



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2023년 12월 19일
(11) 등록번호 10-2614642
(24) 등록일자 2023년 12월 12일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/30 (2006.01) *A61K 39/00* (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01) *A61K 45/06* (2006.01)
G01N 33/574 (2006.01)

(52) CPC특허분류
C07K 16/3084 (2013.01)
A61K 39/39558 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2021-7006526(분할)

(22) 출원일자(국제) 2015년06월03일
 심사청구일자 2021년03월31일

(85) 번역문제출일자 2021년03월03일

(65) 공개번호 10-2021-0027549

(43) 공개일자 2021년03월10일

(62) 원출원 특허 10-2016-7036540
 원출원일자(국제) 2015년06월03일
 심사청구일자 2020년06월01일

(86) 국제출원번호 PCT/US2015/033954

(87) 국제공개번호 WO 2015/187811
 국제공개일자 2015년12월10일

(30) 우선권주장
 62/007,874 2014년06월04일 미국(US)

(56) 선행기술조사문헌
 PNAS, 1986, 제83권, 페이지 8694-8698*
 US20130216528 A1
 *는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
바이오엔테크 리서치 앤드 디벨롭먼트 인코포레이티드
미국 뉴욕주 10017 뉴욕 228 이 45티에이치 스트리트 에스티 90이

(72) 발명자
솔츠, 울프강
미국 캘리포니아주 92121 샌디에이고 소렌토 밸리
로드 11588 스위트 20

사와다, 리츠코
미국 캘리포니아주 92121 샌디에이고 소렌토 밸리
로드 11588 스위트 20

(74) 대리인
특허법인 광장리애고

(74) 대리인
특허법이 광장리에고

전체 청구항 수 : 총 16 항

심사관 : 김정아

(54) 발명의 명칭 강글리오사이드 GD 2에 대한 사람 단클론 항체

(57) 요약

본 발명은 디시알로강글리오사이드(disialoganglioside) GD2에 대항하는 항체 또는 이의 기능적 단편의 제조를 위한 조성물을 제공한다. 본 발명의 조성물은 GD2에 결합하는 중쇄 및/또는 경쇄 가변 도메인을 코드화하는 폴리뉴클레오타이드를 포함한다. 본 발명은 또한 분리된 항체 또는 이의 기능적 단편, 및 암 또는 종양 형성과 같은

(뒷면에 계속)

대표도 - 도1

질환의 치료 또는 예방 방법을 제공하며, 여기서 상기 항체 또는 기능적 단편은 본원에 제공된 아미노산 서열을 갖는 가변 중쇄 도메인 및 가변 경쇄 도메인을 포함한다. 본 발명은 추가로 진단제, 검출가능-약제 또는 치료제에 콘쥬게이트되어 있거나 재조합적으로 융합되어 있는 항체 또는 이의 기능적 단편의 콘쥬게이트(conjugate), 및 질환의 치료, 예방 또는 진단을 필요로 하는 대상체에서의 질환의 치료, 예방 또는 진단 방법을 제공한다.

(52) CPC특허분류

A61K 45/06 (2013.01)

G01N 33/57492 (2013.01)

A61K 2039/505 (2013.01)

C07K 2317/56 (2013.01)

C07K 2317/565 (2013.01)

C07K 2317/73 (2013.01)

C07K 2317/77 (2013.01)

C07K 2317/92 (2013.01)

G01N 2405/10 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

GD2에 결합하는 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 가변 중쇄(VH) 도메인 및 가변 경쇄(VL) 도메인을 포함하고,

상기 VH 도메인은 서열번호 30의 잔기 26 내지 33, 잔기 51 내지 58, 및 잔기 97 내지 109 각각의 VH CDR1, VH CDR2, 및 VH CDR3을 포함하고,

상기 VL 도메인은 서열번호 32의 잔기 27 내지 37, 잔기 55 내지 57, 및 잔기 94 내지 102 각각의 VL CDR1, VL CDR2, 및 VL CDR3을 포함하는, 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 서열번호 30의 가변 중쇄(VH) 도메인 및 서열번호 32의 가변 경쇄(VL) 도메인을 포함하는, 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 항체가 사람 항체인, 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 Fab, Fab', F(ab')₂, scFV, 디아바디(diabody), 트리아바디(triabody) 및 미니바디(minibody)로 이루어진 그룹으로부터 선택된 것인, 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 항체가 단클론 항체인, 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 6

제1항에 있어서, 상기 항체가 IgG 또는 IgM 동위체(isotope)인, 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 7

제6항에 있어서, 상기 IgG 항체가 IgG1 서브클래스인, 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 8

진단제, 검출가능-약제(detectable agent) 또는 치료제에 콘쥬게이트되어 있거나 재조합적으로 융합되어 있는, 제1항의 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 콘쥬게이트(conjugate).

청구항 9

제8항에 있어서, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 검출가능-약제에 콘쥬게이트되어 있거나 재조합적으로 융합되어 있는, 대상체에서의 종양의 검출 방법에 사용하기 위한, 콘쥬게이트.

청구항 10

제8항에 있어서, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 치료제에 콘쥬게이트되어 있거나 재조합적으로 융합되어 있는, 콘쥬게이트.

청구항 11

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항의 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 또는 제8항 내지 제10항 중 어느 한 항의

컨쥬게이트, 및 약제학적으로 허용되는 담체를 포함하는 암을 치료하는 데 사용하기 위한 약제학적 조성물로서, 상기 암의 세포는 GD2를 발현하는, 약제학적 조성물.

청구항 12

제11항에 있어서, 약제(medicament)로서 사용하기 위한, 약제학적 조성물.

청구항 13

삭제

청구항 14

제11항에 있어서, 상기 암이 신경아세포종, 골육종 및 육종의 다른 서브셋, 흑색종, 신경교종, 소세포 폐암, 유방암, 수모세포종(medulloblastoma) 및 성상세포종(astrocytoma)으로 이루어진 그룹으로부터 선택되는, 약제학적 조성물.

청구항 15

제11항에 있어서, 상기 치료가 제2 치료제를 동시에 또는 연속적으로 투여하는 것을 포함하는, 약제학적 조성물.

청구항 16

제15항에 있어서, 상기 제2 치료제가 화학요법제 또는 면역요법제인, 약제학적 조성물.

청구항 17

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항의 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 코드화하는 분리된 폴리뉴클레오타이드.

청구항 18

삭제

청구항 19

삭제

청구항 20

삭제

청구항 21

삭제

청구항 22

삭제

청구항 23

삭제

청구항 24

삭제

청구항 25

삭제

청구항 26

삭제

청구항 27

삭제

청구항 28

삭제

청구항 29

삭제

청구항 30

삭제

청구항 31

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001]

본원은 전문이 본원에 원용된, 2014년 6월 4일에 출원된 미국 출원 제62/007,874호를 우선권으로 주장한다.

[0002]

본 발명은 ASCII 포맷으로 전자 제출된 서열목록을 함유하고 이로써 그 전문이 본원에 원용된다. 2015년 5월 29일에 만들어진 ASCII 카피는 12967-034-228_SL.txt로 명명되고 크기는 69,238바이트이다.

배경 기술

[0003]

본 발명은 일반적으로 디시알로강글리오사이드(disialoganglioside) GD2에 대항하는 항체에 관한 것이다. 보다 구체적으로, 본원은 사람 항-GD2 항체를 코드화하는 폴리뉴클레오타이드 및 상응하는 코드화된 항체 또는 이의 단편, 및 이러한 항체의 진단용 또는 치료용 용도에 관한 것이다. GD2는 종양 선택적 발현 패턴으로 인해 항체 요법과 같은 종양 특이적 요법에 매력적이다. 현재, 뮤린(murine) 항-GD2 항체, 사람-마우스 키메릭(chimeric) 항-GD2 항체와 같은 몇몇 항-GD2 항체가 개발되었다. 그러나, 이들 항체는 여전히 바람직하지 못한 면역 효과를 갖는다. 따라서, 항-GD2 항체의 바람직하지 못한 면역 효과를 줄이고 바람직한 항종양 효과를 증가시킬 필요가 있다. 본원은 이러한 필요성을 만족시키고 관련된 이점을 제공하는, GD2에 대항하는 사람 단클론 항체 (monoclonal antibody: mAb)를 기재한다.

발명의 내용

[0004]

본 발명에 따르면, GD2에 결합하는 항체 또는 이의 기능적 단편을 제조하기 위한 조성물이 제공된다. 상기 조성물은 항체 또는 이의 기능적 단편을 코드화하는 분리된 폴리뉴클레오타이드를 포함하고, 여기서 상기 항체는 본원에 제공된 상보성 결정 부위(complementarity determining region)(가변 중쇄(VH) CDR1, VH CDR2 및 VH CDR3)를 갖는 VH 도메인을 포함한다. 한 양태에서, 본 발명의 분리된 폴리뉴클레오타이드는 또한 항체 또는 이의 기능적 단편을 코드화할 수 있는데, 여기서 상기 항체는 본원에 제공된 아미노산 서열을 갖는 VH 도메인을 포함한다. 다른 양태에서, 본 발명의 분리된 폴리뉴클레오타이드는 또한 본원에 제공된 핵산 서열을 포함할 수 있는데, 여기서 상기 핵산 서열은 상기 항체 또는 이의 기능적 단편의 VH 도메인을 코드화한다.

[0005]

본 발명의 다른 실시양태에서, 상기 분리된 폴리뉴클레오타이드는 항체 또는 이의 기능적 단편을 코드화할 수 있는데, 여기서 상기 항체는 본원에 제공된 상보성 결정 부위(가변 경쇄(VL) CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3)를 갖는 VL 도메인을 포함한다. 한 양태에서, 본 발명의 분리된 폴리뉴클레오타이드는 또한 항체 또는 이의 기능적 단편을 코드화할 수 있는데, 상기 항체는 본원에 제공된 아미노산 서열을 갖는 VL 도메인을 포함한다. 다른 양태에서, 본 발명의 분리된 폴리뉴클레오타이드는 또한 본원에 제공된 핵산 서열을 포함할 수 있는데, 여기서 상기

핵산 서열은 상기 항체 또는 이의 기능적 단편의 VL 도메인을 코드화한다.

[0006] 본 발명의 조성물은 또한 분리된 항체 또는 이의 기능적 단편을 포함하는데, 여기서 상기 항체는 GD2에 결합한다. 일부 실시양태에서, 본 발명은 GD2에 결합하는 분리된 항체 또는 이의 기능적 단편을 제공하는데, 여기서 상기 항체 또는 이의 기능적 단편은 본원에 제공된 VH CDR1, VH CDR2 및 VH CDR3 영역을 갖는 VH 도메인을 포함한다. 다른 실시양태에서, 본 발명은 GD2에 결합하는 분리된 항체 또는 이의 기능적 단편을 제공하는데, 여기서 상기 항체 또는 이의 기능적 단편은 본원에 제공된 아미노산 서열을 갖는 VH 도메인을 포함한다.

[0007] 일부 실시양태에서, 본 발명은 GD2에 결합하는 분리된 항체 또는 이의 기능적 단편을 제공하는데, 여기서 상기 항체 또는 이의 기능적 단편은 본원에 제공된 VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3 영역을 갖는 VL 도메인을 포함한다. 다른 실시양태에서, 본 발명은 GD2에 결합하는 분리된 항체 또는 이의 기능적 단편을 제공하는데, 여기서 상기 항체 또는 이의 기능적 단편은 본원에 제공된 아미노산 서열을 갖는 VL 도메인을 포함한다.

[0008] 일부 실시양태에서, 본 발명은 GD2에 결합하는 분리된 항체 또는 이의 기능적 단편을 제공하는데, 여기서 상기 항체 또는 이의 기능적 단편은 VH 도메인 및 VL 도메인을 둘 다 포함하고, 상기 VH 도메인 및 상기 VL 도메인은 각각 본원에 제공된 클론 분리주(clonal isolate)의 각각의 VH 도메인 및 VL 도메인에 대한 아미노산 서열을 포함한다.

[0009] 일부 실시양태에서, 본 발명은 진단제, 검출가능-약제 또는 치료제에 콘쥬케이트되어 있거나 제조합적으로 융합되어 있는 본원에 제공된 항체 또는 이의 기능적 단편을 갖는 콘쥬케이트(conjugate)를 제공한다. 본 발명의 일부 양태에서, 검출가능-약제를 포함하는 본 발명의 콘쥬케이트가 대상체에서 종양 형성을 검출 및/또는 진단하기 위한 방법에 사용될 수 있다. 이러한 방법은 유효량의 콘쥬케이트를 이를 필요로 하는 대상체에 투여하는 것을 포함할 수 있다.

[0010] 일부 실시양태에서, 본 발명은 본 발명의 항체 또는 이의 기능적 단편 하나 이상과 약제학적으로 허용되는 담체를 갖는 약제학적 조성물을 제공한다. 일부 양태에서, 본 발명은 또한 본 발명의 약제학적 조성물의 치료학적 유효량을 투여함으로써, 질환의 치료 또는 예방을 필요로 하는 대상체에서 질환을 치료 또는 예방하는 방법을 제공한다. 또 다른 양태에서, 본 발명은 제2 치료제를 본 발명의 항체 또는 이의 기능적 단편과 동시에 또는 연속적으로 투여하는 것을 제공한다.

도면의 간단한 설명

[0011] 도 1은 클론 1B7의 가변 중쇄(VH) 도메인의 뉴클레오타이드 서열 및 코드화된 아미노산 서열을 나타낸다. 이 도면의 윗 부분은 서열번호 1의 뉴클레오타이드 서열과 서열번호 2의 아미노산 서열간의 정렬을 나타낸다. 3개의 상보성 결정 부위(VH CDR1, VH CDR2 및 VH CDR3)가 또한 확인된다.

도 2는 클론 1B7의 가변 경쇄(VL) 도메인의 뉴클레오타이드 서열 및 코드화된 아미노산 서열을 나타낸다. 이 도면의 윗 부분은 서열번호 3의 뉴클레오타이드 서열과 서열번호 4의 아미노산 서열간의 정렬을 나타낸다. 3개의 상보성 결정 부위(VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3)가 또한 확인된다.

도 3은 클론 2H12의 가변 중쇄(VH) 도메인의 뉴클레오타이드 서열 및 코드화된 아미노산 서열을 나타낸다. 이 도면의 윗 부분은 서열번호 5의 뉴클레오타이드 서열과 서열번호 6의 아미노산 서열간의 정렬을 나타낸다. 3개의 상보성 결정 부위(VH CDR1, VH CDR2 및 VH CDR3)가 또한 확인된다.

도 4는 클론 2H12의 가변 경쇄(VL) 도메인의 뉴클레오타이드 서열 및 코드화된 아미노산 서열을 나타낸다. 이 도면의 윗 부분은 서열번호 7의 뉴클레오타이드 서열과 서열번호 8의 아미노산 서열간의 정렬을 나타낸다. 3개의 상보성 결정 부위(VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3)가 또한 확인된다.

도 5는 클론 1G2의 가변 중쇄(VH) 도메인의 뉴클레오타이드 서열 및 코드화된 아미노산 서열을 나타낸다. 이 도면의 윗 부분은 서열번호 9의 뉴클레오타이드 서열과 서열번호 10의 아미노산 서열간의 정렬을 나타낸다. 3개의 상보성 결정 부위(VH CDR1, VH CDR2 및 VH CDR3)가 또한 확인된다.

도 6은 클론 1G2의 가변 경쇄(VL) 도메인의 뉴클레오타이드 서열 및 코드화된 아미노산 서열을 나타낸다. 이 도면의 윗 부분은 서열번호 11의 뉴클레오타이드 서열과 서열번호 12의 아미노산 서열간의 정렬을 나타낸다. 3개의 상보성 결정 부위(VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3)가 또한 확인된다.

도 7은 클론 1E9의 가변 중쇄(VH) 도메인의 뉴클레오타이드 서열 및 코드화된 아미노산 서열을 나타낸다. 이 도면의 윗 부분은 서열번호 13의 뉴클레오타이드 서열과 서열번호 14의 아미노산 서열간의 정렬을 나타낸다. 3개

의 상보성 결정 부위(VH CDR1, VH CDR2 및 VH CDR3)가 또한 확인된다.

도 8은 클론 1E9의 가변 경쇄(VL) 도메인의 뉴클레오타이드 서열 및 코드화된 아미노산 서열을 나타낸다. 이 도면의 윗 부분은 서열번호 15의 뉴클레오타이드 서열과 서열번호 16의 아미노산 서열간의 정렬을 나타낸다. 3개의 상보성 결정 부위(VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3)가 또한 확인된다.

도 9는 클론 1H3의 가변 중쇄(VH) 도메인의 뉴클레오타이드 서열 및 코드화된 아미노산 서열을 나타낸다. 이 도면의 윗 부분은 서열번호 17의 뉴클레오타이드 서열과 서열번호 18의 아미노산 서열간의 정렬을 나타낸다. 3개의 상보성 결정 부위(VH CDR1, VH CDR2 및 VH CDR3)가 또한 확인된다.

도 10은 클론 1H3의 가변 경쇄(VL) 도메인의 뉴클레오타이드 서열 및 코드화된 아미노산 서열을 나타낸다. 이 도면의 윗 부분은 서열번호 19의 뉴클레오타이드 서열과 서열번호 20의 아미노산 서열간의 정렬을 나타낸다. 3개의 상보성 결정 부위(VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3)가 또한 확인된다.

도 11은 클론 2F5의 가변 중쇄(VH) 도메인의 뉴클레오타이드 서열 및 코드화된 아미노산 서열을 나타낸다. 이 도면의 윗 부분은 서열번호 21의 뉴클레오타이드 서열과 서열번호 22의 아미노산 서열간의 정렬을 나타낸다. 3개의 상보성 결정 부위(VH CDR1, VH CDR2 및 VH CDR3)가 또한 확인된다.

도 12는 클론 2F5의 가변 경쇄(VL) 도메인의 뉴클레오타이드 서열 및 코드화된 아미노산 서열을 나타낸다. 이 도면의 윗 부분은 서열번호 23의 뉴클레오타이드 서열과 서열번호 24의 아미노산 서열간의 정렬을 나타낸다. 3개의 상보성 결정 부위(VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3)가 또한 확인된다.

도 13은 클론 2F7의 가변 중쇄(VH) 도메인의 뉴클레오타이드 서열 및 코드화된 아미노산 서열을 나타낸다. 이 도면의 윗 부분은 서열번호 25의 뉴클레오타이드 서열과 서열번호 26의 아미노산 서열간의 정렬을 나타낸다. 3개의 상보성 결정 부위(VH CDR1, VH CDR2 및 VH CDR3)가 또한 확인된다.

도 14는 클론 2F7의 가변 경쇄(VL) 도메인의 뉴클레오타이드 서열 및 코드화된 아미노산 서열을 나타낸다. 이 도면의 윗 부분은 서열번호 27의 뉴클레오타이드 서열과 서열번호 28의 아미노산 서열간의 정렬을 나타낸다. 3개의 상보성 결정 부위(VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3)가 또한 확인된다.

도 15는 클론 2E12의 가변 중쇄(VH) 도메인의 뉴클레오타이드 서열 및 코드화된 아미노산 서열을 나타낸다. 이 도면의 윗 부분은 서열번호 29의 뉴클레오타이드 서열과 서열번호 30의 아미노산 서열간의 정렬을 나타낸다. 3개의 상보성 결정 부위(VH CDR1, VH CDR2 및 VH CDR3)가 또한 확인된다.

도 16은 클론 2E12의 가변 경쇄(VL) 도메인의 뉴클레오타이드 서열 및 코드화된 아미노산 서열을 나타낸다. 이 도면의 윗 부분은 서열번호 31의 뉴클레오타이드 서열과 서열번호 32의 아미노산 서열간의 정렬을 나타낸다. 3개의 상보성 결정 부위(VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3)가 또한 확인된다.

도 17은 클론 31F9의 가변 중쇄(VH) 도메인의 뉴클레오타이드 서열 및 코드화된 아미노산 서열을 나타낸다. 이 도면의 윗 부분은 서열번호 33의 뉴클레오타이드 서열과 서열번호 34의 아미노산 서열간의 정렬을 나타낸다. 3개의 상보성 결정 부위(VH CDR1, VH CDR2 및 VH CDR3)가 또한 확인된다.

도 18은 클론 31F9V2의 가변 중쇄(VH) 도메인의 뉴클레오타이드 서열 및 코드화된 아미노산 서열을 나타낸다. 이 도면의 윗 부분은 서열번호 35의 뉴클레오타이드 서열과 서열번호 36의 아미노산 서열간의 정렬을 나타낸다. 3개의 상보성 결정 부위(VH CDR1, VH CDR2 및 VH CDR3)가 또한 확인된다.

도 19는 클론 31F9의 가변 경쇄(VL) 도메인의 뉴클레오타이드 서열 및 코드화된 아미노산 서열을 나타낸다. 이 도면의 윗 부분은 서열번호 37의 뉴클레오타이드 서열과 서열번호 38의 아미노산 서열간의 정렬을 나타낸다. 3개의 상보성 결정 부위(VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3)가 또한 확인된다.

도 20은 클론 32E2의 가변 중쇄(VH) 도메인의 뉴클레오타이드 서열 및 코드화된 아미노산 서열을 나타낸다. 이 도면의 윗 부분은 서열번호 39의 뉴클레오타이드 서열과 서열번호 40의 아미노산 서열간의 정렬을 나타낸다. 3개의 상보성 결정 부위(VH CDR1, VH CDR2 및 VH CDR3)가 또한 확인된다.

도 21은 클론 32E2의 가변 경쇄(VL) 도메인의 뉴클레오타이드 서열 및 코드화된 아미노산 서열을 나타낸다. 이 도면의 윗 부분은 서열번호 41의 뉴클레오타이드 서열과 서열번호 42의 아미노산 서열간의 정렬을 나타낸다. 3개의 상보성 결정 부위(VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3)가 또한 확인된다.

도 22는 밑에 기재된 공통 서열(consensus sequence)(서열번호 43)과 함께, 사람 항-GD2 단클론 항체 1B7(서열

번호 2), 2H12(서열번호 6), 1G2(서열번호 10), 1E9(서열번호 14), 1H3(서열번호 18), 2F5(서열번호 22), 2F7(서열번호 26), 2E12(서열번호 30), 31F9(서열번호 34), 31F9V2(서열번호 36) 및 32E2(서열번호 40)의 VH 부위의 정렬을 나타낸다.

도 23은 밑에 기재된 공통 서열(서열번호 44)과 함께, 사람 항-GD2 단클론 항체 1B7(서열번호 4), 2H12(서열번호 8), 1G2(서열번호 12), 1E9(서열번호 16), 1H3(서열번호 20), 2F5(서열번호 24), 2F7(서열번호 28), 2E12(서열번호 32), 31F9(서열번호 38) 및 32E2(서열번호 42)의 VL 부위의 정렬을 나타낸다.

도 24는 사람 항-GD2 단클론 항체 1B7, 31F9, 31F9V2, 1G2, 2F7, 32E2 및 2H12의 항체 의존적 세포 매개된 세포독성(antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity: ADCC)을 나타낸다. ADCC 활성을 효과기 세포(effectector cell)로서 가공된 저킷 세포(engineered Jurkat cells)를 사용하여 프로메가 리포터 분석(Promega's reporter assay)으로 측정하였다. 표적 세포는 SaOS2, H524, Hs578T, TC71 및 Lan1-luc를 포함한 다양한 종양 세포이다.

도 25는 사람 항-GD2 단클론 항체의 H524 세포로의 내재화(internalization)를 나타낸다. H524 세포는 사포린-콘쥬게이트된 항-사람 IgG인 Hum-ZAP와 복합된 1B7, 31F9 또는 31F9V2의 존재하에 성장되었다. 수치는 Fab-ZAP의 부재하에 측정되고 100% 성장률로 정규화된 것이다.

도 26은 사람 항-GD2 단클론 항체의 Lan1-luc 세포로의 내재화를 나타낸다. Lan1-luc 세포는 사포린-콘쥬게이트된 항-사람 IgG인 Hum-ZAP와 복합된 1B7, 1G2, 2H12, 2F7, 31F9 또는 32E2의 존재하에 성장되었다. 수치는 Fab-ZAP의 부재하에 측정되고 100% 성장률로 정규화된 것이다.

도 27은 유동 세포계수법에 의한 pH 민감성 리포터를 사용하여 측정된, 항-강글리오사이드 항체의 H524(SCLC) 종양 세포로의 내재화의 동역학을 나타낸다. 상기 항체를 엔도좀(endosome)의 낮은 pH 환경으로 내재화하는 세포는 유동 세포계수법에 의해 측정된 형광을 나타낸다.

도 28은 유동 세포계수법에 의한 pH 민감성 리포터를 사용하여 측정된, 항-강글리오사이드 항체의 TC-71(육종) 종양 세포로의 내재화의 동역학을 나타낸다. 상기 항체를 엔도좀의 낮은 pH 환경으로 내재화하는 세포는 유동 세포계수법에 의해 측정된 형광을 나타낸다.

도 29는 사람 SaOS2(골육종) 이종이식편(xenograft)이 이식되고 항-GD2 항체 또는 대조군으로 처리된 SCID 마우스의 생존율을 나타낸다.

도 30은 항-GD2 항체 또는 대조군으로 처리된 SCID 마우스에서 사람 TC-71(육종) 이종이식편 종양의 성장을 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0012]

종양 세포 표면에 발현된 강글리오사이드는 암 면역요법을 위한 표적일 수 있다. 본원에 제공된 조성물은, 적어도 부분적으로, 예를 들어, 미국 특허 제6,936,253호, 제7,001,601호 및 제6,916,476호에 기재된 것과 같은 KLH-콘쥬게이트된 GD2L, GD3L 및 GM2 항원을 함유하는 MabVax 백신(MabVax Therapeutics, 미국 캘리포니아주 샌디에고)으로 면역화된(immunized) 개체의 혈액 림프구로부터 생성된 사람 항체의 확인 및 특징화를 기초로 한다. GD2에 대해 높은 친화도를 갖는 적어도 11개의 항체(1B7, 2H12, 1G2, 1E9, 1H3, 2F5, 2F7, 2E12, 31F9, 31F9V2 및 32E2)가 확인되었고, 재조합 항체로서 발현되었고, 시험관내 모델로서 추가로 특징화되었다. 시험된 8개의 항체 중 6개(1B7, 2H12, 2F7, 2E12, 31F9V2 및 32E2)가 적어도 1개의 암세포주에서 보체 의존적 세포독성(complement-dependent cytotoxicity: CDC) 분석에서 효력이 있었다. 시험된 6개의 항체 모두 5개의 상이한 암세포주를 사용한 항체 의존적 세포독성 분석에서, 비록 상이한 정도이기는 하지만, 유의한 활성을 나타낸다. 시험된 2개의 항체(1B7 및 31F9)는 또한 유의한 생체내 항종양 활성을 생존 모델 및 피하 종양 모델 둘 다에서 나타냈다. 본원 발명의 해석 타당성은 두 가지이다: 첫 번째, GD2-KLH 콘쥬게이트 백신은 암 환자에서 항-GD2 IgG 및 IgM 항체 반응을 끌어낼 수 있고 항체 생산 세포는 환자의 혈액 샘플로부터 회수될 수 있다. 두 번째, 임상 실험에서 생성된 가장 강력한 항체가 보존될 수 있고 궁극적으로 표적 암 군(cancer population)에 대해 치료제로서 또는 치료제의 제조에 사용될 수 있다. 본원에 제공된 항체의 높은 친화도 및 항체의 높은 작동(effectector) 기능은 이 번역 잠재력을 지원한다.

[0013]

본원에 사용된 용어 "항체"는 폴리펩타이드의 면역글로불린 클래스 내의 B 세포의 폴리펩타이드 생성물을 의미하고자 하는 것으로, 상기 생성물은 특정 분자 항원에 결합할 수 있고 2개의 동일한 쌍의 폴리펩타이드쇄로 이루어지며, 이의 각각의 쌍은 하나의 중쇄(약 50 내지 70kDa) 및 하나의 경쇄(약 25kDa)를 갖고, 각각의 쇄의 각

아미노 말단부는 약 100개 내지 약 130개 또는 그 이상의 아미노산의 가변 부위를 포함하고, 각각의 쇄의 각 카복시 말단부는 불변 부위를 포함한다(참조: Borrebaeck(ed.)(1995) Antibody Engineering, Second Edition, Oxford University Press.; Kuby(1997) Immunology, Third Edition, W.H. Freeman and Company, New York). 본 발명의 맥락에서, 본 발명의 항체에 의해 결합될 수 있는 특정 분자 항원은 표적 GD2를 포함한다.

[0014] 항체 또는 이의 기능적 단편에 관해 사용된 경우, 용어 "사람"은, 사람 생식계열 면역글로불린 서열에 상응하는 사람 가변 부위 및/또는 사람 불변 부위 또는 이의 일부를 갖는 항체 또는 이의 기능적 단편을 말한다. 이러한 사람 생식계열 면역글로불린 서열은 "Kabat et al.(1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242"에 기재되어 있다. 본 발명의 맥락에서, 사람 항체는 GD2에 결합되고 사람 생식계열 면역글로불린 핵산 서열의 자연 발생적 체세포 변이체인 핵산 서열에 의해 코드화되는 항체를 포함할 수 있다. 사람 항체의 제조방법의 예는 실시예 1에 제공되어 있으나, 당해 분야의 기술자에게 잘 알려진 방법을 사용할 수 있다.

[0015] 용어 "단클론 항체"는 단일 세포 클론 또는 하이브리도마 또는 단일 세포로부터 유도된 세포군의 생성물인 항체를 지칭한다. 단클론 항체는 또한 단일 분자 면역글로불린 종을 생산하기 위해 면역글로불린 유전자를 코드화하는 중쇄 및 경쇄로부터 재조합 방법에 의해 생성된 항체를 지칭하려는 것이다. 단클론 항체 제제 내의 항체에 대한 아미노산 서열은 실질적으로 균일하고 이러한 제제 내의 항체의 결합 활성은 실질적으로 동일한 항원 결합 활성을 나타낸다. 이에 반해, 다클론 항체는 군 내의 특정 항원에 결합하는 면역글로불린 분자들의 조합인 상이한 B 세포들로부터 수득된다. 다클론 항체의 각각의 면역글로불린은 동일한 항원의 상이한 에피토프(epitope)에 결합할 수 있다. 단클론 항체 및 다클론 항체 둘 다의 제조방법은 당해 분야에 잘 알려져 있다(Harlow and Lane., Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press (1989) and Borrebaeck (ed.), Antibody Engineering: A Practical Guide, W.H. Freeman and Co., Publishers, New York, pp. 103-120 (1991)).

[0016] 항체에 관해 사용된 경우, 본원에 사용된 용어 "기능적 단편"은 항체로부터 단편이 유도될 때 결합 활성 중 일부 또는 전부를 유지하는 중쇄 또는 경쇄 폴리펩타이드를 포함하는 항체의 일부를 지칭하려는 것이다. 이러한 기능적 단편은, 예를 들어, Fd, Fv, Fab, F(ab'), F(ab)₂, F(ab')₂, 단쇄 Fv(scFV), 디아바디(diabody), 트리아바디(triabody), 테트라바디(tetraabody) 및 미니바디(minibody)를 포함할 수 있다. 다른 기능적 단편은, 예를 들어, 중쇄 또는 경쇄 폴리펩타이드, 가변 부위 폴리펩타이드 또는 CDR 폴리펩타이드, 또는 이러한 기능적 단편이 결합 활성을 유지하는 한 이의 일부를 포함할 수 있다. 이러한 항체 결합 단편은, 예를 들어, "Harlow and Lane, Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, New York (1989); Myers (ed.), Molecular Biology and Biotechnology: A Comprehensive Desk Reference, New York: VCH Publisher, Inc.; Huston et al., Cell Biophysics, 22:189-224 (1993); Pluckthun and Skerra, Meth. Enzymol., 178:497-515 (1989); Day, E.D., Advanced Immunochemistry, Second Ed., Wiley-Liss, Inc., New York, NY (1990)"에 기재된 것을 찾을 수 있다.

[0017] 항체에 관해 사용된 경우, 본원에 사용된 용어 "중쇄"는 약 50 내지 70kDa의 폴리펩타이드쇄를 말하며, 여기서 아미노 말단부는 약 120개 내지 130개 또는 그 이상의 아미노산의 가변 부위를 포함하고 카복시 말단부는 불변 부위를 포함한다. 불변 부위는 중쇄 불변 부위의 아미노산 서열을 기준으로 알파(α), 델타(δ), 엡실론(ε), 감마(γ) 및 뮤(μ)로 지칭되는 별개의 다섯 가지 유형 중 하나일 수 있다. 별개의 중쇄는 크기면에서 상이한데; α, δ 및 γ는 약 450개의 아미노산을 함유하는 반면, μ 및 ε은 약 550개의 아미노산을 함유한다. 이들 별개의 중쇄 유형은, 경쇄와 조합되는 경우, 잘 알려진 다섯 클래스의 항체인 IgA, IgD, IgE, IgG 및 IgM이 각각 생기게 하며, IgG의 4개의 서브클래스, 즉 IgG1, IgG2, IgG3 및 IgG4를 포함한다. 중쇄는 사람 중쇄일 수 있다.

[0018] 항체에 관해 사용된 경우, 용어 "경쇄"는 약 25kDa의 폴리펩타이드쇄를 말하며, 여기서 아미노 말단부는 약 100개 내지 약 110개 또는 그 이상의 아미노산의 가변 부위를 포함하고 카복시 말단부는 불변 부위를 포함한다. 경쇄의 대략적 길이는 211개 내지 217개의 아미노산이다. 불변 도메인의 아미노산 서열을 기준으로 카파(κ) 및 람다(λ)로 지칭되는 2개의 별개의 유형이 있다. 경쇄 아미노산 서열은 당해 분야에 잘 알려져 있다. 경쇄는 사람 경쇄일 수 있다.

[0019] 용어 "가변 도메인" 또는 "가변 부위"는 경쇄 또는 중쇄의 아미노 말단에 일반적으로 위치하고 중쇄에서 길이가 약 120개 내지 130개의 아미노산이고 경쇄에서 길이가 약 100개 내지 110개의 아미노산인 항체의 경쇄 또는 중쇄의 일부를 말하고, 특별한 항원에 대한 각각의 특별한 항체의 결합 및 특이성에 사용된다. 가변 도메인은 상

이한 항체들간의 서열이 광범위하게 상이하다. 서열 가변성은 CDR에 집중되는 반면, 가변 도메인의 보다 덜 가변적인 부분은 골격 부위(framework region: FR)로 지칭된다. 경쇄 및 중쇄의 CDR은 주로 항체와 항원의 상호작용을 책임진다. 본원에 사용된 아미노산 위치의 넘버링은 "Kabat et al. (1991) *Sequences of proteins of immunological interest*. (U.S. Department of Health and Human Services, Washington, D.C.) 5th ed"에서와 같이 EU 인덱스에 따른 것이다. 가변 부위는 사람 가변 부위일 수 있다.

[0020] CDR은 면역글로불린(Ig 또는 항체) VH β -시트 골격의 비-골격 부위 내의 3개의 과가변(hypervariable) 부위(H1, H2 또는 H3) 중 하나, 또는 항체 VL β -시트 골격의 비-골격 부위 내의 3개의 과가변 부위(L1, L2 또는 L3) 중 하나를 지칭한다. 따라서, CDR은 골격 부위 서열 내에 배치된 가변 부위 서열이다. CDR 부위는 당해 분야의 기술자에 잘 알려져 있고, 예를 들어, 항체 가변(V) 도메인 내의 최고 과가변 부위로서 Kabat에 의해 정의되었다(Kabat et al., *J. Biol. Chem.* 252:6609-6616 (1977); Kabat, *Adv. Prot. Chem.* 32:1-75 (1978)). CDR 부위 서열은 또한 보존된 β -시트 골격의 일부가 아니어서 상이한 구조를 개조할 수 있는 잔기로서 Chothia에 의해 구조적으로 정의되었다(Chothia and Lesk, *J. Mol. Biol.* 196:901-917 (1987)). 두 용어들은 당해 분야에 널리 인지되어 있다. 대표적인 항체 가변 도메인 내의 CDR의 위치는 다수의 구조를 비교함으로써 측정되었다(Al-Lazikani et al., *J. Mol. Biol.* 273:927-948 (1997); Morea et al., *Methods* 20:267-279 (2000)). 과가변 부위 내의 잔기의 수가 각각의 항체에서 변하기 때문에, 대표적인 위치에 관해 추가의 잔기가 대표적인 가변 도메인 넘버링 스키마에서 잔기 번호 뒤에 관례상 a, b, c 등으로 넘버링된다(Al-Lazikani et al., *supra* (1997)). 이러한 명명법이 마찬가지로 당해 분야의 기술자에게 잘 알려져 있다.

[0021] 예를 들어, Kabat(과가변) 또는 Chothia(구조적) 명칭에 따라 정의된 CDR을 하기 표 1에 나타낸다.

표 1: CDR 정의

Kabat ¹	Chothia ²	루프 위치
V _H CDR1	31-35	B 및 C 가닥 연결
V _H CDR2	50-65	C' 및 C'' 가닥 연결
V _H CDR3	95-102	F 및 G 가닥 연결
V _L CDR1	24-34	B 및 C 가닥 연결
V _L CDR2	50-56	C' 및 C'' 가닥 연결
V _L CDR3	89-97	F 및 G 가닥 연결

¹ 잔기 넘버링은 앞의 Kabat et al.의 명명법에 따름

² 잔기 넘버링은 앞의 Chothia et al.의 명명법에 따름

[0022] 하나 이상의 CDR은 또한 공유적으로 또는 비공유적으로 분자에 도입되어 면역어드헤신(immunoadhesin)가 될 수 있다. 면역어드헤신은 CDR(들)을 보다 큰 폴리펩타이드쇄의 일부로서 도입할 수 있거나, CDR(들)을 다른 폴리펩타이드쇄에 공유적으로 결합시킬 수 있거나, CDR(들)을 비공유적으로 도입할 수 있다. CDR은 면역어드헤신이 관심있는 특정 항원에 결합하는 것을 가능케 한다.

[0024] 항체, 항체 기능적 단편 또는 폴리뉴클레오타이드에 관해 사용되는 경우, 본원에 사용된 용어 "분리된"은 언급된 분자가 자연 상태에서 발견될 때와 같이 적어도 하나의 성분도 없는 것을 의미하려는 것이다. 이 용어는 자연 상태에서 발견될 때와 같은 성분 중 일부 또는 전부가 제거된 항체, 항체 기능적 단편 또는 폴리뉴클레오타이드를 포함한다. 항체의 천연 환경의 성분은, 예를 들어, 적혈구, 백혈구, 혈소판, 혈장, 단백질, 핵산, 염 및 영양소를 포함한다. 항체 기능적 단편 또는 폴리뉴클레오타이드의 천연 환경의 성분은, 예를 들어, 지질막, 세포 소기관, 단백질, 핵산, 염 및 영양소를 포함한다. 본 발명의 항체, 항체 기능적 단편 또는 폴리뉴클레오타이드는 또한 세포로부터 분리되거나 재조합적으로 생성되는 상기 성분 또는 다른 임의 성분이 모두 없거나 실질적으로 없을 수 있다.

[0025] 본원에 사용된 용어 "아이소타입"은 중쇄 불변 부위 유전자에 의해 코드화되는 항체 클래스를 지칭한다. 제시된 항체 또는 기능적 단편의 중쇄는 그 항체 또는 기능적 단편의 클래스인 IgM, IgG, IgA, IgD 또는 IgE를 결정한다. 각 클래스는 κ 또는 λ 경쇄를 가질 수 있다. 용어 "서브클래스"는, 서브클래스들을 구별하는 중쇄의 아미노산 서열의 작은 차이를 말한다. 사람의 경우, IgA는 2개의 서브클래스(서브클래스 IgA1 및 IgA2)가 있고, IgG

는 4개의 서브클래스(서브클래스 IgG1, IgG2, IgG3 및 IgG4)가 있다. 이러한 클래스 및 서브클래스는 당해 분야의 기술자에게 잘 알려져 있다.

[0026] 본원에 사용된 용어 "결합하다" 또는 "결합"은 분자들 간의 상호작용으로 복합체가 생성되는 것을 말한다. 상호작용은, 예를 들어, 수소결합, 이온결합, 소수성 상호작용 및/또는 반 데르 발스 상호작용을 포함한, 비공유 상호작용일 수 있다. 복합체는 또한 공유 또는 비공유 결합, 상호작용 또는 힘에 의해 결합된 2개 이상의 분자들의 결합을 포함할 수 있다. 항체 또는 이의 기능적 단편의 결합은, 예를 들어, 실시예 1에 제공된 방법인 효소결합 면역 흡착 분석법(enzyme-linked immunosorbant assay: ELISA) 또는 당해 분야의 기술자에게 잘 알려진 다수의 방법 중 임의의 것을 사용하여 검출할 수 있다.

[0027] 항체 또는 기능적 단편 상의 단일 항원 결합 위치와 GD2와 같은 표적 분자의 단일 에피토프 사이의 전체 비공유 상호작용의 강도는 그 에피토프에 대한 항체 또는 기능적 단편의 친화도이다. 1가 항원에 대한 항체 또는 이의 기능적 단편의 결합(k_1) 대 해리(k_{-1}) 비율(k_1/k_{-1})은 결합상수 K 이며, 이는 친화도의 척도이다. K 값은 항체 또는 기능적 단편과 항원의 상이한 복합체에 따라 변하며 k_1 및 k_{-1} 둘 다에 좌우된다. 본 발명의 항체 또는 기능적 단편에 대한 결합상수 K 는 본원에 제공된 임의의 방법 또는 당해 분야의 기술자에게 잘 알려진 다른 임의의 방법을 사용하여 측정할 수 있다.

[0028] 하나의 결합 위치의 친화도가 항상 항체 또는 기능적 단편과 항원 사이의 상호작용의 실제 강도를 반영하는 것은 아니다. 다가 GD2와 같은 다중 반복적 항원 결정부위를 함유하는 복합체 항원이 다중 결합 위치를 함유하는 항체와 접촉하고 있는 경우, 한 위치에서의 항체 또는 기능적 단편과 항원의 상호작용은 두 번째 위치에서의 작용 가능성을 증가시킬 것이다. 다가 항체와 항원 사이의 이러한 다중 상호작용 강도를 결합력(avidity)이라 부른다. 항체 또는 기능적 단편의 결합력은 각각의 결합 위치의 친화도보다 더 나은 결합 능력의 척도일 수 있다. 예를 들어, IgG보다 친화도는 더 낮을 수 있지만 그의 다가성으로 인한 IgM의 높은 결합력이 효과적으로 항원에 결합하는 것을 가능하게 하는 오량체(pentameric) IgM 항체들에서 종종 발견되는 바와 같이, 높은 결합력은 낮은 친화도를 보완할 수 있다.

[0029] 항체 또는 이의 기능적 단편의 특이성은 각각의 항체 또는 이의 기능적 단편이 오직 하나의 항원과 반응하는 능력을 말한다. 항체 또는 기능적 단편은 항원 또는 항원의 이성체 형태의 1차, 2차 또는 3차 구조의 차이를 구별할 수 있는 경우 특이적인 것으로 여겨질 수 있다. 항체는 결합 에피토프가 다른 항원에 존재하면 교차 반응성일 수 있다.

[0030] 용어 "폴리뉴클레오타이드"는 테옥시리보뉴클레오타이드 또는 리보뉴클레오타이드 또는 이의 유사체인 임의 길이의 뉴클레오타이드의 중합체 형태를 지칭한다. 폴리뉴클레오타이드의 서열은 다음 4개의 뉴클레오타이드 염기로 이루어진다: 아데닌(A), 시토신(C), 구아닌(G), 티민(T), 및 폴리뉴클레오타이드가 RNA인 경우 티민 대신 우라실(U). 따라서, 용어 "뉴클레오타이드 서열" 또는 "핵산 서열"은 폴리뉴클레오타이드를 알파벳으로 표시한 것이다. 폴리뉴클레오타이드는 유전자 또는 유전자 단편(예를 들어, 프로브, 프라이머, EST 또는 SAGE 태그), 엑손, 인트론, 메신저 RNA(mRNA), 전달 RNA, 리보솜 RNA, 리보자임, cDNA, 재조합 폴리뉴클레오타이드, 분지된 폴리뉴클레오타이드, 플라스미드, 벡터, 임의 서열의 분리된 DNA, 임의 서열의 분리된 RNA, 핵산 프로브 및 프라이머를 포함할 수 있다. 폴리뉴클레오타이드는 또한 이중가닥 및 단가닥 분자 둘 다를 지칭한다. 달리 특정되지 않거나 요구되지 않는 한, 폴리뉴클레오타이드에 대한 본 발명의 임의 실시양태는 이중가닥 형태, 및 이중가닥을 구성하는 것으로 알려져 있거나 예측되는 2개의 상보적 단가닥 형태 각각을 포함한다. 본원에 기재된 분리된 폴리뉴클레오타이드 및 핵산은 자연 발생적으로 생기지 않는 폴리뉴클레오타이드 및 핵산인 것으로 생각된다. 자연 발생적으로 생기지 않는 폴리뉴클레오타이드 및 핵산은 cDNA 및 화학적으로 합성된 분자를 포함할 수 있으나, 이에 한정되지 않는다.

[0031] 폴리뉴클레오타이드에 관해 사용되는 용어 "코드화" 또는 이와 문법적으로 동등한 용어는 천연 상태의 폴리뉴클레오타이드를 말하거나, 당해 분야의 기술자에게 잘 알려진 방법에 의해 조작되는 경우 mRNA를 생성시키기 위해 전사되고, 이어서 폴리펩타이드 및/또는 이의 단편으로 번역될 수 있는 폴리뉴클레오타이드를 말한다. 안티센스 스트랜드는 이러한 폴리뉴클레오타이드의 보체이고, 이로부터 코드화 서열이 추론될 수 있다.

[0032] 용어 "치료제"는 GD2의 발현과 관련된 질환 및/또는 이와 관련된 증상의 치료, 관리 또는 개선에 사용될 수 있는 임의 제제를 말한다. 특정 실시양태에서, 치료제는 본 발명의 항체 또는 기능적 단편을 지칭한다. 한 실시양태에서, 치료제는 본 발명의 항체 또는 기능적 단편 이외의 제제를 지칭한다. 치료제는 GD2의 발현과 관련된 질환 및/또는 이와 관련된 하나 이상의 증상의 치료, 관리 또는 개선에 유용한 것으로 잘 알려져 있거나, 상기한

치료, 관리 또는 개선에 사용됐거나 현재 사용되고 있는 제제일 수 있다.

[0033] 용어 "진단제"는 질환의 진단을 돋는, 대상체에 투여되는 물질을 말한다. 이러한 물질은 질환을 일으키는 과정의 병소부위를 드러내고/내거나, 정확히 찾아내고/내거나 규정하는 데에 사용할 수 있다. 특정 실시양태에서, 진단제는 본 발명의 항체 또는 기능적 단편에 콘쥬게이트되고, 대상체에 투여되거나 대상체로부터의 샘플에 접촉되는 경우 암 또는 종양 생성의 진단을 돋는 물질을 포함한다.

[0034] 용어 "검출가능-약제(detectable agent)"는 샘플 또는 대상체에서 본 발명의 항체 또는 기능적 단편과 같은, 목적한 분자의 실재 또는 존재를 확인하는데 사용할 수 있는 물질을 지칭한다. 검출가능-약제는 시각화할 수 있는 물질일 수 있거나, 아니면 (예를 들어, 정량화에 의해) 밝혀질 수 있고/있거나 측정될 수 있는 물질일 수 있다.

[0035] "유효량"은 유리한 또는 목적한 결과를 가져오기에 충분한 양이다. 유효량은 1회 이상의 투여, 도포 또는 투여량으로 투여될 수 있다. 이러한 전달은 개별 투여 단위가 사용되는 기간, 제제의 생체이용률, 투여 경로 등을 포함한 다수의 변수에 좌우된다.

[0036] 본원에 사용된 용어 "치료학적 유효량"은 제시된 질환의 중증도 및/또는 기간 및/또는 이와 관련된 증상을 감소 및/또는 개선시키기에 충분한 치료제(예를 들어, 본원에 제공된 항체 또는 기능적 단편, 또는 본원에 제공된 다른 임의의 치료제)의 양을 지칭한다. 치료제의 치료학적 유효량은 제시된 질환의 진행 또는 진전의 감소 또는 개선, 제시된 질환의 재발, 진행 또는 개시의 감소 또는 개선, 및/또는 다른 요법(예를 들어, 본원에 제공된 항체 또는 기능적 단편의 투여 이외의 요법)의 예방 또는 치료 효과의 향상 또는 강화에 필요한 양일 수 있다.

[0037] GD2 강글리오사이드, 강글리오사이드 GD2 및 강글리오사이드 G2로도 알려진 화합물 GD2는 분자식 $C_{74}H_{134}N_4O_{32}$ 및 분자량 1591.86g/mol의 디시알로강글리오사이드이다. 강글리오사이드는 대부분의 세포막의 외부 표면에서 발견되는 산성 글리코스핑고리피드이다. 이는 높은 항원 밀도, 조절 결여, 다수의 종양에서의 상대적 균일성 및 사이토카인에 의한 상향조절 가능성으로 인해 단클론 항체(mAb)에 대한 표적일 수 있다. 많은 종양이 비정상 글리코리피드 조성물 및 구조를 갖는다. GD2는 신경외배엽 또는 상피 기원의 것, 거의 모든 흑색종, 및 골육종 및 연조직 육종으로부터의 종양 샘플의 약 50%를 포함하여 다양한 사람 종양에서 발견되어 왔다.

[0038] 일부 실시양태에서, 본 발명은 항체 종쇄 또는 경쇄 또는 이의 기능적 단편을 코드화하는 분리된 폴리뉴클레오타이드를 제공하며, 여기서 본 발명의 폴리뉴클레오타이드에 의해 코드화된 항체 종쇄 또는 경쇄 또는 이의 기능적 단편은 도 1 내지 21에 도시된 또는 표 2에 열거된 상보성 결정 부위(CDR)를 하나 이상 갖는다. 하나 이상의 CDR을 포함하는 항체 또는 이의 기능적 단편은 본원에 기재된 대로 GD2에 특이적으로 결합할 수 있다. GD2로의 특이적 결합은 본원에 제공된 항체 종 임의의 것에 대해 실시예 1에 제공된 바와 같은 특이성, 친화도 및/또는 결합력을 포함할 수 있다. 일부 양태에서, 본 발명의 폴리뉴클레오타이드에 의해 코드화된 항체 또는 이의 기능적 단편은, 본원에 기재된 클론 분리주 1B7, 2H12, 1G2, 1E9, 1H3, 2F5, 2F7, 2E12, 31F9, 31F9V2 또는 32E2 중 임의의 하나의 보체 의존적 세포독성(CDC) 활성 및/또는 항체 의존적 세포 매개된 세포독성(ADCC) 활성을 포함할 수 있다. 항체 또는 이의 기능적 단편의 특이성, 친화도 및/또는 결합력을 평가하는 방법은 당해 분야에 잘 알려져 있고 예시적 방법이 본원에 제공되어 있다.

[0039] 일부 실시양태에서, 본 발명의 항체 또는 이의 기능적 단편은 6개 미만의 CDR을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 이의 기능적 단편은 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2 및/또는 VL CDR3으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 CDR을 1개, 2개, 3개, 4개 또는 5개 포함한다. 특정 실시양태에서, 항체 또는 이의 기능적 단편은 본원에 기재된 클론 분리주 1B7, 2H12, 1G2, 1E9, 1H3, 2F5, 2F7, 2E12, 31F9, 31F9V2 또는 32E2의 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2 및/또는 VL CDR3으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 CDR을 1개, 2개, 3개, 4개 또는 5개 포함한다.

[0040] 일부 실시양태에서, 본 발명은 항체 종쇄 또는 이의 기능적 단편을 코드화하는 분리된 폴리뉴클레오타이드를 제공하는데, 상기 항체 종쇄 또는 이의 기능적 단편은 가변 종쇄(VH) CDR1, VH CDR2 및 VH CDR3 아미노산 서열을 갖는 VH 도메인을 포함하고, 여기서 상기 VH CDR1 아미노산 서열은 서열번호 2의 잔기 26 내지 33, 서열번호 6의 잔기 26 내지 33, 서열번호 10의 잔기 26 내지 33, 서열번호 14의 잔기 26 내지 33, 서열번호 18의 잔기 26 내지 33, 서열번호 22의 잔기 26 내지 33, 서열번호 26의 잔기 26 내지 33, 서열번호 30의 잔기 26 내지 33, 서열번호 34의 잔기 26 내지 33, 서열번호 36의 잔기 26 내지 33 및 서열번호 40의 잔기 26 내지 33으로 이루어진 그룹으로부터 선택되고; 상기 VH CDR2 아미노산 서열은 서열번호 2의 잔기 51 내지 58, 서열번호 6의 잔기 51 내지 58, 서열번호 10의 잔기 51 내지 58, 서열번호 14의 잔기 51 내지 58, 서열번호 18의 잔기 51 내지 58, 서열번호 22의 잔기 51 내지 58, 서열번호 26의 잔기 51 내지 58, 서열번호 30의 잔기 51 내지 58, 서열번호 34의

잔기 51 내지 58, 서열번호 36의 잔기 51 내지 58 및 서열번호 40의 잔기 51 내지 58로 이루어진 그룹으로부터 선택되고; 상기 VH CDR3 아미노산 서열은 서열번호 2의 잔기 97 내지 109, 서열번호 6의 잔기 97 내지 109, 서열번호 10의 잔기 97 내지 108, 서열번호 14의 잔기 97 내지 108, 서열번호 18의 잔기 97 내지 108, 서열번호 22의 잔기 97 내지 108, 서열번호 26의 잔기 97 내지 109, 서열번호 30의 잔기 97 내지 109, 서열번호 34의 잔기 97 내지 110, 서열번호 36의 잔기 97 내지 110 및 서열번호 40의 잔기 97 내지 108로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.

[0041] 다른 실시양태에서, 본 발명은 항체 중쇄 또는 이의 기능적 단편을 코드화하는 분리된 폴리뉴클레오타이드를 제공하는데, 상기 항체 중쇄 또는 이의 기능적 단편은 가변 중쇄(VH) CDR1, VH CDR2 및 VH CDR3 아미노산 서열을 갖는 VH 도메인을 포함하고, 여기서 상기 VH CDR1 아미노산 서열은 서열번호 1의 잔기 76 내지 99, 서열번호 5의 잔기 76 내지 99, 서열번호 9의 잔기 76 내지 99, 서열번호 13의 잔기 76 내지 99, 서열번호 17의 잔기 76 내지 99, 서열번호 21의 잔기 76 내지 99, 서열번호 25의 잔기 76 내지 99, 서열번호 29의 잔기 76 내지 99, 서열번호 33의 잔기 76 내지 99, 서열번호 35의 잔기 76 내지 99 및 서열번호 39의 잔기 76 내지 99로 이루어진 그룹으로부터 선택된 핵산 서열에 의해 코드화되고; 상기 VH CDR2 아미노산 서열은 서열번호 1의 잔기 151 내지 174, 서열번호 5의 잔기 151 내지 174, 서열번호 9의 잔기 151 내지 174, 서열번호 13의 잔기 151 내지 174, 서열번호 17의 잔기 151 내지 174, 서열번호 21의 잔기 151 내지 174, 서열번호 25의 잔기 151 내지 174, 서열번호 29의 잔기 151 내지 174, 서열번호 33의 잔기 151 내지 174, 서열번호 35의 잔기 151 내지 174 및 서열번호 39의 잔기 151 내지 174로 이루어진 그룹으로부터 선택된 핵산 서열에 의해 코드화되고; 상기 VH CDR3 아미노산 서열은 서열번호 1의 잔기 289 내지 327, 서열번호 5의 잔기 289 내지 327, 서열번호 9의 잔기 289 내지 324, 서열번호 13의 잔기 289 내지 324, 서열번호 17의 잔기 289 내지 324, 서열번호 21의 잔기 289 내지 324, 서열번호 25의 잔기 289 내지 327, 서열번호 29의 잔기 289 내지 327, 서열번호 33의 잔기 289 내지 330, 서열번호 35의 잔기 289 내지 330 및 서열번호 39의 잔기 289 내지 324로 이루어진 그룹으로부터 선택된 핵산 서열에 의해 코드화된다.

[0042] 일부 실시양태에서, 본 발명은 항체 중쇄 또는 이의 기능적 단편을 코드화하는 분리된 폴리뉴클레오타이드를 제공하는데, 여기서 상기 항체 중쇄 또는 이의 기능적 단편은 클론 분리주 1B7, 2H12, 1G2, 1E9, 1H3, 2F5, 2F7, 2E12, 31F9, 31F9V2 또는 32E2의 가변 중쇄(VH) CDR1, VH CDR2 및 VH CDR3 아미노산 서열을 갖는 VH 도메인을 포함한다.

[0043] 일부 실시양태에서, 본 발명은 항체 중쇄 또는 이의 기능적 단편을 코드화하는 분리된 폴리뉴클레오타이드를 제공하는데, 상기 항체 중쇄 또는 이의 기능적 단편은 가변 중쇄(VH) 도메인을 포함하고, 여기서 상기 VH 도메인은 서열번호 2의 잔기 26 내지 33, 잔기 51 내지 58 및 잔기 97 내지 109; 서열번호 6의 잔기 26 내지 33, 잔기 51 내지 58 및 잔기 97 내지 109; 서열번호 10의 잔기 26 내지 33, 잔기 51 내지 58 및 잔기 97 내지 108; 서열번호 14의 잔기 26 내지 33, 잔기 51 내지 58 및 잔기 97 내지 108; 서열번호 18의 잔기 26 내지 33, 잔기 51 내지 58 및 잔기 97 내지 108; 서열번호 22의 잔기 26 내지 33, 잔기 51 내지 58 및 잔기 97 내지 108; 서열번호 26의 잔기 26 내지 33, 잔기 51 내지 58 및 잔기 97 내지 109; 서열번호 30의 잔기 26 내지 33, 잔기 51 내지 58 및 잔기 97 내지 109; 서열번호 34의 잔기 26 내지 33, 잔기 51 내지 58 및 잔기 97 내지 110; 서열번호 36의 잔기 26 내지 33, 잔기 51 내지 58 및 잔기 97 내지 110; 및 서열번호 40의 잔기 26 내지 33, 잔기 51 내지 58 및 잔기 97 내지 108로 이루어진 그룹으로부터 선택된 VH CDR1, VH CDR2 및 VH CDR3 아미노산 서열을 갖는다.

[0044] 다른 실시양태에서, 본 발명은 항체 중쇄 또는 이의 기능적 단편을 코드화하는 분리된 폴리뉴클레오타이드를 제공하는데, 여기서 상기 항체 중쇄 또는 이의 기능적 단편은 가변 중쇄(VH) 도메인을 포함하고, 여기서 상기 VH 도메인은 서열번호 1의 잔기 76 내지 99, 잔기 151 내지 174 및 잔기 289 내지 327; 서열번호 5의 잔기 76 내지 99, 잔기 151 내지 174 및 잔기 289 내지 327; 서열번호 9의 잔기 76 내지 99, 잔기 151 내지 174 및 잔기 289 내지 324; 서열번호 13의 잔기 76 내지 99, 잔기 151 내지 174 및 잔기 289 내지 324; 서열번호 17의 잔기 76 내지 99, 잔기 151 내지 174 및 잔기 289 내지 324; 서열번호 21의 잔기 76 내지 99, 잔기 151 내지 174 및 잔기 289 내지 324; 서열번호 25의 잔기 76 내지 99, 잔기 151 내지 174 및 잔기 289 내지 327; 서열번호 29의 잔기 76 내지 99, 잔기 151 내지 174 및 잔기 289 내지 330; 서열번호 33의 잔기 76 내지 99, 잔기 151 내지 174 및 잔기 289 내지 330; 및 서열번호 39의 잔기 76 내지 99, 잔기 151 내지 174 및 잔기 289 내지 324로 이루어진 그룹으로부터 선택된 핵산 서열에 의해 코드화된 VH CDR1, VH CDR2 및 VH CDR3 아미노산 서열을 갖는다.

[0045] 다른 실시양태에서, 본 발명은 항체 중쇄 또는 이의 기능적 단편을 코드화하는 분리된 폴리뉴클레오타이드를 제

공하는데, 상기 항체 중쇄 또는 이의 기능적 단편은 가변 중쇄(VH) 도메인을 포함하고, 여기서 상기 VH 도메인은 서열번호 2, 서열번호 6, 서열번호 10, 서열번호 14, 서열번호 18, 서열번호 22, 서열번호 26, 서열번호 30, 서열번호 34, 서열번호 36 및 서열번호 40으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는다.

[0046] 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 항체 중쇄 또는 이의 기능적 단편을 코드화하는 분리된 폴리뉴클레오타이드를 제공하는데, 상기 항체 중쇄 또는 이의 기능적 단편은 가변 중쇄(VH) 도메인을 포함하고, 여기서 상기 VH 도메인 아미노산 서열은 서열번호 1, 서열번호 5, 서열번호 9, 서열번호 13, 서열번호 17, 서열번호 21, 서열번호 25, 서열번호 29, 서열번호 33, 서열번호 35 및 서열번호 39로 이루어진 그룹으로부터 선택된 핵산 서열에 의해 코드화된다.

[0047] 일부 실시양태에서, 본 발명은 항체 경쇄 또는 이의 기능적 단편을 코드화하는 분리된 폴리뉴클레오타이드를 제공하는데, 상기 항체 경쇄 또는 이의 기능적 단편은 가변 경쇄(VL) CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3 아미노산 서열을 갖는 VL 도메인을 포함하고, 여기서 상기 VL CDR1은 서열번호 4의 잔기 27 내지 37, 서열번호 8의 잔기 27 내지 37, 서열번호 12의 잔기 27 내지 38, 서열번호 16의 잔기 27 내지 38, 서열번호 20의 잔기 27 내지 38, 서열번호 24의 잔기 27 내지 38, 서열번호 28의 잔기 27 내지 37, 서열번호 32의 잔기 27 내지 37, 서열번호 38의 잔기 27 내지 32 및 서열번호 42의 잔기 27 내지 38로 이루어진 그룹으로부터 선택되고; 상기 VL CDR2는 서열번호 4의 잔기 55 내지 57, 서열번호 8의 잔기 55 내지 57, 서열번호 12의 잔기 56 내지 58, 서열번호 16의 잔기 56 내지 58, 서열번호 20의 잔기 56 내지 58, 서열번호 24의 잔기 56 내지 58, 서열번호 32의 잔기 55 내지 57, 서열번호 38의 잔기 50 내지 52 및 서열번호 42의 잔기 56 내지 58로 이루어진 그룹으로부터 선택되고; 상기 VL CDR3는 서열번호 4의 잔기 94 내지 102, 서열번호 8의 잔기 94 내지 102, 서열번호 12의 잔기 95 내지 103, 서열번호 16의 잔기 95 내지 103, 서열번호 20의 잔기 95 내지 103, 서열번호 24의 잔기 95 내지 103, 서열번호 28의 잔기 94 내지 102, 서열번호 32의 잔기 94 내지 102, 서열번호 38의 잔기 89 내지 97 및 서열번호 42의 잔기 95 내지 103으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.

[0048] 일부 실시양태에서, 본 발명은 항체 경쇄 또는 이의 기능적 단편을 코드화하는 분리된 폴리뉴클레오타이드를 제공하는데, 상기 항체 경쇄 또는 이의 기능적 단편은 가변 경쇄(VL) CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3 아미노산 서열을 갖는 VL 도메인을 포함하고, 여기서 상기 VL CDR1은 서열번호 3의 잔기 79 내지 111, 서열번호 7의 잔기 79 내지 111, 서열번호 11의 잔기 79 내지 114, 서열번호 15의 잔기 79 내지 114, 서열번호 19의 잔기 79 내지 114, 서열번호 23의 잔기 79 내지 114, 서열번호 27의 잔기 79 내지 111, 서열번호 31의 잔기 79 내지 111, 서열번호 37의 잔기 79 내지 96 및 서열번호 41의 잔기 79 내지 114로 이루어진 그룹으로부터 선택된 핵산 서열에 의해 코드화되고; 상기 VL CDR2는 서열번호 3의 잔기 163 내지 171, 서열번호 7의 잔기 163 내지 171, 서열번호 11의 잔기 166 내지 174, 서열번호 15의 잔기 166 내지 174, 서열번호 19의 잔기 166 내지 174, 서열번호 23의 잔기 166 내지 174, 서열번호 27의 잔기 163 내지 171, 서열번호 31의 잔기 163 내지 171, 서열번호 37의 잔기 148 내지 156 및 서열번호 41의 잔기 166 내지 174로 이루어진 그룹으로부터 선택된 핵산 서열에 의해 코드화되고; 상기 VL CDR3는 서열번호 3의 잔기 280 내지 306, 서열번호 7의 잔기 280 내지 306, 서열번호 11의 잔기 283 내지 309, 서열번호 15의 잔기 283 내지 309, 서열번호 19의 잔기 283 내지 309, 서열번호 23의 잔기 283 내지 309, 서열번호 27의 잔기 280 내지 306, 서열번호 31의 잔기 280 내지 306, 서열번호 37의 잔기 265 내지 291 및 서열번호 41의 잔기 283 내지 309로 이루어진 그룹으로부터 선택된 핵산 서열에 의해 코드화된다.

[0049] 일부 실시양태에서, 본 발명은 항체 경쇄 또는 이의 기능적 단편을 코드화하는 분리된 폴리뉴클레오타이드를 제공하는데, 상기 항체 경쇄 또는 이의 기능적 단편은 클론 분리주 1B7, 2H12, 1G2, 1E9, 1H3, 2F5, 2F7, 2E12, 31F9, 31F9V2 또는 32E2의 가변 경쇄(VL) CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3 아미노산 서열을 갖는 VL 도메인을 포함한다.

[0050] 일부 실시양태에서, 본 발명은 항체 경쇄 또는 이의 기능적 단편을 코드화하는 분리된 폴리뉴클레오타이드를 제공하는데, 상기 항체 경쇄 또는 이의 기능적 단편은 가변 경쇄(VL) 도메인을 포함하고, 여기서 상기 VL 도메인은 서열번호 4의 잔기 27 내지 37, 잔기 55 내지 57 및 잔기 94 내지 102; 서열번호 8의 잔기 27 내지 37, 잔기 55 내지 57 및 잔기 94 내지 102; 서열번호 12의 잔기 27 내지 38, 잔기 56 내지 58 및 잔기 95 내지 103; 서열번호 16의 잔기 27 내지 38, 잔기 56 내지 58 및 잔기 95 내지 103; 서열번호 20의 잔기 27 내지 38, 잔기 56 내지 58 및 잔기 95 내지 103; 서열번호 24의 잔기 27 내지 38, 잔기 56 내지 58 및 잔기 95 내지 103; 서열번호 28의 잔기 27 내지 37, 잔기 55 내지 57 및 잔기 94 내지 102; 서열번호 32의 잔기 27 내지 37, 잔기 55 내지 57 및 잔기 94 내지 102; 서열번호 38의 잔기 27 내지 32, 잔기 50 내지 52 및 잔기 89 내지 97; 및 서열번호 42의 잔기 27 내지 38, 잔기 56 내지 58 및 잔기 95 내지 103으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 VL

CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3 아미노산 서열을 갖는다.

다른 실시양태에서, 본 발명은 항체 경쇄 또는 이의 기능적 단편을 코드화하는 분리된 폴리뉴클레오타이드를 제공하는데, 상기 항체 경쇄 또는 이의 기능적 단편은 가변 경쇄(VL) 도메인을 포함하고, 여기서 상기 VL 도메인은 서열번호 3의 잔기 79 내지 111, 잔기 163 내지 171 및 잔기 280 내지 306; 서열번호 7의 잔기 79 내지 111, 잔기 163 내지 171 및 잔기 280 내지 306; 서열번호 11의 잔기 79 내지 114, 잔기 166 내지 174 및 잔기 283 내지 309; 서열번호 15의 잔기 79 내지 114, 잔기 166 내지 174 및 잔기 283 내지 309; 서열번호 19의 잔기 79 내지 114, 잔기 166 내지 174 및 잔기 283 내지 309; 서열번호 23의 잔기 79 내지 114, 잔기 166 내지 174 및 잔기 283 내지 309; 서열번호 27의 잔기 79 내지 111, 잔기 163 내지 171 및 잔기 280 내지 306; 서열번호 31의 잔기 79 내지 111, 잔기 163 내지 171 및 잔기 280 내지 306; 서열번호 37의 잔기 79 내지 96, 잔기 148 내지 156 및 잔기 265 내지 291; 및 서열번호 41의 잔기 79 내지 114, 잔기 166 내지 174 및 잔기 283 내지 309로 이루어진 그룹으로부터 선택된 핵산 서열에 의해 코드화된 VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3 아미노산 서열을 갖는다.

다른 실시양태에서, 본 발명은 항체 경쇄 또는 이의 기능적 단편을 코드화하는 분리된 폴리뉴클레오타이드를 제공하는데, 상기 항체 경쇄 또는 이의 기능적 단편은 가변 경쇄(VL) 도메인을 포함하고, 여기서 상기 VL 도메인은 서열번호 4, 서열번호 8, 서열번호 12, 서열번호 16, 서열번호 20, 서열번호 24, 서열번호 28, 서열번호 32, 서열번호 38 및 서열번호 42로 이루어진 그룹으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는다.

또 다른 실시양태에서, 본 발명은 항체 경쇄 또는 이의 기능적 단편을 코드화하는 분리된 폴리뉴클레오타이드를 제공하는데, 상기 항체 경쇄 또는 이의 기능적 단편은 가변 경쇄(VL) 도메인을 포함하고, 여기서 상기 VL 도메인 아미노산 서열은 서열번호 3, 서열번호 7, 서열번호 11, 서열번호 15, 서열번호 19, 서열번호 23, 서열번호 27, 서열번호 31, 서열번호 37 및 서열번호 41로 이루어진 그룹으로부터 선택된 핵산 서열에 의해 코드화된다.

일부 실시양태에서, 본 발명은 GD2에 결합하는 분리된 항체 또는 이의 기능적 단편을 제공한다. 일부 양태에서, 상기 항체 또는 이의 기능적 단편은 도 1 내지 21에 도시된 또는 표 2에 열거된 CDR을 하나 이상 갖는다. 하나 이상의 CDR, 특히 CDR3을 포함하는 항체 또는 이의 기능적 단편은 본원에 기재된 대로 GD2에 특이적으로 결합할 수 있다. GD2로의 특이적 결합은 본원에 제공된 항체 중 임의의 것에 대해 실시예 I에 기재된 바와 같은 특이성 및 친화도를 포함할 수 있다. 일부 양태에서, 본 발명의 항체 또는 이의 기능적 단편은 본원에 기재된 클론 분리주 1B7, 2H12, 1G2, 1E9, 1H3, 2F5, 2F7, 2E12, 31F9, 31F9V2 또는 32E2 중 임의의 하나의 CDC 활성 및/또는 ADCC 활성을 포함할 수 있다.

일부 실시양태에서, 본 발명은 분리된 항체 또는 이의 기능적 단편을 제공하고, 여기서 항체는 GD2에 결합한다. 따라서, 일부 실시양태에서, 본 발명은 GD2에 결합된 분리된 항체 또는 이의 기능적 단편을 제공하는데, 상기 항체 또는 이의 기능적 단편은 가변 중쇄(VH) CDR1, VH CDR2 및 VH CDR3 아미노산 서열을 갖는 VH 도메인을 포함하고, 여기서 VH CDR1 아미노산 서열은 서열번호 2의 잔기 26 내지 33, 서열번호 6의 잔기 26 내지 33, 서열번호 10의 잔기 26 내지 33, 서열번호 14의 잔기 26 내지 33, 서열번호 18의 잔기 26 내지 33, 서열번호 22의 잔기 26 내지 33, 서열번호 26의 잔기 26 내지 33, 서열번호 30의 잔기 26 내지 33, 서열번호 34의 잔기 26 내지 33, 서열번호 36의 잔기 26 내지 33 및 서열번호 40의 잔기 26 내지 33으로 이루어진 그룹으로부터 선택되고; 상기 VH CDR2 아미노산 서열은 서열번호 2의 잔기 51 내지 58, 서열번호 6의 잔기 51 내지 58, 서열번호 10의 잔기 51 내지 58, 서열번호 14의 잔기 51 내지 58, 서열번호 18의 잔기 51 내지 58, 서열번호 22의 잔기 51 내지 58, 서열번호 26의 잔기 51 내지 58, 서열번호 30의 잔기 51 내지 58, 서열번호 34의 잔기 51 내지 58, 서열번호 36의 잔기 51 내지 58 및 서열번호 40의 잔기 51 내지 58로 이루어진 그룹으로부터 선택되고; 상기 VH CDR3 아미노산 서열은 서열번호 2의 잔기 97 내지 109, 서열번호 6의 잔기 97 내지 109, 서열번호 10의 잔기 97 내지 108, 서열번호 14의 잔기 97 내지 108, 서열번호 18의 잔기 97 내지 108, 서열번호 22의 잔기 97 내지 108, 서열번호 26의 잔기 97 내지 109, 서열번호 30의 잔기 97 내지 109, 서열번호 34의 잔기 97 내지 110, 서열번호 36의 잔기 97 내지 110 및 서열번호 40의 잔기 97 내지 108로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.

일부 실시양태에서, 본 발명은 GD2에 결합하는 분리된 항체 또는 이의 기능적 단편을 제공하는데, 상기 항체 또는 이의 기능적 단편은 가변 종쇄(VH) 도메인을 포함하고, 여기서 상기 VH 도메인은 서열번호 2의 잔기 26 내지 33, 잔기 51 내지 58 및 잔기 97 내지 109; 서열번호 6의 잔기 26 내지 33, 잔기 51 내지 58 및 잔기 97 내지 109; 서열번호 10의 잔기 26 내지 33, 잔기 51 내지 58 및 잔기 97 내지 108; 서열번호 14의 잔기 26 내지 33, 잔기 51 내지 58 및 잔기 97 내지 108; 서열번호 18의 잔기 26 내지 33, 잔기 51 내지 58 및 잔기 97 내지 108; 서열번호 22의 잔기 26 내지 33, 잔기 51 내지 58 및 잔기 97 내지 108; 서열번호 26의 잔기 26 내지 33,

잔기 51 내지 58 및 잔기 97 내지 109; 서열번호 30의 잔기 26 내지 33, 잔기 51 내지 58 및 잔기 97 내지 109; 서열번호 34의 잔기 26 내지 33, 잔기 51 내지 58 및 잔기 97 내지 110; 서열번호 36의 잔기 26 내지 33, 잔기 51 내지 58 및 잔기 97 내지 110; 및 서열번호 40의 잔기 26 내지 33, 잔기 51 내지 58 및 잔기 97 내지 108로 이루어진 그룹으로부터 선택된 VH CDR1, VH CDR2 및 VH CDR3 아미노산 서열을 갖는다.

[0057] 또 다른 양태에서, 본 발명은 GD2에 결합하는 분리된 항체 또는 이의 기능적 단편을 제공하는데, 상기 항체 또는 이의 기능적 단편은 가변 중쇄(VH) 도메인을 포함하고, 여기서 상기 VH 도메인은 서열번호 2, 서열번호 6, 서열번호 10, 서열번호 14, 서열번호 18, 서열번호 22, 서열번호 26, 서열번호 30, 서열번호 34, 서열번호 36 및 서열번호 40으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는다.

[0058] 일부 실시양태에서, 본 발명은 GD2에 결합하는 분리된 항체 또는 이의 기능적 단편을 제공하는데, 상기 항체 또는 이의 기능적 단편은 가변 경쇄(VL) 도메인을 포함하고, 여기서 상기 VL 도메인은 VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3 아미노산 서열을 갖고, 상기 VL CDR1은 서열번호 4의 잔기 27 내지 37, 서열번호 8의 잔기 27 내지 37, 서열번호 12의 잔기 27 내지 38, 서열번호 16의 잔기 27 내지 38, 서열번호 20의 잔기 27 내지 38, 서열번호 24의 잔기 27 내지 38, 서열번호 28의 잔기 27 내지 37, 서열번호 32의 잔기 27 내지 37, 서열번호 38의 잔기 27 내지 32 및 서열번호 42의 잔기 27 내지 38로 이루어진 그룹으로부터 선택되고; 상기 VL CDR2는 서열번호 4의 잔기 55 내지 57, 서열번호 8의 잔기 55 내지 57, 서열번호 12의 잔기 56 내지 58, 서열번호 16의 잔기 56 내지 58, 서열번호 20의 잔기 56 내지 58, 서열번호 24의 잔기 56 내지 58, 서열번호 28의 잔기 55 내지 57, 서열번호 32의 잔기 55 내지 57, 서열번호 38의 잔기 50 내지 52 및 서열번호 42의 잔기 56 내지 58로 이루어진 그룹으로부터 선택되고; 상기 VL CDR3는 서열번호 4의 잔기 94 내지 102, 서열번호 8의 잔기 94 내지 102, 서열번호 12의 잔기 95 내지 103, 서열번호 16의 잔기 95 내지 103, 서열번호 20의 잔기 95 내지 103, 서열번호 24의 잔기 95 내지 103, 서열번호 28의 잔기 94 내지 102, 서열번호 32의 잔기 94 내지 102, 서열번호 38의 잔기 89 내지 97 및 서열번호 42의 잔기 95 내지 103으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.

[0059] 일부 양태에서, 본 발명은 GD2에 결합하는 분리된 항체 또는 이의 기능적 단편을 제공하는데, 상기 항체 또는 이의 기능적 단편은 가변 경쇄(VL) 도메인을 포함하고, 여기서 상기 VL 도메인은 서열번호 4의 잔기 27 내지 37, 잔기 55 내지 57 및 잔기 94 내지 102; 서열번호 8의 잔기 27 내지 37, 잔기 55 내지 57 및 잔기 94 내지 102; 서열번호 12의 잔기 27 내지 38, 잔기 56 내지 58 및 잔기 95 내지 103; 서열번호 16의 잔기 27 내지 38, 잔기 56 내지 58 및 잔기 95 내지 103; 서열번호 20의 잔기 27 내지 38, 잔기 56 내지 58 및 잔기 95 내지 103; 서열번호 24의 잔기 27 내지 38, 잔기 56 내지 58 및 잔기 95 내지 103; 서열번호 28의 잔기 27 내지 37, 잔기 55 내지 57 및 잔기 94 내지 102; 서열번호 32의 잔기 27 내지 37, 잔기 55 내지 57 및 잔기 94 내지 102; 서열번호 38의 잔기 27 내지 32, 잔기 50 내지 52 및 잔기 89 내지 97; 및 서열번호 42의 잔기 27 내지 38, 잔기 56 내지 58 및 잔기 95 내지 103으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3 아미노산 서열을 갖는다.

[0060] 일부 다른 양태에서, 본 발명은 GD2에 결합하는 분리된 항체 또는 이의 기능적 단편을 제공하는데, 상기 항체 또는 이의 기능적 단편은 가변 경쇄(VL) 도메인을 포함하고, 여기서 상기 VL 도메인은 서열번호 4, 서열번호 8, 서열번호 12, 서열번호 16, 서열번호 20, 서열번호 24, 서열번호 28, 서열번호 32, 서열번호 38 및 서열번호 42로 이루어진 그룹으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는다.

[0061] 일부 실시양태에서, 본 발명은 GD2에 결합하는 분리된 항체 또는 이의 기능적 단편을 제공하는데, 상기 항체 또는 이의 기능적 단편은 가변 중쇄(VH) 도메인 및 가변 경쇄(VL) 도메인을 포함하고, 여기서 상기 VH 도메인은 서열번호 2, 서열번호 6, 서열번호 10, 서열번호 14, 서열번호 18, 서열번호 22, 서열번호 26, 서열번호 30, 서열번호 34, 서열번호 36 및 서열번호 40으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖고; 상기 VL 도메인은 서열번호 4, 서열번호 8, 서열번호 12, 서열번호 16, 서열번호 20, 서열번호 24, 서열번호 28, 서열번호 32, 서열번호 38 및 서열번호 42로 이루어진 그룹으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는다.

[0062] 일부 다른 실시양태에서, 본 발명은 GD2에 결합하는 분리된 항체 또는 이의 기능적 단편을 제공하는데, 상기 항체 또는 이의 기능적 단편은 가변 중쇄(VH) 도메인 및 가변 경쇄(VL) 도메인을 포함하고, 여기서 상기 VH 도메인 및 상기 VL 도메인은 각각 서열번호 2 및 서열번호 4; 서열번호 6 및 서열번호 8; 서열번호 10 및 서열번호 12; 서열번호 14 및 서열번호 16; 서열번호 18 및 서열번호 20; 서열번호 22 및 서열번호 24; 서열번호 26 및 서열번호 28; 서열번호 30 및 서열번호 32; 서열번호 34 및 서열번호 38; 서열번호 36 및 서열번호 38; 및 서열번호 40 및 서열번호 42로 이루어진 그룹으로부터의 아미노산 서열을 포함한다.

표 2: 클론 분리주의 CDR

가변 도메인	핵산 잔기 (서열 번호)			아미노산 서열 (서열 번호)		
	CDR1	CDR2	CDR3	CDR1	CDR2	CDR3
1B7 VH	76-99 (NO: 1)	151-174 (NO: 1)	289-327 (NO: 1)	26-33 (NO: 2)	51-58 (NO: 2)	97-109 (NO: 2)
1B7 VL	79-111 (NO: 3)	163-171 (NO: 3)	280-306 (NO: 3)	27-37 (NO: 4)	55-57 (NO: 4)	94-102 (NO: 4)
2H12 VH	76-99 (NO: 5)	151-174 (NO: 5)	289-327 (NO: 5)	26-33 (NO: 6)	51-58 (NO: 6)	97-109 (NO: 6)
2H12 VL	79-111 (NO: 7)	163-171 (NO: 7)	280-306 (NO: 7)	27-37 (NO: 8)	55-57 (NO: 8)	94-102 (NO: 8)
1G2 VH	76-99 (NO: 9)	151-174 (NO: 9)	289-324 (NO: 9)	26-33 (NO: 10)	51-58 (NO: 10)	97-108 (NO: 10)
1G2 VL	79-114 (NO: 11)	166-174 (NO: 11)	283-309 (NO: 11)	27-38 (NO: 12)	56-58 (NO: 12)	95-103 (NO: 12)
1E9 VH	76-99 (NO: 13)	151-174 (NO: 13)	289-324 (NO: 13)	26-33 (NO: 14)	51-58 (NO: 14)	97-108 (NO: 14)
1E9 VL	79-114 (NO: 15)	166-174 (NO: 15)	283-309 (NO: 15)	27-38 (NO: 16)	56-58 (NO: 16)	95-103 (NO: 16)
1H3 VH	76-99 (NO: 17)	151-174 (NO: 17)	289-324 (NO: 17)	26-33 (NO: 18)	51-58 (NO: 18)	97-108 (NO: 18)
1H3 VL	79-114 (NO: 19)	166-174 (NO: 19)	283-309 (NO: 19)	27-38 (NO: 20)	56-58 (NO: 20)	95-103 (NO: 20)
2F5 VH	76-99 (NO: 21)	151-174 (NO: 21)	289-324 (NO: 21)	26-33 (NO: 22)	51-58 (NO: 22)	97-108 (NO: 22)
2F5 VL	79-114 (NO: 23)	166-174 (NO: 23)	283-309 (NO: 23)	27-38 (NO: 24)	56-58 (NO: 24)	95-103 (NO: 24)
2F7 VH	76-99 (NO: 25)	151-174 (NO: 25)	289-327 (NO: 25)	26-33 (NO: 26)	51-58 (NO: 26)	97-109 (NO: 26)
2F7 VL	79-111 (NO: 27)	163-171 (NO: 27)	280-306 (NO: 27)	27-37 (NO: 28)	55-57 (NO: 28)	94-102 (NO: 28)
2E12 VH	76-99 (NO: 29)	151-174 (NO: 29)	289-327 (NO: 29)	26-33 (NO: 30)	51-58 (NO: 30)	97-109 (NO: 30)
2E12 VL	79-111 (NO: 31)	163-171 (NO: 31)	280-306 (NO: 31)	27-37 (NO: 32)	55-57 (NO: 32)	94-102 (NO: 32)
31F9 VH	76-99 (NO: 33)	151-174 (NO: 33)	289-330 (NO: 33)	26-33 (NO: 34)	51-58 (NO: 34)	97-110 (NO: 34)
31F9V2 VH	76-99 (NO: 35)	151-174 (NO: 35)	289-330 (NO: 35)	26-33 (NO: 36)	51-58 (NO: 36)	97-110 (NO: 36)
31F9 VL	79-96 (NO: 37)	148-156 (NO: 37)	265-291 (NO: 37)	27-32 (NO: 38)	50-52 (NO: 38)	89-97 (NO: 38)
32E2 VH	76-99 (NO: 39)	151-174 (NO: 39)	289-324 (NO: 39)	26-33 (NO: 40)	51-58 (NO: 40)	97-108 (NO: 40)
32E2 VL	79-114 (NO: 41)	166-174 (NO: 41)	283-309 (NO: 41)	27-38 (NO: 42)	56-58 (NO: 42)	95-103 (NO: 42)

[0063]

다른 실시양태에서, 본 발명은 본원에 제공된 폴리뉴클레오타이드의 변이체를 제공한다. 폴리뉴클레오타이드에 대해 사용되는 경우 변이체는 메틸화 뉴클레오타이드 또는 뉴클레오타이드 유사체와 같은(이에 한정되지 않음) 하나 이상의 변형된 뉴클레오타이드를 갖는 폴리뉴클레오타이드를 포함한다. 추가로, 변이체 폴리뉴클레오타이드는 비-뉴클레오타이드 성분이 사이에 끈 폴리뉴클레오타이드를 포함할 수 있다. 폴리뉴클레오타이드에 대한 변형은 당해 분야의 기술자에게 잘 알려진 방법을 사용하여 폴리뉴클레오타이드의 조립 전 또는 후에 부여할 수 있다. 예를 들어, 폴리뉴클레오타이드는 중합 후에 효소적 또는 화학적 기술을 사용하여 표지화 성분과 결합시킴으로써 변형시킬 수 있다(예를 들어, "Gottfried and Weinhold, 2011, *Biochem. Soc. Trans.*, 39(2):523-628; Paredes et al., 2011, *Methods*, 54(2):251-259"에 기재되어 있는 대로).

[0065]

당해 분야에 잘 알려진 임의의 방법에 의해 폴리뉴클레오타이드가 수득될 수 있고 폴리뉴클레오타이드의 뉴클레오타이드 서열이 결정될 수 있다. 1B7, 2H12, 1G2, 1E9, 1H3, 2F5, 2F7, 2E12, 31F9, 31F9V2 및 32E2의 가변 중쇄 및 경쇄 도메인의 아미노산 서열이 공지되어 있기 때문에(예를 들어, 서열번호 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42 참조), 항체 및 이들 항체의 변형된 형태를 코드화하는 뉴클레오타이드 서열은 당해 분야에 잘 알려진 방법을 사용하여 결정할 수 있는데, 즉 특별한 아미노산을 코드화하는 것으로 알려진 뉴클레오타이드 코돈을, 항체를 코드화하는 핵산을 생성하도록 조립한다. 항체를 코드화하는 이러한 폴리뉴클레오타이드는 화학적으로 합성된 올리고뉴클레오타이드로부터 조작할 수 있고(예를 들어, "Kutmeier et al., 1994, *BioTechniques* 17:242"에 기재되어 있는 대로), 이는 간단히 말하면 항체, 단편 또는 이의 변이체를 코드화하는 서열 부분을 함유하는 겹치는 올리고뉴클레오타이드의 합성, 이러한 올리고뉴클레오타이드의 어닐링 및 결찰, 및 이어서 결찰된 올리고뉴클레오타이드의 PCR에 의한 증폭을 포함한다.

[0066]

본 발명의 항체 또는 이의 기능적 단편을 코드화하는 폴리뉴클레오타이드는 분리주 1B7, 2H12, 1G2, 1E9, 1H3, 2F5, 2F7, 2E12, 31F9, 31F9V2 또는 32E2의 가변 중쇄 및/또는 경쇄 도메인의 핵산 서열(예를 들어, 서열번호 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39 및 41)을 사용하여 생성시킬 수

있다. 항체 또는 이의 기능적 단편을 코드화하는 핵산은 그 서열의 3' 및 5' 엔드에 하이브리드화될 수 있는 합성 프라이머를 사용한 PCR 증폭에 의해 또는 특별한 핵산 서열에 특이적인 올리고뉴클레오타이드 프로브를 사용한 클론화에 의해 화학적으로 합성되거나 적합한 공급원(예를 들어, 항체 또는 이의 기능적 단편을 발현하기 위해 선택된 하이브리도마 세포와 같은, 항체 또는 이의 기능적 단편을 발현하는 세포로부터 분리된 cDNA)으로부터 수득할 수 있다. 이어서, PCR에 의해 생성된 증폭된 핵산을 당해 분야에 잘 알려진 임의 방법을 사용하여 복제가능한 클론화 벡터내로 클론화할 수 있다.

[0067] 본 발명의 일부 양태에서, 분리된 항체 또는 이의 기능적 단편은 단클론 항체이다. 본 발명의 일부 양태에서, 본원에 제공된 분리된 항체 또는 이의 기능적 단편은 IgG 또는 IgM 아이소타입이다. 본 발명의 추가의 양태에서, 항체 또는 이의 기능적 단편은 IgG1 서브클래스의 항체이다.

[0068] 일부 실시양태에서, 본 발명은 본 발명의 항체 또는 이의 기능적 단편의 제조방법을 제공한다. 본 발명의 방법은 본 발명의 폴리뉴클레오타이드를 숙주 세포에 도입하고, 상기 숙주 세포를, 본 발명의 항체 또는 이의 기능적 단편의 코드화된 중쇄 및/또는 경쇄를 생성시키는 조건하에 이를 생성시키는 충분한 시간 동안 배양하고, 항체 또는 이의 기능적 단편의 중쇄 및/또는 경쇄를 정제함을 포함할 수 있다. 다른 실시양태에서, 본 발명은 본 발명의 항체 또는 이의 기능적 단편을 코드화하는 폴리뉴클레오타이드를 갖는 재조합 세포를 제공한다. 일부 양태에서, 항체 또는 이의 기능적 단편은 지정된 항체 1B7, 2H12, 1G2, 1E9, 1H3, 2F5, 2F7, 2E12, 31F9, 31F9V2 또는 32E2의 가변 중쇄 도메인 및 가변 경쇄 도메인을 갖는다.

[0069] GD2 항원에 결합하는 본 발명의 항체 또는 이의 기능적 단편의 재조합 발현은 본 발명의 항체 또는 이의 기능적 단편의 중쇄 및/또는 경쇄를 코드화하는 폴리뉴클레오타이드를 함유하는 발현 벡터의 구성을 포함할 수 있다. 일단 본 발명의 항체 또는 이의 기능적 단편(바람직하게는 중쇄 및/또는 경쇄 가변 도메인을 함유하나, 필수적인 것은 아님)을 코드화하는 폴리뉴클레오타이드가 수득되면, 당해 분야에 잘 알려진 기술을 사용하여 재조합 DNA 기술로 항체 또는 이의 기능적 단편의 제조를 위한 벡터를 제조할 수 있다. 항체 또는 이의 기능적 단편 코드화 뉴클레오타이드 서열을 함유하는 폴리뉴클레오타이드를 발현함으로써 단백질을 제조하는 방법이 본원에 기재되어 있다.

[0070] 당해 분야의 기술자에게 잘 알려진 방법을 사용하여 항체 또는 이의 기능적 단편 코드화 서열을 함유하는 발현 벡터 및 적합한 전사 및 번역 조절 시그널을 구성할 수 있다. 이러한 방법은, 예를 들어, 시험관내 재조합 DNA 기술, 합성 기술 및 생체내 유전적 재조합을 포함한다. 따라서, 본 발명은 작동가능하게 촉진자에 연결된 본 발명의 항체 또는 이의 기능적 단편을 코드화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 복제가능한 벡터를 제공한다. 이러한 벡터는 항체 분자의 불변 부위를 코드화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함할 수 있고(예를 들어, 국제 공개공보 WO 86/05807 및 WO 89/01036, 및 미국 특허 제 5,122,464호 참조), 항체의 가변 도메인은 중쇄 전체, 경쇄 전체, 또는 중쇄 전체와 경쇄 전체 둘 다의 발현을 위해 이러한 벡터내로 클론화될 수 있다.

[0071] 발현 벡터는 통상의 기술로 숙주 세포로 이동시킬 수 있고, 이어서 감염된 세포를 통상의 기술로 배양하여 본 발명의 항체 또는 이의 기능적 단편을 제조할 수 있다. 따라서, 본 발명은 작동가능하게 이종 촉진자에 연결된 본 발명의 항체 또는 이의 기능적 단편을 코드화하는 폴리뉴클레오타이드를 함유하는 숙주 세포를 포함한다. 이 중쇄 항체의 발현을 위한 일부 실시양태에서, 중쇄 및 경쇄 둘 다를 코드화하는 벡터는, 아래에 상세히 기재한 바와 같이, 전체 면역글로불린 분자의 발현을 위해 숙주 세포에서 공동 발현될 수 있다.

[0072] 다양한 숙주 발현 벡터 시스템을 사용하여 본 발명의 항체 또는 이의 기능적 단편을 발현할 수 있다(예를 들어, 미국 특허 제5,807,715호 참조). 이러한 숙주 발현 시스템은 비히클(이것에 의해 관심있는 코드화 서열이 생산되고, 후속적으로 정제될 수 있다)을 나타내나, 또한 적합한 뉴클레오타이드 코드화 서열로 형질전환시키거나 감염되는 경우, 원 위치(*in situ*)에 본 발명의 항체 분자를 발현할 수 있는 세포를 또한 나타낸다. 이들은 항체 코드화 서열을 함유하는 재조합 박테리오파지 DNA, 플라스미드 DNA 또는 코스미드 DNA 발현 벡터로 형질전환된 세균(예를 들어, *E. coli* 및 *B. subtilis*); 항체 코드화 서열을 함유하는 재조합 이스트 발현 벡터로 형질전환된 이스트(예를 들어, *Saccharomyces Pichia*); 항체 코드화 서열을 함유하는 재조합 바이러스 발현 벡터(예를 들어, 배콜로바이러스)로 감염된 곤충 세포 시스템; 항체 코드화 서열을 함유하는 재조합 바이러스 발현 벡터(예를 들어, 컬리플라워 모자이크 바이러스(*cauliflower mosaic virus*: CaMV); 담배 모자이크 바이러스(*tobacco mosaic virus*: TMV)로 감염된 또는 재조합 플라스미드 발현 벡터(예를 들어, *Ti* 플라스미드)로 형질전환된 식물 세포 시스템; 또는 포유동물 세포의 게놈으로부터 유도된 촉진자(예를 들어, 메탈로티오네인(metallothionein) 촉진자) 또는 포유동물 바이러스로부터 유도된 촉진자(예를 들어, 아데노바이러스 후기 촉진자; 우두 바이러스 7.5K 촉진자)를 함유하는 재조합 발현 구성을 갖는 포유동물 세포 시스템(예를 들어, COS,

CHO, BHK, 293, NS0 및 3T3 세포)과 같은 미생물을 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 일부 양태에서, 특히 전체 재조합 항체의 발현을 위하여 대장균과 같은 세균성 세포, 또는 진핵세포가 재조합 항체 또는 기능적 단편의 발현을 위해 사용된다. 예를 들어, 사람 시토메갈로바이러스로부터의 주요 조기발현유전자 촉진자 요소와 같은 벡터와 함께, 중국 햄스터 난소세포(CHO)와 같은 포유동물 세포는 항체에 대한 효과적인 발현 시스템이다 (Foecking et al., 1986, *Gene* 45:101; and Cockett et al., 1990, *Bio/Technology* 8:2). 일부 실시양태에서, 본 발명의 항체 또는 이의 단편은 CHO 세포내에서 생산된다. 한 실시양태에서, GD2에 결합하는 본 발명의 항체 또는 이의 기능적 단편을 코드화하는 뉴클레오타이드 서열의 발현은 구성 촉진자, 유도 촉진자 또는 조작 특이적 촉진자에 의해 조절된다.

[0073] 세균 시스템에서, 다수의 발현 벡터가, 발현되는 항체 분자에 의도된 용도에 따라 유리하게 선택될 수 있다. 예를 들어, 이러한 항체가 다량 생산되는 경우, 항체 분자의 약체학적 조성물의 생산을 위해, 쉽게 정제되는 융합 단백질 생성물의 고도 발현을 지시하는 벡터가 바람직할 수 있다. 이러한 벡터는 항체 코드화 서열이 lac Z 코드화 부위를 갖는 프레임의 벡터에 개별적으로 결합되어 융합 단백질을 생산할 수 있는 *E. coli* 발현 벡터 pUR278(Ruther et al., 1983, *EMBO* 12:1791); pIN 벡터(Inouye & Inouye, 1985, *Nucleic Acids Res.* 13:3101-3109; Van Heeke & Schuster, 1989, *J. Biol. Chem.* 24:5503-5509) 등을 포함하나, 이에 한정되지 않는다. pGEX 벡터가 또한 글루타티온 5-트랜스퍼라제(GST)와의 융합 단백질로서 이종 폴리펩타이드를 발현하는데 사용될 수 있다. 일반적으로, 이러한 융합 단백질은 가용성이고 용해된 세포로부터 흡착 및 매트릭스 글루타티온 아가로스 비즈로의 결합, 이어서 유리 글루타티온의 존재에서의 용출에 의해 쉽게 정제될 수 있다. pGEX 벡터는 트롬빈 또는 인자 Xa 프로테아제 분열 부위를 포함하도록 디자인되어 클론화된 표적 유전자 생성물이 GST 잔기로부터 방출될 수 있다.

[0074] 곤충 시스템에서, *Autographa californica* 핵 다면체형성 바이러스(*Autographa californica* nuclear polyhedrosis virus: AcNPV)가 이종 유전자를 발현하기 위한 벡터로서 사용된다. 상기 바이러스는 *Spodoptera frugiperda* 세포에서 성장한다. 항체 또는 이의 기능적 단편을 코드화하는 서열은 개별적으로 상기 바이러스의 비필수 부위(예를 들어, 폴리헤드린 유전자) 내로 클론화할 수 있고 AcNPV 촉진자(예를 들어, 폴리헤드린 촉진자)의 조절하에 둘 수 있다.

[0075] 포유동물 숙주 세포에서, 다수의 바이러스 기초한 발현 시스템을 사용할 수 있다. 아데노바이러스가 발현 벡터로서 사용된 경우, 관심있는 항체 코드화 서열을 아데노바이러스 전사/번역 조절 복합체, 예를 들어, 후기 촉진자 및 셋으로 나뉜 리더 서열에 결합할 수 있다. 이어서 이 키메릭 유전자를 시험관내 또는 생체내 재조합에 의해 아데노바이러스 계놈에 삽입할 수 있다. 상기 바이러스 계놈의 비필수 부위(예를 들어, 부위 E1 또는 E3)로의 삽입으로 재조합 바이러스가 생존가능하고 감염된 숙주에서 항체 분자를 발현할 수 있을 것이다(예를 들어, "Logan & Shenk, 1984, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 81:355-359" 참조). 특이적 개시 시그널이 또한 삽입된 항체 코드화 서열의 효과적인 번역에 사용될 수 있다. 이를 시그널은 ATG 개시 코돈 및 인접한 서열을 포함한다. 또한, 개시 코돈은 전제 삽입물을 번역하기 위해 목적한 코드화 서열의 판독 프레임을 갖는 단계에 있을 것이다. 이들 외인성 번역 조절 시그널 및 개시 코돈은 천연 및 합성 둘 다의 다양한 기원을 가질것이다. 적합한 전사 증진자 요소, 전사 종결자 등을 포함시켜 발현 효율을 증가시킬 수 있다(예를 들어, "Bittner et al., 1987, *Methods in Enzymol.* 153:51-544" 참조).

[0076] 또한, 삽입된 서열의 발현을 조절하거나, 목적한 특정 방식으로 유전자 생성물을 변형시키고 가공하는 숙주 세포주를 선택할 수 있다. 단백질 생성물의 이러한 변형(예를 들어, 글리코실화) 및 가공(예를 들어, 분열)은 항체 또는 기능적 단편의 기능에 중요할 수 있다. 상이한 숙주 세포는 단백질 및 유전자 생성물의 후-번역 가공 및 변형을 위한 특징 및 특정 메카니즘을 갖는다. 발현된 이종 단백질의 변형 및 가공이 정확하게 되도록 적합한 세포주 또는 숙주 시스템을 선택할 수 있다. 이 목적을 위해, 유전자 생성물의 일차 전사, 글리코실화 및 포스포릴화의 적합한 가공을 위한 세포 시스템을 갖는 진핵 숙주 세포를 사용할 수 있다. 이러한 포유동물 숙주 세포는 CHO, VERY, BHK, Hela, COS, MDCK, 293, 3T3, W138, BT483, Hs578T, HTB2, BT20 및 T47D, NS0(어떠한 면역글로불린 쇄도 내생적으로 발생되지 않는 뮤린 골수종 세포주), CRL7030 및 Hs78Bst 세포를 포함하나, 이에 한정되지 않는다.

[0077] 재조합 단백질의 장시간 고수율 생산의 경우, 안정한 발현이 바람직하다. 예를 들어, 본 발명의 항체 또는 이의 기능적 단편을 안정하게 발현하는 세포주가 제작될 수 있다. 복제의 바이러스 기원을 함유하는 발현 벡터를 사용하기보다는, 숙주 세포를 적합한 발현 조절 요소(예를 들어, 촉진자, 증진자, 서열, 전사 종결자, 폴리아데닐화 부위 등)에 의해 조절된 DNA 및 선택가능한 마커로 변형시킬 수 있다. 이종 DNA의 도입 후, 제작된 세포를 영양강화 배지에서 1 내지 2일 동안 성장시킨 다음, 선택 배지로 바꾼다. 재조합 플라스미드내의 선택가능한 마

커는 선택에 대한 내성을 부여하고, 세포가 플라스미드를 세포의 염색체내로 안전하게 통합시키고 성장하도록 하여 결국 클론화되고 세포주로 확대될 수 있는 부위를 형성한다. 이 방법은 항체 분자를 발현하는 세포주를 제작하는데 유리하게 사용될 수 있다.

[0078] 각각 tk-, hgprt- 또는 aprt-세포에 사용될 수 있는, 단순 헤르페스 바이러스 티미딘 키나제(Wigler et al., 1977, *Cell* 11:223), 하이포잔틴구아닌 포스포리보실트랜스퍼라제(Szybalska & Szybalski, 1992, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89:202) 및 아데닌 포스포리보실트랜스퍼라제(Lowy et al., 1980, *Cell* 22:8-17) 유전자를 포함한, 그러나 이에 한정되지 않는, 다수의 선택 시스템을 사용할 수 있다. 또한, 항대사물질 내성이 다음 유전자에 대한 선택의 기초로 사용될 수 있다: 메토트렉세이트에 내성을 부여하는 *dhfr*(Wigler et al., 1980, *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 77(6):3567-70; O'Hare et al., 1981, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 78:1527); 글루타메이트 및 암모니아를 이용한 글루타민의 생합성을 책임지는 효소인 글루타민 합성효소(glutamine synthetase: GS)(Bebbington et al., 1992, *Biootechnology* 10:169); 마이코페놀산에 내성을 부여하는 *gpt*(Mulligan & Berg, 1981, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 78:2072); 아미노글리코사이드 G-418에 내성을 부여하는 *neo*(Wu and Wu, 1991, *Biotherapy* 3:87-95; Tolstoshev, 1993, *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 32:573-596; Mulligan, 1993, *Science* 260:926-932; Morgan and Anderson, 1993, *Ann. Rev. Biochem.* 62:191-217; May, 1993, *TIB TECH* 11(5):155-215); 및 하이그로마이신에 내성을 부여하는 *hygro*(Santerre et al., 1984, *Gene* 30:147). 일상적으로 재조합 DNA 기술 분야에서 잘 알려진 방법을 목적한 재조합 클론을 선택하는 데에 사용할 수 있고, 이러한 방법은, 예를 들어, 전문이 본원에 원용된 "Ausubel et al. (eds.), *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons, NY (1993); Kriegler, *Gene Transfer and Expression*, A Laboratory Manual, Stockton Press, NY (1990); Chapters 12 and 13, Dracopoli et al. (eds.), *Current Protocols in Human Genetics*, John Wiley & Sons, NY (1994); Colberre-Garapin et al., 1981, *J. Mol. Biol.* 150:1"에 기재되어 있다.

[0079] 항체 분자의 발현 수준은 벡터 증폭에 의해 증가될 수 있다(검토를 위해, "Bebbington and Hentschel, The use of vectors based on gene amplification for the expression of cloned genes in mammalian cells in DNA cloning, Vol. 3 (Academic Press, New York, 1987)" 참조). 항체 또는 이의 기능적 단편을 발현하는 벡터 시스템에서 마커가 증폭가능한 경우, 숙주 세포의 배지에 존재하는 억제제의 수준 증가는 마커 유전자의 복제물의 수를 증가시킬 것이다. 증폭된 부위는 항체 유전자와 관련되기 때문에, 항체의 생산이 또한 증가될 것이다(Crouse et al., 1983, *Mol. Cell. Biol.* 3:257).

[0080] 숙주 세포는 본 발명의 2개의 발현 벡터로 공동 감염될 수 있는데, 첫 번째 벡터는 중쇄 유도된 폴리펩타이드를 코드화하고, 두 번째 벡터는 경쇄 유도된 폴리펩타이드를 코드화한다. 상기 두 벡터는 중쇄 및 경쇄 폴리펩타이드를 똑같이 발현할 수 있는 동일한 선택가능한 마커를 함유할 수 있다. 대안으로, 중쇄 및 경쇄 폴리펩타이드 둘 다를 코드화하고 발현할 수 있는 단일 벡터를 사용할 수 있다. 이러한 상황에서, 경쇄가 중쇄 앞에 위치하여 과잉의 독성 유리 중쇄를 방지할 수 있다(Proudfoot, 1986, *Nature* 322:52; Kohler, 1980, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77:2197-2199). 중쇄 및 경쇄에 대한 코드화 서열은 cDNA 또는 게놈 DNA를 포함할 수 있다.

[0081] 추가로, 본 발명의 항체 또는 이의 기능적 단편의 중쇄 및/또는 경쇄를 코드화하는 폴리뉴클레오타이드를 당해 분야에 잘 알려진 기술을 사용하여 코돈 최적화시켜 목적한 숙주 세포내에서 본 발명의 항체 또는 이의 기능적 단편의 최적화된 발현을 달성할 수 있다. 예를 들어, 코돈 최적화의 한 방법에서, 자연 코돈(native codon)은 유전자의 참조 세트로부터의 가장 흔한 코돈으로 치환되고, 여기서 각 아미노산에 대한 코돈 번역 비율은 높게 계획된다. 본 발명의 항체 또는 기능적 단편의 중쇄 및/또는 경쇄에 적용할 수 있는, 목적한 단백질의 발현을 위해 최적화된 폴리뉴클레오타이드를 생성시키는 추가의 예시적 방법이 "Kanaya et al., *Gene*, 238:143-155 (1999); Wang et al., *Mol. Biol. Evol.*, 18(5):792-800 (2001)", 미국 특허 제5,795,737호, 미국 공보 2008/0076161 및 WO 2008/000632에 기재되어 있다.

[0082] 일단 본 발명의 항체 분자가 재조합 발현에 의해 생성되면, 이를 면역글로불린 분자의 정제에 대해 당해 분야에 알려진 임의의 방법으로, 예를 들어, 크로마토그래피(예를 들어, 이온 교환, 친화도, 특히 단백질 A 다음의 특정 항원에 대한 친화도, 및 사이징 컬럼 크로마토그래피), 원심분리, 차등 용해도 또는 단백질 정제를 위한 기타 임의의 표준 기술로 정제할 수 있다. 또한, 본 발명의 항체 또는 이의 기능적 단편을, 정제를 용이하게 하기 위해 본원에 제공된 또는 당해 분야에 공지된 이종 폴리펩타이드 서열에 융합시킬 수 있다. 예를 들어, 본 발명의 항체 또는 이의 기능적 단편은 무엇보다도 시판중인 폴리히스티딘 태그(His-태그), FLAG-태그, 헤마글루티닌 태그(HA-태그) 또는 myc-태그를 재조합적으로 첨가하고 당해 분야의 기술자에게 잘 알려진 정제 방법을 사용함

으로써 정제할 수 있다.

[0083] 일부 실시양태에서, 본 발명의 항체 기능적 단편은 Fab, Fab', F(ab')₂, Fabc, scFV, 디아바디, 트리아바디, 미니바디 또는 단일 도메인 항체(single-domain antibody: sdAB)일 수 있으나, 이에 한정되지 않는다. 항체 및 이의 기능적 단편에 대해, 다양한 형태, 변화(alteration) 및 변형이 당해 분야에 잘 알려져 있다. 본 발명의 GD2 특이적 항체 단편은 이러한 다양한 항체 형태, 변화 및 변형을 포함할 수 있다. 이러한 다양한 형태 및 용어의 예는 당해 분야에 알려져 있고 아래에 제시되는 바와 같다.

[0084] Fab 단편은 VL, VH, CL 및 CH1 도메인으로 이루어진 1가 단편을 말하고; F(ab')₂ 단편은 2개의 Fab 단편이 한지부위에서 다이설파이드 브릿지에 의해 연결되어 있는 2가 단편이며; Fd 단편은 VH 및 CH1 도메인으로 이루어지고; Fv 단편은 항체의 단일 암(arm)의 VL 및 VH 도메인으로 이루어지고; dAb 단편(Ward et al., *Nature* 341:544-546, (1989))은 VH 도메인으로 이루어진다.

[0085] 항체는 하나 이상의 결합 부위를 가질 수 있다. 만약 결합 부위가 하나보다 많다면, 결합 부위는 서로 동일할 수 있거나 상이할 수 있다. 예를 들어, 자연 발생적으로 생기는 면역글로불린은 2개의 동일한 결합 부위를 갖고, 단쇄 항체 또는 Fab 단편은 하나의 결합 부위를 갖는 반면, "이중특이" 또는 "이작용성" 항체는 2개의 상이한 결합 부위를 갖는다.

[0086] 단쇄 항체(scFv)는 VL 및 VH 부위가 링커(예를 들어, 아미노산 잔기의 합성 서열)를 통해 연결되어 연속 폴리펩타이드쇄를 생성하는 항체로서, 여기서 상기 링커는 단백질쇄 자체가 다시 폴딩(folding)되어 1가 항원 결합 부위를 생성할만큼 충분히 길다(예를 들어, "Bird et al., *Science* 242:423-26 (1988); Huston et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:5879-83 (1988)" 참조). 디아바디는 2개의 폴리펩타이드쇄를 포함하는 2가 항체를 말하는데, 여기서 각각의 폴리펩타이드쇄는 링커에 의해 연결된 VH 및 VL 도메인을 포함하는데, 상기 링커는 동일쇄 상의 2개의 도메인을 페어링(pairing)하기에는 너무 짧아서 각각의 도메인이 다른 폴리펩타이드쇄 상의 상보적 도메인과 페어링되도록 한다(예를 들어, "Holliger et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:6444-48 (1993); Poljak et al., *Structure* 2:1121-23 (1994)" 참조). 만약 디아바디의 2개의 폴리펩타이드쇄가 동일하다면, 이들 쇄의 페어링으로부터 생성된 디아바디는 2개의 동일한 항원 결합 부위를 가질 것이다. 상이한 서열을 갖는 폴리펩타이드쇄가 2개의 상이한 항원 결합 부위를 갖는 디아바디를 만드는 데에 사용될 수 있다. 유사하게, 트리아바디 및 테트라바디는 각각 3개 및 4개의 폴리펩타이드쇄를 포함하고 각각 동일하거나 상이할 수 있는 3개 및 4개의 항원 결합 부위를 생성시키는 항체이다.

[0087] 본 발명은 또한 GD2에 결합하는, 1B7, 2H12, 1G2, 1E9, 1H3, 2F5, 2F7, 2E12, 31F9, 31F9V2 및 32E2의 유도체인 항체 또는 이의 기능적 단편을 제공한다. 예를 들어, 아미노산 치환을 야기하는 PCR 매개된 돌연변이 생성 및 부위 특이적 돌연변이 생성을 비롯하여 당해 분야의 기술자에게 잘 알려진 표준 기술을 본 발명의 항체 또는 이의 기능적 단편을 코드화하는 뉴클레오타이드 서열에서 돌연변이를 도입하는 데에 사용할 수 있다. 일부 양태에서, 상기 유도체는 원래 분자에 비해 25 미만의 아미노산 치환, 20 미만의 아미노산 치환, 15 미만의 아미노산 치환, 10 미만의 아미노산 치환, 5 미만의 아미노산 치환, 4 미만의 아미노산 치환, 3 미만의 아미노산 치환, 또는 2 미만의 아미노산 치환을 포함한다.

[0088] 일부 실시양태에서, 본 발명은 자연 발생적으로 생기는 아미노산, 보존적 치환, 자연 발생적으로 생기지 않는 아미노산, 아미노산 유사체 및 모사체의 변형된 형태를 갖는 항체 또는 이의 기능적 단편(항체 또는 이의 기능적 단편이 본원에 정의된 바와 같은 기능적 활성을 유지하는 한)을 제공한다. 한 실시양태에서, 상기 유도체는 하나 이상의 예측된 비필수 아미노산 잔기에서 보존적 아미노산 치환이 일어난다. 보존적 아미노산 치환은 아미노산 잔기가 유사한 전하를 갖는 측쇄를 갖는 아미노산 잔기로 대체된 것이다. 유사한 전하를 갖는 측쇄를 갖는 아미노산 잔기군은 당해 분야에 정의되어 있다. 이들 군은 염기성 측쇄(예를 들어, 리신, 아르기닌, 히스티닌), 산성 측쇄(예를 들어, 아스파르트산, 글루탐산), 하전되지 않은 극성 측쇄(예를 들어, 글리신, 아스파라긴, 글루타민, 세린, 트레오닌, 티로신, 시스테인), 비극성 측쇄(예를 들어, 알라닌, 발린, 류신, 이소류신, 프롤린, 페닐알라닌, 메티오닌, 트립토판), 베타-분지된 측쇄(예를 들어, 트레오닌, 발린, 이소류신) 및 방향족 측쇄(예를 들어, 티로신, 페닐알라닌, 트립토판, 히스티딘)를 갖는 아미노산을 포함한다. 대안으로, 코드화 서열의 전부 또는 일부를 따라 돌연변이가, 예를 들어, 포화 돌연변이에 의해 무작위로 도입될 수 있고, 생성된 돌연변이체를 생물학적 활성에 따라 선별하여 활성을 유지하는 돌연변이체를 확인할 수 있다. 돌연변이 후, 코드화된 항체 또는 이의 기능적 단편이 발현될 수 있고 항체 또는 기능적 단편의 활성을 측정할 수 있다.

[0089] 일부 실시양태에서, 본 발명은 본 발명의 항체 또는 기능적 단편에 함유된 Fc 단편이 푸코실화, 갈락토실화 및/

또는 시알릴화로 변형된 항체 또는 이의 기능적 단편을 제공한다. Fc 단편의 이러한 변형은 "Peipp et al., *Blood*, 112(6):2390-2399 (2008)"에 논의된 바와 같이 Fc 수용체 매개된 활성을 달성할 수 있다. 예를 들어, Fc N-글리칸으로부터의 코어 푸코오스(fucose) 잔기가 결핍된 글리코 조작된(glycoengineered) 치료학적 항체는 푸코실화된 것에 비해 더 낮은 농도에서 훨씬 높은 효능으로 강한 ADCC를 나타낸다(Shields et al., *J. Biol. Chem.*, 277(30):26733-40 (2002); Okazaki et al., *J. Mol. Biol.*, 336:1239-1249 (2004); Natsume et al., *J. Immunol. Methods*, 306:93-103 (2005)). 항체 또는 이의 기능적 단편의 푸코실화, 갈락토실화 및/또는 시알릴화 변형 방법은 당해 분야에 잘 알려져 있다. 예를 들어, 데푸코실화(defucosylation) 방법을 "Yamane-Ohnuki et al., *MAbs*, 1(3):230-236 (2009)"에 기재된 대로, 다음 3개의 방법으로 분류할 수 있다: (1) 비포유동물 세포의 N-글리코실화 경로의 "인간화" 비푸코실화 경로로의 전환; (2) 포유동물 세포의 N-글리칸 푸코실화 경로의 불활성화 및 (3) 비푸코실화 N-당단백의 시험관내 화학적 합성 또는 N-글리칸의 비푸코실화 형태로의 효소적 변형. 이들 방법 중 임의의 하나 또는 당해 분야의 잘 알려진 기타 임의의 방법을 푸코실화, 갈락토실화 및/또는 시알릴화로 변형된 항체 또는 이의 기능적 단편을 제조하는 데에 사용할 수 있는 것으로 생각된다.

[0090]

GD2에 결합하는, 본 발명의 항체 또는 이의 기능적 단편은 항체 합성을 위해 당해 분야에 알려진 임의의 방법에 의해, 특히 화학적 합성 또는 재조합 발현 기술에 의해 제조될 수 있다. 본 발명의 실행에는, 달리 지시된 것이 없는 한, 분자 생물학, 미생물학, 유전 분석, 재조합 DNA, 유기화학, 생화학, PCR, 올리고뉴클레오타이드 합성 및 변형, 핵산 하이브리드화 및 당해 분야의 기술 내의 관련 분야에서의 통상의 기술을 이용한다. 이러한 기술은 본원에 인용된 참조문헌에 기재되어 있고 상기 문헌에 상세히 설명되어 있다. 예를 들어, 각각의 전문이 본원에 원용된 "Maniatis et al. (1982) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press; Sambrook et al. (1989), *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Second Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press; Sambrook et al. (2001) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY; Ausubel et al., *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons (1987 and annual updates); *Current Protocols in Immunology*, John Wiley & Sons (1987 and annual updates) Gait (ed.)(1984) *Oligonucleotide Synthesis: A Practical Approach*, IRL Press; Eckstein (ed.)(1991) *Oligonucleotides and Analogues: A Practical Approach*, IRL Press; Birren et al. (eds.)(1999) *Genome Analysis: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press; Borrebaeck (ed.)(1995) *Antibody Engineering*, Second Edition, Oxford University Press; Lo (ed.)(2006) *Antibody Engineering: Methods and Protocols* (Methods in Molecular Biology); Vol. 248, Humana Press, Inc"를 참조한다.

[0091]

단클론 항체는 하이브리도마 및 재조합 기술 또는 이의 조합의 사용을 포함한, 당해 분야에 공지된 매우 다양한 기술을 사용하여 제조할 수 있다. 예를 들어, 단클론 항체는 당해 분야에 알려져 있고, 예를 들어, 각각의 전문이 본원에 원용된 "Harlow et al., *Antibodies: A Laboratory Manual*, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2nd ed. 1988); Hammerling et al., *Monoclonal Antibodies and T-Cell Hybridomas* 563 681 (Elsevier, N.Y., 1981)"에 교시된 것을 포함한 하이브리도마 기술을 사용하여 제조할 수 있다. 단클론 항체는 하이브리도마 기술을 통해 제조된 항체에 한정되지 않는다. 단클론 항체를 제조하는 다른 예시적 방법이 당해 분야에 알려져 있다. 단클론 항체를 제조하는 추가의 예시적 방법이 본원 실시예 1에 제공되어 있다.

[0092]

GD2에 결합하는 항체 기능적 단편은 당해 분야의 기술자에게 잘 알려진 임의 기술로 제조할 수 있다. 예를 들어, 본 발명의 Fab 및 $F(ab')_2$ 단편은 파파인(Fab 단편의 제조를 위함) 또는 펩신($F(ab')_2$ 단편의 제조를 위함)과 같은 효소를 사용하여 면역글로불린 분자의 단백질분해성 분열을 통해 제조할 수 있다. $F(ab')_2$ 단편은 가변 부위, 경쇄 불변 부위 및 중쇄의 CH1 도메인을 함유한다.

[0093]

본 발명의 항체 또는 이의 기능적 단편은 또한 당해 분야에 알려진 다양한 파지 디스플레이 방법을 사용하여 만들 수 있다. 예를 들어, 파지 디스플레이 방법에서, 본원에 제공된 CDR을 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 6개 갖는 중쇄 및/또는 경쇄 가변 부위와 같은 기능적 항체 도메인이 파지 입자를 코드화하는 폴리뉴클레오타이드 서열을 함유하는 파지 입자의 표면에 표시된다. VH 및 VL 도메인을 코드화하는 DNA는 PCR에 의해 scFv 링커와 함께 재조합되고 파지 플라스미드 복합체(phagemid) 벡터로 클론화된다. 상기 벡터는 *E. coli*에 전기천공되고 *E. coli*는 조력파지로 감염된다. 이들 방법에 사용된 파지는 통상 fd 및 M13을 포함하는 사상 파지이고, VH 및 VL 도메인은 보통 파지 유전자 III 또는 유전자 VIII에 재조합적으로 융합된다. GD2와 같은 특별한 항원에 결합하는 항원 결합 도메인을 발현하는 파지는 항원을 이용하여, 예를 들어, 표지된 항원, 또는 고체 표면 또는 비드에 결합되거나 포획된 항원을 사용하여 선택하거나 확인할 수 있다. 본 발명의 항체 기능적 단편을 만드는 데에 사용될 수 있는 파지 디스플레이 방법의 예는, 각각의 전문이 본원에 원용된 "Brinkman et al., 1995, *J.*

Immunol. Methods 182:41-50; Ames et al., 1995, *J. Immunol. Methods* 184:177-186; Kettleborough et al., 1994, *Eur. J. Immunol.* 24:952-958; Persic et al., 1997, *Gene* 187:9-18; Burton et al., 1994, *Advances in Immunology* 57:191-280; PCT 출원 제PCT/GB91/01134호; 국제 공개공보 WO 90/02809, WO 91/10737, WO 92/01047, WO 92/18619, WO 93/11236, WO 95/15982, WO 95/20401 및 WO 97/13844; 및 미국 특허 제5,698,426호, 제5,223,409호, 제5,403,484호, 제5,580,717호, 제5,427,908호, 제5,750,753호, 제5,821,047호, 제5,571,698호, 제5,427,908호, 제5,516,637호, 제5,780,225호, 제5,658,727호, 제5,733,743호 및 제5,969,108호"에 기재된 것을 포함한다.

[0094] 위의 참조문헌에 기재된 대로, 파지 선택 후, 파지로부터의 항체 코드화 부위는 분리될 수 있고 사람 항체 또는 기타 임의의 바람직한 결합 단편을 포함한 전(whole) 항체를 생성하는 데에 사용될 수 있고 본원에 기재된 바와 같은 포유동물 세포, 곤충 세포, 식물 세포, 이스트 및 세균 등을 포함한 임의의 바람직한 숙주에서 발현될 수 있다.

[0095] Fab, Fab' 및 F(ab')₂ 단편을 재조합적으로 제조하기 위한 기술이 또한 각각의 전문이 본원에 원용된 "PCT 공개 공보 WO 92/22324; Mullinax et al., 1992, *BioTechniques* 12(6):864-869; Sawai et al., 1995, *AJRI* 34:26-34; 및 Better et al., 1988, *Science* 240:1041-1043"에 기재된 것과 같은 당해 분야에 알려진 방법을 이용하여 사용될 수 있다.

[0096] 전 항체를 제조하기 위해, VH 또는 VL 뉴클레오파이드 서열, 제한 부위, 및 제한 부위를 보호하기 위한 플랜킹 (flanking) 서열을 포함하는 PCR 프라이머를 scFv 클론에서 VH 또는 VL 서열을 증폭시키는 데에 사용할 수 있다. 당해 분야의 기술자에게 잘 알려진 클론화 기술을 사용하여, PCR 증폭된 VH 도메인을 VH 불변 부위, 예를 들어, 사람 감마 1 불변 부위를 발현하는 백터내로 클론화할 수 있고, PCR 증폭된 VL 도메인을 VL 불변 부위, 예를 들어, 사람 카파 또는 람다 불변 부위를 발현하는 백터내로 클론화할 수 있다. VH 및 VL 도메인을 또한 필수 불변 부위를 발현하는 하나의 백터내로 클론화할 수 있다. 이어서, 당해 분야의 기술자에게 잘 알려진 기술을 사용하여 중쇄 전환 백터 및 경쇄 전환 백터를 세포주내로 함께 감염시켜 전장 항체, 예를 들어, IgG를 발현하는 안정한 또는 일시적인 세포주를 생성시킨다.

[0097] 일부 실시양태에서, 본 발명의 항체 또는 기능적 단편이 하나 이상의 진단체, 검출가능-약제 또는 치료제 또는 기타 임의의 바람직한 분자에 콘쥬케이트(공유 또는 비공유 결합)되거나 재조합적으로 융합된다. 콘쥬케이트되거나 재조합적으로 융합된 항체 또는 기능적 단편은 특정 요법의 효능 측정과 같은 임상적 시험 과정의 일부로서 GD2의 발현과 관련된 질환, 예를 들어, 암 또는 종양 생성의 개시, 발전, 진행 및/또는 증증도를 모니터링하거나 진단하는데 유용할 수 있다.

[0098] 일부 양태에서, 본 발명의 항체 또는 이의 기능적 단편이 검출가능-약제와 결합된다. 검출 및 진단은, 예를 들어, 본 발명의 항체 또는 이의 기능적 단편을 지르코늄(⁸⁹Zr), 요오드(¹³¹I, ¹²⁵I, ¹²⁴I, ¹²³I 및 ¹²¹I), 탄소(¹⁴C, ¹¹C), 황(³⁵S), 삼중수소(³H), 인듐(¹¹⁵In, ¹¹³In, ¹¹²In 및 ¹¹¹In), 테크네튬(⁹⁹Tc), 탈륨(²⁰¹Ti), 갈륨(⁶⁸Ga, ⁶⁷Ga), 팔라듐(¹⁰³Pd), 몰리브덴(⁹⁹Mo), 크세논(¹³³Xe), 불소(¹⁸F), ¹⁵O, ¹³N, ⁶⁴Cu, ^{94m}Tc, ¹⁵³Sm, ¹⁷⁷Lu, ¹⁵⁹Gd, ¹⁴⁹Pm, ¹⁴⁰La, ¹⁷⁵Yb, ¹⁶⁶Ho, ⁸⁶Y, ⁹⁰Y, ⁴⁷Sc, ¹⁸⁶Re, ¹⁸⁸Re, ¹⁴²Pr, ¹⁰⁵Rh, ⁹⁷Ru, ⁶⁸Ge, ⁵⁷Co, ⁶⁵Zn, ⁸⁵Sr, ³²P, ¹⁵³Gd, ¹⁶⁹Yb, ⁵¹Cr, ⁵⁴Mn, ⁷⁵Se, ¹¹³Sn 및 ¹¹⁷Sn(이에 한정되지 않음)과 같은 방사능 물질; 다양한 양전자 방출 단층촬영을 사용하는 양전자 방출 금속, 다양한 효소(예: 겨자무과산화효소, 알칼리 포스파타제, 베타-갈락토시다제 또는 아세틸콜린에스테라제; 이에 한정되지 않음); 보결 분자단(예: 스트렙타비딘/바이오틴 및 아비딘/바이오틴; 이에 한정되지 않음); 형광 물질(예: 웜밸리페론, 플루오레세인, 플루오레세인 이소티오시네이트, 로다민, 디클로로트리아지닐아민 플루오레세인, 단실 클로라이드 또는 피코에리트린; 이에 한정되지 않음); 발광 물질(예: 루미놀; 이에 한정되지 않음); 생물발광 물질(예: 루시페라제, 루시페린 및 에퀴린; 이에 한정되지 않음); 및 비방사능 상자성 금속 이온을 포함하는 검출가능 물질(이에 한정되지 않음)에 커플링시킴으로써 성취할 수 있다.

[0099] 본 발명은 하나 이상의 치료제에 콘쥬케이트(공유 또는 비공유 결합)되거나 재조합적으로 융합된 본 발명의 항체 또는 기능적 단편의 치료학적 용도를 추가로 포함한다. 본 문맥에서, 예를 들어, 항체는 세포독소(예: 세포 증식억제제 또는 살세포제) 또는 방사능 금속 이온(예: 알파 방출제)과 같은 치료제에 결합되거나 재조합적으로 융합될 수 있다. 세포독소 또는 세포독성제는 세포에 유해한 임의의 물질을 포함한다. 치료제는 안트라사이클린(예: 독소루비신 및 다우노루비신(구 다우노마이신)); 탁산(예: 파클리탁셀(탁솔) 및 도세탁셀(탁소테레)); 항대사약(예: 메토트렉세이트, 6-미캡토퓨린, 6-티오구아닌, 시타라빈, 5-플루오로우라실 및 데카바진); 알킬화제

(예: 메클로르에타민, 티오에파 클로람부실, 멜팔란, 카르무스틴(BCNU), 로무스틴(CCNU), 사이클로토스파미드, 부설판, 디브로모만니톨, 스트렙토조토신, 미토마이신 C, 시스디클로로디아민 백금(II)(DDP) 및 시스플라틴); 항생제(예: 액티노마이신 D, 블레오마이신, 미트라마이신 및 안트라마이신(AMC)); 아우리스타틴 분자(예: 아우리스타틴 PHE, 브리오스타틴 1, 솔라스타틴 10, 모노메틸 아우리스타틴 E(MMAE) 및 모노메틸아우리스타틴 F(MMAF)); 호르몬(예: 글루코코르티코이드, 프로게스틴, 안드로겐 및 에스트로겐); 뉴클레오사이드 유사체(예: 켐시타빈), DNA 복구 효소 억제제(예: 에토포사이드 및 토포테칸), 키나제 억제제(예: 글리벡 또는 이마티닙 메실레이트로도 알려진 화합물 ST1571); 세포독성제(예: 메이탄신, 파클리탁셀, 시토칼라신 B, 그라미시딘 D, 에티듐 브로마이드, 에메틴, 미토마이신, 에토포사이드, 테노포사이드, 빙크리스틴, 빈블라스틴, 콜키신, 독소루비신, 다우노루비신, 디하이드록시 안트라신 디온, 미톡산트론, 미트라마이신, 1-데하이드로테스토스테론, 글루코르티코이드, 프로카인, 테트라카인, 리도카인, 프로프라놀올, 푸로마이신 및 이의 유사체 또는 동족체, 및 미국 특허 제6,245,759호, 제6,399,633호, 제6,383,790호, 제6,335,156호, 제6,271,242호, 제6,242,196호, 제6,218,410호, 제6,218,372호, 제6,057,300호, 제6,034,053호, 제5,985,877호, 제5,958,769호, 제5,925,376호, 제5,922,844호, 제5,911,995호, 제5,872,223호, 제5,863,904호, 제5,840,745호, 제5,728,868호, 제5,648,239호, 제5,587,459호에 기재된 화합물들); 파르네실 트랜스페라제 억제제(예: R115777, BMS-214662, 및 예를 들어, 미국 특허 제6,458,935호, 제6,451,812호, 제6,440,974호, 제6,436,960호, 제6,432,959호, 제6,420,387호, 제6,414,145호, 제6,410,541호, 제6,410,539호, 제6,403,581호, 제6,399,615호, 제6,387,905호, 제6,372,747호, 제6,369,034호, 제6,362,188호, 제6,342,765호, 제6,342,487호, 제6,300,501호, 제6,268,363호, 제6,265,422호, 제6,248,756호, 제6,239,140호, 제6,232,338호, 제6,228,865호, 제6,228,856호, 제6,225,322호, 제6,218,406호, 제6,211,193호, 제6,187,786호, 제6,169,096호, 제6,159,984호, 제6,143,766호, 제6,133,303호, 제6,127,366호, 제6,124,465호, 제6,124,295호, 제6,103,723호, 제6,093,737호, 제6,090,948호, 제6,080,870호, 제6,077,853호, 제6,071,935호, 제6,066,738호, 제6,063,930호, 제6,054,466호, 제6,051,582호, 제6,051,574호 및 제6,040,305호에 기재된 것); 토포이소머라제 억제제(예: 캄프토테신, 이리노테칸, SN-38, 토포테칸, 9-아미노캄프토테신, GG-211(GI147211), DX-8951f, IST-622, 루비테칸, 피라졸로아크리딘, XR- 5000, 사인토핀, UCE6, UCE1022, TAN-1518A, TAN 1518B, KT6006, KT6528, ED-110, NB-506, ED-110, NB-506, 파가로닌, 코랄라인, 베타-라파콘 및 레베카마이신); DNA 마이너 그루브 결합제(minor groove binder)(예: Hoechst 염료 33342 및 Hoechst 염료 33258); 아데노신 데아미나제 억제제(예: 폴루다라빈 포스페이트 및 2-클로로데옥시아데노신); 또는 이의 약제학적으로 하용되는 염, 용매화물, 클라트레이트 또는 프로드럭과 같은 화학요법제일 수 있으나, 이에 한정되지 않는다. 치료제는 세특시맙, 베바시주맙, 헤셉틴, 리툭시맙과 같은 면역요법제일 수 있으나, 이에 한정되지 않는다.

[0100] 또한, 본 발명의 항체 또는 기능적 단편은 ²¹³Bi와 같은 알파 방출제와 같은 방사능 금속 이온, 또는 ¹³¹In, ¹³¹LU, ¹³¹Y, ¹³¹Ho, ¹³¹Sm를 포함하나 이에 한정되지 않는, 라디오메탈(radiometal) 이온을 결합시키는 데 유용한 마크로사이클릭 킬레이터; 또는 링커 분자를 통해 항체 또는 기능적 단편에 부착될 수 있는 1,4,7,10-테트라아자사이클로도데칸-N,N',N",N'"-테트라아세트산(DOTA)과 같은 마크로사이클릭 킬레이터와 같은 치료제에 콘쥬게이트될 수 있다. 이러한 링커 분자는 통상 당해 분야에 알려져 있고 "Denardo *et al.*, 1998, Clin Cancer Res. 4(10):2483-90; Peterson *et al.*, 1999, Bioconjug. Chem. 10(4):553-7; Zimmerman *et al.*, 1999, Nucl. Med. Biol. 26(8):943-50"에 기재되어 있다.

[0101] 추가로, 본 발명의 항체 또는 이의 기능적 단편은 제시된 생물학적 반응을 변형시키는 치료제에 콘쥬게이트(공유 또는 비공유 결합)되거나 재조합적으로 융합될 수 있다. 따라서, 치료제가 통상의 화학적 치료제로 제한되는 것으로 이해되어서는 안된다. 예를 들어, 치료제는 바람직한 생물학적 활성을 갖는 단백질, 웨타이드 또는 폴리웨타이드일 수 있다. 이러한 단백질은, 예를 들어, 독소(예: 아브린, 리신 A, 슈도모나스 외독소, 콜레라 독소 및 디프테리아 독소); 종양 괴사 인자, γ-인터페론, α-인터페론, 신경 성장인자, 혈소판 유도된 성장인자, 조직 플라스미노겐 활성인자, 세포사멸제(예: TNF-γ, AIM I, AIM II, Fas 리간드 및 VEGF), 항-혈관신생제(예: 안지오스타틴, 엔도스타틴 및 조직 인자와 같은 응고 경로 성분)와 같은 단백질; 생물학적 반응 개질제(예: 인터페론 감마, 인터류킨-1, 인터류킨-2, 인터류킨-5, 인터류킨-6, 인터류킨-7, 인터류킨-9, 인터류킨-10, 인터류킨-12, 인터류킨-15, 인터류킨-23, 과립구 대식세포 콜로니 자극인자 및 과립구 콜로니 자극인자와 같은 사이토카인); 성장인자(예: 성장 호르몬), 또는 응고제(예: 칼슘, 비타민 K, Hageman 인자(인자 XII)와 같은, 그러나 이에 한정되지 않는 조직인자, 고분자량 키니노겐(high-molecular-weight kininogen: HMWK), 프리칼리크레인(prekallikrein: PK), 응고 단백질-인자 II(프로트롬빈), 인자 V, XIIa, VIII, XIIa, XI, XIa, IX, IXa, X,

인지질 및 피브린 단량체)를 포함할 수 있다.

[0102] 본 발명은 융합 단백질을 생성시키기 위해 이종 단백질 또는 폴리펩타이드에 재조합적으로 융합되거나 화학적으로 콘쥬게이트(공유 또는 비공유 결합)된 본 발명의 항체 또는 이의 기능적 단편을 포함한다. 일부 양태에서, 이러한 폴리펩타이드는 길이가 약 10개, 약 20개, 약 30개, 약 40개, 약 50개, 약 60개, 약 70개, 약 80개, 약 90개 또는 약 100개의 아미노산일 수 있다. 일부 양태에서, 본 발명은 본 발명의 항체의 기능적 단편(예를 들어, Fab 단편, Fd 단편, Fv 단편, F(ab)₂ 단편, VH 도메인, VH CDR, VL 도메인 또는 VL CDR) 및 이종 단백질 또는 폴리펩타이드를 갖는 융합 단백질을 제공한다. 한 실시양태에서, 항체 또는 기능적 단편이 융합되는 이종 단백질 또는 폴리펩타이드는 항체 또는 기능적 단편이 GD2를 발현하는 세포와 같은 특정 세포 유형을 표적화하는 데 유용하다.

[0103] 본 발명의 콘쥬게이트 또는 융합 단백질은 진단체, 검출가능-약제 또는 치료제에 콘쥬게이트(공유 또는 비공유 결합)되거나 재조합적으로 융합된 본원에 제공된 본원의 임의의 항체 또는 이의 기능적 단편을 포함한다. 한 실시양태에서, 본 발명의 콘쥬게이트 또는 융합 단백질은 1B7, 2H12, 1G2, 1E9, 1H3, 2F5, 2F7, 2E12, 31F9, 31F9V2 또는 32E2 항체, 및 진단체, 검출가능-약제 또는 치료제를 포함한다. 다른 실시양태에서, 본 발명의 콘쥬게이트 또는 융합 단백질은 1B7, 2H12, 1G2, 1E9, 1H3, 2F5, 2F7, 2E12, 31F9, 31F9V2 또는 32E2 항체의 기능적 단편, 및 진단체, 검출가능-약제 또는 치료제를 포함한다.

[0104] 일부 실시양태에서, 본 발명의 콘쥬게이트 또는 융합 단백질은 서열번호 2, 6, 10, 14, 18, 22, 26, 30, 34, 36 또는 40에 나타낸 VH CDR 중 어느 하나의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR 하나 이상 및 진단체, 검출가능-약제 또는 치료제를 포함한다. 다른 실시양태에서, 콘쥬게이트 또는 융합 단백질은 서열번호 4, 8, 12, 16, 20, 24, 28, 32, 38 또는 42에 나타낸 VL CDR 중 어느 하나의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR 하나 이상 및 진단체, 검출가능-약제 또는 치료제를 포함한다.

[0105] 일부 양태에서, 본 발명의 콘쥬게이트 또는 융합 단백질은 VH CDR1, VH CDR2 및 VH CDR3 아미노산 서열을 갖는 VH 도메인과 진단체, 검출가능-약제 또는 치료제를 포함하고, 여기서 상기 VH CDR1 아미노산 서열은 서열번호 2의 잔기 26 내지 33, 서열번호 6의 잔기 26 내지 33, 서열번호 10의 잔기 26 내지 33, 서열번호 14의 잔기 26 내지 33, 서열번호 18의 잔기 26 내지 33, 서열번호 22의 잔기 26 내지 33, 서열번호 26의 잔기 26 내지 33, 서열번호 30의 잔기 26 내지 33, 서열번호 34의 잔기 26 내지 33, 서열번호 36의 잔기 26 내지 33 및 서열번호 40의 잔기 26 내지 33으로 이루어진 그룹으로부터 선택되고; 상기 VH CDR2 아미노산 서열은 서열번호 2의 잔기 51 내지 58, 서열번호 6의 잔기 51 내지 58, 서열번호 10의 잔기 51 내지 58, 서열번호 14의 잔기 51 내지 58, 서열번호 18의 잔기 51 내지 58, 서열번호 22의 잔기 51 내지 58, 서열번호 26의 잔기 51 내지 58, 서열번호 30의 잔기 51 내지 58, 서열번호 34의 잔기 51 내지 58, 서열번호 36의 잔기 51 내지 58 및 서열번호 40의 잔기 51 내지 58로 이루어진 그룹으로부터 선택되고; 상기 VH CDR3 아미노산 서열은 서열번호 2의 잔기 97 내지 109, 서열번호 6의 잔기 97 내지 109, 서열번호 10의 잔기 97 내지 108, 서열번호 14의 잔기 97 내지 108, 서열번호 18의 잔기 97 내지 108, 서열번호 22의 잔기 97 내지 108, 서열번호 26의 잔기 97 내지 109, 서열번호 30의 잔기 97 내지 109, 서열번호 34의 잔기 97 내지 110, 서열번호 36의 잔기 97 내지 110 및 서열번호 40의 잔기 97 내지 108로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.

[0106] 일부 다른 양태에서, 본 발명의 콘쥬게이트 또는 융합 단백질은 VH 도메인과 진단체, 검출가능-약제 또는 치료제를 포함하고, 상기 VH 도메인은 서열번호 2의 잔기 26 내지 33, 잔기 51 내지 58 및 잔기 97 내지 109; 서열번호 6의 잔기 26 내지 33, 잔기 51 내지 58 및 잔기 97 내지 109; 서열번호 10의 잔기 26 내지 33, 잔기 51 내지 58 및 잔기 97 내지 108; 서열번호 14의 잔기 26 내지 33, 잔기 51 내지 58 및 잔기 97 내지 108; 서열번호 18의 잔기 26 내지 33, 잔기 51 내지 58 및 잔기 97 내지 108; 서열번호 22의 잔기 26 내지 33, 잔기 51 내지 58 및 잔기 97 내지 108; 서열번호 30의 잔기 26 내지 33, 잔기 51 내지 58 및 잔기 97 내지 109; 서열번호 34의 잔기 26 내지 33, 잔기 51 내지 58 및 잔기 97 내지 110; 서열번호 36의 잔기 26 내지 33, 잔기 51 내지 58 및 잔기 97 내지 110; 및 서열번호 40의 잔기 26 내지 33, 잔기 51 내지 58 및 잔기 97 내지 108로 이루어진 그룹으로부터 선택된 VH CDR1, VH CDR2 및 VH CDR3 아미노산 서열을 갖는다.

[0107] 또 다른 양태에서, 본 발명의 콘쥬게이트 또는 융합 단백질은 VH 도메인과 진단체, 검출가능-약제 또는 치료제를 포함하고, 상기 VH 도메인은 서열번호 2, 서열번호 6, 서열번호 10, 서열번호 14, 서열번호 18, 서열번호 22, 서열번호 26, 서열번호 30, 서열번호 34, 서열번호 36 및 서열번호 40으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는다.

- [0108] 일부 실시양태에서, 본 발명의 콘쥬게이트 또는 융합 단백질은 VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3 아미노산 서열을 갖는 VL 도메인과 진단체, 검출가능-약제 또는 치료제를 포함하고, 여기서 상기 VL CDR1은 서열번호 4의 잔기 27 내지 37, 서열번호 8의 잔기 27 내지 37, 서열번호 12의 잔기 27 내지 38, 서열번호 16의 잔기 27 내지 38, 서열번호 20의 잔기 27 내지 38, 서열번호 24의 잔기 27 내지 38, 서열번호 28의 잔기 27 내지 37, 서열번호 32의 잔기 27 내지 37, 서열번호 38의 잔기 27 내지 32 및 서열번호 42의 잔기 27 내지 38로 이루어진 그룹으로부터 선택되고; 상기 VL CDR2는 서열번호 4의 잔기 55 내지 57, 서열번호 8의 잔기 55 내지 57, 서열번호 12의 잔기 56 내지 58, 서열번호 16의 잔기 56 내지 58, 서열번호 20의 잔기 56 내지 58, 서열번호 24의 잔기 56 내지 58, 서열번호 28의 잔기 55 내지 57, 서열번호 32의 잔기 55 내지 57, 서열번호 38의 잔기 50 내지 52 및 서열번호 42의 잔기 56 내지 58로 이루어진 그룹으로부터 선택되고; 상기 VL CDR3는 서열번호 4의 잔기 94 내지 102, 서열번호 8의 잔기 94 내지 102, 서열번호 12의 잔기 95 내지 103, 서열번호 16의 잔기 95 내지 103, 서열번호 20의 잔기 95 내지 103, 서열번호 24의 잔기 95 내지 103, 서열번호 28의 잔기 94 내지 102, 서열번호 32의 잔기 94 내지 102, 서열번호 38의 잔기 89 내지 97 및 서열번호 42의 잔기 95 내지 103으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.
- [0109] 다른 실시양태에서, 본 발명의 콘쥬게이트 또는 융합 단백질은 VL 도메인과 진단체, 검출가능-약제 또는 치료제를 포함하고, 상기 VL 도메인은 서열번호 4의 잔기 27 내지 37, 잔기 55 내지 57 및 잔기 94 내지 102; 서열번호 8의 잔기 27 내지 37, 잔기 55 내지 57 및 잔기 94 내지 102; 서열번호 12의 잔기 27 내지 38, 잔기 56 내지 58 및 잔기 95 내지 103; 서열번호 16의 잔기 27 내지 38, 잔기 56 내지 58 및 잔기 95 내지 103; 서열번호 20의 잔기 27 내지 38, 잔기 56 내지 58 및 잔기 95 내지 103; 서열번호 24의 잔기 27 내지 38, 잔기 56 내지 58 및 잔기 95 내지 103; 서열번호 28의 잔기 27 내지 37, 잔기 55 내지 57 및 잔기 94 내지 102; 서열번호 32의 잔기 27 내지 37, 잔기 55 내지 57 및 잔기 94 내지 102; 서열번호 38의 잔기 27 내지 32, 잔기 50 내지 52 및 잔기 89 내지 97; 및 서열번호 42의 잔기 27 내지 38, 잔기 56 내지 58 및 잔기 95 내지 103으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3 아미노산 서열을 갖는다.
- [0110] 일부 다른 양태에서, 본 발명의 콘쥬게이트 또는 융합 단백질은 VL 도메인과 진단체, 검출가능-약제 또는 치료제를 포함하고, 상기 VL 도메인은 서열번호 4, 서열번호 8, 서열번호 12, 서열번호 16, 서열번호 20, 서열번호 24, 서열번호 28, 서열번호 32, 서열번호 38 및 서열번호 42로 이루어진 그룹으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는다.
- [0111] 일부 실시양태에서, 본 발명의 콘쥬게이트 또는 융합 단백질은 VH 도메인 및 VL 도메인과 진단체, 검출가능-약제 또는 치료제를 포함하고, 상기 VH 도메인은 서열번호 2, 서열번호 6, 서열번호 10, 서열번호 14, 서열번호 18, 서열번호 22, 서열번호 26, 서열번호 30, 서열번호 34, 서열번호 36 및 서열번호 40으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖고; 상기 VL 도메인은 서열번호 4, 서열번호 8, 서열번호 12, 서열번호 16, 서열번호 20, 서열번호 24, 서열번호 28, 서열번호 32, 서열번호 38 및 서열번호 42로 이루어진 그룹으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는다.
- [0112] 일부 다른 실시양태에서, 본 발명의 콘쥬게이트 또는 융합 단백질은 VH 도메인 및 VL 도메인과 진단체, 검출가능-약제 또는 치료제를 포함하고, 상기 VH 도메인 및 상기 VL 도메인은 각각 서열번호 2 및 서열번호 4; 서열번호 6 및 서열번호 8; 서열번호 10 및 서열번호 12; 서열번호 14 및 서열번호 16; 서열번호 18 및 서열번호 20; 서열번호 22 및 서열번호 24; 서열번호 26 및 서열번호 28; 서열번호 30 및 서열번호 32; 서열번호 34 및 서열번호 38; 서열번호 36 및 서열번호 38; 및 서열번호 40 및 서열번호 42로 이루어진 그룹으로부터의 아미노산 서열을 갖는다.
- [0113] 진단체, 검출가능-약제 또는 치료제(폴리펩타이드 포함)를 항체에 융합 또는 결합시키는 방법은 잘 알려져 있고, 예를 들어, 전문이 본원에 원용된 "Arnon *et al.*, "Monoclonal Antibodies For Immunotargeting Of Drugs In Cancer Therapy", in Monoclonal Antibodies And Cancer Therapy, Reisfeld *et al.* (eds.), pp. 243-56 (Alan R. Liss, Inc. 1985); Hellstrom *et al.*, "Antibodies For Drug Delivery", in Controlled Drug Delivery (2nd Ed.), Robinson *et al.* (eds.), pp. 623-53 (Marcel Dekker, Inc. 1987); Thorpe, "Antibody Carriers Of Cytotoxic Agents In Cancer Therapy: A Review", in Monoclonal Antibodies 84: Biological And Clinical Applications, Pinchera *et al.* (eds.), pp. 475-506 (1985); "Analysis, Results, And Future Prospective Of The Therapeutic Use Of Radiolabeled Antibody In Cancer Therapy", in Monoclonal Antibodies For Cancer Detection And Therapy, Baldwin *et al.* (eds.), pp. 303-16 (Academic Press 1985), Thorpe *et al.*, 1982, Immunol. Rev. 62:119-58"; 미국 특허 제5,336,603호, 제5,622,929호, 제5,359,046호, 제5,349,053호, 제5,447,851호, 제5,723,125호, 제5,783,181호, 제5,908,626호, 제5,844,095호,

제5,112,946호, 제7,981,695호, 제8,039,273호, 제8,142,784호; 미국 공보 2009/0202536, 2010/0034837, 2011/0137017, 2011/0280891, 2012/0003247; EP 307,434; EP 367,166; EP 394,827; PCT 공개공보 WO 91/06570, WO 96/04388, WO 96/22024, WO 97/34631 및 WO 99/04813; Ashkenazi *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 88: 10535-10539, 1991; Traunecker *et al.*, Nature, 331:84-86, 1988; Zheng *et al.*, J. Immunol., 154:5590-5600, 1995; Vil *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89:11337-11341, 1992; 및 Senter, Current Opinion in Chemical Biology, 13:235-244 (2009)"를 참조한다.

[0114] 다른 양태에서, 진단제, 검출가능-약제 또는 치료제는 환원된 항체 성분의 힌지 부위에 다이설파이드 결합 형성을 통해 부착될 수 있다. 그렇지 않으면, 상기 제제는 N-석시닐 3-(2-페리딜디티오)프로프리오네이트(SPDP)와 같은 헤테로이이관능성 가교결합제를 사용하여 항체 성분에 부착될 수 있다(Yu *et al.*, Int. J. Cancer 56: 244 (1994)). 이러한 결합을 위한 일반 기술은 당해 분야에 잘 알려져 있다. 예를 들어 "Wong, CHEMISTRY OF PROTEIN CONJUGATION AND CROSS-LINKING (CRC Press 1991); Upeslakis *et al.*, "Modification of Antibodies by Chemical Methods," in MONOCLONAL ANTIBODIES: PRINCIPLES AND APPLICATIONS, Birch *et al.* (eds.), pages 187-230 (Wiley-Liss, Inc. 1995); Price, "Production and Characterization of Synthetic Peptide-Derived Antibodies," in MONOCLONAL ANTIBODIES: PRODUCTION, ENGINEERING AND CLINICAL APPLICATION, Ritter *et al.* (eds.), pages 60-84 (Cambridge University Press 1995)"를 참조한다.

[0115] 대안으로, 진단제, 검출가능-약제 또는 치료제를 항체의 Fc 부위의 탄수화물 잔기를 통해 콘쥬게이트될 수 있다. 웨타이드를 항체 탄수화물 잔기를 통해 항체 성분에 결합시키는 방법은 당해 분야의 기술자에게 잘 알려져 있다. 예를 들어, 전문이 본원에 원용된 "Shih *et al.*, Int. J. Cancer. 41:832-839 (1988); Shih *et al.*, Int. J. Cancer. 46:1101-1106 (1990); 및 Shih *et al.*, 미국 특허 제5,057,313호"를 참조한다. 일반적 방법은 산화된 탄수화물 부분을 갖는 항체 성분을 하나 이상의 유리 아민 관능기를 갖고 복수의 웨타이드가 적재된 캐리어 중합체와 반응시키는 것을 포함한다. 이 반응은 초기 쉬프(Schiff) 염기(이민) 연결을 생성시키고, 이는 환원에 의해 2차 아민으로 안정화되어 최종 콘쥬게이트를 생성시킨다.

[0116] 그러나, Fc 부위가 없으면, 예를 들어, 본원에 제공된 항체 기능적 단편이 바람직한 경우, 여전히 진단제, 검출가능-약제 또는 치료제를 부착시킬 수 있다. 탄수화물 잔기는 전장 항체 또는 항체 단편의 경쇄 가변 부위에 도입될 수 있다. 예를 들어, 전문이 본원에 원용된 "Leung *et al.*, J. Immunol., 154: 5919 (1995); 미국 특허 제5,443,953호 및 제6,254,868호"를 참조한다. 진단제, 검출가능-약제 또는 치료제를 부착시키는 데는 가공된 탄수화물 잔기가 사용된다.

[0117] GD2에 결합하는 본 발명의 항체 또는 기능적 단편에 결합되거나 재조합적으로 융합된 치료제는 목적한 예방 또는 치료 효과(들)를 성취하도록 선택할 수 있다. 어느 치료제를 본 발명의 항체 또는 기능적 단편에 콘쥬게이트시키거나 재조합적으로 융합시킬지를 결정할 때 임상의 또는 기타 의료인의 기술 수준내에서 다음을 고려할 것으로 생각된다: 질환의 유형, 질환의 중증도 및 대상체의 상태.

[0118] 본원에 제공된 대로 검출가능하게 표지되고 GD2에 결합하는 본 발명의 콘쥬게이트 또는 융합 항체 또는 기능적 단편을 질환의 검출, 진단 또는 모니터링의 목적으로 사용할 수 있는데, 여기서 상기 질환을 일으키거나 상기 질환과 관련된 세포는 GD2를 발현한다. 예를 들어, 본원에 제공된 대로, 신경아세포종, 골육종 및 육종의 다른 서브셋, 흑색종, 신경교종, 소세포 폐암, 유방암 및 유방암 줄기세포, 수모세포종 및 성상세포종(이에 한정되지 않음)과 같은 암 세포 및 종양은 GD2를 발현하는 것으로 보인다. 육종의 다른 종류는 연조직 육종, 연골육종, 지방육종 및 평활근육종을 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 연조직 육종은 포상연부육종(aveolar soft part sarcoma), 혈관육종, 상피모양 육종, 골외성 연골육종(extraskeletal chondrosarcoma), 골외성 골육종, 섬유육종, 위장관 간질 종양, 지방육종, 악성 말초신경종 종양, 신경섬유육종, 횡문근육종을 포함하나, 이에 한정되지 않는다.

[0119] 따라서, 본 발명은 본 발명에 따른 콘쥬게이트 또는 융합 항체 또는 기능적 단편의 유효량을 암 또는 종양 생성의 검출을 필요로 하는 대상체에 투여함으로써 대상체의 암 또는 종양 생성을 검출하는 방법을 제공한다. 일부 양태에서, 상기 검출방법은 GD2에 결합하는 본 발명의 콘쥬게이트 또는 융합 항체 또는 기능적 단편을 하나 이상 사용하여 대상체의 세포 또는 조직 샘플에서의 GD2의 발현을 분석하고, GD2의 수준을 대조군 수준, 예를 들어, 정상 조직 샘플(예를 들어, 질환을 갖지 않는 대상체로부터의 또는 질환 개시 전의 동일 대상체로부터의)의 수준과 비교함을 추가로 포함할 수 있고, 대조군의 GD2 수준과 비교하여 분석된 GD2 수준이 증가된 것은 질환의 지표이다. 이러한 진단 방법으로 의료 종사자가 다른 가능한 것보다 먼저 예방적 조치 또는 적극적 치료를 사용함으로써 질환의 진전 또는 추가 진행을 막을 수 있다.

- [0120] 본 발명의 항체 또는 기능적 단편은 또한 본원에 제공되거나 당해 분야의 기술자에게 잘 알려진 통상의 면역조직학적 방법을 사용하여 생물학적 샘플내의 GD2 항원 수준을 분석하는 데 사용될 수 있다(예를 들어, "Jalkanen et al., 1985, J. Cell. Biol. 101:976-985; 및 Jalkanen et al., 1987, J. Cell. Biol. 105:3087-3096" 참조). GD2를 검출하는 데 유용한 기타 항체 기초 방법은 효소 결합 면역흡착 측정법(ELISA) 및 방사면역분석(RIA)과 같은 면역분석을 포함한다. 적합한 항체 분석 표지는 당해 분야에 알려져 있고, 글루코즈 옥시다제와 같은 효소 표지; 요오드(^{125}I , ^{121}I), 탄소(^{14}C), 황(^{35}S), 삼중수소(^3H), 인듐(^{111}In) 및 테크네튬(^{99}Tc)과 같은 방사성 동위원소; 루미놀과 같은 발광 표지; 및 플루오레세인 및 로다민과 같은 형광 표지, 및 바이오틴을 포함한다.
- [0121] 한 양태에서, 본 발명은 사람에서의 질환 검출 및 진단을 제공한다. 한 실시양태에서, 진단은 다음을 포함한다: a) GD2에 결합하는 본 발명의 콘쥬게이트 또는 융합 단백질의 유효량을 대상체에 투여함(예를 들어, 비경구, 피하 또는 복막내); b) 상기 콘쥬게이트 또는 융합 단백질이 GD2가 발현되는 대상체의 부위에 우선적으로 집중되도록 하는(일부 실시양태에서는 결합되지 않은 콘쥬게이트 또는 융합 단백질이 백그라운드 수준으로 제거될) 투여 후 시간 간격을 기다림; c) 백그라운드 수준을 측정; d) 대상체에서 상기 콘쥬게이트 또는 융합 단백질을 검출(백그라운드 수준을 넘는 콘쥬게이트 또는 융합 단백질의 검출은 대상체가 질환을 갖고 있음을 나타냄). 백그라운드 수준은 검출된 콘쥬게이트 또는 융합 단백질의 양을 특정 시스템에 대해 미리 결정된 표준값과 비교하는 것을 포함한 다양한 방법으로 측정할 수 있다.
- [0122] 대상체의 크기 및 사용된 영상 시스템은 진단 영상을 생성시키는 데 필요한 영상 부분의 양을 결정할 것이고 당해 분야의 기술자에 의해 쉽게 결정될 것으로 생각된다. 예를 들어, 본 발명의 항체 또는 이의 기능적 단편에 콘쥬게이트된 방사성 동위원소의 경우, 주입된 방사능의 양은 사람 대상체에 대해 보통 ^{99}Tc 약 5 내지 20밀리퀴리 범위일 것이다. 이어서 콘쥬게이트가 우선적으로 GD2를 발현하는 세포 위치에 축적될 것이다. 생체내 종양 영상화가 "S.W. Burchiel et al., "Immunopharmacokinetics of Radiolabeled Antibodies and Their Fragments." (Chapter 13 in Tumor Imaging: The Radiochemical Detection of Cancer, S.W. Burchiel and B.A. Rhodes, eds., Masson Publishing Inc. (1982)"에 기재되어 있다.
- [0123] 사용된 검출가능-약제 유형 및 투여 방식을 포함한 몇몇 변수에 따라, 콘쥬게이트가 대상체의 부위에 우선적으로 집중되도록 하고 결합되지 않은 콘쥬게이트가 백그라운드 수준으로 제거될 투여 후 시간 간격은 6 내지 48시간 또는 6 내지 24시간 또는 6 내지 12시간이다. 다른 실시양태에서, 투여 후 시간 간격은 5 내지 20일 또는 5 내지 10일이다. 한 실시양태에서, 질환의 모니터링은 본원에 제공된 대로 진단 방법을 반복함으로써 수행되는데, 예를 들어, 초기 진단 후 1개월, 초기 진단 후 6개월, 초기 진단 후 1년, 또는 그 이후에 반복할 수 있다.
- [0124] 콘쥬게이트 또는 융합 단백질의 존재는 대상체에서 생체내 스캐닝에 대해 당해 분야에 알려진 방법을 사용하여 검출할 수 있다. 이를 방법은 사용된 검출가능-약제 유형에 좌우된다. 기술자는 특정한 검출가능-약제를 검출하기 위한 적합한 방법을 결정할 수 있다. 본 발명의 진단 방법에 사용될 수 있는 방법 및 장치는 컴퓨터 단층촬영(CT), 양전자방출 단층촬영(PET)과 같은 전신 스캔, 자기공명영상(MRI) 및 초음파촬영을 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 한 실시양태에서, 본 발명의 항체 또는 기능적 단편은 방사성 동위원소에 콘쥬게이트되고 대상체에서 방사선 반응 외과 기구를 사용하여 검출한다. 다른 실시양태에서, 본 발명의 항체 또는 기능적 단편은 형광성 화합물에 콘쥬게이트되고 대상체에서 형광 반응성 스캐닝 기구를 사용하여 검출한다. 다른 실시양태에서, 본 발명의 항체 또는 기능적 단편은 지르코늄(^{89}Zr)과 같은 양전자 방출 금속 또는 본원에 제공되거나 양전자 방출 단층촬영에 의해 검출가능한 당해 분야에 잘 알려진 기타 임의의 양전자 방출 금속에 콘쥬게이트되고 대상체에서 양전자 방출 단층촬영을 사용하여 검출한다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 항체 또는 기능적 단편은 상자성 표지에 콘쥬게이트되고 대상체에서 자기공명영상(MRI)을 사용하여 검출한다.
- [0125] 한 실시양태에서, 본 발명은 본 발명의 항체 또는 기능적 단편 및 약제학적으로 허용되는 담체를 갖는 약제학적 조성물을 제공한다. 본 발명의 약제학적 조성물에 사용될 수 있는 약제학적으로 허용되는 담체는 포스페이트 완충 염수, 물 및 오일-물 에멀젼과 같은 유액, 및 다양한 유형의 습윤제와 같은 당해 분야에 알려진 임의의 표준 약제학적 담체를 포함한다. 이들 약제학적 조성물은 액체 단위 투여형 또는 치료를 필요로 하는 대상체의 표적 영역에 본 발명의 항체 또는 이의 기능적 단편을 전달하기에 충분한 기타 임의의 투여형으로 제조될 수 있다. 예를 들어, 약제학적 조성물은 선택된 투여 방식, 예를 들어, 정맥내, 근육내, 피하, 복막내 등에 적합한 임의의 방법으로 제조될 수 있다. 기타 선택적 성분, 예를 들어, 약제학적 등급 안정화제, 완충제, 보존제, 부형제

등이 당해 분야의 기술자에 의해 쉽게 선택될 것이다. 적절한 pH, 등장성, 안정성 등을 갖는 약제학적 조성물이 당해 기술 수준 내에 있다.

[0126] 본원에 제공된 본 발명의 항체 또는 기능적 단편을 하나 이상 함유하는 약제학적 제제(Pharmaceutical formulation)는 바람직한 정도의 순도를 갖는 항체를 선택적으로 허용되는 담체, 부형제 또는 안정화제와 혼합함으로써 동결건조 제제 또는 수용액 형태로 보관할 수 있게 제조할 수 있다(Remington's Pharmaceutical Sciences (1990) Mack Publishing Co., Easton, PA). 허용되는 담체, 부형제 또는 안정화제는 사용된 투여량 및 농도로 수령인에게 비독성이고, 포스페이트, 시트레이트 및 기타 유기산과 같은 완충제; 아스코르브산 및 메티오닌을 포함하는 항산화제; 보존제(예를 들어, 옥타데실디메틸벤질 암모늄 클로라이드; 헥사메토늄 클로라이드; 벤즈알코늄 클로라이드; 벤즈에토늄 클로라이드; 페놀, 부틸 또는 벤질 알콜; 알킬파라벤(예: 메틸 또는 프로필 파라벤); 카테콜; 페조르시놀; 사이클로헥산올; 3-펜탄올; 및 m-클레졸); 저분자량(약 10개 미만의 잔기) 폴리펩타이드; 혈청 알부민, 젤라틴 또는 면역글로불린과 같은 단백질; 폴리비닐파리돈과 같은 친수성 중합체; 글리신, 글루타민, 아스파라긴, 히스티딘, 아르기닌 또는 리신과 같은 아미노산; 글루코즈, 만노즈 또는 텍스트린을 포함한 단당류, 이당류 및 기타 탄수화물; EDTA와 같은 칼레이트제; 수크로즈, 만니톨, 트레할로즈 또는 소르비톨과 같은 당; 나트륨과 같은 염 형성 카운터이온; 금속 복합체(예: Zn-단백질 복합체); 및/또는 TWEENTM, PLURONICSTM 또는 폴리에틸렌 글리콜(PEG)과 같은 비이온성 계면활성제를 포함한다.

[0127] 따라서, 일부 실시양태에서, 본 발명은 질환의 치료 또는 예방을 필요로 하는 대상체에서의 질환의 치료 또는 예방 방법을 제공한다. 본 발명의 방법은 본원에 제공된 약제학적 조성물의 치료학적 유효량을 대상체에 투여함을 포함할 수 있다. 예를 들어, 상기 약제학적 조성물은 본원에 제공된 항체 또는 기능적 단편을 하나 이상 포함할 수 있다. 본 발명의 방법을 사용하여 치료하거나 예방할 수 있는 질환은 암, 종양 생성 및/또는 전이를 포함한다. 특히, 본 발명의 방법은 GD2를 발현하는 암 또는 종양 생성을 치료하는 데 유용하다. 본 발명의 방법을 사용하여 치료하거나 예방할 수 있는 암 또는 종양의 비제한적 예는 신경아세포종, 골육종 및 육종의 다른 서브셋, 흑색종, 신경교종, 소세포 폐암, 유방암, 수모세포종 및 성상세포종을 포함한다. 다른 종류의 육종은 연조직 육종, 연골육종, 지방육종 및 평활근육종을 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 연조직 육종은 포상연부육종, 혈관육종, 상피모양 육종, 클외성 연골육종, 클외성 골육종, 섬유육종, 위장관 간질 종양, 지방육종, 악성 말초신경초 종양, 신경섬유육종, 획문근육종을 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 유방암 줄기세포는 또한 GD2를 발현하는 것으로 알려져 있다(*Battula VL et al., Ganglioside GD2 identifies breast cancer stem cells and promotes tumorigenesis. J Clin Invest.* 122(6):2066-2078 (2012)).

[0128] 따라서, 일부 실시양태에서, 본 발명은 항체 또는 이의 기능적 단편을 갖는 약제학적 조성물의 치료학적 유효량을 투여함으로써 암 또는 종양 생성의 치료를 필요로 하는 대상체에서의 암 또는 종양 생성의 치료방법을 제공하며, 여기서 상기 항체 또는 기능적 단편은 GD2에 결합하고 가변 중쇄(VH) 도메인을 갖고, 상기 도메인은 VH CDR1, VH CDR2 및 VH CDR3 아미노산 서열을 갖고, 상기 VH CDR1 아미노산 서열은 서열번호 2의 잔기 26 내지 33, 서열번호 6의 잔기 26 내지 33, 서열번호 10의 잔기 26 내지 33, 서열번호 14의 잔기 26 내지 33, 서열번호 18의 잔기 26 내지 33, 서열번호 22의 잔기 26 내지 33, 서열번호 26의 잔기 26 내지 33, 서열번호 30의 잔기 26 내지 33, 서열번호 34의 잔기 26 내지 33, 서열번호 36의 잔기 26 내지 33 및 서열번호 40의 잔기 26 내지 33으로 이루어진 그룹으로부터 선택되고; 상기 VH CDR2 아미노산 서열은 서열번호 2의 잔기 51 내지 58, 서열번호 6의 잔기 51 내지 58, 서열번호 10의 잔기 51 내지 58, 서열번호 14의 잔기 51 내지 58, 서열번호 18의 잔기 51 내지 58, 서열번호 22의 잔기 51 내지 58, 서열번호 26의 잔기 51 내지 58, 서열번호 30의 잔기 51 내지 58, 서열번호 34의 잔기 51 내지 58, 서열번호 36의 잔기 51 내지 58 및 서열번호 40의 잔기 51 내지 58로 이루어진 그룹으로부터 선택되고; 상기 VH CDR3 아미노산 서열은 서열번호 2의 잔기 97 내지 109, 서열번호 6의 잔기 97 내지 109, 서열번호 10의 잔기 97 내지 108, 서열번호 14의 잔기 97 내지 108, 서열번호 18의 잔기 97 내지 108, 서열번호 22의 잔기 97 내지 108, 서열번호 26의 잔기 97 내지 109, 서열번호 30의 잔기 97 내지 109, 서열번호 34의 잔기 97 내지 110, 서열번호 36의 잔기 97 내지 110 및 서열번호 40의 잔기 97 내지 108로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.

[0129] 일부 다른 양태에서, 본 발명은 항체 또는 이의 기능적 단편을 갖는 약제학적 조성물의 치료학적 유효량을 투여함으로써 암 또는 종양 생성의 치료를 필요로 하는 대상체에서의 암 또는 종양 생성의 치료방법을 제공하며, 여기서 상기 항체 또는 기능적 단편은 GD2에 결합하고 가변 중쇄(VH) 도메인을 갖고, 상기 VH 도메인은 서열번호 2의 잔기 26 내지 33, 잔기 51 내지 58 및 잔기 97 내지 109; 서열번호 6의 잔기 26 내지 33, 잔기 51 내지 58 및 잔기 97 내지 109; 서열번호 10의 잔기 26 내지 33, 잔기 51 내지 58 및 잔기 97 내지 108; 서열번호 14의

잔기 26 내지 33, 잔기 51 내지 58 및 잔기 97 내지 108; 서열번호 18의 잔기 26 내지 33, 잔기 51 내지 58 및 잔기 97 내지 108; 서열번호 22의 잔기 26 내지 33, 잔기 51 내지 58 및 잔기 97 내지 108; 서열번호 26의 잔기 26 내지 33, 잔기 51 내지 58 및 잔기 97 내지 109; 서열번호 30의 잔기 26 내지 33, 잔기 51 내지 58 및 잔기 97 내지 109; 서열번호 34의 잔기 26 내지 33, 잔기 51 내지 58 및 잔기 97 내지 110; 서열번호 36의 잔기 26 내지 33, 잔기 51 내지 58 및 잔기 97 내지 110; 및 서열번호 40의 잔기 26 내지 33, 잔기 51 내지 58 및 잔기 97 내지 108로 이루어진 그룹으로부터 선택된 VH CDR1, VH CDR2 및 VH CDR3 아미노산 서열을 갖는다.

[0130] 또 다른 양태에서, 본 발명은 항체 또는 이의 기능적 단편을 갖는 약제학적 조성물의 치료학적 유효량을 투여함으로써 암 또는 종양 생성의 치료를 필요로 하는 대상체에서의 암 또는 종양 생성의 치료방법을 제공하며, 여기서 상기 항체 또는 기능적 단편은 GD2에 결합하고 가변 중쇄(VH) 도메인을 갖고, 상기 VH 도메인은 서열번호 2, 서열번호 6, 서열번호 10, 서열번호 14, 서열번호 18, 서열번호 22, 서열번호 26, 서열번호 30, 서열번호 34, 서열번호 36 및 서열번호 40으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는다.

[0131] 일부 실시양태에서, 본 발명은 항체 또는 이의 기능적 단편을 갖는 약제학적 조성물의 치료학적 유효량을 투여함으로써 암 또는 종양 생성의 치료를 필요로 하는 대상체에서의 암 또는 종양 생성의 치료방법을 제공하며, 여기서 상기 항체 또는 기능적 단편은 GD2에 결합하고 가변 경쇄(VL) 도메인을 갖고, 상기 VL 도메인은 VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3 아미노산 서열을 갖고, 상기 VL CDR1 아미노산 서열은 서열번호 4의 잔기 27 내지 37, 서열번호 8의 잔기 27 내지 37, 서열번호 12의 잔기 27 내지 38, 서열번호 16의 잔기 27 내지 38, 서열번호 20의 잔기 27 내지 38, 서열번호 24의 잔기 27 내지 38, 서열번호 28의 잔기 27 내지 37, 서열번호 32의 잔기 27 내지 37, 서열번호 38의 잔기 27 내지 32 및 서열번호 42의 잔기 27 내지 38로 이루어진 그룹으로부터 선택되고; 상기 VL CDR2는 서열번호 4의 잔기 55 내지 57, 서열번호 8의 잔기 55 내지 57, 서열번호 12의 잔기 56 내지 58, 서열번호 16의 잔기 56 내지 58, 서열번호 20의 잔기 56 내지 58, 서열번호 24의 잔기 56 내지 58, 서열번호 28의 잔기 55 내지 57, 서열번호 32의 잔기 55 내지 57, 서열번호 38의 잔기 50 내지 52 및 서열번호 42의 잔기 56 내지 58로 이루어진 그룹으로부터 선택되고; 상기 VL CDR3는 서열번호 4의 잔기 94 내지 102, 서열번호 8의 잔기 94 내지 102, 서열번호 12의 잔기 95 내지 103, 서열번호 16의 잔기 95 내지 103, 서열번호 20의 잔기 95 내지 103, 서열번호 24의 잔기 95 내지 103, 서열번호 28의 잔기 94 내지 102, 서열번호 32의 잔기 94 내지 102, 서열번호 38의 잔기 89 내지 97 및 서열번호 42의 잔기 95 내지 103으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.

[0132] 일부 양태에서, 본 발명은 항체 또는 이의 기능적 단편을 갖는 약제학적 조성물의 치료학적 유효량을 투여함으로써 암 또는 종양 생성의 치료를 필요로 하는 대상체에서의 암 또는 종양 생성의 치료방법을 제공하며, 여기서 상기 항체 또는 기능적 단편은 GD2에 결합하고 가변 경쇄(VL) 도메인을 갖고, 상기 VL 도메인은 서열번호 4의 잔기 27 내지 37, 잔기 55 내지 57 및 잔기 94 내지 102; 서열번호 8의 잔기 27 내지 37, 잔기 55 내지 57 및 잔기 94 내지 102; 서열번호 12의 잔기 27 내지 38, 잔기 56 내지 58 및 잔기 95 내지 103; 서열번호 16의 잔기 27 내지 38, 잔기 56 내지 58 및 잔기 95 내지 103; 서열번호 20의 잔기 27 내지 38, 잔기 56 내지 58 및 잔기 95 내지 103; 서열번호 24의 잔기 27 내지 38, 잔기 56 내지 58 및 잔기 95 내지 103; 서열번호 28의 잔기 27 내지 37, 잔기 55 내지 57 및 잔기 94 내지 102; 서열번호 32의 잔기 27 내지 37, 잔기 55 내지 57 및 잔기 94 내지 102; 서열번호 38의 잔기 27 내지 32, 잔기 50 내지 52 및 잔기 89 내지 97; 및 서열번호 42의 잔기 27 내지 38, 잔기 56 내지 58 및 잔기 95 내지 103으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3 아미노산 서열을 갖는다.

[0133] 일부 다른 양태에서, 본 발명은 항체 또는 이의 기능적 단편을 갖는 약제학적 조성물의 치료학적 유효량을 투여함으로써 암 또는 종양 생성의 치료를 필요로 하는 대상체에서의 암 또는 종양 생성의 치료방법을 제공하며, 여기서 상기 항체 또는 기능적 단편은 GD2에 결합하고 가변 경쇄(VL) 도메인을 갖고, 상기 VL 도메인은 서열번호 4, 서열번호 8, 서열번호 12, 서열번호 16, 서열번호 20, 서열번호 24, 서열번호 28, 서열번호 32, 서열번호 38 및 서열번호 42로 이루어진 그룹으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는다.

[0134] 일부 실시양태에서, 본 발명은 GD2에 결합하는 항체 또는 이의 기능적 단편을 갖는 약제학적 조성물의 치료학적 유효량을 투여함으로써 암 또는 종양 생성의 치료를 필요로 하는 대상체에서의 암 또는 종양 생성의 치료방법을 제공하며, 여기서 상기 항체 또는 기능적 단편은 가변 중쇄(VH) 도메인 및 가변 경쇄(VL) 도메인을 포함하고, 상기 VH 도메인은 서열번호 2, 서열번호 6, 서열번호 10, 서열번호 14, 서열번호 18, 서열번호 22, 서열번호 26, 서열번호 30, 서열번호 34, 서열번호 36 및 서열번호 40으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖고; 상기 VL 도메인은 서열번호 4, 서열번호 8, 서열번호 12, 서열번호 16, 서열번호 20, 서열번호 24, 서열번호 28, 서열번호 32, 서열번호 38 및 서열번호 42로 이루어진 그룹으로부터 선택된 아미노산 서열을

갖는다.

- [0135] 일부 다른 실시양태에서, 본 발명은 GD2에 결합하는 항체 또는 이의 기능적 단편을 갖는 약제학적 조성물의 치료학적 유효량을 투여함으로써 암 또는 종양 생성의 치료를 필요로 하는 대상체에서의 암 또는 종양 생성의 치료방법을 제공하며, 여기서 상기 항체 또는 기능적 단편은 가변 중쇄(VH) 도메인 및 가변 경쇄(VL) 도메인을 포함하고, 상기 VH 도메인 및 상기 VL 도메인은 각각 서열번호 2 및 서열번호 4; 서열번호 6 및 서열번호 8; 서열번호 10 및 서열번호 12; 서열번호 14 및 서열번호 16; 서열번호 18 및 서열번호 20; 서열번호 22 및 서열번호 24; 서열번호 26 및 서열번호 28; 서열번호 30 및 서열번호 32; 서열번호 34 및 서열번호 38; 서열번호 36 및 서열번호 38; 및 서열번호 40 및 서열번호 42로 이루어진 그룹으로부터의 아미노산 서열을 갖는다.
- [0136] 본원에 기재된 것과 같은 제제는 또한 특별한 질환의 치료에 필요한 활성 화합물을 하나보다 많이 함유할 수 있다. 특정 실시양태에서, 제제는 본 발명의 항체 또는 기능적 단편과 서로 역효과를 내지 않는 상보적 활성을 갖는 활성 화합물을 하나 이상 포함한다. 이러한 분자들은 의도된 목적에 효과적인 양으로 적합하게 조합하여 존재한다. 예를 들어, 본 발명의 항체 또는 기능적 단편은 하나 이상의 기타 치료제와 조합될 수 있다. 이러한 조합 요법이 대상체에 동시에 또는 연속적으로 투여될 수 있다.
- [0137] 따라서, 일부 실시양태에서, 본 발명은 본원에 제공된 약제학적 조성물의 치료학적 유효량을 질환의 치료 또는 예방을 필요로 하는 대상체에 투여함으로써 질환을 치료 또는 예방하는 방법을 제공하고, 상기 약제학적 조성물은 본 발명의 항체 또는 기능적 단편과 제2 치료제를 포함한다. 적합한 제2 치료제는 본원에 논의된 대로 통상의 기술자가 쉽게 결정할 수 있다. 한 양태에서, 제2 치료제는 화학요법제 또는 면역요법제이다.
- [0138] 본원에 제공된 약제학적 조성물은 본원에 제공된 본 발명의 하나 이상의 항체의 치료학적 유효량 및 선택적으로 하나 이상의 부가적 치료제를 약제학적으로 허용되는 담체에 함유한다. 이러한 약제학적 조성물은 암 또는 종양 생성과 같은 질환 또는 이의 하나 이상의 증상의 예방, 치료, 관리 또는 개선에 유용하다.
- [0139] 약제학적 조성물은 본 발명의 항체 또는 기능적 단편을 하나 이상 함유할 수 있다. 한 실시양태에서, 상기 항체 또는 기능적 단편은 비경구 투여용 무균 용액 또는 혼탁액과 같은 적합한 약제학적 제제로 제형화된다. 한 실시양태에서, 본원에 제공된 항체 또는 기능적 단편은 당해 분야에 잘 알려진 기술 및 방법을 사용하여 약제학적 조성물로 제형화된다(예를 들어, "Ansel (1985) *Introduction to Pharmaceutical Dosage Forms*, 4th Ed., p. 126" 참조).
- [0140] 본 발명의 항체 또는 기능적 단편은 치료되는 대상체에 바람직하지 않은 부작용이 없을 때에 치료학적으로 유용한 효과를 발휘하기에 충분한 치료학적 유효량으로 약제학적 조성물에 포함될 수 있다. 치료학적 유효 농도는 화합물을 시험관내 및 생체내 시스템에서 통상의 방법으로 시험하여 경험적으로 결정할 수 있고 이로부터 사람을 위한 투여량을 외삽할 수 있다. 약제학적 조성물 중의 항체 또는 기능적 단편의 농도는, 예를 들어, 항체 또는 기능적 단편의 물리화학적 특징, 투여 계획 및 투여량 뿐만 아니라 당해 분야의 숙련가에게 잘 알려진 인자에 좌우될 것이다.
- [0141] 한 실시양태에서, 치료학적 유효 용량은 항체 또는 기능적 단편의 혈청 농도를 약 0.1ng/ml 내지 약 50-100 μ g/ml로 만든다. 다른 실시양태에서, 약제학적 조성물은 항체 약 0.001mg 내지 500mg/kg(체중)/일의 용량을 제공한다. 약제학적 투여 단위형은 투여 단위형당 항체 또는 기능적 단편 및/또는 기타 선택적인 필수 성분들의 조합을 약 0.01mg, 0.1mg 또는 1mg 내지 약 30mg, 100mg 또는 500mg을 제공하도록, 및 다른 실시양태로는 약 10mg 내지 약 500mg을 제공하도록 제조할 수 있다.
- [0142] 본 발명의 항체 또는 기능적 단편은 한꺼번에 또는 시간 간격을 두고 다수의 소용량으로 나누어 투여할 수 있다. 정확한 용량 및 치료 기간은 치료되는 질환과함수 관계에 있고, 공지된 시험 프로토콜을 사용하여 경험적으로, 또는 생체내 또는 시험관내 시험 데이터로부터 외삽에 의해 결정할 수 있을 것으로 생각된다. 농도 및 용량값이 또한 개선시키려는 병태의 중증도에 따라 변할 수 있음을 주의해야 한다. 추가로 임의의 특정 대상체의 경우, 특정 투여 요법이 개별적 요구 및 조성물을 투여하거나 투여를 감독하는 사람의 전문적 판단에 따라 시간에 걸쳐 흐르면서 조절할 수 있고, 본원에 기재된 농도 범위는 예시일 뿐이며 청구된 조성물의 범위 또는 실행을 제한하려는 것이 아닌 것으로 생각된다.
- [0143] 본 발명의 항체 또는 기능적 단편을 혼합하거나 첨가하면, 생성된 혼합물은 용액, 혼탁액 등일 수 있다. 생성된 혼합물의 형태는 의도된 투여 방식 및 선택된 담체 또는 비히클내에서의 화합물의 용해도를 포함한 다수의 인자에 좌우된다. 유효 농도는 치료되는 질환, 장애 또는 병태의 증상을 개선시키기에 충분하고 경험적으로 결정할

수 있다.

[0144] 약제학적 조성물은 적합한 양의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 유도체를 함유하는 무균 비경구 용액 또는 혼탁액과 같은 단위 투여형으로 사람 및 동물 투여용으로 제공된다. 한 실시양태에서, 항체 또는 기능적 단편은 단위 투여형 또는 다중 투여형으로 제형화되고 투여될 수 있다. 단위 투여형은 당해 분야에 공지된 바와 같이 사람 및 동물 대상체에 적합하고 개별적으로 포장된 물리적 개별 단위를 말한다. 각각의 단위 투여형은 목적한 치료학적 효과를 생성시키기에 충분한 본 발명의 항체 또는 기능적 단편의 예정된 양을 필요한 약제학적 담체, 비히클 또는 희석제와 함께 함유한다. 단위 투여형의 예는 앰플 및 주사기를 포함한다. 단위 투여형은 이를 나누어 투여할 수 있거나 이의 배수로 투여할 수 있다. 다중 투여형은 분리된 단위 투여형으로 투여되는 단일 용기에 포장된 복수개의 동일한 단위 투여형이다. 다중 투여형의 예는 파인트 또는 갤론의 바이알 또는 병을 포함한다. 따라서, 다중 투여형은 포장으로 분리되어 있지 않은 단위 용량의 배수이다.

[0145] 한 실시양태에서, 본 발명의 항체 또는 기능적 단편의 하나 이상은 액체 약제학적 제제 형태이다. 약제학적으로 투여가능한 액체 조성물은, 예를 들어, 본원에 제공된 항체 또는 기능적 단편과 선택적인 약제학적 보조제를, 예를 들어, 물, 염수, 수성 텍스트로즈, 글리세롤, 글리콜, 에탄올 등의 담체에 용해, 분산 또는 다르게는 혼합하여 용액을 생성시킴으로써 제조할 수 있다. 경우에 따라, 투여되는 약제학적 조성물은 또한 습윤제, 유화제, 가용화제, pH 완충제 등, 예를 들어 아세테이트, 시트르산나트륨, 사이클로덱스트린 유도체, 소르비탄 모노라우레이트, 트리에탄올아민 나트륨 아세테이트, 트리에탄올아민 올레아이트 및 이러한 기타 제제와 같은 비독성 보조제 물질을 소량 함유할 수 있다. 이러한 투여형을 제조하는 실제 방법은 당해 분야의 숙련가에게 공지되어 있거나 명백할 것이고, 예를 들어 "Remington's Pharmaceutical Sciences (1990) Mack Publishing Co., Easton, PA"를 참조한다.

[0146] 본 발명의 약제학적 조성물의 투여 방법은 당해 분야에 잘 알려져 있다. 약제학적 조성물의 적합한 투여 경로는 숙련된 임상의에 의해 쉽게 결정될 수 있다고 생각된다. 예시적 투여 경로는 정맥내 주사, 근육내 주사, 피부내 주사 또는 피하 주사를 포함한다. 또한, 약제학적 조성물의 제제는 투여 경로를 제공하도록 쉽게 조절될 수 있다라고 생각된다. 본 발명은 또한 본 발명의 약제학적 조성물의 투여 후에, 본원에 제공된 바와 같은 하나 이상의 약제학적 조성물의 지연, 연속 및/또는 반복 투여량을 대상체에 투여할 수 있음을 제공한다.

[0147] 본 발명의 질환의 치료방법은 (1) 질환의 예방, 즉 질환의 임상적 증상이 질환에 걸릴 수 있지만 아직 그 질환에 걸리지 않았거나 그 질환의 증상을 보이지 않는 대상체에서 진행되지 않도록 함; (2) 질환의 억제, 즉 질환 또는 그 임상적 증상의 진행의 저지 또는 저감; 또는 (3) 질환의 경감, 즉 질환 또는 그 임상적 증상의 퇴행을 포함하려고 한다. 본 발명의 질환의 예방방법은 암 또는 종양 생성을 가리키는 임상적 증상의 방지를 포함하려는 것이다. 이러한 방지는, 예를 들어, 대상체에서의 정상의 생리적 지표의 유지를 포함한다. 그러므로, 예방은 대상체를 종양 전이의 발생으로부터 보호하기 위한 예방적 치료를 포함할 수 있다.

[0148] 본 발명의 방법에 사용된 약제학적 조성물의 치료학적 유효량은 사용된 약제학적 조성물, 질환 및 그 중증도, 치료되는 대상체의 연령, 체중 등에 따라 변할 것이며, 이는 모두 주치의인 임상의의 기술 내에 있다. 본 발명의 방법에 의해 치료될 수 있는 대상체는 척추동물, 바람직하게는 포유동물, 보다 바람직하게는 사람을 포함한다.

[0149] 본 발명의 다양한 실시양태의 활성에 실질적으로 영향을 미치지 않는 수정이 또한 본원에 제공된 발명의 정의 내에서 제공되는 것으로 생각된다. 따라서, 아래 실시예는 본 발명을 설명하기 위함이지 한정하려는 것은 아니다.

실시예 1

GD2에 대한 사람 단클론 항체는 강력한 항종양 활성을 갖는다

[0151] 디시알로강글리오사이드 GD2는 신경아세포종, 골육종 및 육종의 다른 서브셋, 흑색종, 신경교종, 소세포 폐암, 유방암, 수모세포종 및 성상세포종을 포함한 다양한 사람 종양에서 발견되었다. 유방암 줄기세포가 또한 GD2를 발현하는 것으로 알려져 있다(Battula1 VL et al., Ganglioside GD2 identifies breast cancer stem cells and promotes tumorigenesis. *J Clin Invest.* 122(6):2066-2078 (2012)). 강글리오사이드는 높은 항원 밀도, 조절 결여, 다수의 종양에서의 상대적 균일성 및 사이토카인에 의한 상향조절 가능성으로 인해 단클론 항체(mAb)의 이상적인 표적이다. 따라서, 본원에 기재된 바와 같이, GD2에 대항하는 완전한 사람 단클론 항체(mAb)가 생성되었다. 몇몇 mAb가 ELISA 및 FACS를 기초로 하여 선택되었고 추가로 특징화되었다. 시험된 항체 중, 1B7, 2H12, 2F7, 2E12 및 31F9V2가 일부 암 세포주에서 높은 수준의 보체 의존적 세포독성을 보였고; 1B7, 31F9, 31F9V2

및 2F7이 일부 암 세포주에서 높은 수준의 항체 의존적 세포 매개된 세포독성을 보였고; 항종양 활성이 또한 생체내 모델에서 확인되었다. 항-GD2 mAb는, 면역 공격에 대한 표적으로서의 GD2의 잠재성 및 그의 친화도, 특이성 및 효과기 기능(effectector functions)을 기초로, 암의 치료에 있어서 임상적 유용성을 갖는다.

[0153] 재료, 세포 및 항체

항원: GD2-PAA-바이오틴(cat# 0832-BP), GM2-PAA-바이오틴(cat#0835-BP) 및 GD3-PAA-바이오틴(cat#0898-BP)을 Lectinity(러시아 모스크바)로부터 구입하였다. Tn-PAA-바이오틴(cat#01-010), sTn-PAA-바이오틴(cat#01-059), TF-PAA-바이오틴(cat#01-023) 및 sLeA-PAA-바이오틴(cat#01-044)을 Glycotech(미국 메릴랜드주 케이더스버그)으로부터 구입하였다. GD2-세라마이드(ceramide), GM2-세라마이드, GD3-세라마이드, 푸코실(Fucosyl)-GM1-세라마이드 및 Globo-H-바이오틴을 MSKCC (미국 뉴욕주 뉴욕)로부터 입수하였다. MUC1 펩타이드-바이오틴(cat#353951)을 American Peptide Company(미국 캘리포니아주 서니베일)로부터 구입하였다. GM3-세라마이드(cat#1503)를 Matreya(미국 펜실베니아주 플레전트 캡)로부터 구입하였다. 세라마이드 항원을 메탄올에 용해시키고 나머지 모두를 PBS에 1mg/ml로 재현탁시켰다.

세포주: H524, Lan1-luc, BxPC3, SK-MEL19, ST88, LS141, SaOS2 세포주를 MSKCC(미국 뉴욕주 뉴욕)에서 입수하였다. Capan2(ATCC, HTB-80), DMS79(ATCC, CRL-2049), Jurkat(ATCC, TIB-152), SK-MEL28(ATCC, HTB72), HT29, (HTB-38) 및 MCF7(ATCC, HTB22)을 ATCC(미국 버지니아주 매너서스)에서 구입하였다. TC-71(AAC516)을 Leibniz Institute DSMZ(독일 브라운슈백)에서 구입하였다.

항-GD2 mAb-생산 하이브리도마 및 림프아구세포주(lymphoblastoid cell line: LCL)의 생성: 혈액 샘플을, 흑색종을 갖는 환자에 있어 GD2-/GD3-KLH 콘쥬게이트 백신(conjugate vaccine)을 사용한 실험으로 및 육종을 갖는 환자에 있어 GD2-/GD3-/GM2-KLH 3가 백신을 사용한 실험으로 환자로부터 수득하였다. 흑색종 단계 I 실험(Phase I trial)을 MSKCC에서 수행하는 반면, 육종 실험은 다중센터, 맹검 단계 II 연구였다. 모든 샘플을 각각의 기관 및 FDA 승인된 IRB 및 IND하에 수득하였다. 사람 B 세포를 대략 80 내지 90ml의 혈액으로부터 Histopaque-1077(cat#10771, Sigma, 미국 미주리주 세인트루이스)로 구배 원심분리를 사용하여 RosetteSep 사람 B 세포 풍부 캐테일(Human B Cell Enrichment Cocktail)(cat#15024, StemCell Technologies, 캐나다 브리티쉬 콜롬비아 뱅쿠버)로 분리하였다. 상기 B 세포를, L-글루타민(cat#25030081, Life Technologies, 미국 캘리포니아주 칼스배드), 비필수 아미노산(cat#NE-01), 나트륨 피루베이트(cat#SP-90), 비타민(cat#ME-30), 페니실린/스트렙토마이신(PS-20), Omega Scientific(미국 캘리포니아주 타자나)으로부터의 10% FBS(cat#FB-01) 및 자극제와 사이토카인의 혼합물이 보충된 RPMI-1640 배지(cat#10-040-CV, Mediatech, 미국 버지니아주 매너서스)에서 배양하였다. 5 내지 7일 후, 세포를 전기융합으로 P3X63Ag8.653 골수종 세포(cat#PTA-8434, ATCC, 버지니아주 매너서스)로 융합하였다. 상기 B 세포를 IL2 및 R848 또는 PS2006의 존재하에 EBV(B95-8 배양 상청액)로 감염시켜 LCL을 생성하였다. 항-GD2 생성 하이브리도마 및 LCL을 GD2 특이적 ELISA를 사용하여 확인하였다.

ELISA: 바이오틱스 항원을 위해: NeutrAvidin(cat#31000, Thermo Scientific, 미국 일리노이주 록포드) 50 μ l /웰을 ELISA 플레이트(cat#655061, Greiner Bio-One, 미국 노스캐롤라이나주 먼로)에 50 μ l/ml로 코팅하고 실온에서 2시간 동안 배양하였다. 상기 플레이트를 1.25% 사람 혈청 알부민(HuSA)(cat#HA25S, Monobind, 미국 캘리포니아주 레이크 포레스트)으로 2시간 동안 실온에서 또는 4°C에서 밤새 차단하였다. 상기 플레이트를 0.05% Tween/PBS(PBS-0.05%T)로 2회 세척한 후, 바이오틱스 항원(최종 농도: PBS 중 2 μ g/ml) 또는 PBS 50 μ l /웰을 첨가하고, 실온에서 30분 동안 또는 4°C에서 밤새 배양하였다. 상기 플레이트를 PBS-T로 2회 세척하고, 1.25% HuSA로 2 μ g/ml로 희석된 정제된 mAb 100 μ l /웰과 1시간 동안 실온에서 배양하였다. 상기 플레이트를 PBS-0.05%T로 3회 세척한 후, 이차 항체인 알칼리성 인산염 콘쥬게이트된 항-사람 IgG 또는 IgM(1.25% HuSA로 1:3000로 희석, 각각 cat#075-1002 및 cat#075-1003, KPL, 미국 메릴랜드주 케이더스버그) 100 μ l /웰을 첨가하고 실온에서 1시간 동안 배양하였다. 상기 플레이트를 PBS-0.05%T로 4회 세척하였다. 100 μ l /웰의 pNPP 기재(cat#PI34045, Thermo Scientific, 미국 일리노이주 록포드)를 첨가하고, 실온에서 1시간 동안 배양하고, 반응을 25 μ l /웰의 2N NaOH로 중지하였다.

세라마이드 항원을 위해: 세라마이드 항원(최종 농도: EtOH 중 5 μ g/ml) 또는 EtOH 50 μ l /웰을 96웰 플레이트(cat#269620, Thermo Scientific, 미국 일리노이주 록포드)에 코팅하고 실온에서 2시간 동안 배양하였다. 상기 플레이트를 PBS로 1회 세척하고 2.5% HuSA로 실온에서 2시간 동안 또는 4°C에서 밤새 차단하였다. 상기 플레이트를 PBS로 1회 세척하고, 1.25% HuSA로 2 μ g/ml로 희석된 정제된 mAb 100 μ l /웰과 1시간 동안 실온에서 배양하였다. 상기 플레이트를 PBS-0.025%T로 3회 세척한 후, 상기 기재한 바와 같은 이차 항체를 첨가하였다. 상기 플레이트를 PBS-0.025%T로 3회 세척한 후, 상기 기질을 첨가하였다.

- [0159] **FACS:** 상기 세포를 PBS/1% BSA(cat#A3059, Sigma, 미국 미주리주 세인트루이스) $200\mu\ell$ /튜브에 0.25×10^6 개 세포 /ml로 재현탁시켰다. 정제된 mAb를 상기 튜브에 IgG에 대해 $2\text{mg}/\text{ml}$ 로 또는 IgM에 대해 $5\text{mg}/\text{ml}$ 로 첨가하고 4°C 에서 40분 동안 배양하였다. PBS/1% BSA로 1회 세척한 후, 형광단(fluorophore) 콘쥬게이트된 항체인 Alexa488-항-사람 IgG(cat#H10120, Life Technologies, 미국 캘리포니아주 칼스배드) 또는 Alexa488-항-사람 IgM(cat#A21215, Life Technologies, 미국 캘리포니아주 칼스배드) $200\mu\ell$ 를 상기 튜브에 첨가하고 4°C 에서 40분 동안 배양하였다. 상기 세포를 PBS/1% BSA로 2회 세척하고, 구아바 퍼스널 세포 분석(Guava Personal Cell Analysis-96: PCA-96) 시스템(Millipore, 미국 매사추세츠주 빌러리카)을 사용하여 구아바 익스프레스프로(Guava ExpressPro) 소프트웨어로 분석하였다.
- [0160] **친화도 측정:** BiaCore 3000(GE Healthcare, 미국 뉴저지주 피스카타웨이)을 사용한 표면 플라스몬 공명(Surface Plasmon Resonance: SPR)을 사용하여 친화도 상수를 측정하였다. 통상적으로 합성된 바이오틴-표지된 GD2-폴리아크릴아미드(GD2-PAA-바이오틴)을 Lectinity Holdings Inc(러시아 모스크바)로부터 구입하고, 제조사의 지시에 따라 스트렙타비딘 코팅된 바이오센서 칩(SA; Cat # BR100398)에 커플링시켰다. 1개의 유동 세포를 HSA로 차단하고 유리 바이오틴을 함유하는 배지를 참조용 세포로서 사용하였다. 결합 동역학 파라미터를, 상기 GD2-PAA-바이오틴 코팅된 유동 세포를 사용하여 HBS-EP 완충액(10mM HEPES pH 7.4, 150mM NaCl, 3.4mM EDTA, 0.005% 계면활성제 P20)에 희석된 항체의 몇몇 공지된 농도로부터 측정하였다. BiaCore 기구에 의해 제공된 커브-피팅 소프트웨어(curve-fitting software)를 사용하여 결합속도 및 해리속도를 계산하였다.
- [0161] **CDC 분석:** 상기 세포를 PBS로 2회 세척하고, 1ml의 PBS에 10^6 개 세포/ml/튜브로 재현탁시키고, 37°C 에서 30분 동안 칼세인(Calcein) AM(DMSO 중 $1\text{mg}/\text{ml}$)(cat#C3100MP, Invitrogen, 미국 캘리포니아주 칼스배드) $12.5\mu\ell$ /튜브와 함께 배양하였다. 표지된 세포를 10% FBS를 함유한 배지(완전 배지)(cat#FB-12, Omega Scientific, 미국 캘리포니아주 타자나)로 2회 세척하고 1ml의 완전 배지에 재현탁시켰다. 표지된 세포($50\mu\ell$ /웰)를 4°C 에서 15분 동안 완전 배지에 희석된 mAb $100\mu\ell$ /웰과 배양하였다. 완전 배지에 희석된 사람 보체(cat#IPLA-CSER, Innovative Research, 미국 미시건주 노비) $50\mu\ell$ /웰을 상기 웰에 첨가하고 37°C 에서 90분 동안 배양하였다. 사람 보체의 적합한 최종 희석을 각각의 세포주에 대해 미리결정하였다(1:5 내지 1:16). 1600rpm에서 8분 동안 원심분리한 후, 상청액($100\mu\ell$ /웰)을 새로운 형광 96웰 플레이트(cat#7605, Thermo Scientific, 미국 일리노이주 록포드)로 옮겼다. 각각의 샘플을 세 번 평가하였다. NP40을 수용한 대조군 샘플을 최대 사멸을 측정하는 데에 사용하고 보체만 수용한 샘플이 기준선으로서 제공된다. 세포 사멸률(%)은 상대적 형광 유닛을 사용하여 측정하고 다음 식에 따라 계산하였다: 사멸률(%) = [(샘플(%) - 보체 단독(%))/(NP40(%) - 보체 단독(%))] $\times 100$.
- [0162] **항체 의존적 세포 매개된 세포독성 분석:** ADCC Reporter Bioassay Core Kit(cat#G7010)를 Promega(미국 위스콘신주 매디슨)로부터 구입하고, 지시 매뉴얼에 따라 분석을 수행하였다. 간단히 말하면, 효과기 세포(상기 코어 키트로부터의 Jurkat) 및 GD2 항원 발현 표적 세포를 세척하고 10% 낮은 소 IgG 혈청(코어 키트)을 함유하는 RPMI1640 배지에 각각 3×10^6 개 세포/ml 및 0.5×10^6 개 세포/ml로 재현탁시켰다. 상기 표적 세포($12,500$ 개 세포/ $25\mu\ell$ /웰)를 항-GD2 mAb(최종 농도 $5\mu\ell$ /ml) $25\mu\ell$ /웰과 함께 또는 배지만 배양하고, 상기 효과기 세포($75,000$ 개 세포/ $25\mu\ell$ /웰)를 37°C 에서 17시간 동안 배양하였다. $100\mu\ell$ /웰의 Bio-Glo 루시퍼라제 분석 기질(코어 키트)을 첨가하고 10분 동안 배양하였다. 상대적 광 단위(relative light unit: RLU)를 시너지 2 광도계(Synergy 2 luminometer)(BioTek, 미국 버몬트주 위누스키)로 측정하였다. 상기 효과기 세포 및 배지만을 갖는 웰이 기준선 RLU로서 제공되었다. 각각의 샘플을 세 번 시험하였다.
- [0163] **내재화 분석:** 항-GD2 항체의 내재화를, GD2 발현 세포주인 H524 및 Lan1-luc에 대한 mAb 및 Hum-ZAP 이차 콘쥬게이트(cat#IT22, Advanced Targeting Systems, 미국 캘리포니아주 샌디에고) 복합체의 세포독성 활성을 측정함으로써 평가하였다. 세포를 96웰 플레이트($2,000$ 개 세포/ $90\mu\ell$ /웰)에 플레이팅하고 2쌍으로 밤새 배양하였다. 항-GD2 항체를 제조사의 지시에 따라 실온에서 Hum-ZAP 이차 콘쥬게이트와 배양하였다. 이어서, $10\mu\ell$ /웰의 mAb 및 Hum-ZAP 복합체를 상기 세포에 첨가하고 3일 동안 배양하였다. mAb의 최종 농도는 $10\mu\text{g}/\text{ml}$ 였다. 분석을 세 번 수행하였다. $25\mu\ell$ 의 티아졸릴 블루 테트라졸륨 브로마이드(Thiazolyl Blue Tetrazolium Bromide)(cat#M5655, Sigma, 미국 미주리주 세인트루이스) 용액(PBS 중 $5\text{mg}/\text{ml}$)을 각각의 웰에 첨가하고 37°C 에서 배양하였다. 배양한 지 2시간 후, $100\mu\ell$ /웰의 용액(20% SDS/ 50% N,N-디메틸포름아미드, cat#D4551, Sigma, 미국 미주리주 세인트루이스)을 각각의 웰에 첨가하고 37°C 에서 추가로 4시간 동안 배양하였다. OD를 $570/690\text{nm}$ 에서 측정하고, 중간값만을 갖는 수득된 값을 플레이트 백그라운드 감산(background subtraction)에 사용하였다. 항체가 없는 3개의 평행한 배지(parallel culture)를 사용하여 샘플 갯수(샘플/미처리 평균 $\times 100$)을 정규화하였다.

- [0164] pH 민감성 세포내 형광 프로브를 사용한 내재화 분석: 염소 항-사람 IgG F(ab')₂ 단편(Jackson ImmunoResearch, cat#109-006-006)을 제조사의 프로토콜에 따라 pHAb 아민 반응성 염료(Promega, cat#G9841)와 콘쥬게이트시켰다. pHAb는, 세포가 이들의 리소좀(lysosome) 내로 항체를 취입하는 경우 접하게 되는 산성 pH에서 형광만을 나타내는 pH 센서 염료이다. 간단히 말하면, 6 μ g/ml(200 μ l/튜브)의 일차 항체(1B7, 31F9, 5A7G3, 및 시약 대조군으로서의 mAb 없음) 및 4.5 μ g/ml(200 μ l/튜브)의 항-사람 IgG F(ab')₂-pHAb를 실온에서 20분 동안 배양하였다. H524 또는 TC-71 세포를 RPMI1640 +10% FBS + 글루타민 + P/S 배지에 1.5×10^6 개 세포/ml로 재현탁시켰다. 200 μ l의 세포를 일차 항체와 이차 항체의 혼합물에 첨가하고 4°C에서 40분 동안 배양하였다. 상기 세포를 원심분리하고, 0.5ml의 배지에 재현탁시키고, 96웰 조직 배양 플레이트에 분배하고, 37°C, 5% CO₂에서 배양하였다. 구아바 익스프레스프로 소프트웨어를 사용한 유동 세포계수법 분석을 위해 1시간, 2시간, 4시간 및 24시간에 샘플을 취해 양성 세포(%)를 측정하였다.
- [0165] 이종이식편 이식 모델: 골육종 SaOS2 세포를 ATCC(Cat # HTB-85; 미국 버지니아주 매너서스)에서 입수하고 암컷 CB17 SCID 마우스(5 내지 8주령)를 Taconic(미국 뉴욕주 저먼타운)에서 구입하였다. 0.1mL 완전 성장 배지 중 SaOS2 세포(1×10^6 개)를 꼬리 정맥을 통해 0일에 28G 니들이 있는 BD 인슐린 주사기(BD, 미국 뉴저지주 프랭클린 레이크)를 사용하여 주사하였다. 200 μ g의 mAb(1B7 또는 31F9)를 종양 세포를 주사한 지 1일, 4일, 8일, 11일, 14일, 21일 및 28일 후에 복막내 주사하였다. 매일 생존을 관찰하고, GraphPad Prism 6.05(GraphPad Software, 미국 캘리포니아주 샌디에고)를 사용하여 카플란 마이어(Kaplan-Meier) 생존 곡선을 생성시켰다.
- [0166] 유잉(Ewing) 육종 TC-71 세포를 Leibniz-Institute DSMZ GmbH(독일 브라운슈바)에서 입수하고 제안된 대로 배양하였다. BD Matrigel™ 기저막 세포질(Basement Membrane Matrix)(Becton Dickinson Bioscience) 0.1ml 중의 TC-71 세포(0.1×10^6 개)를 그룹당 5마리의 암컷 CB17 SCID 마우스(5 내지 8주령)의 오른쪽 뒷 옆구리에 0일에 피하 주사하였다. 200 μ g의 mAb(1B7 또는 31F9)를 종양 세포를 주사한 지 1일, 4일, 8일, 11일, 14일, 21일 및 28일 후에 복막내 주사하였다. 대조군 동물에게는 PBS를 모의 주사(mock injection)하였다. 마우스를 1주에 2회 종양 성장에 대해 관찰하고 종양 크기를 칼리퍼로 측정하였다. 종양 용적(mm^3)을 길이×폭×0.5로서 계산하였다.
- [0167] 모든 절차를 Memorial Sloan Kettering Cancer Center Institutional Animal Care and Use Committee에 의해 승인된 프로토콜하에서 수행하였다.
- [0168] 면역글로불린 cDNA 클론화 및 재조합 항체 발현: 사람 mAb 중쇄 및 경쇄 cDNA의 가변 영역을 각각의 하이브리도마 또는 LCL 세포주로부터 RT-PCR로 회수하고, 전에 기재된 바와 같은 IgG1 또는 IgM 중쇄, 또는 IgK 또는 IgL 경쇄 발현 벡터 내로 서브클론화하였다(Sawada-Hirai, R., et al. *Human anti-anthrax protective antigen neutralizing monoclonal antibodies derived from donors vaccinated with anthrax vaccine adsorbed*. J Immune Based Ther Vaccines 2(1): 5 (2004)). Ig 중쇄 또는 경쇄 발현 벡터를 Not I 및 Sal I로 2중 소화시킨 다음, 두 단편을 결찰시켜 이중 유전자 발현 벡터를 생성하였다. 6웰 플레이트의 CHO 세포를, 리포펙타민(Lipofectamine) 2000(cat#11668019, Life Technologies, 미국 캘리포니아주 칼스배드)을 사용하여 상기 이중 유전자 발현 벡터로 형질감염시켰다. 24시간 후, 형질감염된 세포를 선택 배지[10% 투석된 FBS (cat#26400044, Life Technologies, 미국 캘리포니아주 칼스배드), 50 μ M L-메티오닌 설포시민(MSX, cat#M5379, Sigma, 미국 미주리주 세인트루이스) GS 보충물(cat#58762C, Sigma, 미국 미주리주 세인트루이스) 및 폐니실린/스트렙토마이신(cat#PS-20, Omega Scientific, 미국 캘리포니아주 타자나)이 보충된 DMEM]를 함유한 10cm 접시로 옮겼다. 2 주 후, MSX 내성 형질감염체를 분리하고 확대하였다. GD2 특이적 ELISA 분석으로 상청액 중의 항체 수준을 측정함으로써 항-GD2 항체를 많이 생성하는 클론을 선택하고 대규모 mAb 생산을 위해 확대하였다.
- [0169] 결과
- [0170] 재조합 항체의 생성: 11개의 선택된 항체로부터의 중쇄 및 경쇄 가변 영역을 RT-PCR로 회수하고, 전장 IgG 또는 IgM 중쇄, 또는 IgK 또는 IgL 경쇄 발현 벡터 내로 클론화하였다. IMGT/V-Quest(Brochet et al., *Nucleic Acids Res.*, 36:W503-8 (2008))를 사용한 문자 서열 분석으로 9개의 선택된 사람 항-GD2 항체가 3개의 상이한 VH 패밀리 및 모든 사용된 카파 경쇄로부터 유래된 것으로 드러났다. 이를 IgG 항체는 생식세포 계열에서 벗어난 각각 5, 7, 8, 9, 10 또는 20개의 돌연변이를 갖는 상이한 CDR 서열을 나타냈다(도 1 내지 14, 17 내지 21 및 표 3). IgM 항체(2E12)는 또한 카파 경쇄를 사용하고 3개의 중쇄 돌연변이를 갖는다(도 15 및 16, 및 표 3). 웨이브 생물반응장치 시스템 중의 CHO 세포주에서 재조합 항체를 생성시키고, IgG 및 IgM에 대해 각각 단백질 A 또는 하이드록시아파타이트 크로마토그래피를 사용하여 정제하였다. 정제된 재조합 항체는 ELISA 결합 및 특이

성에 대해 본래의 하이브리도마 유도된 항체의 특성을 유지하였다.

표 3: 선택된 사람 항-GD2 항체의 cDNA 분류

클론 ID	VH				VL				
	VH	생식계열로 부터의 돌연변이	DH (RF)	CDR 길이	JH	VL	생식계열로 부터의 돌연변이	CDR 길이	JL
1B7	1-3*01	10	2-21*02(3)	8, 8, 13	4*02	K2-28*01	5	11, 3, 9	JK3*01
2H12	1-3*01	7	2-21*02(3)	8, 8, 13	4*02	K2-28*01	0	11, 3, 9	JK1*01
1G2	1-46*01	9	2-15*01(3)	8, 8, 12	4*02	K4-1*01	6	12, 3, 9	JK1*01
1E9	1-46*01	9	3-9*01(2)	8, 8, 12	4*02	K4-1*01	3	12, 3, 9	JK2*01
1H3	1-46*01	10	2-21*01(3)	8, 8, 12	4*02	K4-1*01	0	12, 3, 9	JK1*01
2F5	1-46*01	7	2-15*01(3)	8, 8, 12	4*02	K4-1*01	1	12, 3, 9	JK1*01
2F7	1-3*01	20	3-3*01(2)	8, 8, 13	3*02	K2-28*01	4	11, 3, 9	JK1*01
2E12	1-3*01	3	2-15*01 (3)	8, 8, 13	4*02	K2-28*01	4	11, 3, 9	JK2*01
31F9	1-8*01	5	4-23*01 (1)	8, 8, 14	3*02	K1-27*01	5	6, 3, 9	JK1*01
32E2	1-46*03	8	5-24*01 (1)	8, 8, 12	4*02	K4-1*01	1	12, 3, 9	JK2*02

[0171]

[0172]

결합 특이성: 항원 특이적 ELISA 분석에서, 7개의 사람 항-GD2 항체(1B7, 2H12, 1G2, 2F7, 2E12, 31F9 및 32E2)는 GD2-PAA 콘쥬게이트에 대해 강한 반응성을 보였지만, GD3-PAA, Globo-H, MUC1, Tn-PAA, sTn-PAA, TF-PAA 또는 SLeA-PAA에 대해서는 그렇지 않았다. 3개의 항체(1B7, 2H12 및 2F7)가 또한 GM2-PAA 콘쥬게이트에 대해 교차활성을 나타냈다. 유사하게, 상기 7개의 항체가 또한 GD2-세라마이드 콘쥬게이트(GD2-cer)에 강한 반응성을 나타냈지만, GD3-세라마이드 콘쥬게이트(GD3-cer), F-GM1-세라마이드 콘쥬게이트(F-GM1-cer) 또는 GM3-세라마이드 콘쥬게이트(GM3-cer)에 대해서는 그렇지 않았다.

표 4: ELISA에 의해 측정된 항-GD2 항체의 결합

클론 ID	PBS	GM2-PAA	GD2-PAA	GD3-PAA	Globo-H	MUC1	Tn-PAA	sTn-PAA	TF-PAA	sLeA-PAA
1B7	0.08	2.54	3.21	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08
2H12	0.08	2.37	2.98	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08
1G2	0.09	0.09	2.77	0.10	0.09	0.09	0.09	0.09	0.09	0.09
2F7	0.10	1.03	2.89	0.13	0.12	0.11	0.10	0.10	0.10	0.10
2E12*	0.12	0.38	2.94	0.09	0.08	0.09	0.09	0.09	0.09	0.39
31F9	0.08	0.09	1.36	0.08	0.08	0.08	0.08	0.14	0.08	0.19
32E2	0.09	0.11	2.80	0.23	0.10	0.11	0.14	0.21	0.11	0.11

클론 ID	EtOH	GM2-cer	GD2-cer	GD3-cer	F-GM1-cer	GM3-cer
1B7	0.08	0.82	2.14	0.08	0.08	0.07
2H12	0.08	0.23	1.86	0.08	0.09	0.08
1G2	0.09	0.10	1.45	0.08	0.08	0.08
2F7	0.09	0.12	2.27	0.09	0.08	0.08
2E12*	0.08	0.17	2.06	0.10	0.08	0.08
31F9	0.09	0.09	1.19	0.09	0.10	0.16
32E2	0.09	0.09	0.62	0.11	0.09	0.09

2ug/ml에서 ELISA에 의한 결합 특이성; * IgM

[0173]

[0174]

종양 세포 결합 분석: 세포 표면 결합은 세포독성 활성에 중대하므로, 항-GD2 항체인 1B7, 2H12, 1G2, 2F7, 2E12, 31F9 및 32E2에 대해 시험하였다. 유동 세포계수법은 7개의 항체 모두, 소세포 암 세포주인 H524, 신경아세포종 세포주인 Lan1-Luc, 유방암 세포주인 Hs527T 및 2개의 육종 세포주인 TC71과 SaOS2에 대해 강한 결합을 나타냈다. 양성 결합이 또한 상기 7개의 항체 중 일부와 췌장암 세포, 급성 T 세포 백혈병, 흑색종 세포 및 다른 육종 세포를 포함한 다른 암 세포주 사이에서 관찰되었다(표 5).

표 5: 항-GD2-mAb의 상이한 세포주로의 결합

클론 ID	췌장암						SCLC					
	BxPC3 (5ug/ml)			Capan-2 (5ug/ml)			DMS79 (5ug/ml)			H524 (5ug/ml)		
	Geo-MFI	MFI	% 양성	Geo-MFI	MFI	% 양성	Geo-MFI	MFI	% 양성	Geo-MFI	MFI	% 양성
1B7	5.38	7.3	2.73	5.48	8.09	11.08	61.71	138.69	88.65	799.87	1304.65	99.95
2H12	2.27	2.77	1.85	4.73	11.69	13.84	8.15	16.12	31.45	1919.7	2917.48	97.78
1G2	2.39	3.21	0.73	3.8	5.33	2.65	5.12	9.79	14.66	147.49	228.29	99.48
2F7	2.78	3.22	1.31	3.33	3.95	1.29	4.04	6.11	5.37	526.45	731.9	100
2E12*	3.77	4.55	10.43	18.17	24.72	77.5	15.99	18.85	72.6	456.04	983.34	99.48
31F9	9.94	34.43	67.52	9.8	32.38	37.51	35.06	101.5	70.71	2249.34	3321.89	97.05
32E2	2.26	13.65	62.87	19.94	26.96	82.87	8.92	17.16	35.13	89.53	134.1	98.12
⋮												
신경아세포종			급성 T 세포 백혈병			흑색종						
Lan1-Luc (5ug/ml)			Jurkat (5ug/ml)			SK-MEL 28 (5ug/ml)			SK-MEL19 (5ug/ml)			
클론 ID	Geo-MFI	MFI	%	Geo-MFI	MFI	%	Geo-MFI	MFI	%	Geo-MFI	MFI	%
1B7	634.22	782.54	100	20.43	68.4	64.46	3.35	3.58	1.32	3.32	5.3	8.47
2H12	1181.18	1776.73	100	15.17	72.83	55.62	2.79	3.4	1.45	4.68	7.18	4.52
1G2	109.5	187.99	94.82	3.64	6.89	6.84	3.05	3.5	1.71	3.81	4.33	0.92
2F7	365.29	612.53	99.65	3.68	8.1	8.13	2.76	2.95	0.36	4	4.7	1.49
2E12*	122.66	307.13	94.71	3.9	8.65	8.71	2.73	2.9	0.21	4.58	5.09	2.02
31F9	379.28	751.54	99.63	8.74	30.53	38.13	65.83	85.92	98.64	290.52	329.63	100
32E2	55.99	105.08	86.16	5.16	12.46	18.76	3.71	4.8	6.94	8.99	13.51	35.7
⋮												
유방암			대장암									
MCF 7 (5ug/ml)			MDA-MB-231 (5ug/ml)			Hs527T (5ug/ml)			HT29 (5ug/ml)			
클론 ID	Geo-MFI	MFI	%	Geo-MFI	MFI	%	Geo-MFI	MFI	%	Geo-MFI	MFI	%
1B7	93.48	196.08	91.25	76.41	771.46	67.24	125.64	653.11	90.57	4.36	6.85	2.9
2H12	3.26	8.23	4.68	94.58	777.5	73.38	74.66	241.04	90.74	4.67	6.52	1.15
1G2	2.84	3.46	1.02	3.9	4.59	0.74	6.66	13.47	13.87	4.47	5.9	1.66
2F7	2.94	3.51	6.04	9.03	45.09	17.61	14.47	92.7	33.71	4.67	5.83	1.79
2E12*	6.85	7.77	3.69	4.19	4.97	0.93	14.97	56.47	52.2	8.08	13.45	7.55
31F9	4.36	5.2	6.15	109.38	178.36	90.7	110.26	323.89	97.13	4.15	5.33	1.47
32E2	3.77	5.75	7.5	6.02	7.75	3.99	9.71	27.47	27.28	5.29	13.27	5.52
⋮												
육종												
ST88 (5ug/ml)			LS141 (5ug/ml)			TC71 (5ug/ml)			SaOS2 (5ug/ml)			
클론 ID	Geo-MFI	MFI	%	Geo-MFI	MFI	%	Geo-MFI	MFI	%	Geo-MFI	MFI	%
1B7	39.34	89.69	87.51	14.32	31.67	69.65	1181.21	1869.11	99.53	890.37	1159.57	99.74
2H12	34.81	69.31	91.8	23.92	37.31	90.78	430.61	820.56	100	731.18	979.77	99.89
1G2	3.49	4.11	2.25	3.4	3.67	0.75	44.57	82.12	95.39	56.16	86.28	96.04
2F7	4.04	6.4	5.74	3.68	4.32	2.22	193.66	377.28	99.44	199.6	317.14	99.63
2E12*	4	9.89	5.15	3.35	3.69	1.68	77.76	209.89	85.59	368.29	664.34	98.98
31F9	165.38	402.28	98.14	54.87	93.62	94.89	128.94	298.18	94.99	897.48	1270.06	100
32E2	5.03	7.13	11.19	5.17	6.03	11.1	40.95	68.1	94.87	124.88	162.96	99.58

* IgM, 2 ug/ml

[0175]

친화도 측정: 바이오티닐화 GD2-PAA를 포획하기 위해 스트렙타비딘 코팅된 바이오센서를 사용하여 SPR로 GD2에 대한 결합의 상대적 친화도/결합활성(avidity)을 조사하였다(표 6).

표 6: 항-GD2 mAb에 대한 동역학 파라미터

mAb	KA (1/M)	KD (M)	ka (1/Ms)	kd (1/s)	종	아이소타입
1B7	1.4x10 ⁹	7.0x10 ⁻¹⁰	1.5x10 ⁶	1.0x10 ⁻³	사람	IgG1/κ
2H12	3.7x10 ⁸	2.7x10 ⁻⁹	6.8x10 ⁵	1.8x10 ⁻³	사람	IgG1/κ
31F9	2.0x10 ⁸	5.0x10 ⁻⁹	1.6x10 ⁵	7.7x10 ⁻⁴	사람	IgG1/κ
31F9V2	3.5x10 ⁸	2.9x10 ⁻⁹	4.0x10 ⁵	1.1x10 ⁻³	사람	IgG1/κ
32E2	1.1x10 ⁸	9.3x10 ⁻⁹	5.0x10 ⁴	4.7x10 ⁻⁴	사람	IgG1/κ
1G2	4.0x10 ⁸	2.5x10 ⁻⁹	4.5x10 ⁵	1.1x10 ⁻³	사람	IgG1/κ
2F7	7.0x10 ⁸	1.4x10 ⁻⁹	1.1x10 ⁶	1.5x10 ⁻³	사람	IgG1/κ
2E12	9.0x10 ⁹	1.1x10 ⁻¹⁰	8.9x10 ⁵	9.9x10 ⁻⁵	사람	IgM/κ

[0177]

CDC 활성: 1B7, 2H12, 1G2, 2F7, 2E12, 31F9, 31F9V2 및 32E2의 기능적 활성을 평가하기 위해, 이들의 세포독성 활성을 보체 공급원으로서의 사람 혈청의 존재하에 4개의 상이한 세포(H524, Lan1-Luc, Jurkat 및 TC-71)를 사용하여 시험하였다. 1B7은 시험된 4개의 세포 중 3개에서 10^{μg/mL}에서 100%에 가까운 사멸 활성을 나타냈다. 2H12, 2F7, 31F9V2 및 32E2는 모두 일부 세포주에 대해 유의한 수준의 CDC 활성을 나타냈다. IgM 항체인 2E12는 H524, Lan1-Luc 및 TC-71에 대해 5^{μg/mL}에서 100%에 가까운 사멸 활성을 나타냈는데, 이는 IgM 항체가 보체

매개된 세포독성 분석에서 보다 효과적인 것으로 알려져 있기 때문에 예상했던 것이다.

표 7: 보체 의존적 세포독성

클론 ID	세포독성 (%)			
	H524	Lan1-luc	Jurkat	TC-71
1B7	98.09	106.23	69.77	94.54
2H12	54.73	103.76	38.38	NT
1G2	-21.44	-4.97	NT	6.23
2F7	-1.07	79.63	63.56	20.57
2E12*	125.04	103.28	NT	91.29
31F9	10.47	-2.09	-10.28	2.91
31F9V2	72.89	28.9	-3.51	45.33
32E2	-18.43	-8.1	22.48	-25.7

최종 농도: IgG 10ug/ml, IgM 5ug/ml; * IgM

[0179]

항체 의존적 세포 매개된 세포독성: 2E12가 CDC 분석에서 보다 효능이 있는 반면, IgG 항체는 항체 의존적 세포 매개된 세포독성(ADCC) 활성을 갖는 것으로 알려졌는데, 이는 생체내 종양 괴사에 중요하다. 6개의 항-GD2 IgG 항체(1B7, 31F9, 31F9V2, 1G2, 2F7 및 32E2)를 5개의 상이한 세포주(SaOS2, H524, Hs578T, TC71)로 시험하였다. 중간값만을 갖는 처리군을 대조군으로 사용하였다. 1B7, 31F9, 31F9V2 및 2F7 항체, 특히 TC71 세포주를 사용하여 높은 수준의 세포독성을 측정하였다(도 24). 1G2 및 32E2가 또한 비록 비교적 낮은 수준의 활성일지라도 어느 정도를 나타냈다.

[0180]

내재화 분석: GD2 발현 세포주인 H524 및 Lan1-luc에 대한 mAb 및 Hum-ZAP 이차 콘쥬게이트 복합체의 세포독성 활성을 측정함으로써 항-GD2 항체의 내재화를 평가하였다. 상기 복합체를 내재화한 세포는 사멸한 반면, 비내재화 사포린은 상기 세포에게 무해하였다. 중간값만을 갖는 처리군을 대조군으로 사용하였다. 도 25에서 보는 바와 같이, H524 세포는 1B7, 31F9 또는 31F9V2의 존재하에 효과적으로 사멸되었다. 유사하게, Lan1-luc 세포는 1B7, 1G2, 2H12, 2F7, 31F9 및 32E2의 존재하에 효과적으로 사멸되었다(도 26).

[0181]

pH 민감성 세포내 형광 프로브를 사용하여 추가의 내재화 분석을 수행하였는데, 이는 pH 민감성 형광 태그를 통해 내재화의 동역학을 직접 측정하는 것이다. 도 27 및 28은 1B7 및 31F9V2의 H524(SCLC) 세포 및 TC-71(육종) 세포로의 내재화의 동역학을 나타낸다. 나타낸 바와 같이, 5A7G3(항-GD3) 및 항-F(ab')2-pHAb 단독에 비해, 상당한 양의 항-GD2 항체를 H524(SCLC) 종양 세포 및 TC-71(육종) 종양 세포 둘 다에 내재화되었다.

[0182]

생체내 모델: 항-GD2 항체의 항종양 효과를 또한 생체내 모델에서 평가하였다. 도 29는 생존 모델의 결과를 나타낸 것으로, 여기서 사람 SaOS2(골육종) 이종이식편이 이식된 SCID 마우스의 생존이 측정되었다. 도 29에 나타낸 바와 같이, 이식된 마우스의 생존율이, 마우스에게 PBS만 주사된 대조군에 비해, 31F9 또는 1B7에 의한 처리로 현저히 증가하였다. 도 30은 피하 종양 모델의 결과를 나타낸 것으로, 여기서 SCID 마우스에서의 사람 TC-71(육종) 이종이식 종양의 성장이 측정되었다. 도 30에 나타낸 바와 같이, 이식된 마우스에서의 종양 용적은, 마우스에게 PBS만 주사된 대조군에 비해, 31F9 또는 1B7에 의한 처리로 현저히 감소되었다.

[0183]

따라서, 위의 데이터는 확립된 종양을 억제하거나 퇴행시키는 유의한 잠재성을 나타내며 사람 항-GD2 mAb 처리를 사용한 생존 이점을 제공한다.

[0184]

본원 전반에 걸쳐 다양한 문헌들이 언급되었다. 이들 문헌의 기재내용은 본 발명이 속하는 분야의 상태를 보다 상세히 기재하기 위해 그 전문이 본원에 원용된다. 본원을 위의 실시예를 참조로 기재하였지만, 본 발명의 취지에서 벗어나지 않고 다양한 수정이 가능한 것으로 생각해야 한다.

도면

도면1

1B7 VH

Q V Q L V E S G A E V K K P G A S V K V
 1 CAAGTGCAGC TGGTGGAGTC TGGGGCTGAG GTGAAGAAC CTGGGCCTC AGTGAAGGTT
 S C K A S G Y T F T S Y A I H W V R Q A
 61 TCCCTGCAAGG CTTCTGGATA CACCTTCACT AGTTATGCTA TACATTGGGT GCGCCAGGCC
 P G Q R L E W M G W I N A G N G Y R K Y
 121 CCCGGACAAA GGCTTGAGTG GATGGGATGG ATCAACGCTG GGAATGGTTA CAGAAAATAT
 S Q K F Q G R V T V T R D T S A S T A Y
 181 TCACAGAAGT TCCAGGGCAG AGTCACCGTT ACCAGGGACA CATCCGGAG CACAGCTAC
 M E L S S L R S E D T A V Y Y C A R F E
 241 ATGGAGCTGA GTAGTTTGAG ATCTGAAGAC ACGGCTGTGT ATTACTGTGC GAGATTGAA
 G G M V T A M D F W G Q G T L V T V S S
 301 GGAGGGATGG TGACTGCCAT GGACTTCTGG GGCCAGGGAA CCCTGGTCAC CGTCTCCTCA

1 CAAGTGCAGC TGGTGGAGTC TGGGGCTGAG GTGAAGAAC CTGGGCCTC AGTGAAGGTT
 61 TCCCTGCAAGG CTTCTGGATA CACCTTCACT AGTTATGCTA TACATTGGGT GCGCCAGGCC
 121 CCCGGACAAA GGCTTGAGTG GATGGGATGG ATCAACGCTG GGAATGGTTA CAGAAAATAT
 181 TCACAGAAGT TCCAGGGCAG AGTCACCGTT ACCAGGGACA CATCCGGAG CACAGCTAC
 241 ATGGAGCTGA GTAGTTTGAG ATCTGAAGAC ACGGCTGTGT ATTACTGTGC GAGATTGAA
 301 GGAGGGATGG TGACTGCCAT GGACTTCTGG GGCCAGGGAA CCCTGGTCAC CGTCTCCTCA

1 Q V Q L V E S G A E V K K P G A S V K V
 21 S C K A S G Y T F T S Y A I H W V R Q A
 41 P G Q R L E W M G W I N A G N G Y R K Y
 61 S Q K F Q G R V T V T R D T S A S T A Y
 81 M E L S S L R S E D T A V Y Y C A R F E
 101 G G M V T A M D F W G Q G T L V T V S S

도면2

1B7 VL

D V V M T Q S P L S L P V T P G E P A S
 1 GATGTTGTGA TGACCCAGTC TCCACTCTCC CTGCCGTCA CCCCTGGAGA GCCGGCCTCC
 I S C R S S Q S L L H R N G Y N Y L D W
 61 ATCTCCTGCA GGTCTAGTC GAGCCTCTG CATAGAAATG GATAACAACTA CTTGGATTGG
 Y L Q K P G Q S P Q L L I Y L G S N R A
 121 TACCTGCAGA AGCCAGGGCA GTCTCCACAG CTCTGATCT ATTGGGTTA TAATCGGGCC
 S G V P D R F S G S G S G T D F T L K I
 181 TCGGGGTCC CTGACAGGGT CAGTGGCAGT GGATCAGGCA CAGATTTAC ACTGAAAATC
 S R V E A E D V G V Y Y C M Q A L Q T P
 241 AGCAGAGTGG AGGCTGAGGA TGTTGGGTT TATTACTGCA TGCAAGCTCT ACAAACTCCC
 F T F G P G T K V D I K
 301 TTCACTTTCG GCCCTGGAC CAAAGTGGAT ATCAAA

1 GATGTTGTGA TGACCCAGTC TCCACTCTCC CTGCCGTCA CCCCTGGAGA GCCGGCCTCC
 61 ATCTCCTGCA GGTCTAGTC GAGCCTCTG CATAGAAATG GATAACAACTA CTTGGATTGG
 121 TACCTGCAGA AGCCAGGGCA GTCTCCACAG CTCTGATCT ATTGGGTTA TAATCGGGCC
 181 TCGGGGTCC CTGACAGGGT CAGTGGCAGT GGATCAGGCA CAGATTTAC ACTGAAAATC
 241 AGCAGAGTGG AGGCTGAGGA TGTTGGGTT TATTACTGCA TGCAAGCTCT ACAAACTCCC
 301 TTCACTTTCG GCCCTGGAC CAAAGTGGAT ATCAAA

1 D V V M T Q S P L S L P V T P G E P A S
 21 I S C R S S Q S L L H R N G Y N Y L D W
 41 Y L Q K P G Q S P Q L L I Y L G S N R A
 61 S G V P D R F S G S G S G T D F T L K I
 81 S R V E A E D V G V Y Y C M Q A L Q T P
 101 F T F G P G T K V D I K

도면3

2H12 VH

```

E V Q L L E S G A E V K K P G A S V K V
1 GAGGTGCAGC TGTTGGAGTC TGGGGCTGAG GTGAAGAACGC CTGGGGCTC AGTGAAGGTT
S C K A S G Y T F T S Y A I H W V R Q A
61 TCTGCAAGG CTTCTGGATA CACCTTCACT AGCTATGCTA TACATTGGGT GCGCCAGGCC
P G Q R L E W M G W I N A G N G Y R K Y
121 CCCGGACAAA GGCTTGAGTG GATGGGATGG ATCAACGCTG GGAATGGTTA CAGAAAATAT
S Q K F Q G R V T V T R D T S A S T A Y
181 TCACAGAAAT TCCAGGGCAG AGTCACCGTT ACCAGGGACA CATCCGGAG CACAGCTAC
M E L S S L R S E D T A V Y Y C A R F E
241 ATGGAGTTGA GCAGCCTGAG ATCTGAAGAC ACGGCTGTGT ATTACTGTGC GAGATTGAA
G G M V T A M D Y W G Q G T L V T V S S
301 GGAGGGATGG TGACTGCCAT GGACTACTGG GGCCAGGGAA CCCTGGTCAC CGTCTCCCTCA

```

```

1 GAGGTGCAGC TGTTGGAGTC TGGGGCTGAG GTGAAGAACGC CTGGGGCTC AGTGAAGGTT
61 TCTGCAAGG CTTCTGGATA CACCTTCACT AGCTATGCTA TACATTGGGT GCGCCAGGCC
121 CCCGGACAAA GGCTTGAGTG GATGGGATGG ATCAACGCTG GGAATGGTTA CAGAAAATAT
181 TCACAGAAAT TCCAGGGCAG AGTCACCGTT ACCAGGGACA CATCCGGAG CACAGCTAC
241 ATGGAGTTGA GCAGCCTGAG ATCTGAAGAC ACGGCTGTGT ATTACTGTGC GAGATTGAA
301 GGAGGGATGG TGACTGCCAT GGACTACTGG GGCCAGGGAA CCCTGGTCAC CGTCTCCCTCA

```

```

1 E V Q L L E S G A E V K K P G A S V K V
21 S C K A S G Y T F T S Y A I H W V R Q A
41 P G Q R L E W M G W I N A G N G Y R K Y
61 S Q K F Q G R V T V T R D T S A S T A Y
81 M E L S S L R S E D T A V Y Y C A R F E
101 G G M V T A M D Y W G Q G T L V T V S S

```

도면4

2H12 VL

```

D I Q V T Q S P L S L P V T P G E P A S
1 GACATCCAGG TGACCCAGTC TCCACTCTCC CTGCCCCGCA CCCCTGGAGA GCCGGCCTCC
I S C R S S Q S L L H S N G Y N Y L D W
61 ATCTCCTGCA GGTCTAGTCA GAGCCTCCTG CATAGTAATG GATACAACTA TTTGGATTGG
Y L Q K P G Q S P Q L L I Y L G S N R A
121 TACCTGCAGA AGCCAGGGCA GTCTCCACAG CTCCCTGATCT ATTTGGGTTTC TAATCGGGCC
S G V P D R F S G S G S G T D F T L K I
181 TCCGGGGTCC CTGACAGGTT CAGTGGCAGT GGATCAGGCA CAGATTTCAC ACTGAAAATC
S R V E A E D V G V Y Y C M Q A L Q T P
241 AGCAGAGTGG AGGCTGAGGA TGTTGGGGTT TATTACTGCA TGCAAGCTCT ACAAACTCCC
F T F G P G I K V D I K
301 TTCACTTTCG GCCCTGGAT CAAAGTGGAT ATCAAA

```

```

1 GACATCCAGG TGACCCAGTC TCCACTCTCC CTGCCCCGCA CCCCTGGAGA GCCGGCCTCC
61 ATCTCCTGCA GGTCTAGTCA GAGCCTCCTG CATAGTAATG GATACAACTA TTTGGATTGG
121 TACCTGCAGA AGCCAGGGCA GTCTCCACAG CTCCCTGATCT ATTTGGGTTTC TAATCGGGCC
181 TCCGGGGTCC CTGACAGGTT CAGTGGCAGT GGATCAGGCA CAGATTTCAC ACTGAAAATC
241 AGCAGAGTGG AGGCTGAGGA TGTTGGGGTT TATTACTGCA TGCAAGCTCT ACAAACTCCC
301 TTCACTTTCG GCCCTGGAT CAAAGTGGAT ATCAAA

```

```

1 D I Q V T Q S P L S L P V T P G E P A S
21 I S C R S S Q S L L H S N G Y N Y L D W
41 Y L Q K P G Q S P Q L L I Y L G S N R A
61 S G V P D R F S G S G S G T D F T L K I
81 S R V E A E D V G V Y Y C M Q A L Q T P
101 F T F G P G I K V D I K

```

도면5

1G2 VH

```

Q V Q L V E S G A E V K K P G A S V K M
1 CAAGTGCAGC TGGTGGAGTC TGGGGCTGAG GTGAAGAACG CTGGGGCCTC AGTGAAGATG
S C R A S G Y T F T R Y Y M H W V R Q A
61 CCTGCAAGG CATCTGGATA CACCTTCACC AGGTACTATA TGCACCTGGGT GCGACAGGCC
P G Q G L E W M G I I N P S A G S T S Y
121 CCTGGACAAG GGCTTGAGTG GATGGAATA ATCAACCTA GTGCTGGTAG CACAAGCTAC
A Q K F Q D R V T M T R D T S R S T V Y
181 GCACAGAAAGT TCCAGGACAG AGTCACCATG ACCAGGGACA CGTCCAGGAG CACAGTCTAC
M E L S S L R S E D T A V Y Y C A R R V
241 ATGGAGCTGA GCAGCCTGAG ATCTGAGGAC ACGGCCGTG ATTACTGTG GAGAAGGGTG
V V G G P F D F W G Q G T L V T V S S
301 GTAGTTGGGG GCCCGTTGA CTTCTGGGC CAGGAAACCC TGGTCACCGT CTCCCTCA

```

```

1 CAAGTGCAGC TGGTGGAGTC TGGGGCTGAG GTGAAGAACG CTGGGGCCTC AGTGAAGATG
61 CCTGCAAGG CATCTGGATA CACCTTCACC AGGTACTATA TGCACCTGGGT GCGACAGGCC
121 CCTGGACAAG GGCTTGAGTG GATGGAATA ATCAACCTA GTGCTGGTAG CACAAGCTAC
181 GCACAGAAAGT TCCAGGACAG AGTCACCATG ACCAGGGACA CGTCCAGGAG CACAGTCTAC
241 ATGGAGCTGA GCAGCCTGAG ATCTGAGGAC ACGGCCGTG ATTACTGTG GAGAAGGGTG
301 GTAGTTGGGG GCCCGTTGA CTTCTGGGC CAGGAAACCC TGGTCACCGT CTCCCTCA

```

```

1 Q V Q L V E S G A E V K K P G A S V K M
21 S C R A S G Y T F T R Y Y M H W V R Q A
41 P G Q G L E W M G I I N P S A G S T S Y
61 A Q K F Q D R V T M T R D T S R S T V Y
81 M E L S S L R S E D T A V Y Y C A R R V
101 V V G G P F D F W G Q G T L V T V S S

```

도면6

1G2 VL

```

D I Q M T Q S P D S L A V S L G E R A T
1 GACATCCAGA TGACCCAGTC TCCAGACTCC CTGGCTGTGT CTCTGGCGA GAGGCCACC
I N C K S S Q S V L Y S P N K K N Y L A
61 ATCAACTGCA AGTCCAGCA GAGTGTTTA TACAGCCCCA ACAAAAAGAA CTACTTAGCT
W Y Q Q K P G Q P P S L L F Y W A S T R
121 TGTTACCAAGC AGAAACCCAGG ACAGCCTCC AGTCTGCTCT TTTACTGGC ATCTACCCGG
E S G V P D R F S G S G T D F T L T
181 GAATCCGGGG TCCCTGACCG ATTCACTGGC AGCAGGGCTCG GGACAGACTT CACTCTCACC
I S S L Q A E D V A V Y Y C Q Q Y Y S T
241 ATCAGCAGCC TGCAGGCTGA AGATGTGGCA GTTTATTACT GTCAGCAATA TTATAGTACT
P P T F G Q G T K V E I K
301 CCTCCGACGT TCGGCCAAGG GACCAAGGTG GAAATCAA

```

```

1 GACATCCAGA TGACCCAGTC TCCAGACTCC CTGGCTGTGT CTCTGGCGA GAGGCCACC
61 ATCAACTGCA AGTCCAGCA GAGTGTTTA TACAGCCCCA ACAAAAAGAA CTACTTAGCT
121 TGTTACCAAGC AGAAACCCAGG ACAGCCTCC AGTCTGCTCT TTTACTGGC ATCTACCCGG
181 GAATCCGGGG TCCCTGACCG ATTCACTGGC AGCAGGGCTCG GGACAGACTT CACTCTCACC
241 ATCAGCAGCC TGCAGGCTGA AGATGTGGCA GTTTATTACT GTCAGCAATA TTATAGTACT
301 CCTCCGACGT TCGGCCAAGG GACCAAGGTG GAAATCAA

```

```

1 D I Q M T Q S P D S L A V S L G E R A T
21 I N C K S S Q S V L Y S P N K K N Y L A
41 W Y Q Q K P G Q P P S L L F Y W A S T R
61 E S G V P D R F S G S G S G T D F T L T
81 I S S L Q A E D V A V Y Y C Q Q Y Y S T
101 P P T F G Q G T K V E I K

```

도면7

1E9 VH

Q V Q L V E S G A E V K K P G A S V R V
 1 CAGGTGCAGC TGGTGAATC TGGGGCTGAG GTGAAGAAC CTGGGGCTC AGTGAGGGTT
 S C K A S G Y R F I S Y Y M H W V R Q A
 61 CCTGCAAGG CATCTGGATA CAGGTTCATC AGCTACTATA TGCACGTGGT GCGACAGGCC
 P G Q G L E W M G I I N P S G G S T S Y
 121 CCTGGACAAG GGCTTGAGTG GATGGGAATA ATCAACCTA GTGGTGGTAG CACAAGCTAC
 A Q K F Q G R V T M T R D T S T S T I Y
 181 GCACAGAAGT TCCAGGGCAG AGTCACCATG ACCAGGGACA CGTCCACGAG CACAATCTAC
 M E L S S L R S E D T A V Y Y C A R R N
 241 ATGGAGCTGA GCAGCCTGAG ATCTGAGGAC ACGGCCGTGT ATTACTGTGC GCGTCGCAAT
 I V T G P F D Y W G Q G T L V T V S S
 301 ATTGTCACGG GTCCATTGTA CTATTGGGC CAGGGAACCC TGGTCACCGT CTCCCTCA

1 CAGGTGCAGC TGGTGAATC TGGGGCTGAG GTGAAGAAC CTGGGGCTC AGTGAGGGTT
 61 CCTGCAAGG CATCTGGATA CAGGTTCATC AGCTACTATA TGCACGTGGT GCGACAGGCC
 121 CCTGGACAAG GGCTTGAGTG GATGGGAATA ATCAACCTA GTGGTGGTAG CACAAGCTAC
 181 GCACAGAAGT TCCAGGGCAG AGTCACCATG ACCAGGGACA CGTCCACGAG CACAATCTAC
 241 ATGGAGCTGA GCAGCCTGAG ATCTGAGGAC ACGGCCGTGT ATTACTGTGC GCGTCGCAAT
 301 ATTGTCACGG GTCCATTGTA CTATTGGGC CAGGGAACCC TGGTCACCGT CTCCCTCA

1 Q V Q L V E S G A E V K K P G A S V R V
 21 S C K A S G Y R F I S Y Y M H W V R Q A
 41 P G Q G L E W M G I I N P S G G S T S Y
 61 A Q K F Q G R V T M T R D T S T S T I Y
 81 M E L S S L R S E D T A V Y Y C A R R N
 101 I V T G P F D Y W G Q G T L V T V S S

도면8

1E9 VL

D V V M T Q T P D S L A V S L G E R A T
 1 GATGTTGTGA TGACTCAGAC TCCAGACTCC CTGGCTGTGT CTCTGGCGA GAGGGCCACC
 I N C K S S Q S V L Y I S N N K N Y L A
 61 ATCAACTGCA AGTCCAGCCA GAGTGTGTTA TACATCTCCA ACAATAAGAA CTACTTAGCT
 W Y Q Q K P G Q P P K L L I Y W A S T R
 121 TGGTACCAAGC AGAAACCCAGG ACAGCCTCCT AAGCTGCTCA TTTACTGGGC ATCTACCCGG
 E S G V P D R F S G S G S G T D F T L T
 181 GAATCCGGGG TCCCTGACCG ATTCACTGGC AGCAGGGCTG GGACAGATT CACTCTCACC
 I S S L Q A E D V A V Y Y C Q H Y Y S T
 241 ATCAGCAGCC TGCAGGCTGA GGATGTGGCA GTTTATTACT GTCAGCACTA TTATAGTACT
 P P T F G Q G T K L E I K
 301 CCTCCCACTT TTGGCCAGGG GACCAAGCTG GAGATCAA

1 GATGTTGTGA TGACTCAGAC TCCAGACTCC CTGGCTGTGT CTCTGGCGA GAGGGCCACC
 61 ATCAACTGCA AGTCCAGCCA GAGTGTGTTA TACATCTCCA ACAATAAGAA CTACTTAGCT
 121 TGGTACCAAGC AGAAACCCAGG ACAGCCTCCT AAGCTGCTCA TTTACTGGGC ATCTACCCGG
 181 GAATCCGGGG TCCCTGACCG ATTCACTGGC AGCAGGGCTG GGACAGATT CACTCTCACC
 241 ATCAGCAGCC TGCAGGCTGA GGATGTGGCA GTTTATTACT GTCAGCACTA TTATAGTACT
 301 CCTCCCACTT TTGGCCAGGG GACCAAGCTG GAGATCAA

1 D V V M T Q T P D S L A V S L G E R A T
 21 I N C K S S Q S V L Y I S N N K N Y L A
 41 W Y Q Q K P G Q P P K L L I Y W A S T R
 61 E S G V P D R F S G S G S G T D F T L T
 81 I S S L Q A E D V A V Y Y C Q H Y Y S T
 101 P P T F G Q G T K L E I K

도면9

1H3 VH

1 Q V Q L V E S G A E V K K P G A S V K V
 1 CAGGTGCAGC TGGTGGAAATC TGGGGCTGAG GTGAAGAACG CTGGGCCTC AGTGAAGGTT
 S C K A S G Y T F A R Y Y M H W V R Q A
 61 CCTGCAAGG CATCTGGATA CACCTTCGCC AGGTACTATA TGCACTGGGT GCGACAGGCC
 P G Q G P E W M G I I N P S G G S T S Y
 121 CCTGGCAAGG GCCCTGAGTG GATGGGCATA ATCAACCTA GTGGTGGAAAG CACAAGTTAC
 A Q K F Q G R V T V T R D T S T S T V Y
 181 GCACAGAAAGT TCCAGGGCG AGTCACCGTG ACCAGGGACA CGTCCACGGAG CACAGTCTAC
 M E L S S L R S E D T A V Y Y C A R R V
 241 ATGGAGCTGA GCAGCCTGAG ATCTGAGGAC ACGGGCTGT ATTACTGTGC GAGGAGGGTG
 V L G G P F D Y W G Q G T L V T V S S
 301 GTACTTGGGG GCCCGTTGA CTACTGGGC CAGGGAAACCC TGGTCACCGT CTCCCTCA

1 CAGGTGCAGC TGGTGGAAATC TGGGGCTGAG GTGAAGAACG CTGGGCCTC AGTGAAGGTT
 61 CCTGCAAGG CATCTGGATA CACCTTCGCC AGGTACTATA TGCACTGGGT GCGACAGGCC
 121 CCTGGCAAGG GCCCTGAGTG GATGGGCATA ATCAACCTA GTGGTGGAAAG CACAAGTTAC
 181 GCACAGAAAGT TCCAGGGCG AGTCACCGTG ACCAGGGACA CGTCCACGGAG CACAGTCTAC
 241 ATGGAGCTGA GCAGCCTGAG ATCTGAGGAC ACGGGCTGT ATTACTGTGC GAGGAGGGTG
 301 GTACTTGGGG GCCCGTTGA CTACTGGGC CAGGGAAACCC TGGTCACCGT CTCCCTCA

1 Q V Q L V E S G A E V K K P G A S V K V
 21 S C K A S G Y T F A R Y Y M H W V R Q A
 41 P G Q G P E W M G I I N P S G G S T S Y
 61 A Q K F Q G R V T V T R D T S T S T V Y
 81 M E L S S L R S E D T A V Y Y C A R R V
 101 V L G G P F D Y W G Q G T L V T V S S

도면10

1H3 VL

D I R V T Q S P D S L A V S L G E R A T
 1 GACATCCGGG TGACCCAGTC TCCAGACTCC CTGGCTGTGT CTCTGGCGA GAGGGCCACC
 I N C K S S Q S V L Y S S N N K N Y L A
 61 ATCAACTGCA AGTCCAGCA GAGTGTTTA TACAGCTCCA ACAATAAGAA CTACTTAGCT
 W Y Q Q K P G Q P P K L L I Y W A S T R
 121 TGGTACCAAGC AGAAAACCAGG ACAGCCTCCT AAGCTGCTCA TTTACTGGGC ATCTACCCGG
 E S G V P D R F S G S G S G T D F T L T
 181 GAATCCGGGG TCCCTGACCG ATTCACTGGC AGCGGGCTCG GGACAGATT CACTCTCACC
 I S S L Q A E D V A V Y Y C Q Q Y Y S T
 241 ATCAGCAGCC TGCAGGCTGA AGATGTGGCA GTTTATTACT GTCAGCAATA TTATAGTACT
 P P T F G Q G T K V E I K
 301 CCTCCGACGT TCGGCAAGG GACCAAGGTG GAAATCAA

1 GACATCCGGG TGACCCAGTC TCCAGACTCC CTGGCTGTGT CTCTGGCGA GAGGGCCACC
 61 ATCAACTGCA AGTCCAGCA GAGTGTTTA TACAGCTCCA ACAATAAGAA CTACTTAGCT
 121 TGGTACCAAGC AGAAAACCAGG ACAGCCTCCT AAGCTGCTCA TTTACTGGGC ATCTACCCGG
 181 GAATCCGGGG TCCCTGACCG ATTCACTGGC AGCGGGCTCG GGACAGATT CACTCTCACC
 241 ATCAGCAGCC TGCAGGCTGA AGATGTGGCA GTTTATTACT GTCAGCAATA TTATAGTACT
 301 CCTCCGACGT TCGGCAAGG GACCAAGGTG GAAATCAA

1 D I R V T Q S P D S L A V S L G E R A T
 21 I N C K S S Q S V L Y S S N N K N Y L A
 41 W Y Q Q K P G Q P P K L L I Y W A S T R
 61 E S G V P D R F S G S G S G T D F T L T
 81 I S S L Q A E D V A V Y Y C Q Q Y Y S T
 101 P P T F G Q G T K V E I K

도면11

2F5 VH

```

E V Q L L E S G A E V K K P G A S V K V
1 GAA GTG CAG C TGT GGAGTC TGGGCTGAG GTGAAGAACG CTGGGCCTC AGTGAAGGTT
S C K A S G Y T F T R Y Y M H W V R Q A
61 CCTGCAAGG CATCTGGATA CACCTTCACC AGATACTATA TGC ACTGGGT GCGACAGGCC
P G Q G L E W M G I I N P S S G S T S Y
121 CCTGGACAAGG GGCTTGAGTG GATGGGAATA ATCAACCTA GTAGTGGTAG CACAAGCTAC
A Q K F Q G R V T M T R D T S T S T V Y
181 GCACAGAAAGT TCCAGGGCAG AGTCACCATG ACCAGGGACA CGTCCACGAG CACAGTCTAC
M E L S S L R S E D M A V Y Y C A R R V
241 ATGGAGCTGA GCAGCCTGAG ATCTGAGGAC ATGGCCGTAT ATTACTGTGC GAGGAGGGTG
V V G G P F D Y W G Q G T L V T V S S
301 GTAGTTGGGG GCCGTTGA CTACTGGGC CAGGGAACCC TGGTCACCGT CTCCTCA

```

```

1 GAA GTG CAG C TGT GGAGTC TGGGCTGAG GTGAAGAACG CTGGGCCTC AGTGAAGGTT
61 CCTGCAAGG CATCTGGATA CACCTTCACC AGATACTATA TGC ACTGGGT GCGACAGGCC
121 CCTGGACAAGG GGCTTGAGTG GATGGGAATA ATCAACCTA GTAGTGGTAG CACAAGCTAC
181 GCACAGAAAGT TCCAGGGCAG AGTCACCATG ACCAGGGACA CGTCCACGAG CACAGTCTAC
241 ATGGAGCTGA GCAGCCTGAG ATCTGAGGAC ATGGCCGTAT ATTACTGTGC GAGGAGGGTG
301 GTAGTTGGGG GCCGTTGA CTACTGGGC CAGGGAACCC TGGTCACCGT CTCCTCA

```

```

1 E V Q L L E S G A E V K K P G A S V K V
21 S C K A S G Y T F T R Y Y M H W V R Q A
41 P G Q G L E W M G I I N P S S G S T S Y
61 A Q K F Q G R V T M T R D T S T S T V Y
81 M E L S S L R S E D M A V Y Y C A R R V
101 V V G G P F D Y W G Q G T L V T V S S

```

도면12

2F5 VL

```

D I Q L T Q S P D S L A V S L G E R A T
1 GACATCCAGT TGACCCAGTC TCCAGACTCC CTGGCTGTGT CTCTGGCGA GAGGCCACC
I N C K S S Q S I L Y S S N N K N Y L A
61 ATCAACTGCA AGTCCAGCA GAGTATTTA TACAGCTCCA ACAATAAGAA CTACTTAGCT
W Y Q Q K P G Q P P K L L I Y W A S T R
121 TGGTACCAAGC AGAAACCAGG ACAGCCTCC AAGCTGCTCA TTTACTGGGC ATCTACCCGG
E S G V P D R F S G S G S G T D F T L T
181 GAATCCGGGG TCCCTGACCG ATTCAAGTGGC AGCGGGTCTG GGACAGATT CACTCTCACC
I S S L Q A E D V A V Y C Q Q Y Y S T
241 ATCAGCAGCC TGCAGGCTGA AGATGTGGCA GTTTATTACT GTCAGCAATA TTATAGTACT
P P T F G Q G T K V E I K
301 CCTCCGACGT TCGGCCAAGG GACCAAGGTG GAAATCAAG

```

```

1 GACATCCAGT TGACCCAGTC TCCAGACTCC CTGGCTGTGT CTCTGGCGA GAGGCCACC
61 ATCAACTGCA AGTCCAGCA GAGTATTTA TACAGCTCCA ACAATAAGAA CTACTTAGCT
121 TGGTACCAAGC AGAAACCAGG ACAGCCTCC AAGCTGCTCA TTTACTGGGC ATCTACCCGG
181 GAATCCGGGG TCCCTGACCG ATTCAAGTGGC AGCGGGTCTG GGACAGATT CACTCTCACC
241 ATCAGCAGCC TGCAGGCTGA AGATGTGGCA GTTTATTACT GTCAGCAATA TTATAGTACT
301 CCTCCGACGT TCGGCCAAGG GACCAAGGTG GAAATCAAG

```

```

1 D I Q L T Q S P D S L A V S L G E R A T
21 I N C K S S Q S I L Y S S N N K N Y L A
41 W Y Q Q K P G Q P P K L L I Y W A S T R
61 E S G V P D R F S G S G S G T D F T L T
81 I S S L Q A E D V A V Y Y C Q Q Y Y S T
101 P P T F G Q G T K V E I K

```

도면13

2F7 VH

E V Q L L E S G A E V K K P G A S V K V
 1 GAAAGTCAGC TGTTGGAGTC TGGGGCTGAG GTGAAGAACG CTGGGGCTC AGTGAAGGTT
 S C K A S G Y I F S R Y A I H W V R Q A
 61 TCCTGCAAGG CTTCTGGATA CATCTTCAGT AGATATGCTA TCCATTGGGT GCGCCAGGCC
 P G Q G L E W M G W I N P F N G F T K Y
 121 CCCGGACAAG GGCTTGAGTG GATGGGATGG ATCAACCCCTT TCAATGGTTT CACAAAATAT
 S Q K F Q G R V A L T R D R S A T T G Y
 181 TCACAGAAAGT TTCAAGGGAG AGTCGCCCTC ACTAGGGACA GATCCCGAC CACAGGCTAC
 M E L S S L T S E D T A V Y Y C A R L E
 241 ATGGAGTTGA GCAGCCTGAC ATCTGAAGAC ACGGCTGTGT ACTACTGTGC GAGGCTGGAA
 S N K F Y A F D I W G Q G T M V T V S S
 301 TCTAACAAAGT TTTATGCTTT TGATATCTGG GGCCAGGGGA CAATGGTCAC CGTCTCTTCA

1 GAAAGTCAGC TGTTGGAGTC TGGGGCTGAG GTGAAGAACG CTGGGGCTC AGTGAAGGTT
 61 TCCTGCAAGG CTTCTGGATA CATCTTCAGT AGATATGCTA TCCATTGGGT GCGCCAGGCC
 121 CCCGGACAAG GGCTTGAGTG GATGGGATGG ATCAACCCCTT TCAATGGTTT CACAAAATAT
 181 TCACAGAAAGT TTCAAGGGAG AGTCGCCCTC ACTAGGGACA GATCCCGAC CACAGGCTAC
 241 ATGGAGTTGA GCAGCCTGAC ATCTGAAGAC ACGGCTGTGT ACTACTGTGC GAGGCTGGAA
 301 TCTAACAAAGT TTTATGCTTT TGATATCTGG GGCCAGGGGA CAATGGTCAC CGTCTCTTCA

1 E V Q L L E S G A E V K K P G A S V K V
 21 S C K A S G Y I F S R Y A I H W V R Q A
 41 P G Q G L E W M G W I N P F N G F T K Y
 61 S Q K F Q G R V A L T R D R S A T T G Y
 81 M E L S S L T S E D T A V Y Y C A R L E
 101 S N K F Y A F D I W G Q G T M V T V S S

도면14

2F7 VL

E I V M T Q S P L S L P V T P G E P A S
 1 GAAATTGTAA TGACACAGTC TCCACTCTCC CTGCCCCGTC CCCCTGGAGA GCCGGGCTCC
 I S C T S S Q S L L H S N G Y N Y L D W
 61 ATCTCCTGCA CGTCTAGTC GAGCCTCTG CATACTAATG GATATAACTA TTTGGATTGG
 Y L Q K P G Q S P Q L L I Y L G S N R A
 121 TACCTTGAGA AGCCAGGGCA GTCTCCACAG CTCCCTGATCT ATTTGGGTTCAATCGGGCC
 S G V P D R F S G S G S G T D F T L K I
 181 TCGGGGGTCC CTGACAGGGT CAGTGGCAGT GGATCAGGCA CAGATTTAC ACTGAAAATC
 S T V E A E D V G V Y Y C M Q A L Q T P
 241 AGCACAGTGG AGGCTGAGGA TGTTGGGGTT TATTACTGCA TGCAAGCTCT ACAAAACTCCG
 W T F G Q G T K V E I K
 301 TGGACGTTG GCCAAGGGAC CAAGGTGGAA ATCAA

1 GAAATTGTAA TGACACAGTC TCCACTCTCC CTGCCCCGTC CCCCTGGAGA GCCGGGCTCC
 61 ATCTCCTGCA CGTCTAGTC GAGCCTCTG CATACTAATG GATATAACTA TTTGGATTGG
 121 TACCTTGAGA AGCCAGGGCA GTCTCCACAG CTCCCTGATCT ATTTGGGTTCAATCGGGCC
 181 TCGGGGGTCC CTGACAGGGT CAGTGGCAGT GGATCAGGCA CAGATTTAC ACTGAAAATC
 241 AGCACAGTGG AGGCTGAGGA TGTTGGGGTT TATTACTGCA TGCAAGCTCT ACAAAACTCCG
 301 TGGACGTTG GCCAAGGGAC CAAGGTGGAA ATCAA

1 E I V M T Q S P L S L P V T P G E P A S
 21 I S C T S S Q S L L H S N G Y N Y L D W
 41 Y L Q K P G Q S P Q L L I Y L G S N R A
 61 S G V P D R F S G S G S G T D F T L K I
 81 S T V E A E D V G V Y Y C M Q A L Q T P
 101 W T F G Q G T K V E I K

도면15

2E12 VH

Q V Q L L E S G A E V K K P G A S V K V
 1 CAAGTGCAGC TGTTGGAGTC TGGGGCTGAG GTGAAGAAC CTGGGGCTC AGTGAAGGTT
 S C K A S G Y T F T S Y A M H W V R Q A
 61 TCCTGCAAGG CTTCTGGATA CACCTTCACT AGCTATGCTA TGCATTGGGT GCGCCAGGCC
 P G Q R L E W M G W I N A G N G N T I Y
 121 CCCGGACAAA GGCTTGAGTG GATGGGATGG ATCAACGCTG GCAATGGTAA CACATATAT
 S Q K F Q A R V T I T R D T S A S T A Y
 181 TCACAGAAGT TCCAGGCCAG AGTCACCAATT ACCAGGGACA CGTCCGGAG CACAGCCTAC
 M E L S S L R S E D T A V Y Y C A R W V
 241 ATGGAGCTGA GCAGCCTGAG ATCTGAAGAC ACGGCTGTGT ATTACTGTGC GAGATGGTAA
 G G V A S Y F D Y W G Q G T L V T V S S
 301 GGAGGGGTGG CCTCGTACTT TGACTACTGG GGCCAGGGGA CCCTGGTCAC CGTCTCCTCA

1 CAAGTGCAGC TGTTGGAGTC TGGGGCTGAG GTGAAGAAC CTGGGGCTC AGTGAAGGTT
 61 TCCTGCAAGG CTTCTGGATA CACCTTCACT AGCTATGCTA TGCATTGGGT GCGCCAGGCC
 121 CCCGGACAAA GGCTTGAGTG GATGGGATGG ATCAACGCTG GCAATGGTAA CACATATAT
 181 TCACAGAAGT TCCAGGCCAG AGTCACCAATT ACCAGGGACA CGTCCGGAG CACAGCCTAC
 241 ATGGAGCTGA GCAGCCTGAG ATCTGAAGAC ACGGCTGTGT ATTACTGTGC GAGATGGTAA
 301 GGAGGGGTGG CCTCGTACTT TGACTACTGG GGCCAGGGGA CCCTGGTCAC CGTCTCCTCA

1 Q V Q L L E S G A E V K K P G A S V K V
 21 S C K A S G Y T F T S Y A M H W V R Q A
 41 P G Q R L E W M G W I N A G N G N T I Y
 61 S Q K F Q A R V T I T R D T S A S T A Y
 81 M E L S S L R S E D T A V Y Y C A R W V
 101 G G V A S Y F D Y W G Q G T L V T V S S

도면16

2E12 VL

E I V L T Q S P L S L S V T P G E P A S
 1 GAAATTGTAT TGACACAGTC TCCACTCTCC CTGTCCGTCA CCCCTGGAGA GCCGGCTCC
 I S C R S S Q S L L H R N G Y N Y F D W
 61 ATCTCCTGCA GGTCTAGTCA GAGCCTCCTG CATAGAAATG GATACAATTA TTTTGATTGG
 Y L Q Q P G Q S P Q L L I Y L G S N R A
 121 TACCTGCAGC AGCCAGGGCA GTCTCCACAG CTCCGTATCT ATTGGGTTTC TAATCGGGCC
 S G V P D R F S G S G S G T D F T L K I
 181 TCCGGGGTCC CTGACAGGTT CAGTGGCAGT GGATCAGGCA CAGATTTAC ACTGAAAATC
 S R V E A E D V G V Y Y C M Q A L Q T P
 241 AGCAGAGTGG AGGCTGAGGA TGTTGGGTT TATTACTGCA TGCAAGCTCT ACAAACTCCG
 Y T F G Q G T K L E I K
 301 TACACTTTG GCCAGGGGAC CAAGCTGGAG ATCAAA

1 GAAATTGTAT TGACACAGTC TCCACTCTCC CTGTCCGTCA CCCCTGGAGA GCCGGCTCC
 61 ATCTCCTGCA GGTCTAGTCA GAGCCTCCTG CATAGAAATG GATACAATTA TTTTGATTGG
 121 TACCTGCAGC AGCCAGGGCA GTCTCCACAG CTCCGTATCT ATTGGGTTTC TAATCGGGCC
 181 TCCGGGGTCC CTGACAGGTT CAGTGGCAGT GGATCAGGCA CAGATTTAC ACTGAAAATC
 241 AGCAGAGTGG AGGCTGAGGA TGTTGGGTT TATTACTGCA TGCAAGCTCT ACAAACTCCG
 301 TACACTTTG GCCAGGGGAC CAAGCTGGAG ATCAAA

1 E I V L T Q S P L S L S V T P G E P A S
 21 I S C R S S Q S L L H R N G Y N Y F D W
 41 Y L Q Q P G Q S P Q L L I Y L G S N R A
 61 S G V P D R F S G S G S G T D F T L K I
 81 S R V E A E D V G V Y Y C M Q A L Q T P
 101 Y T F G Q G T K L E I K

도면17

31F9 VH

Q V Q L L E S G A E V K K P G A S V K V
 1 CAAAGTCAGC TGTTGGAGTC TGGGGCTGAG GTGAAGAACG CTGGGGCTC AGTGAAGGTC
 S C E A S G Y T F T S S D I N W V R Q A
 61 TCCTGCGAGG CTTCTGGATA CACCTTCACC AGTTCTGATA TCAACTGGGT GCGACAGGCC
 T G Q G L E W M G W M M P N S G N T G Y
 121 ACTGGACAAG GGCTTGAGTG GATGGGATGG ATGAACCTA ATAGTGGTAA CACAGGCTAT
 A Q K F Q G R V T M T R N T S I S T A Y
 181 GCACAGAAAGT TCCAGGGCAG AGTCACCATG ACCAGGAACA CCTCCATAAG CACAGCCTAC
 M E L S S L R S E D T A V Y Y C A R E R
 241 ATGGAGCTGA GCAGCCTGAG ATCTGAGGAC ACGGCCGTGT ATTACTGTGC GAGAGAAAGA
 P R R R G G G F D I W G Q G T M V T V S
 301 CCCCGGAGGC GTGGGGGTGG TTTTGATATC TGGGGCCAAG GGACAATGGT CACCGTCTCT
 S
 361 TCA

1 CAAAGTCAGC TGTTGGAGTC TGGGGCTGAG GTGAAGAACG CTGGGGCTC AGTGAAGGTC
 61 TCCTGCGAGG CTTCTGGATA CACCTTCACC AGTTCTGATA TCAACTGGGT GCGACAGGCC
 121 ACTGGACAAG GGCTTGAGTG GATGGGATGG ATGAACCTA ATAGTGGTAA CACAGGCTAT
 181 GCACAGAAAGT TCCAGGGCAG AGTCACCATG ACCAGGAACA CCTCCATAAG CACAGCCTAC
 241 ATGGAGCTGA GCAGCCTGAG ATCTGAGGAC ACGGCCGTGT ATTACTGTGC GAGAGAAAGA
 301 CCCCGGAGGC GTGGGGGTGG TTTTGATATC TGGGGCCAAG GGACAATGGT CACCGTCTCT
 361 TCA

1 Q V Q L L E S G A E V K K P G A S V K V
 21 S C E A S G Y T F T S S D I N W V R Q A
 41 T G Q G L E W M G W M M P N S G N T G Y
 61 A Q K F Q G R V T M T R N T S I S T A Y
 81 M E L S S L R S E D T A V Y Y C A R E R
 101 P R R R G G G F D I W G Q G T M V T V S
 121 S

도면18

31F9V2 VH

Q V Q L Q Q S G A E V K K P G A S V K V
 1 CAGGTACAGC TGCAGCAGTC TGGGGCTGAG GTGAAGAACG CTGGGGCTC AGTGAAGGTC
 S C E A S G Y T F T S S D I N W V R Q A
 61 TCCTGCGAGG CTTCTGGATA CACCTTCACC AGTTCTGATA TCAACTGGGT GCGACAGGCC
 T G Q G L E W M G W M M P K S G N T G Y
 121 ACTGGACAAG GGCTTGAGTG GATGGGATGG ATGAACCTA AAAGTGGTAA CACAGGCTAT
 A Q K F Q G R V T M T R N T S I S T A Y
 181 GCACAGAAAGT TCCAGGGCAG AGTCACCATG ACCAGGAACA CCTCCATAAG CACAGCCTAC
 M E L S S L R S E D T A V Y Y C A R E R
 241 ATGGAGCTGA GCAGCCTGAG ATCTGAGGAC ACGGCCGTGT ATTACTGTGC GAGAGAAAGA
 P R R R G G G F D I W G Q G T M V T V S
 301 CCCCGGAGGC GTGGGGGTGG TTTTGATATC TGGGGCCAAG GGACAATGGT CACCGTCTCT
 S
 361 TCA

1 CAGGTACAGC TGCAGCAGTC TGGGGCTGAG GTGAAGAACG CTGGGGCTC AGTGAAGGTC
 61 TCCTGCGAGG CTTCTGGATA CACCTTCACC AGTTCTGATA TCAACTGGGT GCGACAGGCC
 121 ACTGGACAAG GGCTTGAGTG GATGGGATGG ATGAACCTA AAAGTGGTAA CACAGGCTAT
 181 GCACAGAAAGT TCCAGGGCAG AGTCACCATG ACCAGGAACA CCTCCATAAG CACAGCCTAC
 241 ATGGAGCTGA GCAGCCTGAG ATCTGAGGAC ACGGCCGTGT ATTACTGTGC GAGAGAAAGA
 301 CCCCGGAGGC GTGGGGGTGG TTTTGATATC TGGGGCCAAG GGACAATGGT CACCGTCTCT
 361 TCA

1 Q V Q L Q Q S G A E V K K P G A S V K V
 21 S C E A S G Y T F T S S D I N W V R Q A
 41 T G Q G L E W M G W M M P K S G N T G Y
 61 A Q K F Q G R V T M T R N T S I S T A Y
 81 M E L S S L R S E D T A V Y Y C A R E R
 101 P R R R G G G F D I W G Q G T M V T V S
 121 S

밑줄친 AA = 31F9와 상이

도면19

31F9 VL

D I R M T Q S P S S L S A S V G D R V T
 1 GACATCCGGA TGACCCAGTC TCCATCCTCC CTGTCTGCAT CTGTAGGAGA CAGAGTCACC
 I T C R A S Q G I S N Y L A W Y Q Q K P
 61 ATCACTTGCC GGGCGAGTC GGGCATTAGC AATTATTTAG CCTGGTATCA GCAGAAACCA
 G K V P K F L I Y A A S T L Q S G V P S
 121 GGGAAAGTTC CTAAGTTCT GATCTATGCT GCATCCACTT TGCAATCAGG GGTCCCATCT
 R F S G S G S G T D F T L T I S S L Q P
 181 CGGTTCACTG GCAGTGGATC TGGGACAGAT TTCACTCTCA CCATCAGCAG CCTGCAGCCT
 E D V A T Y Y C Q K Y N S A P W T F G Q
 241 GAAGATGTTG CAACTTATTA CTGTCAGAAG TATAACAGTG CCCCGTGGAC GTTCGGCCAA
 G T K V E I K
 301 GGGACCAAGG TGGAAATCAA A

1 GACATCCGGA TGACCCAGTC TCCATCCTCC CTGTCTGCAT CTGTAGGAGA CAGAGTCACC
 61 ATCACTTGCC GGGCGAGTC GGGCATTAGC AATTATTTAG CCTGGTATCA GCAGAAACCA
 121 GGGAAAGTTC CTAAGTTCT GATCTATGCT GCATCCACTT TGCAATCAGG GGTCCCATCT
 181 CGGTTCACTG GCAGTGGATC TGGGACAGAT TTCACTCTCA CCATCAGCAG CCTGCAGCCT
 241 GAAGATGTTG CAACTTATTA CTGTCAGAAG TATAACAGTG CCCCGTGGAC GTTCGGCCAA
 301 GGGACCAAGG TGGAAATCAA A

1 D I R M T Q S P S S L S A S V G D R V T
 21 I T C R A S Q G I S N Y L A W Y Q Q K P
 41 G K V P K F L I Y A A S T L Q S G V P S
 61 R F S G S G S G T D F T L T I S S L Q P
 81 E D V A T Y Y C Q K Y N S A P W T F G Q
 101 G T K V E I K

도면20

32E2 VH

Q V Q L V E S G A E V K K P G A S V K V
 1 CAAGTGCAGC TGGTGGAGTC TGGGGCTGAG GTGAAGAACG CTGGGGCCTC AGTGAAGGTT
 S C K A S G Y T F T N Y Y M H W V R Q A
 61 TCCCTGCAAGG CATCTGGATA CACCTTCACC AACTACTATA TGCACTGGGT GCGACAGGCC
 P G Q G L E W M G I I N P S R G S T S Y
 121 CCTGGACAAG GGCTCGAGTG GATGGGAATA ATCAACCTTA GTAGAGGTTAG CACAAGCTAC
 A Q K F Q G R V T M T R D T S T S T V Y
 181 GCACAGAAAGT TCCAGGGCAG AGTCACCATG ACCAGGGACA CGTCCACGAG CACAGTCTAC
 M E L S S L R S E D T A V Y Y C A R R Q
 241 ATGGAGCTGA GCAGCCTGAG ATCTGAGGAC ACGGCCGTGT ATTACTGTGC GCGAACGCCAG
 M A T G P F D Y W G Q G T L V T V S S
 301 ATGGCTACAG GCCCCTTGGA CTACTGGGGC CAGGGAAACCC TGGTCACCGT CTCCCTCA

1 CAAGTGCAGC TGGTGGAGTC TGGGGCTGAG GTGAAGAACG CTGGGGCCTC AGTGAAGGTT
 61 TCCCTGCAAGG CATCTGGATA CACCTTCACC AACTACTATA TGCACTGGGT GCGACAGGCC
 121 CCTGGACAAG GGCTCGAGTG GATGGGAATA ATCAACCTTA GTAGAGGTTAG CACAAGCTAC
 181 GCACAGAAAGT TCCAGGGCAG AGTCACCATG ACCAGGGACA CGTCCACGAG CACAGTCTAC
 241 ATGGAGCTGA GCAGCCTGAG ATCTGAGGAC ACGGCCGTGT ATTACTGTGC GCGAACGCCAG
 301 ATGGCTACAG GCCCCTTGGA CTACTGGGGC CAGGGAAACCC TGGTCACCGT CTCCCTCA

1 Q V Q L V E S G A E V K K P G A S V K V
 21 S C K A S G Y T F T N Y Y M H W V R Q A
 41 P G Q G L E W M G I I N P S R G S T S Y
 61 A Q K F Q G R V T M T R D T S T S T V Y
 81 M E L S S L R S E D T A V Y Y C A R R Q
 101 M A T G P F D Y W G Q G T L V T V S S

도면21

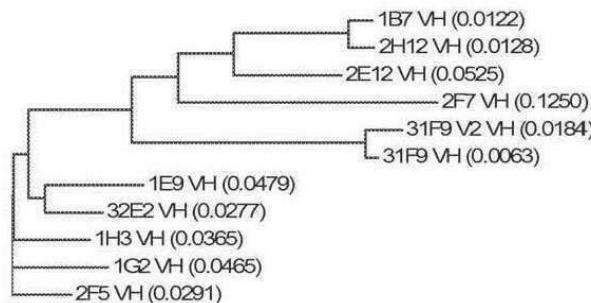
32E2 VL

D I V L T Q S P D S L A V S L G E R A T
 1 GATATTGTGC TGACTCAGTC TCCAGACTCC CTGGCTGTGT CTCTGGCGA GAGGCCACC
 I N C K S S Q S V L Y S S N N K N Y L A
 61 ATCAACTGCA AGTCCAGCCA GAGTGTTTA TACAGCTCCA ACAATAAGAA CTACTTAGCT
 W Y Q Q K P G Q P P K L L I Y W A S T R
 121 TGGTACCCAGC AGAAACCAGG ACAGCCTCCT AAGCTGCTCA TTTACTGGGC ATCTACCCGG
 E S G V P D R F S G S G S G T D F T L T
 181 GAATCCGGGG TCCCTGACCG ATTCACTGGC AGCGGGCTCG GGACAGATT CACTCTCACC
 I S S L Q A E D V A V Y Y C Q Q Y Y S T
 241 ATCAGCAGCC TGCAGGCTGA AGATGTGGCA GTTTATTACT GTCAGCAATA TTATAGTACT
 P P T F G Q G T K L E I K
 301 CCTCCCACTT TTGGCCAGGG GACCAAGCTG GAGATCAA

1 GATATTGTGC TGACTCAGTC TCCAGACTCC CTGGCTGTGT CTCTGGCGA GAGGCCACC
 61 ATCAACTGCA AGTCCAGCCA GAGTGTTTA TACAGCTCCA ACAATAAGAA CTACTTAGCT
 121 TGGTACCCAGC AGAAACCAGG ACAGCCTCCT AAGCTGCTCA TTTACTGGGC ATCTACCCGG
 181 GAATCCGGGG TCCCTGACCG ATTCACTGGC AGCGGGCTCG GGACAGATT CACTCTCACC
 241 ATCAGCAGCC TGCAGGCTGA AGATGTGGCA GTTTATTACT GTCAGCAATA TTATAGTACT
 301 CCTCCCACTT TTGGCCAGGG GACCAAGCTG GAGATCAA

1 D I V L T Q S P D S L A V S L G E R A T
 21 I N C K S S Q S V L Y S S N N K N Y L A
 41 W Y Q Q K P G Q P P K L L I Y W A S T R
 61 E S G V P D R F S G S G S G T D F T L T
 81 I S S L Q A E D V A V Y Y C Q Q Y Y S T
 101 P P T F G Q G T K L E I K

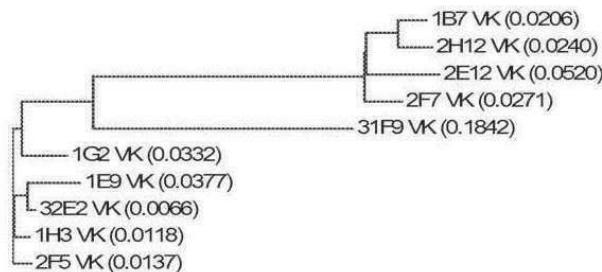
도면22



VH 부위의 정렬

		50
2E12 VH	(1) QVQLLESQAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYAMHWRQAPGQRLEWMGW	
2F7 VH	(1) EVQLQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYIFRSYAIHWVRQAPGQGLEWMGW	
31F9 V2 VH	(1) QVQLQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSSDINWVRQATGQGLEWMGW	
31F9 VH	(1) QVQLLESQAEVKKPGASVKVSCKASGYRISYYMHWRQAPGQGLEWMGI	
1E9 VH	(1) QVQLVQESQAEVKKPGASVRVSCKASGYRISYYMHWRQAPGQGLEWMGI	
1B7 VH	(1) QVQLVQESQAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYAIHWVRQAPGQRLEWMGW	
32E2 VH	(1) QVQLVQESQAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMHWRQAPGQGLEWMGI	
1H3 VH	(1) QVQLVQESQAEVKKPGASVKVSCKASGYTFARYYMHWRQAPGQGLEWMGI	
2H12 VH	(1) EVQLLESQAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYAIHWVRQAPGQRLEWMGW	
1G2 VH	(1) QVQLVQESQAEVKKPGASVKMSCRASGYTFTRYYMHWRQAPGQGLEWMGI	
2F5 VH	(1) EVQLLESQAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYYMHWRQAPGQGLEWMGI	
공통	(1) QVQLLESQAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSY MHWRQAPGQGLEWMGW	
		51
2E12 VH	(51) INAGNGNTIYSQKFQARVTITRDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARNV	
2F7 VH	(51) INPNFGFTKYSQKFQGRVALTRDRSATTGMYMELSSLTSEDTAVYYCARLE	
31F9 V2 VH	(51) MNPKSGNTGYAQKFQGRVTMTRNTSISTAYMELSSLRSEDTAVYYCARER	
31F9 VH	(51) MNPNSGNTGYAQKFQGRVTMTRNTSISTAYMELSSLRSEDTAVYYCARER	
1E9 VH	(51) INPSGGSTSVAQKFQGRVTMTRDTSTIYMEELSSLRSEDTAVYYCARR-	
1B7 VH	(51) INAGNGYRKYSQKFQGRVTVTRDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARFE	
32E2 VH	(51) INPSRGSTSVAQKFQGRVTMTRDTSTVYMEELSSLRSEDTAVYYCARR-	
1H3 VH	(51) INPSGGSTSVAQKFQGRVTVTRDTSTVYMEELSSLRSEDTAVYYCARR-	
2H12 VH	(51) INAGNGYRKYSQKFQGRVTMTRDTSRSTVYMEELSSLRSEDTAVYYCARR-	
1G2 VH	(51) INPSAGSTSVAQKFQDRVTMTRDTSRSTVYMEELSSLRSEDTAVYYCARR-	
2F5 VH	(51) INPSGGSTSVAQKFQGRVTMTRDTSTVYMEELSSLRSEDMAVYYCARR-	
공통	(51) INP G T YAQKFQGRVTMTRDT STAYMELSSLRSEDTAVYYCAR	
	101	121
2E12 VH	(101) -GGVASYFDYWGQGTLVTVSS	
2F7 VH	(101) -SNKFYAFDINGQGTMVTVSS	
31F9 V2 VH	(101) PRRRGGGFDIWGQGTMVTVSS	
31F9 VH	(101) PRRRGGGFDIWGQGTMVTVSS	
1E9 VH	(100) -NIVTGFDFDYGQGTLVTVSS	
1B7 VH	(101) -GGMVTAMDWFWGQGTLVTVSS	
32E2 VH	(100) -QMATGGFDYWGQGTLVTVSS	
1H3 VH	(100) -VVLGGPFDYWGQGTLVTVSS	
2H12 VH	(101) -GGMVTAMDWFWGQGTLVTVSS	
1G2 VH	(100) -VVGGGPFDWFWGQGTLVTVSS	
2F5 VH	(100) -VVVGGPFDYWGQGTLVTVSS	
공통	(101) VGG FDYWGQGTLVTVSS	

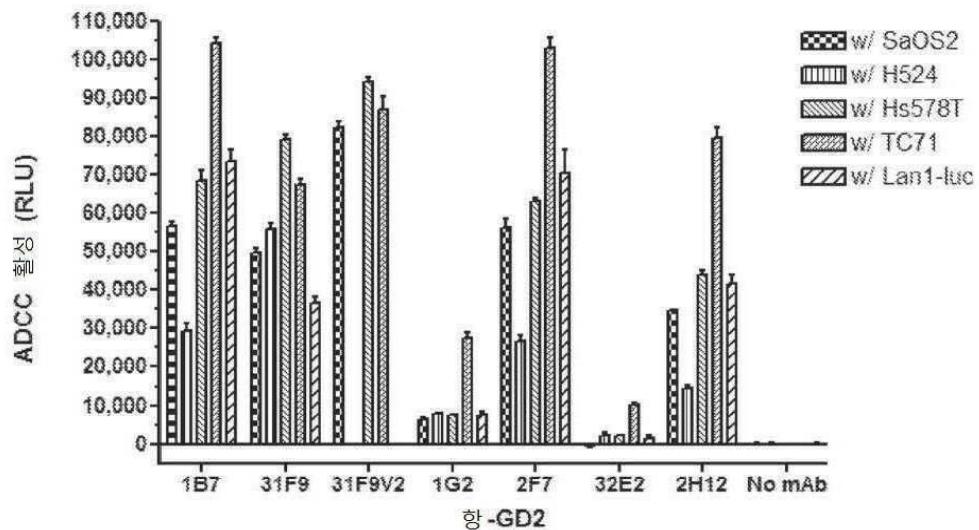
도면23



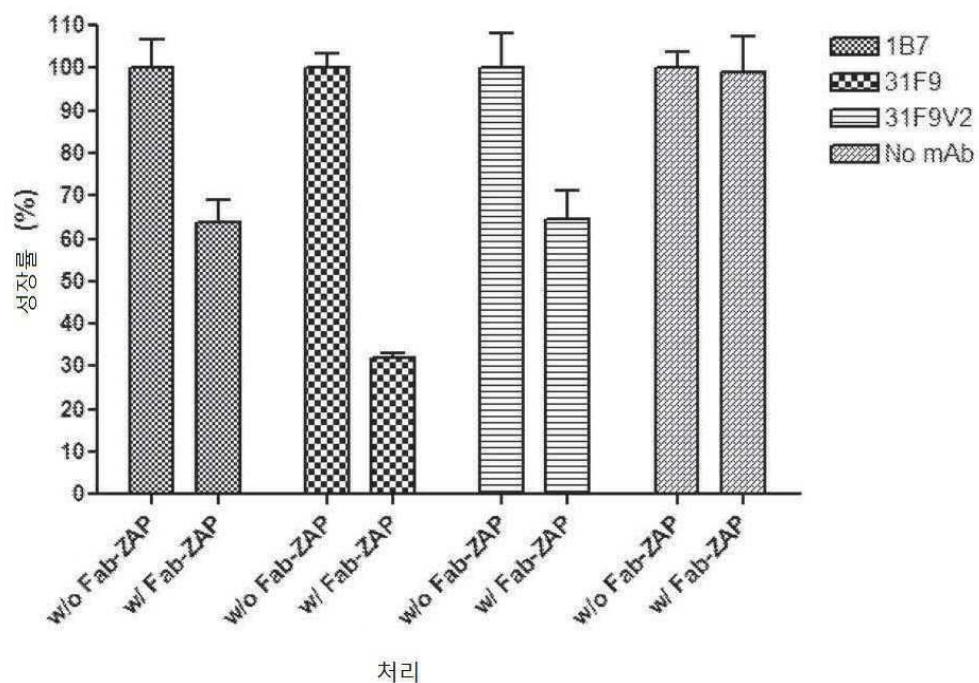
VL 부위의 정렬

	1	50
1B7 VL	(1) DVVMTQSPPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLHR-NGNYLDWYLQKPGQSP	
2H12 VL	(1) DIQVTQSPPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLHS-NGNYLDWYLQKPGQSP	
2E12 VL	(1) EIVLTQSPPLSLSVTPGEPASISCRSSQSLLHR-NGNYFDWYLQQPGQSP	
2F7 VL	(1) EIVMTQSPPLSLPVTPGEPASISCTSSQSLLHS-NGNYLDWYLQKPGQSP	
31F9 VL	(1) DIRMTQSPSLLSASVGDRVITCRASQGIS-----YLAWYQQKPGKVP	
1G2 VL	(1) DIQMTQSPDLSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSPNKKNYLAWYQQKPGQPP	
1E9 VL	(1) DVVMTQTPDLSLAVSLGERATINCKSSQSVLYISNNKNYLAWYQQKPGQPP	
32E2 VL	(1) DIVLTQSPDLSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNNKNYLAWYQQKPGQPP	
1H3 VL	(1) DIRVTQSPDLSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNNKNYLAWYQQKPGQPP	
2F5 VL	(1) DIQLTQSPDLSLAVSLGERATINCKSSQSILYSSNNKNYLAWYQQKPGQPP	
공통	(1) DIVMTQSPDLSLAVSLGERATINCKSSQSLLYS N KNYLAWYQQKPGQPP	
	51	100
1B7 VL	(50) QLLIYLGSNRASGVPDFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQT	
2H12 VL	(50) QLLIYLGSNRASGVPDFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQT	
2E12 VL	(50) QLLIYLGSNRASGVPDFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQT	
2F7 VL	(50) QLLIYLGSNRASGVPDFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQT	
31F9 VL	(45) KFLIIYAASTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQKYNSA	
1G2 VL	(51) SLLFYWASTRESGVPDFSGSGSGTDFTLTISSLQAEVDVAVYYCQQYST	
1E9 VL	(51) KLLIYWASTRESGVPDFSGSGSGTDFTLTISSLQAEVDVAVYYCQHYYST	
32E2 VL	(51) KLLIYWASTRESGVPDFSGSGSGTDFTLTISSLQAEVDVAVYYCQQYST	
1H3 VL	(51) KLLIYWASTRESGVPDFSGSGSGTDFTLTISSLQAEVDVAVYYCQHYYST	
2F5 VL	(51) KLLIYWASTRESGVPDFSGSGSGTDFTLTISSLQAEVDVAVYYCQQYST	
공통	(51) KLLIYWASTRESGVPDFSGSGSGTDFTLTISSLQAEVDVAVYYCQQYST	
	101	113
1B7 VL	(100) PFTFGPGTKVDIK	
2H12 VL	(100) PFTFGPGIKVDIK	
2E12 VL	(100) PYTFGQGTTKLEIK	
2F7 VL	(100) PWTFGQGTTKVEIK	
31F9 VL	(95) PWTFGQGTTKVEIK	
1G2 VL	(101) PPTFGQGTTKVEIK	
1E9 VL	(101) PPTFGQGTTKVEIK	
32E2 VL	(101) PPTFGQGTTKLEIK	
1H3 VL	(101) PPTFGQGTTKVEIK	
2F5 VL	(101) PPTFGQGTTKVEIK	
공통	(101) PPTFGQGTTKVEIK	

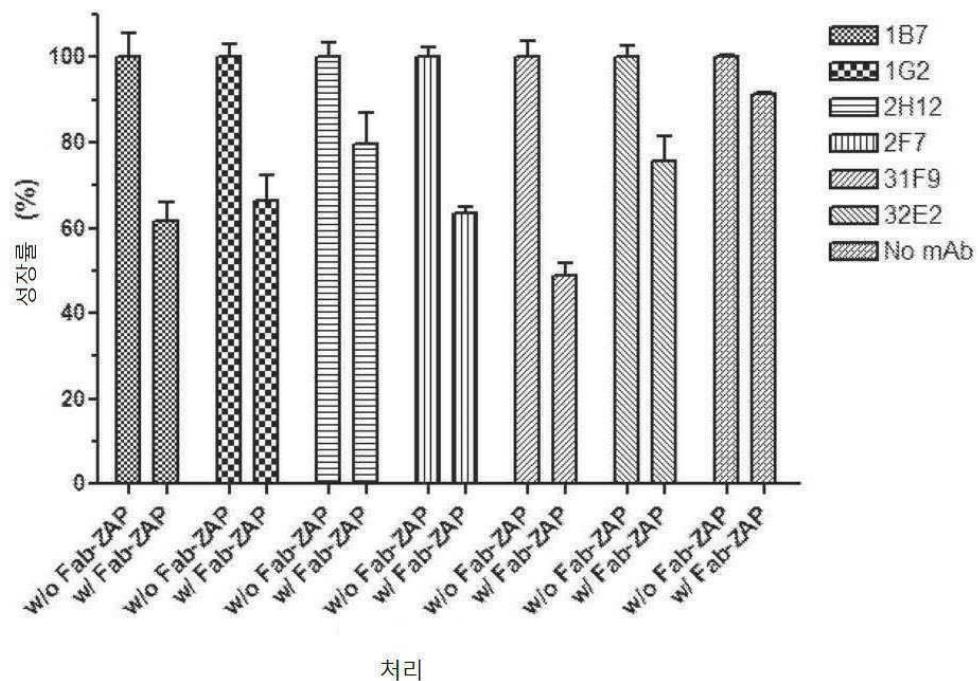
도면24



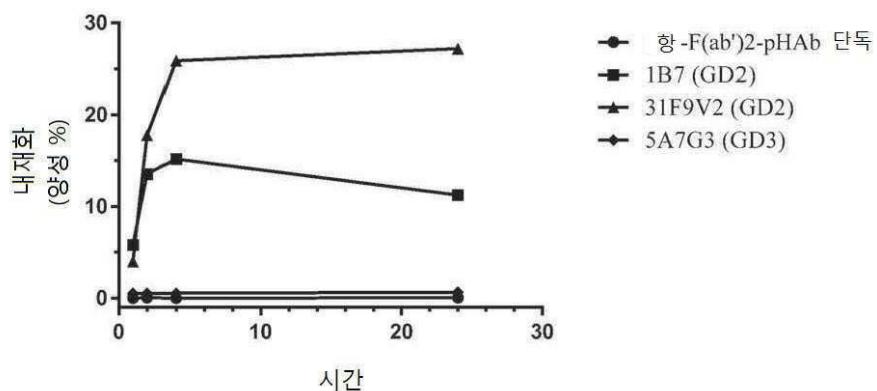
도면25



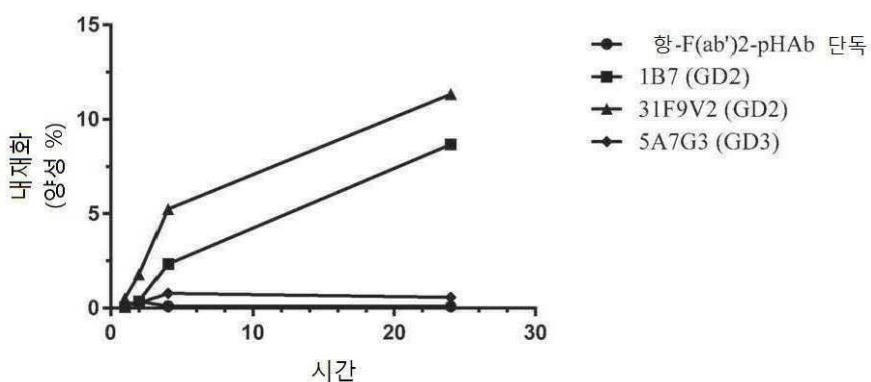
도면26



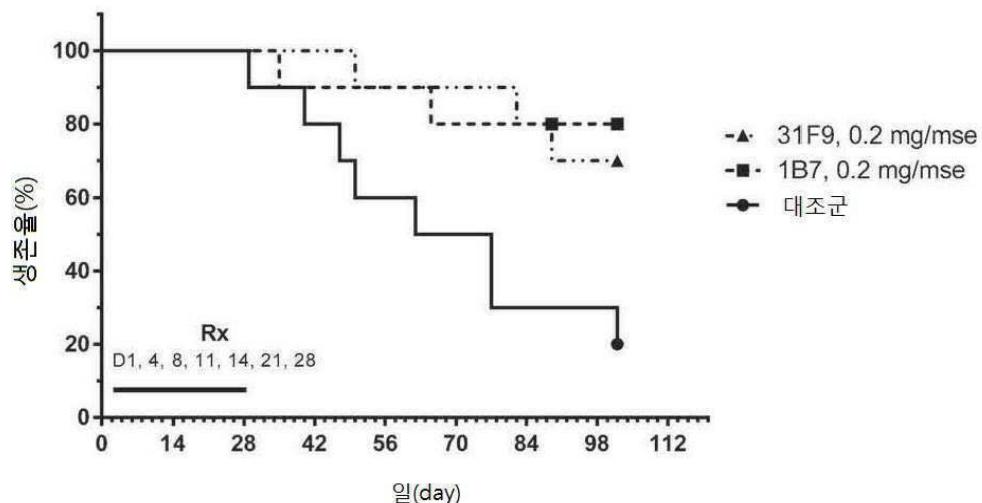
도면27



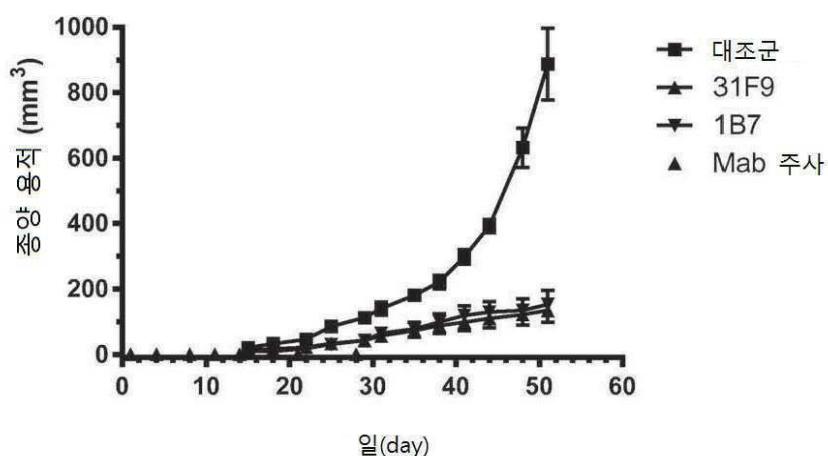
도면28



도면29



도면30



서 열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> MABVAX THERAPEUTICS, INC.

<120> HUMAN MONOCLONAL ANTIBODIES TO GANGLIOSIDE GD2

<130> 12967-034-228

<140><141><150> 62/007,874

<151> 2014-06-04

<160> 44

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 360

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><221> CDS

<222> (1)..(360)

<400> 1

caa gtg cag ctg gtg gag tct ggg gct gag gtg aag aag cct ggg gcc 48

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

1 5 10 15

tca gtg aag gtt tcc tgc aag gct tct gga tac acc ttc act agt tat 96

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

20 25 30

gct ata cat tgg gtg cgc cag gcc ccc gga caa agg ctt gag tgg atg 144

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

35 40 45

gga tgg atc aac gct ggg aat ggt tac aga aaa tat tca cag aag ttc 192

Gly Trp Ile Asn Ala Gly Asn Gly Tyr Arg Lys Tyr Ser Gln Lys Phe

50 55 60

cag ggc aga gtc acc gtt acc agg gac aca tcc gcg agc aca gcc tac 240

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

65 70 75 80

atg gag ctg agt agt ttg aga tct gaa gac acg gct gtg tat tac tgt 288

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

85 90 95

gcg aga ttc gaa gga ggg atg gtg act gcc atg gac ttc tgg ggc cag 336

Ala Arg Phe Glu Gly Gly Met Val Thr Ala Met Asp Phe Trp Gly Gln

100 105 110

gga acc ctg gtc acc gtc tcc tca 360

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 2

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 2

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

1 5 10 15

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

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

35 40 45

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

Ala Arg Phe Glu Gly Met Val Thr Ala Met Asp Phe Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 3

<211> 336

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide

<220><221> CDS

<222> (1)..(336)

<400> 3

gat gtt gtg atg acc cag tct cca ctc tcc ctg ccc gtc acc cct gga 48

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

1	5	10	15	
gag ccg gcc tcc atc tcc tgc agg tct agt cag agc ctc ctg cat aga				96
Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Arg				
20	25	30		
aat gga tac aac tac ttg gat tgg tac ctg cag aag cca ggg cag tct				144
Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser				
35	40	45		
cca cag ctc ctg atc tat ttg ggt tct aat cgg gcc tcc ggg gtc cct				192

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro				
50	55	60		
gac agg ttc agt ggc agt gga tca ggc aca gat ttt aca ctg aaa atc				240
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile				
65	70	75	80	
agc aga gtg gag gct gag gat gtt ggg gtt tat tac tgc atg caa gct				288
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala				

85	90	95		
cta caa act ccc ttc act ttc ggc cct ggg acc aaa gtg gat atc aaa				336
Leu Gln Thr Pro Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys				
100	105	110		

<210> 4

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 4

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

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

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

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

<210> 5

<211> 360

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><221> CDS

<222> (1)..(360)

<400> 5

gag gtg cag ctg ttg gag tct ggg gct gag gtg aag aag cct ggg gcc	48
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala	
1 5 10 15	
tca gtg aag gtt tcc tgc aag gct tct gga tac acc ttc act agc tat	96
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr	
20 25 30	
gct ata cat tgg gtg cgc cag gcc ccc gga caa agg ctt gag tgg atg	144

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

35 40 45	
gga tgg atc aac gct ggg aat ggt tac aga aaa tat tca cag aaa ttc	192
Gly Trp Ile Asn Ala Gly Asn Gly Tyr Arg Lys Tyr Ser Gln Lys Phe	
50 55 60	
cag ggc aga gtc acc gtt acc agg gac aca tcc gcg agc aca gcc tac	240

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

65	70	75	80	
atg gag ttg agc agc ctg aga tct gaa gac acg gct gtg tat tac tgt				288
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys				
85	90	95		
gcg aga ttc gaa gga ggg atg gtg act gcc atg gac tac tgg ggc cag				336
Ala Arg Phe Glu Gly Gly Met Val Thr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln				
100	105	110		

gga acc ctg gtc acc gtc tcc tca		360
---------------------------------	--	-----

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115	120	
<210> 6		

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 6

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

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

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

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

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

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

Gly Trp Ile Asn Ala Gly Asn Gly Tyr Arg Lys Tyr Ser Gln Lys Phe

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

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

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

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

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

Ala Arg Phe Glu Gly Gly Met Val Thr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln

100	105	110	
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser			
115	120		
<210> 7			
<211> 336			
<212> DNA			
<213> Artificial Sequence			
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide			
<220><221> CDS			
<222> (1)..(336)			
<400> 7			
gac atc cag gtg acc cag tct cca ctc tcc ctg ccc gtc acc cct gga 48			
Asp Ile Gln Val Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly			
1	5	10	15
gag ccg gcc tcc atc tcc tgc agg tct agt cag agc ctc ctg cat agt 96			
Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser			
20	25	30	
aat gga tac aac tat ttg gat tgg tac ctg cag aag cca ggg cag tct 144			
Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser			
35	40	45	
cca cag ctc ctg atc tat ttg ggt tct aat cgg gcc tcc ggg gtc cct 192			
Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro			
50	55	60	
gac agg ttc agt ggc agt gga tca ggc aca gat ttt aca ctg aaa atc 240			
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile			
65	70	75	80
agc aga gtg gag gct gag gat gtt ggg gtt tat tac tgc atg caa gct 288			
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala			
85	90	95	
cta caa act ccc ttc act ttc ggc cct ggg atc aaa gtg gat atc aaa 336			
Leu Gln Thr Pro Phe Thr Phe Gly Pro Gly Ile Lys Val Asp Ile Lys			

100 105 110

<210> 8

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 8

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser

35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

<210> 9

<211> 357

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide

<220><221> CDS

<222> (1)..(357)

<400> 9

caa gtg cag ctg gtg gag tct ggg gct gag gtg aag aag cct ggg gcc 48

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 tca gtg aag atg tcc tgc agg gca tct gga tac acc ttc acc agg tac 96
 Ser Val Lys Met Ser Cys Arg Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Tyr

 20 25 30
 tat atg cac tgg gtg cga cag gcc cct gga caa ggg ctt gag tgg atg 144
 Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 gga ata atc aac cct agt gct ggt agc aca agc tac gca cag aag ttc 192
 Gly Ile Ile Asn Pro Ser Ala Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60

 cag gac aga gtc acc atg acc agg gac acg tcc agg agc aca gtc tac 240
 Gln Asp Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Arg Ser Thr Val Tyr
 65 70 75 80
 atg gag ctg agc agc ctg aga tct gag gac acg gcc gtg tat tac tgt 288
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 gcg aga agg gtg gta gtt ggg ggc ccg ttt gac ttc tgg ggc cag gga 336

 Ala Arg Arg Val Val Val Gly Gly Pro Phe Asp Phe Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 acc ctg gtc acc gtc tcc tca 357
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115
 <210> 10
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide

 <400> 10
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

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

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

<210> 11
 <211> 339
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide

<220><221> CDS			
<222> (1)..(339)			
<400> 11			
gac atc cag atg acc cag tct cca gac tcc ctg gct gtg tct ctg ggc 48			
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly			
1	5	10	15
gag agg gcc acc atc aac tgc aag tcc agc cag agt gtt tta tac agc 96			
Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser			

20	25	30	
ccc aac aaa aag aac tac tta gct tgg tac cag cag aaa cca gga cag 144			
Pro Asn Lys Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln			

35	40	45	
cct cct agt ctg ctc ttt tac tgg gca tct acc cgg gaa tcc ggg gtc			192
Pro Pro Ser Leu Leu Phe Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val			
50	55	60	

cct gac cga ttc agt ggc agc ggg tct ggg aca gac ttc act ctc acc			240
Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr			
65	70	75	80
atc agc agc ctg cag gct gaa gat gtg gca gtt tat tac tgt cag caa			288
Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln			
85	90	95	
tat tat agt act cct ccg acg ttc ggc caa ggg acc aag gtg gaa atc			336

Tyr Tyr Ser Thr Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile			
100	105	110	
aaa			339
Lys			

<210> 12
<211> 113
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 12			
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly			
1	5	10	15
Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser			
20	25	30	
Pro Asn Lys Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln			
35	40	45	
Pro Pro Ser Leu Leu Phe Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val			
50	55	60	

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

<210> 13

<211> 357

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><221> CDS

<222> (1)..(357)

<400> 13

cag	gtg	cag	ctg	gtg	gaa	tct	ggg	gct	gag	gtg	aag	aag	cct	ggg	gcc	48
Gln	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Ala	
1	5		10		15											
tca	gtg	agg	gtt	tcc	tgc	aag	gca	tct	gga	tac	agg	ttc	atc	agc	tac	96
Ser	Val	Arg	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Arg	Phe	Ile	Ser	Tyr	
20	25		30													

tat	atg	cac	tgg	gtg	cga	cag	gcc	cct	gga	caa	ggg	ctt	gag	tgg	atg	144
Tyr	Met	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met	
35	40		45													

gga	ata	atc	aac	cct	agt	ggt	agc	aca	agc	tac	gca	cag	aag	ttc	192	
Gly	Ile	Ile	Asn	Pro	Ser	Gly	Gly	Ser	Thr	Ser	Tyr	Ala	Gln	Lys	Phe	
50	55		60													
cag	ggc	aga	gtc	acc	atg	acc	agg	gac	acg	tcc	acg	agc	aca	atc	tac	240

Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Met	Thr	Arg	Asp	Thr	Ser	Thr	Thr	Ile	Tyr	
65	70		75		80										

atg gag ctg agc agc ctg aga tct gag gac acg gcc gtg tat tac tgt 288
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 gcg cgt cgc aat att gtc acg ggt cca ttt gac tat tgg ggc cag gga 336
 Ala Arg Arg Asn Ile Val Thr Gly Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 acc ctg gtc acc gtc tcc tca 357
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115
 <210> 14
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide
 <400> 14
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Arg Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Arg Phe Ile Ser Tyr
 20 25 30
 Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ile Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Arg Asn Ile Val Thr Gly Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 15

<211> 339

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><221> CDS

<222> (1)..(339)

<400> 15

gat gtt gtg atg act cag act cca gac tcc ctg gct gtg tct ctg ggc 48

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

1 5 10 15

gag agg gcc acc atc aac tgc aag tcc agc cag agt gtt tta tac atc 96

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ile

20 25 30

tcc aac aat aag aac tac tta gct tgg tac cag cag aaa cca gga cag 144

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

35 40 45

cct cct aag ctg ctc att tac tgg gca tct acc cgg gaa tcc ggg gtc 192

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val

50 55 60

cct gac cga ttc agt ggc agc ggg tct ggg aca gat ttc act ctc acc 240

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

65 70 75 80

atc agc agc ctg cag gag gat gtg gca gtt tat tac tgt cag cac 288

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

85 90 95

tat tat agt act cct ccc act ttt ggc cag ggg acc aag ctg gag atc 336

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

100 105 110

aaa 339

Lys

<210> 16

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 16

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

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

Lys

<210> 17

<211> 357

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide

<220><221> CDS

<222>

(1)..(357)

<400> 17

cag gtg cag ctg gtg gaa tct ggg gct gag gtg aag aag cct ggg gcc 48

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

1 5 10 15

tca gtg aag gtt tcc tgc aag gca tct gga tac acc ttc gcc agg tac 96

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

20 25 30

tat atg cac tgg gtg cga cag gcc cct ggc caa ggg cct gag tgg atg 144

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Pro Glu Trp Met

35 40 45

ggc ata atc aac cct agt ggt gga agc aca agt tac gca cag aag ttc 192

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

50 55 60

cag ggc aga gtc acc gtc acc agg gac acg tcc acg agc aca gtc tac 240

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

65 70 75 80

atg gag ctg agc agc ctg aga tct gag gac acg gcc gtc tat tac tgt 288

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

85 90 95

gcg agg agg gtc gta ctt ggg ggc ccg ttt gac tac tgg ggc cag gga 336

Ala Arg Arg Val Val Leu Gly Gly Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

acc ctg gtc acc gtc tcc tca 357

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 18

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 18

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Pro Glu Trp Met

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Arg Val Val Leu Gly Gly Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 19

<211> 339

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><221> CDS

<222> (1)..(339)

<400>

19

gac atc cgg gtg acc cag tct cca gac tcc ctg gct gtg tct ctg ggc 48

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

1 5 10 15

gag agg gcc acc atc aac tgc aag tcc agc cag agt gtt tta tac agc 96

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser

20 25 30

tcc aac aat aag aac tac tta gct tgg tac cag cag aaa cca gga cag 144

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

35 40 45

cct cct aag ctg ctc att tac tgg gca tct acc cgg gaa tcc ggg gtc 192

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val

50 55 60

cct gac cga ttc agt ggc agc ggg tct ggg aca gat ttc act ctc acc 240

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

65 70 75 80

atc agc agc ctg cag gct gaa gat gtg gca gtt tat tac tgt cag caa 288

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

85 90 95

tat tat agt act cct ccg acg ttc ggc caa ggg acc aag gtg gaa atc 336

Tyr Tyr Ser Thr Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile

100 105 110

aaa 339

Lys

<210> 20

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 20

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

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser

20 25 30

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

35 40 45

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

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

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

<210> 21

<211> 357

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide

<220><221> CDS

<222> (1)..(357)

<400> 21

gaa gtg cag ctg ttg gag tct ggg gct gag gtg aag aag cct ggg gcc 48

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 tca gtg aag gtt tcc tgc aag gca tct gga tac acc ttc acc aga tac 96
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Tyr
 20 25 30
 tat atg cac tgg gtg cga cag gcc cct gga caa ggg ctt gag tgg atg 144
 Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45
 gga ata atc aac cct agt agt ggt agc aca agc tac gca cag aag ttc 192
 Gly Ile Ile Asn Pro Ser Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 cag ggc aga gtc acc atg acc agg gac acg tcc acg agc aca gtc tac 240

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
 65 70 75 80

atg gag ctg agc agc ctg aga tct gag gac atg gcc gta tat tac tgt 288
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Met Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 gcg agg agg gtc gta gtt ggg ggc ccg ttt gac tac tgg ggc cag gga 336
 Ala Arg Arg Val Val Val Gly Gly Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 acc ctg gtc acc gtc tcc tca 357

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 22

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide

<400> 22

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Tyr
 20 25 30

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

Gly Ile Ile Asn Pro Ser Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
 65 70 75 80

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

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

100	105	110		
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser				
115				
<210> 23				
<211> 339				
<212> DNA				
<213> Artificial Sequence				
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide				
<220><221> CDS				
<222> (1)..(339)				
<400> 23				
gac atc cag ttg acc cag tct cca gac tcc ctg gct gtg tct ctg ggc			48	
Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly				
1	5	10	15	
gag agg gcc acc atc aac tgc aag tcc agc cag agt att tta tac agc			96	
Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Ile Leu Tyr Ser				
20	25	30		
tcc aac aat aag aac tac tta gct tgg tac cag cag aaa cca gga cag			144	
Ser Asn Asn Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln				
35	40	45		
cct cct aag ctg ctc att tac tgg gca tct acc cgg gaa tcc ggg gtc				192
Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val				
50	55	60		
cct gac cga ttc agt ggc agc ggg tct ggg aca gat ttc act ctc acc			240	
Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr				
65	70	75	80	
atc agc agc ctg cag gct gaa gat gtg gca gtt tat tac tgt cag caa			288	
Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln				
85	90	95		
tat tat agt act cct ccg acg ttc ggc caa ggg acc aag gtg gaa atc			336	
Tyr Tyr Ser Thr Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile				

100	105	110	
aag			339
Lys			

<210> 24

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 24

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

<210> 25

<211> 360

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><221> CDS

<222> (1)..(360)

<400> 25

gaa	gtg	cag	ctg	ttg	gag	tct	ggg	gct	gag	gtg	aag	aag	cct	ggg	gcc	48
Glu	Val	Gln	Leu	Leu	Glu	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Ala	
1	5			10				15								
tca	gtg	aag	gtt	tcc	tgc	aag	gct	tct	gga	tac	atc	ttc	agt	aga	tat	96
Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Ile	Phe	Ser	Arg	Tyr	
20	25			30												
gct	atc	cat	tgg	gtg	cgc	cag	gcc	ccc	gga	caa	ggg	ctt	gag	tgg	atg	144
Ala	Ile	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met	
35	40			45												
gga	tgg	atc	aac	cct	ttc	aat	ggt	ttc	aca	aaa	tat	tca	cag	aag	ttt	192
Gly	Trp	Ile	Asn	Pro	Phe	Asn	Gly	Phe	Thr	Lys	Tyr	Ser	Gln	Lys	Phe	
50	55			60												
cag	ggc	aga	gtc	gcc	ctc	act	agg	gac	aga	tcc	gct	acc	aca	ggc	tac	240
Gln	Gly	Arg	Val	Ala	Leu	Thr	Arg	Asp	Arg	Ser	Ala	Thr	Thr	Gly	Tyr	
65	70			75						80						
atg	gag	ttg	agc	agc	ctg	aca	tct	gaa	gac	acg	gct	gtg	tac	tac	tgt	288
Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Thr	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	
85	90			95												
gcg	agg	ctg	gaa	tct	aac	aag	ttt	tat	gct	ttt	gat	atc	tgg	ggc	cag	336
Ala	Arg	Leu	Glu	Ser	Asn	Lys	Phe	Tyr	Ala	Phe	Asp	Ile	Trp	Gly	Gln	
100	105			110												
ggg	aca	atg	gtc	acc	gtc	tct	tca									360
Gly	Thr	Met	Val	Thr	Val	Ser	Ser									
115	120															
<210> 26																
<211> 120																
<212> PRT																

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 26

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ile Phe Ser Arg Tyr

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 27

<211> 336

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><221> CDS

<222> (1)..(336)

<400> 27

gaa att gta atg aca cag tct cca ctc tcc ctg ccc gtc acc cct gga 48

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

1 5 10 15

gag ccg gcc tcc atc tcc tgc acg tct agt cag agc ctc ctg cat agt 96
 Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Thr Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser

20 25 30

aat gga tat aac tat ttg gat tgg tac ttg cag aag cca ggg cag tct 144
 Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser

35 40 45

cca cag ctc ctg atc tat ttg ggt tct aat cgg gcc tcc ggg gtc cct 192
 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro

50 55 60

gac agg ttc agt ggc agt gga tca ggc aca gat ttt aca ctg aaa atc 240
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile

65 70 75 80

agc aca gtg gag gct gag gat gtt ggg gtt tat tac tgc atg caa gct 288
 Ser Thr Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala

85 90 95

cta caa act ccg tgg acg ttt ggc caa ggg acc aag gtg gaa atc aaa 336

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

100 105 110

<210> 28
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide

<400> 28

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Thr Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser

20 25 30

Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser

35 40 45

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

Leu Gln Thr Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 29

<211> 360

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><221> CDS

<222> (1)..(360)

<400> 29

caa gtg cag ctg ttg gag tct ggg gct gag gtg aag aag cct ggg gcc 48
 Gln Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15

tca gtg aag gtt tcc tgc aag gct tct gga tac acc ttc act agc tat 96
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30

gct atg cat tgg gtg cgc cag gcc ccc gga caa agg ctt gag tgg atg 144
 Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Met
 35 40 45

gga tgg atc aac gct ggc aat ggt aac aca ata tat tca cag aag ttc 192

Gly Trp Ile Asn Ala Gly Asn Gly Asn Thr Ile Tyr Ser Gln Lys Phe
 50 55 60
 cag gcc aga gtc acc att acc agg gac acg tcc gcg agc aca gcc tac 240
 Gln Ala Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

atg gag ctg agc agc ctg aga tct gaa gac acg gct gtg tat tac tgt 288
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

gcg aga tgg gta gga ggg gtg gcc tcg tac ttt gac tac tgg ggc cag 336
 Ala Arg Trp Val Gly Gly Val Ala Ser Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln

100 105 110

ggg acc ctg gtc acc gtc tcc tca 360
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 30

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 30

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

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

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

Gly Trp Ile Asn Ala Gly Asn Gly Asn Thr Ile Tyr Ser Gln Lys Phe
 50 55 60

Gln Ala Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

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

Ala Arg Trp Val Gly Gly Val Ala Ser Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115	120	
<210> 31		
<211> 336		
<212> DNA		
<213> Artificial Sequence		
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide		
<220><221> CDS		
<222> (1)..(336)		
<400> 31		
gaa att gta ttg aca cag tct cca ctc tcc ctg tcc gtc acc cct gga 48		
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr Pro Gly		
1	5	10
15		
gag ccg gcc tcc atc tcc tgc agg tct agt cag agc ctc ctg cat aga 96		
Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Arg		
20	25	30
aat gga tac aat tat ttt gat tgg tac ctg cag cag cca ggg cag tct 144		
Asn Gly Tyr Asn Tyr Phe Asp Trp Tyr Leu Gln Gln Pro Gly Gln Ser		
35	40	45
cca cag ctc ctg atc tat ttg ggt tct aat cgg gcc tcc ggg gtc cct 192		
Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro		
50	55	60
gac agg ttc agt ggc agt gga tca ggc aca gat ttt aca ctg aaa atc 240		
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile		
65	70	75
80		
agc aga gtg gag gct gag gat gtt ggg gtt tat tac tgc atg caa gct 288		
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala		
85	90	95
cta caa act ccg tac act ttt ggc cag ggg acc aag ctg gag atc aaa 336		
Leu Gln Thr Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys		
100	105	110
<210> 32		

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 32

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

<210> 33

<211> 363

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide

<220><221> CDS

<222> (1)..(363)

<400> 33

caa gtg cag ctg ttg gag tct ggg gct gag gtg aag aag cct ggg gcc 48

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

tca	gtg	aag	gtc	tcc	tgc	gag	gct	tct	gga	tac	acc	ttc	acc	agt	tct	96
Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Glu	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Ser	Ser	
20	25		30													
gat	atc	aac	tgg	gtg	cga	cag	gcc	act	gga	caa	ggg	ctt	gag	tgg	atg	144
Asp	Ile	Asn	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Thr	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met	
35	40		45													
gga	tgg	atg	aac	cct	aat	agt	ggt	aac	aca	ggc	tat	gca	cag	aag	ttc	192
Gly	Trp	Met	Asn	Pro	Asn	Ser	Gly	Asn	Thr	Gly	Tyr	Ala	Gln	Lys	Phe	
50	55		60													
cag	ggc	aga	gtc	acc	atg	acc	agg	aac	acc	tcc	ata	agc	aca	gcc	tac	240
Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Met	Thr	Arg	Asn	Thr	Ser	Ile	Ser	Thr	Ala	Tyr	
65	70		75													
atg	gag	ctg	agc	agc	ctg	aga	tct	gag	gac	acg	gcc	gtg	tat	tac	tgt	288
Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	
85	90		95													
gcg	aga	gaa	aga	ccc	cgg	agg	cgt	ggg	ggt	ggt	ttt	gat	atc	tgg	ggc	336
Ala	Arg	Glu	Arg	Pro	Arg	Arg	Arg	Gly	Gly	Gly	Phe	Asp	Ile	Trp	Gly	
100	105		110													
caa	ggg	aca	atg	gtc	acc	gtc	tct	tca								363
Gln	Gly	Thr	Met	Val	Thr	Val	Ser	Ser								
115	120															
<210>	34															
<211>	121															
<212>	PRT															
<213>	Artificial Sequence															
<220><223>	Description of Artificial Sequence: Synthetic															
polypeptide																
<400>	34															
Gln	Val	Gln	Leu	Leu	Glu	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Ala	
1	5		10													
Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Glu	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Ser	Ser	

20	25	30
Asp Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Thr Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met		
35	40	45
Gly Trp Met Asn Pro Asn Ser Gly Asn Thr Gly Tyr Ala Gln Lys Phe		
50	55	60
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asn Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr		
65	70	75
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
85	90	95
Ala Arg Glu Arg Pro Arg Arg Gly Gly Gly Phe Asp Ile Trp Gly		
100	105	110
Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser		
115	120	
<210> 35		
<211> 363		
<212> DNA		
<213> Artificial Sequence		
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic		
polynucleotide		
<220><221> CDS		
<222> (1)..(363)		
<400> 35		
cag gta cag ctg cag cag tct ggg gct gag gtg aag aag cct ggg gcc 48		
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala		
1	5	10
tca gtg aag gtc tcc tgc gag gct tct gga tac acc ttc acc agt tct 96		
Ser Val Lys Val Ser Cys Glu Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Ser		
20	25	30
gat atc aac tgg gtg cga cag gcc act gga caa ggg ctt gag tgg atg 144		
Asp Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Thr Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met		
35	40	45

gga tgg atg aac cct aaa agt ggt aac aca ggc tat gca cag aag ttc 192
 Gly Trp Met Asn Pro Lys Ser Gly Asn Thr Gly Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

cag ggc aga gtc acc atg acc agg aac acc tcc ata agc aca gcc tac 240

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asn Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

atg gag ctg agc agc ctg aga tct gag gac acg gcc gtg tat tac tgt 288

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

85 90 95

gcg aga gaa aga ccc cgg agg cgt ggg ggt ggt ttt gat atc tgg ggc 336

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

100 105 110

caa ggg aca atg gtc acc gtc tct tca 363

Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 36

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 36

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Asp Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Thr Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

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

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asn Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 37

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide

<220><221> CDS

<222> (1)..(321)

<400> 37

gac atc cgg atg acc cag tct cca tcc tcc ctg tct gca tct gta gga 48

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

1 5 10 15

gac aga gtc acc atc act tgc cgg gcg agt cag ggc att agc aat tat 96

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

20 25 30

tta gcc tgg tat cag cag aaa cca ggg aaa gtt cct aag ttc ctg atc 144

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

35 40 45

tat gct gca tcc act ttg caa tca ggg gtc cca tct cgg ttc agt ggc 192

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

50 55 60

agt gga tct ggg aca gat ttc act ctc acc atc agc agc ctg cag cct 240

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

65 70 75 80

gaa gat gtt gca act tat tac tgt cag aag tat aac agt gcc ccg tgg 288

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

85 90 95

acg ttc ggc caa ggg acc aag gtg gaa atc aaa 321

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 38

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 38

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 39

<211> 357

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide

<220><221> CDS

<222> (1)..(357)

<400> 39

caa gtg cag ctg gtg gag tct ggg gct gag gtg aag aag cct ggg gcc 48

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

1 5 10 15

tca gtg aag gtt tcc tgc aag gca tct gga tac acc ttc acc aac tac 96

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

20 25 30

tat atg cac tgg gtg cga cag gcc cct gga caa ggg ctc gag tgg atg 144

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

35 40 45

gga ata atc aac cct agt aga ggt agc aca agc tac gca cag aag ttc 192

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

50 55 60

cag ggc aga gtc acc atg acc agg gac acg tcc acg agc aca gtc tac 240

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr

65 70 75 80

atg gag ctg agc agc ctg aga tct gag gac acg gcc gtg tat tac tgt 288

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

85 90 95

gcg cga cgc cag atg gct aca ggc ccc ttt gac tac tgg ggc cag gga 336

Ala Arg Arg Gln Met Ala Thr Gly Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

acc ctg gtc acc gtc tcc tca 357

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 40

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 40

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
 20 25 30

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

Ala Arg Arg Gln Met Ala Thr Gly Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 41

<211> 339

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide

<220><221> CDS

<222> (1)..(339)

<400> 41

gat att gtg ctg act cag tct cca gac tcc ctg gct gtg tct ctg ggc 48
 Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly

1 5 10 15

gag agg gcc acc atc aac tgc aag tcc agc cag agt gtt tta tac agc 96

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser				
20	25	30		
tcc aac aat aag aac tac tta gct tgg tac cag cag aaa cca gga cag			144	
Ser Asn Asn Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln				
35	40	45		
cct cct aag ctg ctc att tac tgg gca tct acc cgg gaa tcc ggg gtc			192	
Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val				
50	55	60		
cct gac cga ttc agt ggc agc ggg tct ggg aca gat ttc act ctc acc			240	
Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr				
65	70	75	80	
atc agc agc ctg cag gct gaa gat gtg gca gtt tat tac tgt cag caa			288	
Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln				
85	90	95		
tat tat agt act cct ccc act ttt ggc cag ggg acc aag ctg gag atc			336	
Tyr Tyr Ser Thr Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile				
100	105	110		
aaa			339	
Lys				

<210> 42
 <211> 113
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 42				
Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly				
1	5	10	15	
Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser				
20	25	30		

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

35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Lys

<210> 43

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
consensus polypeptide

<220><221> MOD_RES

<222> (33)..(33)

<223> Ala, Asp or Tyr

<220><221> MOD_RES

<222> (54)..(54)

<223> Gly, Phe, Lys, Asn or Ser

<220><221> MOD_RES

<222> (55)..(55)

<223> Asn, Ser, Gly, Arg or Ala

<220><221> MOD_RES

<222> (57)..(57)

<223> Asn, Phe, Ser or Tyr

<220><221> MOD_RES

<222> (59)..(59)

<223> Ile, Lys, Gly or Ser

<220><221> MOD_RES

<222> (76)..(76)

<223> Ala, Ile, Thr or Arg

<220><221> MOD_RES

<222> (99)..(99)

<223> Trp, Leu, Glu, Arg or Phe

<220><221> MOD_RES

<222> (100)..(100)

<223> Val, Glu, Arg or not present

<220><221> MOD_RES

<222> (101)..(101)

<223> May or may not be present

<220><221> MOD_RES

<222> (102)..(102)

<223> Gly, Ser, Arg, Asn, Gln or Val

<220><221> MOD_RES

<222> (103)..(103)

<223> Gly, Asn, Arg, Ile, Met or Val

<220><221> MOD_RES

<222> (107)..(107)

<223> Tyr, Ala, Gly or Pro

<400> 43

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Xaa Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

<210> 44

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 consensus polypeptide

<220><221> MOD_RES

<222> (33)..(33)

<223> Pro, Ser or not present

<220><221> MOD_RES

<222> (35)..(35)

<223> Gly, Lys, Asn or not present

<400> 44

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

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser

20 25 30

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

Tyr Tyr Ser Thr Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile

100

105

110

Lys