



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2016-0111948
 (43) 공개일자 2016년09월27일

- | | |
|---|--|
| <p>(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
 <i>A61K 39/395</i> (2006.01) <i>A61K 31/196</i> (2006.01)
 <i>A61K 31/215</i> (2006.01) <i>A61K 31/7012</i> (2006.01)
 <i>A61K 45/06</i> (2006.01) <i>C07K 16/10</i> (2006.01)</p> <p>(52) CPC특허분류
 <i>A61K 39/39575</i> (2013.01)
 <i>A61K 31/196</i> (2013.01)</p> <p>(21) 출원번호 10-2016-7022122</p> <p>(22) 출원일자(국제) 2015년01월26일
 심사청구일자 없음</p> <p>(85) 번역문제출일자 2016년08월12일</p> <p>(86) 국제출원번호 PCT/US2015/012942</p> <p>(87) 국제공개번호 WO 2015/112994
 국제공개일자 2015년07월30일</p> <p>(30) 우선권주장
 61/931,949 2014년01월27일 미국(US)</p> | <p>(71) 출원인
 제넨테크, 인크.
 미합중국 캘리포니아 (우편번호 94080-4990) 사우
 스샌프란시스코 디엔에이 웨이 1</p> <p>(72) 발명자
 차이, 닝
 미국 94080 캘리포니아주 사우쓰 샌프란시스코 디
 엔에이 웨이 1 제넨테크, 인크. 내
 맥브라이드, 재클린
 미국 94080 캘리포니아주 사우쓰 샌프란시스코 디
 엔에이 웨이 1 제넨테크, 인크. 내
 스웬, 리
 미국 94037 캘리포니아주 몬타라 피.오. 박스
 370046</p> <p>(74) 대리인
 양영준, 이귀동</p> |
|---|--|

전체 청구항 수 : 총 19 항

(54) 발명의 명칭 **항-H7 바이러스 항체를 사용하는 H7N9 인플루엔자 A 요법**

(57) 요약

본 발명은 인플루엔자 A H7N9 바이러스에 결합하고, 그를 중화시키고, 치료하는데 효과적인 항-인플루엔자 A 바이러스 항체, 이러한 항체를 포함하는 조성물 및 그의 사용 방법을 제공한다.

(52) CPC특허분류

A61K 31/215 (2013.01)

A61K 31/7012 (2013.01)

A61K 45/06 (2013.01)

C07K 16/1018 (2013.01)

A61K 2300/00 (2013.01)

C07K 2317/56 (2013.01)

C07K 2317/567 (2013.01)

C07K 2317/569 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염을 갖거나 가질 위험이 있는 대상체에게 치료 유효량의 항체를 투여하는 것을 포함하며, 여기서 항체는 3개의 중쇄 추가변 영역 (HVR-H1, HVR-H2 및 HVR-H3) 및 3개의 경쇄 추가변 영역 (HVR-L1, HVR-L2 및 HVR-L3)을 포함하고, 여기서

- (a) HVR-H1은 서열식별번호: 56의 아미노산 서열을 포함하고;
- (b) HVR-H2는 서열식별번호: 57의 아미노산 서열을 포함하고;
- (c) HVR-H3은 서열식별번호: 58의 아미노산 서열을 포함하고;
- (d) HVR-L1은 서열식별번호: 59의 아미노산 서열을 포함하고;
- (e) HVR-L2는 서열식별번호: 60의 아미노산 서열을 포함하고;
- (f) HVR-L3은 서열식별번호: 61의 아미노산 서열을 포함하는 것인,

인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염을 예방 또는 치료하는 방법.

청구항 2

제1항에 있어서, 항체가 서열식별번호: 74의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함하는 것인 방법.

청구항 3

제1항에 있어서, 항체가 서열식별번호: 75의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 것인 방법.

청구항 4

제1항에 있어서, 항체가 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하고, 여기서 중쇄 가변 영역이 서열식별번호: 74의 아미노산 서열을 포함하고, 경쇄 가변 영역이 서열식별번호: 75의 아미노산 서열을 포함하는 것인 방법.

청구항 5

제1항에 있어서, 항체가 서열식별번호: 76의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 포함하는 것인 방법.

청구항 6

제1항에 있어서, 항체가 서열식별번호: 77의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하는 것인 방법.

청구항 7

제1항에 있어서, 항체가 중쇄 및 경쇄를 포함하고, 여기서 중쇄가 서열식별번호: 76의 아미노산 서열을 포함하고, 경쇄가 서열식별번호: 77의 아미노산 서열을 포함하는 것인 방법.

청구항 8

인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염을 갖거나 가질 위험이 있는 대상체에게 치료 유효량의 항체를 투여하는 것을 포함하며, 여기서 항체는 3개의 중쇄 추가변 영역 (HVR-H1, HVR-H2 및 HVR-H3) 및 3개의 경쇄 추가변 영역 (HVR-L1, HVR-L2 및 HVR-L3)을 포함하고, 여기서

- (a) HVR-H1은 서열식별번호: 62의 아미노산 서열을 포함하고;
- (b) HVR-H2는 서열식별번호: 63의 아미노산 서열을 포함하고;
- (c) HVR-H3은 서열식별번호: 64의 아미노산 서열을 포함하고;
- (d) HVR-L1은 서열식별번호: 65의 아미노산 서열을 포함하고;

- (e) HVR-L2는 서열식별번호: 66의 아미노산 서열을 포함하고;
- (f) HVR-L3은 서열식별번호: 67의 아미노산 서열을 포함하는 것인,
인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염을 예방 또는 치료하는 방법.

청구항 9

제8항에 있어서, 항체가 서열식별번호: 78의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함하는 것인 방법.

청구항 10

제8항에 있어서, 항체가 서열식별번호: 79의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 것인 방법.

청구항 11

제8항에 있어서, 항체가 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하고, 여기서 중쇄 가변 영역이 서열식별번호: 78의 아미노산 서열을 포함하고, 경쇄 가변 영역이 서열식별번호: 79의 아미노산 서열을 포함하는 것인 방법.

청구항 12

제8항에 있어서, 항체가 서열식별번호: 80의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 포함하는 것인 방법.

청구항 13

제8항에 있어서, 항체가 서열식별번호: 81의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하는 것인 방법.

청구항 14

제8항에 있어서, 항체가 중쇄 및 경쇄를 포함하고, 여기서 중쇄가 서열식별번호: 80의 아미노산 서열을 포함하고, 경쇄가 서열식별번호: 81의 아미노산 서열을 포함하는 것인 방법.

청구항 15

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 추가의 치료제를 투여하는 것을 추가로 포함하며, 여기서 추가의 치료제는 뉴라미니다제 억제제, 항-헤마글루티닌 항체 또는 항-M2 항체인 방법.

청구항 16

제15항에 있어서, 뉴라미니다제 억제제가 오셀타미비르, 자나미비르 또는 페라미비르인 방법.

청구항 17

인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염의 치료 또는 예방을 위한 의약의 제조에서의 제1항 내지 제14항 중 어느 한 항의 항체의 용도.

청구항 18

인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염을 치료 또는 예방하는데 사용하기 위한, 제1항 내지 제14항 중 어느 한 항의 항체를 포함하는 조성물.

청구항 19

인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염을 치료 또는 예방하는데 사용하기 위한, 제1항 내지 제14항 중 어느 한 항의 항체 및 제약상 허용되는 담체를 포함하는 제약 조성물.

발명의 설명

기술 분야

관련 출원

[0001]

- [0002] 본 출원은 2014년 1월 27일에 출원된 미국 특허 가출원 번호 61/931,949를 우선권 주장하며, 상기 가출원은 그 전문이 본원에 참조로 포함된다.
- [0003] 서열 목록
- [0004] 본 출원은 ASCII 포맷으로 전자 제출된 서열 목록을 함유하며, 이는 그 전문이 본원에 참조로 포함된다. 2015년 1월 13일에 생성된 상기 ASCII 복사본은 P5782R1-WO_SL.txt로 명명되고, 크기는 51,106 바이트이다.
- [0005] 발명의 분야
- [0006] 본 발명은 인플루엔자 A H7N9 바이러스에 결합하고, 그를 중화시키고, 치료하는데 효과적인 항-인플루엔자 A 바이러스 항체, 이러한 항체를 포함하는 조성물 및 그의 사용 방법을 제공한다.

배경 기술

- [0007] 인플루엔자 A H7N9 바이러스는 통상적으로 조류 사이에 퍼지는 인플루엔자 바이러스의 하위군 중 1종이고, 아시아 집닭 집단에서 풍토병성이다. 최근까지, 이 인플루엔자 바이러스는 인간에서는 보이지 않았다. 중증 인간 감염과 연관된 신규 재편성 조류 인플루엔자 A H7N9 바이러스는 중국에서 2013년 초반에 최초로 보고되었다. (예를 들어, 문헌 [Gao et al. (2013) NEJM 368:1888-1897] 참조.) 2013년 봄 동안 인간에서 이 조류 인플루엔자 바이러스 감염이 최초로 발생하였는데, 132가지 사례가 확인되고 44명이 사망하였다. 대부분의 감염된 개체는 감염된 가금류와의 직접 접촉을 통해 바이러스에 걸린 것으로 여겨진다.
- [0008] 지금까지, 조류 인플루엔자 A H7N9 바이러스의 지속적인 인간에서 인간으로의 전파는 관찰되지 않았다. 그러나, 인간과 같이 기침 및 재채기를 통해 서로를 감염시키는 페릿을 사용한 연구는 인간으로부터 단리된 1종의 인플루엔자 A H7N9 바이러스 균주가 호흡기 비말을 통해 페릿에서 페릿으로 전파될 수 있다는 것을 제시하였다.
- [0009] 이 바이러스의 범유행성 잠재력이 중요한 관심사이다. 인플루엔자 바이러스가 끊임없이 변화함에 따라, 조류 H7N9 인플루엔자 바이러스가 인간 사이에서 전파가능해지게 되고 이러한 전파가 세계적 범유행성을 초래할 수 있는 가능성을 배제할 수는 없다. H7N9 인플루엔자 바이러스가 인간에서 인간으로 효율적으로 전파될 수 있는 능력을 획득한다면, 인간은 이들 유형의 바이러스에 대한 보호성 면역 반응이 결여되어 있기 때문에, 전세계적 발생이 일어날 수 있다. 따라서, 인간에서 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염을 치료하고 예방하는데 효과적인 신규 요법에 대한 필요성이 존재한다.
- [0010] 본 발명은 이러한 필요성을 충족시키고, 조류 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염의 치료를 위한 다른 이익을 제공한다.

발명의 내용

- [0011] 본 발명은 항-헤마글루티닌 (항-HA) 항체, 항-헤마글루티닌 항체를 포함하는 조성물 및 그의 사용 방법을 제공한다. 본 발명의 항-헤마글루티닌 항체는 인플루엔자 A H7N9 바이러스를 중화시키는데 효과적이고; 본 발명의 항-헤마글루티닌 항체는 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체, 특히 항-H7 헤마글루티닌 항체이다.
- [0012] 본 발명자들은, H7 HA 단백질에 결합하고 인플루엔자 A H7N9 바이러스를 중화시키는데 효과적인 광범위 중화 인간 항체를 발견하였다. 본 발명의 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체는, 예를 들어 인플루엔자 A H7N9 바이러스 분리주 A/상하이(Shanghai)/1/2013 및 A/안후이(Anhui)/1/2013으로부터의 H7 HA에 결합하는데 효과적이다. 추가적으로, 본 발명의 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체는 재편성된 H7N9 인플루엔자 A 바이러스 균주 A/상하이/2/2013 IDCC RG32A를 중화시키는데 효과적이다.
- [0013] 일부 실시양태에서, 본 발명의 단리된 항-헤마글루티닌 항체 (단리된 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체)는 3개의 중쇄 추가변 영역 (HVR-H1, HVR-H2 및 HVR-H3) 및 3개의 경쇄 추가변 영역 (HVR-L1, HVR-L2 및 HVR-L3)을 포함하고, 여기서
- [0014] (a) HVR-H1은 서열식별번호(SEQ ID NO): 56의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0015] (b) HVR-H2는 서열식별번호: 57의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0016] (c) HVR-H3은 서열식별번호: 58의 아미노산 서열을 포함하고;

- [0017] (d) HVR-L1은 서열식별번호: 59의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0018] (e) HVR-L2는 서열식별번호: 60의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0019] (f) HVR-L3은 서열식별번호: 61의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0020] 일부 실시양태에서, 본 발명은 적어도 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 및/또는 6개의 추가변 영역 (HVR) 서열을 포함하고, 여기서
- [0021] (a) HVR-H1은 서열식별번호: 56의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0022] (b) HVR-H2는 서열식별번호: 57의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0023] (c) HVR-H3은 서열식별번호: 58의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0024] (d) HVR-L1은 서열식별번호: 59의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0025] (e) HVR-L2는 서열식별번호: 60의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0026] (f) HVR-L3은 서열식별번호: 61의 아미노산 서열을 포함하는 것인
- [0027] 단리된 항-헤마글루티닌 항체 (단리된 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체)를 제공한다.
- [0028] 일부 실시양태에서, 본 발명은 3개의 경쇄 추가변 영역 (HVR-L1, HVR-L2 및 LVR-L3)을 포함하고, 여기서
- [0029] (a) HVR-L1은 서열식별번호: 59의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0030] (b) HVR-L2는 서열식별번호: 60의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0031] (c) HVR-L3은 서열식별번호: 61의 아미노산 서열을 포함하는 것인
- [0032] 단리된 항-헤마글루티닌 항체 (단리된 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체)를 제공한다.
- [0033] 일부 실시양태에서, 본 발명은 3개의 중쇄 추가변 영역 (HVR-H1, HVR-H2 및 HVR-H3)을 포함하고, 여기서
- [0034] (a) HVR-H1은 서열식별번호: 56의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0035] (b) HVR-H2는 서열식별번호: 57의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0036] (c) HVR-H3은 서열식별번호: 58의 아미노산 서열을 포함하는 것인
- [0037] 단리된 항-헤마글루티닌 항체 (단리된 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체)를 제공한다.
- [0038] 일부 실시양태에서, 본 발명은 적어도 1개, 2개 및/또는 3개의 경쇄 추가변 영역 (HVR) 서열을 포함하고, 여기서
- [0039] (a) HVR-L1은 서열식별번호: 59의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0040] (b) HVR-L2는 서열식별번호: 60의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0041] (c) HVR-L3은 서열식별번호: 61의 아미노산 서열을 포함하는 것인
- [0042] 단리된 항-헤마글루티닌 항체 (단리된 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체)를 제공한다.
- [0043] 일부 실시양태에서, 본 발명은 적어도 1개, 2개 및/또는 3개의 중쇄 추가변 영역 (HVR) 서열을 포함하고, 여기서
- [0044] (a) HVR-H1은 서열식별번호: 56의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0045] (b) HVR-H2는 서열식별번호: 57의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0046] (c) HVR-H3은 서열식별번호: 58의 아미노산 서열을 포함하는 것인
- [0047] 단리된 항-헤마글루티닌 항체 (단리된 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체)를 제공한다.
- [0048] 일부 실시양태에서, 본 발명의 단리된 항-헤마글루티닌 항체 (단리된 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체)는 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하고, 여기서 중쇄 가변 영역은 서열식별번호: 74의 아미노산 서열을 포함하고, 경쇄 가변 영역은 서열식별번호: 75의 아미노산 서열을 포함한다.

- [0049] 일부 실시양태에서, 본 발명의 단리된 항-헤마글루티닌 항체 (단리된 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체)는 서열식별번호: 75의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다.
- [0050] 일부 실시양태에서, 본 발명의 단리된 항-헤마글루티닌 항체 (단리된 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체)는 서열식별번호: 74의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함한다.
- [0051] 일부 실시양태에서, 본 발명의 단리된 항-헤마글루티닌 항체 (단리된 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체)는 중쇄 및 경쇄를 포함하고, 여기서 중쇄는 서열식별번호: 76의 아미노산 서열을 포함하고, 경쇄는 서열식별번호: 77의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0052] 일부 실시양태에서, 본 발명의 단리된 항-헤마글루티닌 항체 (단리된 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체)는 서열식별번호: 77의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.
- [0053] 일부 실시양태에서, 본 발명의 단리된 항-헤마글루티닌 항체 (단리된 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체)는 서열식별번호: 76의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 포함한다.
- [0054] 일부 실시양태에서, 본 발명은 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염을 갖거나 가질 위험이 있는 대상체에게 치료 유효량의 항체를 투여하는 것을 포함하며, 여기서 항체는 3개의 중쇄 추가변 영역 (HVR-H1, HVR-H2 및 HVR-H3) 및 3개의 경쇄 추가변 영역 (HVR-L1, HVR-L2 및 HVR-L3)을 포함하고, 여기서
- [0055] (a) HVR-H1은 서열식별번호: 56의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0056] (b) HVR-H2는 서열식별번호: 57의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0057] (c) HVR-H3은 서열식별번호: 58의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0058] (d) HVR-L1은 서열식별번호: 59의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0059] (e) HVR-L2는 서열식별번호: 60의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0060] (f) HVR-L3은 서열식별번호: 61의 아미노산 서열을 포함하는 것인,
- [0061] 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염을 예방하거나, 치료하거나 또는 중화시키는 방법을 제공한다.
- [0062] 일부 실시양태에서, 본 발명은 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염을 갖거나 가질 위험이 있는 대상체에게 치료 유효량의 항체를 투여하는 것을 포함하며, 여기서 항체는 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하고, 여기서 중쇄 가변 영역은 서열식별번호: 74의 아미노산 서열을 포함하고, 경쇄 가변 영역은 서열식별번호: 75의 아미노산 서열을 포함하는 것인, 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염을 예방하거나, 치료하거나 또는 중화시키는 방법을 제공한다.
- [0063] 일부 실시양태에서, 본 발명은 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염을 갖거나 가질 위험이 있는 대상체에게 치료 유효량의 항체를 투여하는 것을 포함하며, 여기서 항체는 중쇄 및 경쇄를 포함하고, 여기서 중쇄는 서열식별번호: 76의 아미노산 서열을 포함하고, 경쇄는 서열식별번호: 77의 아미노산 서열을 포함하는 것인, 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염을 예방하거나, 치료하거나 또는 중화시키는 방법을 제공한다.
- [0064] 일부 실시양태에서, 본 발명은 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염을 갖거나 가질 위험이 있는 대상체에게 치료 유효량의 항체를 투여하는 것을 포함하며, 여기서 항체는 중쇄 및 경쇄를 포함하고, 여기서 중쇄는 서열식별번호: 76의 아미노산 서열로 이루어지고, 경쇄는 서열식별번호: 77의 아미노산 서열로 이루어진 것인, 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염을 예방하거나, 치료하거나 또는 중화시키는 방법을 제공한다.
- [0065] 일부 실시양태에서, 본 발명의 단리된 항-헤마글루티닌 항체 (단리된 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체)는 3개의 중쇄 추가변 영역 (HVR-H1, HVR-H2 및 HVR-H3) 및 3개의 경쇄 추가변 영역 (HVR-L1, HVR-L2 및 HVR-L3)을 포함하고, 여기서
- [0066] (a) HVR-H1은 서열식별번호: 62의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0067] (b) HVR-H2는 서열식별번호: 63의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0068] (c) HVR-H3은 서열식별번호: 64의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0069] (d) HVR-L1은 서열식별번호: 65의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0070] (e) HVR-L2는 서열식별번호: 66의 아미노산 서열을 포함하고;

- [0071] (f) HVR-L3은 서열식별번호: 67의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0072] 일부 실시양태에서, 본 발명은 적어도 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 및/또는 6개의 추가변 영역 (HVR) 서열을 포함하고, 여기서
- [0073] (a) HVR-H1은 서열식별번호: 62의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0074] (b) HVR-H2는 서열식별번호: 63의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0075] (c) HVR-H3은 서열식별번호: 64의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0076] (d) HVR-L1은 서열식별번호: 65의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0077] (e) HVR-L2는 서열식별번호: 66의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0078] (f) HVR-L3은 서열식별번호: 67의 아미노산 서열을 포함하는 것인
- [0079] 단리된 항-헤마글루티닌 항체 (단리된 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체)를 제공한다.
- [0080] 일부 실시양태에서, 본 발명은 3개의 경쇄 추가변 영역 (HVR-L1, HVR-L2 및 LVR-L3)을 포함하고, 여기서
- [0081] (a) HVR-L1은 서열식별번호: 65의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0082] (b) HVR-L2는 서열식별번호: 66의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0083] (c) HVR-L3은 서열식별번호: 67의 아미노산 서열을 포함하는 것인
- [0084] 단리된 항-헤마글루티닌 항체 (단리된 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체)를 제공한다.
- [0085] 일부 실시양태에서, 본 발명은 3개의 중쇄 추가변 영역 (HVR-H1, HVR-H2 및 HVR-H3)을 포함하고, 여기서
- [0086] (a) HVR-H1은 서열식별번호: 62의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0087] (b) HVR-H2는 서열식별번호: 63의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0088] (c) HVR-H3은 서열식별번호: 64의 아미노산 서열을 포함하는 것인
- [0089] 단리된 항-헤마글루티닌 항체 (단리된 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체)를 제공한다.
- [0090] 일부 실시양태에서, 본 발명은 적어도 1개, 2개 및/또는 3개의 경쇄 추가변 영역 (HVR) 서열을 포함하고, 여기서
- [0091] (a) HVR-L1은 서열식별번호: 65의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0092] (b) HVR-L2는 서열식별번호: 66의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0093] (c) HVR-L3은 서열식별번호: 67의 아미노산 서열을 포함하는 것인
- [0094] 단리된 항-헤마글루티닌 항체 (단리된 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체)를 제공한다
- [0095] 일부 실시양태에서, 본 발명은 적어도 1개, 2개 및/또는 3개의 중쇄 추가변 영역 (HVR) 서열을 포함하고, 여기서
- [0096] (a) HVR-H1은 서열식별번호: 62의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0097] (b) HVR-H2는 서열식별번호: 63의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0098] (c) HVR-H3은 서열식별번호: 64의 아미노산 서열을 포함하는 것인
- [0099] 단리된 항-헤마글루티닌 항체 (단리된 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체)를 제공한다.
- [0100] 일부 실시양태에서, 본 발명의 단리된 항-헤마글루티닌 항체 (단리된 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체)는 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하고, 여기서 중쇄 가변 영역은 서열식별번호: 78의 아미노산 서열을 포함하고, 경쇄 가변 영역은 서열식별번호: 79의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0101] 일부 실시양태에서, 본 발명의 단리된 항-헤마글루티닌 항체 (단리된 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체)는 서열식별번호: 79의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다.
- [0102] 일부 실시양태에서, 본 발명의 단리된 항-헤마글루티닌 항체 (단리된 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체)는

서열식별번호: 78의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함한다.

- [0103] 일부 실시양태에서, 본 발명의 단리된 항-헤마글루티닌 항체 (단리된 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체)는 중쇄 및 경쇄를 포함하고, 여기서 중쇄는 서열식별번호: 80의 아미노산 서열을 포함하고, 경쇄는 서열식별번호: 81의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0104] 일부 실시양태에서, 본 발명의 단리된 항-헤마글루티닌 항체 (단리된 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체)는 서열식별번호: 81의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.
- [0105] 일부 실시양태에서, 본 발명의 단리된 항-헤마글루티닌 항체 (단리된 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체)는 서열식별번호: 80의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 포함한다.
- [0106] 일부 실시양태에서, 본 발명은 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염을 갖거나 가질 위험이 있는 대상체에게 치료 유효량의 항체를 투여하는 것을 포함하며, 여기서 항체는 3개의 중쇄 추가변 영역 (HVR-H1, HVR-H2 및 HVR-H3) 및 3개의 경쇄 추가변 영역 (HVR-L1, HVR-L2 및 HVR-L3)을 포함하고, 여기서
 - [0107] (a) HVR-H1은 서열식별번호: 62의 아미노산 서열을 포함하고;
 - [0108] (b) HVR-H2는 서열식별번호: 63의 아미노산 서열을 포함하고;
 - [0109] (c) HVR-H3은 서열식별번호: 64의 아미노산 서열을 포함하고;
 - [0110] (d) HVR-L1은 서열식별번호: 65의 아미노산 서열을 포함하고;
 - [0111] (e) HVR-L2는 서열식별번호: 66의 아미노산 서열을 포함하고;
 - [0112] (f) HVR-L3은 서열식별번호: 67의 아미노산 서열을 포함하는 것인,
- [0113] 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염을 예방하거나, 치료하거나 또는 중화시키는 방법을 제공한다.
- [0114] 일부 실시양태에서, 본 발명은 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염을 갖거나 가질 위험이 있는 대상체에게 치료 유효량의 항체를 투여하는 것을 포함하며, 여기서 항체는 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하고, 여기서 중쇄 가변 영역은 서열식별번호: 78의 아미노산 서열을 포함하고, 경쇄 가변 영역은 서열식별번호: 79의 아미노산 서열을 포함하는 것인, 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염을 예방하거나, 치료하거나 또는 중화시키는 방법을 제공한다.
- [0115] 일부 실시양태에서, 본 발명은 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염을 갖거나 가질 위험이 있는 대상체에게 치료 유효량의 항체를 투여하는 것을 포함하며, 여기서 항체는 중쇄 및 경쇄를 포함하고, 여기서 중쇄는 서열식별번호: 80의 아미노산 서열을 포함하고, 경쇄는 서열식별번호: 81의 아미노산 서열을 포함하는 것인, 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염을 예방하거나, 치료하거나 또는 중화시키는 방법을 제공한다.
- [0116] 일부 실시양태에서, 본 발명은 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염을 갖거나 가질 위험이 있는 대상체에게 치료 유효량의 항체를 투여하는 것을 포함하며, 여기서 항체는 중쇄 및 경쇄를 포함하고, 여기서 중쇄는 서열식별번호: 80의 아미노산 서열로 이루어지고, 경쇄는 서열식별번호: 81의 아미노산 서열로 이루어진 것인, 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염을 예방하거나, 치료하거나 또는 중화시키는 방법을 제공한다.
- [0117] 일부 실시양태에서, 본 발명의 단리된 항-헤마글루티닌 항체 (단리된 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체)는 3개의 중쇄 추가변 영역 (HVR-H1, HVR-H2 및 HVR-H3) 및 3개의 경쇄 추가변 영역 (HVR-L1, HVR-L2 및 HVR-L3)을 포함하고, 여기서
 - [0118] (a) HVR-H1은 서열식별번호: 68의 아미노산 서열을 포함하고;
 - [0119] (b) HVR-H2는 서열식별번호: 69의 아미노산 서열을 포함하고;
 - [0120] (c) HVR-H3은 서열식별번호: 70의 아미노산 서열을 포함하고;
 - [0121] (d) HVR-L1은 서열식별번호: 71의 아미노산 서열을 포함하고;
 - [0122] (e) HVR-L2는 서열식별번호: 72의 아미노산 서열을 포함하고;
 - [0123] (f) HVR-L3은 서열식별번호: 73의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0124] 일부 실시양태에서, 본 발명은 적어도 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 및/또는 6개의 추가변 영역 (HVR) 서열을 포함

하고, 여기서

- [0125] (a) HVR-H1은 서열식별번호: 68의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0126] (b) HVR-H2는 서열식별번호: 69의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0127] (c) HVR-H3은 서열식별번호: 70의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0128] (d) HVR-L1은 서열식별번호: 71의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0129] (e) HVR-L2는 서열식별번호: 72의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0130] (f) HVR-L3은 서열식별번호: 73의 아미노산 서열을 포함하는 것인
- [0131] 단리된 항-헤마글루티닌 항체 (단리된 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체)를 제공한다.
- [0132] 일부 실시양태에서, 본 발명은 3개의 경쇄 추가변 영역 (HVR-L1, HVR-L2 및 LVR-L3)을 포함하고, 여기서
- [0133] (a) HVR-L1은 서열식별번호: 71의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0134] (b) HVR-L2는 서열식별번호: 72의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0135] (c) HVR-L3은 서열식별번호: 73의 아미노산 서열을 포함하는 것인
- [0136] 단리된 항-헤마글루티닌 항체 (단리된 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체)를 제공한다.
- [0137] 일부 실시양태에서, 본 발명은 3개의 중쇄 추가변 영역 (HVR-H1, HVR-H2 및 HVR-H3)을 포함하고, 여기서
- [0138] (a) HVR-H1은 서열식별번호: 68의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0139] (b) HVR-H2는 서열식별번호: 69의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0140] (c) HVR-H3은 서열식별번호: 70의 아미노산 서열을 포함하는 것인
- [0141] 단리된 항-헤마글루티닌 항체 (단리된 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체)를 제공한다.
- [0142] 일부 실시양태에서, 본 발명은 적어도 1개, 2개 및/또는 3개의 경쇄 추가변 영역 (HVR) 서열을 포함하고, 여기서
- [0143] (a) HVR-L1은 서열식별번호: 71의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0144] (b) HVR-L2는 서열식별번호: 72의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0145] (c) HVR-L3은 서열식별번호: 73의 아미노산 서열을 포함하는 것인
- [0146] 단리된 항-헤마글루티닌 항체 (단리된 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체)를 제공한다.
- [0147] 일부 실시양태에서, 본 발명은 적어도 1개, 2개 및/또는 3개의 중쇄 추가변 영역 (HVR) 서열을 포함하고, 여기서
- [0148] (a) HVR-H1은 서열식별번호: 68의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0149] (b) HVR-H2는 서열식별번호: 69의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0150] (c) HVR-H3은 서열식별번호: 70의 아미노산 서열을 포함하는 것인
- [0151] 단리된 항-헤마글루티닌 항체 (단리된 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체)를 제공한다.
- [0152] 일부 실시양태에서, 본 발명의 단리된 항-헤마글루티닌 항체 (단리된 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체)는 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하고, 여기서 중쇄 가변 영역은 서열식별번호: 82의 아미노산 서열을 포함하고, 경쇄 가변 영역은 서열식별번호: 83의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0153] 일부 실시양태에서, 본 발명의 단리된 항-헤마글루티닌 항체 (단리된 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체)는 서열식별번호: 83의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다.
- [0154] 일부 실시양태에서, 본 발명의 단리된 항-헤마글루티닌 항체 (단리된 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체)는 서열식별번호: 82의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함한다.
- [0155] 일부 실시양태에서, 본 발명의 단리된 항-헤마글루티닌 항체 (단리된 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체)는

중쇄 및 경쇄를 포함하고, 여기서 중쇄는 서열식별번호: 84의 아미노산 서열을 포함하고, 경쇄는 서열식별번호: 85의 아미노산 서열을 포함한다.

- [0156] 일부 실시양태에서, 본 발명의 단리된 항-헤마글루티닌 항체 (단리된 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체)는 서열식별번호: 85의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.
- [0157] 일부 실시양태에서, 본 발명의 단리된 항-헤마글루티닌 항체 (단리된 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체)는 서열식별번호: 84의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 포함한다.
- [0158] 일부 실시양태에서, 본 발명은 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염을 갖거나 가질 위험이 있는 대상체에게 치료 유효량의 항체를 투여하는 것을 포함하며, 여기서 항체는 3개의 중쇄 추가변 영역 (HVR-H1, HVR-H2 및 HVR-H3) 및 3개의 경쇄 추가변 영역 (HVR-L1, HVR-L2 및 HVR-L3)을 포함하고, 여기서
- [0159] (a) HVR-H1은 서열식별번호: 68의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0160] (b) HVR-H2는 서열식별번호: 69의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0161] (c) HVR-H3은 서열식별번호: 70의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0162] (d) HVR-L1은 서열식별번호: 71의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0163] (e) HVR-L2는 서열식별번호: 72의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0164] (f) HVR-L3은 서열식별번호: 73의 아미노산 서열을 포함하는 것인,
- [0165] 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염을 예방하거나, 치료하거나 또는 중화시키는 방법을 제공한다.
- [0166] 일부 실시양태에서, 본 발명은 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염을 갖거나 가질 위험이 있는 대상체에게 치료 유효량의 항체를 투여하는 것을 포함하며, 여기서 항체는 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하고, 여기서 중쇄 가변 영역은 서열식별번호: 82의 아미노산 서열을 포함하고, 경쇄 가변 영역은 서열식별번호: 83의 아미노산 서열을 포함하는 것인, 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염을 예방하거나, 치료하거나 또는 중화시키는 방법을 제공한다.
- [0167] 일부 실시양태에서, 본 발명은 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염을 갖거나 가질 위험이 있는 대상체에게 치료 유효량의 항체를 투여하는 것을 포함하며, 여기서 항체는 중쇄 및 경쇄를 포함하고, 여기서 중쇄는 서열식별번호: 84의 아미노산 서열을 포함하고, 경쇄는 서열식별번호: 85의 아미노산 서열을 포함하는 것인, 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염을 예방하거나, 치료하거나 또는 중화시키는 방법을 제공한다.
- [0168] 일부 실시양태에서, 본 발명은 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염을 갖거나 가질 위험이 있는 대상체에게 치료 유효량의 항체를 투여하는 것을 포함하며, 여기서 항체는 중쇄 및 경쇄를 포함하고, 여기서 중쇄는 서열식별번호: 84의 아미노산 서열로 이루어지고, 경쇄는 서열식별번호: 85의 아미노산 서열로 이루어진 것인, 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염을 예방하거나, 치료하거나 또는 중화시키는 방법을 제공한다.
- [0169] 본 발명은 또한 본 발명의 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체를 코딩하는 단리된 핵산을 제공한다. 본 발명은 또한 본 발명의 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체를 코딩하는 핵산을 포함하는 벡터를 제공한다. 본 발명은 또한 본 발명의 핵산 또는 벡터를 포함하는 숙주 세포를 제공한다. 벡터는 임의의 유형의 것, 예를 들어 재조합 벡터, 예컨대 발현 벡터일 수 있다. 임의의 다양한 숙주 세포가 사용될 수 있다. 한 실시양태에서, 숙주 세포는 원핵 세포, 예를 들어 이. 콜라이 (*E. coli*)이다. 또 다른 실시양태에서, 숙주 세포는 진핵 세포, 예를 들어 포유동물 세포, 예컨대 차이니스 햄스터 난소 (CHO) 세포이다.
- [0170] 본 발명은 본 발명의 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체를 생산하는 방법을 추가로 제공한다. 예를 들어, 본 발명은 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체 또는 그의 단편을 코딩하는 본 발명의 재조합 벡터를 적합한 숙주 세포에서 발현시켜 상기 항체 또는 그의 단편이 생산되도록 하는 것을 포함하는, 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체 (본원에 정의된 바와 같이 전장 항체 및 그의 단편을 포함함)를 제조하는 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 방법은 본 발명의 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체 (또는 그의 단편)를 코딩하는 핵산을 포함하는 숙주 세포를 배양하여 상기 핵산이 발현되도록 하는 것을 포함한다. 방법은 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체 또는 그의 단편을 숙주 세포 배양물 또는 숙주 세포 배양 배지로부터 회수하는 것을 추가로 포함할 수 있다.
- [0171] 본 발명은 또한 본 발명의 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체 및 제약상 허용되는 담체를 포함하는 제약 제제

를 제공한다. 제약 제제는 추가의 치료제 (예를 들어, 뉴라미니다제 억제제, 에컨대 오셀타미비르, 자나미비르 또는 페라미비르; 또 다른 항체, 에컨대 또 다른 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체, 또 다른 항-헤마글루티닌 항체 또는 항-M2 항체 등)를 추가로 포함할 수 있다.

[0172] 본 발명은 또한 본 발명의 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체를 포함하는 조성물을 제공한다. 조성물은 추가의 치료제 (예를 들어, 뉴라미니다제 억제제, 에컨대 오셀타미비르, 자나미비르 또는 페라미비르; 또 다른 항체, 에컨대 또 다른 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체, 또 다른 항-헤마글루티닌 항체 또는 항-M2 항체 등)를 추가로 포함할 수 있다.

[0173] 본 발명은 또한 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염을 예방하는데 사용하기 위한 본 발명의 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체를 포함하는 조성물을 제공한다. 일부 실시양태에서, 본 발명은 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염을 예방하는데 사용하기 위한 본 발명의 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체를 포함하는 제약 조성물을 제공한다. 본 발명은 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염을 치료하는데 사용하기 위한 본 발명의 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체를 포함하는 조성물을 추가로 제공한다. 일부 실시양태에서, 본 발명은 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염을 치료하는데 사용하기 위한 본 발명의 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체를 포함하는 제약 조성물을 제공한다. 본 발명은 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염을 억제하는데 사용하기 위한 본 발명의 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체를 포함하는 조성물을 추가로 제공한다. 일부 실시양태에서, 본 발명은 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염을 억제하거나 중화시키는데 사용하기 위한 본 발명의 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체를 포함하는 제약 조성물을 제공한다.

[0174] 본 발명의 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체를 포함하는 조성물은 또한 의약의 제조에 사용될 수 있다. 의약은 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염의 억제, 치료 또는 예방에 사용하기 위한 것일 수 있다. 특정 실시양태에서, 의약은 추가의 치료제 (예를 들어, 뉴라미니다제 억제제, 에컨대 오셀타미비르, 자나미비르 또는 페라미비르; 또 다른 항체, 에컨대 또 다른 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체, 또 다른 항-헤마글루티닌 항체 또는 항-M2 항체 등)를 추가로 포함할 수 있다.

[0175] 본 발명은 또한 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염의 억제를 필요로 하는 환자에게 본 발명의 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체를 포함하는 조성물의 유효량을 투여함으로써, 인플루엔자 A 바이러스 감염을 억제하는 것을 포함하는, 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염을 억제하는 방법을 제공한다. 본 발명은 또한 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염의 치료를 필요로 하는 환자에게 본 발명의 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체를 포함하는 조성물의 유효량을 투여함으로써, 인플루엔자 A 바이러스 감염을 치료하는 것을 포함하는, 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염을 치료하는 방법을 제공한다. 본 발명은 또한 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염의 예방을 필요로 하는 환자에게 본 발명의 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체를 포함하는 조성물의 유효량을 투여함으로써, 인플루엔자 A 바이러스 감염을 예방하는 것을 포함하는, 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염을 예방하는 방법을 제공한다. 본 발명은 또한 본 발명의 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체를 포함하는 조성물의 유효량을 제공함으로써, 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염을 중화시키는 것을 포함하는, 인플루엔자 A H7N9 바이러스를 중화시키는 방법을 제공한다.

[0176] 본 발명은 또한 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염의 억제, 치료 또는 예방을 필요로 하는 환자에게 본 발명의 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체를 포함하는 조성물의 유효량을 투여하고, 상기 환자에게 추가의 치료제의 유효량을 투여함으로써, 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염을 억제, 치료 또는 예방하는 것을 포함하는, 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염을 억제, 치료 또는 예방하는 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 추가의 치료제는 뉴라미니다제 억제제, 에컨대 오셀타미비르, 자나미비르 또는 페라미비르이다. 다른 실시양태에서, 추가의 치료제는 또 다른 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체이다. 다른 실시양태에서, 추가의 치료제는 또 다른 항-헤마글루티닌 항체이다. 또 다른 실시양태에서, 추가의 치료제는 항-M2 항체이다. 이러한 조합 치료의 다양한 측면에서, 치료제는 거의 동일한 시간에 투여되거나, 함께 투여되거나, 또는 순차적으로 또는 연속적으로 투여된다. 특정한 실시양태에서, 항-뉴라미니다제 억제제는 본 발명의 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체의 투여 전에 투여된다.

[0177] 또 다른 측면에서, 본 발명은 의약의 제조에서의 본 발명의 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체의 용도를 제공한다. 의약은 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염의 억제, 치료 또는 예방에 사용하기 위한 것일 수 있다. 특정 실시양태에서, 의약은 추가의 치료제 (예를 들어, 뉴라미니다제 억제제, 에컨대 오셀타미비르, 자나미비르 또는 페라미비르; 또 다른 항체, 에컨대 또 다른 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체, 또 다른 항-헤마글루티닌 항체 또는 항-M2 항체 등)를 추가로 포함할 수 있다.

- [0178] 또 다른 측면에서, 본 발명은 의약의 제조에서의 본 발명의 핵산의 용도를 제공한다. 의약은 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염의 억제, 치료 또는 예방에 사용하기 위한 것일 수 있다. 의약은 또한 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염을 중화시키는데 사용하기 위한 것일 수 있다. 특정 실시양태에서, 의약은 추가의 치료제 (예를 들어, 뉴라미니다제 억제제, 예컨대 오셀타미비르, 자나미비르, 페라미비르; 또 다른 항체, 예컨대 또 다른 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체, 또 다른 항-헤마글루티닌 항체 또는 항-M2 항체 등)를 추가로 포함할 수 있다.
- [0179] 또 다른 측면에서, 본 발명은 의약의 제조에서의 본 발명의 발현 벡터의 용도를 제공한다. 의약은 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염의 억제, 치료 또는 예방에 사용하기 위한 것일 수 있다. 의약은 또한 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염을 중화시키는데 사용하기 위한 것일 수 있다. 특정 실시양태에서, 의약은 추가의 치료제 (예를 들어, 뉴라미니다제 억제제, 예컨대 오셀타미비르, 자나미비르 또는 페라미비르; 또 다른 항체, 예컨대 또 다른 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체, 또 다른 항-헤마글루티닌 항체 또는 항-M2 항체 등)를 추가로 포함할 수 있다.
- [0180] 또 다른 측면에서, 본 발명은 의약의 제조에서의 본 발명의 숙주 세포의 용도를 제공한다. 의약은 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염의 억제, 치료 또는 예방에 사용하기 위한 것일 수 있다. 의약은 또한 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염을 중화시키는데 사용하기 위한 것일 수 있다. 특정 실시양태에서, 의약은 추가의 치료제 (예를 들어, 뉴라미니다제 억제제, 예컨대 오셀타미비르, 자나미비르 또는 페라미비르; 또 다른 항체, 예컨대 또 다른 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체, 또 다른 항-헤마글루티닌 항체 또는 항-M2 항체 등)를 추가로 포함할 수 있다.
- [0181] 또 다른 측면에서, 본 발명은 의약의 제조에서의 본 발명의 제조 물품의 용도를 제공한다. 의약은 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염의 억제, 치료 또는 예방에 사용하기 위한 것일 수 있다. 의약은 또한 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염을 중화시키는데 사용하기 위한 것일 수 있다. 특정 실시양태에서, 의약은 추가의 치료제 (예를 들어, 뉴라미니다제 억제제, 예컨대 오셀타미비르, 자나미비르 또는 페라미비르; 또 다른 항체, 예컨대 또 다른 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체, 또 다른 항-헤마글루티닌 항체 또는 항-M2 항체 등)를 추가로 포함할 수 있다.
- [0182] 또 다른 측면에서, 본 발명은 의약의 제조에서의 본 발명의 키트의 용도를 제공한다. 의약은 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염의 억제, 치료 또는 예방에 사용하기 위한 것일 수 있다. 의약은 또한 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염을 중화시키는데 사용하기 위한 것일 수 있다. 특정 실시양태에서, 의약은 추가의 치료제 (예를 들어, 뉴라미니다제 억제제, 예컨대 오셀타미비르, 자나미비르 또는 페라미비르; 또 다른 항체, 예컨대 또 다른 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체, 또 다른 항-헤마글루티닌 항체 또는 항-M2 항체 등)를 추가로 포함할 수 있다.
- [0183] 다양한 측면에서, 본 발명의 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체는 H7 헤마글루티닌에 결합한다. 일부 측면에서, 본 발명의 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체는 인플루엔자 A H7N9 바이러스의 H7 헤마글루티닌에 결합한다. 다른 측면에서, 본 발명의 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체는 H7 헤마글루티닌에 결합하고, 인플루엔자 A H7N9 바이러스를 중화시킨다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체는 인플루엔자 A H7N9 바이러스를 시험관내에서, 생체내에서, 또는 시험관내 및 생체내에서 중화시킨다.

도면의 간단한 설명

- [0184] 도 1A, 1B 및 1C는 각각 ELISA에 의해 mAb1, mAb2 및 mAb3이 H7 헤마글루티닌에 결합한다는 것을 보여주는 데이터를 도시한다.
- 도 2A, 2B 및 2C는 각각 mAb1, mAb2 및 음성 대조군 항체에 의한 인플루엔자 A H7N9 바이러스 균주 A/상하이/2/2013 IDCDC RG32A의 시험관내 중화를 보여주는 데이터를 도시한다.
- 도 3A 및 3B는 mAb1에 대한 중쇄, 경쇄, 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역의 아미노산 서열을 보여준다.
- 도 4A 및 4B는 mAb2에 대한 중쇄, 경쇄, 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역의 아미노산 서열을 보여준다.
- 도 5A 및 5B는 mAb3에 대한 중쇄, 경쇄, 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역의 아미노산 서열을 보여준다.
- 도 6은 mAb1, mAb2 및 mAb3에 대한 중쇄 및 경쇄 초가변 영역 (즉, CDR)의 아미노산 서열을 보여준다.
- 도 7은 인플루엔자 A H7N9 바이러스 A/안후이/1/2013으로부터의 H7 헤마글루티닌의 핵산 서열을 보여준다.

도 8은 인플루엔자 A H7N9 바이러스 A/상하이/1/2013으로부터의 H7 헤마글루티닌의 핵산 서열을 보여준다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0185] I. 정의
- [0186] 본원의 목적상 "수용자 인간 프레임워크"는 하기 정의되는 바와 같은 인간 이뮤노글로불린 프레임워크 또는 인간 컨센서스 프레임워크로부터 유래된 경쇄 가변 도메인 (VL) 프레임워크 또는 중쇄 가변 도메인 (VH) 프레임워크의 아미노산 서열을 포함하는 프레임워크이다. 인간 이뮤노글로불린 프레임워크 또는 인간 컨센서스 프레임워크"로부터 유래된" 수용자 인간 프레임워크는 그의 동일한 아미노산 서열을 포함할 수 있거나 또는 아미노산 서열 변화를 함유할 수 있다. 일부 실시양태에서, 아미노산 변화의 수는 10개 이하, 9개 이하, 8개 이하, 7개 이하, 6개 이하, 5개 이하, 4개 이하, 3개 이하 또는 2개 이하이다. 일부 실시양태에서, VL 수용자 인간 프레임워크는 VL 인간 이뮤노글로불린 프레임워크 서열 또는 인간 컨센서스 프레임워크 서열과 서열이 동일하다.
- [0187] "친화도"는 분자 (예를 들어, 항체)의 단일 결합 부위와 그의 결합 파트너 (예를 들어, 항원) 사이의 비공유 상호작용의 총 합계의 강도를 지칭한다. 달리 나타내지 않는 한, 본원에 사용된 "결합 친화도"는 결합 쌍의 구성원들 (예를 들어, 항체 및 항원) 사이의 1:1 상호작용을 반영하는 고유 결합 친화도를 지칭한다. 분자 X의 그의 파트너 Y에 대한 친화도는 일반적으로 해리 상수 (Kd)로 나타내어질 수 있다. 친화도는 본원에 기재된 방법을 포함한, 관련 기술분야에 공지된 통상의 방법에 의해 측정될 수 있다. 결합 친화도를 측정하기 위한 구체적인 설명적 및 예시적 실시양태가 하기 기재된다.
- [0188] "친화도 성숙" 항체는, 항원에 대한 항체의 친화도를 개선시키는 변형을 보유하지 않는 모 항체와 비교하여, 1개 이상의 초가변 영역 (HVR)에 1개 이상의 변형을 갖는 항체를 지칭한다.
- [0189] 용어 "항-헤마글루티닌 항체" 및 "헤마글루티닌에 결합하는 항체"는, 항체가 헤마글루티닌을 표적화하는데 있어서, 예를 들어 인플루엔자 바이러스의 헤마글루티닌을 표적화하는데 있어서 진단제 및/또는 치료제로서 유용하도록 충분한 친화도로 헤마글루티닌에 결합하는 항체를 지칭한다. 한 실시양태에서, 관련되지 않은 비-헤마글루티닌 단백질에 대한 항-헤마글루티닌 항체의 결합의 정도는, 예를 들어 방사성면역검정 (RIA)에 의해 측정 시에 헤마글루티닌에 대한 항체의 결합의 약 10% 미만이다. 특정 실시양태에서, 헤마글루티닌에 결합하는 항체는 $\leq 1 \mu\text{M}$, $\leq 100 \text{ nM}$, $\leq 10 \text{ nM}$, $\leq 1 \text{ nM}$, $\leq 0.1 \text{ nM}$, $\leq 0.01 \text{ nM}$ 또는 $\leq 0.001 \text{ nM}$ (예를 들어, 10^{-8} M 이하, 예를 들어 10^{-8} M 내지 10^{-13} M , 예를 들어 10^{-9} M 내지 10^{-13} M)의 해리 상수 (Kd)를 갖는다. 특정 실시양태에서, 항-헤마글루티닌 항체는 인플루엔자 A 바이러스의 상이한 균주, 하위유형 및 분리주로부터의 헤마글루티닌 중에 보존되는 헤마글루티닌의 에피토프에 결합한다.
- [0190] 본원에서 용어 "항체"는 가장 넓은 의미로 사용되고, 모노클로날 항체, 폴리클로날 항체, 다중특이적 항체 (예를 들어, 이중특이적 항체) 및 목적하는 항원-결합 활성을 나타내는 한 항체 단편을 포함하나 이에 제한되지 않는 다양한 항체 구조를 포괄한다.
- [0191] "항체 단편"은 무손상 항체가 결합하는 항원에 결합하는 무손상 항체의 일부를 포함하는, 무손상 항체 이외의 분자를 지칭한다. 항체 단편은 또한, 헤마글루티닌에 결합하고 인플루엔자 A 바이러스를 중화시키는 무손상 항체의 일부를 포함하는, 무손상 항체 이외의 분자를 지칭한다. 항체 단편의 예는 Fv, Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab')₂; 디아바디; 선형 항체; 단일-쇄 항체 분자 (예를 들어, scFv); 및 항체 단편들로부터 형성된 다중특이적 항체를 포함하나, 이에 제한되지 않는다.
- [0192] 참조 항체와 "동일한 에피토프에 결합하는 항체"는 경쟁 검정에서 참조 항체의 그의 항원에 대한 결합을 50% 이상 차단하는 항체를 지칭하고, 반대로 참조 항체는 경쟁 검정에서 상기 항체의 그의 항원에 대한 결합을 50% 이상 차단한다. 예시적인 경쟁 검정이 본원에 제공된다.
- [0193] 용어 "키메라" 항체는 중쇄 및/또는 경쇄의 일부가 특정한 공급원 또는 종으로부터 유래된 반면에 중쇄 및/또는 경쇄의 나머지는 상이한 공급원 또는 종으로부터 유래된 항체를 지칭한다.
- [0194] 항체의 "부류"는 그의 중쇄가 보유하는 불변 도메인 또는 불변 영역의 유형을 지칭한다. 항체의 5종의 주요 부류: IgA, IgD, IgE, IgG 및 IgM이 있으며, 이들 중 몇몇은 하위부류 (이소형), 예를 들어 IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄, IgA₁ 및 IgA₂로 추가로 분류될 수 있다. 상이한 부류의 이뮤노글로불린에 상응하는 중쇄 불변 도메인은 각각 α , δ , ϵ , γ 및 μ 로 불린다.

- [0195] 본원에 사용된 용어 "세포독성제"는 세포 기능을 억제 또는 예방하고/거나 세포 사멸 또는 파괴를 야기하는 물질을 지칭한다. 세포독성제는, 방사성 동위원소 (예를 들어, At²¹¹, I¹³¹, I¹²⁵, Y⁹⁰, Re¹⁸⁶, Re¹⁸⁸, Sm¹⁵³, Bi²¹², P³², Pb²¹² 및 Lu의 방사성 동위원소); 화학요법제 또는 약물 (예를 들어, 메토틱렉세이트, 아드리아미신, 빈카알칼로이드 (빈크리스틴, 빈블라스틴, 에토포시드), 독소루비신, 멜팔란, 미토마이신 C, 클로람부실, 다우노루비신 또는 다른 삽입제); 성장 억제제; 효소 및 그의 단편, 예컨대 핵산분해 효소; 항생제; 독소, 예컨대 소분자 독소 또는 박테리아, 진균, 식물 또는 동물 기원의 효소적 활성 독소 (그의 단편 및/또는 변이체 포함); 및 하기 개시된 다양한 항중양제 또는 항암제를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.
- [0196] "이펙터 기능"은 항체 이소형에 따라 달라지는, 항체의 Fc 영역에서 기인하는 생물학적 활성을 지칭한다. 항체 이펙터 기능의 예는 C1q 결합 및 보체 의존성 세포독성 (CDC); Fc 수용체 결합; 항체-의존성 세포-매개 세포독성 (ADCC); 식세포작용; 세포 표면 수용체 (예를 들어, B 세포 수용체)의 하향 조절; 및 B 세포 활성화를 포함한다.
- [0197] 작용제, 예를 들어 제약 제제의 "유효량"은 필요한 투여량에서 필요한 기간 동안 목적하는 치료 또는 예방 결과를 달성하기에 유효한 양을 지칭한다.
- [0198] 본원에서 용어 "Fc 영역"은 불변 영역의 적어도 일부를 함유하는 이뮤노글로불린 중쇄의 C-말단 영역을 정의하는 것으로 사용된다. 상기 용어는 천연 서열 Fc 영역 및 변이체 Fc 영역을 포함한다. 한 실시양태에서, 인간 IgG 중쇄 Fc 영역은 Cys226 또는 Pro230으로부터 중쇄의 카르복실-말단까지 연장된다. 그러나, Fc 영역의 C-말단 리신 (Lys447)은 존재할 수 있거나 존재하지 않을 수 있다. 본원에 달리 명시되지 않는 한, Fc 영역 또는 불변 영역에서 아미노산 잔기의 넘버링은 문헌 [Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991]에 기재된 바와 같은, EU 인덱스로도 불리는 EU 넘버링 시스템에 따른다.
- [0199] "프레임워크" 또는 "FR"은 초가변 영역 (HVR) 잔기 이외의 가변 도메인 잔기를 지칭한다. 가변 도메인의 FR은 일반적으로 4개의 FR 도메인: FR1, FR2, FR3 및 FR4로 이루어진다. 따라서, HVR 및 FR 서열은 일반적으로 VH (또는 VL)에서 하기 서열로 나타난다: FR1-H1(L1)-FR2-H2(L2)-FR3-H3(L3)-FR4.
- [0200] 용어 "전장 항체", "무손상 항체" 및 "전체 항체"는 천연 항체 구조와 실질적으로 유사한 구조를 갖거나 또는 본원에 정의된 바와 같은 Fc 영역을 함유하는 중쇄를 갖는 항체를 지칭하는 것으로 본원에서 상호교환가능하게 사용된다.
- [0201] 용어 "숙주 세포", "숙주 세포주" 및 "숙주 세포 배양물"은 상호교환가능하게 사용되고, 외인성 핵산이 도입된 세포 (이러한 세포의 자손 포함)를 지칭한다. 숙주 세포는 "형질전환체" 및 "형질전환된 세포"를 포함하며, 이는 1차 형질전환된 세포 및 계대 횟수와 관계없이 그로부터 유래된 자손을 포함한다. 자손은 모 세포와 핵산 함량이 완전히 동일하지 않을 수 있지만, 돌연변이를 함유할 수 있다. 원래의 형질전환된 세포에 대해 스크리닝되거나 선택된 것과 동일한 기능 또는 생물학적 활성을 갖는 돌연변이체 자손이 본원에 포함된다.
- [0202] "인간 항체"는, 인간 또는 인간 세포에 의해 생산되는 항체의 아미노산 서열에 상응하는 아미노산 서열을 보유하거나, 또는 인간 항체 레퍼토리 또는 다른 인간 항체-코딩 서열을 이용하는 비-인간 공급원으로부터 유래된 항체이다. 인간 항체의 이러한 정의는 비-인간 항원-결합 잔기를 포함하는 인간화 항체를 분명히 배제한다.
- [0203] "인간 컨센서스 프레임워크"는 인간 이뮤노글로불린 VL 또는 VH 프레임워크 서열의 선택 시에 가장 공통적으로 발생하는 아미노산 잔기를 나타내는 프레임워크이다. 일반적으로, 인간 이뮤노글로불린 VL 또는 VH 서열의 선택은 가변 도메인 서열의 하위군으로부터 행한다. 일반적으로, 서열의 하위군은 문헌 [Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, NIH Publication 91-3242, Bethesda MD (1991), vols. 1-3]에서와 같은 하위군이다. 한 실시양태에서, VL의 경우에 하위군은 상기 문헌 [Kabat et al.]에서와 같은 하위군 카파 I이다. 한 실시양태에서, VH의 경우에 하위군은 상기 문헌 [Kabat et al.]에서와 같은 하위군 III이다.
- [0204] "인간화" 항체는 비-인간 HVR로부터의 아미노산 잔기 및 인간 FR로부터의 아미노산 잔기를 포함하는 키메라 항체를 지칭한다. 특정 실시양태에서, 인간화 항체는 적어도 1개, 전형적으로 2개의 가변 도메인을 실질적으로 모두 포함할 것이며, 여기서 모든 또는 실질적으로 모든 HVR (예를 들어, CDR)은 비-인간 항체의 것에 상응하고, 모든 또는 실질적으로 모든 FR은 인간 항체의 것에 상응한다. 인간화 항체는 임의로 인간 항체로부터 유래된 항체 불변 영역의 적어도 일부를 포함할 수 있다. 항체, 예를 들어 비-인간 항체의 "인간화 형태"는

인간화를 거친 항체를 지칭한다.

- [0205] 본원에 사용된 용어 "초가변 영역" 또는 "HVR"은 서열에서 초가변성 ("상보성 결정 영역" 또는 "CDR")이고/거나 구조적으로 한정된 루프 ("초가변 루프")를 형성하고/거나 항원-접촉 잔기 ("항원 접촉부")를 함유하는 항체 가변 도메인의 각각의 영역을 지칭한다. 일반적으로, 항체는 6개의 HVR: VH 내에 3개 (H1, H2, H3) 및 VL 내에 3개 (L1, L2, L3)를 포함한다. 본원의 예시적인 HVR은 다음을 포함한다:
- [0206] (a) 아미노산 잔기 26-32 (L1), 50-52 (L2), 91-96 (L3), 26-32 (H1), 53-55 (H2) 및 96-101 (H3)에서 발생하는 초가변 루프 (Chothia and Lesk, J. Mol. Biol. 196: 901-917 (1987));
- [0207] (b) 아미노산 잔기 24-34 (L1), 50-56 (L2), 89-97 (L3), 31-35b (H1), 50-65 (H2) 및 95-102 (H3)에서 발생하는 CDR (Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991));
- [0208] (c) 아미노산 잔기 27c-36 (L1), 46-55 (L2), 89-96 (L3), 30-35b (H1), 47-58 (H2) 및 93-101 (H3)에서 발생하는 항원 접촉부 (MacCallum et al. J. Mol. Biol. 262: 732-745 (1996)); 및
- [0209] (d) HVR 아미노산 잔기 46-56 (L2), 47-56 (L2), 48-56 (L2), 49-56 (L2), 26-35 (H1), 26-35b (H1), 49-65 (H2), 93-102 (H3) 및 94-102 (H3)를 포함한, (a), (b) 및/또는 (c)의 조합.
- [0210] 달리 나타내지 않는 한, HVR 잔기 및 가변 도메인 내의 다른 잔기 (예를 들어, FR 잔기)는 상기 문헌 [Kabat et al.]에 따라 본원에서 넘버링된다.
- [0211] "면역접합체"는 세포독성제를 포함하나 이에 제한되지는 않는 1종 이상의 이종 분자(들)에 접합된 항체이다.
- [0212] "개체" 또는 "대상체"는 포유동물이다. 포유동물은 가축 (예를 들어, 소, 양, 고양이, 개 및 말), 영장류 (예를 들어, 인간 및 비-인간 영장류, 예컨대 원숭이), 토끼 및 설치류 (예를 들어, 마우스 및 래트)를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 특정 실시양태에서, 개체 또는 대상체는 인간이다.
- [0213] "단리된" 항체는 그의 자연 환경의 성분으로부터 분리된 것이다. 일부 실시양태에서, 항체는 예를 들어, 전기영동 (예를 들어, SDS-PAGE, 등전 포커싱 (IEF), 모세관 전기영동) 또는 크로마토그래피 (예를 들어, 이온 교환 또는 역상 HPLC)에 의한 결정 시에 95% 또는 99% 초과로 순도로 정제된다. 항체 순도의 평가 방법의 검토를 위해, 예를 들어 문헌 [Flatman et al., J. Chromatogr. B 848:79-87 (2007)]을 참조한다.
- [0214] "단리된" 핵산은 그의 자연 환경의 성분으로부터 분리된 핵산 분자를 지칭한다. 단리된 핵산은 핵산 분자를 통상적으로 함유하는 세포 내에 함유된 핵산 분자를 포함하지만, 핵산 분자는 염색체외에 또는 그의 천연 염색체 위치와 상이한 상이한 염색체 위치에 존재한다.
- [0215] "항-헤마글루티닌 항체를 코딩하는 단리된 핵산"은 항체 중쇄 및 경쇄 (또는 그의 단편)를 코딩하는 1종 이상의 핵산 분자, 예를 들어 단일 벡터 또는 개별 벡터 내의 이러한 핵산 분자(들) 및 숙주 세포 내의 1개 이상의 위치에 존재하는 이러한 핵산 분자(들)를 지칭한다.
- [0216] 본원에 사용된 용어 "모노클로날 항체"는 실질적으로 동종인 항체 집단으로부터 수득된 항체를 지칭하고, 즉 상기 집단을 구성하는 개별 항체는, 일반적으로 소량으로 존재하는, 예를 들어 자연 발생 돌연변이를 함유하거나 모노클로날 항체 제제의 생산 동안 생성되는 가능한 변이체 항체를 제외하고, 동일하고/거나 동일한 에피토프에 결합한다. 전형적으로 상이한 결정기 (에피토프)에 대해 지시되는 상이한 항체를 포함하는 폴리클로날 항체 제제와는 대조적으로, 모노클로날 항체 제제의 각각의 모노클로날 항체는 항원 상의 단일 결정기에 대해 지시된다. 따라서, 수식어 "모노클로날"은 항체의 실질적으로 동종인 집단으로부터 수득된 항체의 특징을 나타내고, 임의의 특정한 방법에 의한 항체 생산을 필요로 하는 것으로서 해석되지 않아야 한다. 예를 들어, 본 발명에 따라 사용될 모노클로날 항체는 하이브리도마 방법, 재조합 DNA 방법, 파지-디스플레이 방법, 및 인간 이뮤노글로불린 유전자좌의 전부 또는 일부를 함유하는 트랜스제닉 동물을 이용하는 방법을 포함하나 이에 제한되지는 않는 다양한 기술에 의해 제조될 수 있고, 이러한 방법 및 모노클로날 항체를 제조하는 다른 예시적인 방법은 본원에 기재되어 있다.
- [0217] "네이키드 항체"는 이종 모이어티 (예를 들어, 세포독성 모이어티) 또는 방사성표지에 접합되지 않은 항체를 지칭한다. 네이키드 항체는 제약 제제에 존재할 수 있다.
- [0218] "천연 항체"는 다양한 구조를 갖는 자연 발생 이뮤노글로불린 분자를 지칭한다. 예를 들어, 천연 IgG 항체는 디설피드-결합된 2개의 동일한 경쇄 및 2개의 동일한 중쇄로 구성된 약 150,000 달톤의 이종사량체 당단백질

다. N-말단에서 C-말단으로, 각각의 중쇄는 가변 중쇄 도메인 또는 중쇄 가변 도메인으로도 불리는 가변 영역 (VH)에 이어서 3개의 불변 도메인 (CH1, CH2 및 CH3)을 갖는다. 유사하게, N-말단에서 C-말단으로, 각각의 경쇄는 가변 경쇄 도메인 또는 경쇄 가변 도메인으로도 불리는 가변 영역 (VL)에 이어서 불변 경쇄 (CL) 도메인을 갖는다. 항체의 경쇄는 그의 불변 도메인의 아미노산 서열을 기반으로 하여, 카파 (κ) 및 람다 (λ)로 불리는 2가지 유형 중 1가지로 할당될 수 있다.

[0219] 용어 "패키지 삽입물"은 치료 제품의 사용에 관한 적응증, 용법, 투여량, 투여, 조합 요법, 금기 및/또는 경고에 대한 정보가 담긴, 이러한 치료 제품의 상업용 패키지에 통상적으로 포함되는 지침서를 지칭하는 것으로 사용된다.

[0220] 참조 폴리펩티드 서열에 대한 "퍼센트 (%) 아미노산 서열 동일성"은 서열을 정렬시키고 필요한 경우에 최대 퍼센트 서열 동일성을 달성하기 위해 갭을 도입한 후 임의의 보존적 치환은 서열 동일성 부분으로 간주하지 않으면서 참조 폴리펩티드 서열 내의 아미노산 잔기와 동일한 후보 서열 내의 아미노산 잔기의 백분율로서 정의된다. 퍼센트 아미노산 서열 동일성을 결정하기 위한 정렬은 관련 기술분야 기술 내의 다양한 방식으로, 예를 들어 공중 이용가능한 컴퓨터 소프트웨어, 예컨대 BLAST, BLAST-2, ALIGN 또는 메갈라인(Megalign) (DNASTAR) 소프트웨어를 사용하여 달성할 수 있다. 관련 기술분야의 통상의 기술자는 비교할 서열의 전장에 걸쳐 최대 정렬을 달성하는데 필요한 임의의 알고리즘을 포함한, 서열 정렬을 위한 적절한 파라미터를 결정할 수 있다. 그러나, 본원의 목적상, % 아미노산 서열 동일성 값은 서열 비교 컴퓨터 프로그램 ALIGN-2를 사용하여 생성된다. ALIGN-2 서열 비교 컴퓨터 프로그램은 제넨테크, 인크.(Genentech, Inc.) 소유이며, 소스 코드는 미국 저작권청 (20559 워싱턴 디.씨.)에 사용자 문서로 제출되어 있고, 미국 저작권 등록 번호 TXU510087 하에 등록되어 있다. ALIGN-2 프로그램은 제넨테크, 인크. (캘리포니아주 사우스 샌프란시스코)로부터 공중 이용가능하거나 소스 코드로부터 컴파일링될 수 있다. ALIGN-2 프로그램은 디지털 UNIX V4.0D를 포함한 UNIX 운영 시스템에서의 사용을 위해 컴파일링되어야 한다. 모든 서열 비교 파라미터는 ALIGN-2 프로그램에 의해 설정되어 있으며 달라지지 않는다.

[0221] ALIGN-2가 아미노산 서열 비교를 위해 사용되는 경우에, 주어진 아미노산 서열 B에 대한, 주어진 아미노산 서열 B와의, 또는 주어진 아미노산 서열 B 대비 주어진 아미노산 서열 A의 % 아미노산 서열 동일성 (대안적으로, 주어진 아미노산 서열 B에 대한, 주어진 아미노산 서열 B와의, 또는 주어진 아미노산 서열 B 대비 특정 % 아미노산 서열 동일성을 갖거나 또는 이를 포함하는 주어진 아미노산 서열 A라는 어구로 기재될 수 있음)은 하기와 같이 계산되며:

[0222] X/Y 분율 $\times 100$

[0223] 여기서 X는 A 및 B의 프로그램 정렬 시에 서열 정렬 프로그램 ALIGN-2에 의해 동일한 매치로 점수화된 아미노산 잔기의 수이고, Y는 B에서의 아미노산 잔기의 총 수이다. 아미노산 서열 A의 길이가 아미노산 서열 B의 길이와 동일하지 않은 경우에는 B에 대한 A의 % 아미노산 서열 동일성이 A에 대한 B의 % 아미노산 서열 동일성과 동일하지 않을 것임을 인지할 것이다. 달리 구체적으로 언급되지 않는 한, 본원에 사용된 모든 % 아미노산 서열 동일성 값은 ALIGN-2 컴퓨터 프로그램을 사용하여 직전 단락에 기재된 바와 같이 수득한다.

[0224] 용어 "제약 체제"는 그 안에 함유된 활성 성분의 생물학적 활성이 효과적이라도 하는 형태로 존재하며, 제제가 투여될 대상체에게 허용되지 않는 독성인 추가의 성분을 함유하지 않는 체제를 지칭한다.

[0225] "제약상 허용되는 담체"는 대상체에게 비독성인, 활성 성분 이외의 다른 제약 체제 내의 성분을 지칭한다. 제약상 허용되는 담체는 완충제, 부형제, 안정화제 또는 보존제를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0226] 본원에 사용된 용어 "헤마글루티닌"은 달리 나타내지 않는 한 임의의 인플루엔자 바이러스 공급원으로부터의 임의의 천연 헤마글루티닌을 지칭한다. 상기 용어는 "전장" 비프로세싱된 헤마글루티닌, 뿐만 아니라 인플루엔자 바이러스 또는 인플루엔자 바이러스-감염된 세포에서의 프로세싱으로부터 생성된 임의의 형태의 헤마글루티닌을 포괄한다. 상기 용어는 또한 헤마글루티닌의 자연 발생 변이체, 예를 들어 스플라이스 변이체 또는 대립유전자 변이체를 포괄한다. 본원에 사용된 용어 "헤마글루티닌"은 H7 헤마글루티닌을 포함한다.

[0227] 본원에 사용된 "치료" (및 "치료하다" 또는 "치료하는"과 같은 그의 문법적 변형)는 치료할 개체의 자연적 과정을 변경시키기 위한 시도로의 임상 개입을 지칭하고, 임상 병리상태의 예방을 위해 또는 그 과정 동안 수행될 수 있다. 바람직한 치료 효과는 질환의 발생 또는 재발 예방 (예를 들어, 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염의 발생 또는 재발 예방), 증상의 감소 (예를 들어, 경감) 또는 완화, 질환의 임의의 직접 또는 간접적인 병리학적 결과의 축소, 질환 진행 속도의 감소, 질환 상태의 개선 또는 호전, 및 완화 또는 개선된 예후를 포함하나, 이

에 제한되지는 않는다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 항체는 질환 발달을 지연시키는데 또는 질환 진행을 느리게 하는데 사용된다.

[0228] 용어 "가변 영역" 또는 "가변 도메인"은 항원에 대한 항체의 결합에 수반되는 항체 중쇄 또는 경쇄의 도메인을 지칭한다. 천연 항체의 중쇄 및 경쇄의 가변 도메인 (각각 VH 및 VL)은 일반적으로 유사한 구조를 갖고, 각각의 도메인은 4개의 보존된 프레임워크 영역 (FR) 및 3개의 초가변 영역 (HVR)을 포함한다. (예를 들어, 문헌 [Kindt et al. Kuby Immunology, 6th ed., W.H. Freeman and Co., page 91 (2007)] 참조.) 단일 VH 또는 VL 도메인은 항원-결합 특이성을 부여하기에 충분할 수 있다. 또한, 특정한 항원에 결합하는 항체는 각각 상보적 VL 또는 VH 도메인의 라이브러리를 스크리닝하기 위해 항원에 결합하는 항체로부터의 VH 또는 VL 도메인을 사용하여 단리될 수 있다. 예를 들어, 문헌 [Portolano et al., J. Immunol. 150:880-887 (1993); Clarkson et al., Nature 352:624-628 (1991)]을 참조한다.

[0229] 본원에 사용된 용어 "백터"는, 연결된 또 다른 핵산을 증식시킬 수 있는 핵산 분자를 지칭한다. 상기 용어는 자기-복제 핵산 구조로서의 백터, 뿐만 아니라 백터가 도입된 숙주 세포의 게놈 내로 혼입된 백터를 포함한다. 특정 백터는 작동가능하게 연결된 핵산의 발현을 지시할 수 있다. 이러한 백터는 본원에서 "발현 백터"로 지칭된다.

[0230] II. 조성물 및 방법

[0231] 한 측면에서, 본 발명은 부분적으로 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체 및 그의 용도를 기초로 한다. 특정 실시양태에서, H7 헤마글루티닌에 결합하는 항체가 제공된다. 본 발명의 항체는, 예를 들어 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염의 진단, 치료 또는 예방에 유용하다.

[0232] A. 조류 인플루엔자 A H7N9 바이러스에 대한 예시적인 항체

[0233] 한 측면에서, 본 발명은 H7 헤마글루티닌에 결합하는 단리된 항체를 제공한다. 특정 실시양태에서, 본 발명의 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체는 H7 헤마글루티닌에 결합한다. 다른 실시양태에서, 본 발명의 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체는 시험관내에서 인플루엔자 A H7N9 바이러스를 중화시킨다. 다른 실시양태에서, 본 발명의 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체는 생체내에서 인플루엔자 A H7N9 바이러스를 중화시킨다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체는 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염을 감소시키거나, 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염을 예방하거나, 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염을 억제하거나, 또는 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염을 치료한다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체는 인플루엔자 바이러스 막과 감염된 세포 엔도솜 막 사이의 헤마글루티닌-매개 융합을 예방하거나, 억제하거나 또는 감소시킨다 (따라서 감염된 세포 세포질 내로의 바이러스 RNA 진입을 예방하거나, 억제하거나 또는 감소시키고, 따라서 인플루엔자 바이러스 감염의 추가의 전파를 예방하거나, 억제하거나 또는 감소시킨다.)

[0234] 일부 실시양태에서, 본 발명의 단리된 항-헤마글루티닌 항체 (단리된 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체)는 3개의 중쇄 초가변 영역 (HVR-H1, HVR-H2 및 HVR-H3) 및 3개의 경쇄 초가변 영역 (HVR-L1, HVR-L2 및 HVR-L3)을 포함하고, 여기서

[0235] (a) HVR-H1은 서열식별번호: 56의 아미노산 서열을 포함하고;

[0236] (b) HVR-H2는 서열식별번호: 57의 아미노산 서열을 포함하고;

[0237] (c) HVR-H3은 서열식별번호: 58의 아미노산 서열을 포함하고;

[0238] (d) HVR-L1은 서열식별번호: 59의 아미노산 서열을 포함하고;

[0239] (e) HVR-L2는 서열식별번호: 60의 아미노산 서열을 포함하고;

[0240] (f) HVR-L3은 서열식별번호: 61의 아미노산 서열을 포함한다.

[0241] 일부 실시양태에서, 본 발명은 적어도 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 및/또는 6개의 초가변 영역 (HVR) 서열을 포함하고, 여기서

[0242] (a) HVR-H1은 서열식별번호: 56의 아미노산 서열을 포함하고;

[0243] (b) HVR-H2는 서열식별번호: 57의 아미노산 서열을 포함하고;

[0244] (c) HVR-H3은 서열식별번호: 58의 아미노산 서열을 포함하고;

- [0245] (d) HVR-L1은 서열식별번호: 59의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0246] (e) HVR-L2는 서열식별번호: 60의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0247] (f) HVR-L3은 서열식별번호: 61의 아미노산 서열을 포함하는 것인
- [0248] 단리된 항-헤마글루티닌 항체 (단리된 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체)를 제공한다.
- [0249] 일부 실시양태에서, 본 발명은 3개의 경쇄 추가변 영역 (HVR-L1, HVR-L2 및 LVR-L3)을 포함하고, 여기서
- [0250] (a) HVR-L1은 서열식별번호: 59의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0251] (b) HVR-L2는 서열식별번호: 60의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0252] (c) HVR-L3은 서열식별번호: 61의 아미노산 서열을 포함하는 것인
- [0253] 단리된 항-헤마글루티닌 항체 (단리된 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체)를 제공한다.
- [0254] 일부 실시양태에서, 본 발명은 3개의 중쇄 추가변 영역 (HVR-H1, HVR-H2 및 HVR-H3)을 포함하고, 여기서
- [0255] (a) HVR-H1은 서열식별번호: 56의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0256] (b) HVR-H2는 서열식별번호: 57의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0257] (c) HVR-H3은 서열식별번호: 58의 아미노산 서열을 포함하는 것인
- [0258] 단리된 항-헤마글루티닌 항체 (단리된 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체)를 제공한다.
- [0259] 일부 실시양태에서, 본 발명은 적어도 1개, 2개 및/또는 3개의 경쇄 추가변 영역 (HVR) 서열을 포함하고, 여기서
- [0260] (a) HVR-L1은 서열식별번호: 59의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0261] (b) HVR-L2는 서열식별번호: 60의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0262] (c) HVR-L3은 서열식별번호: 61의 아미노산 서열을 포함하는 것인
- [0263] 단리된 항-헤마글루티닌 항체 (단리된 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체)를 제공한다.
- [0264] 일부 실시양태에서, 본 발명은 적어도 1개, 2개 및/또는 3개의 중쇄 추가변 영역 (HVR) 서열을 포함하고, 여기서
- [0265] (a) HVR-H1은 서열식별번호: 56의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0266] (b) HVR-H2는 서열식별번호: 57의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0267] (c) HVR-H3은 서열식별번호: 58의 아미노산 서열을 포함하는 것인
- [0268] 단리된 항-헤마글루티닌 항체 (단리된 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체)를 제공한다.
- [0269] 일부 실시양태에서, 본 발명의 단리된 항-헤마글루티닌 항체 (단리된 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체)는 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하고, 여기서 중쇄 가변 영역은 서열식별번호: 74의 아미노산 서열을 포함하고, 경쇄 가변 영역은 서열식별번호: 75의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0270] 일부 실시양태에서, 본 발명의 단리된 항-헤마글루티닌 항체 (단리된 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체)는 서열식별번호: 75의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다.
- [0271] 일부 실시양태에서, 본 발명의 단리된 항-헤마글루티닌 항체 (단리된 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체)는 서열식별번호: 74의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함한다.
- [0272] 일부 실시양태에서, 본 발명의 단리된 항-헤마글루티닌 항체 (단리된 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체)는 중쇄 및 경쇄를 포함하고, 여기서 중쇄는 서열식별번호: 76의 아미노산 서열을 포함하고, 경쇄는 서열식별번호: 77의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0273] 일부 실시양태에서, 본 발명의 단리된 항-헤마글루티닌 항체 (단리된 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체)는 서열식별번호: 77의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.

- [0274] 일부 실시양태에서, 본 발명의 단리된 항-헤마글루티닌 항체 (단리된 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체)는 서열식별번호: 76의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 포함한다.
- [0275] 일부 실시양태에서, 본 발명은 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염을 갖거나 가질 위험이 있는 대상체에게 치료 유효량의 항체를 투여하는 것을 포함하며, 여기서 항체는 3개의 중쇄 추가변 영역 (HVR-H1, HVR-H2 및 HVR-H3) 및 3개의 경쇄 추가변 영역 (HVR-L1, HVR-L2 및 HVR-L3)을 포함하고, 여기서
- [0276] (a) HVR-H1은 서열식별번호: 56의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0277] (b) HVR-H2는 서열식별번호: 57의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0278] (c) HVR-H3은 서열식별번호: 58의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0279] (d) HVR-L1은 서열식별번호: 59의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0280] (e) HVR-L2는 서열식별번호: 60의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0281] (f) HVR-L3은 서열식별번호: 61의 아미노산 서열을 포함하는 것인,
- [0282] 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염을 예방 또는 치료하는 방법을 제공한다.
- [0283] 일부 실시양태에서, 본 발명은 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염을 갖거나 가질 위험이 있는 대상체에게 치료 유효량의 항체를 투여하는 것을 포함하며, 여기서 항체는 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하고, 여기서 중쇄 가변 영역은 서열식별번호: 74의 아미노산 서열을 포함하고, 경쇄 가변 영역은 서열식별번호: 75의 아미노산 서열을 포함하는 것인, 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염을 예방 또는 치료하는 방법을 제공한다.
- [0284] 일부 실시양태에서, 본 발명은 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염을 갖거나 가질 위험이 있는 대상체에게 치료 유효량의 항체를 투여하는 것을 포함하며, 여기서 항체는 중쇄 및 경쇄를 포함하고, 여기서 중쇄는 서열식별번호: 76의 아미노산 서열을 포함하고, 경쇄는 서열식별번호: 77의 아미노산 서열을 포함하는 것인, 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염을 예방 또는 치료하는 방법을 제공한다.
- [0285] 일부 실시양태에서, 본 발명의 단리된 항-헤마글루티닌 항체 (단리된 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체)는 3개의 중쇄 추가변 영역 (HVR-H1, HVR-H2 및 HVR-H3) 및 3개의 경쇄 추가변 영역 (HVR-L1, HVR-L2 및 HVR-L3)을 포함하고, 여기서
- [0286] (a) HVR-H1은 서열식별번호: 62의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0287] (b) HVR-H2는 서열식별번호: 63의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0288] (c) HVR-H3은 서열식별번호: 64의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0289] (d) HVR-L1은 서열식별번호: 65의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0290] (e) HVR-L2는 서열식별번호: 66의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0291] (f) HVR-L3은 서열식별번호: 67의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0292] 일부 실시양태에서, 본 발명은 적어도 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 및/또는 6개의 추가변 영역 (HVR) 서열을 포함하고, 여기서
- [0293] (a) HVR-H1은 서열식별번호: 62의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0294] (b) HVR-H2는 서열식별번호: 63의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0295] (c) HVR-H3은 서열식별번호: 64의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0296] (d) HVR-L1은 서열식별번호: 65의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0297] (e) HVR-L2는 서열식별번호: 66의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0298] (f) HVR-L3은 서열식별번호: 67의 아미노산 서열을 포함하는 것인
- [0299] 단리된 항-헤마글루티닌 항체 (단리된 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체)를 제공한다.
- [0300] 일부 실시양태에서, 본 발명은 3개의 경쇄 추가변 영역 (HVR-L1, HVR-L2 및 LVR-L3)을 포함하고, 여기서

- [0301] (a) HVR-L1은 서열식별번호: 65의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0302] (b) HVR-L2는 서열식별번호: 66의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0303] (c) HVR-L3은 서열식별번호: 67의 아미노산 서열을 포함하는 것인
- [0304] 단리된 항-헤마글루티닌 항체 (단리된 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체)를 제공한다.
- [0305] 일부 실시양태에서, 본 발명은 3개의 중쇄 추가변 영역 (HVR-H1, HVR-H2 및 HVR-H3)을 포함하고, 여기서
- [0306] (a) HVR-H1은 서열식별번호: 62의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0307] (b) HVR-H2는 서열식별번호: 63의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0308] (c) HVR-H3은 서열식별번호: 64의 아미노산 서열을 포함하는 것인
- [0309] 단리된 항-헤마글루티닌 항체 (단리된 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체)를 제공한다.
- [0310] 일부 실시양태에서, 본 발명은 적어도 1개, 2개 및/또는 3개의 경쇄 추가변 영역 (HVR) 서열을 포함하고, 여기서
- [0311] (a) HVR-L1은 서열식별번호: 65의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0312] (b) HVR-L2는 서열식별번호: 66의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0313] (c) HVR-L3은 서열식별번호: 67의 아미노산 서열을 포함하는 것인
- [0314] 단리된 항-헤마글루티닌 항체 (단리된 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체)를 제공한다.
- [0315] 일부 실시양태에서, 본 발명은 적어도 1개, 2개 및/또는 3개의 중쇄 추가변 영역 (HVR) 서열을 포함하고, 여기서
- [0316] (a) HVR-H1은 서열식별번호: 62의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0317] (b) HVR-H2는 서열식별번호: 63의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0318] (c) HVR-H3은 서열식별번호: 64의 아미노산 서열을 포함하는 것인
- [0319] 단리된 항-헤마글루티닌 항체 (단리된 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체)를 제공한다.
- [0320] 일부 실시양태에서, 본 발명의 단리된 항-헤마글루티닌 항체 (단리된 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체)는 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하고, 여기서 중쇄 가변 영역은 서열식별번호: 78의 아미노산 서열을 포함하고, 경쇄 가변 영역은 서열식별번호: 79의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0321] 일부 실시양태에서, 본 발명의 단리된 항-헤마글루티닌 항체 (단리된 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체)는 서열식별번호: 79의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다.
- [0322] 일부 실시양태에서, 본 발명의 단리된 항-헤마글루티닌 항체 (단리된 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체)는 서열식별번호: 78의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함한다.
- [0323] 일부 실시양태에서, 본 발명의 단리된 항-헤마글루티닌 항체 (단리된 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체)는 중쇄 및 경쇄를 포함하고, 여기서 중쇄는 서열식별번호: 80의 아미노산 서열을 포함하고, 경쇄는 서열식별번호: 81의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0324] 일부 실시양태에서, 본 발명의 단리된 항-헤마글루티닌 항체 (단리된 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체)는 서열식별번호: 81의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.
- [0325] 일부 실시양태에서, 본 발명의 단리된 항-헤마글루티닌 항체 (단리된 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체)는 서열식별번호: 80의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 포함한다.
- [0326] 일부 실시양태에서, 본 발명은 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염을 갖거나 가질 위험이 있는 대상체에게 치료 유효량의 항체를 투여하는 것을 포함하며, 여기서 항체는 3개의 중쇄 추가변 영역 (HVR-H1, HVR-H2 및 HVR-H3) 및 3개의 경쇄 추가변 영역 (HVR-L1, HVR-L2 및 HVR-L3)을 포함하고, 여기서
- [0327] (a) HVR-H1은 서열식별번호: 62의 아미노산 서열을 포함하고;

- [0328] (b) HVR-H2는 서열식별번호: 63의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0329] (c) HVR-H3은 서열식별번호: 64의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0330] (d) HVR-L1은 서열식별번호: 65의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0331] (e) HVR-L2는 서열식별번호: 66의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0332] (f) HVR-L3은 서열식별번호: 67의 아미노산 서열을 포함하는 것인,
- [0333] 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염을 예방 또는 치료하는 방법을 제공한다.
- [0334] 일부 실시양태에서, 본 발명은 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염을 갖거나 가질 위험이 있는 대상체에게 치료 유효량의 항체를 투여하는 것을 포함하며, 여기서 항체는 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하고, 여기서 중쇄 가변 영역은 서열식별번호: 78의 아미노산 서열을 포함하고, 경쇄 가변 영역은 서열식별번호: 79의 아미노산 서열을 포함하는 것인, 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염을 예방 또는 치료하는 방법을 제공한다.
- [0335] 일부 실시양태에서, 본 발명은 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염을 갖거나 가질 위험이 있는 대상체에게 치료 유효량의 항체를 투여하는 것을 포함하며, 여기서 항체는 중쇄 및 경쇄를 포함하고, 여기서 중쇄는 서열식별번호: 80의 아미노산 서열을 포함하고, 경쇄는 서열식별번호: 81의 아미노산 서열을 포함하는 것인, 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염을 예방 또는 치료하는 방법을 제공한다.
- [0336] 임의의 상기 실시양태에서, 본 발명의 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체는 인간화 항체이다. 한 실시양태에서, 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체는 임의의 상기 실시양태에서와 같은 HVR을 포함하고, 수용자 인간 프레임워크, 예를 들어 인간 이뮤노글로불린 프레임워크 또는 인간 컨센서스 프레임워크를 추가로 포함한다.
- [0337] 또 다른 측면에서, 본 발명의 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체는 서열식별번호: 74 및 78로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 대해 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 도메인 (VH) 서열을 포함한다. 특정 실시양태에서, 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일성을 갖는 VH 서열은 참조 서열에 대한 치환 (예를 들어, 보존적 치환), 삽입 또는 결실을 함유하지만, 그 서열을 포함하는 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체는 H7 헤마글루티닌에 결합하는 능력을 유지한다. 특정 실시양태에서, 서열식별번호: 74 또는 78에서 총 1 내지 10개의 아미노산이 치환, 삽입 및/또는 결실되었다. 특정 실시양태에서, 치환, 삽입 또는 결실은 HVR 외부의 영역에서 (즉, FR에서) 발생한다. 임의로, 항-헤마글루티닌 항체 (항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체)는 서열식별번호: 74 또는 78의 VH 서열을 포함한다 (그 서열의 번역후 변형 포함).
- [0338] 또 다른 측면에서, 서열식별번호: 75 및 79로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 대해 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 도메인 (VL)을 포함하는 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체가 제공된다. 특정 실시양태에서, 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일성을 갖는 VL 서열은 참조 서열에 대한 치환 (예를 들어, 보존적 치환), 삽입 또는 결실을 함유하지만, 그 서열을 포함하는 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체는 H7 헤마글루티닌에 결합하는 능력을 유지한다. 특정 실시양태에서, 서열식별번호: 75 또는 79에서 총 1 내지 10개의 아미노산이 치환, 삽입 및/또는 결실되었다. 특정 실시양태에서, 치환, 삽입 또는 결실은 HVR 외부의 영역에서 (즉, FR에서) 발생한다. 임의로, 항 헤마글루티닌 항체 (항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체)는 서열식별번호: 75 또는 79의 VL 서열을 포함한다 (그 서열의 번역후 변형 포함).
- [0339] 또 다른 측면에서, 상기 제공된 임의의 실시양태에서와 같은 VH 및 상기 제공된 임의의 실시양태에서와 같은 VL을 포함하는 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체가 제공된다. 한 실시양태에서, 항체는 각각 서열식별번호: 74 또는 78 및 서열식별번호: 75 또는 79의 VH 및 VL 서열을 포함한다 (이들 서열의 번역후 변형 포함).
- [0340] 추가 측면에서, 본 발명은 본원에 제공된 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체와 동일한 에피토프에 결합하는 항체를 제공한다. 예를 들어, 특정 실시양태에서, 서열식별번호: 75의 VH 서열 및 서열식별번호: 75의 VL 서열; 또는 서열식별번호: 78의 VH 서열 및 서열식별번호: 79의 VL 서열을 포함하는 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체와 동일한 에피토프에 결합하는 항체가 제공된다.
- [0341] 본 발명의 추가 측면에서, 임의의 상기 실시양태에 따른 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체는 키메라, 인간화 또는 인간 항체를 포함한, 모노클로날 항체이다. 한 실시양태에서, 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체는 항체 단편, 예를 들어 Fv, Fab, Fab', scFv, 디아바디 또는 F(ab')₂ 단편이다. 또 다른 실시양태에서, 항체는 전

장 항체, 예를 들어 무손상, 예를 들어 IgG1 항체 또는 본원에 정의된 바와 같은 다른 항체 부류 또는 이소형이다.

[0342] 추가 측면에서, 임의의 상기 실시양태에 따른 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체는 하기 섹션 1-7에 기재된 바와 같은 임의의 특색을 단독으로 또는 조합하여 포함할 수 있다:

[0343] 1. 항체 친화도

[0344] 특정 실시양태에서, 본원에 제공된 항체는 $\leq 1 \mu\text{M}$, $\leq 100 \text{ nM}$, $\leq 10 \text{ nM}$, $\leq 1 \text{ nM}$, $\leq 0.1 \text{ nM}$, $\leq 0.01 \text{ nM}$ 또는 $\leq 0.001 \text{ nM}$ (예를 들어, 10^{-8} M 이하, 예를 들어 10^{-8} M 내지 10^{-13} M , 예를 들어 10^{-9} M 내지 10^{-13} M)의 해리 상수 (K_d)를 갖는다.

[0345] 한 실시양태에서, K_d 는 방사성표지된 항원 결합 검정 (RIA)에 의해 측정된다. 한 실시양태에서, RIA는 관심 항체의 Fab 버전 및 그의 항원을 사용하여 수행된다. 예를 들어, 항원에 대한 Fab의 용액 결합 친화도는 비표지된 항원의 적정 시리즈의 존재 하에 최소 농도의 (^{125}I)-표지된 항원으로 Fab를 평형화시킨 후, 항-Fab 항체-코팅된 플레이트를 사용하여 결합된 항원을 포획함으로써 측정한다 (예를 들어, 문헌 [Chen et al., J. Mol. Biol. 293:865-881(1999)] 참조). 검정 조건을 확립하기 위해, 마이크로타이터(MICROTITER)® 멀티-웰 플레이트 (써모 사이언티픽(Thermo Scientific))를 50 mM 탄산나트륨 (pH 9.6) 중 5 $\mu\text{g/ml}$ 포획 항-Fab 항체 (카펠 랩스(Cappel Labs))로 밤새 코팅한 후, PBS 중 2% (w/v) 소 혈청 알부민으로 2 내지 5시간 동안 실온 (대략 23 °C)에서 차단한다. 비-흡착 플레이트 (눈크(Nunc) #269620)에서는 100 pM 또는 26 pM [^{125}I]-항원을 관심 Fab의 연속 희석물과 혼합한다 (예를 들어, 문헌 [Presta et al., Cancer Res. 57:4593-4599 (1997)]의 항-VEGF 항체, Fab-12의 평가와 일치함). 이어서, 관심 Fab를 밤새 인큐베이션하지만; 평형에 도달하는 것을 확실하게 하기 위해 더 오랜 기간 (예를 들어, 약 65시간) 동안 계속 인큐베이션할 수 있다. 이후에, 혼합물을 포획 플레이트로 옮겨 실온에서 (예를 들어, 1시간 동안) 인큐베이션한다. 이어서, 용액을 제거하고, 플레이트를 PBS 중 0.1% 폴리소르베이트 20 (트윈(TWEEN)-20®)으로 8회 세척한다. 플레이트가 건조된 경우에, 150 μl /웰의 섬광제 (마이크로싯(MICROSCINT)-20™; 팩커드(Packard))를 첨가하고, 플레이트를 탑카운트(TOPCOUNT)™ 감마 계수기 (팩커드) 상에서 10분 동안 계수한다. 최대 결합의 20% 이하를 제공하는 각 Fab의 농도를 선택하여 경쟁적 결합 검정에 사용한다.

[0346] 또 다른 실시양태에 따르면, K_d 는 비아코어(BIACORE)® 표면 플라즈몬 공명 검정을 사용하여 측정된다. 예를 들어, 비아코어®-2000 또는 비아코어®-3000 (비아코어, 인크.(BIAcore, Inc.), 뉴저지주 피스카타웨이)을 사용하는 검정을 ~10 반응 단위 (RU)로 고정된 항원 CM5 칩을 사용하여 25°C에서 수행한다. 한 실시양태에서, 카르복시메틸화 텍스트란 바이오센서 칩 (CM5, 비아코어, 인크.)을 공급업체의 지침에 따라 N-에틸-N'-(3-디메틸아미노프로필)-카르보디이미드 히드록로라이드 (EDC) 및 N-히드록시숙신이미드 (NHS)로 활성화시킨다. 항원을 10 mM 아세트산나트륨, pH 4.8을 사용하여 5 $\mu\text{g/ml}$ (~0.2 μM)로 희석한 후에 커플링된 단백질의 대략 10 반응 단위 (RU)가 달성되도록 5 μl /분의 유량으로 주사한다. 항원의 주사 후, 1 M 에탄올아민을 주사하여 미 반응기를 차단한다. 동역학적 측정을 위해, Fab의 2배 연속 희석물 (0.78 nM 내지 500 nM)을 대략 25 μl /분의 유량으로 25°C에서 0.05% 폴리소르베이트 20 (트윈-20™) 계면활성제를 갖는 PBS (PBST) 내에 주사한다. 간단한 일-대-일 랭뮤어(Langmuir) 결합 모델 (비아코어® 평가 소프트웨어 버전 3.2)을 사용하여 회합 및 해리 센서그램을 동시에 피팅시켜 회합률 (k_{on}) 및 해리율 (k_{off})을 계산한다. 평형 해리 상수 (K_d)는 k_{off}/k_{on} 의 비로 계산한다. 예를 들어, 문헌 [Chen et al., J. Mol. Biol. 293:865-881 (1999)]을 참조한다. 회합률이 상기 표면 플라즈몬 공명 검정에 의해 $10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 을 초과하는 경우에, 회합률은 분광계, 예컨대 정지-유동 설비 분광광도계 (아비브 인스트루먼트(Aviv Instruments)) 또는 교반 큐벳이 장착된 8000-시리즈 SLM-아민코(AMINCO)™ 분광광도계 (써모스펙트로닉(ThermoSpectronic))에서 측정되는 바와 같은, 증가하는 농도의 항원의 존재 하에 PBS, pH 7.2 중 20 nM의 항-항원 항체 (Fab 형태)의 25°C에서의 형광 방출 강도 (여기 = 295 nm; 방출 = 340 nm, 16 nm 대역-통과)의 증가 또는 감소를 측정하는 형광 쉐킷 기술을 사용하는 것에 의해 결정될 수 있다.

[0347] 2. 항체 단편

[0348] 특정 실시양태에서, 본원에 제공된 항체는 항체 단편이다. 항체 단편은 Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab')₂, Fv 및 scFv 단편, 및 하기 기재된 다른 단편을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 특정 항체 단편의 검토를 위해, 문헌 [Hudson et al., Nat. Med. 9:129-134 (2003)]을 참조한다. scFv 단편의 검토를 위해, 예를 들어 문헌 [Pluckthuen, in The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, vol. 113, Rosenberg and Moore eds.,

(Springer-Verlag, New York), pp. 269-315 (1994)]을 참조하고; 또한 WO 93/16185; 및 미국 특허 번호 5,571,894 및 5,587,458을 참조한다. 셀비지 수용체 결합 에피토프 잔기를 포함하고 증가된 생체내 반감기를 갖는 Fab 및 F(ab')₂ 단편의 논의에 대해서는, 미국 특허 번호 5,869,046을 참조한다.

[0349] 디아바디는 2가 또는 이중특이적일 수 있는 2개의 항원-결합 부위를 갖는 항체 단편이다. 예를 들어, EP 404,097; WO 1993/01161; 문헌 [Hudson et al., Nat. Med. 9:129-134 (2003); 및 Hollinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 6444-6448 (1993)]을 참조한다. 트리아바디 및 테트라바디는 또한 문헌 [Hudson et al., Nat. Med. 9:129-134 (2003)]에 기재되어 있다.

[0350] 단일-도메인 항체는 항체의 중쇄 가변 도메인의 전부 또는 일부 또는 경쇄 가변 도메인의 전부 또는 일부를 포함하는 항체 단편이다. 특정 실시양태에서, 단일-도메인 항체는 인간 단일-도메인 항체이다 (도만티스, 인크.(Domantis, Inc.), 매사추세츠주 윌섬; 예를 들어 미국 특허 번호 6,248,516 B1 참조).

[0351] 항체 단편은 본원에 기재된 바와 같은 무손상 항체의 단백질분해적 소화, 뿐만 아니라 재조합 숙주 세포 (예를 들어, 이. 콜라이 또는 파지)에 의한 생산을 포함하나 이에 제한되지는 않는 다양한 기술에 의해 제조될 수 있다.

[0352] 3. 키메라 및 인간화 항체

[0353] 특정 실시양태에서, 본원에 제공된 항체는 키메라 항체이다. 특정 키메라 항체는, 예를 들어 미국 특허 번호 4,816,567; 및 문헌 [Morrison et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81:6851-6855 (1984)]에 기재되어 있다. 한 예에서, 키메라 항체는 비-인간 가변 영역 (예를 들어, 마우스, 래트, 햄스터, 토끼 또는 비-인간 영장류, 예컨대 원숭이로부터 유래된 가변 영역) 및 인간 불변 영역을 포함한다. 추가의 예에서, 키메라 항체는 부류 또는 하위부류가 모 항체의 것으로부터 변화된 "부류 교체된" 항체이다. 키메라 항체는 그의 항원-결합 단편을 포함한다.

[0354] 특정 실시양태에서, 키메라 항체는 인간화 항체이다. 전형적으로, 비-인간 항체는 모 비-인간 항체의 특이성 및 친화도를 유지하면서 인간에 대한 면역원성이 감소되도록 인간화된다. 일반적으로, 인간화 항체는 HVR, 예를 들어 CDR (또는 그의 일부)이 비-인간 항체로부터 유래되고, FR (또는 그의 일부)이 인간 항체 서열로부터 유래된 1개 이상의 가변 도메인을 포함한다. 인간화 항체는 또한 임의로 인간 불변 영역의 적어도 일부를 포함할 것이다. 일부 실시양태에서, 인간화 항체 내의 일부 FR 잔기는, 예를 들어 항체 특이성 또는 친화도를 복원하거나 개선시키기 위해, 비-인간 항체 (예를 들어, HVR 잔기가 유래된 항체)로부터의 상응하는 잔기로 치환된다.

[0355] 인간화 항체 및 그의 제조 방법은, 예를 들어 문헌 [Almagro and Fransson, Front. Biosci. 13:1619-1633 (2008)]에 검토되어 있고, 추가로 예를 들어 문헌 [Riechmann et al., Nature 332:323-329 (1988); Queen et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 86:10029-10033 (1989)]; 미국 특허 번호 5,821,337, 7,527,791, 6,982,321 및 7,087,409; 문헌 [Kashmiri et al., Methods 36:25-34 (2005)] (특이성 결정 영역 (SDR) 이식을 기재함); 문헌 [Padlan, Mol. Immunol. 28:489-498 (1991)] ("재표면화"를 기재함); 문헌 [Dall'Acqua et al., Methods 36:43-60 (2005)] ("FR 서플링"을 기재함); 및 문헌 [Osbourn et al., Methods 36:61-68 (2005) 및 Klimka et al., Br. J. Cancer, 83:252-260 (2000)] (FR 서플링에 대한 "가이드 선택" 접근법을 기재함)에 기재되어 있다.

[0356] 인간화에 사용될 수 있는 인간 프레임워크 영역은 "최적-적합" 방법을 사용하여 선택된 프레임워크 영역 (예를 들어, 문헌 [Sims et al. J. Immunol. 151:2296 (1993)] 참조); 경쇄 또는 중쇄 가변 영역의 특정한 하위군의 인간 항체의 컨센서스 서열로부터 유래된 프레임워크 영역 (예를 들어, 문헌 [Carter et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89:4285 (1992); 및 Presta et al. J. Immunol., 151:2623 (1993)] 참조); 인간 성숙 (체세포 돌연변이) 프레임워크 영역 또는 인간 배선 프레임워크 영역 (예를 들어, 문헌 [Almagro and Fransson, Front. Biosci. 13:1619-1633 (2008)] 참조); 및 FR 라이브러리 스크리닝으로부터 유래된 프레임워크 영역 (예를 들어, 문헌 [Baca et al., J. Biol. Chem. 272:10678-10684 (1997) 및 Rosok et al., J. Biol. Chem. 271:22611-22618 (1996)] 참조)을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0357] 4. 인간 항체

[0358] 특정 실시양태에서, 본원에 제공된 항체는 인간 항체이다. 인간 항체는 관련 기술분야에 공지된 다양한 기술을 사용하거나 또는 본원에 기재된 기술을 사용하여 생산될 수 있다. 인간 항체는 일반적으로 문헌 [van Dijk and

van de Winkel, *Curr. Opin. Pharmacol.* 5: 368-74 (2001) 및 Lonberg, *Curr. Opin. Immunol.* 20:450-459 (2008)]에 기재되어 있다.

[0359] 인간 항체는 항원 펩티드에 반응하여 무손상 인간 항체 또는 인간 가변 영역을 갖는 무손상 항체를 생산하도록 변형된 트랜스제닉 동물에게 면역원을 투여하는 것에 의해 제조할 수 있다. 이러한 동물은 전형적으로 내인성 이뮤노글로불린 유전자좌를 대체하거나 또는 염색체외에 존재하거나 또는 동물의 염색체 내로 무작위로 통합된 인간 이뮤노글로불린 유전자좌의 전부 또는 일부를 함유한다. 이러한 트랜스제닉 마우스에서, 내인성 이뮤노글로불린 유전자좌는 일반적으로 불활성화된다. 트랜스제닉 동물로부터 인간 항체를 수득하는 방법의 검토를 위해, 문헌 [Lonberg, *Nat. Biotech.* 23:1117-1125 (2005)]을 참조한다. 또한, 예를 들어 제노마우스 (XENOMOUSE)TM 기술을 기재하는 미국 특허 번호 6,075,181 및 6,150,584; HuMab[®] 기술을 기재하는 미국 특허 번호 5,770,429; K-M 마우스(K-M MOUSE)[®] 기술을 기재하는 미국 특허 번호 7,041,870 및 벨로시마우스 (VelociMouse)[®] 기술을 기재하는 미국 특허 출원 공개 번호 US 2007/0061900을 참조한다. 이러한 동물에 의해 생성된 무손상 항체로부터의 인간 가변 영역은, 예를 들어 상이한 인간 불변 영역과 조합시키는 것에 의해 추가로 변형될 수 있다.

[0360] 인간 항체는 또한 하이브리도마-기반 방법에 의해 제조될 수 있다. 인간 모노클로날 항체의 생산을 위한 인간 골수종 및 마우스-인간 이종골수종 세포주가 기재되었다. (예를 들어, 문헌 [Kozbor *J. Immunol.*, 133: 3001 (1984); Brodeur et al., *Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications*, pp. 51-63 (Marcel Dekker, Inc., New York, 1987); 및 Boerner et al., *J. Immunol.*, 147: 86 (1991)] 참조.) 인간 B-세포 하이브리도마 기술을 통해 생성된 인간 항체는 또한 문헌 [Li et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 103:3557-3562 (2006)]에 기재되어 있다. 추가의 방법은, 예를 들어 미국 특허 번호 7,189,826 (하이브리도마 세포주로부터의 모노클로날 인간 IgM 항체의 생산 기재) 및 문헌 [Ni, *Xiandai Mianyixue*, 26(4):265-268 (2006)] (인간-인간 하이브리도마 기재)에 기재된 것을 포함한다. 인간 하이브리도마 기술 (트리오마(Trioma) 기술)은 또한 문헌 [Vollmers and Brandlein, *Histology and Histopathology*, 20(3):927-937 (2005) 및 Vollmers and Brandlein, *Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology*, 27(3):185-91 (2005)]에 기재되어 있다.

[0361] 인간 항체는 또한 인간-유래 파지 디스플레이 라이브러리로부터 선택된 Fv 클론 가변 도메인 서열을 단리하는 것에 의해 생성될 수 있다. 이어서, 이러한 가변 도메인 서열은 목적하는 인간 불변 도메인과 조합될 수 있다. 항체 라이브러리로부터 인간 항체를 선택하는 기술은 하기 기재된다.

[0362] 5. 라이브러리-유래 항체

[0363] 본 발명의 항체는 목적하는 활성 또는 활성들을 갖는 항체에 대해 조합 라이브러리를 스크리닝하는 것에 의해 단리될 수 있다. 예를 들어, 파지 디스플레이 라이브러리를 생성하고, 이러한 라이브러리를 목적하는 결합 특성을 보유하는 항체에 대해 스크리닝하는 다양한 방법에 관한 기술분야에 공지되어 있다. 이러한 방법은 예를 들어 문헌 [Hoogenboom et al. in *Methods in Molecular Biology* 178:1-37 (O'Brien et al., ed., Human Press, Totowa, NJ, 2001)]에 검토되어 있고, 예를 들어 문헌 [McCafferty et al., *Nature* 348:552-554; Clackson et al., *Nature* 352: 624-628 (1991); Marks et al., *J. Mol. Biol.* 222: 581-597 (1992); Marks and Bradbury, in *Methods in Molecular Biology* 248:161-175 (Lo, ed., Human Press, Totowa, NJ, 2003); Sidhu et al., *J. Mol. Biol.* 338(2): 299-310 (2004); Lee et al., *J. Mol. Biol.* 340(5): 1073-1093 (2004); Fellouse, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101(34): 12467-12472 (2004); 및 Lee et al., *J. Immunol. Methods* 284(1-2): 119-132(2004)]에 추가로 기재되어 있다.

[0364] 특정 파지 디스플레이 방법에서, VH 및 VL 유전자의 레퍼토리는 개별적으로 폴리머라제 연쇄 반응 (PCR)에 의해 클로닝되고, 파지 라이브러리에 무작위 재조합되며, 이는 이어서 문헌 [Winter et al., *Ann. Rev. Immunol.*, 12: 433-455 (1994)]에 기재된 바와 같이 항원-결합 파지에 대해 스크리닝될 수 있다. 파지는 전형적으로 항체 단편을 단일-쇄 Fv (scFv) 단편 또는 Fab 단편으로 디스플레이한다. 면역화된 공급원으로부터의 라이브러리는 하이브리도마를 구축할 필요없이 면역원에 대한 고-친화도 항체를 제공한다. 대안적으로, 나이브 레퍼토리를 클로닝 (예를 들어, 인간으로부터)하여, 문헌 [Griffiths et al., *EMBO J.*, 12: 725-734 (1993)]에 기재된 바와 같이 어떠한 면역화도 없이 폭넓은 범위의 비-자기 및 또한 자기 항원에 대한 항체의 단일 공급원을 제공할 수 있다. 최종적으로, 문헌 [Hoogenboom and Winter, *J. Mol. Biol.*, 227: 381-388 (1992)]에 기재된 바와 같이, 줄기 세포로부터의 재배열되지 않은 V-유전자 절편을 클로닝하고, 고도로 가변성인 CDR3 영역을 코딩하며 시험 관내 재배열이 달성되도록 무작위 서열을 함유하는 PCR 프라이머를 사용함으로써, 나이브 라이브러리를 또한 합

성적으로 제조할 수 있다. 인간 항체 파지 라이브러리를 기재하고 있는 특허 공개는, 예를 들어 미국 특허 번호 5,750,373, 및 미국 특허 공개 번호 2005/0079574, 2005/0119455, 2005/0266000, 2007/0117126, 2007/0160598, 2007/0237764, 2007/0292936 및 2009/0002360을 포함한다.

[0365] 인간 항체 라이브러리로부터 단리된 항체 또는 항체 단편은 본원에서 인간 항체 또는 인간 항체 단편으로 간주된다.

[0366] 6. 다중특이적 항체

[0367] 특정 실시양태에서, 본원에 제공된 항체는 다중특이적 항체, 예를 들어 이중특이적 항체이다. 다중특이적 항체는 적어도 2개의 상이한 부위에 대해 결합 특이성을 갖는 모노클로날 항체이다. 특정 실시양태에서, 결합 특이성 중 하나는 헤마글루티닌에 대한 것이고, 다른 것은 임의의 다른 항원에 대한 것이다. 특정 실시양태에서, 이중특이적 항체는 헤마글루티닌의 2개의 상이한 에피토프에 결합할 수 있다. 이중특이적 항체는 또한 헤마글루티닌을 발현하는 세포에 세포독성제를 국재화시키는데 사용될 수 있다. 이중특이적 항체는 전장 항체 또는 항체 단편으로서 제조될 수 있다.

[0368] 다중특이적 항체를 제조하기 위한 기술은 상이한 특이성을 갖는 2개의 이뮤노글로불린 중쇄-경쇄 쌍의 재조합 공동-발현 (문헌 [Milstein and Cuello, Nature 305: 537 (1983)], WO 93/08829 및 [Trauncker et al., EMBO J. 10: 3655 (1991)] 참조), 및 "노브-인-홀" 조작 (예를 들어, 미국 특허 번호 5,731,168 참조)을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 다중-특이적 항체는 또한 항체 Fc-이종이량체 분자를 제조하기 위한 정전기적 스테어링 효과를 조작하는 것 (WO 2009/089004A1); 2개 이상의 항체 또는 단편을 가교하는 것 (예를 들어, 미국 특허 번호 4,676,980 및 문헌 [Brennan et al., Science, 229: 81 (1985)] 참조); 이중특이적 항체를 생산하기 위해 류신 지퍼를 사용하는 것 (예를 들어, 문헌 [Kostelny et al., J. Immunol., 148(5):1547-1553 (1992)] 참조); 이중특이적 항체 단편을 제조하기 위한 "디아바디" 기술을 사용하는 것 (예를 들어, 문헌 [Hollinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90:6444-6448 (1993)] 참조); 및 단일-쇄 Fv (sFv) 이량체를 사용하는 것 (예를 들어, 문헌 [Gruber et al., J. Immunol., 152:5368 (1994)] 참조); 및 예를 들어 문헌 [Tutt et al. J. Immunol. 147: 60 (1991)]에 기재된 바와 같이 삼중특이적 항체를 제조하는 것에 의해 제조될 수 있다.

[0369] "옥토퍼스 항체"를 포함한, 3개 이상의 기능적 항원 결합 부위를 갖는 조작된 항체가 또한 본원에 포함된다 (예를 들어, US 2006/0025576A1 참조).

[0370] 본원의 항체 또는 단편은 또한 헤마글루티닌, 뿐만 아니라 또 다른 상이한 항원에 결합하는 항원 결합 부위를 포함하는 "이중 작용 Fab" 또는 "DAF"를 포함한다 (예를 들어, US 2008/0069820 참조).

[0371] 7. 항체 변이체

[0372] 특정 실시양태에서, 본원에 제공된 항체의 아미노산 서열 변이체가 고려된다. 예를 들어, 항체의 결합 친화도 및/또는 다른 생물학적 특성을 개선시키는 것이 바람직할 수 있다. 항체의 아미노산 서열 변이체는 항체를 코딩하는 뉴클레오티드 서열 내에 적절한 변형을 도입하는 것에 의해 또는 펩티드 합성에 의해 제조될 수 있다. 이러한 변형은, 예를 들어 항체의 아미노산 서열로부터의 잔기의 결실 및/또는 그 내로의 삽입 및/또는 그 내의 치환을 포함한다. 최종 구축물에 도달하기 위해 결실, 삽입 및 치환의 임의의 조합이 이루어질 수 있으며, 단 최종 구축물은 목적하는 특징, 예를 들어 항원-결합을 보유한다.

[0373] a) 치환, 삽입 및 결실 변이체

[0374] 특정 실시양태에서, 1개 이상의 아미노산 치환을 갖는 항체 변이체가 제공된다. 치환 돌연변이유발을 위한 관심 부위는 HVR 및 FR을 포함한다. 보존적 치환은 표 1에서 "바람직한 치환"의 표목 하에 제시된다. 보다 실질적인 변화는 표 1에서 "예시적인 치환"의 표목 하에 제공되고, 아미노산 측쇄 부류에 관하여 하기에 추가로 기재된다. 아미노산 치환은 관심 항체 내로 도입될 수 있고, 산물은 목적하는 활성, 예를 들어 유지/개선된 항원 결합, 감소된 면역원성 또는 개선된 ADCC 또는 CDC에 대해 스크리닝될 수 있다.

[0375] <표 1>

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

[0376] 아미노산은 공통적인 측쇄 특성에 따라 군별화될 수 있다:

- [0377] (1) 소수성: 노르류신, Met, Ala, Val, Leu, Ile;
- [0378] (2) 중성 친수성: Cys, Ser, Thr, Asn, Gln;
- [0379] (3) 산성: Asp, Glu;
- [0380] (4) 염기성: His, Lys, Arg;
- [0381] (5) 쇠 배향에 영향을 미치는 잔기: Gly, Pro;
- [0382] (6) 방향족: Trp, Tyr, Phe.

[0383] 비-보존적 치환은 이들 부류 중 하나의 구성원을 또 다른 부류로 교환하는 것을 수반할 것이다.

[0384] 치환 변이체의 한 유형은 모 항체 (예를 들어, 인간화 또는 인간 항체)의 1개 이상의 초가변 영역 잔기를 치환하는 것을 수반한다. 일반적으로, 추가의 연구를 위해 선택된 생성된 변이체(들)는 모 항체에 비해 특정 생물학적 특성 (예를 들어, 증가된 친화도, 감소된 면역원성)에서 변형 (예를 들어, 개선)을 가질 것이고/거나 모 항체의 특정 생물학적 특성을 실질적으로 유지할 것이다. 예시적인 치환 변이체는, 예를 들어 본원에 기재된 것과 같은 파지 디스플레이-기반 친화도 성숙 기술을 사용하여 편리하게 생성될 수 있는 친화도 성숙 항체이다. 간략하게, 1개 이상의 HVR 잔기가 돌연변이되고, 변이체 항체가 파지 상에 디스플레이되며, 특정한 생물학적 활성 (예를 들어, 결합 친화도)에 대해 스크리닝된다.

[0385] 변경 (예를 들어, 치환)은, 예를 들어 항체 친화도를 개선시키기 위해 HVR에서 이루어질 수 있다. 이러한 변경은 HVR "핫스팟", 즉 체세포 성숙 과정 동안 높은 빈도로 돌연변이를 겪는 코돈에 의해 코딩된 잔기 (예를 들어, 문헌 [Chowdhury, Methods Mol. Biol. 207:179-196 (2008)] 참조) 및/또는 항원에 접촉하는 잔기에서 이루어질 수 있으며, 생성된 변이체 VH 또는 VL은 결합 친화도에 대해 시험된다. 2차 라이브러리로부터 구축 및 재선택하는 것에 의한 친화도 성숙은, 예를 들어 문헌 [Hoogenboom et al., in Methods in Molecular Biology 178:1-37 (O'Brien et al., ed., Human Press, Totowa, NJ, (2001))]에 기재되어 있다. 친화도 성숙의 일부

실시양태에서, 다양성은 임의의 다양한 방법 (예를 들어, 오류-유발 PCR, 쇠 서플링 또는 올리고뉴클레오티드-지시된 돌연변이유발)에 의한 성숙을 위해 선택된 가변 유전자 내로 도입된다. 이어서, 2차 라이브러리가 생성된다. 이어서, 라이브러리를 스크리닝하여 목적하는 친화도를 갖는 임의의 항체 변이체를 확인한다. 다양성을 도입하는 또 다른 방법은 HVR-지시된 접근법을 수반하며, 여기서 여러 HVR 잔기 (예를 들어, 한 번에 4-6개의 잔기)가 무작위화된다. 항원 결합에 수반되는 HVR 잔기는, 예를 들어 알려진 스캐닝 돌연변이유발 또는 모델링을 사용하여 구체적으로 확인될 수 있다. 특히, CDR-H3 및 CDR-L3이 종종 표적화된다.

[0387] 특정 실시양태에서, 치환, 삽입 또는 결실은 이러한 변경이 항체가 항원에 결합하는 능력을 실질적으로 감소시키지 않는 한, 1개 이상의 HVR 내에서 일어날 수 있다. 예를 들어, 결합 친화도를 실질적으로 감소시키지 않는 보존적 변경 (예를 들어, 본원에 제공된 바와 같은 보존적 치환)이 HVR에서 이루어질 수 있다. 이러한 변경은, 예를 들어 HVR 내 항원 접촉 잔기의 외부에서의 것일 수 있다. 상기 제공된 변이체 VH 및 VL 서열의 특정 실시양태에서, 각각의 HVR은 변경되지 않거나, 또는 1, 2 또는 3개 이하의 아미노산 치환을 함유한다.

[0388] 문헌 [Cunningham and Wells (1989) Science, 244:1081-1085]에 기재된 바와 같이, 돌연변이유발을 위해 표적화될 수 있는 항체의 잔기 또는 영역의 확인에 유용한 방법은 "알라닌 스캐닝 돌연변이유발"로 불린다. 이 방법에서, 잔기 또는 표적 잔기의 군 (예를 들어, 하전된 잔기, 예컨대 arg, asp, his, lys 및 glu)이 확인되고, 중성 또는 음으로 하전된 아미노산 (예를 들어, 알라닌 또는 폴리알라닌)에 의해 대체되어 항체와 항원의 상호작용에 영향을 미치는지 여부를 결정한다. 추가의 치환은 초기 치환에 대한 기능적 감수성이 입증된 아미노산 위치에 도입될 수 있다. 대안적으로 또는 추가적으로, 항원-항체 복합체의 결정 구조에 의해 항체와 항원 사이의 접촉점을 확인한다. 이러한 접촉 잔기 및 이웃 잔기는 치환을 위한 후보로 표적화되거나 제거될 수 있다. 변이체는 그들이 목적하는 특성을 함유하는지 여부를 결정하기 위해 스크리닝될 수 있다.

[0389] 아미노산 서열 삽입은 길이 범위가 1개의 잔기 내지 100개 이상의 잔기를 함유하는 폴리펩티드에 이르는 아미노- 및/또는 카르복실-말단 융합, 뿐만 아니라 단일 또는 다중 아미노산 잔기의 서열내 삽입을 포함한다. 말단 삽입의 예는 N-말단 메티오닐 잔기를 갖는 항체를 포함한다. 항체 분자의 다른 삽입 변이체는 효소 (예를 들어, ADEPT의 경우) 또는 항체의 혈청 반감기를 증가시키는 폴리펩티드에 대한 항체의 N- 또는 C-말단에의 융합을 포함한다.

[0390] b) 글리코실화 변이체

[0391] 특정 실시양태에서, 본원에 제공된 항체는 항체가 글리코실화되는 정도를 증가시키거나 감소시키도록 변경된다. 항체에 대한 글리코실화 부위의 부가 또는 결실은 1개 이상의 글리코실화 부위가 생성되거나 제거되도록 아미노산 서열을 변경함으로써 편리하게 달성될 수 있다.

[0392] 항체가 Fc 영역을 포함하는 경우에, 이에 부착된 탄수화물이 변경될 수 있다. 포유동물 세포에 의해 생산된 천연 항체는 전형적으로 Fc 영역의 CH2 도메인의 Asn297에의 N-연결에 의해 일반적으로 부착되는 분지형 이중안테나 올리고사카라이드를 포함한다. 예를 들어 문헌 [Wright et al., TIBTECH 15:26-32 (1997)]을 참조한다. 올리고사카라이드는 다양한 탄수화물, 예를 들어 만노스, N-아세틸 글루코사민 (GlcNAc), 갈락토스 및 시알산, 뿐만 아니라 이중안테나 올리고사카라이드 구조의 "줄기" 내의 GlcNAc에 부착된 푸코스를 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 항체 내의 올리고사카라이드의 변형은 특정 개선된 특성을 갖는 항체 변이체를 생성하기 위해 이루어질 수 있다.

[0393] 한 실시양태에서, Fc 영역에 (직접적으로 또는 간접적으로) 부착된 푸코스가 결합된 탄수화물 구조를 갖는 항체 변이체가 제공된다. 예를 들어, 이러한 항체에서 푸코스의 양은 1% 내지 80%, 1% 내지 65%, 5% 내지 65% 또는 20% 내지 40%일 수 있다. 푸코스의 양은, 예를 들어 WO 2008/077546에 기재된 바와 같이 MALDI-TOF 질량 분광 측정법에 의한 측정 시에, Asn 297에 부착된 모든 당구조물 (예를 들어, 복합체, 하이브리드 및 고 만노스 구조물)의 합계에 관하여 Asn297에서 당 쇠 내의 푸코스의 평균 양을 계산하는 것에 의해 결정된다. Asn297은 Fc 영역 내의 약 위치 297 (Fc 영역 잔기의 Eu 넘버링)에 위치한 아스파라긴 잔기를 지칭하지만; Asn297은 또한 항체 내의 부차적 서열 변이로 인해 위치 297의 약 ± 3개 아미노산 상류 또는 하류, 즉 위치 294와 300 사이에 위치할 수 있다. 이러한 푸코실화 변이체는 개선된 ADCC 기능을 가질 수 있다. 예를 들어, 미국 특허 공개 번호 US 2003/0157108 (Presta, L.); US 2004/0093621 (교와 핫코 고교 캄파니 리미티드(Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd))을 참조한다. "탈푸코실화" 또는 "푸코스-결핍" 항체 변이체와 관련된 공개 문헌의 예는 US 2003/0157108; WO 2000/61739; WO 2001/29246; US 2003/0115614; US 2002/0164328; US 2004/0093621; US 2004/0132140; US 2004/0110704; US 2004/0110282; US 2004/0109865; WO 2003/085119; WO 2003/084570; WO 2005/035586; WO 2005/035778; WO2005/053742; WO2002/031140; 문헌 [Okazaki et al., J. Mol. Biol.

336:1239-1249 (2004); Yamane-Ohnuki et al., *Biotech. Bioeng.* 87: 614 (2004)]을 포함한다. 탈푸코실화 항체를 생산할 수 있는 세포주의 예는 단백질 푸코실화가 결핍된 Lec13 CHO 세포 (문헌 [Ripka et al., *Arch. Biochem. Biophys.* 249:533-545 (1986)]; 미국 특허 출원 번호 US 2003/0157108 A1 (Presta, L); 및 WO 2004/056312 A1 (Adams et al.), 특히 실시예 11), 및 녹아웃 세포주, 예컨대 알파-1,6-푸코실트랜스퍼라제 유전자, FUT8, 녹아웃 CHO 세포 (예를 들어, 문헌 [Yamane-Ohnuki et al., *Biotech. Bioeng.* 87: 614 (2004); Kanda, Y. et al., *Biotechnol. Bioeng.*, 94(4):680-688 (2006)]; 및 WO2003/085107 참조)를 포함한다.

[0394] 이등분된 올리고사카라이드를 갖는 항체 변이체가 추가로 제공되며, 예를 들어 여기서 항체의 Fc 영역에 부착된 이중안테나 올리고사카라이드는 GlcNAc에 의해 이등분된다. 이러한 항체 변이체는 감소된 푸코실화 및/또는 개선된 ADCC 기능을 가질 수 있다. 이러한 항체 변이체의 예가, 예를 들어 WO 2003/011878 (Jean-Mairet et al.); 미국 특허 번호 6,602,684 (Umana et al.); 및 US 2005/0123546 (Umana et al.)에 기재되어 있다. Fc 영역에 부착된 올리고사카라이드 내에 적어도 1개의 갈락토스 잔기를 갖는 항체 변이체가 또한 제공된다. 이러한 항체 변이체는 개선된 CDC 기능을 가질 수 있다. 이러한 항체 변이체는, 예를 들어 WO 1997/30087 (Patel et al.); WO 1998/58964 (Raju, S.); 및 WO 1999/22764 (Raju, S.)에 기재되어 있다.

[0395] c) Fc 영역 변이체

[0396] 특정 실시양태에서, 1개 이상의 아미노산 변형이 본원에 제공된 항체의 Fc 영역 내로 도입되어, 이에 의해 Fc 영역 변이체가 생성될 수 있다. Fc 영역 변이체는 1개 이상의 아미노산 위치에서 아미노산 변형 (예를 들어, 치환)을 포함하는 인간 Fc 영역 서열 (예를 들어, 인간 IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4 Fc 영역)을 포함할 수 있다.

[0397] 특정 실시양태에서, 본 발명은 항체의 생체내 반감기는 중요하지만 특정 이펙터 기능 (예컨대, 보체 및 ADCC)은 불필요하거나 또는 해로운 적용을 위한 바람직한 후보가 되도록 하는, 전부는 아닌 일부 이펙터 기능을 보유하는 항체 변이체를 고려한다. CDC 및/또는 ADCC 활성의 감소/고갈을 확인하기 위해 시험관내 및/또는 생체내 세포독성 검정을 수행할 수 있다. 예를 들어, 항체에 Fc γ R 결합이 결여되어 있지만 (따라서 ADCC 활성이 결여될 수 있음) FcRn 결합 능력은 유지함을 확실하게 하기 위해 Fc 수용체 (FcR) 결합 검정을 수행할 수 있다. ADCC를 매개하는 1차 세포인 NK 세포는 Fc γ RIII만을 발현하는 반면에, 단핵구는 Fc γ RI, Fc γ RII 및 Fc γ RIII을 발현한다. 조혈 세포 상에서의 FcR 발현은 문헌 [Ravetch and Kinet, *Annu. Rev. Immunol.* 9:457-492 (1991)]의 페이지 464의 표 3에 요약되어 있다. 관심 분자의 ADCC 활성을 평가하기 위한 시험관내 검정의 비제한적 예는 미국 특허 번호 5,500,362 (예를 들어, 문헌 [Hellstrom, I. et al. *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 83:7059-7063 (1986) 및 Hellstrom, I et al., *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 82:1499-1502 (1985)] 참조); 5,821,337 (문헌 [Bruggemann, M. et al., *J. Exp. Med.* 166:1351-1361 (1987)] 참조)에 기재되어 있다. 대안적으로, 비-방사성 검정 방법을 사용할 수 있다 (예를 들어, 유동 세포측정법을 위한 악티(ACTI)TM 비-방사성 세포독성 검정 (캘리포니아주 마운틴 뷰 소재의 셀테크놀로지, 인크.(CellTechnology, Inc.)); 및 사이토크스(CytoTox) 96[®] 비-방사성 세포독성 검정 (위스콘신주 매디슨 소재의 프로메가(Promega)) 참조). 이러한 검정에 유용한 이펙터 세포는 말초 혈액 단핵 세포 (PBMC) 및 자연 킬러 (NK) 세포를 포함한다. 대안적으로 또는 추가적으로, 관심 분자의 ADCC 활성은 생체내에서, 예를 들어 문헌 [Clynes et al. *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 95:652-656 (1998)]에 개시된 바와 같은 동물 모델에서 평가할 수 있다. 또한, C1q 결합 검정을 수행하여, 항체가 C1q에 결합할 수 없고 따라서 CDC 활성이 결여되어 있음을 확인할 수 있다. 예를 들어, WO 2006/029879 및 WO 2005/100402에서의 C1q 및 C3c 결합 ELISA를 참조한다. 보체 활성화를 평가하기 위해 CDC 검정을 수행할 수 있다 (예를 들어, 문헌 [Gazzano-Santoro et al., *J. Immunol. Methods* 202:163 (1996); Cragg, M.S. et al., *Blood* 101:1045-1052 (2003); 및 Cragg, M.S. and M.J. Glennie, *Blood* 103:2738-2743 (2004)] 참조). FcRn 결합 및 생체내 클리어런스/반감기 결정을 또한 관련 기술분야에 공지된 방법을 사용하여 수행할 수 있다 (예를 들어, 문헌 [Petkova, S.B. et al., *Int'l. Immunol.* 18(12):1759-1769 (2006)] 참조).

[0398] 감소된 이펙터 기능을 갖는 항체는 Fc 영역 잔기 238, 265, 269, 270, 297, 327 및 329 중 1개 이상의 치환을 갖는 것을 포함한다 (미국 특허 번호 6,737,056). 이러한 Fc 돌연변이체는 아미노산 위치 265, 269, 270, 297 및 327 중 2개 이상에서의 치환을 갖는 Fc 돌연변이체 (잔기 265 및 297의 알라닌으로의 치환을 갖는, 소위 "DANA" Fc 돌연변이체 포함)를 포함한다 (미국 특허 번호 7,332,581).

[0399] FcR에 대해 개선 또는 감소된 결합을 갖는 특정 항체 변이체가 기재되어 있다. (예를 들어, 미국 특허 번호 6,737,056; WO 2004/056312 및 문헌 [Shields et al., *J. Biol. Chem.* 9(2): 6591-6604 (2001)] 참조.)

[0400] 특정 실시양태에서, 항체 변이체는 ADCC를 개선시키는 1개 이상의 아미노산 치환, 예를 들어 Fc 영역의 위치

298, 333 및/또는 334 (잔기의 EU 넘버링)에서의 치환을 갖는 Fc 영역을 포함한다.

- [0401] 일부 실시양태에서, 예를 들어 미국 특허 번호 6,194,551, WO 99/51642 및 문헌 [Idusogie et al. J. Immunol. 164: 4178-4184 (2000)]에 기재된 바와 같이, 변경된 (즉, 개선 또는 감소된) C1q 결합 및/또는 보체 의존성 세포독성 (CDC)을 유발하는 변경이 Fc 영역에서 만들어진다.
- [0402] 증가된 반감기, 및 모체 IgG의 태아로의 전달을 담당하는 신생아 Fc 수용체 (FcRn) (Guyer et al., J. Immunol. 117:587 (1976) 및 Kim et al., J. Immunol. 24:249 (1994))에 대한 개선된 결합을 갖는 항체가 US2005/0014934A1 (Hinton et al.)에 기재되어 있다. 상기 항체는 FcRn에 대한 Fc 영역의 결합을 개선시키는 1개 이상의 치환을 내부에 갖는 Fc 영역을 포함한다. 이러한 Fc 변이체는 Fc 영역 잔기: 238, 256, 265, 272, 286, 303, 305, 307, 311, 312, 317, 340, 356, 360, 362, 376, 378, 380, 382, 413, 424 또는 434 중 1개 이상에서의 치환, 예를 들어 Fc 영역 잔기 434의 치환을 갖는 것을 포함한다 (미국 특허 번호 7,371,826).
- [0403] Fc 영역 변이체의 다른 예에 관하여 또한 문헌 [Duncan & Winter, Nature 322:738-40 (1988)]; 미국 특허 번호 5,648,260; 미국 특허 번호 5,624,821; 및 WO 94/29351을 참조한다.
- [0404] d) 시스템인 조작된 항체 변이체
- [0405] 특정 실시양태에서, 항체의 1개 이상의 잔기를 시스템인 잔기로 치환시킨 시스템인 조작된 항체, 예를 들어 "티오MAB"를 생성하는 것이 바람직할 수 있다. 특정한 실시양태에서, 치환된 잔기는 항체의 접근가능한 부위에서 발생한다. 상기 잔기를 시스템인으로 치환함으로써 이에 의해 반응성 티올기가 항체의 접근가능한 부위에 위치하게 되고, 이것을 사용하여 항체를 다른 모이어티, 예컨대 약물 모이어티 또는 링커-약물 모이어티에 접합시켜 본원에 추가로 기재된 바와 같은 면역접합체를 생성할 수 있다. 특정 실시양태에서, 하기 잔기 중 어느 1개 이상이 시스템인으로 치환될 수 있다: 경쇄의 V205 (카바트 넘버링); 중쇄의 A118 (EU 넘버링); 및 중쇄 Fc 영역의 S400 (EU 넘버링). 시스템인 조작된 항체는, 예를 들어 미국 특허 번호 7,521,541에 기재된 바와 같이 생성될 수 있다.
- [0406] e) 항체 유도체
- [0407] 특정 실시양태에서, 본원에 제공된 항체는 관련 기술분야에 공지되고 용이하게 이용가능한 추가의 비단백질성 모이어티를 함유하도록 추가로 변형될 수 있다. 항체의 유도체화에 적합한 모이어티는 수용성 중합체를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 수용성 중합체의 비제한적 예는 폴리에틸렌 글리콜 (PEG), 에틸렌 글리콜/프로필렌 글리콜의 공중합체, 카르복시메틸셀룰로스, 텍스트란, 폴리비닐 알콜, 폴리비닐 피롤리돈, 폴리-1,3-디옥솔란, 폴리-1,3,6-트리옥산, 에틸렌/말레산 무수물 공중합체, 폴리아미노산 (단독중합체 또는 랜덤 공중합체), 및 텍스트란 또는 폴리(n-비닐 피롤리돈)폴리에틸렌 글리콜, 프로프로필렌 글리콜 단독중합체, 폴리프로필렌 옥시드/에틸렌 옥시드 공중합체, 폴리옥시에틸화 폴리올 (예를 들어, 글리세롤), 폴리비닐 알콜, 및 그의 혼합물을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 폴리에틸렌 글리콜 프로피온알데히드가 물에서의 안정성으로 인해 제조에 이점을 가질 수 있다. 중합체는 임의의 분자량을 가질 수 있고, 분지형 또는 비분지형일 수 있다. 항체에 부착되는 중합체의 수는 달라질 수 있고, 1개 초과 중합체가 부착되는 경우에 이들은 동일하거나 상이한 분자일 수 있다. 일반적으로, 유도체화에 사용되는 중합체의 수 및/또는 유형은 개선시킬 항체의 특정한 특성 또는 기능, 항체 유도체가 규정된 조건 하에 요법에 사용될 것인지 여부 등을 포함하나 이에 제한되지는 않는 고려사항을 기초로 하여 결정될 수 있다.
- [0408] 또 다른 실시양태에서, 항체, 및 방사선 노출에 의해 선택적으로 가열될 수 있는 비단백질성 모이어티의 접합체가 제공된다. 한 실시양태에서, 비단백질성 모이어티는 탄소 나노튜브이다 (Kam et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 102: 11600-11605 (2005)). 방사선은 임의의 파장의 것일 수 있고, 통상적인 세포에는 해를 끼치지 않지만 항체-비단백질성 모이어티에 근접한 세포는 사멸시키는 온도로 비단백질성 모이어티를 가열하는 파장을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.
- [0409] B. 제조 방법 및 조성물
- [0410] 항체는, 예를 들어 미국 특허 번호 4,816,567에 기재된 바와 같은 제조 방법 및 조성물을 사용하여 생산할 수 있다. 한 실시양태에서, 본원에 기재된 항-헤마글루티닌 항체를 코딩하는 단리된 핵산이 제공된다. 이러한 핵산은 항체의 VL을 포함하는 아미노산 서열 및/또는 VH를 포함하는 아미노산 서열 (예를 들어, 항체의 경쇄 및/또는 중쇄)을 코딩할 수 있다. 추가 실시양태에서, 이러한 핵산을 포함하는 1개 이상의 벡터 (예를 들어, 발현 벡터)가 제공된다. 추가 실시양태에서, 이러한 핵산을 포함하는 숙주 세포가 제공된다. 하나의 이러한 실시양태에서, 숙주 세포는 다음을 포함한다 (예를 들어, 이들로 형질전환된다): (1) 항체의 VL을 포함하는 아미노산

서열 및 항체의 VH를 포함하는 아미노산 서열을 코딩하는 핵산을 포함하는 벡터, 또는 (2) 항체의 VL을 포함하는 아미노산 서열을 코딩하는 핵산을 포함하는 제1 벡터 및 항체의 VH를 포함하는 아미노산 서열을 코딩하는 핵산을 포함하는 제2 벡터. 한 실시양태에서, 숙주 세포는 진핵, 예를 들어 차이나이즈 햄스터 난소 (CHO) 세포 또는 림프성 세포 (예를 들어, Y0, NS0, Sp20 세포)이다. 한 실시양태에서, 상기 제공된 바와 같은 항-헤마글루티닌 항체를 코딩하는 핵산을 포함하는 숙주 세포를 상기 항체의 발현에 적합한 조건 하에 배양하고, 임의로 숙주 세포 (또는 숙주 세포 배양 배지)로부터 상기 항체를 회수하는 것을 포함하는, 항-헤마글루티닌 항체를 제조하는 방법이 제공된다.

- [0411] 항-헤마글루티닌 항체의 재조합 생산을 위해, 예를 들어 상기 기재된 바와 같은 항체를 코딩하는 핵산을 단리하고, 추가의 클로닝 및/또는 숙주 세포에서의 발현을 위해 1개 이상의 벡터 내로 삽입한다. 이러한 핵산은 통상적인 절차를 사용하여 용이하게 단리하고 서열분석할 수 있다 (예를 들어, 항체의 중쇄 및 경쇄를 코딩하는 유전자에 특이적으로 결합할 수 있는 올리고뉴클레오티드 프로브를 사용하는 것에 의함).
- [0412] 항체-코딩 벡터의 클로닝 또는 발현에 적합한 숙주 세포는 본원에 기재된 원핵 또는 진핵 세포를 포함한다. 예를 들어, 특히 글리코실화 및 Fc 이펙터 기능이 필요하지 않은 경우에, 항체를 박테리아에서 생산할 수 있다. 박테리아에서의 항체 단편 및 폴리펩티드의 발현에 대해서는, 예를 들어 미국 특허 번호 5,648,237, 5,789,199 및 5,840,523을 참조한다. (또한, 이. 콜라이에서의 항체 단편의 발현을 기재하는 문헌 [Charlton, Methods in Molecular Biology, Vol. 248 (B.K.C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ, 2003), pp. 245-254] 참조.) 발현 후에, 가용성 분획에서 박테리아 세포 페이스트로부터 항체를 단리할 수 있고, 추가로 정제할 수 있다.
- [0413] 원핵생물 이외에도, 진핵 미생물, 예컨대 사상 진균 또는 효모, 예를 들어 글리코실화 경로가 "인간화"되어 부분 또는 완전 인간 글리코실화 패턴을 갖는 항체가 생산되게 하는 진균 및 효모 균주가 항체-코딩 벡터에 대한 적합한 클로닝 또는 발현 숙주이다. 문헌 [Gerngross, Nat. Biotech. 22:1409-1414 (2004), 및 Li et al., Nat. Biotech. 24:210-215 (2006)]을 참조한다.
- [0414] 글리코실화 항체의 발현에 적합한 숙주 세포는 또한 다세포 유기체 (무척추동물 및 척추동물)로부터 유래된다. 무척추동물 세포의 예는 식물 및 곤충 세포를 포함한다. 다수의 바칼로바이러스 균주가 곤충 세포와 함께, 특히 스포도프테라 프루기페르다(*Spodoptera frugiperda*) 세포를 형질감염시키는데 사용될 수 있는 것으로 확인되었다.
- [0415] 식물 세포 배양물을 또한 숙주로서 이용할 수 있다. 예를 들어, 미국 특허 번호 5,959,177, 6,040,498, 6,420,548, 7,125,978 및 6,417,429 (트랜스제닉 식물에서 항체를 생산하기 위한 플랜티바디스(PLANTIBODIES)™ 기술을 기재함)를 참조한다.
- [0416] 척추동물 세포를 또한 숙주로서 사용할 수 있다. 예를 들어, 현탁액 중에서 성장시키는데 적합화된 포유동물 세포주가 유용할 수 있다. 유용한 포유동물 숙주 세포주의 다른 예는 SV40에 의해 형질전환된 원숭이 신장 CV1 세포주 (COS-7); 인간 배아 신장 세포주 (예를 들어, 문헌 [Graham et al., J. Gen Virol. 36:59 (1977)]에 기재된 바와 같은 293 또는 293 세포); 새끼 햄스터 신장 세포 (BHK); 마우스 세르톨리 세포 (예를 들어, 문헌 [Mather, Biol. Reprod. 23:243-251 (1980)]에 기재된 바와 같은 TM4 세포); 원숭이 신장 세포 (CV1); 아프리카 녹색 원숭이 신장 세포 (VERO-76); 인간 자궁경부 암종 세포 (HELA); 개 신장 세포 (MDCK); 버팔로 래트 간 세포 (BRL 3A); 인간 폐 세포 (W138); 인간 간 세포 (Hep G2); 마우스 유방 종양 (MMT 060562); 예를 들어 문헌 [Mather et al., Annals N.Y. Acad. Sci. 383:44-68 (1982)]에 기재된 바와 같은 TRI 세포; MRC 5 세포; 및 FS4 세포이다. 다른 유용한 포유동물 숙주 세포주는 DHFR⁻ CHO 세포를 포함한 차이나이즈 햄스터 난소 (CHO) 세포 (Urlaub et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4216 (1980)); 및 골수종 세포주, 예컨대 Y0, NS0 및 Sp2/0을 포함한다. 항체 생산에 적합한 특정 포유동물 숙주 세포주의 검토를 위해, 예를 들어 문헌 [Yazaki and Wu, Methods in Molecular Biology, Vol. 248 (B.K.C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ), pp. 255-268 (2003)]을 참조한다.
- [0417] C. 검정
- [0418] 본원에 제공된 항-헤마글루티닌 항체는 관련 기술분야에 공지된 다양한 검정에 의해 확인되거나, 스크리닝되거나, 또는 그의 물리적/화학적 특성 및/또는 생물학적 활성에 대해 특징화될 수 있다.
- [0419] 1. 결합 검정 및 다른 검정
- [0420] 한 측면에서, 본 발명의 항체는, 예를 들어 ELISA, 웨스턴 블롯 등과 같은 공지된 방법에 의해 그의 항원 결합

활성에 대해 시험된다.

[0421] 또 다른 측면에서, 경쟁 검정은 본원에 기재된 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 (항-H7 헤마글루티닌) 항체와 H7 헤마글루티닌의 결합에 대해 경쟁하는 항체를 확인하는데 사용될 수 있다. 특정 실시양태에서, 이러한 경쟁 항체는 본원에 기재된 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체 (예를 들어, 서열식별번호: 74의 VH 서열 및 서열식별번호: 74의 VL 서열 또는 서열식별번호: 78의 VH 서열 및 서열식별번호: 79의 VL 서열을 포함하는 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체)가 결합하는 동일한 에피토프 (예를 들어, 선형 또는 입체형태적 에피토프)에 결합한다. 항체가 결합하는 에피토프를 맵핑하는 상세한 예시적인 방법이 문헌 [Morris (1996) "Epitope Mapping Protocols," in Methods in Molecular Biology vol. 66 (Humana Press, Totowa, NJ)]에 제공되어 있다.

[0422] 예시적인 경쟁 검정에서, 고정화된 헤마글루티닌을, 헤마글루티닌에 결합하는 제1 표지된 항체, 및 헤마글루티닌에의 결합에 대해 제1 항체와 경쟁하는 그의 능력에 대해 시험될 제2 비표지 항체를 포함하는 용액 중에서 인큐베이션한다. 제2 항체는 하이브리도마 상청액 중에 존재할 수 있다. 대조군으로서, 고정화된 헤마글루티닌을 제1 표지된 항체를 포함하나 제2 비표지 항체는 포함하지 않는 용액 중에서 인큐베이션한다. 헤마글루티닌에 대한 제1 항체의 결합을 허용하는 조건 하에 인큐베이션한 후에, 잉여 비결합 항체를 제거하고, 고정화된 헤마글루티닌과 회합된 표지의 양을 측정한다. 고정화된 헤마글루티닌과 회합된 표지의 양이 대조군 샘플에 비해 시험 샘플에서 실질적으로 감소된 경우에, 이는 제2 항체가 헤마글루티닌에의 결합에 대해 제1 항체와 경쟁한다는 것을 나타낸다. 문헌 [Harlow and Lane (1988) Antibodies: A Laboratory Manual ch.14 (Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY)]을 참조한다.

[0423] 2. 활성 검정

[0424] 한 측면에서, 생물학적 활성을 갖는 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체 및 그의 단편을 확인하기 위한 검정이 제공된다. 생물학적 활성은, 예를 들어 인플루엔자 A H7N9 바이러스 헤마글루티닌에 특이적으로 결합하는 것, 인플루엔자 A H7N9 바이러스를 중화시키는 것 등을 포함할 수 있다. 생체내 및/또는 시험관내에서 이러한 생물학적 활성을 갖는 항체, 및 항체 또는 그의 단편을 포함하는 조성물이 또한 제공된다.

[0425] 특정 실시양태에서, 본 발명의 항체는 이러한 생물학적 활성에 대해 시험된다. 이러한 검정의 예시적인 설명에 대해서는 실시예 4, 5, 6, 7, 8 및 9를 참조한다.

[0426] D. 면역접합체

[0427] 본 발명은 또한 1종 이상의 세포독성제, 예컨대 화학요법제 또는 약물, 성장 억제제, 독소 (예를 들어, 단백질 독소, 박테리아, 진균, 식물 또는 동물 기원의 효소적 활성 독소, 또는 그의 단편) 또는 방사성 동위원소에 접합된 본원의 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체를 포함하는 면역접합체를 제공한다.

[0428] 한 실시양태에서, 면역접합체는 항체가 메이탄시노이드 (미국 특허 번호 5,208,020, 5,416,064 및 유럽 특허 EP 0 425 235 B1 참조); 아우리스타틴, 예컨대 모노메틸아우리스타틴 약물 모이어티 DE 및 DF (MMAE 및 MMAF) (미국 특허 번호 5,635,483 및 5,780,588 및 7,498,298 참조); 둘라스타틴; 칼리케아미신 또는 그의 유도체 (미국 특허 번호 5,712,374, 5,714,586, 5,739,116, 5,767,285, 5,770,701, 5,770,710, 5,773,001 및 5,877,296; 문헌 [Hinman et al., Cancer Res. 53:3336-3342 (1993); 및 Lode et al., Cancer Res. 58:2925-2928 (1998)] 참조); 안트라시클린, 예컨대 다우노마이신 또는 독소루비신 (문헌 [Kratz et al., Current Med. Chem. 13:477-523 (2006); Jeffrey et al., Bioorganic & Med. Chem. Letters 16:358-362 (2006); Torgov et al., Bioconj. Chem. 16:717-721 (2005); Nagy et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 97:829-834 (2000); Dubowchik et al., Bioorg. & Med. Chem. Letters 12:1529-1532 (2002); King et al., J. Med. Chem. 45:4336-4343 (2002)]; 및 미국 특허 번호 6,630,579 참조); 메토티렉세이트; 빈데신; 탁산, 예컨대 도세탁셀, 파클리탁셀, 라로탁셀, 테세탁셀 및 오르타탁셀; 트리코테센; 및 CC1065를 포함하나 이에 제한되지 않는 1종 이상의 약물에 접합된 항체-약물 접합체 (ADC)이다.

[0429] 또 다른 실시양태에서, 면역접합체는 디프테리아 A 쇄, 디프테리아 독소의 비결합 활성 단편, 외독소 A 쇄 (슈도모나스 아에루기노사(*Pseudomonas aeruginosa*)로부터), 리신 A 쇄, 아브린 A 쇄, 모데신 A 쇄, 알파-사르신, 알레우리테스 포르디이(*Aleurites fordii*) 단백질, 디안틴 단백질, 피토라카 아메리카나(*Phytolacca americana*) 단백질 (PAPI, PAPII 및 PAP-S), 모모르디카 카란티아(*Momordica charantia*) 억제제, 쿠르신, 크로틴, 사파오 나리아 오피시날리(*Saponaria officinalis*) 억제제, 겔로닌, 미토겔린, 레스트릭토신, 페노마이신, 에노마이신 및 트리코테센을 포함하나 이에 제한되지 않는 효소적 활성 독소 또는 그의 단편에 접합된 본원에 기재된 바와 같은 항체를 포함한다.

- [0430] 또 다른 실시양태에서, 면역접합체는 방사성접합체를 형성하기 위해 방사성 원자에 접합된 본원에 기재된 바와 같은 항체를 포함한다. 다양한 방사성 동위원소가 방사성접합체의 생산을 위해 이용가능하다. 예는 At²¹¹, I¹³¹, I¹²⁵, Y⁹⁰, Re¹⁸⁶, Re¹⁸⁸, Sm¹⁵³, Bi²¹², P³², Pb²¹² 및 Lu의 방사성 동위원소를 포함한다. 방사성접합체가 검출을 위해 사용되는 경우에, 신티그래피 연구를 위한 방사성 원자, 예를 들어 Tc99m 또는 I123, 또는 핵 자기 공명 (NMR) 영상화 (자기 공명 영상화, MRI로도 공지됨)를 위한 스핀 표지, 예컨대 마찬가지로 아이오딘-123, 아이오딘-131, 인듐-111, 플루오린-19, 탄소-13, 질소-15, 산소-17, 가돌리늄, 망가니즈 또는 철을 포함할 수 있다.
- [0431] 항체 및 세포독성제의 접합체는 다양한 이관능성 단백질 커플링제, 예컨대 N-숙신이미딜-3-(2-피리딜디티오) 프로피오네이트 (SPDP), 숙신이미딜-4-(N-말레이미도메틸) 시클로헥산-1-카르복실레이트 (SMCC), 이미노티올란 (IT), 이미도에스테르의 이관능성 유도체 (예컨대 디메틸 아디프이미데이트 HCl), 활성 에스테르 (예컨대 디숙신이미딜 수베레이트), 알데히드 (예컨대 글루타르알데히드), 비스-아지도 화합물 (예컨대 비스 (p-아지도벤조일) 헥산디아민), 비스-디아조늄 유도체 (예컨대 비스-(p-디아조늄벤조일)-에틸렌디아민), 디이소시아네이트 (예컨대 톨루엔 2,6-디이소시아네이트) 및 비스-활성 플루오린 화합물 (예컨대 1,5-디플루오로-2,4-디니트로벤젠)를 사용하여 제조할 수 있다. 예를 들어, 리신 면역독소는 문헌 [Vitetta et al., Science 238:1098 (1987)]에 기재된 바와 같이 제조할 수 있다. 탄소-14-표지된 1-이소티오시아네이토벤질-3-메틸디에틸렌 트리 아민펜타아세트산 (MX-DTPA)은 항체에 방사성뉴클레오티드를 접합시키기 위한 예시적인 킬레이트화제이다. WO94/11026을 참조한다. 링커는 세포에서 세포독성 약물의 방출을 용이하게 하는 "절단가능한 링커"일 수 있다. 예를 들어, 산-불안정성 링커, 펩티다제-감수성 링커, 광불안정성 링커, 디메틸 링커 또는 디술폰드-함유 링커 (Chari et al., Cancer Res. 52:127-131 (1992); 미국 특허 번호 5,208,020)가 사용될 수 있다.
- [0432] 본원의 면역접합체 또는 ADC는 상업적으로 입수가 가능한 (예를 들어, 피어스 바이오테크놀로지, 인크.(Pierce Biotechnology, Inc.), 미국 일리노이주 록포드로부터의) BMPS, EMCS, GMBS, HBVS, LC-SMCC, MBS, MPBH, SBAP, SIA, SIAB, SMCC, SMPB, SMPH, 술폰-EMCS, 술폰-GMBS, 술폰-KMUS, 술폰-MBS, 술폰-SIAB, 술폰-SMCC 및 술폰-SMPB, 및 SVSB (숙신이미딜-(4-비닐술폰)벤조에이트)를 포함하나 이에 제한되지는 않는 가교 시약으로 제조된 이러한 접합체를 명백하게 고려하나, 이에 제한되지는 않는다.
- [0433] E. 진단 및 검출을 위한 방법 및 조성물
- [0434] 특정 실시양태에서, 본원에 제공된 임의의 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체는 생물학적 샘플에서 H7 헤마글루티닌 또는 인플루엔자 A H7N9 바이러스의 존재를 검출하는데 유용하다. 본원에 사용된 용어 "검출하는"은 정량적 또는 정성적 검출을 포괄한다. 특정 실시양태에서, 생물학적 샘플은 세포 또는 조직, 예컨대, 예를 들어 폐, 상기도, 비관, 혈액, 객담을 포함하거나, 또는 비강 또는 인후 면봉채취에 의해 수득된 생물학적 샘플을 포함한다.
- [0435] 한 실시양태에서, 진단 또는 검출 방법에 사용하기 위한 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체가 제공된다. 추가 측면에서, 생물학적 샘플에서 H7 헤마글루티닌 또는 인플루엔자 A H7N9 바이러스의 존재를 검출하는 방법이 제공된다. 특정 실시양태에서, 방법은 생물학적 샘플을 본원에 기재된 바와 같은 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체와 H7 헤마글루티닌에 대한 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체의 결합을 허용하는 조건 하에 접촉시키고, 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체와 H7 헤마글루티닌 사이에 복합체가 형성되는지 여부를 검출하는 것을 포함한다. 이러한 방법은 시험관내 또는 생체내 방법일 수 있다. 한 실시양태에서, 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체는, 예를 들어 H7 헤마글루티닌이 환자의 선택을 위한 바이오마커인 경우에 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체를 사용한 요법에 적절한 대상체를 선택하는데 사용된다.
- [0436] 본 발명의 항체를 사용하여 진단될 수 있는 예시적인 장애는 조류에서 뿐만 아니라 소아, 유아, 성인 및 노인에서의 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염을 포함한, 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염을 포함한다.
- [0437] 특정 실시양태에서, 표지된 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체가 제공된다. 표지는 직접적으로 검출되는 표지 또는 모이어티 (예컨대, 형광, 발색, 전자-밀집, 화학발광 및 방사성 표지), 뿐만 아니라 간접적으로, 예를 들어 효소적 반응 또는 분자 상호작용을 통해 검출되는 모이어티, 예컨대 효소 또는 리간드를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 예시적인 표지는 방사성동위원소 ³²P, ¹⁴C, ¹²⁵I, ³H 및 ¹³¹I, 형광단, 예컨대 희토류 킬레이트 또는 플루오레세인 및 그의 유도체, 로다민 및 그의 유도체, 단실, 움벨리페론, 루시페라제, 예를 들어 반딧불이 루시페라제 및 박테리아 루시페라제 (미국 특허 번호 4,737,456), 루시페린, 2,3-디히드로프탈라진디온, 양고추냉이 퍼옥시다제 (HRP), 알칼리성 포스포타제, β-갈락토시다제, 글루코아밀라제, 리소자임, 사카라이드

옥시다제, 예를 들어 글루코스 옥시다제, 갈락토스 옥시다제 및 글루코스-6-포스페이트 데히드로게나제, 염료 전구체를 산화시키기 위해 과산화수소를 사용하는 효소, 예컨대 HRP, 락토퍼옥시다제 또는 마이크로퍼옥시다제와 커플링된 헤테로시클릭 옥시다제, 예컨대 우리카제 및 크산틴 옥시다제, 비오틴/아비딘, 스핀 표지, 박테리 오파지 표지, 안정한 자유 라디칼 등을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0438] F. 제약 제제

[0439] 본원에 기재된 바와 같은 항-헤마글루티닌 항체 (예를 들어, 항-H7 헤마글루티닌 항체, 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체)의 제약 제제는 바람직한 정도의 순도를 갖는 이러한 항체를 1종 이상의 임의의 제약상 허용되는 담체 (Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980))와 혼합하여 동결건조 제제 또는 수용액의 형태로 제조한다. 제약상 허용되는 담체는 일반적으로 사용된 투여량 및 농도에서 수용자에게 비독성이고, 완충제, 예컨대 포스페이트, 시트레이트 및 다른 유기 산; 아스코르브산 및 메티오닌을 비롯한 항산화제; 보존제 (예컨대 옥타데실디메틸벤질 암모늄 클로라이드; 핵사메토늄 클로라이드; 벤즈알코늄 클로라이드; 벤제토늄 클로라이드; 페놀, 부틸 또는 벤질 알코올; 알킬 파라벤, 예컨대 메틸 또는 프로필 파라벤; 카테콜; 레조르시놀; 시클로헥산올; 3-펜탄올; 및 m-크레졸); 저분자량 (약 10개 미만의 잔기) 폴리펩티드; 단백질, 예컨대 혈청 알부민, 젤라틴 또는 이뮤노글로불린; 친수성 중합체, 예컨대 폴리비닐피롤리돈; 아미노산, 예컨대 글리신, 글루타민, 아스파라긴, 히스티딘, 아르기닌 또는 리신; 모노사카라이드, 디사카라이드, 및 글루코스, 만노스 또는 텍스트린을 포함한 다른 탄수화물; 킬레이트화제, 예컨대 EDTA; 당, 예컨대 수크로스, 만니톨, 트레할로스 또는 소르비톨; 염-형성 반대-이온, 예컨대 나트륨; 금속 착물 (예를 들어, Zn-단백질 착물); 및/또는 비-이온성 계면활성제, 예컨대 폴리에틸렌 글리콜 (PEG)을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 본원에서 예시적인 제약상 허용되는 담체는 간질성 약물 분산액 작용제, 예컨대 가용성 중성-활성 히알루루니다제 당단백질 (sHASEGP), 예를 들어 인간 가용성 PH-20 히알루루니다제 당단백질, 예컨대 rHuPH20 (힐레넥스(HYLENEX)®), 백스터 인터내셔널, 인크.(Baxter International, Inc.))을 추가로 포함한다. rHuPH20을 포함한, 특정의 예시적인 sHASEGP 및 사용 방법은 미국 특허 출원 공개 번호 2005/0260186 및 2006/0104968에 기재되어 있다. 한 측면에서, sHASEGP는 1종 이상의 추가의 글리코사미노글리카나제, 예컨대 콘드로이티나제와 조합된다.

[0440] 예시적인 동결건조 항체 제제는 미국 특허 번호 6,267,958에 기재되어 있다. 수성 항체 제제는 미국 특허 번호 6,171,586 및 W02006/044908에 기재된 것을 포함하고, 후자의 제제는 히스티딘-아세테이트 완충제를 포함한다.

[0441] 본원의 제제는 또한 치료할 특정한 적응증에의 필요에 따라 1종 초과와 활성 성분, 바람직하게는 서로 유해한 영향을 미치지 않는 보완적 활성을 갖는 것을 함유할 수 있다. 예를 들어, 뉴라미니다제 억제제, 항-헤마글루티닌 항체, 항-M2 항체 등을 추가로 제공하는 것이 바람직할 수 있다. 이러한 활성 성분은 의도된 목적에 유효한 양으로 조합되어 적합하게 존재한다.

[0442] 활성 성분은, 예를 들어 코아세르베이션 기술 또는 계면 중합에 의해 제조되는 마이크로캡슐, 예를 들어 각각 히드록시메틸셀룰로스 또는 젤라틴-마이크로캡슐 및 폴리-(메틸메타크릴레이트) 마이크로캡슐 내에, 콜로이드성 약물 전달 시스템 (예를 들어, 리포솜, 알부민 마이크로구체, 마이크로에멀전, 나노입자 및 나노캡슐) 내에, 또는 마크로에멀전 내에 포획될 수 있다. 이러한 기술은 문헌 [Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980)]에 개시되어 있다.

[0443] 지속-방출 제제가 제조될 수 있다. 지속-방출 제제의 적합한 예는 항체를 함유하는 고체 소수성 중합체의 반투과성 매트릭스를 포함하고, 이 매트릭스는 성형품, 예를 들어 필름 또는 마이크로캡슐의 형태이다.

[0444] 생체내 투여에 사용되는 제제는 일반적으로 멸균성이다. 멸균은, 예를 들어 멸균 여과 막을 통한 여과에 의해 용이하게 달성될 수 있다.

[0445] G. 치료 방법 및 조성물

[0446] 본원에 제공된 임의의 항-헤마글루티닌 항체 (예를 들어, 항-H7 헤마글루티닌 항체, 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체)가 치료 방법에 사용될 수 있다.

[0447] 한 측면에서, 의약으로 사용하기 위한 항-헤마글루티닌 항체 (예를 들어, 항-H7 헤마글루티닌 항체, 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체)가 제공된다. 추가 측면에서, 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염을 치료, 예방 또는 억제하는데 사용하기 위한 항-헤마글루티닌 항체 (예를 들어, 항-H7 헤마글루티닌 항체, 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체)가 제공된다. 특정 실시양태에서, 치료 방법에 사용하기 위한 항-헤마글루티닌 항체 (예를 들어, 항-H7 헤마글루티닌 항체, 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체)가 제공된다. 특정 실시양태에서, 본 발명은 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염을 갖는 개체에게 유효량의 항-헤마글루티닌 항체 (예를 들어, 항-H7 헤

마글루티닌 항체, 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체)를 투여하는 것을 포함하는 상기 개체의 치료 방법에 사용하기 위한 항-헤마글루티닌 항체 (예를 들어, 항-H7 헤마글루티닌 항체, 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체)를 제공한다. 하나의 이러한 실시양태에서, 상기 방법은 개체에게, 예를 들어 하기 기재된 바와 같은 적어도 1종의 추가의 치료제의 유효량을 투여하는 것을 추가로 포함한다. 추가 실시양태에서, 본 발명은 인플루엔자 A H7N9 바이러스의 바이러스 막과 감염된 세포 엔도솜 막 사이의 헤마글루티닌-매개 융합을 예방, 억제 또는 감소시켜, 감염된 세포 세포질 내로의 바이러스 RNA 진입을 예방하고 감염의 추가의 전파를 예방하는데 사용하기 위한 항-헤마글루티닌 항체 (예를 들어, 항-H7 헤마글루티닌 항체, 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체)를 제공한다. 특정 실시양태에서, 본 발명은 개체에게 유효량의 항-헤마글루티닌 항체 (예를 들어, 항-H7 헤마글루티닌 항체, 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체)를 투여하여 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염을 예방, 억제 또는 치료하는 것을 포함하는, 개체에서 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염을 예방, 억제 또는 치료하는 방법에 사용하기 위한 항-헤마글루티닌 항체 (예를 들어, 항-H7 헤마글루티닌 항체, 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체)를 제공한다. 임의의 상기 실시양태에 따른 "개체"는 바람직하게는 인간이다.

[0448] 추가 측면에서, 본 발명은 의약의 제작 또는 제조에서의 항-헤마글루티닌 항체 (예를 들어, 항-H7 헤마글루티닌 항체, 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체)의 용도를 제공한다. 한 실시양태에서, 의약은 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염의 치료를 위한 것이다. 추가 실시양태에서, 의약은 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염을 갖는 개체에게 유효량의 의약을 투여하는 것을 포함하는, 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염의 치료 방법에 사용하기 위한 것이다. 하나의 이러한 실시양태에서, 상기 방법은 개체에게, 예를 들어 하기 기재된 바와 같은 적어도 1종의 추가의 치료제의 유효량을 투여하는 것을 추가로 포함한다. 추가 실시양태에서, 의약은 인플루엔자 A H7N9 바이러스의 바이러스 막과 감염된 세포 엔도솜 막 사이의 헤마글루티닌-매개 융합을 예방, 억제 또는 감소시켜, 감염된 세포 세포질 내로의 바이러스 RNA 진입을 예방하고 감염의 추가의 전파를 예방하기 위한 것이다. 추가 실시양태에서, 의약은 개체에게 유효량의 의약을 투여하여 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염을 예방, 억제 또는 감소시키는 것을 포함하는, 개체에서 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염을 예방, 억제 또는 치료하는 방법에 사용하기 위한 것이다. 임의의 상기 실시양태에 따른 "개체"는 인간일 수 있다.

[0449] 추가 측면에서, 본 발명은 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염을 치료하는 방법을 제공한다. 한 실시양태에서, 방법은 이러한 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염을 갖는 개체에게 유효량의 항-헤마글루티닌 항체 (예를 들어, 항-H7 헤마글루티닌 항체, 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체)를 투여하는 것 포함한다. 하나의 이러한 실시양태에서, 방법은 개체에게 본원에 기재된 바와 같은 적어도 1종의 추가의 치료제의 유효량을 투여하는 것을 추가로 포함한다. 임의의 상기 실시양태에 따른 "개체"는 인간일 수 있다.

[0450] 본 발명은 개체 (예를 들어, 대상체 또는 환자)에서 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염을 억제, 예방 또는 치료하는데 효과적인 항-헤마글루티닌 항체 (예를 들어, 항-H7 헤마글루티닌 항체, 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체)를 제공한다. 일부 측면에서, 본 발명의 항-헤마글루티닌 항체 (예를 들어, 항-H7 헤마글루티닌 항체, 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체)는 개체의 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염을 예방하기 위해 개체를 예방적으로 치료하는데 효과적이다.

[0451] 일부 측면에서, 본 발명의 항-헤마글루티닌 항체 (예를 들어, 항-H7 헤마글루티닌 항체, 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체)를 사용한 치료에 적합한 개체는 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염을 갖거나 갖는 것으로 의심되는 개체이다. 일부 실시양태에서, 이러한 개체는 유아, 소아, 성인 및 노인을 포함한다. 일부 실시양태에서, 개체는 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염으로 인해 입원한다. 다른 실시양태에서, 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염을 갖는 개체는 1종 이상의 동반이환, 예컨대, 예를 들어 면역결핍, 임신, 폐 질환, 심장 질환, 신질환 또는 동시감염 (예를 들어, 박테리아 감염 또는 바이러스 감염, 예컨대 박테리아성 또는 바이러스성 폐렴)를 갖는다.

[0452] 일부 측면에서, 본 발명의 항-헤마글루티닌 항체 (예를 들어, 항-H7 헤마글루티닌 항체, 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체)를 사용한 개체의 치료는 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염 중증도를 감소시키거나, 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염의 기간을 감소시키거나, 또는 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염성을 감소시킨다. 다른 측면에서, 본 발명의 항-헤마글루티닌 항체 (예를 들어, 항-H7 헤마글루티닌 항체, 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체)를 사용한 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염의 치료는 병원 체류 기간의 감소, 중환자실 (ICU) 사용에 대한 필요성의 감소 또는 예방, 보조 환기 또는 기계적 환기에 대한 필요성의 감소 또는 예방, 보충용 산소 사용에 대한 필요성의 감소 또는 예방, 및 사망률의 감소를 포함한 추가의 이익을 제공한다. 일부 측면에서, 병원 체류 기간의 감소는 1일, 2일, 3일, 4일, 5일 또는 5일 초과이다. 일부 측면에서, 중환자실 사용에 대한 필요성의 감소는 1일, 2일, 3일, 4일, 5일 또는 5일 초과이다. 일부 측면에서, 보조 환기 또는 기계적 환기에

대한 필요성의 감소는 1일, 2일, 3일, 4일, 5일 또는 5일 초과이다. 일부 측면에서, 보충용 산소에 대한 필요성의 감소는 1일, 2일, 3일, 4일, 5일 또는 5일 초과이다. 일부 측면에서, 본 발명의 항-헤마글루티닌 항체를 사용한 개체의 치료는 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염 질환 증상, 예컨대, 예를 들어 열, 코리자, 오한, 인후통, 근육 통증, 신체 통증, 두통, 기침, 비강 출혈, 쇠약 또는 피로, 자극안 또는 유루안, 및 전신 불쾌감을 감소시킨다.

[0453] 일부 측면에서, 본 발명의 항-헤마글루티닌 항체 (예를 들어, 항-H7 헤마글루티닌 항체, 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체)를 사용한 개체의 치료는 호흡률의 정상화에 이르는 시간의 감소 또는 산소 포화의 정상화에 이르는 시간의 감소와 같이 호흡 기능의 정상화에 이르는 시간을 감소시킨다. 일부 측면에서, 본 발명의 항-헤마글루티닌 항체를 사용한 개체의 치료는 보충용 산소 투여 없이 24시간의 기간에 걸쳐 측정 시에 정상 산소 포화로, 예를 들어 약 92% 이상의 산소 포화로 되돌리기 위한 시간을 감소시킨다. 다른 측면에서, 본 발명의 항-헤마글루티닌 항체 (예를 들어, 항-H7 헤마글루티닌 항체, 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체)를 사용한 개체의 치료는 활력 징후, 예컨대 심박수, 혈압, 호흡률 및 체온의 정상화에 이르는 시간을 감소시킨다.

[0454] 일부 측면에서, 본 발명의 항-헤마글루티닌 항체 (예를 들어, 항-H7 헤마글루티닌 항체, 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체)를 사용한 개체의 치료는 바이러스 종점, 예컨대, 예를 들어 인플루엔자 A H7N9 바이러스 역가를 개선시킨다. 바이러스 역가는, 예를 들어 qPCR 또는 조직 배양 감염 용량 (TCID50) 측정 시에 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지되어 있는 다양한 방식, 예컨대, 예를 들어 바이러스 곡선하 면적 (AUC)에 의해 측정될 수 있다. 일부 측면에서, 치료는 qPCR 또는 TCID50에 의해 측정 시에 바이러스 AUC에서 50% 이상의 감소를 유발한다.

[0455] 본 발명의 다양한 측면에서, 본원에 제공된 항-헤마글루티닌 항체 (예를 들어, 항-H7 헤마글루티닌 항체, 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체)는 증상의 발병 (예를 들어, 질병의 발병) 약 12시간, 약 24시간, 약 36시간, 약 48시간, 약 60시간, 약 72시간, 약 84시간 및 약 96시간 후에 투여되었을 때 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염을 치료하는데 효과적이다. 다른 측면에서, 본원에 제공된 항-헤마글루티닌 항체 (예를 들어, 항-H7 헤마글루티닌 항체, 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체)는 증상의 발병 약 24시간 내지 48시간 후에 투여되었을 때 (예를 들어, 개체는 24 내지 48시간 동안 증후성임), 증상의 발병 약 48시간 내지 72시간 후에 투여되었을 때, 또는 증상의 발병 약 72시간 내지 96시간 후에 투여되었을 때 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염을 치료하는데 효과적이다. 본 발명의 특정 실시양태에서, 본 발명의 항-헤마글루티닌 항체 (예를 들어, 항-H7 헤마글루티닌 항체, 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체)는 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염을 치료 또는 감소시키는데 효과적이고, 현행 표준 치료 (예를 들어, 오셀타미비르)의 치료 범위를 증상의 발병 후 48시간 넘어서 확장한다.

[0456] 추가 측면에서, 본 발명은, 예를 들어 임의의 상기 치료 방법에 사용하기 위한, 본원에 제공된 임의의 항-헤마글루티닌 항체를 포함하는 제약 제제를 제공한다. 한 실시양태에서, 제약 제제는 본원에 제공된 임의의 항-헤마글루티닌 항체 및 제약상 허용되는 담체를 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 제약 제제는 본원에 제공된 임의의 항-헤마글루티닌 항체 및 예를 들어 하기 기재된 바와 같은 적어도 1종의 추가의 치료제를 포함한다.

[0457] 본 발명의 항체는 요법에서 단독으로 또는 다른 작용제와 조합되어 사용될 수 있다. 예를 들어, 본 발명의 항체는 적어도 1종의 추가의 치료제와 공-투여될 수 있다. 특정 실시양태에서, 추가의 치료제는 뉴라미니다제 억제제 (예를 들어, 자나미비르, 오셀타미비르 포스페이트, 페라미비르, 아만타딘, 리만타딘), 항-M2 항체, 항-헤마글루티닌 항체 등이다. 일부 측면에서, 본 발명의 항-헤마글루티닌 항체를 뉴라미니다제 억제제와 공-투여하여 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염을 갖는 개체를 치료하는 것은 어느 한 작용제 단독으로의 치료와 비교하여 상승작용적 치료 효과를 제공한다.

[0458] 상기 언급된 이러한 조합 요법은 조합 투여 (2종 이상의 치료제가 동일 또는 개별 제제에 포함됨) 및 개별 투여를 포괄하고, 이러한 경우에 본 발명의 항체의 투여는 추가의 치료제 또는 치료제들의 투여 전에, 그와 동시에 및/또는 그 후에 이루어질 수 있다. 한 실시양태에서, 항-헤마글루티닌 항체의 투여 및 추가의 치료제의 투여는 서로 약 1개월 이내에, 또는 약 1, 2 또는 3주 이내에, 약 1, 2, 3, 4, 5 또는 6일 이내에, 또는 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 12, 16, 20 또는 24시간 이내에 이루어진다.

[0459] 본 발명의 항체 (및 임의의 추가의 치료제)는 비경구, 폐내 및 비강내를 포함한 임의의 적합한 수단에 의해 투여될 수 있고, 원하는 경우에 국부 치료를 위해 병변내 투여될 수 있다. 비경구 주입은 근육내, 정맥내, 동맥내, 복강내 또는 피하 투여를 포함한다. 투약은 임의의 적합한 경로에 의해, 예를 들어 부분적으로 투여가 단기적 또는 장기적인지에 따라 정맥내 또는 피하 주사와 같은 주사에 의해 수행될 수 있다. 단일 투여 또는 다양한 시점에 걸친 다중 투여, 볼루스 투여 및 펄스 주입을 포함하나 이에 제한되지는 않는 다양한 투약 스케줄

이 본원에서 고려된다.

[0460] 본 발명의 항체는 우수한 의료 행위에 부합하는 방식으로 제제화, 투약 및 투여될 것이다. 이와 관련하여 고려할 인자는 치료할 특정한 장애, 치료할 특정한 포유동물, 개별 환자의 임상 상태, 장애의 원인, 작용제의 전달 부위, 투여 방법, 투여 스케줄링 및 진료의에게 공지된 다른 인자를 포함한다. 항체는, 그러할 필요는 없지만, 해당 장애를 예방 또는 치료하는데 현재 사용되는 1종 이상의 작용제와 함께 임의로 제제화된다. 이러한 다른 작용제의 유효량은 제제 내에 존재하는 항체의 양, 장애 또는 치료의 유형, 및 상기 논의된 다른 인자에 의존한다. 이는 일반적으로 상기 기재된 바와 동일한 투여량 및 투여 경로로, 또는 본원에 기재된 투여량의 약 1 내지 99%로, 또는 실험적으로/임상적으로 적절한 것으로 결정된 임의의 투여량 및 임의의 경로에 의해 사용된다.

[0461] 질환의 예방 또는 치료를 위해, 본 발명의 항체의 적절한 투여량 (단독으로, 또는 1종 이상의 다른 추가의 치료제와 조합되어 사용되는 경우)는 치료할 질환의 유형, 항체의 유형, 질환의 중증도 및 경과, 항체가 예방 또는 치료 목적으로 투여되는지 여부, 선행 요법, 환자의 임상 병력 및 항체에 대한 반응, 및 담당의의 판단에 좌우될 것이다. 항체는 한번에 또는 일련의 치료에 걸쳐 환자에게 적합하게 투여된다. 질환의 유형 및 중증도에 따라, 예를 들어 1회 이상의 개별 투여에 의한 것이든 연속 주입에 의한 것이든 관계없이, 약 1 µg/kg 내지 약 45 mg/kg (예를 들어, 약 1.0 mg/kg 내지 약 15 mg/kg)의 항체가 환자에게 투여하기 위한 초기 후보 투여량일 수 있다. 한 전형적인 1일 투여량은 상기 언급된 인자에 따라 약 1 µg/kg 내지 100 mg/kg 또는 그 초과 범위일 수 있다. 수일 이상에 걸친 반복 투여의 경우에, 상태에 따라 치료는 일반적으로 질환 증상의 목적하는 억제에 일어날 때까지 지속될 것이다. 항체의 예시적인 투여량은 약 1.0 mg/kg 내지 약 45 mg/kg, 약 1.0 mg/kg 내지 약 30 mg/kg, 약 1.0 mg/kg 내지 약 15 mg/kg, 약 1.0 mg/kg 내지 약 10 mg/kg, 또는 약 1.0 mg/kg 내지 약 5 mg/kg의 범위일 것이다. 따라서, 약 1.0 mg/kg, 2.5 mg/kg, 5.0 mg/kg, 10 mg/kg, 15 mg/kg, 30 mg/kg 또는 45 mg/kg 중 1개 이상의 용량 (또는 이들의 임의의 조합)이 환자에게 투여될 수 있다. 이러한 용량은 간헐적으로, 예를 들어 매일, 2일마다, 3일마다 등으로 투여될 수 있다. 초기의 보다 높은 부하 용량에 있어서, 1회 이상의 보다 낮은 용량이 투여될 수 있다. 투여는 또한 고정 용량, 예컨대, 예를 들어 200 mg, 400 mg, 600 mg, 800 mg, 1000 mg, 1200 mg, 1400 mg, 1500 mg, 1600 mg, 1800 mg, 2000 mg, 2200 mg, 2400 mg, 2500 mg, 2600 mg, 2800 mg, 3000 mg, 3200 mg, 3400 mg, 3600 mg 등일 수 있다. 이러한 요법의 진행은 통상적인 기술 및 검정에 의해 용이하게 모니터링된다.

[0462] 임의의 상기 제제 또는 치료 방법은 항-헤마글루티닌 항체를 대신하여 또는 이에 더하여 본 발명의 면역접합체를 사용하여 수행할 수 있는 것으로 이해된다.

[0463] H. 제조 물품

[0464] 본 발명의 또 다른 측면에서, 상기 기재된 장애의 치료, 예방 및/또는 진단에 유용한 물질을 함유하는 제조 물품이 제공된다. 제조 물품은 용기, 및 용기 상에 있거나 용기와 회합된 라벨 또는 패키지 삽입물을 포함한다. 적합한 용기는, 예를 들어 병, 바이알, 시린지, IV 용액 백 등을 포함한다. 용기는 다양한 물질, 예컨대 유리 또는 플라스틱으로부터 형성될 수 있다. 용기는 조성물을 그 자체로 수용하거나 또는 상태의 치료, 예방 및/또는 진단에 효과적인 또 다른 조성물과 조합하여 수용하며, 멸균 접근 포트(를) 가질 수 있다 (예를 들어, 용기는 피하 주사 바늘로 뚫을 수 있는 마개를 갖는 정맥내 용액 백 또는 바이알일 수 있음). 조성물 중 적어도 1종의 활성제는 본 발명의 항체이다. 라벨 또는 패키지 삽입물은 조성물이 선택된 상태를 치료하는데 사용된다는 것을 나타낸다. 또한, 제조 물품은 (a) 내부에 본 발명의 항체를 포함하는 조성물이 함유된 제1 용기; 및 (b) 내부에 추가의 세포독성제 또는 다른 치료제를 포함하는 조성물이 함유된 제2 용기를 포함할 수 있다. 본 발명의 이러한 실시양태에서 제조 물품은 조성물이 특정한 상태를 치료하는데 사용될 수 있음을 나타내는 패키지 삽입물을 추가로 포함할 수 있다. 대안적으로 또는 추가적으로, 제조 물품은 제약상 허용되는 완충제, 예컨대 정박 테리아 주사용수 (BWFJ), 포스페이트-완충 염수, 링거액 및 텍스트로스 용액을 포함하는 제2 (또는 제3) 용기를 추가로 포함할 수 있다. 이것은 다른 완충제, 희석제, 필터, 바늘 및 시린지를 포함한, 상업적 및 사용자 관점에서 바람직한 다른 물질을 추가로 포함할 수 있다.

[0465] 임의의 상기 제조 물품은 항-헤마글루티닌 항체를 대신하여 또는 이에 더하여 본 발명의 면역접합체를 포함할 수 있는 것으로 이해된다.

[0466] III. 실시예

[0467] 하기는 본 발명의 방법 및 조성물의 실시예이다. 상기 제공된 일반적 설명을 고려하여 다양한 다른 실시양태가 실시될 수 있음이 이해된다.

- [0468] 실시예 1. 파지 디스플레이에 의한 항-헤마글루티닌 항체의 확인
- [0469] 이전에 기재된 바와 같이, 하기와 같은 계절성 인플루엔자 바이러스 백신으로 백신접종된 인간 공여자로부터 단리된 말초 혈액 단핵 세포 (PBMC)로부터 구축된 파지 디스플레이 라이브러리를 사용하여 파지 디스플레이에 의해 본원에 기재된 항-인플루엔자 바이러스 mAb3을 확인하였다. (미국 특허 출원 일련 번호 14/077,414 (그의 전문이 본원에 참조로 포함됨) 참조.)
- [0470] 실시예 2. 형질모구 풍부화 및 확장
- [0471] 이전에 기재된 바와 같은 형질모구 풍부화 및 확장 기술을 사용하여 본원에 기재된 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 mAb1 및 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 mAb2를 확인하였다. (문헌 [Nakamura et al. (2013) Cell Host & Microbe 14:93-103] 및 미국 특허 출원 일련 번호 14/077,414 (이들 각각은 그의 전문이 본원에 참조로 포함됨) 참조.)
- [0472] 혈액 공여 7일 전에 계절성 인플루엔자 플루비린(Fluvirin)[®] 백신 (노파르티스(Novartis) 로트 #111796P1)을 제공받은 정상 인간 공여자로부터의 류코백을 태평양 혈액 센터(Blood Centers of the Pacific) (캘리포니아주 샌프란시스코)로부터 입수하였다. 말초 혈액 단핵 세포 (PBMC)를 류코백으로부터 표준 방법론을 사용하여 단리하였다. 6 내지 8주령 암컷 SCID/베이지 마우스를 찰스 리버 래보러토리즈(Charles River Laboratories) (캘리포니아주 홀리스트)로부터 구입하고, 제넨테크에서 미국 실험 동물 관리 협회 지침에 따라 사육 및 유지하였다. 모든 실험적 연구를 제넨테크 실험 동물 연구의 동물 실험 윤리 위원회의 승인 하에 AAALACi-인가 시설에서 실험 동물의 관리 및 사용에 대한 지침 및 적용되는 법률 및 규정에 따라 수행하였다. 건강한 인간 공여자로부터의 류코백 및 혈액을 서면 사전 동의가 제공되고 윤리적 승인이 웨스턴 연구윤리심의위원회로부터 허가된 후에 입수하였다.
- [0473] 생체내 항원-유도된 형질모구 풍부화 및 확장을 하기와 같이 PBMC의 비장내 이식을 사용하여 수행하였다. 단리된 PBMC를 헤마글루티닌 항원 (각 1백만개의 B 세포에 대해 0.1-2 μ g)과 함께 재현탁시키고, 30분 동안 37°C에서 인큐베이션하였다 (PBMC/항원 프리-믹스). 이러한 인큐베이션 후에, PBMC를 세척하여 미결합 항원을 제거하였다. 교차-반응성 헤마글루티닌 항체를 생산하는 형질모구의 풍부화를 위해, PBMC/항원 프리-믹스 및 단일 세포 분류에 사용되는 헤마글루티닌 항원 변이체를 특히, 인플루엔자 플루비린[®] 백신 내에 함유된 헤마글루티닌 항원 변이체와 상이하도록 선택하였다. 따라서, 이러한 연구에 사용된 헤마글루티닌 항원은 인플루엔자 A 바이러스 분리주 A/NWS/1933으로부터의 H1 헤마글루티닌, 인플루엔자 A 바이러스 분리주 A/홍콩/8/1968로부터의 H3 헤마글루티닌 및 인플루엔자 A 바이러스 분리주 A/네덜란드/219/2003으로부터의 H7 헤마글루티닌을 포함하였다. 헤마글루티닌 항원은 제넨테크에서 표준 분자 생물학 기술을 사용하여 생산하였다.
- [0474] 6-8주령 암컷 SCID/베이지 마우스 (찰스 리버 래보러토리즈, 캘리포니아주 홀리스트)를 세슘-137 공급원을 사용하여 350 rad로 치사량 미만으로 조사하였다. 폴리믹신 B (110 mg/L) 및 네오마이신 (1.1 g/L)을 조사 후 7일 동안 음용수에 첨가하였다. 조사 4시간 후에, 각각의 마우스의 왼쪽 옆구리를 면도하고, 베타딘(Betadine)[®] (피듀 파마(Purdue Pharma), 코네티컷주 스탬포드) 및 70% 알콜을 사용하여 준비하였다. 외과적 절차는 마취 하에 무균 외과적 절차를 사용하여 수행하였다. 각각의 마우스 늑골 경계 바로 아래에 1-cm 피부 절개부를 만들고, 이어서 복벽 및 복막을 절개하였다. 각각의 마우스의 비장을 조심스럽게 노출시키고, 30 μ L PBS 중에 재현탁된 50×10^6 개의 인간 PBMC를 주사하였다. 근육층 및 피부에서의 절개부를 각각 5-0 비크릴(Vicryl)[®] 봉합사 (에티콘(Ethicon), 뉴저지주 소머빌) 및 외과용 스테이플을 사용하여 봉합하였다. 항원-특이적 세포 분류 실험을 위해, 마우스를 이식 8일 후에 희생시키고, 그의 비장을 수거하였다.
- [0475] 마우스로부터 수득한 비장 세포의 단일 세포 현탁액을 항-인간 모노클로날 항체 CD38 PECy7 (BD 바이오사이언시스(BD Biosciences), 캘리포니아주 산호세) 및 IgG 다이라이트(Dylight) (잭슨 이뮤노리서치 래보러토리즈, 인크.(Jackson ImmunoResearch Laboratories, Inc.), 펜실베이니아주 웨스트 그로브) (CD38^고/IgG+ 발현으로 인간 IgG+ 형질모구를 정의함)의 콕테일로 염색하였다. 단리된 비장 세포의 현탁액 내의 헤마글루티닌 교차-반응성 형질모구를 확인하기 위해, 라이트닝-링크(Lightning-Link)[®] 표지 키트 (이노바 바이오사이언시스(Innova Biosciences), 영국 캠브리지)를 사용하여, 세포를 이전에 각각 FITC 또는 PE와 접합시킨 인플루엔자 바이러스 A 분리주 A/NWS/1933으로부터의 헤마글루티닌 H1 및 인플루엔자 바이러스 A 분리주 A/홍콩/8/1968로부터의 헤마글루티닌 H3으로 염색하였다.
- [0476] 이어서, 샘플을 아리아(Aria) 고속 세포 분류기 (BD 바이오사이언시스, 캘리포니아주 산호세) 상에서 아이오딘 화프로피듐 사멸 세포 배제의 존재 하에 분석하고, 항-헤마글루티닌-특이적 형질모구를 5% 저 IgG 태아 소 혈청

(깁코(Gibco), 뉴욕주 그랜드 아일랜드)이 보충된 50 μ l RPMI 세포 배양 배지를 함유하는 96-웰 조직 배양 플레이트에 단일 세포 방식으로 분류하였다.

[0477]

실시에 3. 단일 형질모구로부터의 IgG 클로닝

[0478]

헤마글루티닌 H1 및 H3 교차-반응성 인간 형질모구 (상기 기재됨)를 단일-세포 분류하였다. 단일 형질모구를 직접 5% 저 IgG 태아 소 혈청을 함유하는 50 μ l RPMI를 함유하는 U-바닥 96-웰 마이크로-웰 플레이트 내로 분류하였다. 플레이트를 5분 동안 600 x g에서 원심분리 (베크만 쿨터(Beckman Coulter), 캘리포니아주 브레아) 하고, 배지를 조심스럽게 흡인에 의해 제거하였다. 세포를 동일한 절차에 따라 재현탁시키고 90 μ l의 PBS 중에서 2회 세척하였다.

[0479]

가변 중쇄 및 경쇄를 코딩하는 cDNA를 생성하기 위해, 각각의 세포를 2 유닛 RNaseout (인비트로젠 (Invitrogen), 뉴욕주 그랜드 아일랜드), 0.5 mM 4dNTP (퍼킨 엘머(Perkin Elmer), 매사추세츠주 월섬), 1.5 mM MgCl₂, 37.5 mM KCl, 10 mM DTT (디티오프레이탈), 0.25% 노니데트(Nonidet) P40 (US 바이올로지칼(US Biological), 매사추세츠주 마블헤드), 0.1 mg/ml 소 혈청 알부민 (시그마-알드리치(Sigma-Aldrich)), 25 mM 트리스 pH 8.3, 0.25 pmol의 IgG₁₋₄ 불변, 카파 쇠 불변 및 람다 쇠 불변 영역 특이적 올리고뉴클레오티드 (하기 제시됨) 및 40 U 슈퍼스크립트 III (인비트로젠, 뉴욕주 그랜드 아일랜드)를 함유하는 6 μ l의 역전사효소 (RT) 반응 혼합물 중에 재현탁시켰다.

IgG₁₋₄ 불변: GAAGTAGTCCTTGACCAGGCAG (SEQ ID NO:1)

카파 불변: CTCAGCGTCAGGGTGYTGCTGAG (SEQ ID NO:2)

[0480]

람다 불변: GGGTKTGGTSGTCTCCAC (SEQ ID NO:3)

[0481]

반응물을 각각 45°C, 50°C 및 55°C에서 3 x 30분 간격 동안 인큐베이션하였다. 인큐베이션 후에, 반응 혼합물을 TE 완충제 (10 mM 트리스 HCl, 1 mM EDTA)를 사용하여 15 μ l로 희석하였다. 상기로부터 희석된 RT 카테일 2 μ l 및 어드밴티지(Advantage)-GC 2 폴리머라제 믹스 (클론테크(Clontech), 캘리포니아주 마운틴 뷰)를 제조업체에 의해 제공된 프로토콜에 따라 사용하여 초기 폴리머라제 연쇄 반응 (PCR)을 수행함으로써 IgG 중쇄, 카파 쇠 및 람다 쇠를 증폭시켰다. PCR 증폭은 하기 제시된 가변 중쇄 및 경쇄 배선 및 불변 영역 서열에 기초하여 측정성 올리고뉴클레오티드를 사용하여 수행하였다.

IGVH1a	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGC (SEQ ID NO:4)
IGVH1b	CAGGTCCAGCTGGTGCAGTCTGGGGC (SEQ ID NO:5)
IGVH2	CAGGTCACCTTGAAGGAGTCTGGTCC (SEQ ID NO:6)
IGVH3	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGG (SEQ ID NO:7)
IGVH4	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCC (SEQ ID NO:8)
IGVH5	GAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGG (SEQ ID NO:9)
IGVH6	CAGGTACAGCTGCAGCAGTCAGGTCC (SEQ ID NO:10)
IGVH7	CAGGTGCAGCTGGTGCATCTGG (SEQ ID NO:11)
IGKV1	GHCATCCRGWTGACCCAGTCTC (SEQ ID NO:12)
IGKV2	GATRTTGTGATGACYCAGWCTC (SEQ ID NO:13)
IGKV3	GAAATWGTRWTGACRCAGTCTC (SEQ ID NO:14)
IGKV4	GACATCGTGATGACCCAGTCTCC (SEQ ID NO:15)
IGKV5	GAAACGACACTCACGCAGTCTC (SEQ ID NO:16)
IGKV6	GAWRTTGTGMTGACWCAGTCTC (SEQ ID NO:17)
IGLV1	CAGTCTGTGYTGACKCAGCCRCCTC (SEQ ID NO:18)
IGLV2	CAGTCTGCCCTGACTCAGCCT (SEQ ID NO:19)
IGLV3	TCCTATGAGCTGACWCAGSHVCCCKC (SEQ ID NO:20)
IGLV4	CAGCCTGTGCTGACTCARTCVCCCTC (SEQ ID NO:21)
IGLV5	CAGCCTGTGCTGACTCAGCCAACTTC (SEQ ID NO:22)
IGLV6	AATTTTATGCTGACTCAGCCCCAC (SEQ ID NO:23)
IGLV7	CAGGCTGTGGTGACTCAGGAGCCC (SEQ ID NO:24)
IGLV8	CAGACTGTGGTGACCCAGGAGCC (SEQ ID NO:25)
IGLV9	CAGCCTGTGCTGACTCAGCCACC (SEQ ID NO:26)
HC301.5불변	GCAGCCCAGGGCSGCTGTGC (SEQ ID NO:27)
카파102불변	GCACACAACAGAGGCAGTTCCAG (SEQ ID NO:28)
람다202불변	CTTGRAGCTCCTCAGAGGAG (SEQ ID NO:29)

[0482]

[0483]

중쇄 및 경쇄 PCR 증폭 반응을 각각 하기와 같이 2개의 반응으로 분류하였다: 중쇄 패밀리 VH.1,2,3 (프라이머 IGVH1a, IGVH1b, IGVH2, IGVH3) 및 VH.4,5,6,7 (프라이머 IGVH4, IGVH5, IGVH6 및 IGVH7); 카파 쇠 패밀리 VK.1,2,3 (프라이머 IGKV1, IGKV2 및 IGKV3) 및 VK.4,5,6 (프라이머 IGKV4, IGKV5 및 IGKV6); 및 람다 쇠 패밀리 VL.1,2,3,4,5 (IGLV1, IGLV2, IGLV3, IGLV4 및 IGLV5) 및 VL.6,7,8,9 (프라이머 IGLV6, IGLV7, IGLV8 및 IGLV9). 터치다운 PCR 증폭 프로토콜을 온도 순환에 사용하였다.

[0484]

반응 후에, PCR 증폭 생성물을 엑소뉴클레아제1 (Exo) 및 새우 알칼리성 포스파타제 (SAP)로 처리하여 각각의 PCR 증폭 반응으로부터 잉여 뉴클레오티드 및 프라이머를 제거하였다 (U.S. 바이올로지칼스, 매사추세츠주 마블 헤드). 초기 PCR 증폭 생성물을 생어(Sanger) 서열분석을 사용하여 직접 서열분석하여 중쇄 및 경쇄 둘 다의 가변 서열을 결정하였다. 하기 올리고뉴클레오티드 프라이머를 사용하여 포유동물 신호 및 불변 영역 클로닝 서열을 삽입하기 위해 배선-매치된 중쇄 및 경쇄 가변 올리고뉴클레오티드를 사용하여 제2 네스티드 PCR 증폭을 수행하였다.

sVH1a:
CCACCATGGGATGGTCATGTATCATCCTTTTTCTAGTAGCAACTGCAACTGGAGTA
CATTACAGG (SEQ ID NO:30)

sVH2:
CCACCATGGGATGGTCATGTATCATCCTTTTTCTAGTAGCAACTGCAACTGGAGTA
CATTACAGATCACCT (SEQ ID NO:31)

sVH3vv:
CCACCATGGGATGGTCATGTATCATCCTTTTTCTAGTAGCAACTGCAACTGGAGTA
CATTACAG (SEQ ID NO:32)

sVH3gl:
CCACCATGGGATGGTCATGTATCATCCTTTTTCTAGTAGCAACTGCAACTGGAGTA
CATTACAGAGG (SEQ ID NO:33)

sVH4:
CCACCATGGGATGGTCATGTATCATCCTTTTTCTAGTAGCAACTGCAACTGGAGTA
CATTACAGGTGCAGCTGCAGG (SEQ ID NO:34)

sVH5:
CCACCATGGGATGGTCATGTATCATCCTTTTTCTAGTAGCAACTGCAACTGGAGTA
CATTACAGAGGTGCA (SEQ ID NO:35)

sVH6:
CCACCATGGGATGGTCATGTATCATCCTTTTTCTAGTAGCAACTGCAACTGGAGTA
CATTACAGGTACAGC (SEQ ID NO:36)

sVH7:
CCACCATGGGATGGTCATGTATCATCCTTTTTCTAGTAGCAACTGCAACTGGAGTA
CATTACAGGTGCA (SEQ ID NO:37)

[0485]

sVK1:
 CCACCATGGGATGGTCATGTATCATCCTTTTTCTAGTAGCAACTGCAACTGGAGTA
 CATTAGACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTG (SEQ ID NO:38)

sVK2:
 CCACCATGGGATGGTCATGTATCATCCTTTTTCTAGTAGCAACTGCAACTGGAGTA
 CATTAGATATTGTGATGACTCAGTCTCACTCTCCCTGC (SEQ ID NO:39)

sVK3:
 CCACCATGGGATGGTCATGTATCATCCTTTTTCTAGTAGCAACTGCAACTGGAGTA
 CATTAGAAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTTG (SEQ ID NO:40)

sVK4:
 CCACCATGGGATGGTCATGTATCATCCTTTTTCTAGTAGCAACTGCAACTGGAGTA
 CATTAGACATCGTGATGACCCAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTG (SEQ ID NO:41)

sVK5:
 CCACCATGGGATGGTCATGTATCATCCTTTTTCTAGTAGCAACTGCAACTGGAGTA
 CATTAGAAAACGACACTCACGCAGTCTCCAGC (SEQ ID NO:42)

sVK6:
 CCACCATGGGATGGTCATGTATCATCCTTTTTCTAGTAGCAACTGCAACTGGAGTA
 CATTAGAAAATTGTGCTGACTCAGTCTCCAGACTTTTCG (SEQ ID NO:43)

sVL1:
 CCACCATGGGATGGTCATGTATCATCCTTTTTCTAGTAGCAACTGCAACTGGAGTA
 CATTACAGTCTGTGYTGACKCAGCCRCCTC (SEQ ID NO:44)

sVL2:
 CCACCATGGGATGGTCATGTATCATCCTTTTTCTAGTAGCAACTGCAACTGGAGTA
 CATTACAGTCTGCCCTGACTCAGCCT (SEQ ID NO:45)

sVL3:
 CCACCATGGGATGGTCATGTATCATCCTTTTTCTAGTAGCAACTGCAACTGGAGTA
 CATTACCTATGAGCTGACWCAGSHVCCCKC (SEQ ID NO:46)

sVL4:
 CCACCATGGGATGGTCATGTATCATCCTTTTTCTAGTAGCAACTGCAACTGGAGTA
 CATTACAGCCTGTGCTGACTCARTCVCCCTC (SEQ ID NO:47)

sVL5:
 CCACCATGGGATGGTCATGTATCATCCTTTTTCTAGTAGCAACTGCAACTGGAGTA
 CATTACAGCCTGTGCTGACTCAGCCAACTTC (SEQ ID NO:48)

sVL6:
 CCACCATGGGATGGTCATGTATCATCCTTTTTCTAGTAGCAACTGCAACTGGAGTA
 CATTCAAATTTTATGCTGACTCAGCCCCAC (SEQ ID NO:49)

[0486]

sVL7:
CCACCATGGGATGGTCATGTATCATCCTTTTTCTAGTAGCAACTGCAACTGGAGTA
CATTACAGGCTGTGGTGAAGCAGGAGCCC (SEQ ID NO:50)

sVL8:
CCACCATGGGATGGTCATGTATCATCCTTTTTCTAGTAGCAACTGCAACTGGAGTA
CATTACAGACTGTGGTGACCCAGGAGCC (SEQ ID NO:51)

wVL9:
CCACCATGGGATGGTCATGTATCATCCTTTTTCTAGTAGCAACTGCAACTGGAGTA
CATTACAGCCTGTGCTGACTCAGCCACC (SEQ ID NO:52)

중쇄 불변: GCCAGGGGAAGACCGATG (SEQ ID NO:53)

카파 불변:
CTGGGATAGAAGTTATTCAGCAGGCACACAACAGAAGCAGTTCAGATTTCAACT
GCTC (SEQ ID NO:54)

람다 불변: CTTGRAGCTCCTCAGAGGAG (SEQ ID NO:55)

[0487]

[0488]

GC를 갖는 프라임스타(PrimeStar) HS DNA 폴리머라제 (다카라 바이오(Takara Bio), 일본 시가)를 제조업체의 권고에 따라 사용하여 PCR 증폭 반응을 설정하였다. PCR 증폭 반응 후에, 증폭 생성물을 상기 기재된 바와 같이 Exo/SAP로 처리하였다. 가변 중쇄 및 가변 경쇄 코딩 PCR 증폭 생성물을 제한 엔도뉴클레아제 무함유 질차를 사용하여 포유동물 발현 벡터 내로 삽입하였다. 20 µl의 PCR 증폭 생성물을 쿤켈(Kunkel) 돌연변이유발 프로토콜을 사용하여 IgG₁, 카파 및 람다 쇠에 대한 단일 가닥 DNA 인간 주형 상에 어닐링시켰다. (문헌 [Kunkel (1985) PNAS 82:488-492] 참조.) 정확하게 삽입된 구축물을 DNA 서열분석에 의해 확인하였다. 중쇄 및 경쇄를 코딩하는 핵산을 함유하는 플라스미드를 일시적 발현을 위해 퓨젠(Fugene) 형질감염 시약 (로슈 다이아그노스틱 (Roche Diagnostic), 인디애나주 인디애나폴리스)을 사용하여 293T 인간 배아 신장 세포 내로 공동-형질감염시키고, 하기 실시예 4에 기재된 바와 같이 발현 및 결합에 대해 분석하였다.

[0489]

실시예 4. H7 헤마글루티닌 ELISA 스크리닝 검정

[0490]

H7 HA에 결합하는 항-인플루엔자 mAb1, 항-인플루엔자 mAb2 및 항-인플루엔자 mAb3의 능력에 대해 하기 연구를 수행하였다.

[0491]

A/상하이/1/2013으로부터의 H7 HA를 코딩하는 핵산 (도 7; 서열식별번호: 86) 및 A/안후이/1/2013으로부터의 H7 HA를 코딩하는 핵산 (도 8; 서열식별번호: 87)을 워싱턴주 보델 소재의 오리진 캄파니(OriGene Company), 블루헤론 바이오테크(Blue Heron Biotech)에 의해 합성하였다. H7 HA 단백질을 코딩하는 핵산을 형질감염 및 발현 전에 포유동물 발현 벡터 pRK.sm (제넨테크 인크) 내로 서브클로닝하였다. H7 HA 단백질을 효소-연결된 면역흡착 검정 검출 전에 293T 세포의 표면 상에서 전장 단백질로 발현시켰다.

[0492]

전장 HA 용해물을 생성하기 위해, 10cm 배양 접시 (코닝 Cat# 430167) 내 293T 세포를 인산칼슘 방법을 사용하여 H7 HA-발현 플라스미드로 형질감염시켰다. 48시간 후에, 세포를 1 mL 용해 완충제 (50 mM 트리스, pH 8, 5 mM EDTA pH 8, 150 mM NaCl, 1% 트리톤 X-100 (EMD, Cat# 9410)) + 프로테아제 억제제 각테일 정제 (로슈, Cat# 11836153001)로 실온에서 20분 동안 처리하였다. 용해물을 10분 동안 14,000 rpm에서 원심분리하였다. 상청액을 -80°C에서 저장하고, ELISA 연구에 사용하였다.

[0493]

ELISA 연구를 위해, 눈크 맥시소프 96-웰 플레이트 (Cat #439454)를 실온에서 6시간 동안 PBS 중 5 µg/ml 갈란투스 니발리스(*Galanthus nivalis*) 렉틴 (시그마 Cat# L-8275)으로 코팅하였다. 이어서, 플레이트를 세척 완충제 (PBS, pH 7.4 + 0.05% 트윈-20 (EMD, Cat# 1296))로 세척하고, 실온에서 1시간 동안 차단 완충제 (PBS, pH 7.4 + 0.5% BSA (소 혈청 알부민, 킵코 Cat# 15260)) 중에서 인큐베이션하였다. 이어서, 플레이트를 세척하고, 4°C에서 밤새 검정 회색제 (PBS, pH 7.4 + 0.5% BSA + 0.05% 트윈-20) 중에서 293T 세포 용해물 (1:300)과 함께 인큐베이션하였다. 이어서, 플레이트를 세척하고, 실온에서 1.5시간 동안 검정 회색제 중 연속 회색된 항체와 함께 인큐베이션하였다.

[0494]

후속 세척 단계 후에, 플레이트를 실온에서 1시간 동안 검정 회색제 중 1:30000의 염소-항-인간-IgG-HRP (잭슨 이뮤노리서치, Cat# 109-036-098) 또는 1:20000의 염소-항-마우스-IgG-HRP (잭슨 이뮤노리서치, Cat# 115-035-071)와 함께 인큐베이션하였다. 플레이트를 세척하고, 실온에서 5-10분 동안 TMB 기질 (KPL, Cat# 50-65-00)과 함께 인큐베이션하고; 이어서, 1M 인산을 첨가하여 반응을 중지시켰다. 450 nM의 흡광도를 Gen5 소프트웨어를

사용하여 바이오텍(BioTek) 시너지2(Synergy2) 플레이트 판독기 상에서 측정하였다. H7 HA에 대한 항체 결합의 데이터 분석 및 그래핑을 프리즘(Prism) 소프트웨어를 사용하여 생성하였다.

[0495] A/상하이/1/2013 및 A/안후이/1/2013으로부터의 H7 HA 단백질에 대한 결합을 시험하기 위해 모든 3종의 항체에 대해 ELISA 검정을 수행하였다. 음성 대조군으로서 모든 3종의 항체를 H7 HA 단백질을 함유하지 않은 용해물에 대한 결합에 대해 ELISA에 의해 시험하였다. 항-인플루엔자 mAb1 (도 1A), 항-인플루엔자 mAb2 (도 1B) 및 항-인플루엔자 mAb3 (도 1C)는 시험된 H7 HA 단백질 둘 다에 대한 특이적 결합을 나타냈다. 음성 대조군 용해물에 대한 매우 최소한의 결합 활성은 모든 3종의 항체에 대해, 심지어 시험된 가장 높은 항체 농도 (25,000 ng/ml)에서도 관찰되었다. (도 1A, 1B 및 1C 참조.) ELISA 결합 데이터를 S자형 용량-반응 곡선에 피팅시켜 각 항체에 대한 결합 IC₅₀ 값 및 95% 신뢰 구간을 계산하였다. (하기 표 2 참조.)

[0496] <표 2>

항-인플루엔자 A 항체	A/안후이/1/2103 H7 HA		A/상하이/1/2013 H7 HA	
	EC ₅₀ ng/ml	95% CI ng/ml	EC ₅₀ ng/ml	95% CI ng/ml
mAb1	20	13-31	38	18-83
mAb2	20	15-27	16	10-26
mAb3	138	110-174	379	198-726

[0497]

[0498] 이들 결과는 본 검정에서 시험된 모든 3종의 항체가, 중국에서 2013년 조류 인플루엔자 A H7N9 바이러스 발생 동안 단리된 최초 인간 인플루엔자 A H7N9 바이러스 균주 중 2종인 A/상하이/1/2013 및 A/안후이/1/2013으로부터의 H7 HA 단백질에 대해 특이적으로 결합할 수 있다는 것을 보여주었다.

[0499] 실시예 5. 인플루엔자 A H7N9 바이러스의 시험관내 중화

[0500] 시험관내에서 인플루엔자 A H7N9 바이러스를 중화시키는 본 발명의 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체의 능력을 하기와 같이 검사하였다.

[0501] 시험관내 중화 연구를 캘리포니아주 샌디에고 소재의 비라푸르 엘엘씨(Virapur LLC)에 있는 BSL3 시설 내에서 수행하였다. 인플루엔자 A H7N9 바이러스 균주 A/상하이/2/2013 IDCDC RG32A를 시험관내 중화 연구에 사용하였다. 중화를 시험하기 위해, 대략 100 감염 단위의 바이러스를 200 내지 1.56 µg/ml 범위의 농도의 각 항체와 혼합하고, 1시간 동안 인큐베이션하였다. 이어서, 바이러스/항체 혼합물을 편평 바닥 투명 96-웰 플레이트에서 배양된 MDCK 세포의 전면생장 단층 상에 놓았다. 각 항체 농도를 3중으로 시험하였다. 항체의 존재 하의 바이러스가 37°C에서 68 내지 72시간 동안 MDCK 세포를 감염시키도록 하였다. 감염 후에, 항체 바이러스 용액을 제거하고, MDCK 세포를 고정하고, 크리스탈 바이올렛으로 염색하여 감염 및 비-감염 MDCK 단층을 시각화하였다. MDCK 세포의 무손상 비-감염 단층을 함유한 웰은 크리스탈 바이올렛에 의해 암청색으로 염색되었고; 감염된 MDCK 단층을 나타내는 웰은 크리스탈 바이올렛에 의해 암청색으로 염색되지 않았다.

[0502] 가장 강력한 H7 HA 결합 능력을 보여준 항-인플루엔자 A 바이러스 mAb1 및 항-인플루엔자 A 바이러스 mAb2는 200 내지 25 µg/ml의 항체 농도에서 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염을 완전히 차단할 수 있었다 (도 2A 및 2B). Grp2 인플루엔자 A 바이러스를 중화시키는데 효과적인 것으로 이전에 제시된 (그 전문이 본원에 참조로 포함된 미국 특허 출원 일련 번호 14/077,414 참조) 항-해마글루티닌 항체 (HVR-L3에서 위치 6에 Tyr 잔기 대신에 Trp 잔기를 함유하는 mAb 81.39)는 본 검정에서 인플루엔자 A H7N9 바이러스를 중화시키는데 효과적이지 않았으며 (데이터는 제시되지 않음), 이는 본 발명의 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체가 인플루엔자 A H7N9 바이러스를 효과적으로 중화시키는 예상외의 이익을 갖는다는 것을 나타낸다.

[0503] 음성 대조군으로서, H7 HA에 결합하지 않는 항체를 또한 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염성을 차단하는 능력에 대해 시험하였다. 이러한 음성 대조군 항체는 심지어 시험된 가장 높은 항체 농도 (200 µg/ml)에서도 시험관내 중화 능력을 보여주지 않았다 (도 2C). 본 검정에서 mAb1 (항-F1u1) 및 mAb2 (항-F1u2)에 대한 최소 억제 농도 값 (MIC)은 25 µg/ml였으며, 반면에 음성 대조군 항체에 대한 MIC는 결정할 수 없었다 (표 3).

[0504] <표 3>

항체	A/상하이/2/2013 IDCDC RG32A (MIC µg/ml)
mAb1	25
mAb2	25
음성 대조군	억제 없음

[0505]

[0506]

이들 결과는 본 발명의 모노클로날 항체가 시험관내에서 인플루엔자 A H7N9 바이러스를 용량-의존성 방식으로 중화시킬 수 있었다는 것을 보여주었다. 이들 결과는 본 발명의 항체가 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염의 치료 및 예방에서 효과적이라는 것을 나타냈다.

[0507]

실시예 6. 마우스 및 페럿에서 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체의 생체내 효능

[0508]

마우스 및 페럿 인플루엔자 A 바이러스 감염 모델은 종종 항-인플루엔자 요법의 예방 및 치료 효능을 조사하는데 사용된다. 페럿은 인간 인플루엔자 A 바이러스 감염에 대해 임상적으로 적절한 동물 모델로 간주된다. (문헌 [Matsuoka et al., (2009) Current Protocols in Microbiology, Chapter 15, Unit 15G 12] 참조.)

[0509]

마우스 및 페럿에서 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체의 생체내 효능을 하기와 같이 수행하였다. DBA/2J 마우스 (잭슨 랩(Jackson Lab), 메인주 바 하버) 또는 수컷 페럿 (무스텔라 푸토리우스 푸로(*Mustela putorius furo*))을 인플루엔자 배지 (DMEM, 0.2% BSA, 2 µg/mL TPCK-처리된 트립신) 중에 희석한 50 µl의 다양한 인플루엔자 A H7N9 바이러스 계통군으로 최소 LD₁₀₀ 용량으로 비강내로 감염시켰다. 항체의 정맥내 투여 전에 24-72 시간 동안 인플루엔자 바이러스 감염이 진행되도록 하였다.

[0510]

인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염 72시간 후에, 다양한 양의 항체를 200 µl PBS 중 다양한 용량 (예를 들어, 45 mg/kg, 15 mg/kg, 5 mg/kg, 1.5 mg/kg 및 0.6 mg/kg)으로 마우스 및 페럿에게 정맥내로 투여하였다. 마우스 및 페럿을 감염 후 21일까지 매일 신체 상태 및 생존에 대해 모니터링하고, 또한 매일 칭량하였다.

[0511]

인플루엔자 A H7N9 바이러스로의 감염 후 24, 48 및 72시간에 다양한 양의 항체를 투여한 마우스 및 페럿의 퍼센트 생존 (시간 (일) 경과에 따름)을 결정하였다. 이들 결과는 본 발명의 모노클로날 항체가 다양한 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염을 치료하는데 효과적이라는 것을 보여주었다. 추가적으로, 이들 데이터는 본 발명의 모노클로날 항체가 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염 후 적어도 72시간까지 투여되었을 때 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염을 치료하는데 효과적이라는 것을 보여주었다.

[0512]

실시예 7. 마우스 및 페럿에서 항-인플루엔자 A H7N9 항체 및 오셀타미비르의 생체내 효능

[0513]

마우스 및 페럿에서 항-인플루엔자 A H7N9 항체의 효능을 오셀타미비르 포스페이트 (타미플루(Tamiflu)®)의 효능과 비교하기 위해, 하기 연구를 수행하였다. 6주령의 Balb/c 마우스 (찰스 리버 래보러토리즈, 캘리포니아주 홀리스트러)를 100x 치사 용량의 50 µl 인플루엔자 A H7N9 바이러스로 비강내로 감염시켰다. 수컷 페럿 (무스텔라 푸토리우스 푸로)을, 예를 들어 1x10³ pfu의 비강내 용량의 인플루엔자 A H7N9 바이러스로 챌린지하였다. 감염 48시간 후에, 항-인플루엔자 A H7N9 항체를 단일 용량 (예를 들어, 대략 45 mg/kg, 15 mg/kg, 5 mg/kg, 1.5 mg/kg 또는 0.6 mg/kg)으로 정맥내로 투여하거나 또는 200 µl PBS 중 대조군 IgG를 정맥내로 투여하였다. 이들 실험에서, 5일 동안 1일 2회 (BID) 2 mg 투여로 이루어진 오셀타미비르 투여 요법을 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체의 단일 투여 요법과 비교하였다.

[0514]

각 치료군에서의 퍼센트 사망률을 결정하였다. 결과는 본 발명의 항-인플루엔자 A H7N9 항체가 오셀타미비르의 경우와 비교하여 마우스 및 페럿에서 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염을 치료하는데 보다 효과적이라는 것을 보여주었다.

[0515]

실시예 8. 마우스 및 페럿에서 오셀타미비르의 공-투여의 존재 및 부재 하의 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체의 생체내 효능

[0516]

오셀타미비르의 투여는 증상 발병 후 48시간 이내에 제공되는 경우에 인간 인플루엔자 A 바이러스 감염을 감소 시키는데 효과적이다. 불행하게도, 오셀타미비르는 48시간 초과 동안 증후성인 환자에서는 최소의 효능을 나타낸다. 따라서, 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체 및 오셀타미비르의 공-투여가 어느 하나의 단독 치료보다

개선된 효능을 나타내는지 시험하기 위해 하기 실험을 수행하였다. 이들 실험은 마우스 또는 페릿 인플루엔자 감염 모델, 예컨대 상기 실시예 7에 기재된 것을 사용하여 수행하였다. 간략하게, 암컷 Balb/c 마우스 (찰스 리버 래보러토리즈)를 100x 치사 용량의 인플루엔자 A H7N9 바이러스로 감염시키고, 수컷 페릿 (무스텔라 푸토리우스 푸로)을, 예를 들어 1×10^3 pfu의 비강내 용량의 인플루엔자 A H7N9 바이러스로 챌린지하고, 72시간 후에 단일 효과적인 용량 미만의 항-인플루엔자 A H7N9 항체, 대조군 IgG, 2 mg BID 오셀타미비르, 또는 단일 용량의 항-인플루엔자 A H7N9 항체와 오셀타미비르 치료의 조합을 5일 동안 i.v. 투여하였다.

[0517] 각 치료군에서의 퍼센트 사망률을 결정하였다. 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체를 뉴라미니다제 억제제인 오셀타미비르와 조합하여 사용하는 조합 요법 동안에 상승작용적 효과가 발생하였는지 여부를 결정하기 위해 비교를 수행하였다.

[0518] 이들 결과는 본 발명의 광범위 중화 항-헤마글루티닌 항체가 페릿에서의 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염의 치료에서 고도로 보호적이며, 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염 24, 48 및 72시간 후에 투여되는 경우에 오셀타미비르보다 우수한 성능을 나타낸다는 것을 보여주었다.

[0519] 실시예 9. 예방적 치료

[0520] 본 발명의 항체는 인플루엔자 A H7N9 바이러스 감염의 예방적 치료에 유용하다. 이러한 치료는 인플루엔자 A H7N9 바이러스에 대해 노출되거나 그에 감염될 위험이 있는 개체에게 예방 요법을 제공한다. 항-인플루엔자 A H7N9 바이러스 항체를, 인간에서 인플루엔자 A H7N9 바이러스 발생에 반응하는 예방적 치료를 제공하는 능력을 확립하기 위해 예방적 생체내 동물 모델에서 시험하였다. 여러 생체내 H7N9 동물 모델은 중등도 질환에서 사망까지의 임상 결과의 범위를 갖는 마우스 및 페릿에서 이용가능하다. 감염 전 이들 동물에게 5 내지 50 mg/ml 농도의 이들 항체의 정맥내 전달을 사용하여, 인플루엔자 A H7N9 바이러스와 연관된 감염 및 중증 질환을 완화하는 그의 예방적 활성을 평가하였다.

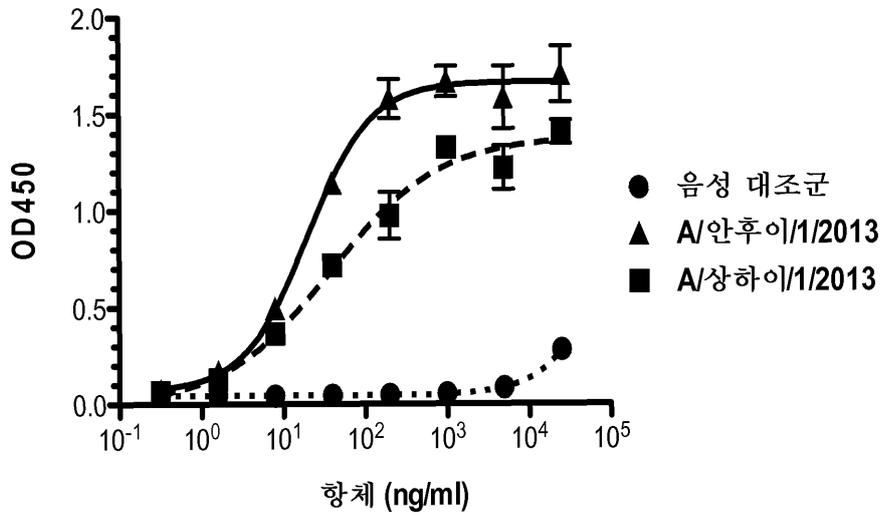
[0521] 통계적 분석

[0522] 통계는 JMP 버전 9.0.2 소프트웨어 (SAS 인스티튜트(SAS Institute))를 사용하여 계산하였다. 생존 실험은 로그-순위 검정을 사용하여 비교하였다. P 값 <0.05를 유의한 것으로 간주하였다. IC₅₀ 곡선 및 값을 플롯팅하고, 그래프패드 프리즘(Graphpad Prism) 버전 5.0 소프트웨어를 사용하여 계산하였다.

[0523] 상기 본 발명은 이해의 명확성의 목적을 위해 예시 및 예의 방식으로 일부 상세하게 기재되었지만, 상기 설명 및 예는 본 발명의 범주를 제한하는 것으로 해석되어서는 안된다. 본원에 인용된 모든 특허 및 과학 문헌의 개시내용은 그 전문이 명백하게 참조로 포함된다.

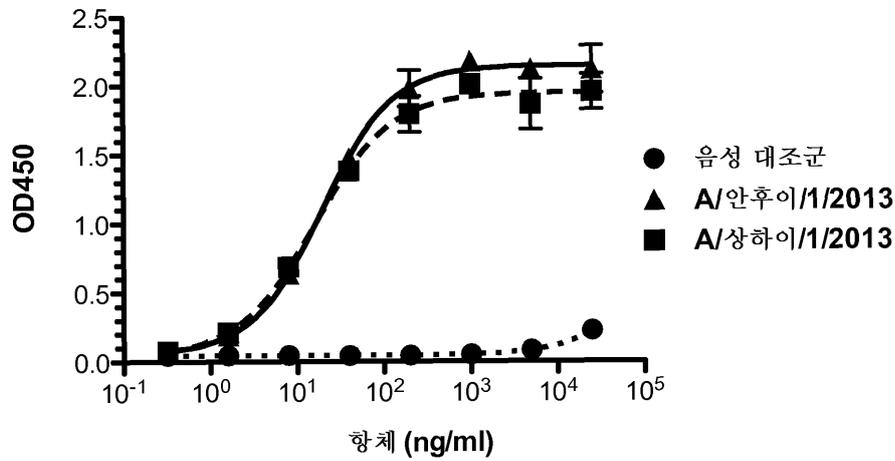
도면

도면1i



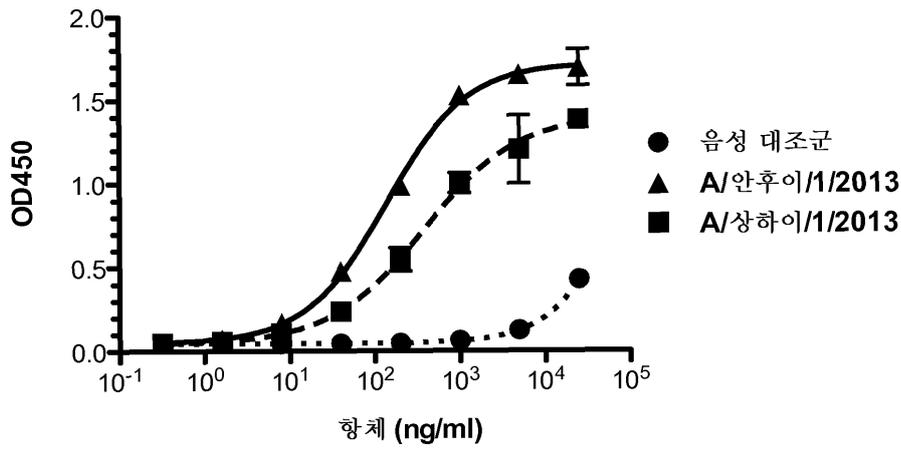
도 1A

도면1ii



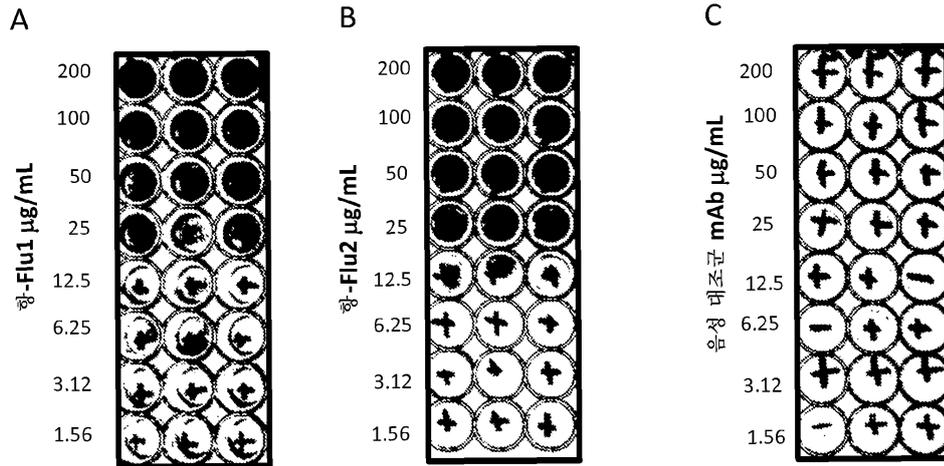
도 1B

도면1iii



도 1C

도면2



도면3

mAb1 (중쇄 가변)

EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFAFHNRAMHWVRQAPGKGLEWVALIYF
DGSKQYYADSVKGRFTISRDN SKNTVFLQMNSLRPEDTAVYYCAVPGPIFGIF
PPWSYFDHWGQGILVTVSS (SEQ ID NO:74)

mAb1 (경쇄 가변)

EIVLTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSHNLAWYQQKPGQAPRLLVYSAST
RATGIPARFSGSGSGTEFTLAISSLQSEDFAVYYCQHYTNYPPRLTFGGGSKV
EIK (SEQ ID NO:75)

도 3A

mAb1 (중쇄)

EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFAFHNRAMHWVRQAPGKGLEWVALIYF
DGSKQYYADSVKGRFTISRDN SKNTVFLQMNSLRPEDTAVYYCAVPGPIFGIF
PPWSYFDHWGQGILVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP
EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNH
KPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE
EVTQVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH
QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV
SLTCLVKGFFPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR
WQQGNVVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:76)

mAb1 (경쇄)

EIVLTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSHNLAWYQQKPGQAPRLLVYSAST
RATGIPARFSGSGSGTEFTLAISSLQSEDFAVYYCQHYTNYPPRLTFGGGSKV
EIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG
NSQESVTEQDSKSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFN
RGEC (SEQ ID NO:77)

도 3B

도면4

mAb2(중쇄 가변)

QVQLVQSGAELKRPGASVKVSCKTSGYSFNNGINWVRQAPGQGLEWMGWISA
YTGNTHYAKNFEGRVTLTDTSTSTAYMEVRSLSRSDSAVYFCARAMIQGVVT
LYLRPGDYWGQGLVTVSS (SEQ ID NO:78)

mAb2(경쇄 가변)

DIVMTQSPSTLSASVGDRTITCRASQSIGNWLAWYQQKPGKAPKLLIYKVST
LESGVPSRFSGSGSGTEFTLTINSLQPDDEFATYYCQRYTSNSQGFTEFGQGTKL
EIK (SEQ ID NO:79)

도 4A

mAb2(중쇄)

QVQLVQSGAELKRPGASVKVSCKTSGYSFNNGINWVRQAPGQGLEWMGWISA
YTGNTHYAKNFEGRVTLTDTSTSTAYMEVRSLSRSDSAVYFCARAMIQGVVT
LYLRPGDYWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP
EPVTVSWNSGALTSQVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNH
KPSNTKVDKKEPKSCDKHTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTP
EVTQVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH
QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV
SLTCLVKGFIYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR
WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:80)

mAb2(경쇄)

DIVMTQSPSTLSASVGDRTITCRASQSIGNWLAWYQQKPGKAPKLLIYKVST
LESGVPSRFSGSGSGTEFTLTINSLQPDDEFATYYCQRYTSNSQGFTEFGQGTKL
EIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG
NSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFN
RGEN (SEQ ID NO:81)

도 4B

도면5

mAb3(중쇄 가변)

QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGLIGTGSYYWGWIRQTPGKGMIEWIGSI
 SYSGSTYYHPSLKSRTVTSDDTSKNQLFLKLRVTAADTAQYYCARYNWGIRY
 FDFWGRGTLVTVSS (SEQ ID NO:82)

mAb3(경쇄 가변)

DIQLTQSPLSPPVTLGQPASISCRSSQSLLYTDGFTYLSWYHQRPQGSPRRLI
 YKISNRDSGVPDRFSGSGSDFTLTKISRVEAEDVGVYYCMQATHWPLTFGEG
 TKVEIK (SEQ ID NO:83)

도 5A

mAb3(중쇄)

QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGLIGTGSYYWGWIRQTPGKGMIEWIGSI
 SYSGSTYYHPSLKSRTVTSDDTSKNQLFLKLRVTAADTAQYYCARYNWGIRY
 FDFWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTV
 SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQKTYTCNVDHKPSNT
 KVDKTRESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD
 VSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE
 YKCKVSNKGLPSSIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPAQEEMTKNQVSLTCLVKG
 FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFS
 CSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK (SEQ ID NO:84)

mAb3(경쇄)

DIQLTQSPLSPPVTLGQPASISCRSSQSLLYTDGFTYLSWYHQRPQGSPRRLI
 YKISNRDSGVPDRFSGSGSDFTLTKISRVEAEDVGVYYCMQATHWPLTFGEG
 TKVEIKPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPV
 KAGVETTTPSKQSNKYAASSYLSLTPEQWKSHKSYSCQVTHEGSTVEKTVAP
 TECS (SEQ ID NO:85)

도 5B

도면6

	mAb1	mAb2	mAb3
HVR-H1	GFAFHNRAMH (SEQ ID NO:56)	GYSFNNGIN (SEQ ID NO:62)	GGLIGTGSYYWG (SEQ ID NO:68)
HVR-H2	ALIYFDGSKQYYADSVKG (SEQ ID NO:57)	GWISAYTGNTHYAKNFEG (SEQ ID NO:63)	GSISYSGSTYYHPSLKS (SEQ ID NO:69)
HVR-H3	AVPGPIFGIFPPWSYFDH (SEQ ID NO:58)	ARAMIQGVVTLYLRLPGDYW (SEQ ID NO:64)	ARYNWGIRYFDF (SEQ ID NO:70)
HVR-L1	RASQSVSHNLA (SEQ ID NO:59)	RASQSIGNWLA (SEQ ID NO:65)	RSSQSLLYTDGFTYLS (SEQ ID NO:71)
HVR-L2	SASTRAT (SEQ ID NO:60)	KVSTLES (SEQ ID NO:66)	KISNRDS (SEQ ID NO:72)
HVR-L3	QHYTNYPPRLT (SEQ ID NO:61)	QRYTSNSQGFT (SEQ ID NO:67)	MQATHWPLT (SEQ ID NO:73)

도면7

A/안후이/1/2013 HA

atgaacactcaaatcctgggtattcgctctgattgcgatcattccaacaaatgc
 agacaaaatctgcctcggacatcatgcctgtcaaacggaaccaaagtaaac
 cattaactgaaagaggagtggaaagtcgtcaatgcaactgaaacagtggaacga
 acaaacatcccaggatctgctcaaaagggaaaaggacagttgacctcgggtca
 atgtggactcctggggacaatcactggaccacctcaatgtgaccaattcctag
 aatcttcagccgatttaattattgagaggcgagaaggaagtgatgtctgttat
 cctgggaaattcgtgaatgaagaagctctgaggcaaatctcagagaatcagg
 cggaaattgacaaggaagcaatgggattcacatacagtggaataagaactaatg
 gagcaaccagtgcatgtaggagatcaggatcttcattctatgcagaaatgaaa
 tggctcctgtcaaacacagataatgctgcattcccgcagatgactaagtcata
 taaaaatacaagaaaaagcccagctctaatagtatgggggatccatcattccg
 tatcaactgcagagcaaaccaagctatatgggagtggaaacaaactggtgaca
 gttgggagttctaattatcaacaatcttttgtaccgagtcaggagcgagacc
 acaagttaatggtctatctggaagaattgactttcattggctaattgctaaatc
 ccaatgatacagtcactttcagtttcaatggggctttcatagctccagaccgt
 gcaagcttcctgagaggaaaaatctatgggaatccagagtgaggtagcaggtga
 tgccaattgtgaaggggactgctatcatagtgaggggacaataataagtaact
 tgccatttcagaacatagatagcagggcagttggaaaatgtccgagatatgtt
 aagcaaaggagtctgctgctagcaacagggatgaagaatggtcctgagattcc
 aaaggaagagggctatttgggtgctatagcgggtttcattgaaaatggatggg
 aaggcctaattgatggttggatggtttcagacaccagaatgcacagggagag
 ggaactgctgcagattacaaaagcactcaatcggcaattgatcaataacagg
 aaaattaaaccggcttatagaaaaaaccaaccaacaatttgagttgatagaca
 atgaattcaatgaggtagagaagcaaatcggtaatgtgataaattggaccaga
 gattctataacagaagtggttcatacaatgctgaactcttggtagcaatgga
 gaaccagcatacaattgatctggctgattcagaaatggacaaactgtacgaac
 gagtgaagacagctgagagagaatgctgaagaagatggcactgggtgcttt
 gaaatatttcacaagtgtgatgactgtatggccagattagaaataacac
 ctatgatcacagcaaatcagggagaggcaatgcaaatagaatacagattg
 accagtcaaaactaagcagcggctacaaagatgtgatactttggtttagcttc
 gggcatcatgtttcatacttctagccattgtaatgggccttgtcttcatatg
 tgtaaagaatggaaacatgcgggtgcactatttgtatataa (SEQ ID
 NO:86)

도면8

A/상하이/1/2013 HA

atgaacactcaaatacctggtattcgcctctgattgacgatcattccaacaaatgc
 agacaaaatctgcctcggacatcatgctgtgtcaaacggaaccaaagtaaaca
 cattaactgaaagaggagtggaagtcgtcaatgcaactgaaacagtggaacga
 acaaacatccccaggatctgctcaaaagggaaaaggacagttgacctcggcca
 atgtggactcctggggacaatcactggaccacctcaatgtgaccaattcctag
 aatcttcagccgatttaattattgagagggcgagaaggaagtgatgtctgttat
 cctgggaaattcgtgaatgaagaagctctgaggcaaattctcagagaatcagg
 cgggaattgacaaggaagcaatgggattcacatacagtggaataagaactaatg
 gagcaaccagttcatgtaggagatcaggatcttcattctatgcagaaatgaaa
 tggctcctgtcaaacacagataatgctgcattcccgcagatgactaagtcata
 taaaaatacaagaaaaaacccagctctaatagtatgggggatccatcattccg
 gatcaactgcagagcaaaccaagctatatgggagtggaacaaactggtgaca
 gttgggagttctaattatcaacaatctttgtaccgagtcggggagcgagaac
 acaagttaatgggcaatctggaagaattgactttcattgggctaattgctaaatc
 ccaatgatacagtcactttcagtttcaatggggctttcatagctccagaccgt
 gcaagcttctcctgagagggaaaatctatgggaatccagagtgaggtagcaggtga
 tgccgattgtgaaggggactgctattatagtgaggggacaataataagtaact
 tgccatttcagaacatagatagcagggcagttggaaaatgtccgagatatgtt
 aagcaaaggagctcgtgctagcaacagggatgaagaatgttctcctgagattcc
 aaagggaagagggcctatttgggtgctatagcgggtttcattgaaaatggatggg
 aaggcctaattgatgggttggtatgggttcagacaccagaatgcacagggagag
 ggaactgctgcagattacaaaagcactcaatcggcaattgatcaataaacagg
 aaaattaaaccggcttatagaaaaaaccaaccaacaatttgagttgatagaca
 atgaattcactgaggtagagaagcaaatcggtaattgtgataaattggaccaga
 gattctataacagaagtggtgctacacaatgctgaactcttggtagcaatgga
 gaaccagcatacaattgatctggctgattcagaaatggacaaactgtacgaac
 gagtgaagaagacagctgagagagaatgctgaagaagatggcactgggtgcttt
 gaaatatttcacaagtgatgatgactgtatggccagcattagaaataacac
 ctatgatcacagcaatacaggggaagaggcaatgcaaaatagaatacagattg
 acccagtcaaaactaagcagcggctacaaagatgtgatactttgggttagcttc
 ggggcatcatgtttcacttctagccattgcaatgggccttgtcttcatatg
 tgtaaagaatggaaacatgcgggtgcactatttgtatataa (SEQ ID
 NO:87)

서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> GENENTECH, INC. ET AL.

<120> INFLUENZA A H7N9 VIRUS THERAPIES

<130> P5782R1-WO

<140><141><150> 61/931,949

<151> 2014-01-27

<160> 87

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 1
 gaagtagtcc ttgaccaggc ag 22
 <210> 2
 <211> 23
 <
 212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 2
 ctcagcgtca gggtygtgct gag 23
 <210> 3
 <211> 18
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 3
 gggtktgts gtctccac 18
 <210> 4
 <211> 26
 <212> DNA

 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 4
 caggtgcagc tggcgcagtc tggggc 26

<210> 5
 <211> 26
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 5
 caggtccagc tgggtgcagtc tggggc 26
 <210> 6
 <211> 26
 <212> DNA
 <213>
 Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 6
 caggtcacct tgaaggagtc tgggtcc 26
 <210> 7
 <211> 26
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 7
 gaggtgcagc tgggtggagtc tggggg 26
 <210> 8
 <211> 26
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"
 <400> 8
 caggtgcagc tgcaggagtc gggccc 26
 <210> 9
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 9
 gaggtgcagc tggcagtc tgg 23
 <210> 10
 <211> 26
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 ><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 10
 caggtacagc tgcagcagtc aggtcc 26
 <210> 11
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 11
 caggtgcagc tggcgaatc tgg 23
 <210> 12
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>

<221> source

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

<400> 12

ghcatcergw tgaccagtc tc 22

<210> 13

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 13

gatrttgtga tgacycagwc tc 22

<210> 14

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><

221> source

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

<400> 14

gaaatwgtrw tgacrcagtc tc 22

<210> 15

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 15

gacatcgtga tgaccagtc tcc 23

<210> 16

<211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221
 > source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 16
 gaaacgacac tcacgcagtc tc 22
 <210> 17
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 17
 gawrttgtgm tgacwcagtc tc 22
 <210> 18
 <211> 26
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221>
 source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 18
 cagtctgtgy tgackcagcc rccctc 26
 <210> 19
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"

<400> 19
cagtctgcc tgactcagcc t 21
<210> 20
<211> 26
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source

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

<400> 20
tcctatgagc tgacwcagsh vccckc 26
<210> 21
<211> 26
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source

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

<400> 21
cagcctgtgc tgactcartc vccctc 26
<210> 22
<211> 26
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source

<

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

<400> 22
cagcctgtgc tgactcagcc aacttc 26
<210> 23
<211> 24
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 23

aattttatgc tgactcagcc ccac 24

<210> 24

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223>

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

<400> 24

caggctgtgg tgactcagga gccc 24

<210> 25

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 25

cagactgtgg tgaccagga gcc 23

<210> 26

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223>

/note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 26

cagcctgtgc tgactcagcc acc 23

<210> 27

<211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 27
 gcagcccagg gcs gctgtgc 20
 <210> 28
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 28
 gcacacaaca gaggcagttc cag 23
 <210> 29
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 29
 cttgragctc ctcagaggag 20
 <210> 30
 <211> 66
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"

<400> 30
ccaccatggg atggtcatgt atcatccttt ttctagtagc aactgcaact ggagtacatt 60
cacagg 66
<210> 31
<211> 72
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 31
ccaccatggg atggtcatgt atcatccttt ttctagtagc aactgcaact ggagtacatt 60
cacagatcac ct 72
<210> 32
<211>
> 65
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 32
ccaccatggg atggtcatgt atcatccttt ttctagtagc aactgcaact ggagtacatt 60
cacag 65
<210> 33
<211> 66
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 33
ccaccatggg atggtcatgt atcatccttt ttctagtagc aactgcaact ggagtacatt 60
cagagg 66

polynucleotide"

<400> 40

ccaccatggg atggatcatgt atcatccttt ttctagtagc aactgcaact ggagtacatt 60

cagaaattgt gttgacacag tctccagcca cctgtcttt g 101

<210> 41

<211> 101

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 41

ccaccatggg atggatcatgt atcatccttt ttctagtagc aactgcaact ggagtacatt 60

cagacatcgt gatgaccag tctccagact cctggctgt g 101

<210> 42

<211> 88

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 42

ccaccatggg atggatcatgt atcatccttt ttctagtagc aactgcaact ggagtacatt 60

cagaaacgac actcacgcag tctccagc 88

<210> 43

<211> 94

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 43

ccaccatggg atggatcatgt atcatccttt ttctagtagc aactgcaact ggagtacatt 60

cagaaattgt gctgactcag tctccagact ttcg 94

<210> 44

<211> 88

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 44

ccacatggg atggatcatgt atcatccttt ttctagtagc aactgcaact ggagtacatt 60

cacagtctgt gytgackcag ccrccctc 88

<210> 45

<211> 83

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 45

ccacatggg atggatcatgt atcatccttt ttctagtagc aactgcaact ggagtacatt 60

cacagtctgc cctgactcag cct 83

<210> 46

<211> 88

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 46

ccacatggg atggatcatgt atcatccttt ttctagtagc aactgcaact ggagtacatt 60

catcctatga gctgacwcag shvceckc 88

<210> 47

<211> 88

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 47
 ccacatggg atggatcatgt atcatccttt ttctagtagc aactgcaact ggagtacatt 60
 cacagcctgt gctgactcar tcvcctc 88
 <210> 48
 <211> 88
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 48
 ccacatggg atggatcatgt atcatccttt ttctagtagc aactgcaact ggagtacatt 60

 cacagcctgt gctgactcag ccaacttc 88
 <210> 49
 <211> 86
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 49
 ccacatggg atggatcatgt atcatccttt ttctagtagc aactgcaact ggagtacatt 60
 caaatTTTat gctgactcag cccac 86
 <210> 50
 <211> 86
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 50
 ccacatggg atggatcatgt atcatccttt ttctagtagc aactgcaact ggagtacatt 60
 cacagctgt ggtgactcag gagccc 86
 <210> 51
 <211> 85
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 51
 ccacatggg atggatcatgt atcatccttt ttctagtagc aactgcaact ggagtacatt 60
 cacagactgt ggtgaccag gagcc 85
 <210> 52
 <211> 85
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 52
 ccacatggg atggatcatgt atcatccttt ttctagtagc aactgcaact ggagtacatt 60
 cacagcctgt gctgactcag ccacc 85
 <210> 53
 <211> 19
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 53

gccaggggga agaccgatg

19

<210> 54

<211> 59

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 54

ctgggataga agttattcag caggcacaca acagaagcag ttccagattt caactgctc 59

<210> 55

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 55

cttgragctc ctcagaggag 20

<

210> 56

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 56

Gly Phe Ala Phe His Asn Arg Ala Met His

1 5 10

<210> 57

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 57

Ala Leu Ile Tyr Phe Asp Gly Ser Lys Gln Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

1 5 10 15

Lys Gly

<210> 58

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 58

Ala Val Pro Gly Pro Ile Phe Gly Ile Phe Pro Pro Trp Ser Tyr Phe

1 5 10 15

Asp His

<210> 59

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 59

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser His Asn Leu Ala

1 5 10

<210> 60

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"
 <400> 60
 Ser Ala Ser Thr Arg Ala Thr
 1 5
 <210> 61
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"
 <400> 61
 Gln His Tyr Thr Asn Tyr Pro Pro Arg Leu Thr

 1 5 10
 <210> 62
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"
 <400> 62
 Gly Tyr Ser Phe Asn Asn Tyr Gly Ile Asn
 1 5 10
 <210> 63
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 63

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

1 5 10 15

Glu Gly

<210> 64

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 64

Ala Arg Ala Met Ile Gln Gly Val Val Thr Leu Tyr Leu Arg Pro Gly

1 5 10 15

Asp Tyr Trp

<210> 65

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 65

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Asn Trp Leu Ala

1 5 10

<210> 66

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"
 <400> 66
 Lys Val Ser Thr Leu Glu Ser
 1 5
 <210> 67
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide"

<
 400> 67
 Gln Arg Tyr Thr Ser Asn Ser Gln Gly Phe Thr
 1 5 10
 <210> 68
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide"

<400> 68
 Gly Gly Leu Ile Gly Thr Gly Ser Tyr Tyr Trp Gly
 1 5 10
 <210> 69
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"
 <400> 69
 Gly Ser Ile Ser Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr His Pro Ser Leu Lys

1 5 10 15
 Ser

<210> 70

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 70

Ala Arg Tyr Asn Trp Gly Ile Arg Tyr Phe Asp Phe

1 5 10

<210> 71

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<221> source

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

<400> 71

Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Thr Asp Gly Phe Thr Tyr Leu Ser

1 5 10 15

<210> 72

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 72

Lys Ile Ser Asn Arg Asp Ser

1 5

<210> 73

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 73

Met Gln Ala Thr His Trp Pro Leu Thr

1 5

<210> 74

<211> 125

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 74

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ala Phe His Asn Arg

20 25 30

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

35 40 45

Ala Leu Ile Tyr Phe Asp Gly Ser Lys Gln Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Phe

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Val Pro Gly Pro Ile Phe Gly Ile Phe Pro Pro Trp Ser Tyr Phe

100 105 110

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

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

 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Val Pro Gly Pro Ile Phe Gly Ile Phe Pro Pro Trp Ser Tyr Phe
 100 105 110
 Asp His Trp Gly Gln Gly Ile Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr
 115 120 125
 Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser

 130 135 140
 Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu
 145 150 155 160
 Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His
 165 170 175
 Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser
 180 185 190
 Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys

 195 200 205
 Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu
 210 215 220
 Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
 225 230 235 240
 Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
 245 250 255

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val

260 265 270

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp

275 280 285

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr

290 295 300

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp

305 310 315 320

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu

325 330 335

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg

340 345 350

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

355 360 365

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

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

420 425 430

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

435 440 445

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

450 455

<210> 77

<211> 216

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 77

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser His Asn
 20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Val
 35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Thr Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Thr Asn Tyr Pro Pro
 85 90 95

Arg Leu Thr Phe Gly Gly Gly Ser Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val
 100 105 110

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

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

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

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

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

Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr
 195 200 205

Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215

<210> 78

<211> 125
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide"
 <400> 78
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Leu Lys Arg Pro Gly Ala

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

 65 70 75 80
 Met Glu Val Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys
 85 90 95
 Ala Arg Ala Met Ile Gln Gly Val Val Thr Leu Tyr Leu Arg Pro Gly
 100 105 110
 Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 79
 <211> 109
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221>
 > source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide"
 <400> 79
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly

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

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

<210> 80

<211> 455

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221

> source

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

<400> 80

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

 50 55 60
 Glu Gly Arg Val Thr Leu Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Val Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
 340 345 350
 Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
 355 360 365
 Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp

 370 375 380
 Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
 385 390 395 400
 Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
 405 410 415
 Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
 420 425 430
 Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser

 435 440 445
 Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 450 455
 <210> 81
 <211> 216
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide"
 <400> 81
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Asn Trp
 20 25 30

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

Ser Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Thr Pro Gly Lys Gly Met Glu
 35 40 45
 Trp Ile Gly Ser Ile Ser Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr His Pro Ser
 50 55 60
 Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Asp Asp Thr Ser Lys Asn Gln Leu
 65 70 75 80
 Phe Leu Lys Leu Arg Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Gln Tyr Tyr
 85 90 95
 Cys Ala Arg Tyr Asn Trp Gly Ile Arg Tyr Phe Asp Phe Trp Gly Arg
 100 105 110
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 83

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 83

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

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

<210> 84

<211> 447

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 84

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Ser Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Thr Pro Gly Lys Gly Met Glu

35 40 45

Trp Ile Gly Ser Ile Ser Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr His Pro Ser

50 55 60

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

65 70 75 80

Phe Leu Lys Leu Arg Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Gln Tyr Tyr

85 90 95

Cys Ala Arg Tyr Asn Trp Gly Ile Arg Tyr Phe Asp Phe Trp Gly Arg

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser

145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val

Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
 420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
 435 440 445

<210> 85

<211> 216

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 85

Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Leu Ser Pro Pro Val Thr Leu Gly
 1 5 10 15
 Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Thr
 20 25 30

Asp Gly Phe Thr Tyr Leu Ser Trp Tyr His Gln Arg Pro Gly Gln Ser
 35 40 45
 Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Lys Ile Ser Asn Arg Asp 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

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

ttgccatttc agaacataga tagcagggca gttggaaaat gtccgagata tgtaagcaa 960
 aggagtctgc tgctagcaac agggatgaag aatggttctg agattccaaa gggaagaggc 1020
 ctatttgggtg ctatagcggg tttcattgaa aatggatggg aaggcctaata tgatggttgg 1080
 tatggtttca gacaccagaa tgcacagggga gagggaaactg ctgcagatta caaaagcact 1140
 caatcgcaaa ttgatcaaat aacaggaaaa ttaaaccggc ttatagaaaa aaccaaccaa 1200

caatttgagt tgatagacaa tgaattcaat gaggtagaga agcaaatcgg taatgtgata 1260
 aattggacca gagattctat aacagaagtg tggatcaca atgctgaact cttggtagca 1320
 atggagaacc agcatacaat tgatctggct gattcagaaa tggacaaact gtacgaacga 1380
 gtgaaaagac agctgagaga gaatgctgaa gaagatggca ctggttgctt tgaatattt 1440
 cacaagtgtg atgatgactg tatggccagt attagaaata acacctatga tcacagcaaa 1500
 tacaggaag aggcaatgca aatagaata cagattgacc cagtcaaac aagcagcggc 1560
 tacaagatg tgatacttg gtttagcttc ggggcatcat gtttcatact tctagccatt 1620

gtaatgggcc ttgtcttcat atgtgtaaag aatggaaaca tgcggtgcac tatttgtata 1680
 taa 1683

<210> 87

<211> 1683

<212> DNA

<213> Influenza A virus

<220><221> source

<223> /note="Influenza A H7N9 virus A/Shanghai/1/2013"

<400> 87

atgaacactc aaatcctggt attcgtctg attgcatca ttccaacaaa tgcagacaaa 60
 atctgctcg gacatcatgc tgtgtcaaac ggaaccaaag taaacacatt aactgaaaga 120
 ggagtggaag tcgtcaatgc aactgaaaca gtggaacgaa caaacatccc caggatctgc 180

tcaaaagga aaagacagt tgacctcggc caatgtggac tctggggac aatcactgga 240
 ccacctcaat gtgaccaatt cctagaattt tcagccgatt taattattga gaggcgagaa 300
 ggaagtgatg tctgttatcc tgggaaattc gtgaatgaag aagctctgag gcaaatctc 360
 agagaatcag gcggaattga caaggaagca atgggattca catacagtgg aataagaact 420
 aatggagcaa ccagttcatg taggatgca ggtcttcat tctatgcaga aatgaaatgg 480
 ctctgtcaa acacagataa tgctgcattc ccgcatgta ctaagtcata taaaaataca 540
 agaaaaaac cagctctaata agtatggggg atccatcatt ccggatcaac tgcagagcaa 600

accaagctat atgggagtg aaacaaactg gtgacagttg ggagttctaa ttatcaacaa 660
 tcttttgtac cgagtccggg agcgagaaca caagttaatg gtcaatctgg aagaattgac 720
 tttcattggc taatgctaaa tcccaatgat acagtcactt tcagtttcaa tggggctttc 780
 atagctccag accgtgcaag cttcctgaga ggaaaatcta tgggaatcca gagtggagta 840
 caggttgatg ccgattgta aggggactgc tattatagtg gagggacaat aataagtaac 900
 ttgccatttc agaacataga tagcagggca gttggaaaat gtccgagata tgtaagcaa 960
 aggagtctgc tgctagcaac agggatgaag aatgttctctg agattccaaa gggaagaggc 1020

 ctatttgggtg ctatagcggg tttcattgaa aatggatggg aaggcctaata tgatggttgg 1080
 tatggtttca gacaccagaa tgcacagga gagggactg ctgcagatta caaaagcact 1140
 caatcggcaa ttgatcaaat aacaggaaaa ttaaccggc ttatagaaaa aaccaaccaa 1200
 caatttgagt tgatagacaa tgaattcact gaggtagaga agcaaatcgg taatgtgata 1260
 aattggacca gagattctat aacagaagtg tggtcataca atgctgaact cttggtagca 1320
 atggagaacc agcatacaat tgatctggct gattcagaaa tggacaaact gtacgaacga 1380
 gtgaaaagac agctgagaga gaatgctgaa gaagatggca ctggttgctt tgaaatattt 1440

 cacaagtgtg atgatgactg tatggccagc attagaaata acacctatga tcacagcaaa 1500
 tacaggaag aggcaatgca aaatagaata cagattgacc cagtcaaact aagcagcggc 1560
 tacaaagatg tgatactttg gtttagcttc ggggcatcat gtttcatact tctagccatt 1620
 gcaatgggcc ttgtcttcat atgtgtaaag aatggaacaa tgcggtgcac tatttgtata 1680
 taa 1683