 (HC) 및 경쇄 (LC) 사이의 접촉 목록을 함유한다. 표 7의 경우에 컷오프는 4 옹스트롬이다. 5D6 및 26E11 둘 다의 대부분의 접촉은 RSP03의 푸린 1 도메인과 함께 한다.

[0432]

<표 5> 항-RSPO 항체 결과의 요약.

	hRSPO2 wnt 신호전달 억제	hRSPO3 wnt 신호전달 억제	L18G7 wnt 신호전달 억제	에피도포 빈 4H1	에피도포 빈 21C2	에피도포 빈 1A1	에피도포 빈 11F1	LGR4/ RSPO2 억제	LGR4/ RSPO3 억제	LGR5/ RSPO2 억제	LGR5/ RSPO3 억제	RNF43/ RSPO2 억제	RNF43/ RSPO3 억제
4H1	+	++	+	아니오	예	아니오	ND	ND	+++	-	++	-	+++
4D4	-	+	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
5C2	-	+++	-	아니오	아니오	예	ND	ND	+	+++	-	+++	-
5D6	-	+++	-	예	아니오	아니오	ND	ND	+	+++	-	+++	-
5E11	-	+++	-	예	아니오	아니오	ND	ND	+	+++	-	+++	-
6E9	+	++	-	예	아니오	아니오	ND	ND	+++	+++	+	+++	-
21C2	-	ND	ND	아니오	아니오	예	ND	ND	-	+++	-	+++	ND
26E11	++	+++	++	예	아니오	아니오	ND	ND	+++	+++	++	+++	+++
1A1	+++	-	+++	ND	ND	ND	예	아니오	- (절립을 증진시킴)	- (절립을 증진시킴)	-	+++	-
11F11	++	-	++	ND	ND	ND	아니오	예	-	-	-	-	-
36D2	+++	-	+++	ND	ND	ND	예	아니오	+++	-	+++	-	+++
49G5	-	-	ND	ND	ND	ND	예	아니오	++	-	+	-	-

[0433]

[0434]

<표 6> RSP03 및 5D6 중쇄 및 경쇄의 접촉 잔기

항체 쇄	잔기	원자 명칭	원자	RSP03	잔기	원자 명칭	원자	거리
/H/	316(GLY)	O	O]:	/F/	49(SER)	OG	O]:	3.94
/H/	316(GLY)	CA	C]:	/F/	54(CYS)	O	O]:	3.59
				/F/	55(LEU)	CA	C]:	3.9
/H/	314(GLY)	CA	C]:	/F/	55(LEU)	O	O]:	3.51
/H/	314(GLY)	C	C]:	/F/	55(LEU)	O	O]:	3.56
/H/	315(TYR)	N	N]:	/F/	55(LEU)	O	O]:	3.53
/H/	316(GLY)	N	N]:	/F/	55(LEU)	O	O]:	3.03
/H/	316(GLY)	CA	C]:	/F/	55(LEU)	O	O]:	3.55
/H/	317(GLY)	N	N]:	/F/	55(LEU)	CD1	C]:	3.34
/H/	314(GLY)	N	N]:	/F/	55(LEU)	CD1	C]:	4
/H/	316(GLY)	C	C]:	/F/	55(LEU)	CD1	C]:	3.92
/H/	317(GLY)	CA	C]:	/F/	55(LEU)	CD1	C]:	3.46
/H/	313(TYR)	O	O]:	/F/	56(SER)	CB	C]:	3.62
/H/	315(TYR)	CD2	C]:	/F/	63(PHE)	CB	C]:	3.92
/H/	315(TYR)	CB	C]:	/F/	63(PHE)	CG	C]:	3.56
				/F/	63(PHE)	CD1	C]:	3.41
				/F/	63(PHE)	CD2	C]:	3.89
				/F/	63(PHE)	CE1	C]:	3.6
/H/	316(GLY)	N	N]:	/F/	63(PHE)	CE2	C]:	3.59
/H/	316(GLY)	CA	C]:	/F/	63(PHE)	CE2	C]:	3.77
/H/	315(TYR)	C	C]:	/F/	63(PHE)	CZ	C]:	3.83
/H/	315(TYR)	O	O]:	/F/	63(PHE)	CZ	C]:	3.97
/H/	315(TYR)	CB	C]:	/F/	63(PHE)	CZ	C]:	3.92
/H/	316(GLY)	N	N]:	/F/	63(PHE)	CZ	C]:	3.71
/H/	316(GLY)	CA	C]:	/F/	63(PHE)	CZ	C]:	3.76
/H/	264(TYR)	OH	O]:	/F/	89(TYR)	CB	C]:	3.79
/H/	315(TYR)	OH	O]:	/F/	89(TYR)	CD1	C]:	3.8
				/F/	89(TYR)	CE1	C]:	3.95
/H/	264(TYR)	OH	O]:	/F/	90(PRO)	N	N]:	3.5
				/F/	90(PRO)	CA	C]:	3.74
				/F/	90(PRO)	C	C]:	3.58
/H/	264(TYR)	CE1	C]:	/F/	90(PRO)	O	O]:	3.62
/H/	264(TYR)	CZ	C]:	/F/	90(PRO)	O	O]:	3.61
/H/	264(TYR)	OH	O]:	/F/	90(PRO)	O	O]:	2.72
/H/	271(THR)	O	O]:	/F/	90(PRO)	CB	C]:	3.81
/H/	264(TYR)	OH	O]:	/F/	90(PRO)	CB	C]:	3.5
/H/	271(THR)	O	O]:	/F/	90(PRO)	CG	C]:	3.33
/H/	264(TYR)	OH	O]:	/F/	90(PRO)	CG	C]:	3.91

[0435]

				/F/	90(PRO)	CD	C]:	3.55
/H/	247(TYR)	OH	O]:	/F/	91(ASP)	C	C]:	3.66
/H/	247(TYR)	CE2	C]:	/F/	91(ASP)	O	O]:	3.55
/H/	247(TYR)	CZ	C]:	/F/	91(ASP)	O	O]:	3.52
/H/	247(TYR)	OH	O]:	/F/	91(ASP)	O	O]:	2.62
/H/	267(TYR)	CE2	C]:	/F/	91(ASP)	O	O]:	3.7
/H/	267(TYR)	OH	O]:	/F/	91(ASP)	O	O]:	3.7
/H/	266(SER)	CB	C]:	/F/	91(ASP)	CB	C]:	3.65
/H/	266(SER)	OG	O]:	/F/	91(ASP)	CB	C]:	3.56
/H/	267(TYR)	CE2	C]:	/F/	91(ASP)	CB	C]:	3.74
/H/	267(TYR)	CZ	C]:	/F/	91(ASP)	CB	C]:	3.93
/H/	267(TYR)	OH	O]:	/F/	91(ASP)	CB	C]:	3.88
/H/	268(SER)	OG	O]:	/F/	91(ASP)	CG	C]:	3.45
/H/	266(SER)	CB	C]:	/F/	91(ASP)	CG	C]:	4
/H/	266(SER)	OG	O]:	/F/	91(ASP)	CG	C]:	3.34
/H/	270(LYS)	NZ	N]:	/F/	91(ASP)	CG	C]:	3.97
/H/	267(TYR)	CE2	C]:	/F/	91(ASP)	CG	C]:	3.97
/H/	267(TYR)	CZ	C]:	/F/	91(ASP)	CG	C]:	3.71
/H/	267(TYR)	OH	O]:	/F/	91(ASP)	CG	C]:	3.68
/H/	268(SER)	CB	C]:	/F/	91(ASP)	OD1	O]:	3.47
/H/	268(SER)	OG	O]:	/F/	91(ASP)	OD1	O]:	2.47
/H/	270(LYS)	CG	C]:	/F/	91(ASP)	OD1	O]:	3.83
/H/	266(SER)	CB	C]:	/F/	91(ASP)	OD1	O]:	3.39
/H/	266(SER)	OG	O]:	/F/	91(ASP)	OD1	O]:	2.4
/H/	268(SER)	N	N]:	/F/	91(ASP)	OD1	O]:	3.78
/H/	270(LYS)	CB	C]:	/F/	91(ASP)	OD1	O]:	3.92
/H/	270(LYS)	NZ	N]:	/F/	91(ASP)	OD1	O]:	3.99
/H/	267(TYR)	CZ	C]:	/F/	91(ASP)	OD1	O]:	3.94
/H/	268(SER)	OG	O]:	/F/	91(ASP)	OD2	O]:	3.71
/H/	270(LYS)	NZ	N]:	/F/	91(ASP)	OD2	O]:	3.35
/H/	267(TYR)	CZ	C]:	/F/	91(ASP)	OD2	O]:	3.96
/H/	267(TYR)	OH	O]:	/F/	91(ASP)	OD2	O]:	3.54
/H/	270(LYS)	CD	C]:	/F/	91(ASP)	OD2	O]:	3.95
/H/	247(TYR)	CE2	C]:	/F/	92(ILE)	CB	C]:	3.92
/H/	247(TYR)	CZ	C]:	/F/	92(ILE)	CB	C]:	3.94
/H/	247(TYR)	OH	O]:	/F/	92(ILE)	CB	C]:	3.57
				/F/	92(ILE)	CG1	C]:	3.77
/H/	315(TYR)	CE2	C]:	/F/	92(ILE)	CG1	C]:	3.59
/H/	264(TYR)	OH	O]:	/F/	92(ILE)	CG2	C]:	3.8
/H/	247(TYR)	CZ	C]:	/F/	92(ILE)	CD1	C]:	3.92
/H/	247(TYR)	OH	O]:	/F/	92(ILE)	CD1	C]:	3.86

/H/	312(TYR)	CE1	C]:	/F/	92(ILE)	CD1	C]:	3.99
/H/	315(TYR)	CD2	C]:	/F/	92(ILE)	CD1	C]:	3.78
/H/	315(TYR)	CE2	C]:	/F/	92(ILE)	CD1	C]:	3.51
/H/	315(TYR)	CZ	C]:	/F/	94(LYS)	CB	C]:	3.95
/H/	315(TYR)	CD2	C]:	/F/	94(LYS)	CB	C]:	3.96
/H/	315(TYR)	CE2	C]:	/F/	94(LYS)	CB	C]:	3.56
/H/	315(TYR)	OH	O]:	/F/	94(LYS)	CG	C]:	3.98
/H/	315(TYR)	CE1	C]:	/F/	94(LYS)	CD	C]:	3.59
/H/	315(TYR)	CZ	C]:	/F/	94(LYS)	CD	C]:	3.33
/H/	315(TYR)	OH	O]:	/F/	94(LYS)	CD	C]:	3.28
/H/	315(TYR)	CE2	C]:	/F/	94(LYS)	CD	C]:	3.86
/L/	53(ARG)	NH2	N]:	/F/	52(ASN)	O	O]:	3.58
/L/	53(ARG)	NE	N]:	/F/	52(ASN)	CB	C]:	3.98
/L/	53(ARG)	CZ	C]:	/F/	52(ASN)	CB	C]:	3.29
/L/	53(ARG)	NH1	N]:	/F/	52(ASN)	CB	C]:	3.24
/L/	53(ARG)	NH2	N]:	/F/	52(ASN)	CB	C]:	3.37
/L/	53(ARG)	CD	C]:	/F/	52(ASN)	CG	C]:	3.99
/L/	53(ARG)	NE	N]:	/F/	52(ASN)	CG	C]:	3.54
/L/	53(ARG)	CZ	C]:	/F/	52(ASN)	CG	C]:	3.39
/L/	53(ARG)	NH1	N]:	/F/	52(ASN)	CG	C]:	3.62
/L/	53(ARG)	NH2	N]:	/F/	52(ASN)	CG	C]:	3.75
/L/	53(ARG)	CD	C]:	/F/	52(ASN)	ND2	N]:	3.41
/L/	53(ARG)	NE	N]:	/F/	52(ASN)	ND2	N]:	3.47
/L/	53(ARG)	CZ	C]:	/F/	52(ASN)	ND2	N]:	3.56
/L/	53(ARG)	NH1	N]:	/F/	52(ASN)	ND2	N]:	3.53
/L/	53(ARG)	NE	N]:	/F/	52(ASN)	OD1	O]:	3.9
/L/	53(ARG)	CZ	C]:	/F/	52(ASN)	OD1	O]:	3.96
/L/	32(TYR)	OH	O]:	/F/	63(PHE)	CD1	C]:	3.43
/L/	32(TYR)	CE1	C]:	/F/	63(PHE)	CE1	C]:	3.84
/L/	32(TYR)	OH	O]:	/F/	63(PHE)	CE1	C]:	3.49
				/F/	65(LEU)	CG	C]:	3.61
/L/	30(ASP)	O	O]:	/F/	65(LEU)	CD1	C]:	3.64
/L/	32(TYR)	CZ	C]:	/F/	65(LEU)	CD1	C]:	3.98
/L/	32(TYR)	OH	O]:	/F/	65(LEU)	CD1	C]:	3.94
/L/	50(LEU)	CD1	C]:	/F/	65(LEU)	CD2	C]:	3.81
/L/	53(ARG)	NH2	N]:	/F/	72(GLN)	C	C]:	3.55
/L/	53(ARG)	NE	N]:	/F/	72(GLN)	O	O]:	3.85
/L/	53(ARG)	CZ	C]:	/F/	72(GLN)	O	O]:	3.57
/L/	53(ARG)	NH2	N]:	/F/	72(GLN)	O	O]:	2.47
/L/	31(SER)	CB	C]:	/F/	72(GLN)	NE2	N]:	3.62
/L/	31(SER)	OG	O]:	/F/	72(GLN)	NE2	N]:	3.34

/L/	53(ARG)	NH2	N]:	/F/	73(ILE)	CA	C]:	3.66
				/F/	74(GLY)	N	N]:	3.93
/L/	30(ASP)	OD2	O]:	/F/	84(TYR)	CE2	C]:	3.77
/L/	94(PHE)	CD2	C]:	/F/	89(TYR)	CG	C]:	3.72
				/F/	89(TYR)	CD1	C]:	3.66
				/F/	89(TYR)	CD2	C]:	3.85
				/F/	89(TYR)	CE1	C]:	3.74
/L/	94(PHE)	CB	C]:	/F/	89(TYR)	CE2	C]:	3.89
/L/	94(PHE)	CD2	C]:	/F/	89(TYR)	CE2	C]:	3.93
/L/	94(PHE)	N	N]:	/F/	89(TYR)	CZ	C]:	3.57
/L/	94(PHE)	CD2	C]:	/F/	89(TYR)	CZ	C]:	3.87
/L/	93(GLU)	C	C]:	/F/	89(TYR)	OH	O]:	3.74
/L/	94(PHE)	N	N]:	/F/	89(TYR)	OH	O]:	3.14
/L/	93(GLU)	CA	C]:	/F/	89(TYR)	OH	O]:	3.35
/L/	93(GLU)	CB	C]:	/F/	89(TYR)	OH	O]:	3.39
/L/	92(ASP)	O	O]:	/F/	94(LYS)	CD	C]:	3.68
				/F/	94(LYS)	CE	C]:	3.55
/L/	32(TYR)	CE2	C]:	/F/	94(LYS)	CE	C]:	3.63
/L/	32(TYR)	CZ	C]:	/F/	94(LYS)	CE	C]:	3.66
/L/	92(ASP)	OD1	O]:	/F/	94(LYS)	CE	C]:	3.96
/L/	92(ASP)	CA	C]:	/F/	94(LYS)	NZ	N]:	3.95
/L/	92(ASP)	C	C]:	/F/	94(LYS)	NZ	N]:	3.76
/L/	92(ASP)	O	O]:	/F/	94(LYS)	NZ	N]:	2.89
/L/	32(TYR)	CE2	C]:	/F/	94(LYS)	NZ	N]:	3.74
/L/	92(ASP)	CG	C]:	/F/	94(LYS)	NZ	N]:	3.85
/L/	92(ASP)	OD1	O]:	/F/	94(LYS)	NZ	N]:	2.81
/L/	28(ASP)	OD2	O]:	/F/	97(LYS)	CD	C]:	3.7
				/F/	97(LYS)	CE	C]:	3.96
/L/	30(ASP)	OD1	O]:	/F/	97(LYS)	CE	C]:	4
/L/	28(ASP)	CG	C]:	/F/	97(LYS)	NZ	N]:	3.82
/L/	28(ASP)	OD1	O]:	/F/	97(LYS)	NZ	N]:	3.85
/L/	28(ASP)	OD2	O]:	/F/	97(LYS)	NZ	N]:	3.11
/L/	27(GLN)	NE2	N]:	/F/	108(LYS)	NZ	N]:	3.9

[0438]

[0439]

<표 7> RSP03 및 26E11 중쇄 및 경쇄의 접촉 잔기

항체 쇄	잔기 명칭	원자 명칭	원자	RSP03	잔기 명칭	원자 명칭	원자	거리
/H/	313(HIS)	CE1	C	/F/	47(THR)	CB	C	3.72
/H/	313(HIS)	NE2	N	/F/	47(THR)	CB	C	3.73
/H/	313(HIS)	CE1	C	/F/	47(THR)	CG2	C	3.82
/H/	313(HIS)	NE2	N	/F/	47(THR)	CG2	C	3.3
/H/	313(HIS)	CE1	C	/F/	47(THR)	OG1	O	2.92
/H/	313(HIS)	NE2	N	/F/	47(THR)	OG1	O	3.25
/H/	316(GLY)	CA	C	/F/	54(CYS)	O	O	3.93
/H/	316(GLY)	CA	C	/F/	55(LEU)	CA	C	3.89
/H/	316(GLY)	C	C	/F/	55(LEU)	CA	C	3.86
/H/	316(GLY)	N	N	/F/	55(LEU)	C	C	3.92
/H/	316(GLY)	CA	C	/F/	55(LEU)	C	C	4
/H/	314(GLY)	CA	C	/F/	55(LEU)	O	O	3.72
/H/	314(GLY)	C	C	/F/	55(LEU)	O	O	3.63
/H/	315(TYR)	N	N	/F/	55(LEU)	O	O	3.66
/H/	316(GLY)	N	N	/F/	55(LEU)	O	O	2.92
/H/	316(GLY)	CA	C	/F/	55(LEU)	O	O	3.34
/H/	316(GLY)	C	C	/F/	55(LEU)	O	O	3.7
/H/	317(GLY)	N	N	/F/	55(LEU)	O	O	3.63
/H/	313(HIS)	ND1	N	/F/	55(LEU)	CB	C	3.96
/H/	313(HIS)	CE1	C	/F/	55(LEU)	CB	C	3.45
/H/	316(GLY)	C	C	/F/	55(LEU)	CD2	C	3.96
/H/	316(GLY)	O	O	/F/	55(LEU)	CD2	C	3.29
/H/	313(HIS)	CE1	C	/F/	56(SER)	CB	C	3.92
/H/	313(HIS)	CE1	C	/F/	56(SER)	OG	O	3.74
/H/	313(HIS)	NE2	N	/F/	56(SER)	OG	O	3.86
/H/	315(TYR)	CB	C	/F/	63(PHE)	CG	C	3.69
/H/	315(TYR)	CB	C	/F/	63(PHE)	CD2	C	3.48
/H/	315(TYR)	O	O	/F/	63(PHE)	CE2	C	3.86
/H/	315(TYR)	CB	C	/F/	63(PHE)	CE2	C	3.89
/H/	316(GLY)	N	N	/F/	63(PHE)	CE1	C	3.9
/H/	316(GLY)	CA	C	/F/	63(PHE)	CE1	C	3.82
/H/	315(TYR)	O	O	/F/	63(PHE)	CZ	C	3.95
/H/	315(TYR)	C	C	/F/	63(PHE)	CZ	C	3.98
/H/	316(GLY)	N	N	/F/	63(PHE)	CZ	C	3.87
/H/	316(GLY)	CA	C	/F/	63(PHE)	CZ	C	3.67
/H/	264(TYR)	OH	O	/F/	89(TYR)	CB	C	3.67
/H/	315(TYR)	OH	O	/F/	89(TYR)	CD2	C	3.53
/H/	315(TYR)	OH	O	/F/	89(TYR)	CE2	C	3.65

[0440]

/H/	264(TYR)	OH	O	/F/	90(PRO)	N	N	3.57
/H/	264(TYR)	OH	O	/F/	90(PRO)	CA	C	3.96
/H/	264(TYR)	OH	O	/F/	90(PRO)	C	C	3.76
/H/	264(TYR)	CE1	C	/F/	90(PRO)	O	O	3.73
/H/	264(TYR)	CZ	C	/F/	90(PRO)	O	O	3.74
/H/	264(TYR)	OH	O	/F/	90(PRO)	O	O	2.86
/H/	264(TYR)	OH	O	/F/	90(PRO)	CB	C	3.87
/H/	271(THR)	O	O	/F/	90(PRO)	CG	C	3.48
/H/	264(TYR)	OH	O	/F/	90(PRO)	CD	C	3.51
/H/	247(TYR)	CE2	C	/F/	91(ASP)	C	C	3.95
/H/	247(TYR)	OH	O	/F/	91(ASP)	C	C	3.46
/H/	247(TYR)	CE2	C	/F/	91(ASP)	O	O	3.35
/H/	247(TYR)	CZ	C	/F/	91(ASP)	O	O	3.28
/H/	247(TYR)	OH	O	/F/	91(ASP)	O	O	2.37
/H/	267(PHE)	CE2	C	/F/	91(ASP)	O	O	3.8
/H/	266(SER)	CB	C	/F/	91(ASP)	CB	C	3.71
/H/	266(SER)	OG	O	/F/	91(ASP)	CB	C	3.73
/H/	267(PHE)	CE2	C	/F/	91(ASP)	CB	C	3.83
/H/	267(PHE)	CZ	C	/F/	91(ASP)	CB	C	3.81
/H/	266(SER)	CB	C	/F/	91(ASP)	CG	C	3.91
/H/	266(SER)	OG	O	/F/	91(ASP)	CG	C	3.36
/H/	270(LYS)	CD	C	/F/	91(ASP)	CG	C	3.75
/H/	268(SER)	OG	O	/F/	91(ASP)	CG	C	3.4
/H/	267(PHE)	CZ	C	/F/	91(ASP)	CG	C	3.84
/H/	266(SER)	CB	C	/F/	91(ASP)	OD2	O	3.35
/H/	266(SER)	OG	O	/F/	91(ASP)	OD2	O	2.48
/H/	270(LYS)	CB	C	/F/	91(ASP)	OD2	O	3.25
/H/	270(LYS)	CG	C	/F/	91(ASP)	OD2	O	3.29
/H/	270(LYS)	CD	C	/F/	91(ASP)	OD2	O	3.16
/H/	268(SER)	OG	O	/F/	91(ASP)	OD2	O	2.77
/H/	270(LYS)	NZ	N	/F/	91(ASP)	OD2	O	3.91
/H/	270(LYS)	CD	C	/F/	91(ASP)	OD1	O	3.97
/H/	267(PHE)	CE1	C	/F/	91(ASP)	OD1	O	3.83
/H/	268(SER)	OG	O	/F/	91(ASP)	OD1	O	3.41
/H/	270(LYS)	NZ	N	/F/	91(ASP)	OD1	O	3.97
/H/	267(PHE)	CZ	C	/F/	91(ASP)	OD1	O	3.61
/H/	247(TYR)	OH	O	/F/	92(ILE)	CA	C	3.82
/H/	247(TYR)	CE2	C	/F/	92(ILE)	CB	C	3.92
/H/	247(TYR)	CZ	C	/F/	92(ILE)	CB	C	3.72
/H/	247(TYR)	OH	O	/F/	92(ILE)	CB	C	3.26
/H/	315(TYR)	CD2	C	/F/	92(ILE)	CG1	C	3.8

[0441]

/H/	315(TYR)	CE2	C	/F/	92(ILE)	CG1	C	3.61
/H/	247(TYR)	OH	O	/F/	92(ILE)	CG1	C	3.48
/H/	264(TYR)	OH	O	/F/	92(ILE)	CG2	C	3.72
/H/	315(TYR)	CD2	C	/F/	92(ILE)	CD1	C	3.65
/H/	315(TYR)	CE2	C	/F/	92(ILE)	CD1	C	3.62
/H/	247(TYR)	CE1	C	/F/	92(ILE)	CD1	C	3.88
/H/	247(TYR)	CZ	C	/F/	92(ILE)	CD1	C	3.81
/H/	247(TYR)	OH	O	/F/	92(ILE)	CD1	C	3.73
/H/	315(TYR)	CD2	C	/F/	93(ASN)	O	O	3.79
/H/	315(TYR)	CE2	C	/F/	93(ASN)	O	O	3.86
/H/	315(TYR)	CD2	C	/F/	94(LYS)	CB	C	3.57
/H/	315(TYR)	CE2	C	/F/	94(LYS)	CB	C	3.46
/H/	315(TYR)	CE2	C	/F/	94(LYS)	CG	C	3.73
/H/	315(TYR)	CZ	C	/F/	94(LYS)	CG	C	3.84
/H/	315(TYR)	CD1	C	/F/	94(LYS)	CD	C	3.83
/H/	315(TYR)	CE1	C	/F/	94(LYS)	CD	C	3.45
/H/	315(TYR)	CD2	C	/F/	94(LYS)	CD	C	3.99
/H/	315(TYR)	CE2	C	/F/	94(LYS)	CD	C	3.62
/H/	315(TYR)	CZ	C	/F/	94(LYS)	CD	C	3.33
/H/	315(TYR)	OH	O	/F/	94(LYS)	CD	C	3.73
/L/	53(ARG)	NH2	N	/F/	52(ASN)	O	O	3.44
/L/	53(ARG)	CZ	C	/F/	52(ASN)	CB	C	3.48
/L/	53(ARG)	NH1	N	/F/	52(ASN)	CB	C	3.31
/L/	53(ARG)	NH2	N	/F/	52(ASN)	CB	C	3.72
/L/	53(ARG)	CD	C	/F/	52(ASN)	CG	C	3.8
/L/	53(ARG)	CZ	C	/F/	52(ASN)	CG	C	3.44
/L/	53(ARG)	NH1	N	/F/	52(ASN)	CG	C	3.54
/L/	53(ARG)	NH2	N	/F/	52(ASN)	CG	C	3.96
/L/	53(ARG)	NE	N	/F/	52(ASN)	CG	C	3.53
/L/	53(ARG)	CD	C	/F/	52(ASN)	ND2	N	3.82
/L/	53(ARG)	NH1	N	/F/	52(ASN)	ND2	N	3.99
/L/	53(ARG)	CD	C	/F/	52(ASN)	OD1	O	3.72
/L/	53(ARG)	CZ	C	/F/	52(ASN)	OD1	O	3.42
/L/	53(ARG)	NH1	N	/F/	52(ASN)	OD1	O	3.96
/L/	53(ARG)	NH2	N	/F/	52(ASN)	OD1	O	3.76
/L/	53(ARG)	NE	N	/F/	52(ASN)	OD1	O	3.25
/L/	32(TYR)	OH	O	/F/	63(PHE)	CD2	C	3.3
/L/	32(TYR)	CE1	C	/F/	63(PHE)	CE2	C	3.9
/L/	32(TYR)	OH	O	/F/	63(PHE)	CE2	C	3.47
/L/	32(TYR)	OH	O	/F/	65(LEU)	CG	C	3.91
/L/	30(ASP)	O	O	/F/	65(LEU)	CD1	C	3.62

/L/	53(ARG)	NH2	N	/F/	72(GLN)	O	O	2.93
/L/	31(SER)	OG	O	/F/	72(GLN)	CD	C	3.94
/L/	31(SER)	OG	O	/F/	72(GLN)	NE2	N	3.81
/L/	31(SER)	CB	C	/F/	72(GLN)	OE1	O	3.48
/L/	31(SER)	OG	O	/F/	72(GLN)	OE1	O	3.24
/L/	30(ASP)	OD2	O	/F/	84(TYR)	CE2	C	3.77
/L/	94(PHE)	CD2	C	/F/	89(TYR)	CG	C	3.57
/L/	94(PHE)	CE2	C	/F/	89(TYR)	CG	C	4
/L/	94(PHE)	CD2	C	/F/	89(TYR)	CD1	C	3.69
/L/	94(PHE)	CE2	C	/F/	89(TYR)	CD2	C	3.49
/L/	94(PHE)	CE2	C	/F/	89(TYR)	CD2	C	3.83
/L/	94(PHE)	CB	C	/F/	89(TYR)	CE1	C	3.79
/L/	94(PHE)	CD2	C	/F/	89(TYR)	CE1	C	3.74
/L/	94(PHE)	CD2	C	/F/	89(TYR)	CE2	C	3.54
/L/	94(PHE)	CB	C	/F/	89(TYR)	CZ	C	3.96
/L/	94(PHE)	N	N	/F/	89(TYR)	CZ	C	3.59
/L/	94(PHE)	CD2	C	/F/	89(TYR)	CZ	C	3.66
/L/	94(PHE)	O	O	/F/	89(TYR)	OH	O	3.79
/L/	93(GLU)	CA	C	/F/	89(TYR)	OH	O	3.67
/L/	93(GLU)	C	C	/F/	89(TYR)	OH	O	3.85
/L/	94(PHE)	N	N	/F/	89(TYR)	OH	O	3.05
/L/	93(GLU)	CB	C	/F/	89(TYR)	OH	O	3.56
/L/	92(ASP)	O	O	/F/	94(LYS)	CD	C	3.91
/L/	92(ASP)	O	O	/F/	94(LYS)	CE	C	3.31
/L/	32(TYR)	CD2	C	/F/	94(LYS)	CE	C	3.85
/L/	32(TYR)	CE2	C	/F/	94(LYS)	CE	C	3.35
/L/	32(TYR)	CZ	C	/F/	94(LYS)	CE	C	3.57
/L/	32(TYR)	OH	O	/F/	94(LYS)	CE	C	3.85
/L/	92(ASP)	OD1	O	/F/	94(LYS)	CE	C	3.54
/L/	92(ASP)	C	C	/F/	94(LYS)	NZ	N	3.72
/L/	92(ASP)	O	O	/F/	94(LYS)	NZ	N	2.61
/L/	92(ASP)	OD1	O	/F/	94(LYS)	NZ	N	3.14
/L/	30(ASP)	CG	C	/F/	97(LYS)	CG	C	3.96
/L/	30(ASP)	OD2	O	/F/	97(LYS)	CG	C	3.81
/L/	28(ASP)	CG	C	/F/	97(LYS)	CD	C	3.72
/L/	28(ASP)	OD1	O	/F/	97(LYS)	CD	C	3.81
/L/	28(ASP)	OD2	O	/F/	97(LYS)	CD	C	3.53
/L/	28(ASP)	OD2	O	/F/	97(LYS)	CE	C	3.96
/L/	30(ASP)	CG	C	/F/	97(LYS)	CE	C	3.71
/L/	30(ASP)	OD1	O	/F/	97(LYS)	CE	C	3.47
/L/	28(ASP)	CG	C	/F/	97(LYS)	NZ	N	3.74

[0443]

/L/	28(ASP)	OD1	O	/F/	97(LYS)	NZ	N	3.59
/L/	28(ASP)	OD2	O	/F/	97(LYS)	NZ	N	3.2
/L/	27(GLN)	NE2	N	/F/	108(LYS)	CD	C	4

[0444]

생체내 효능

[0445]

결장직장암 PTPRK-RSP0 융합 환자 유래 종양 모델에서 항-RSP03 항체의 효능을 시험하였다. PTPRK-RSP0 융합 환자 유래 종양 모델 및/또는 NSCLC 조직에서, 항-RSP03 항체 (5D6)는 항-RSP03 항체를 사용한 처리 전 발현 수준과 비교하여 장 줄기 세포 마커: Myc, Axin2, LGR5, TERT, BIRC5, 및/또는 Asc12의 유전자 발현을 유의하게 감소시킨 반면에, 분화 마커, 예를 들어 CEACAM7, SLC26A3, CA1, SYT15, CA4, TFF1, 및 KRT20의 유전자 발현은 증가시켰다 (데이터는 제시되지 않음). 어떠한 특정한 이론에 얹매이는 것을 원하지는 않지만, 이들 결과는 항-RSP03 항체 (5D6)가 유전자 발현 마커에 의해 결정된 바와 같이 줄기 세포-유사 마커 프로파일에서 분화 마커 프로파일로의 전이를 촉진할 수 있음을 시사한다.

[0447]

항-RSP03 항체 (5D6)를 사용한 처리 시 시간의 경과에 따른 종양 부피에 대한 효과 (예를 들어, 종양 성장 억제)를 또한 결장직장암 PTPRK-RSP0 융합 환자 유래 종양 모델에서 시험하고, 이를 도 11A-D에 제시한다. 항-

RSPO3 항체 (5D6)를 사용한 모델의 처리는 종양 성장의 유의한 감소 또는 종양 성장의 정체를 나타내었다. 모델에서, 퇴행 및/또는 정체의 발생은 항-RSPO3 항체 (5D6) 사용 시 즉각적이지 않았고; 처리 개시 후 퇴행 또는 정체의 발생에 지연이 존재하였다. 추가로, 항-돼지풀 항체 또는 항-RSPO3 항체 (5D6)로 처리된 결장직장암 환자 유래 모델 종양을 H&E 염색 및 알시안 블루 염색으로 염색한 경우에, 도 12A-D에 제시된 바와 같이 조직병리학상 두드러진 차이가 존재하였다. 항-RSPO3 (5D6)-처리된 종양에서, 종양 세포의 수에서 유의한 감소가 존재하였다. 대부분의 나머지 세포의 조직학은 분화된, 성숙한 비-증식성 배상 세포와 일치하였다. 또한, 항-돼지풀 항체 대조군과 비교하여 알시안 블루 염색에 의해 나타난 바와 같은 점액의 유의한 증가가 존재하였다. 따라서, 측정된 종양 부피는 실제로 유의한 부분이 종양 세포가 아닌 점액에 의해 점유되어 있을 수 있고, 따라서 종양 성장 억제에 대한 효과는 실제로 과소평가되어 있다. 어떠한 특정한 이론에 얹매이는 것을 원하지는 않지만, 이들 효능 데이터는 RSPO3 융합 양성 종양의 계층적 편성과 일치하고: 암 줄기 세포의 증식은 RSPO 단백질에 의존적이고, 항-RSPO3 항체 (5D6)를 사용한 처리 시 암 줄기 세포는 사멸되거나 또는 전이-증식 (TA) 세포로 분화된다. 그의 보충을 보장하는 줄기 세포 공급원의 부재 시, 후반에 제한된 수의 세포 분열을 거친 후, 이들은 최종적으로 분화되고, 이는 그의 소진으로 이어진다. 따라서, TA 세포 집단의 동역학 및 전반적 크기는 종양 성장 억제의 발생을 결정할 수 있다.

[0448] 마찬가지로 어떠한 특정한 이론에 얹매이는 것을 원하지는 않지만, 기재된 RSPO3 융합 양성 종양의 계층적 편성이론에 기초하면, 화학요법제와의 조합 처리는 PTPRK-RSPO 융합 환자 유래 종양 모델에서 화학요법제 단독을 사용한 처리와 비교하여 TA 세포 집단을 사멸시킴으로써 퇴행 및/또는 정체의 발생에서의 지연을 감소시킬 것이고, 효능을 증가시킬 것이다. 이러한 이론과 일치하여 도 11D 및 13A에 제시된 바와 같이, 이리노테칸과 조합된 항-RSPO3 항체 (5D6)는, CRCD 및 CRCC 결장직장암 PTPRK-RSPO 융합 환자 유래 종양 모델에서 이리노테칸 단독을 사용한 처리와 비교한 경우에, 퇴행 및/또는 정체의 발생에서의 지연을 유의하게 감소시켰고, 종양 성장을 감소시켰다. 항-RSPO3 항체를 화학요법과 조합하여 투여함으로써, 암 줄기 세포 및 TA 세포 둘 다는 종양 성장의 보다 이른 퇴행 또는 정체를 위해 표적화되었다.

[0449] 추가로, 어떠한 특정한 이론에 얹매이는 것을 원하지는 않지만, 상기 기재된 RSPO3 융합 양성 종양의 계층적 편성 이론 뿐만 아니라 줄기 세포 구획이 종양 이식 검정에 의해 측정된 바와 같이 종양 개시를 담당한다는 견해에 기초하면, 항-RSPO3 항체로 처리된 이식된 PTPRK-RSPO 융합 환자 유래 종양 모델은 감소된 암 줄기 세포 집단을 가질 것이고, 이는 연속적인 PTPRK-RSPO 융합 환자 유래 종양의 확립 및 종양 성장을 감소시킬 것이다. 마찬가지로, 이러한 이론과 일치하여 도 13B-C에 제시된 바와 같이, 연속 이식 실험에서, 항-RSPO3 항체 (5D6)를 사용한 처리는 항-RSPO3 처리된 단편으로부터 연속 이식 후 보다 소수의 종양이 확립 및 성장되게 하였다.

[0450] 상기 본 발명은 이해의 명확성의 목적을 위해 예시 및 예의 방식으로 어느 정도 상세하게 기재되었지만, 상기 설명 및 예는 본 발명의 범주를 제한하는 것으로 해석되어서는 안된다. 본원에 인용된 모든 특허 및 과학 문헌의 개시내용은 그 전문이 명백하게 참조로 포함된다.

서열 1 >sp|Q6UXX9|RSPO2_인간 R-스폰дин-2 OS=호모 사피엔스 GN=RSPO2
 MQFRLFSFALIIINCMDSHCQGNRWRRSKRASYVSNPICKGCLSCSKDNGCSRQQLF
 FFLRREGMRQYGECLHSCPSSGYYGHRAPDMNRCARCRIECDSCFSKDFCTKCKVGFYLH
 RGRCFDECPCDGFALEETMECVEGCEVGHWSEWGTCSRNNRTCGFKWGLETRTRQIVKKP
 VKDTILCPTIAESRRCKMTMRHCPGGKRTPKAKEKRNKKKKRKLIERAQEQHSVFLATDR
 ANQ

서열 2 >sp|Q9BXY4|RSPO3_인간 R-스폰дин-3 OS=호모 사피엔스 GN=RSPO3
 MHLLRISWLFIILNFMELYIGSQNASRGRQRMMHPNVSQGCQGGCATCSDYNGCLSKPR
 LFFALERIGMKQIGVCLSSCPSSGYYGTRYPDINKCTKCKADCDTCFNKNFCTKCKSGFY
 HLKGKCLDNCPGLEANNHMECVSIVHCEVSEWNPWSPCTKKGKTCGFKRGTETRVREII
 OHPSAKGNLCPPNETRKCTVQRKKQKGERGKKGRERKRKKPKNGESKAEIPDSKSLES
 SKEIPEQRENKQQQKKRKVQDKQKSVSVSTVH

서열 3 >sp|Q2MKA7|RSPO1_인간 R-스폰дин-1 OS=호모 사피엔스 GN=RSPO1
 MRLGLCVVALVLSWTHLTISRGKQRRISAEGSQACAKGCELSEVNGCLKSPKL
 FILLERNDIROQVGVLCPSCPPGYFDARNPDMNKCIKCKIEHCEACFSHNFCTKCKEGLYL
 HKGRCYPACPEGSSAANGTMECSSPAQCEMSEWSPWGPCSKKQQLCGFRRGSEERTRVL
 HAPVGDHAACSDTKETRRCTVRRVPCPEGQKRRKGGRRENANRNLRKESKEAGAGSR
 RRKGQQQQQQQGTVGPLTSAGPA

서열 4 >sp|Q2I0M5|RSPO4_인간 R-스폰дин-4 OS=호모 사피엔스 GN=RSPO4
 MRAPLCLLLVAHAVDMALANRRKKQVGTGLGGNCTGCIICSEENGCTCQQLFLFIRR
 EGIRQYGYKCLHDCPPGYFGIRGQEVNRCKKGATCESCFSQDFCIRCKRQFYLYKGKCLP
 TCPGTLAHQNTRECQGECELGPWGGSWPCTHNGKTCGSAWGLSERVREAGRAGHEEAAT
 CQVLSESRKCIQRPCPGERSPGQKKGRKDRRPRKDRKLDRRLDVRPRQPGLQP

명칭	서열	서열 번호
4H1-HVR L1	RSSQSIVHSNGNTYLE	5
4H1-HVR L2	RISNRFS	6
4H1-HVR L3	FQGSHVPYT	7
4H1-HVR H1	NFAMS	8
4H1-HVR H2	EINNGGNYAYYQDTVTG	9
4H1-HVR H3	EDYVNYEAYFAY	10
4D4-HVR L1	RSSQSIVHSNGNTYLE	11
4D4-HVR L2	RISNRFS	12
4D4-HVR L3	FQGSHVPYT	13
4D4-HVR H1	NFAMS	14
4D4-HVR H2	EINNGGNYAYYQDTVTG	15
4D4-HVR H3	EDYVNYEAYFAY	16
5C2-HVR L1	RASQDISNYLN	17
5C2-HVR L2	YTSRLHS	18
5C2-HVR L3	QQGDTLPPT	19
5C2-HVR H1	SYGVH	20
5C2-HVR H2	VIWTGGSTNYNSALMS	21
5C2-HVR H3	VDGYYYFDY	22
5D6-HVR L1	KASQDIDSYLS	23
5D6-HVR L2	LTNRILVD	24
5D6-HVR L3	LHYDEFPLT	25
5D6-HVR H1	SGYWN	26
5D6-HVR H2	YISYSGKTYQNPSLKS	27
5D6-HVR H3	YYGYGGPWFAY	28
5E11-HVR L1	RASQDISNYLN	29
5E11-HVR L2	YTSRLHS	30
5E11-HVR L3	QHGDTLPPT	31

[0451]

5E11-HVR H1	SYAVH	32
5E11-HVR H2	VIWSGGSTDYNAAFIS	33
5E11-HVR H3	NDGYYYFDY	34
6E9-HVR L1	RASQDISNYLN	35
6E9-HVR L2	YTSRLHS	36
6E9-HVR L3	QQGDTLPPA	37
6E9-HVR H1	SYGVH	38
6E9-HVR H2	VIWSGGSTDYNAAFIS	39
6E9-HVR H3	NDGYYYFDY	40
21C2-HVR L1	RASESVDSYGNFMH	41
21C2-HVR L2	LASNLES	42
21C2-HVR L3	QQNNEDPYT	43
21C2-HVR H1	DYVIH	44
21C2-HVR H2	VITTYYGDASYNQFKKG	45
21C2-HVR H3	GAYGNSPSYWYFDV	46
26E11-HVR L1	KASQDIDSYLS	47
26E11-HVR L2	LTNRLID	48
26E11-HVR L3	LQYDEFPVT	49
26E11-HVR H1	SGYWS	50
26E11-HVR H2	YISFSGKTYYIPLKS	51
26E11-HVR H3	YHGYGGPWFAY	52
1A1-HVR L1	TLSSQHSTNYIE	53
1A1-HVR L2	VRDGSHSKGD	54
1A1-HVR L3	GLSDVSLYL	55
1A1-HVR H1	DYFMS	56
1A1-HVR H2	HIYTKTYNATYYSGSVKG	57
1A1-HVR H3	DEDWYFDF	58
11F11-HVR L1	TLSSQHSSYGIT	59
11F11-HVR L2	LRSDGSHSKGD	60
11F11-HVR L3	VTYDSTVGV	61
11F11-HVR H1	EYYVT	62
11F11-HVR H2	DIDPENGDTDYNQKFQG	63
11F11-HVR H3	GYDYAFDS	64
36D2-HVR L1	TRSSGNIGSNYVS	65
36D2-HVR L2	KFDQRPS	66
36D2-HVR L3	LSGYDKYV	67
36D2-HVR H1	SSDWS	68
36D2-HVR H2	YMNYGGGTYYNPSLEN	69
36D2-HVR H3	ERPHPYAYFDV	70
49G5-HVR L1	TLSSQYNTYYIE	71
49G5-HVR L2	LSDGSHSKGD	72
49G5-HVR L3	GVSDVSLYL	73
49G5-HVR H1	SYNIH	74
49G5-HVR H2	AVWRGGGTYYNSNLKS	75
49G5-HVR H3	EELRYVYFDV	76
COMP1-HVR L1	KASQDIDSYLS	77
COMP1-HVR L2	LTNRLX ₁ D 여기서 X ₁ 은 V 또는 I 임	78
COMP1-HVR L3	LX ₁ YDEFPX ₂ T 여기서 X ₁ 은 H 또는 Q이고 X ₂ 는 L 또는 V 임	79
COMP1-HVR H1	SGYWX ₁ 여기서 X ₁ 은 N 또는 S 임	80

COMP1-HVR H2	YISX ₁ SGKTYX ₂ X ₃ PSLKS 여기서 X ₁ 은 Y 또는 F이고, X ₂ 는 Q 또는 Y이고, X ₃ 은 N 또는 I임	81
COMP1-HVR H3	YX ₁ GYGGPWFAY 여기서 X ₁ 은 Y 또는 H임	82
COMP2-HVR L1	RASQDISNYLN	83
COMP2-HVR L2	YTSRLHS	84
COMP2-HVR L3	QX ₁ GDTLPPX ₂ 여기서 X ₁ 은 Q 또는 H이고 X ₂ 는 T 또는 A임	85
COMP2-HVR H1	SYX ₁ VH 여기서 X ₁ 은 A 또는 G임	86
COMP2-HVR H2	VIWX ₁ GGSTX ₂ YNX ₃ AX ₄ X ₅ S 여기서 X ₁ 은 S 또는 T이고, X ₂ 는 D 또는 N이고, X ₃ 은 A 또는 S이고, X ₄ 는 L 또는 F이고, X ₅ 는 M 또는 I임	87
COMP2-HVR H3	X ₁ DGYYYFDY 여기서 X ₁ 은 N 또는 V임	88
4H1 V _L	SIVMTQTPLSLPVSLGQASISCRSSQSVHNSGNTYLEWYLQKPGQSPKLLIYRISNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYYCFQGSHVPYTFGGGTKLEIK	89
4H1 V _H	EVKLVESGGGFVKPGGSLKLSCAASGFTFSNFAMSWVRQSPKRLEWVAEINNGGNYAYYQDTVTGRFTISRDNAKNTLYLEMSSLRSEDATAMYFCAREDYVNYEAYFAYWGQGTTLTVSS	90
4D4 V _L	DIQMNQSHKFMSTSVGDRVSITWKASQDVGTAVAWYQQKPGQSPKLLIYWASTRHTGVPDFRTGSGSGTDFTLTISNVQSEDLADYFCQQYSSSITFGAGTKLEIK	91
4D4 V _H	QVQLQQSGPELVRPGESVKISCKGSGYSFTDYAMHWVKQSHAKSLEWIGIISIYYDNTNQNKFKGRATMTVDKSSSTAYMELARLTSEDAIYYCARGGNGYYYMDYWGQGTTVTVSS	92
5C2 V _L	DIVMTQSTSSLSASLGDRVТИSCRASQDISNYLNWYQQKPDGTVKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDSLTISNLEPEDIATYFCQQGDTLPPTFGGGTKLEIK	93
5C2 V _H	EVQLQESGPGLVAPSQSLSITCTVSGFSLTSYGVHWRQPPGKGLEWLGVIAWTGGSTNYYNSALMSRLSISKDNSKSQVFLKMNSLQTDATAMYCARVDGYYYFDYWGQGTTLTVSS	94
5D6 V _L	DIVLTQSPSSMYASLGERVTITCKASQDIDSYLSWFQQKPGKSPKTLIYLTRNLVDGVPSRFSGSGSGQDYSLTISSELEYDMGIYYCLHYDEFPLTFGAGTKLEIK	95
5D6 V _H	EVQLQESGPGLVKPSQTLSTLCSTVGDTSITSGYWNWIRKFPGNKFEMGYISYSGKTYQNPSLKSRSITRDTSKNQYHLQLNSVTTEDTATYYCATYHGYYGPWFAYWGQGTLTVSA	96
5E11 V _L	DIVMTQSTSSLSASLGDRVТИSCRASQDISNYLNWYQQKPDGTVKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDSLTISNLEKEDVATYFCQHGDTLPPTFGGGTKLEIK	97
5E11 V _H	QVQLKQSGPGLVQPSQSLSITCTVSGFSLSSYYAVHWVWRQSPGEGLEWLGVIAWSGGSTDYNAAFISRMSITKDNSKSQVFFKMNSLQADDTAIYFCARNDGYYYFDYWGQGTTLTVSS	98
6E9 V _L	DIKMTQSTSSLSASLGDRVТИSCRASQDISNYLNWYQQKPDGTVKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDSLTISNLEQEDIATYFCQQGDTLPFAFGGGTKLEIK	99
6E9 V _H	QVQLKESGPGLVQPSQSLSITCTVSGFSLTSYGVHWRQSPGKGLEWLGVIAWSGGSTDYNAAFISRMSISKDNSKSQVFFKMNSLQANDTAIYYCARNDGYYYFDYWGQGTTLTVSS	100
21C2 V _L	DIVLTQSPASLTVSLGQRATISCRASESVDSYGNTFMHWYQQKPGQPPKLLIYLASNLESGVPARFSGSGSRDFTLTDIPVEADDAATYYCQNNEDPYTFGGGTKLEIK	101
21C2 V _H	QVQLQESGAEVLVREGVSVKISCKGSGYTFTDYVIHWVKQSHAKSLEWIGVITTYYGDASYNQKFKGKATMTVDKSSSTAYMELARLTSEDAIYYCARGAYGNSPSYWYFDVWAGTSTVSS	102
26E11 V _L	DIKMTQSPSSMYASLGERVTITCKASQDIDSYLSWFQQKPGKSPKTLIYLTRNLIDGVPSRFSGSGSGQDYSLTINSLELEYDMGIYYCLQYDEFPTVTFGAGTRLEIK	103
26E11 V _H	EVOLQESGPGLVKPSQTLSTLCSTVGDTSITSGYWSWIRKFPGNKLEFMGYISFSGKTYYIPSLKSRVSITRDTSKNQYYLQLNSVTTEDTATYYCATYHGYYGPWFAYWGQGTLTVSS	104
1A1 V _L	QPVLTQSPSVSASLGASVKTLCITLSSQHSTNYIEWYQQHEDKSPKFLM0VRDGSHSKGDGTPDRFSGSSSGAHRYLISNLQLEDEAIYYCGLSDVSLYLFSGSTQ	105

LTLL		
1A1 V _H	EVQLVESGGGLVKPEGSLKLSCVASGFTFSDFMSWVRQAPGQGLEWVAHIYT KTNYATYSGSVKGRFSISRDSRNMVYLQMNLLRTEDTATYYCTTDEDWYF DFWGQGTQVTSS	106
11F11 V _L	QPVLTQSPSASASLGASVKTCLTCLSSQHSSYGITWLQHQHDKAPKCVMYLRS GSHSKGDGIPDRFSGSSSGAHRYLSISNVQPEDEAIYFCVTYDSTGVFGSGT QLTVP	107
11F11 V _H	QVQLQQSGPQLVKPGFSVKFSCKASGITFTEYYVTWVKQRAQGQLEWVGIDP ENGDTDYNQKFQGKATITADKSSSTAYMELSSLTSEDAVYYCATGYDYAFDS WGQGTQVTSS	108
36D2 V _L	ELVFTQPQSVSGSLQEIISISTRSSGNIGSNYVSWYQQQSNKPRLLIYKFD QRPSGVPDRFSGSTDSSNSGILTISRLQPEDEGDDYCLSGYDKYVFGSGTQL TLL	109
36D2 V _H	QIQLQESGPGLVKPSQSLSLTCVTGNSITSSDWNSWIRQFPGKLEWMGYMNY GGGTYYNPSLENRISITRDTSKNQFFLHLKSVTTEDTATYYCARERPHPYAYF DVWGQGIQVTSS	110
49G5 V _L	QPLLTQSPSVSASLGASVKTCLTCLSSQYNTYYIEWYQQHPDKSPKFLMQLSDG SHSKGDGIPDRFSGSSSGAHRYLSISNLQLEDEAIYYCGVSDVSLYVFGSGTQ LTVL	111
49G5 V _H	QVQLKESGPGLVQPSQTLTCTVSGFSLTSYNIHWVRQPPGKLEWMGAVWR GGGTYYNSNLKSRVIIITRDTSKSQVLLKLNNLQHEDTAMYCCAREELRYVYFD VWGQGIQVTSS	112
5D6v5.1-HVR-H3	YYGYGGPFFAY	188
5D6v5.2-HVR-H3	YYGYGGPHFAY	189
5D6v1 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITCKASQDIDSYLSWFQOKPGKAPKTLIYLTNR LVDGVPSRFSRGSGSGQDYTLTISSLQPEDFATYYCLHYDEFPLTFGQGTKEI K	190
5D6v1 V _H	EVQLVESGPGLVKPSETLSLTCTVSGDSITSGYWNWIRQPPGKLEYMGYISY SGKTYQNPSLKSRTISRDTSKNQYSLKLSSVTAADTAVYYCATYYGYGGPWF AYWGQGTQVTSS	191
5D6v2.1 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITCKASQDIDSYLSWFQOKPGKAPKTLIYLTNR LVDGVPSRFSRGSGSGQDYTLTISSLQPEDFATYYCLHYDEFPLTFGQGTKEI K	192
5D6v2.1 V _H	EVQLVESGPGLVKPSETLSLTCTVSGDSITSGYWNWIRQPPGKLEYMGYISY SGKTYQNPSLKSRTISRDTSKNQYSLKLSSVTAADTAVYYCATYYGYGGPWF AYWGQGTQVTSS	193
5D6v2.2 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITCKASQDIDSYLSWFQOKPGKAPKLLIYLTNR LVDGVPSRFSRGSGSGQDYTLTISSLQPEDFATYYCLHYDEFPLTFGQGTKEI K	194
5D6v2.2 V _H	EVQLVESGPGLVKPSETLSLTCTVSGDSITSGYWNWIRQPPGKLEYMGYISY SGKTYQNPSLKSRTISRDTSKNQYSLKLSSVTAADTAVYYCATYYGYGGPWF AYWGQGTQVTSS	195
5D6v2.3 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITCKASQDIDSYLSWFQOKPGKAPKTLIYLTNR LVDGVPSRFSRGSGSGQDYTLTISSLQPEDFATYYCLHYDEFPLTFGQGTKEI K	196
5D6v2.3 V _H	EVQLVESGPGLVKPSETLSLTCTVSGDSITSGYWNWIRQPPGKLEYMGYISY SGKTYQNPSLKSRTISRDTSKNQYSLKLSSVTAADTAVYYCATYYGYGGPWF AYWGQGTQVTSS	197
5D6v2.4 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITCKASQDIDSYLSWFQOKPGKAPKTLIYLTNR LVDGVPSRFSRGSGSGQDFTLTISSLQPEDFATYYCLHYDEFPLTFGQGTKEI K	198
5D6v2.4 V _H	EVQLVESGPGLVKPSETLSLTCTVSGDSITSGYWNWIRQPPGKLEYMGYISY SGKTYQNPSLKSRTISRDTSKNQYSLKLSSVTAADTAVYYCATYYGYGGPWF AYWGQGTQVTSS	199
5D6v2.8 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITCKASQDIDSYLSWFQOKPGKAPKTLIYLTNR LVDGVPSRFSRGSGSGQDYTLTISSLQPEDFATYYCLHYDEFPLTFGQGTKEI K	200
5D6v2.8 V _H	EVQLVESGPGLVKPSETLSLTCTVSGDSITSGYWNWIRQPPGKLEYMGYISY SGKTYQNPSLKSRTISVDTSKNQYSLKLSSVTAADTAVYYCATYYGYGGPWF	201

	AYWGQGTLVTVSS	
5D6v2.10 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDIDSYLSWFOQKPGKAPKTLIYLNR LVDGVPSRFSGSGQDYTLTISSLQPEDFATYYCLHYDEFPLTFGQGTVKVEI K	202
5D6v2.10 V _H	EVQLVESGPGLVKPSETLSLTCTVSGDSITSGYWNWIRQPPGKGLEWIGYISY SGKTYQNPSLKSRTISRDTSKNQYSLKLSSVTAADTAVYYCARYYGYGGPWF AYWGQGTLVTVSS	203
5D6v3.2 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDIDSYLSWFOQKPGKAPKTLIYLNR LVDGVPSRFSGSGQDYTLTISSLQPEDFATYYCLHYDEFPLTFGQGTVKVEI K	204
5D6v3.2 V _H	EVQLVESGPGLVKPSETLSLTCTVSGDSITSGYWNWIRQPPGKGLEWIGYISY SGKTYQNPSLKSRTISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARYYGYGGPWF AYWGQGTLVTVSS	205
5D6v3.3 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDIDSYLSWFOQKPGKAPKTLIYLNR LVDGVPSRFSGSGQDYTLTISSLQPEDFATYYCLHYDEFPLTFGQGTVKVEI K	206
5D6v3.3 V _H	EVQLVESGPGLVKPSETLSLTCTVSGDSITSGYWNWIRQPPGKGLEWIGYISY SGKTYQNPSLKSRTISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARYYGYGGPWF AYWGQGTLVTVSS	207
5D6v4.1 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDIDSYLSWFOQKPGKAPKTLIYLNR LVDGVPSRFSGSGQDYTLTISSLQPEDFATYYCLHYDEFPLTFGQGTVKVEI K	208
5D6v4.1 V _H	EVQLVESGPGLVKPSETLSLTCTVSGDSITSGYWNWIRQPPGKGLEWIGYISY SGKTYQNPSLKSRTISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARYYGYGGPWF AYWGQGTLVTVSS	209
5D6v4.3 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDIDSYLSWFOQKPGKAPKTLIYLNR LVDGVPSRFSGSGQDYTLTISSLQPEDFATYYCLHYDEFPLTFGQGTVKVEI K	210
5D6v4.3 V _H	EVQLVESGPGLVKPSETLSLTCTVSGDSITSGYWNWIRQPPGKGLEWIGYISY SGKTYQNPSLKSRTISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARYYGYGGPWF AYWGQGTLVTVSS	211
5D6v5.1 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDIDSYLSWFOQKPGKAPKTLIYLNR LVDGVPSRFSGSGQDYTLTISSLQPEDFATYYCLHYDEFPLTFGQGTVKVEI K	212
5D6v5.1 V _H	EVQLVESGPGLVKPSETLSLTCTVSGDSITSGYWNWIRQPPGKGLEWIGYISY SGKTYQNPSLKSRTISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARYYGYGGPWF AYWGQGTLVTVSS	213
5D6v5.2 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDIDSYLSWFOQKPGKAPKTLIYLNR LVDGVPSRFSGSGQDYTLTISSLQPEDFATYYCLHYDEFPLTFGQGTVKVEI K	214
5D6v5.2 V _H	EVQLVESGPGLVKPSETLSLTCTVSGDSITSGYWNWIRQPPGKGLEWIGYISY SGKTYQNPSLKSRTISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARYYGYGGPHF AYWGQGTLVTVSS	215
COMP1-HVR H3	YX ₁ GYGGFX ₂ FAY 여기서 X ₁ 은 Y 또는 H이고 X ₂ 는 W, F, 또는 H 임	216

[0455]

EIF3E (e1) -RSPO2 (e2) 전위 응합 폴리뉴클레오티드 (서열 173)
 GAGCACAGACTCCTTTCTTGGCAAGATGGCGGAGTACGACTTGACTACTCGCATCGCAGCTTTGGATCGGCAT
 CTAGTCTTCCGCTCTTGAATTCTCTCTGTAAAGGAGGTTCTGGCGAGAGATGCTGATCGCCTGAACGTGACCGGG
 TGCGGCCCGGGGTGAGTGGCGAGTCCTCCCTCTGAGTCTCCTCCCCAGCAGCGCCGGCGCCGGCTCTTGGCGAAC
 CTCCAGTTCTAGACTTTGAGAGGCCTCTCTCCCCCGCCGACCGCCAGATGCAGTTGCGCTTTCTCTTGGCGCC
 CATCATTCTGAACCTGCATGGATTACAGCCACTGCCAAGGCAACCGATGGAGACGCAGTAAGCAGCTAGTTATCA
 AAATCCCATTGCAAGGGTTGTTGTCCTGTTCAAAGGACAATGGGTGAGCCATGTCAACAGAAGTTGTTCTTCC
 TTGGAAGAGAAGGGATGCAGTATGGAGAGTGCCTGCATTCCGCCATCCGGTACTATGGACACCCGAGCCCCAGA
 ATGAAACAGATGTGCAAGATGCAAGAATGAAAAGACTGTGATTCTGCTTAGCAAAGACTTTGACCAAGTGCAAAGTA
 GGCTTTATTGCAATAGAGGCCGTTGCTTGATGAAATGTCAGATGGTTTGACCATAGAAGAAACCATGGAATGTG
 TGGAAAGGATGTGAAAGTTGGTCATTGGAGGAATGGGAACATTGTAGCAGAAATAATCGCACATGTGGATTAAATGGGG
 TCTGGAAACCAGAACACGGCAAATTGTTAAAAGCCAGTGAAGACACAATACTGTGTCACCCATTGCTGAATCCAGG
 AGATGCAAGATGACAATGAGGCATTGTCAGGGAGGAAGAGAACACCAAAGGCGAAGGAGAAGAGGAACAAGAAAAAGA
 AAAGGAAGCTGATAGAAAGGGCCAGGAGCAACACAGCGTCTCCTAGCTACAGACAGAGCTAACCAAATAA

[0456]

EIF3E (e1) -RSPO2 (e2) 전위 응합 폴리펩티드 서열 (서열 174)

MAEYDLTTRIAHFLDRHLVPLLEFLSVKEVRGGEMLIALNMQFRILFSFALIILNCMDYSHCQGNRWRSSKRASYVSNP
ICKGCLSCSKDNGCSRQCQKLLFFLRREGMRQYGECLHSCPSSGYGHRAPDMNRACRIENCDSFSKDFCTKCVGF
YLHGRGRCFDECPDGFALEETMECVEGCEVGHWSEWTCSRNNTCFGFWLETRTRQIVKKPVKDTILCPTIAESRR
KMTMRHCPGGKRTPKAKEKRNKKKKRKLIERAQEQHSVFLATDRANQ

PTPRK (e1) -RSPO3 (e2) 전위 응합 폴리뉴클레오티드 서열 (서열 175)

ATGGATACGACTGCGCGGCGCTGCCTGCTTTGTGGCGCTCTGCTCCTCTCCTGGCCTCTGGGATCGG
CCCAAGGCCAGTCTCCGCAGTCATCCTAACGTTAGCTGCAAGGCTGCCAAGGAGGCTGTGCAACATGCTCAGATTACAA
TGGATTTGTCATGAAAGCCCAGACTATTTTGCTCTGGAAAGAATTGGCATGAAGCAGATTGGAGTATGCTCTCT
TCATGTCAGTGGATATTATGGAACGATATCCAGATATAAAAGTGTACAAAATGCAAGCTGACTGTGATACCT
GTTCAACAAAATCTGCACAAACATGAAAGGGATTACTACACCTTGAAAGTGCCTGACAATTGCCCAGA
AGGGTGGAGGCAACAAACATGAAAGGGATTACTGGACTGTGCACTATTGTCAGTGAAAGTGAATCTGGAGT
CCATGCACGAAGAAGGGAAAACATGTCAGTGGCTCAAAAGGGGACTGAAACACGGGCTCGAGAAATAACAGCATCCTT
CAGCAAAGGGTAACCTGTGTCCCCCAACAAATGAGACAAAGGAAAGTGTACAGTGCAAAAGGAAGTGTCAAGAGGGAGA
ACGAGGAAAAAGGAAGGGAGAGGAAAAGAAAAACCTAATAAAGGAGAAAGTAAAGAAGCAACAGCAGCAGAAGAAGCGAA
AGTCTGAATCCAGCAAAGAAATCCCAGAGCAACGAGAAAACACAGCAGCAGAAGAAGCGAAAGTCCAAGATAAAC
AGAAATCGGTATCAGTCAGCACTGTACACTAG

PTPRK (e1) -RSPO3 (e2) 전위 응합 폴리펩티드 서열 (서열 176)

MDTAAAALPAFVALLLSPWPLLGSQGQFSAVHPNVSQGCGGATCSDYNGCLSKPRLFALERIGMKQIGVCLS
SCPSGYGTRYPDINKTKCKADCDTFCNKNFCTKCKSGFYLHLGKLDNCPEGLEANNHTECVSIVHCEVSEWPWS
PCTKKGKTCGFKRGTEVREIIQHPSAKGNLCPPTRKCTVQRKKCQKGERGKGR

PTPRK (e7) -RSPO3 (e2) 전위 응합 폴리뉴클레오티드 서열 (서열 177)

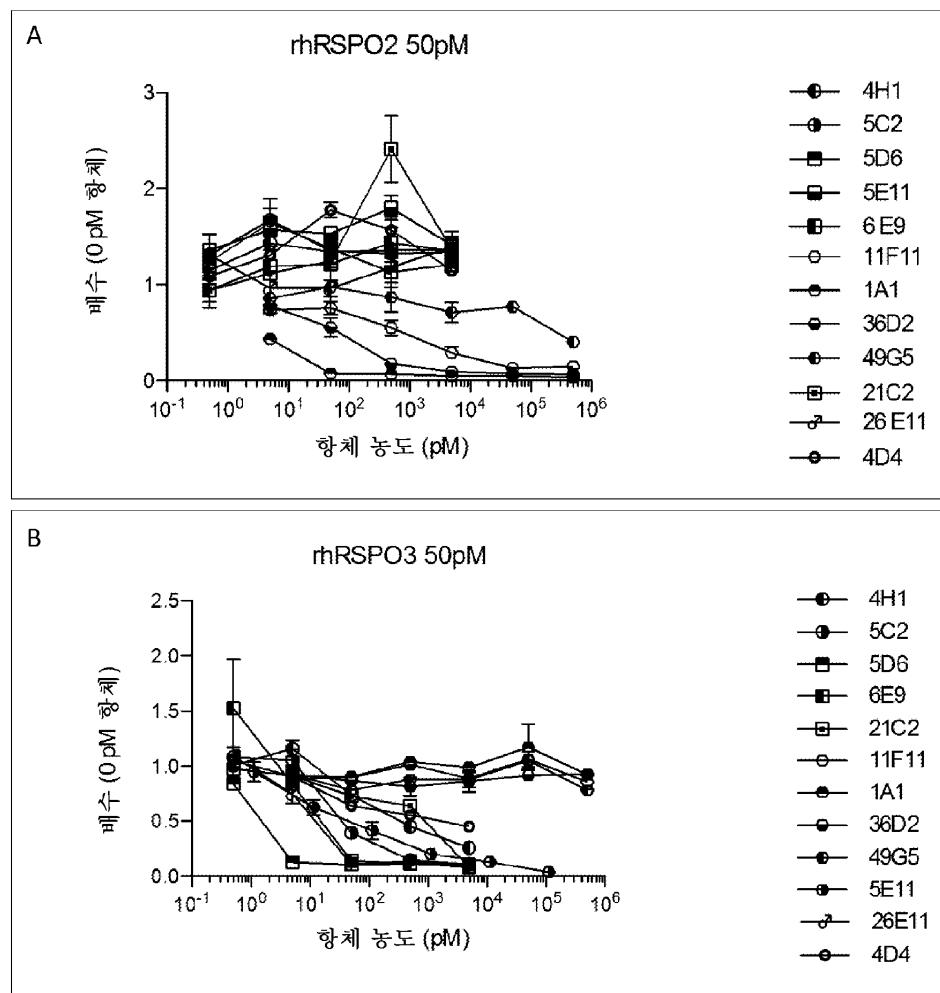
ATGGATACGACTGCGCGGCGCTGCCTGCTTTGTGGCGCTCTGCTCCTCTCCTGGCCTCTGGGATCGG
CCCAAGGCCAGTCTCCGCAGGTGGCTGTACTTTGATGATGGTCAGAGCCTATTATCTACACCCGAGATGCCCAAGGTTCTATGATA
TGACTTTGAATGGGTGCATGTTAGTGCTCAAGAGCCTATTATCTACACCCGAGATGCCCAAGGTTCTATGATA
GTGGACTCTTCAGATCACGACCCCTGGAGAAAAGCCAGACTTCAGTGCTCACATGAAGGAGAACGACACTGCA
TTGATTTCACTATTATATAGCCAGAAGGACTGAATCTGCACATTGACATATTAGTTAGGGTGAATAAAGG
ACCTCTGCCAATCCAATTGGAAATGTGACTGGATTACGGGTTAGAGATTGGCTCGGGCTGAGCTAGCAGTGAGCACC
TTTGGCCCAATGAATATCAGGTAATTGAGCTGAAGTCTCAGGGAGAGATGGCTTATGGGATGTGACAGGAC
TCCAAGTACTGAGTTACCTGTGATAAAATCTCTCATTCCCTCCGCTAGGGGATGTAGAGGTGAATGCAGGGCAAAA
CGCTACATTCAGTGCATTGCCACAGGGAGAGATGCTGTGATAACAAGTTATGGCTCCAGAGACGAAATGGAGAAGAT
ATACCAGTAGCCAGACTAAGAACATCAATCATAGAAGGTTGCCGCTTCAGATTGCAAGAAGTGAACAAACTG
ACCAAGGATTTGATCGCTGTAACTCAGTCAGAACGAGGTTCCGGTGTGTCACATTGCTCAACTTATTGAGAGA
ACCGCCAAGACCCATTGCTCTCCTCAGCTTGGGTTGGGCTACATATTGCTGATCCAACATAATGCCAACTCG
ATCATGGCGATGGCTCATCCTGAAAGAAGTAGAGCTCAGGAATGACATCAGGATCTGGACAGAAACCCATGCG
TCAATGCTCCAATTACAATTATGGCATGATCCAGATACCGAATATGAGATCCGAGTTCAACTAACAGACCTGG
TGAAGGTGGAACGGGGCTCCAGGACCTCAATCACCAAGAACAAATGTGCAAGTGCATCTAACGTTAGTCAAGGC
TGCCAAGGAGGCTGCAACATGCTCAGATTACAATGGATTTGTCATGTAAGCCAGACTATTGGCTCTGGAAA
GAATTGGCATGAAGCAGATTGGAGTATGTCCTTCATGTCAGTGGATATTGGAACCTGATATCCAGATATAAA
TAAGTGTACAAATGCAAGCTGACTGTCATGTCACCTGTTCAAAATTTCTGCACAAATGTTAAAGTGGATTTCAC
TTACACCTGGAAAGTGCCTGACAATTGCCAGAAGGGTGGAGCCAACACCATACTATGGAGTGTGTCAGTATTG
TGCAGTGAGGTGAGTGAATGGAACCTGTCATGCAAGAAGGAAACATGTCAGTGGCTTCAAAAGAGGGAC
TGAACACGGGCTCCAGGAAATAACAGCATCTCAGCAAAGGGTAACCTGTGTCAGGCTTCAACAAATGAGACAAGAAAG
TGTACAGTGAAAGGAAGTGTCAAGAAGGGAGAACGAGGAAAAAGGAAGGGAGAGGAAAGAAAAACCTAATA
AAGGAGAAAGTAAAGAAGCAACCTGACAGCAAAGTCTGGAATCCAGCAAAGAAATCCCAGAGCAACGAGAAAACAA
ACAGCAGCAGAAGAAGCGAAAGTCCAAGATAACAGAAATCGGTATCAGTCAGCACTGTACACTAG

PTPRK (e7) -RSPO3 (e2) 전위 응합 폴리펩티드 서열 (서열 178)

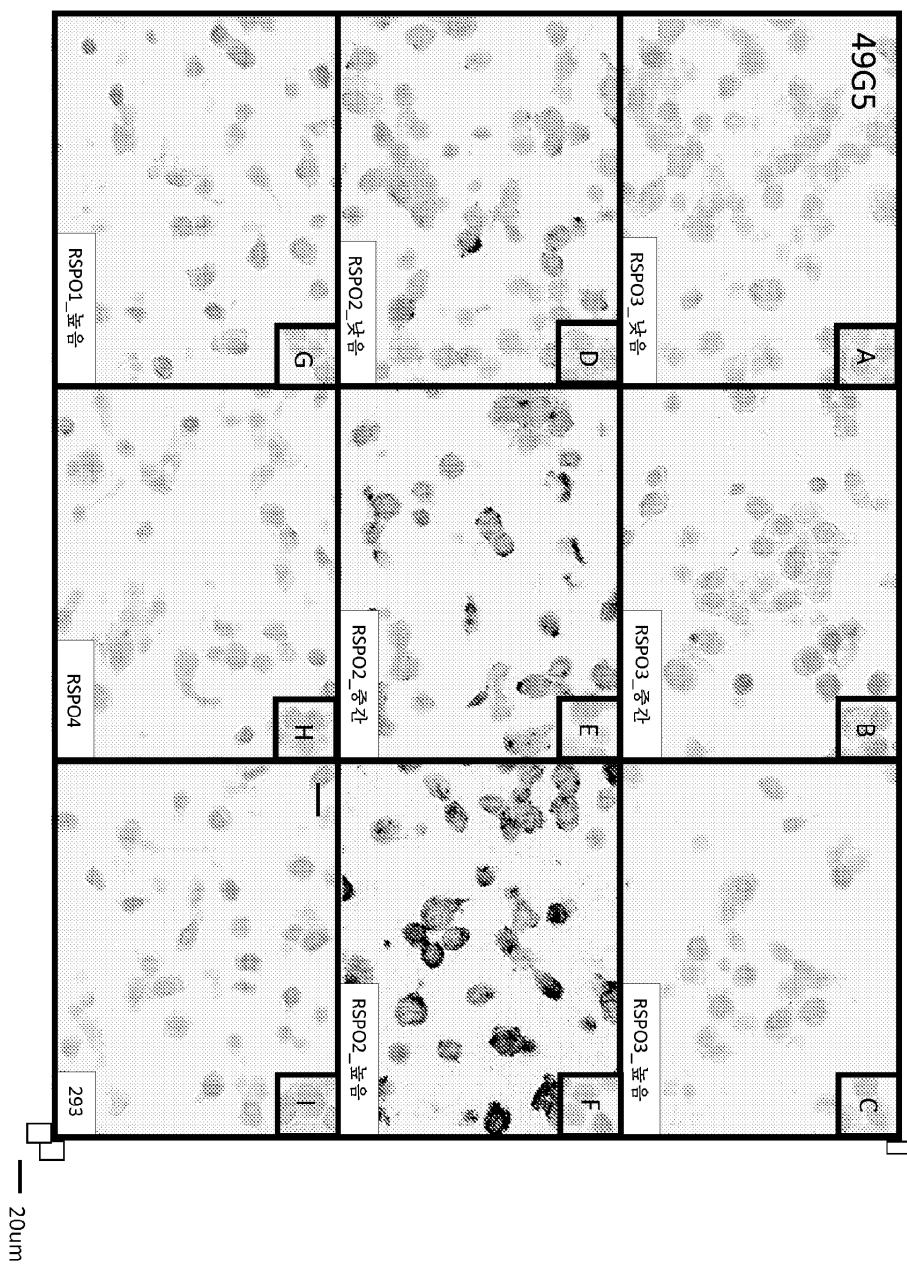
MDTAAAALPAFVALLLSPWPLLGSQGQFSAGGCTFDDGPGACDYHODLYDDFEVHVSQAEPEHYLPPPEMPQGQSYMI
VDSSDHPGEKARLQLPTMKENDTHCIDSYLLYSQKGLNPGLNLIIVRVNKGLPLANPIIWNVTGFTGRDWLRALAVST
FWPNEYQVIFAEVSGGRSGYIAIDDIQVLSYPCDKSPHFLRLGDVEVNAQNATFQCIATGRDAVHNKLWLQRRNGED
IPVAQTKNINHRRFAASFRQLQEVTKTDQDLYRCVTQSERGSGVSNTAQLIVREPPIAPPQLLGVGPTYLLIQLNANS
IIGDPIIILKEVEYRMTSGSWTETHAVNAPTYKLWHLDPDTEYEIRVLLTRPGEGGTGLPGPPLITRTKCAVHPNVSQG
CQGGCATCSDYNGCLSKPRLFALERIGMKQIGVCLSSCPSSGYGTRYPDINKTKCKADCDTFCNKNFCTKCKSGFY
LHLGKLDNCPEGLEANNHTECVSIVHCEVSEWPWSCTKKGKTCGFKRGTEVREIIQHPSAKGNLCPPTRK
CTVQRKKCQKGERGKGRERKRKKPNKGESKEAIPDSKSLESSKEIPEQRENKQQQKRKVQDKQKSVSVSTVH

도면

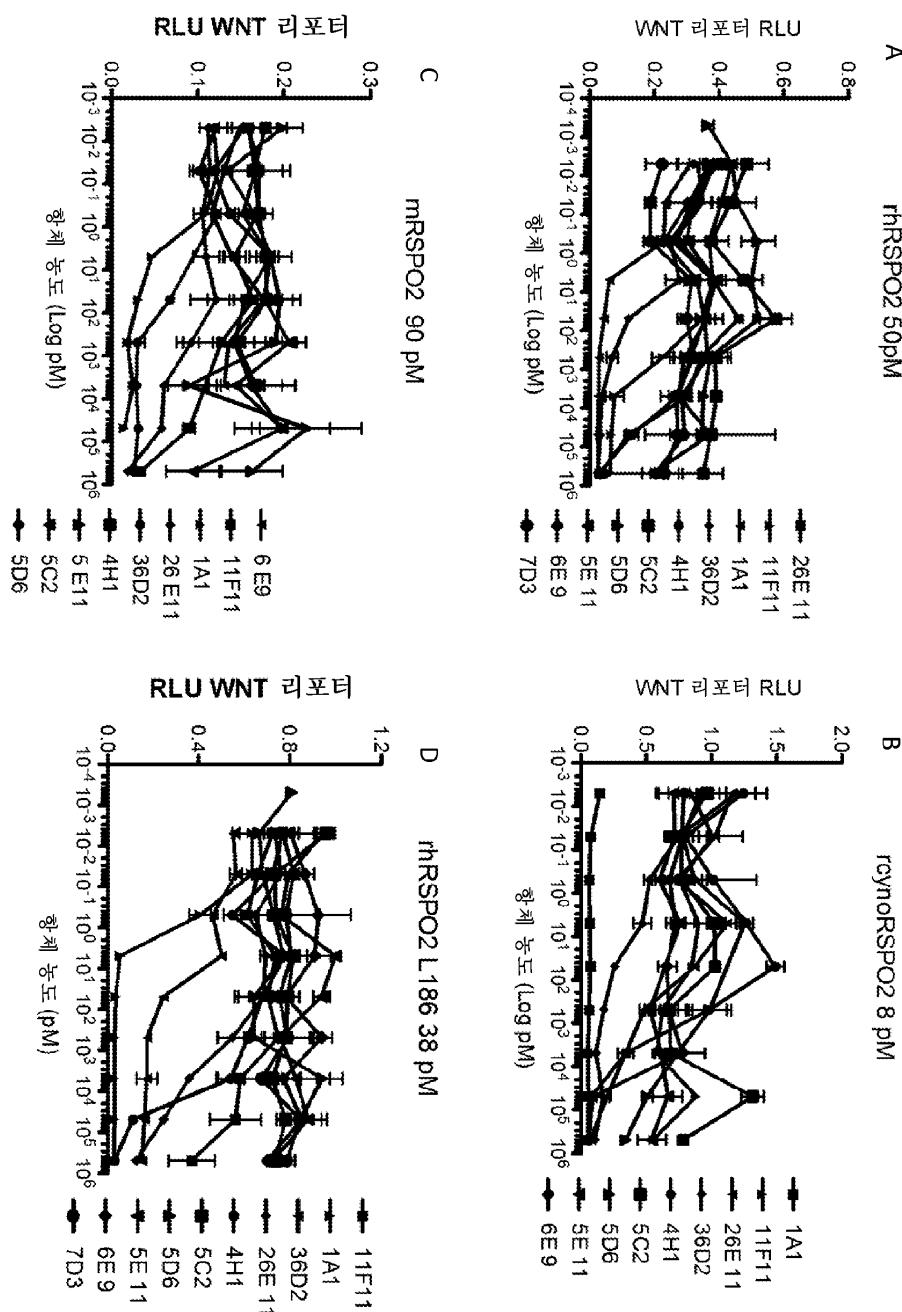
도면1



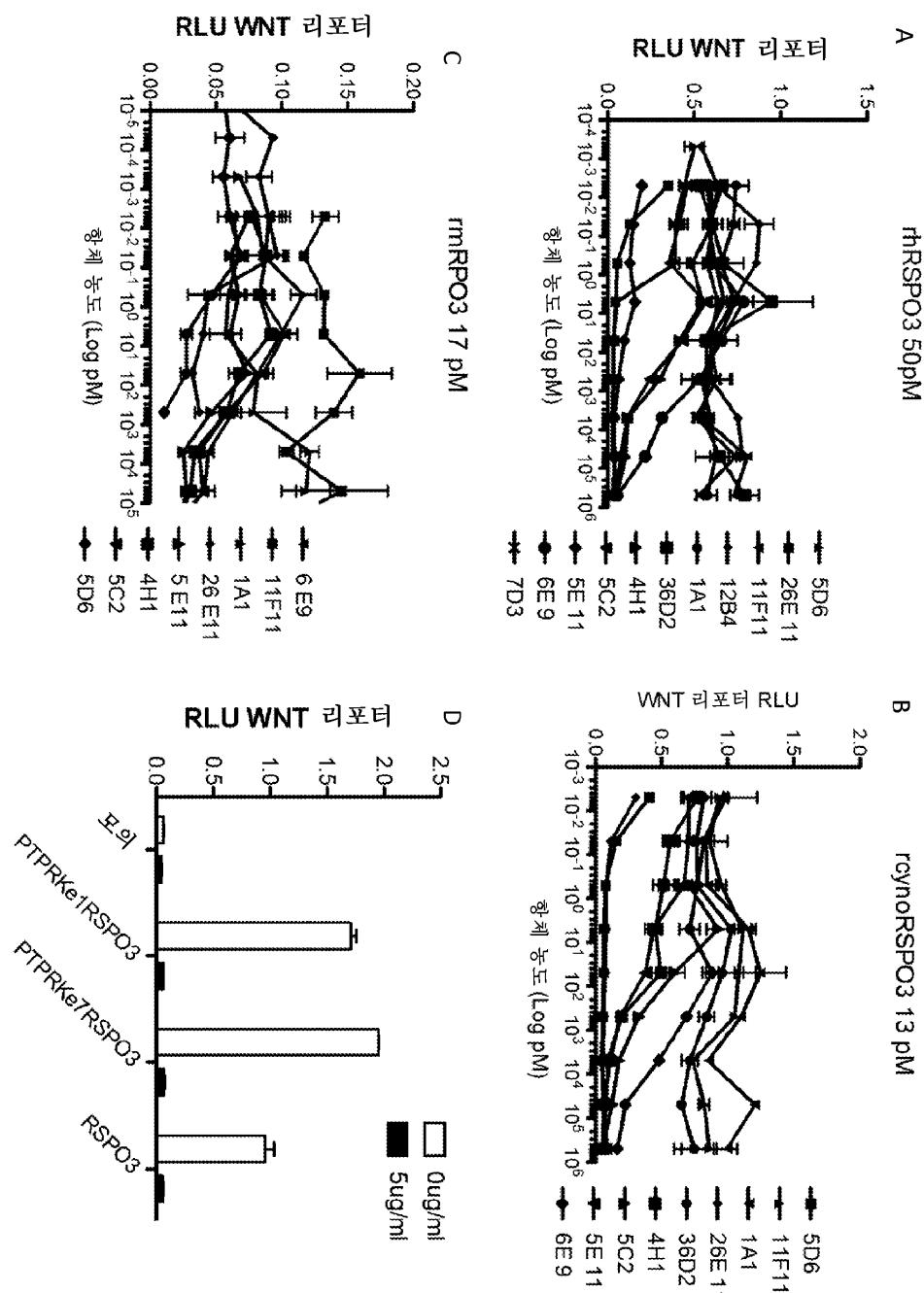
도면2



도면3



도면4



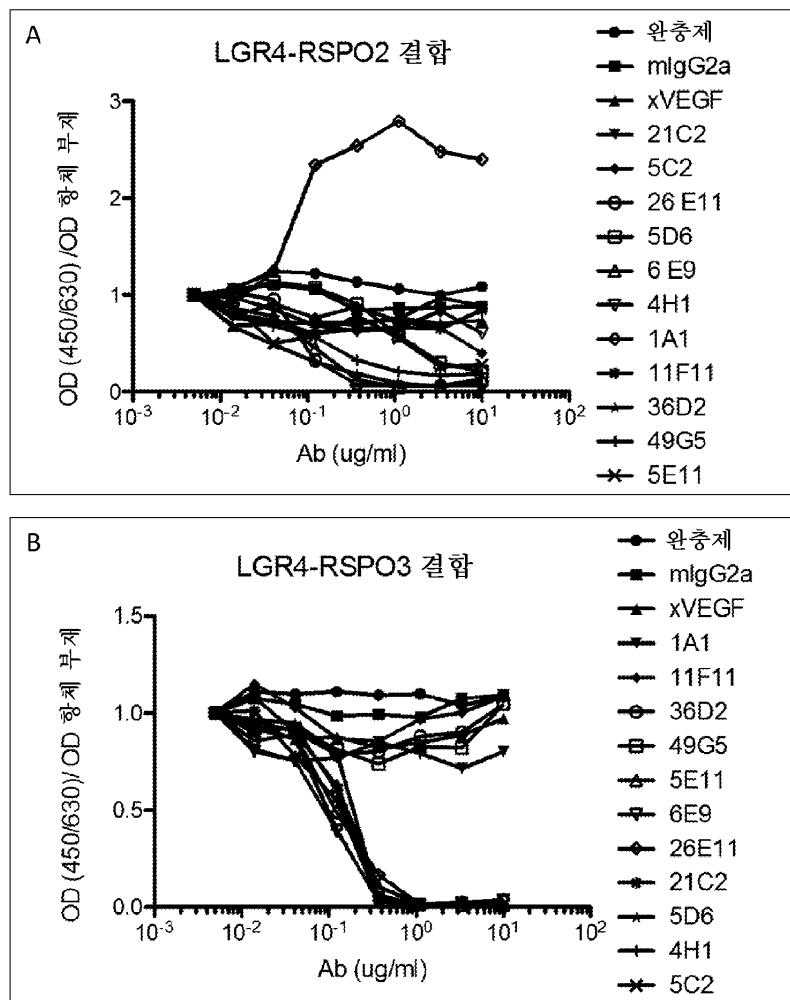
도면5

		RSPO2				RSPO3				RSPO2/3			
		1A1	36D2	11F11	5D6	5E11	5G2	26E11	4H1	6E9			
친화도 ¹ (nM)	Fab	H: 2.9 C: 1.4 M: 3.6	H: 6.3 C: 1.1 M: 5.5	H: 63 C: - M: -	H: - C: - M: -	H: - C: - M: -	H: - C: 62 M: 66	H: 80 C: - M: -	H: - C: - M: -	H: - C: - M: -			
IC50 ² (nM)	2가	H: 0.0004 C: 0.0005 M: 0.0022	H: 0.012 C: 0.013 M: 0.004	H: 0.179 C: 1.9 M: -	H: - C: - M: -	H: - C: - M: -	H: 9.8 C: 2.7 M: 24	H: 6.4 C: 2.8 M: -	H: - C: - M: -	H: - C: - M: -			
친화도 ¹ (nM)	Fab	H: - C: - M: -	H: - C: - M: -	H: - C: 1.9 M: 3.36	H: 0.073 C: 39 M: 98	H: 10.6 C: 70 M: 63	H: 17 C: 2.43 M: 1.42	H: 0.7 C: 6.4 M: 6.8	H: 9.5 C: 6.4 M: -	H: 6.7 C: - M: -			
IC50 ² (nM)	2가	H: - C: - M: -	H: - C: - M: -	H: - C: 0.0003 M: 0.001	H: 0.0003 C: 0.31 M: 0.5	H: 0.09 C: 1.3 M: 0.47	H: 0.65 C: 0.002 M: 0.004	H: 0.0001 C: 0.029 M: 0.004	H: 0.8 C: 0.29 M: 0.69	H: 5.6 C: 6.5 M: 140			

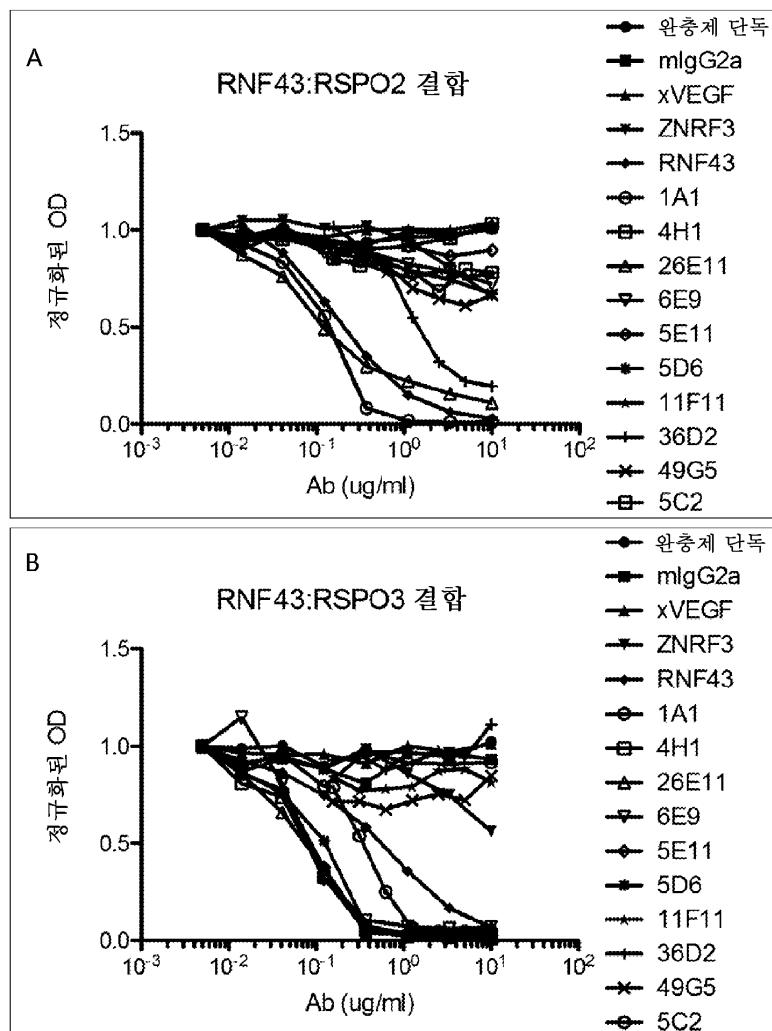
¹친화도는 항체의 Fab를 사용하여 비아코어에 의해 측정하였다
²IC50 즉, 50% 억제하는 WNT 류시페 라제 리포터를 RSPO의 EC50으로 자극하여 생성하였다
“-”=결합 없음, 또는 IC50 > 500 nM

H:인간, C:시노; M:미국스

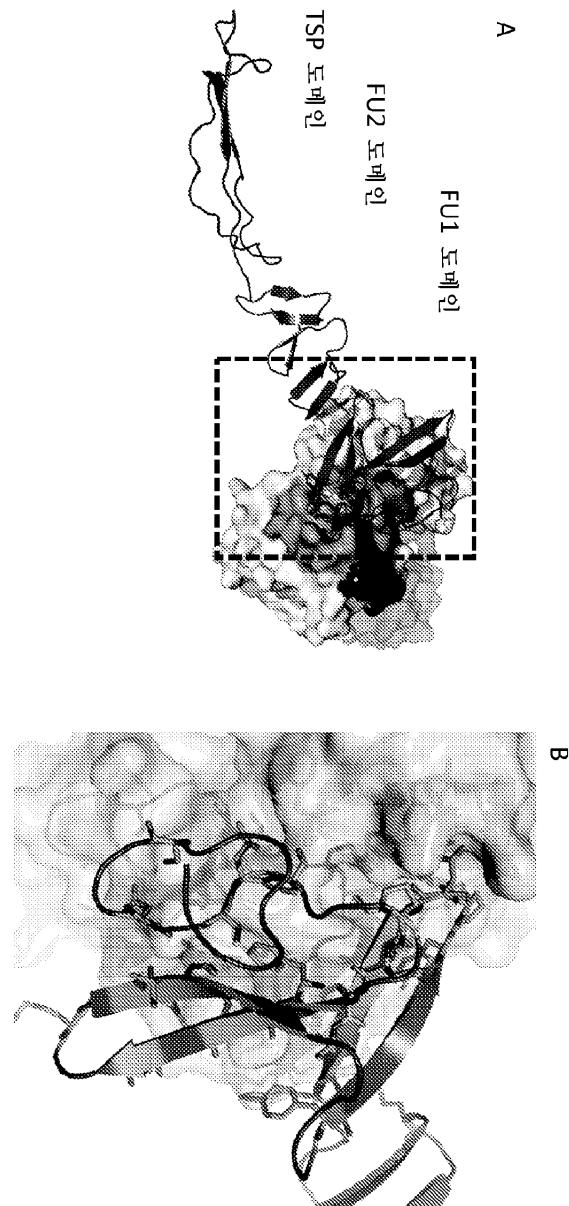
도면6



도면7



도면8



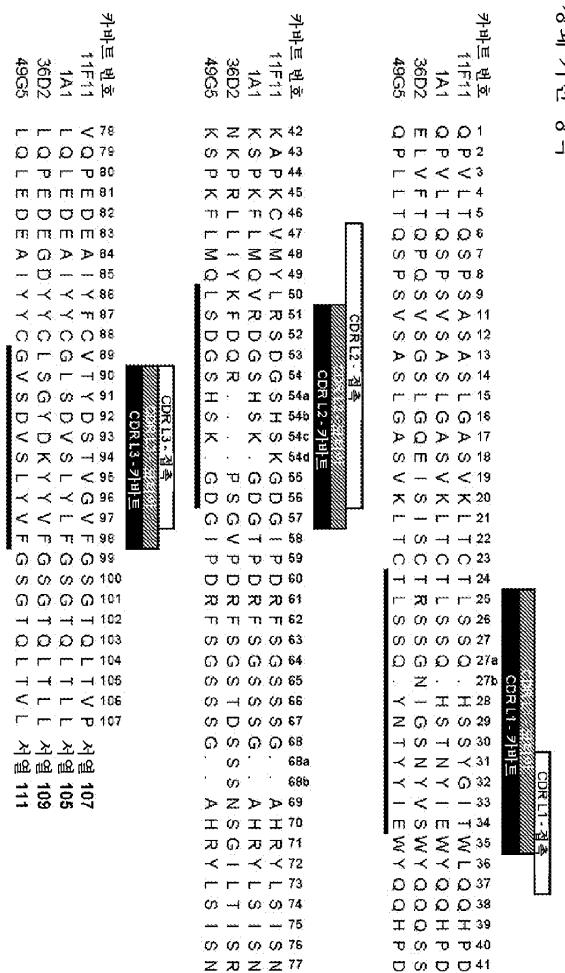
도면9a

정체 가변 영역

도면9b

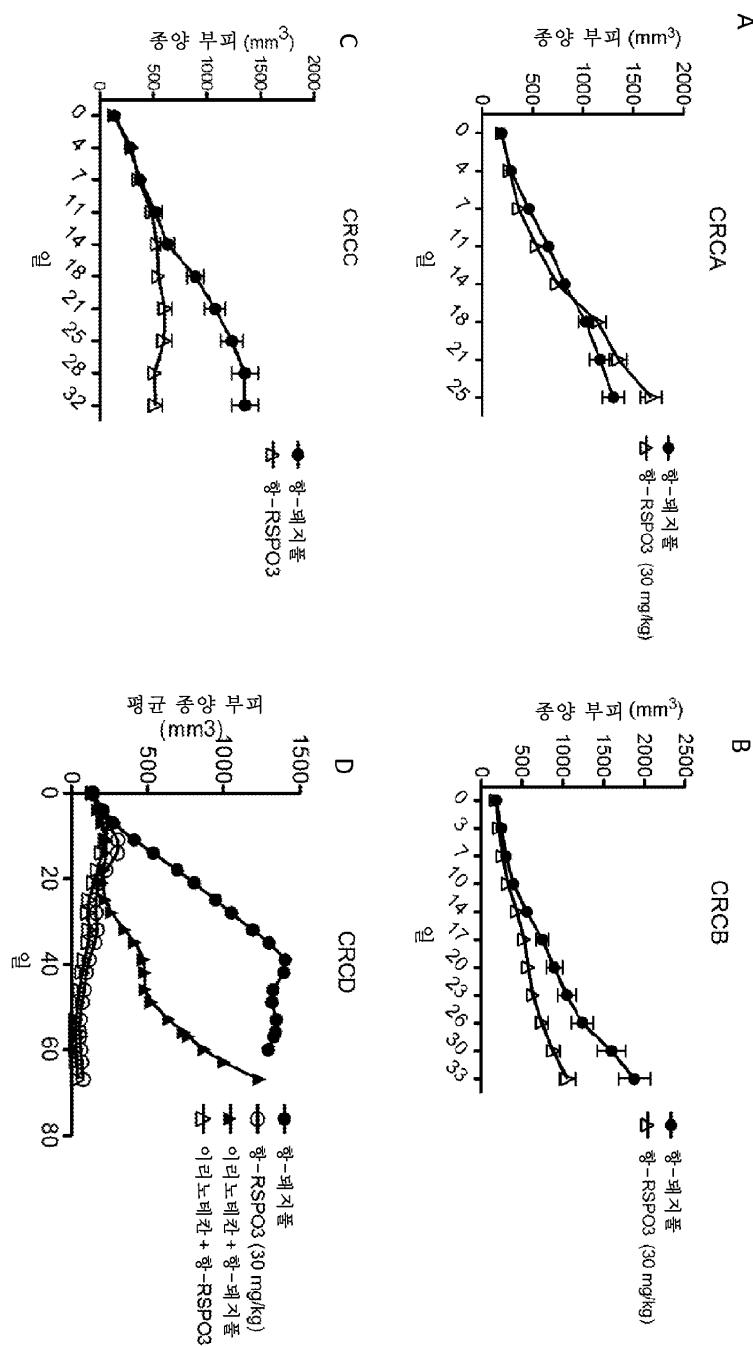
중쇄 가변 영역

도면 10a

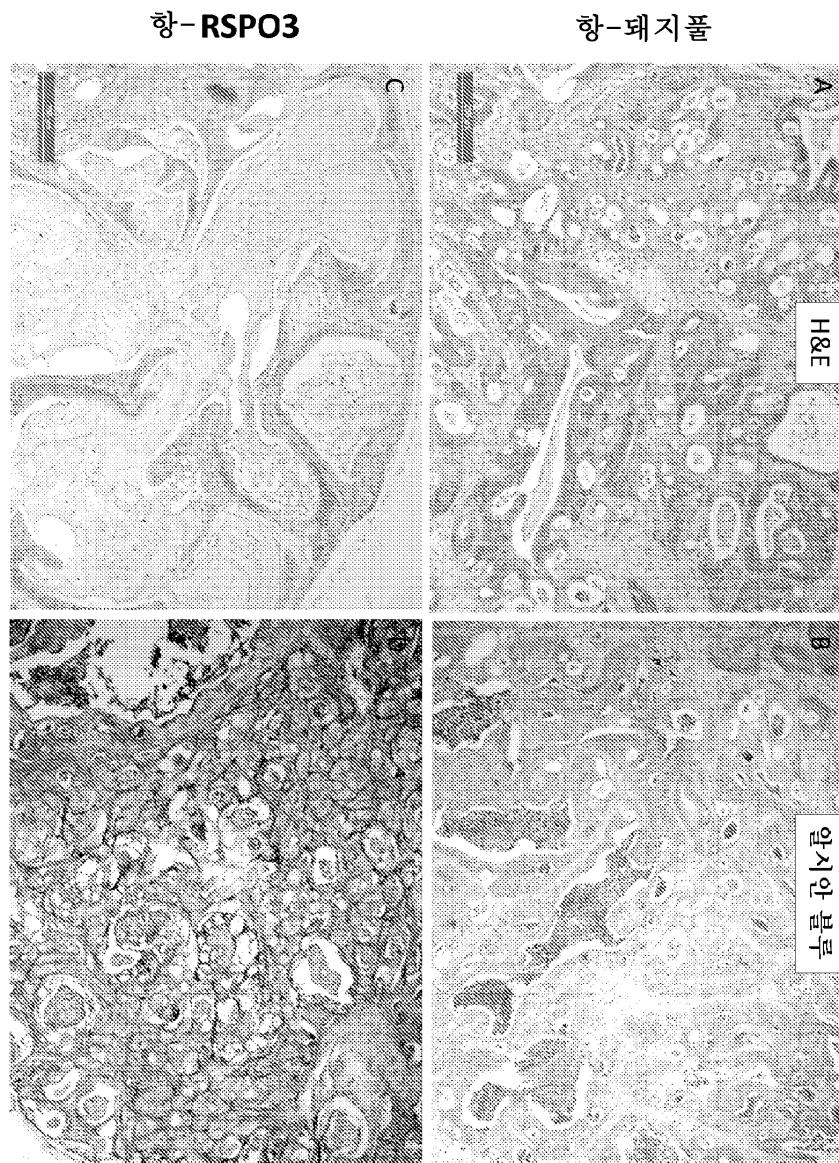


도면 10b

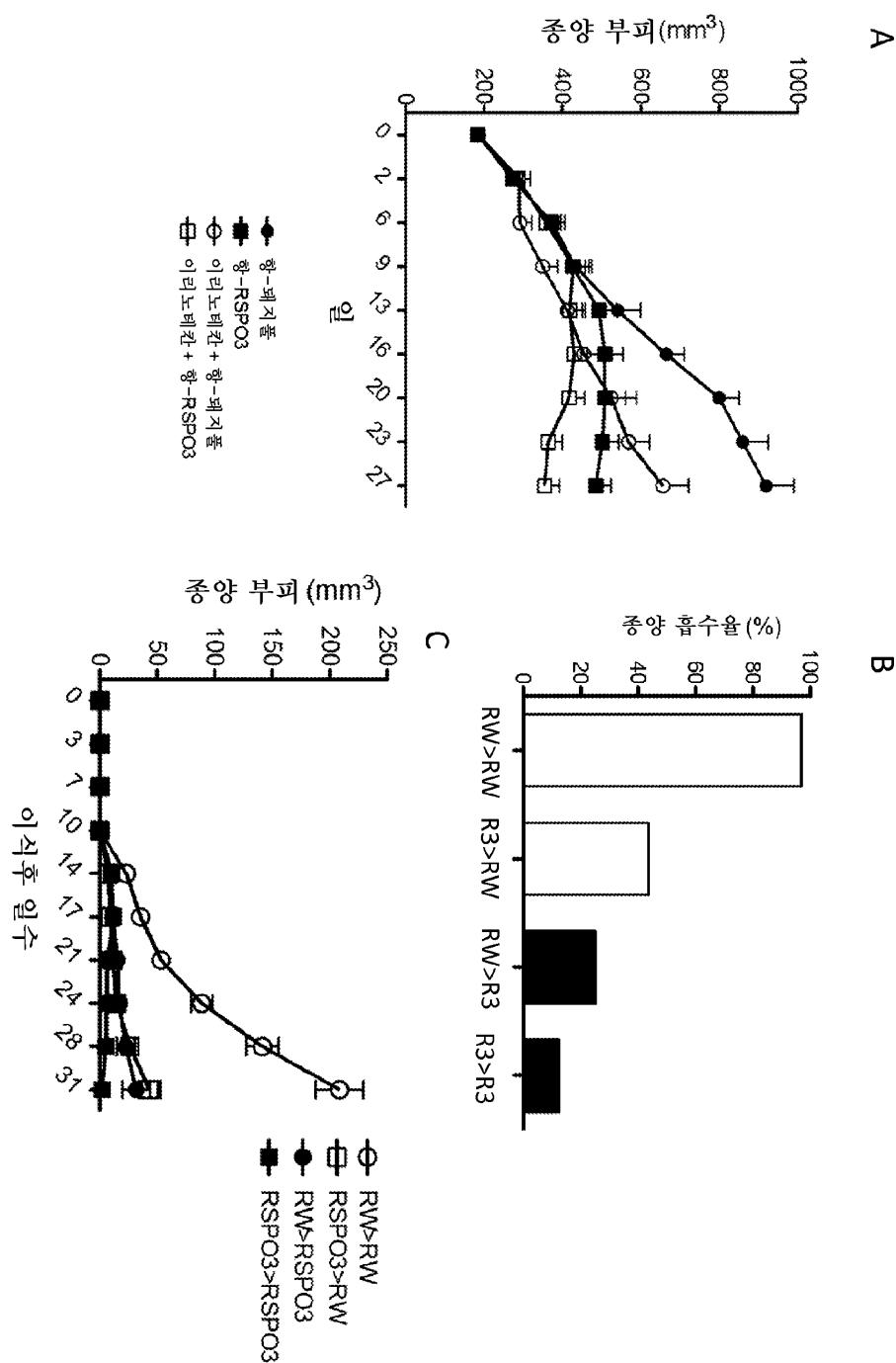
도면11



도면12



도면13



도면14a

경쇄 가변 영역

카바트 번호	CDR L1 - 접두		CDR L1 - 접두		CDR L1 - 접두	
	506	506	506	506	506	506
hu5D6v1	D	I	V	L	T	
hu5D6v2.1	D	I	Q	M	T	
hu5D6v2.2	D	I	Q	M	T	
hu5D6v2.3	D	I	Q	M	T	
hu5D6v2.4	D	I	Q	M	T	
hu5D6v2.8	D	I	Q	M	T	
hu5D6v2.10	D	I	Q	M	T	
hu5D6v3.2	D	I	Q	M	T	
hu5D6v3.3	D	I	Q	M	T	
hu5D6v4.1	D	I	Q	M	T	
hu5D6v4.3	D	I	Q	M	T	
hu5D6v5.1	D	I	Q	M	T	
hu5D6v5.2	D	I	Q	M	T	

카파트 번호	CCR L2- 치수													
	CCR L2- 카버트													
43	44	45	46	47	48	50	51	52	53	54	55	56	57	58
5D6v1	A	P	K	T	L	I	Y	L	T	N	R	L	D	G
hu5D6v2.1	A	P	K	T	L	I	Y	L	T	N	R	L	V	D
hu5D6v2.2	A	P	K	L	L	I	Y	L	T	N	R	L	V	D
hu5D6v2.3	A	P	K	T	L	I	Y	L	T	N	R	L	V	D
hu5D6v2.4	A	P	K	T	L	I	Y	L	T	N	R	L	V	D
hu5D6v2.8	A	P	K	T	L	I	Y	L	T	N	R	L	V	D
hu5D6v2.10	A	P	K	T	L	I	Y	L	T	N	R	L	V	D
hu5D6v3.2	A	P	K	T	L	I	Y	L	T	N	R	L	V	D
hu5D6v3.3	A	P	K	T	L	I	Y	L	T	N	R	L	V	D
hu5D6v4.1	A	P	K	T	L	I	Y	L	T	N	R	L	V	D
hu5D6v4.3	A	P	K	T	L	I	Y	L	T	N	R	L	V	D
hu5D6v5.1	A	P	K	T	L	I	Y	L	T	N	R	L	V	D
hu5D6v5.2	A	P	K	T	L	I	Y	L	T	N	R	L	V	D

도면14b

중쇄 가변 영역

카바트 번호		CDR H2- 친족		CDR H2- 카바트	
		CDR H2- 친족	CDR H2- 카바트	CDR H2- 친족	CDR H2- 카바트
5D6	hu5D6v1	E V Q L V E S G P G L V K P S E T L S L T C T V S	G D S I T S G Y W N W I R Q P P G	E V Q L V E S G P G L V K P S E T L S L T C T V S	G D S I T S G Y W N W I R Q P P G
hu5D6v2.1	hu5D6v2.2	E V Q L V E S G P G L V K P S E T L S L T C T V S	G D S I T S G Y W N W I R Q P P G	E V Q L V E S G P G L V K P S E T L S L T C T V S	G D S I T S G Y W N W I R Q P P G
hu5D6v2.3	hu5D6v2.4	E V Q L V E S G P G L V K P S E T L S L T C T V S	G D S I T S G Y W N W I R Q P P G	E V Q L V E S G P G L V K P S E T L S L T C T V S	G D S I T S G Y W N W I R Q P P G
hu5D6v2.8	hu5D6v2.10	E V Q L V E S G P G L V K P S E T L S L T C T V S	G D S I T S G Y W N W I R Q P P G	E V Q L V E S G P G L V K P S E T L S L T C T V S	G D S I T S G Y W N W I R Q P P G
hu5D6v3.2	hu5D6v3.3	E V Q L V E S G P G L V K P S E T L S L T C T V S	G D S I T S G Y W N W I R Q P P G	E V Q L V E S G P G L V K P S E T L S L T C T V S	G D S I T S G Y W N W I R Q P P G
hu5D6v4.1	hu5D6v4.3	E V Q L V E S G P G L V K P S E T L S L T C T V S	G D S I T S G Y W N W I R Q P P G	E V Q L V E S G P G L V K P S E T L S L T C T V S	G D S I T S G Y W N W I R Q P P G
hu5D6v5.1	hu5D6v5.2	E V Q L V E S G P G L V K P S E T L S L T C T V S	G D S I T S G Y W N W I R Q P P G	E V Q L V E S G P G L V K P S E T L S L T C T V S	G D S I T S G Y W N W I R Q P P G
카바트 번호		CDR H2- 친족		CDR H2- 카바트	
		CDR H2- 친족	CDR H2- 카바트	CDR H2- 친족	CDR H2- 카바트
5D6	hu5D6v1	K G L E Y M G Y I S Y S G K T Y Q N P S L K S R I T	I S R D T S K N Q Y S L	K L S S	K L S S
hu5D6v2.1	hu5D6v2.2	K G L E Y M G Y I S Y S G K T Y Q N P S L K S R I T	I S R D T S K N Q Y S L	K L S S	K L S S
hu5D6v2.3	hu5D6v2.4	K G L E Y M G Y I S Y S G K T Y Q N P S L K S R I T	I S R D T S K N Q Y S L	K L S S	K L S S
hu5D6v2.8	hu5D6v2.10	K G L E Y M G Y I S Y S G K T Y Q N P S L K S R I T	I S R D T S K N Q Y S L	K L S S	K L S S
hu5D6v3.2	hu5D6v3.3	K G L E W I G Y I S Y S G K T Y Q N P S L K S R I T	I S R D T S K N Q F S L	K L S S	K L S S
hu5D6v4.1	hu5D6v4.3	K G L E W I G Y I S Y S G K T Y Q N P S L K S R V T	I S R D T S K N Q F S L	K L S S	K L S S
hu5D6v5.1	hu5D6v5.2	K G L E W I G Y I S Y S G K T Y Q N P S L K S R V T	I S R D T S K N Q F S L	K L S S	K L S S
카바트 번호		CDR H3- 친족		CDR H3- 카바트	
		CDR H3- 친족	CDR H3- 카바트	CDR H3- 친족	CDR H3- 카바트
5D6	hu5D6v1	V T A A D T A T V Y Y C A T Y Y G G G P W F A Y W G Q G T L V T V S A	S S S S S S	서열 96	서열 191
hu5D6v2.1	hu5D6v2.2	V T A A D T A T V Y Y C A T Y Y G G G P W F A Y W G Q G T L V T V S S	S S S S S S	서열 191	서열 193
hu5D6v2.3	hu5D6v2.4	V T A A D T A T V Y Y C A T Y Y G G G P W F A Y W G Q G T L V T V S S	S S S S S S	서열 195	서열 197
hu5D6v2.8	hu5D6v2.10	V T A A D T A T V Y Y C A T R Y Y G G G P W F A Y W G Q G T L V T V S S	S S S S S S	서열 199	서열 201
hu5D6v3.2	hu5D6v3.3	V T A A D T A T V Y Y C A T Y Y G G G P W F A Y W G Q G T L V T V S S	S S S S S S	서열 203	서열 205
hu5D6v4.1	hu5D6v4.3	V T A A D T A T V Y Y C A T Y Y G G G P W F A Y W G Q G T L V T V S S	S S S S S S	서열 207	서열 209
hu5D6v5.1	hu5D6v5.2	V T A A D T A T V Y Y C A T Y Y G G G P F A Y W G Q G T L V T V S S	S S S S S S	서열 211	서열 213

서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> GENENTECH, INC. ET AL.

<120> ANTI-RSPO ANTIBODIES AND METHODS OF USE

<130> P5719R1-W0

<140> 62/056,324

<141> 2014-09-26

<150> 61/893, 141

<151> 2013

<160> 216

<210> 1

<211> 243

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

Met Gln Phe Arg Leu Phe Ser Phe Ala Leu Ile Ile Leu Asn Cys Met

1 5 10 15

Asp Tyr Ser His Cys Gln Gly Asn Arg Trp Arg Arg Ser Lys Arg Ala

20 25 30

Ser Tyr Val Ser Asn Pro Ile Cys Lys Gly Cys Leu Ser Cys Ser Lys

35 40 45

Asp Asn Gly Cys Ser Arg Cys Gln Gln Lys Leu Phe Phe Phe Leu Arg

50 55 60

Arg Glu Gly Met Arg Gln Tyr Gly Glu Cys Leu His Ser Cys Pro Ser

65 70 75 80

Gly Tyr Tyr Gly His Arg Ala Pro Asp Met Asn Arg Cys Ala Arg Cys

85 90 95

Arg Ile Glu Asn Cys Asp Ser Cys Phe Ser Lys Asp Phe Cys Thr Lys

100 105 110

Cys Lys Val Gly Phe Tyr Leu His Arg Gly Arg Cys Phe Asp Glu Cys

115 120 125

Pro Asp Gly Phe Ala Pro Leu Glu Glu Thr Met Glu Cys Val Glu Gly

130 135 140

Cys Glu Val Gly His Trp Ser Glu Trp Gly Thr Cys Ser Arg Asn Asn

145 150 155 160

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

165 170 175

Val Lys Lys Pro Val Lys Asp Thr Ile Leu Cys Pro Thr Ile Ala Glu

180 185 190

Ser Arg Arg Cys Lys Met Thr Met Arg His Cys Pro Gly Gly Lys Arg

195 200 205

Thr Pro Lys Ala Lys Glu Lys Arg Asn Lys Lys Lys Arg Lys Leu

210	215	220
Ile Glu Arg Ala Gln Glu Gln His Ser Val Phe Leu Ala Thr Asp Arg		
225	230	235
Ala Asn Gln		

<210> 2

<211> 272

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 2

Met His Leu Arg Leu Ile Ser Trp Leu Phe Ile Ile Leu Asn Phe Met			
1	5	10	15
Glu Tyr Ile Gly Ser Gln Asn Ala Ser Arg Gly Arg Arg Gln Arg Arg			
20	25	30	

Met His Pro Asn Val Ser Gln Gly Cys Gln Gly Gly Cys Ala Thr Cys			
35	40	45	

Ser Asp Tyr Asn Gly Cys Leu Ser Cys Lys Pro Arg Leu Phe Phe Ala			
50	55	60	

Leu Glu Arg Ile Gly Met Lys Gln Ile Gly Val Cys Leu Ser Ser Cys			
65	70	75	80

Pro Ser Gly Tyr Tyr Gly Thr Arg Tyr Pro Asp Ile Asn Lys Cys Thr			
85	90	95	

Lys Cys Lys Ala Asp Cys Asp Thr Cys Phe Asn Lys Asn Phe Cys Thr			
100	105	110	

Lys Cys Lys Ser Gly Phe Tyr Leu His Leu Gly Lys Cys Leu Asp Asn			
115	120	125	

Cys Pro Glu Gly Leu Glu Ala Asn Asn His Thr Met Glu Cys Val Ser			
130	135	140	

Ile Val His Cys Glu Val Ser Glu Trp Asn Pro Trp Ser Pro Cys Thr			
145	150	155	160

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

Lys Gly Glu Ser Lys Glu Ala Ile Pro Asp Ser Lys Ser Leu Glu Ser
 225 230 235 240
 Ser Lys Glu Ile Pro Glu Gln Arg Glu Asn Lys Gln Gln Lys Lys
 245 250 255
 Arg Lys Val Gln Asp Lys Gln Lys Ser Val Ser Val Ser Thr Val His
 260 265 270

<210> 3

<211> 263

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 3

Met Arg Leu Gly Leu Cys Val Val Ala Leu Val Leu Ser Trp Thr His

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

65 70 75 80
 Pro Gly Tyr Phe Asp Ala Arg Asn Pro Asp Met Asn Lys Cys Ile Lys
 85 90 95
 Cys Lys Ile Glu His Cys Glu Ala Cys Phe Ser His Asn Phe Cys Thr

100	105	110
Lys Cys Lys Glu Gly Leu Tyr Leu His Lys Gly Arg Cys Tyr Pro Ala		
115	120	125
Cys Pro Glu Gly Ser Ser Ala Ala Asn Gly Thr Met Glu Cys Ser Ser		
130	135	140
Pro Ala Gln Cys Glu Met Ser Glu Trp Ser Pro Trp Gly Pro Cys Ser		
145	150	155
Lys Lys Gln Gln Leu Cys Gly Phe Arg Arg Gly Ser Glu Glu Arg Thr		
165	170	175
Arg Arg Val Leu His Ala Pro Val Gly Asp His Ala Ala Cys Ser Asp		
180	185	190
Thr Lys Glu Thr Arg Arg Cys Thr Val Arg Arg Val Pro Cys Pro Glu		
195	200	205
Gly Gln Lys Arg Arg Lys Gly Gly Gln Gly Arg Arg Glu Asn Ala Asn		
210	215	220
Arg Asn Leu Ala Arg Lys Glu Ser Lys Glu Ala Gly Ala Gly Ser Arg		
225	230	235
240		
Arg Arg Lys Gly Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gly Thr Val Gly Pro		
245	250	255
Leu Thr Ser Ala Gly Pro Ala		
260		

<210> 4

<211> 234

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 4

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

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

50	55	60
Gln Tyr Gly Lys Cys Leu His Asp Cys Pro Pro Gly Tyr Phe Gly Ile		
65	70	75
Arg Gly Gln Glu Val Asn Arg Cys Lys Lys Cys Gly Ala Thr Cys Glu		
85	90	95
Ser Cys Phe Ser Gln Asp Phe Cys Ile Arg Cys Lys Arg Gln Phe Tyr		
100	105	110
Leu Tyr Lys Gly Lys Cys Leu Pro Thr Cys Pro Pro Gly Thr Leu Ala		
115	120	125
His Gln Asn Thr Arg Glu Cys Gln Gly Glu Cys Glu Leu Gly Pro Trp		
130	135	140
Gly Gly Trp Ser Pro Cys Thr His Asn Gly Lys Thr Cys Gly Ser Ala		
145	150	155
Trp Gly Leu Glu Ser Arg Val Arg Glu Ala Gly Arg Ala Gly His Glu		
165	170	175
Glu Ala Ala Thr Cys Gln Val Leu Ser Glu Ser Arg Lys Cys Pro Ile		
180	185	190
Gln Arg Pro Cys Pro Gly Glu Arg Ser Pro Gly Gln Lys Lys Gly Arg		
195	200	205
Lys Asp Arg Arg Pro Arg Lys Asp Arg Lys Leu Asp Arg Arg Leu Asp		
210	215	220
Val Arg Pro Arg Gln Pro Gly Leu Gln Pro		
225	230	
<210> 5		
<211> 16		
<212> PRT		
<213> Artificial Sequence		
<220><221> source		
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic		
peptide"		

<400> 5

Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu

1 5 10 15

<210> 6

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 6

Arg Ile Ser Asn Arg Phe Ser

1 5

<210> 7

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 7

Phe Gln Gly Ser His Val Pro Tyr Thr

1 5

<210> 8

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 8

Asn Phe Ala Met Ser

1 5

<210> 9

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 9

Glu Ile Asn Asn Gly Gly Asn Tyr Ala Tyr Tyr Gln Asp Thr Val Thr

1 5 10 15
Gly

<210> 10

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 10

Glu Asp Tyr Val Asn Tyr Glu Ala Tyr Phe Ala Tyr

1 5 10

<210> 11

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<

<400> 11

Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu

1 5 10 15

<210> 12

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 12

Arg Ile Ser Asn Arg Phe Ser

1 5

<210> 13

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 13

Phe Gln Gly Ser His Val Pro Tyr Thr

1 5

<210> 14

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 14

Asn Phe Ala Met Ser

1 5

<210> 15

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 15

Glu Ile Asn Asn Gly Gly Asn Tyr Ala Tyr Tyr Gln Asp Thr Val Thr

1 5 10 15

Gly

<210> 16

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 16

Glu Asp Tyr Val Asn Tyr Glu Ala Tyr Phe Ala Tyr

1 5 10

<210> 17

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<

400> 17

Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn

1 5 10

<210> 18

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 18

Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser

1 5

<210> 19

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 19

Gln Gln Gly Asp Thr Leu Pro Pro Thr

1 5

<210> 20

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 20

Ser Tyr Gly Val His

1 5

<210> 21

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 21

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

1 5 10 15

<210> 22

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 22

Val Asp Gly Tyr Tyr Tyr Phe Asp Tyr

1 5

<210> 23

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 23

Lys Ala Ser Gln Asp Ile Asp Ser Tyr Leu Ser

1 5 10

<210

> 24

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 24

Leu Thr Asn Arg Leu Val Asp

1 5

<210> 25

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 25

Leu His Tyr Asp Glu Phe Pro Leu Thr

1 5

<210> 26

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 26

Ser Gly Tyr Trp Asn

1 5

<210> 27

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 27

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

1 5 10 15

<210> 28

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 28

Tyr Tyr Gly Tyr Gly Gly Pro Trp Phe Ala Tyr

1 5 10

<210> 29

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 29

Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn

1 5 10

<210> 30

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 30

Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser

1 5

<210> 31

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 31

Gln His Gly Asp Thr Leu Pro Pro Thr

1 5

<210> 32

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 32

Ser Tyr Ala Val His

1 5

<210> 33

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 33

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

1 5 10 15

<210> 34

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 34

Asn Asp Gly Tyr Tyr Phe Asp Tyr

1 5

<210> 35

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 35

Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn

1 5 10

<210> 36

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 36

Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser

1 5

<210> 37

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 37

Gln Gln Gly Asp Thr Leu Pro Pro Ala

1 5

<210> 38

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 38

Ser Tyr Gly Val His

1 5

<210> 39

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 39

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

1 5 10 15

<210> 40

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 40

Asn Asp Gly Tyr Tyr Tyr Phe Asp Tyr

1 5

<210> 41

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 41

Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Ser Tyr Gly Asn Thr Phe Met His

1 5 10 15

<210> 42

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 42

Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser

1 5

<210> 43

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 43

Gln Gln Asn Asn Glu Asp Pro Tyr Thr

1 5

<210> 44

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 44

Asp Tyr Val Ile His

1 5

<210> 45

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 45

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

1 5 10 15

Gly

<210> 46

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 46

Gly Ala Tyr Gly Asn Ser Pro Ser Tyr Trp Tyr Phe Asp Val

1 5 10

<210> 47

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 47

Lys Ala Ser Gln Asp Ile Asp Ser Tyr Leu Ser

1 5 10

<210> 48

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 48

Leu Thr Asn Arg Leu Ile Asp

1 5

<210> 49

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 49

Leu Gln Tyr Asp Glu Phe Pro Val Thr

1 5

<210> 50

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 50

Ser Gly Tyr Trp Ser

1 5

<210> 51

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221>

source

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

<400> 51

Tyr Ile Ser Phe Ser Gly Lys Thr Tyr Tyr Ile Pro Ser Leu Lys Ser

1 5 10 15

<210> 52

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 52

Tyr His Gly Tyr Gly Gly Pro Trp Phe Ala Tyr

1 5 10

<210> 53

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 53

Thr Leu Ser Ser Gln His Ser Thr Asn Tyr Ile Glu

1 5 10

<210> 54

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 54

Val Arg Asp Gly Ser His Ser Lys Gly Asp

1 5 10

<210> 55

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 55

Gly Leu Ser Asp Val Ser Leu Tyr Leu

1 5

<210> 56

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 56

Asp Tyr Phe Met Ser

1 5

<210> 57

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 57

His Ile Tyr Thr Lys Thr Tyr Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ser Gly Ser

1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 58

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 58

Asp Glu Asp Trp Tyr Phe Asp Phe

1 5

<210>

> 59

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 59

Thr Leu Ser Ser Gln His Ser Ser Tyr Gly Ile Thr

1 5 10

<210> 60

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 60

Leu Arg Ser Asp Gly Ser His Ser Lys Gly Asp

1 5 10

<210> 61

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 61

Val Thr Tyr Asp Ser Thr Val Gly Val

1 5

<210> 62

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 62

Glu Tyr Tyr Val Thr

1 5

<210> 63

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 63

Asp Ile Asp Pro Glu Asn Gly Asp Thr Asp Tyr Asn Gln Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 64

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 64

Gly Tyr Asp Tyr Ala Phe Asp Ser

1 5

<210> 65

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 65

Thr Arg Ser Ser Gly Asn Ile Gly Ser Asn Tyr Val Ser

1 5 10

<210> 66

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 66

Lys Phe Asp Gln Arg Pro Ser

1 5

<210> 67

<211> 8

<212

> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 67

Leu Ser Gly Tyr Asp Lys Tyr Val

1 5

<210> 68

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 68

Ser Ser Asp Trp Ser

1 5

<210> 69

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223>

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

<400> 69

Tyr Met Asn Tyr Gly Gly Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu Glu Asn

1 5 10 15

<210> 70

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 70

Glu Arg Pro His Pro Tyr Ala Tyr Phe Asp Val

1 5 10

<210> 71

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 71

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

1 5 10

<210> 72

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 72

Leu Ser Asp Gly Ser His Ser Lys Gly Asp

1 5 10

<210> 73

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 73

Gly Val Ser Asp Val Ser Leu Tyr Val

1 5

<210> 74

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 74

Ser Tyr Asn Ile His

1 5

<210> 75

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221>

source

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

<400> 75

Ala Val Trp Arg Gly Gly Thr Tyr Tyr Asn Ser Asn Leu Lys Ser

1 5 10 15

<210> 76

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 76

Glu Glu Leu Arg Tyr Val Tyr Phe Asp Val

1 5 10

<210> 77

<211> 11

<212>

> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 77

Lys Ala Ser Gln Asp Ile Asp Ser Tyr Leu Ser

1 5 10

<210> 78

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> VARIANT

<222> (6)..(6)

<223> /replace="Ile"

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(7)

<223> /note="Variant residues given in the sequence have no

preference with respect to those in the annotations
for variant positions"

<400> 78

Leu Thr Asn Arg Leu Val Asp

1 5

<210> 79

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> VARIANT

<222> (2)..(2)

<223> /replace="Gln"

<220><221> VARIANT

<222> (8)..(8)

<223> /replace="Val"

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(9)

<223> /note="Variant residues given in the sequence have no

preference with respect to those in the annotations

for variant positions"

<400> 79

Leu His Tyr Asp Glu Phe Pro Leu Thr

1 5

<210> 80

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> VARIANT

<222> (5)..(5)

<223> /replace="Ser"

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(5)

<223> /note="Variant residues given in the sequence have no preference with respect to those in the annotations

for variant positions"

<400> 80

Ser Gly Tyr Trp Asn

1 5

<210> 81

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> VARIANT

<222> (4)..(4)

<223> /replace="Phe"

<220><221> VARIANT

<222> (10)..(10)

<223> /replace="Tyr"
 <220><221> VARIANT
 <222> (11)..(11)
 <223> /replace="Ile"
 <220><221> misc_feature
 <222> (1)..(16)
 <223> /note="Variant residues given in the sequence have no

preference with respect to those in the annotations
 for variant positions"

<400> 81
 Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Lys Thr Tyr Gln Asn Pro Ser Leu Lys Ser
 1 5 10 15

<210> 82

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> VARIANT

<222> (2)..(2)

<223> /replace="His"

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(11)

<223> /note="Variant residues given in the sequence have no

preference with respect to those in the annotations
 for variant positions"

<400> 82

Tyr Tyr Gly Tyr Gly Gly Pro Trp Phe Ala Tyr

1 5 10

<210> 83

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 83

Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn

1 5 10

<210> 84

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 84

Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser

1 5

<210> 85

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> VARIANT

<222> (2)..(2)

<223> /replace="His"

<220><221> VARIANT

<222> (9)..(9)

<223> /replace="Ala"

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(9)

<223> /note="Variant residues given in the sequence have no

preference with respect to those in the annotations
for variant positions"

<400> 85

Gln Gln Gly Asp Thr Leu Pro Pro Thr

1 5

<210> 86

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> VARIANT

<222> (3)..(3)

<223> /replace="Gly"

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(5)

<223> /note="Variant residues given in the sequence have no
preference with respect to those in the annotations

for variant positions"

<400> 86

Ser Tyr Ala Val His

1 5

<210> 87

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> VARIANT

<222> (4)..(4)

<223> /replace="Thr"

<220><221> VARIANT

<222> (9)..(9)

<223> /replace="Asn"

<220><221> VARIANT

<222> (12)..(12)

<223> /replace="Ser"

<220><221> VARIANT

<222> (14)..(14)

<223> /replace="Phe"

<220><221> VARIANT

<222> (15)..(15)

<223> /replace="Ile"

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(16)

<223> /note="Variant residues given in the sequence have no

preference with respect to those in the annotations

for variant positions"

<400> 87

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

1 5 10 15

<210> 88

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<220><221> VARIANT

<222> (1)..(1)

<223> /replace="Val"

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(9)

<223> /note="Variant residues given in the sequence have no

preference with respect to those in the annotations

for variant positions"

<400> 88

Asn Asp Gly Tyr Tyr Tyr Phe Asp Tyr

1 5

<210> 89

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 89

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

1 5 10 15

Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser

20 25 30

Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly

85 90 95

Ser His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105 110

<210> 90

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 90

Glu Val Lys Leu Val Glu Ser Gly Gly Phe Val Lys Pro Gly Gly

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ala Glu Ile Asn Asn Gly Gly Asn Tyr Ala Tyr Tyr Gln Asp Thr Val

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Glu Asp Tyr Val Asn Tyr Glu Ala Tyr Phe Ala Tyr Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 91

<211> 106

<212> PRT

<213

> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 91

Asp Ile Gln Met Asn Gln Ser His Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Trp Ala Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asn Val Gln Ser
 65 70 75 80
 Glu Asp Leu Ala Asp Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Ser Ser Ser Ile Thr
 85 90 95
 Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
 100 105
 <210> 92
 <211> 120
 <212> PRT

<213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide"
 <400> 92
 Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Arg Pro Gly Glu
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Asp Tyr
 20 25 30
 Ala Met His Trp Val Lys Gln Ser His Ala Lys Ser Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

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

Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 93

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 93

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 94

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 94

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Leu Thr Val Ser Ser

115

<210> 95

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 95

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Ser Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Lys Thr Leu Ile

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Met Gly Ile Tyr Tyr Cys Leu His Tyr Asp Glu Phe Pro Leu

85 90 95

Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 96

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 96

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

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Val Thr Gly Asp Ser Ile Thr Ser Gly

20 25 30

Tyr Trp Asn Trp Ile Arg Lys Phe Pro Gly Asn Lys Phe Glu Tyr Met

35 40 45

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

50 55 60

Ser Arg Ile Ser Ile Thr Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Tyr His Leu

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Tyr Tyr Gly Tyr Gly Pro Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ala

115

<210> 97

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 97

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Val Ala Thr Tyr Phe Cys Gln His Gly Asp Thr Leu Pro Pro

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 98

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 98

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

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

Leu Thr Val Ser Ser

115

<210> 99

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 99

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Ala Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

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

<210> 100

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 100

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Arg Asn Asp Gly Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr

100 105 110

Leu Thr Val Ser Ser

115

<210> 101

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 101

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

1 5 10 15

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

100 105 110
 <210> 102
 <211> 123
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide"

<400> 102
 Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Arg Pro Gly Val
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
 20 25 30
 Val Ile His Trp Val Lys Gln Ser His Ala Lys Ser Leu Glu Trp Ile

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

Ala Arg Gly Ala Tyr Gly Asn Ser Pro Ser Tyr Trp Tyr Phe Asp Val

100 105 110

Trp Gly Ala Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 103

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 103

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Ser Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Lys Thr Leu Ile

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Met Gly Ile Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Asp Glu Phe Pro Val

85 90 95

Thr Phe Gly Ala Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 104

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 104

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

1

5

10

15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Val Thr Gly Asp Ser Ile Thr Ser Gly

20

25

30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Lys Phe Pro Gly Asn Lys Leu Glu Phe Met

35

40

45

Gly Tyr Ile Ser Phe Ser Gly Lys Thr Tyr Tyr Ile Pro Ser Leu Lys

50

55

60

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

65

70

75

80

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

85

90

95

Thr Tyr His Gly Tyr Gly Pro Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly

100

105

110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 105

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 105

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

1

5

10

15

Ser Val Lys Leu Thr Cys Thr Leu Ser Ser Gln His Ser Thr Asn Tyr

20

25

30

Ile Glu Trp Tyr Gln Gln His Pro Asp Lys Ser Pro Lys Phe Leu Met

35

40

45

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

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

<210> 106

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 106

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

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
 20 25 30

Phe Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ala His Ile Tyr Thr Lys Thr Tyr Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ser Gly
 50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Ser Ile Ser Arg Asp Asp Ser Arg Asn Met
 65 70 75 80

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

Tyr Cys Thr Thr Asp Glu Asp Trp Tyr Phe Asp Phe Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 107

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 107

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

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

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

<210> 108

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 108

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Gln Leu Val Lys Pro Gly Phe

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

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

20 25 30

Tyr Val Thr Trp Val Lys Gln Arg Ala Gly Gln Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Gly Asp Ile Asp Pro Glu Asn Gly Asp Thr Asp Tyr Asn Gln Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Thr Gly Tyr Asp Tyr Ala Phe Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 109

<211> 109

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 109

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

1 5 10 15

Glu Ile Ser Ile Ser Cys Thr Arg Ser Ser Gly Asn Ile Gly Ser Asn

20 25 30

Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Ser Ser Asn Lys Pro Arg Leu Leu

35 40 45

Ile Tyr Lys Phe Asp Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Gln Pro Glu Asp Glu Gly Asp Tyr Tyr Cys Leu Ser Gly Tyr Asp

85 90 95

Lys Tyr Val Phe Gly Ser Gly Thr Gln Leu Thr Leu Leu

100 105

<210> 110

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 110

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

1 5 10 15

Ser Leu Ser Leu Thr Cys Ser Val Thr Gly Asn Ser Ile Thr Ser Ser

20 25 30

Asp Trp Ser Trp Ile Arg Gln Phe Pro Gly Lys Lys Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Tyr Met Asn Tyr Gly Gly Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu Glu

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Arg Glu Arg Pro His Pro Tyr Ala Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Ile Gln Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 111

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 111

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Leu Thr Cys Thr Leu Ser Ser Gln Tyr Asn Thr Tyr Tyr

20 25 30

Ile Glu Trp Tyr Gln Gln His Pro Asp Lys Ser Pro Lys Phe Leu Met

35 40 45

Gln Leu Ser Asp Gly Ser His Ser Lys Gly Asp Gly Ile Pro Asp Arg

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ser Leu Tyr Val Phe Gly Ser Gly Thr Gln Leu Thr Val Leu

100 105 110

<210> 112

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 112

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

Gln Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 113

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

primer"

<400> 113

cttgcggaaa ggatgttgg

19

<210> 114

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

primer"

<400> 114

actactcgca tcgcgcact

19

<210> 115

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 115

aaactcgcca	tggatacgac	20
------------	------------	----

<210> 116

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 116

tgcagtcaat	gctccaaactt	20
------------	-------------	----

<210> 117

<211>

> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 117

aagcccatca	acctctctca	20
------------	------------	----

<210> 118

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 118

ctctacaccc	ccaagtgcac	20
------------	------------	----

<210> 119

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 119

aacaggagac ccgtacatgc

20

<210> 120

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 120

ccagctgcta gctactgtgg a

21

<210> 121

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 121

tgaaccgaag ttagcaatg g

21

<210> 122

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 122

tgatgaacct	tgcagccact	20
<210>	123	
<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><221>	source	
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic		
primer"		
<400>	123	
agggccagat	ttgagtggt	20
<210>	124	
<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><221>	source	
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic		
primer"		
<400>	124	
gtgtatggcg	tcgtgatgtc	20
<210>	125	
<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><221>	source	
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic		
primer"		
<400>	125	
catgtcgag	aacatctgga	20
<210>	126	
<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><221>	source	

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

<400> 126

ccttactgcc ttgtgggaga 20

<210> 127

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 127

cagagacccg tgctgagttt 20

<210> 128

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 128

gactttggtg ccctcaacat 20

<210> 129

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 129

aacgggaact ctttagcagca 20

<210> 130

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 130

gagacttcat gcgggagttc 20

<210> 131

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 131

tggccttcgc taactacaag a 21

<210> 132

<211>

> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 132

gctcttggc gcggattta 18

<210> 133

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 133

gttgcaaaag gcttgctgat 20

<210> 134

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 134

tgattgtatgc tgccaaacat

20

<210> 135

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 135

atgaacctta tctcgccct

20

<210> 136

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 136

atgtgtacgc agaagagcca

20

<210> 137

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

primer"

<400> 137

ggaaaaatcct catatggcc a 21

<210> 138

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 138

agacccagga ggagtggaggt 20

<210> 139

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 139

agatgcccgatgcaaaagt 20

<210> 140

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 140

ggctgagggt ggagttgt 20

<210> 141

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 141

ccccagttag aaggggaaga 20

<210> 142

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 142

tggtgatcca gagaagaagc 20

<210> 143

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 143

gggaggactc agagggagac 20

<210> 144

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 144

tgcaggcact ctccatactg 20

<210> 145

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 145

gcttcatgcc aattttcc 20

<210> 146

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 146

gccaatttt tccagagcaa 20

<210> 147

<211>

> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 147

gggctgaggt ttagcactc 20

<210> 148

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 148

tgacaccata atggattcct g 21

<210> 149

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 149

aaaggcaca gattgccata 20

<210> 150

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 150

actaggttgt ccagggtgtg 20

<210> 151

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 151

tgctcaagca ggttaagatgc 20

<210> 152

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 152

atggtctcca tcagctctcg 20

<210> 153

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 153

aaactgaaaa tccccgtgt 20

<210> 154

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 154

gctccagtca cccaaaggag 20

<210> 155

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 155

tgtggagtct cttgcgtgtc 20

<210> 156

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 156

tggggatgag gtcgatgtat

20

<210> 157

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 157

ccaaaaggta tttcgccctt

20

<210> 158

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 158

caattttcc actccaacac c

21

<210> 159

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 159

catgtcaaac caccatccac

20

<210> 160

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 160

atctggaagc aggggtctt

20

<210> 161

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 161

tccccatatt tctgcactcc

20

<210> 162

<211

> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 162

ggagctacct gtggccct

18

<210> 163

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 163

acgaaggctt cctcacagaa 20

<210> 164

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 164

cacgctttc atattccgt 20

<210> 165

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 165

tcccaaaggc ttcttcttga 20

<210> 166

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 166

gtcggttacc ccagaggct 19

<210> 167

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 167

gtgcaggaat tgggctatgt 20

<210> 168

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 168

agcagggaaag cctcctagtc 20

<210> 169

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 169

ggtcagccag tgaggttttc 20

<210> 170

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

primer"

<400> 170

caaaggcagac ttccaacgc	20
<210> 171	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><221> source	
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic primer"	
<400> 171	
cttctgatcg aagcttccg	20
<210> 172	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><221> source	
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic primer"	
<400> 172	
cactctcatc tctgggctcc	20
<210> 173	
<211> 1019	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><221> source	
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide"	
<400> 173	
gagcacagac tccctttct ttggcaagat ggcggagta cacttgacta ctgcgcacgc	60
gcacttttg gatcgccatc tagtcttcc gcttctgaa tttctctctg taaaggaggt	120
tcgtggcga gagatgctga tcgcgctgaa ctgaccggta cggccgggg gtgagtgcc	180
agtctccctc tgagtccctcc ccagcagcgc ggccggccg ggctttgg gcgaaccctc	240
cagttcctag acttgagag gctgtctcc cccgccccgac cgcccgatg cagttcgcc	300
ttttctcctt tgccctcatc attctgaact gcatggatata cagccactgc caaggcaacc	360

gatggagacg cagtaagcga gctagttatg tatcaaatcc catttgcag gggttgggtt	420
cttggtaaaa ggacaatggg tgttagccat gtcaacagaa gttgttcttc ttccctcgaa	480
gagaaggat ggcgcgtat ggagagtgcg tgcattcctg cccatccggg tactatggac	540
accgagcccc agatatgaac agatgtgca gatgcagaat agaaaactgt gattcttgtct	600
ttagcaaaga ctgggttacc aagtgcag taggcttttta ttgcataaga ggcgcgttgc	660

ttgatgaatg tccagatgg tttgcaccat tagaagaaac catggaatgt gtggaggat	720
gtgaagttgg tcattggagc gaatggggaa cttgttagcag aaataatcgc acatgtggat	780
ttaaatgggg tctggaaacc agaacacggc aaattgttaa aaagccagtg aaagacacaa	840
tactgtgtcc aaccattgtct gaatccagga gatgcagaat gacaatgagg cattgtccag	900
gagggaagag aacacccaaag gcgaaggaga agaggaacaa gaaaaagaaaa aggaagctga	960
tagaaaggc ccaggagcaa cacagcgtct tccttagctac agacagagct aaccaataa	1019

<210> 174

<211> 284

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 174

Met Ala Glu Tyr Asp Leu Thr Thr Arg Ile Ala His Phe Leu Asp Arg

1 5 10 15

His Leu Val Phe Pro Leu Leu Glu Phe Leu Ser Val Lys Glu Val Arg

20 25 30

Gly Gly Glu Met Leu Ile Ala Leu Asn Met Gln Phe Arg Leu Phe Ser

35 40 45

Phe Ala Leu Ile Ile Leu Asn Cys Met Asp Tyr Ser His Cys Gln Gly

50 55 60

Asn Arg Trp Arg Arg Ser Lys Arg Ala Ser Tyr Val Ser Asn Pro Ile

65 70 75 80

Cys Lys Gly Cys Leu Ser Cys Ser Lys Asp Asn Gly Cys Ser Arg Cys

85 90 95

Gln Gln Lys Leu Phe Phe Leu Arg Arg Glu Gly Met Arg Gln Tyr

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

Gly Glu Cys Leu His Ser Cys Pro Ser Gly Tyr Tyr Gly His Arg Ala

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

Pro Asp Met Asn Arg Cys Ala Arg Cys Arg Ile Glu Asn Cys Asp Ser

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

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

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

His Arg Gly Arg Cys Phe Asp Glu Cys Pro Asp Gly Phe Ala Pro Leu

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

Glu Glu Thr Met Glu Cys Val Glu Gly Cys Glu Val Gly His Trp Ser

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

Glu Trp Gly Thr Cys Ser Arg Asn Asn Arg Thr Cys Gly Phe Lys Trp

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

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

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

Thr Ile Leu Cys Pro Thr Ile Ala Glu Ser Arg Arg Cys Lys Met Thr

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

Met Arg His Cys Pro Gly Gly Lys Arg Thr Pro Lys Ala Lys Glu Lys

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

Arg Asn Lys Lys Lys Arg Lys Leu Ile Glu Arg Ala Gln Glu Gln

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

His Ser Val Phe Leu Ala Thr Asp Arg Ala Asn Gln

275	280
-----	-----

<210> 175

<211> 822

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 175

atggatacga ctgcggcggc ggccgtgcct gctttgtgg cgctcttgct cctctctcct	60
tggcctctcc tggatcgcc ccaaggccag ttctccgcag tgcatactaa cgtagtcaa	120
ggctgccaag gaggctgtgc aacatgctca gattacaatg gatgttgatc atgtaagccc	180
agactattt ttgtctgga aagaattggc atgaaggcaga tggatgtatc tctctcttca	240
tgtccaagtg gatattatgg aactcgatataa ataagtgtac aaaatgcaaa	300
gctgactgtg atacctgttt caacaaaaat ttctgcacaa aatgtaaaag tggatttac	360
ttcacacccgtt gaaagtgcct tgacaattgc ccagaagggt tggaagccaa caaccatact	420

atggagtgtg tcagtattgt gcactgttagt gtcagtgaat ggaatccttg gagtccatgc	480
acgaagaagg gaaaaacatg tggcttcaaa agagggactg aaacacgggt ccgagaata	540
atacagcatc cttcagcaaa gggtaacctg tgcctccaa caaatgagac aagaaagtgt	600
acagtgcacaa ggaagaagtg tcagaaggaa gaacgggaa aaaaaggaag ggagaggaaa	660
agaaaaaaac ctaataaagg agaaagtaaa gaagcaatac ctgacagcaa aagtctggaa	720
tccagcaaag aaatcccaga gcaacggaa aacaaacagc agcagaagaa gcgaaaagtgc	780
caagataaac agaaatcggt atcagtcagc actgtacact ag	822

<210> 176

<211> 217

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 176

Met Asp Thr Thr Ala Ala Ala Leu Pro Ala Phe Val Ala Leu Leu

1 5 10 15

Leu Leu Ser Pro Trp Pro Leu Leu Gly Ser Ala Gln Gly Gln Phe Ser

20 25 30

Ala Val His Pro Asn Val Ser Gln Gly Cys Gln Gly Gly Cys Ala Thr

35 40 45

Cys Ser Asp Tyr Asn Gly Cys Leu Ser Cys Lys Pro Arg Leu Phe Phe

50 55 60

Ala Leu Glu Arg Ile Gly Met Lys Gln Ile Gly Val Cys Leu Ser Ser

65 70 75 80

Cys Pro Ser Gly Tyr Tyr Gly Thr Arg Tyr Pro Asp Ile Asn Lys Cys

85 90 95

Thr Lys Cys Lys Ala Asp Cys Asp Thr Cys Phe Asn Lys Asn Phe Cys

100 105 110

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

115 120 125

Asn Cys Pro Glu Gly Leu Glu Ala Asn Asn His Thr Met Glu Cys Val

130 135 140

Ser Ile Val His Cys Glu Val Ser Glu Trp Asn Pro Trp Ser Pro Cys

145 150 155 160

Thr Lys Lys Gly Lys Thr Cys Gly Phe Lys Arg Gly Thr Glu Thr Arg

165 170 175

Val Arg Glu Ile Ile Gln His Pro Ser Ala Lys Gly Asn Leu Cys Pro

180 185 190

Pro Thr Asn Glu Thr Arg Lys Cys Thr Val Gln Arg Lys Lys Cys Gln

195 200 205

Lys Gly Glu Arg Gly Lys Lys Gly Arg

210 215

<210> 177

<211> 1884

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polynucleotide"

<400> 177

atggatacga ctggggcgcc ggcgcgtgcct gctttgtgg cgctcttgct cctctctcct 60

tggcctctcc tgggatcgcc ccaaggccag ttctccgcag gtggctgtac ttttgtatgt 120

ggtccagggg cctgtgatta ccaccaggat ctgtatgtatg actttgaatg ggtgcatttt 180

agtgcgtcaag agcctcatta tctaccaccc gagatgcccc aaggttcccta tatgtatgtg 240

gactcttcag atcacgaccc tggagaaaaa gccagacttc agctgcctac aatgaaggag 300

aacgacactc actgcattga tttcagttac ctattatata gccagaaagg actgaatcct 360

ggcacttga acatattagt tagggtgaat aaaggacctc ttgccaatcc aatttggaat	420
gtgactggat tcacggtag agattggctt cgggctgagc tagcagttag cacctttgg	480
cccaatgaat atcaggtaat atttgaagct gaagtctcag gagggagaag tggttatatt	540
gccattgatg acatccaatg actgagttat ccttgtata aatctcctca tttccctcg	600
ctagggatg tagaggtgaa tgcaggca aacgctacat ttcatgtcat tgccacaggg	660
agagatgctg tgcataacaa gttatggctc cagagacgaa atggagaaga tataccatg	720
gcccagacta agaacatcaa tcatagaagg tttgcccctt ctttcagatt gcaagaagt	780
acaaaaactg accaggattt gtatcgctgt gtaactcagt cagaacgagg ttccgggtgt	840
tc当地tttgc当地acttat tttgtgagagaa cc当地ccaagac cc当地tgc当地 cc当地tc当地tgc当地ttt	900
cttgggtttg ggc当地ctacata tt当地gtgtac caactaaatg ccaactcgat cattggcgat	960
ggtcc当地tatca tc当地tcaaaga agtagatgac cgaatgacat caggatctg gacagaaacc	1020
catgc当地gtca atgctcaac tt当地acaatta tggcatttt atccagatac cgaatatgag	1080
atccgagttc tacttacaag acctggtaa ggtggacgg ggctccagg acctccacta	1140
atcaccagaa caaaatgtgc agtgc当地tctt aacgtagtgc aaggctgcca aggaggctgt	1200
gcaacatgct cagattacaa tggatgtttt tcatgtaaac ccagactatt tt当地tgc当地tgc当地	1260
gaaagaattt gcatgaagca gattggagta tttctcttt catgtccaaag tggatattat	1320
ggaactcgat atccagatataaataatgtt acaaaatgca aagctgactg tgataccgt	1380
ttcaacaaaa atttctgcac aaaatgtaaa agtggatttt acttacacctt tgaaatgtgc	1440
cttgc当地acaattt gccc当地agaagg gtttggacggcc aacaaccata ctatggagtg tt当地tgc当地tgc当地tgc当地	1500
gtgc当地actgtg aggtc当地gtga atggaatctt tggatccat gcacgaagaa gggaaaaaca	1560
tgtggcttca aaagaggac tgaaacacgg gtccgagaaa taatacagca tc当地tccacta	1620
aagggttaacc tttgtcccccc aacaaatgag acaagaaagt gtacagtgc aaggaaagaag	1680
tgtc当地agaagg gagaacgagg aaaaaaaaggaa agggagagga aaagaaaaaa accttataaa	1740
ggagaaggta aagaagcaat acctgacaggc aaaatctgg aatccagca agaaatccca	1800
gagcaacgag aaaacaaaca gcagcagaag aagcgaaaag tccaaatgataa acagaaatcg	1860
gtatcactgtca gcactgtaca ctag	1884

<210> 178

<211> 627

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 178

Met Asp Thr Thr Ala Ala Ala Ala Leu Pro Ala Phe Val Ala Leu Leu

1 5 10 15

Leu Leu Ser Pro Trp Pro Leu Leu Gly Ser Ala Gln Gly Gln Phe Ser

20 25 30

Ala Gly Gly Cys Thr Phe Asp Asp Gly Pro Gly Ala Cys Asp Tyr His

35 40 45

Gln Asp Leu Tyr Asp Asp Phe Glu Trp Val His Val Ser Ala Gln Glu

50 55 60

Pro His Tyr Leu Pro Pro Glu Met Pro Gln Gly Ser Tyr Met Ile Val

65 70 75 80

Asp Ser Ser Asp His Asp Pro Gly Glu Lys Ala Arg Leu Gln Leu Pro

85 90 95

Thr Met Lys Glu Asn Asp Thr His Cys Ile Asp Phe Ser Tyr Leu Leu

100 105 110

Tyr Ser Gln Lys Gly Leu Asn Pro Gly Thr Leu Asn Ile Leu Val Arg

115 120 125

Val Asn Lys Gly Pro Leu Ala Asn Pro Ile Trp Asn Val Thr Gly Phe

130 135 140

Thr Gly Arg Asp Trp Leu Arg Ala Glu Leu Ala Val Ser Thr Phe Trp

145 150 155 160

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

165 170 175

Ser Gly Tyr Ile Ala Ile Asp Asp Ile Gln Val Leu Ser Tyr Pro Cys

180 185 190

Asp Lys Ser Pro His Phe Leu Arg Leu Gly Asp Val Glu Val Asn Ala

195 200 205

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

210 215 220

His Asn Lys Leu Trp Leu Gln Arg Arg Asn Gly Glu Asp Ile Pro Val
 225 230 235 240
 Ala Gln Thr Lys Asn Ile Asn His Arg Arg Phe Ala Ala Ser Phe Arg
 245 250 255
 Leu Gln Glu Val Thr Lys Thr Asp Gln Asp Leu Tyr Arg Cys Val Thr
 260 265 270
 Gln Ser Glu Arg Gly Ser Gly Val Ser Asn Phe Ala Gln Leu Ile Val
 275 280 285
 Arg Glu Pro Pro Arg Pro Ile Ala Pro Pro Gln Leu Leu Gly Val Gly
 290 295 300
 Pro Thr Tyr Leu Leu Ile Gln Leu Asn Ala Asn Ser Ile Ile Gly Asp
 305 310 315 320
 Gly Pro Ile Ile Leu Lys Glu Val Glu Tyr Arg Met Thr Ser Gly Ser
 325 330 335
 Trp Thr Glu Thr His Ala Val Asn Ala Pro Thr Tyr Lys Leu Trp His
 340 345 350
 Leu Asp Pro Asp Thr Glu Tyr Glu Ile Arg Val Leu Leu Thr Arg Pro
 355 360 365
 Gly Glu Gly Gly Thr Gly Leu Pro Gly Pro Pro Leu Ile Thr Arg Thr
 370 375 380
 Lys Cys Ala Val His Pro Asn Val Ser Gln Gly Cys Gln Gly Cys
 385 390 395 400
 Ala Thr Cys Ser Asp Tyr Asn Gly Cys Leu Ser Cys Lys Pro Arg Leu
 405 410 415
 Phe Phe Ala Leu Glu Arg Ile Gly Met Lys Gln Ile Gly Val Cys Leu
 420 425 430
 Ser Ser Cys Pro Ser Gly Tyr Tyr Gly Thr Arg Tyr Pro Asp Ile Asn
 435 440 445
 Lys Cys Thr Lys Cys Lys Ala Asp Cys Asp Thr Cys Phe Asn Lys Asn
 450 455 460
 Phe Cys Thr Lys Cys Lys Ser Gly Phe Tyr Leu His Leu Gly Lys Cys

465 470 475 480

Leu Asp Asn Cys Pro Glu Gly Leu Glu Ala Asn Asn His Thr Met Glu

485 490 495

Cys Val Ser Ile Val His Cys Glu Val Ser Glu Trp Asn Pro Trp Ser

500 505 510

Pro Cys Thr Lys Lys Gly Lys Thr Cys Gly Phe Lys Arg Gly Thr Glu

515 520 525

Thr Arg Val Arg Glu Ile Ile Gln His Pro Ser Ala Lys Gly Asn Leu

530 535 540

Cys Pro Pro Thr Asn Glu Thr Arg Lys Cys Thr Val Gln Arg Lys Lys

545 550 555 560

Cys Gln Lys Gly Glu Arg Gly Lys Lys Gly Arg Glu Arg Lys Arg Lys

565 570 575

Lys Pro Asn Lys Gly Glu Ser Lys Glu Ala Ile Pro Asp Ser Lys Ser

580 585 590

Leu Glu Ser Ser Lys Glu Ile Pro Glu Gln Arg Glu Asn Lys Gln Gln

595 600 605

Gln Lys Lys Arg Lys Val Gln Asp Lys Gln Lys Ser Val Ser Val Ser

610 615 620

Thr Val His

625

<210> 179

<211> 68

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

primer"

<400> 179

caccccgctg cctctaggtt ctggaaagat ggcgaaggc tcagagctt acgatgtcac 60

ttggaaag 68

<210> 180

<211> 70

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 180

gttcgtggcg gagagatgct gatcgcgctg aactgaccgg tgccggccgg gggtgagtgg	60
cgagtctccc	70

<210> 181

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 181

Tyr Pro Tyr Asp Val Pro Asp Tyr Ala

1 5

<210> 182

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 182

Lys Ala Ser Gln Asp Val Gly Thr Ala Val Ala

1 5 10

<210> 183

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 183

Trp Ala Ser Thr Arg His Thr

1 5

<210> 184

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 184

Gln Gln Tyr Ser Ser Ser Ile Thr

1 5

<210> 185

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 185

Asp Tyr Ala Met His

1 5

<210> 186

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 186

Ile Ile Ser Ile Tyr Tyr Asp Asn Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 187

<211> 11

<212> PRT

<213>

> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 187

Gly Gly Asn Gly Tyr Tyr Tyr Val Met Asp Tyr

1 5 10

<210> 188

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 188

Tyr Tyr Gly Tyr Gly Gly Pro Phe Phe Ala Tyr

1 5 10

<210> 189

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 189

Tyr Tyr Gly Tyr Gly Gly Pro His Phe Ala Tyr

1 5 10

<210> 190

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 190

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Ser Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Thr Leu Ile

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 191

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 191

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

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Asp Ser Ile Thr Ser Gly

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Ser Arg Ile Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Tyr Ser Leu

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Tyr Tyr Gly Tyr Gly Pro Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 192

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 192

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 193

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 193

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

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Asp Ser Ile Thr Ser Gly

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Ser Arg Ile Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Tyr Ser Leu

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Tyr Tyr Gly Tyr Gly Pro Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 194

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 194

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 195

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 195

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

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Asp Ser Ile Thr Ser Gly

20 25 30

Tyr Trp Asn Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Gly Leu Glu Tyr Met

35 40 45

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

50 55 60

Ser Arg Ile Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Tyr Ser Leu

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Tyr Tyr Gly Tyr Gly Gly Pro Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 196

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 196

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Ser Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Thr Leu Ile

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 197

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 197

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

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Asp Ser Ile Thr Ser Gly
20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Ser Arg Ile Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Tyr Ser Leu

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Tyr Tyr Gly Tyr Gly Pro Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 198

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 198

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Ser Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Thr Leu Ile

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 199

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 199

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

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Asp Ser Ile Thr Ser Gly

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 200

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 200

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Ser Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Thr Leu Ile

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 201

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 201

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

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Asp Ser Ile Thr Ser Gly

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Tyr Tyr Gly Tyr Gly Pro Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 202

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 202

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

1 5 10 15

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

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

<210> 203
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 203		
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu		
1	5	10
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Asp Ser Ile Thr Ser Gly		
20	25	30
Tyr Trp Asn Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Met		
35	40	45

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

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 204

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 204

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Ser Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Thr Leu Ile

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 205

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 205

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

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Asp Ser Ile Thr Ser Gly

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Tyr Tyr Gly Tyr Gly Pro Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 206

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 206

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Ser Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Thr Leu Ile

35 40 45

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

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

<210> 207

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 207

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

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

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

Thr Tyr Tyr Gly Tyr Gly Pro Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly			
100	105	110	

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 208

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 208

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Ser Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Thr Leu Ile

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 209

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 209

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

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Asp Ser Ile Thr Ser Gly

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Tyr Tyr Gly Tyr Gly Gly Pro Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 210

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 210

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Ser Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Thr Leu Ile

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 211

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 211

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

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Asp Ser Ile Thr Ser Gly
20 25 30

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

Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Lys Thr Tyr Gln Asn Pro Ser Leu Lys
50 55 60

Ser Arg Ile Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Thr Tyr Tyr Gly Tyr Gly Pro Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 212

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 212

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Ser Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Thr Leu Ile

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 213

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 213

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

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Asp Ser Ile Thr Ser Gly

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 214

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 214

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

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

Leu Ser Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Thr Leu Ile

35 40 45

Tyr Leu Thr Asn Arg Leu Val Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu His Tyr Asp Glu Phe Pro Leu
 85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 215

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 215

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

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Asp Ser Ile Thr Ser Gly

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Tyr Tyr Gly Tyr Gly Pro His Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 216

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> MOD_RES

<222> (2)..(2)

<223> /replace="His"

<220><221> MOD_RES

<222> (8)..(8)

<223> /replace="Phe" or "His"

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(11)

<223> /note="Variant residues given in the sequence have no
preference with respect to those in the annotations

for variant positions"

<400> 216

Tyr Tyr Gly Tyr Gly Gly Pro Trp Phe Ala Tyr

1

5

10