



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2019-0092552
(43) 공개일자 2019년08월07일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/28 (2006.01) A61K 39/00 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01) C07K 16/30 (2006.01)
C12N 15/85 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
C07K 16/2875 (2013.01)
A61P 35/00 (2018.01)
- (21) 출원번호 10-2019-7020437
- (22) 출원일자(국제) 2017년12월15일
심사청구일자 없음
- (85) 번역문제출일자 2019년07월12일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2017/066680
- (87) 국제공개번호 WO 2018/112346
국제공개일자 2018년06월21일
- (30) 우선권주장
62/434,761 2016년12월15일 미국(US)

- (71) 출원인
에브리 바이오테라퓨틱스 인크.
미국 캘리포니아 94063 레드우드 시티 씨포트 블러바드 1500
- (72) 발명자
하딩 피오나 에이.
미국 캘리포니아주 94041 마운틴 뷰 칼데론 애비뉴 543
- (74) 대리인
장훈

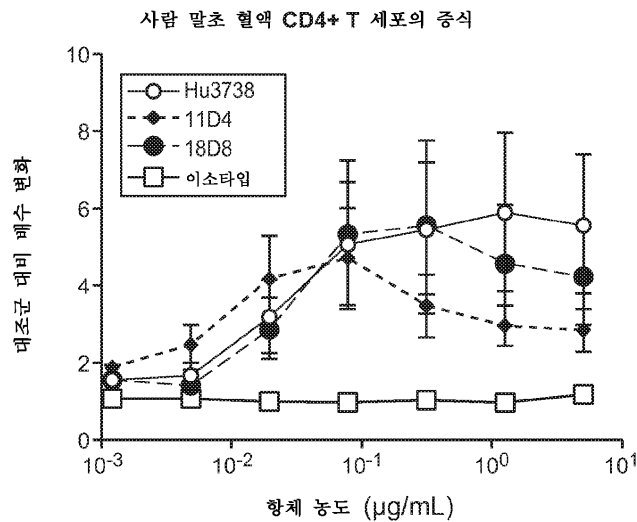
전체 청구항 수 : 총 33 항

(54) 발명의 명칭 항-OX40 항체 및 이의 용도

(57) 요약

본원의 개시내용은 신규 항-OX40 항체, 상기 항체를 포함하는 조성물, 상기 항체를 암호화하는 핵산, 및 이를 제조하고 사용하는 방법을 제공한다.

대표도 - 도1a



(52) CPC특허분류

C07K 16/2896 (2013.01)

C07K 16/3023 (2013.01)

C12N 15/85 (2013.01)

A61K 2039/505 (2013.01)

C07K 2317/24 (2013.01)

C07K 2317/56 (2013.01)

C07K 2317/73 (2013.01)

C07K 2317/75 (2013.01)

C07K 2317/92 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

(i) 3개의 CDR을 포함하는 V_H 쇠; 및 (ii) 3개의 CDR을 포함하는 V_L 쇠를 포함하는 항-OX40 항체로서, 여기서:

V_H CDR#1은:

GFTFSRYGMS (서열번호 101),
GYSIASGYWN (서열번호 111),
GFNIKDTYMH (서열번호 121) 및
GFSLTSYGVH (서열번호 131)로부터 선택되고;

V_H CDR#2은:

TINSNGGRITYYPDSVKG (서열번호 102),
YISYDGSNNYNPSLG (서열번호 112),
RIDPANGNTKYDPKFQG (서열번호 122), 및
VIWSGGSTDYNAAFIS (서열번호 132)로부터 선택되고;

V_H CDR#3은:

EGITTAYAMDY (서열번호 103),
TLPYYFDY (서열번호 113),
GGPAWFVY (서열번호 123), 및
EEFDY (서열번호 133)로부터 선택되고;

V_L CDR#1은:

KASQSVDYDGDSTMH (서열번호 104), 및
RASQDISNYLN (서열번호 114)로부터 선택되고;

V_L CDR#2는:

AASILES (서열번호 105),
YTSRLHS (서열번호 115), 및
YTSRLRS (서열번호 125)로부터 선택되고;

V_L CDR#3은:

QQSNEDPRT (서열번호 106),
QQGNTLPLT (서열번호 116),
QQGNTLPWT (서열번호 126) 및
QQGYTLPT (서열번호 136)으로부터 선택되는, 항-OX40 항체.

청구항 2

제1항에 있어서, 서열번호 101, 102, 및 103의 3개의 CDR을 포함하는 V_H 채; 및 서열번호 104, 105, 및 106의 3개의 CDR을 포함하는 V_L 채를 갖는, 항-OX40 항체.

청구항 3

제1항에 있어서, 하기에 따른 아미노산 서열을 갖는 V_H 채:

EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSRYGMSWVRQTPDKRLELVATINSNGGRITYYPDSVKGRFTISRDNKNTLYLQMSLKSSEDAMYYCAREGIT
TAYAMDYWGQGTSTVTVSS (서열번호 21);

NVQLQESGPGLVKPSQSLTCSVTGYSIASGYYNWIRQFPGNKLEWMGYISYDGSNNYNPSLGNRISITRDTSKNQVFLKLSVTTEDTATYYCVKTLTPY
YFDYWGGTTLTVSS (서열번호 23);

EVQLQQSGAELVKPGASVKLSCTASGFNIKDTYMHVWVQRPEQGLEWIGRIDPANGNTKYDPKFQKATITADTSSNTAYLQSSLTSEDVYVCARGGPA
WFVYWGQGTLLVTVSA (서열번호 25); 또는

QVQLKQSGPGLVQPSQSLTCTVSGFSLTSYGVHVVQRSPGKLEWLVIVSGGSTDYNAAFISRLSISKDNSKSVFFKMSLQADDTAIYCCAREEFDY
WGQGTTLTVSS (서열번호 27); 및

하기에 따른 아미노산 서열을 갖는 V_L 채:

DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCKASQSDYDGDSYMHWYQQKPGQPPKLLIYAASILESGIPARFSGSGGTDFTLNIHPVEEEDAATYYCQQSNEDPRTF
GGGTKLEIK (서열번호 31);

DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISNYLNWYQQKPDGTVKLLIFYTSRSLHSGVPSRFSGGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPLTFGAGT
KLELK (서열번호 33);

DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISNYLNWYQQKPDGTVKLLIYYTSRSLRSLPSRFSGGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPWTFGGGT
KLEIK (서열번호 35); 또는

DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISNYLNWFQQKPDGTVKLLIYYTSRSLHSGVPSRFSGGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGYTLPTFGGGT
KLEIK (서열번호 37)을 포함하는, 항-OX40 항체.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 모노클로날인, 항-OX40 항체.

청구항 5

제1항에 있어서, 사람화된, 항-OX40 항체.

청구항 6

제5항에 있어서, 하기에 따른 아미노산 서열을 갖는 V_H 채:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYGMSWVRQAPGKLELVATINSNGGRITYYPDSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNLSLRAEDTAVYYCAREGIT
TAYAMDYWGQGTSTVTVSS (서열번호 22);

EVQLQESGPGLVKPSDTLSLTCVSGYSIASGYYNWIRQPPGKLEWMGYISYDGSNNYNPSLGNRITISRDTSKNQVSLKLSVTVAVDTAVYYCVKTLTPY
YFDYWGGTTLTVSS (서열번호 24);

EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGFNIKDTYMHVWVQRAPGQGLEWIGRIDPANGNTKYDPKFQGRATITADTSTNTAYMELSSLRSEDVAVYYCARGGPA
WFVYWGQGTLLVTVSS (서열번호 26); 또는

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSLTSYGVHVVQRAPGKLEWLVIVSGGSTDYNAAFISRLTISKDNSKSTVYLQMNLSLRAEDTAVYYCAREEFDY
WGQGTTLTVSS (서열번호 28); 및

하기에 따른 아미노산 서열을 갖는 V_L 채:

DIVMTQSPDLSAVSLGERATINCKASQSDYDGDSYMHWYQQKPGQPPKLLIYAASILESGVPSRFSGGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQSNEDPRTF
GGGTKVEIK (서열번호 32);

DIQMTQTPSSLSASVGDVRTITCRASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIFYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQGNTLPLTFGGGT
KLEIK (서열번호 34);

DIQMTQSPSSLSASVGDVRTITCRASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRLRSGLPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQGNTLPWTFGGGT
KVEIK (서열번호 36); 또는

DIQMTQSPSSLSASVGDVRTITCRASQDISNYLNWFQQKPGKAPKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQGYTLPTFGGGT
KVEIK (서열번호 38)을 포함하는, 항-OX40 항체.

청구항 7

제5항에 있어서, 서열번호 22에 따른 아미노산 서열을 갖는 V_H 쇠; 및 서열번호 32에 따른 아미노산 서열을 갖는 V_L 쇠를 포함하는, 항-OX40 항체.

청구항 8

제5항에 있어서, 서열번호 24에 따른 아미노산 서열을 갖는 V_H 쇠; 및 서열번호 34에 따른 아미노산 서열을 갖는 V_L 쇠를 포함하는, 항-OX40 항체.

청구항 9

제5항에 있어서, 서열번호 26에 따른 아미노산 서열을 갖는 V_H 쇠; 및 서열번호 36에 따른 아미노산 서열을 갖는 V_L 쇠를 포함하는, 항-OX40 항체.

청구항 10

제5항에 있어서, 서열번호 28에 따른 아미노산 서열을 갖는 V_H 쇠; 및 서열번호 38에 따른 아미노산 서열을 갖는 V_L 쇠를 포함하는, 항-OX40 항체.

청구항 11

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, IgG인, 항-OX40 항체.

청구항 12

제11항에 있어서, IgG₁인, 항-OX40 항체.

청구항 13

제11항에 있어서, 서열번호 41 내지 48 중 어느 하나에 따른 아미노산 서열을 갖는 중쇄; 및 서열번호 51 내지 54 중 어느 하나에 따른 아미노산 서열을 갖는 경쇄를 포함하는, 항-OX40 항체.

청구항 14

제13항에 있어서, 서열번호 41 또는 42에 따른 아미노산 서열을 갖는 중쇄; 및 서열번호 51에 따른 아미노산 서열을 갖는 경쇄를 포함하는, 항-OX40 항체.

청구항 15

제13항에 있어서, 서열번호 43 또는 44에 따른 아미노산 서열을 갖는 중쇄; 및 서열번호 52에 따른 아미노산 서열을 갖는 경쇄를 포함하는, 항-OX40 항체.

청구항 16

제13항에 있어서, 서열번호 45 또는 46에 따른 아미노산 서열을 갖는 중쇄; 및 서열번호 53에 따른 아미노산 서열을 갖는 경쇄를 포함하는, 항-OX40 항체.

청구항 17

제13항에 있어서, 서열번호 47 또는 48에 따른 아미노산 서열을 갖는 중쇄; 및 서열번호 54에 따른 아미노산 서열을 갖는 경쇄를 포함하는, 항-OX40 항체.

청구항 18

제1항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, 사람 OX40 (서열번호 1)에 대해 약 100 nM 미만의 K_D 를 갖는, 항-OX40 항체.

청구항 19

제1항 내지 제18항 중 어느 한 항의 항-OX40 항체 및 약제학적으로 허용되는 담체를 포함하는 약제학적 조성물.

청구항 20

제1항 내지 제18항 중 어느 한 항의 항-OX40 항체를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 핵산.

청구항 21

제20항의 핵산을 포함하는 벡터.

청구항 22

제21항의 벡터로 형질전환된 원핵 숙주 세포.

청구항 23

제21항의 벡터로 형질전환된 진핵 숙주 세포.

청구항 24

제20항의 핵산을 발현하도록 조작된 진핵 숙주 세포.

청구항 25

제23항 또는 제24항에 있어서, 포유동물 숙주 세포인, 진핵 숙주 세포.

청구항 26

항-OX40 항체의 제조 방법으로서, (a) 제23항 또는 제24항의 숙주 세포를 배양하는 단계, 및 (b) 상기 항-OX40 항체를 회수하는 단계를 포함하는, 항-OX40 항체의 제조 방법.

청구항 27

면역계를 활성화시키는 방법으로서, 제1항 내지 제18항 중 어느 한 항의 항-OX40 항체, 또는 제18항에 따른 약제학적 조성물을 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 28

암을 치료하는 방법으로서, 제1항 내지 제18항 중 어느 한 항의 항-OX40 항체, 또는 제19항에 따른 약제학적 조성물을 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 29

제28항에 있어서, 상기 암이 방광암, 유방암, 두경부암, 위암, 신장암, 간암, 폐암, 난소암, 피부암, 및 DNA 미스매치 복구 결핍이 입증된 종양으로부터 선택되는, 방법.

청구항 30

제29항에 있어서, 상기 폐암이 소 세포 폐암, 비-소세포 폐암 또는 중피종인, 방법.

청구항 31

제28항에 있어서, 상기 항-OX40 항체가 단일치료요법으로서 투여되는, 방법.

청구항 32

제28항에 있어서, 상기 항-OX40 항체가 암을 치료하기 위해 통상적으로 사용되는 또 다른 제제에 대한 보조제로, 또는 이 또 다른 제제와 함께 투여되는, 방법.

청구항 33

제32항에 있어서, 상기 항-OX40 항체가 항-PD-1 항체에 대한 보조제로 또는 이 항-PD-1 항체와 함께 투여되는, 방법.

발명의 설명

기술분야

[0001] 1. 관련 출원에 대한 상호 참조

[0002] 본 출원은 35 U.S.C. 제119(e)항-하에 2016년 12월 15일자로 출원된 미국 가출원 번호 제62/434,761호의 우선권을 주장하며, 그 내용은 전문이 본원에 참조로 인용된다.

[0003] 2. 서열 목록

[0004] 본 출원은 ASCII 형식으로 전자적으로 제출된 서열 목록을 포함하며, 이는 그 전문이 참조로 인용된다. 2017년 10월 30일자로 생성된 상기 ASCII 복사본은 명칭이 381493-368WO_SL.txt이며, 크기가 97,999 바이트이다.

[0005] 3. 기술분야

[0006] 본 출원은 특히, 신규한 항-OX40 항체, 상기 항체를 포함하는 조성물, 항체를 암호화하는 핵산, 및 이를 제조 및 사용하는 방법에 관한 것이다.

배경기술

[0007] 4. 배경기술

[0008] 암 치료요법은 수술, 방사선 조사 및 화학치료요법을 포함하는 광범위한 치료학적 접근법을 포함한다. 다양한 접근법은 암을 치료하기 위해 의료 종사자가 이용할 수 있는 광범위한 치료선택을 허용하지만, 현존하는 치료법은 다수의 단점들로 문제가 되고 있는데, 예컨대 정상적이고 건강한 세포보다 암 세포를 표적화하는 선택성이 결여되어 있고, 암에 의한 치료에 대한 저항성이 생성된다.

[0009] 정상 세포보다 우선적으로 암세포의 세포 과정을 방해하는, 표적 치료제를 기반으로 한 최근 접근법은 방사선 치료와 같은 비-표적 치료요법에 비해 부작용이 적은 화학치료학적 용법을 유도했다.

[0010] 암 면역 치료요법은 현존하는 치료 표준을 보완하는 유망한 접근법으로 부상했다. 예를 들어, 문헌(Miller, et al. Cancer Cell, 27, 439-449 (2015))을 참조한다. 상기 면역 치료요법 접근법은 암세포를 사멸시키기 위해 면역계를 조절하는데 사용되는 항체의 개발을 포함한다.

[0011] 고형 종양을 갖는 환자에서의 항-종양 면역 반응은 생물학적 제제를 사용한 치료에 의해 증진되었다. 예를 들어, 절제불가능한 또는 전이성 흑색종 및 전이성 비-소세포 폐암과 같은 질병을 치료하기 위해 2개의 항-PD-1 모노클로날 항체: 니볼루맵(OPDIVO®) 및 캄브롤리주맵(KEYTRUDA®)이 미국 및 유럽 연합에서 승인 및 판매되었다. 이들 제제로 환자를 치료한 결과, 무진행 생존 및/또는 전체 생존율의 개선에 의해 측정된 바와 같은 항-종양 반응이 초래되었다.

[0012] OPDIVO®를 종래의 화학치료요법과 비교하는 임상 시험에서 치료-무경험(naive) 환자 집단에서 진행성 폐암의 진행을 늦추는 OPDIVO®의 최근 실패는 기존의 치료학적 치료 표준을 보완하기 위한 대안적인 접근법 및 추가의 암 치료의 필요성을 강조한다.

발명의 내용

[0013] 5. 발명의 개요

- [0014] 본원의 개시내용은 OX40에 특이적으로 결합하고 이를 활성화시키는 항-OX40 항체를 제공한다. 예시적 상보성 결정 영역 (CDR), 중쇄 가변 도메인(V_H) 및 경쇄 가변 도메인(V_L) 영역(즉, 각각 V_H 및 V_L 쇠), 및 예시적 항체의 중쇄 및 경쇄의 아미노산 서열은 하기 발명의 상세한 설명에서 제공된다. 본원에 제공된 항-OX40 항체는 입양 면역 반응의 활성화를 유도한다.
- [0015] 항-OX40 항체는 당업계에 공지된 바와 같이, 항체의 성질을 변화시키는, 예컨대 반감기를 증가시키거나, 항원-의존성 세포 독성 (ADCC)을 증가시키거나 감소시키는 변형 및/또는 돌연변이를 포함할 수 있다.
- [0016] 본원 개시내용의 항-OX40 항체를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 핵산이 본원에 제공되며, 핵산을 포함하는 벡터도 제공된다. 추가로, 뉴클레오타이드 서열을 발현하도록 조작된 진핵 세포(예를 들어, 포유류) 숙주 세포뿐만 아니라 개시된 항-OX40 항체를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 벡터로 형질전환된 원핵 및 진핵 숙주 세포가 본원에 제공된다. 숙주 세포를 배양하고 항체를 회수함으로써 항체를 생산하는 방법도 또한 제공되며, 하기 상세한 설명에서 추가로 논의된다.
- [0017] 또 다른 양상에서, 본원 개시 내용은 본원에 기재된 항-OX40 항체를 포함하는 조성물을 제공한다. 상기 조성물은 일반적으로 본원에 기재된 바와 같은 하나 이상의 항-OX40 항체, 및 하나 이상의 부형제, 담체 또는 희석제를 포함한다.
- [0018] 본원 개시내용은 항-OX40 항체에 의해 고형 종양으로 진단된 대상체, 예컨대 사람 대상체를 치료하는 방법을 제공한다. 상기 방법은 일반적으로 치료학적 이득을 제공하는데 효과적인 본원에 기재된 양의 항-OX40 항체를 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다. 상기 대상체는 새로 진단된, 재발된, 또는 재발 및 불응성일 수 있는 다수의 고형 종양 중 어느 하나로 진단될 수 있다. 항-OX40 항체는 2주 마다 1회 정맥내 주입으로서 투여될 수 있다.
- [0019] 항-OX40 항체는 단일 치료제(단일 치료요법)로서 또는 다른 치료제에 대한 보조제로서 또는 다른 치료제와 함께, 전형적으로는 필수적이지는 않지만 고형 종양의 치료에 사용되는 것들과 병용하여 투여될 수 있다. 치료제는 전형적으로 승인된 용량, 투여 경로 및 투여 빈도로 사용된다.
- [0020] 항-OX40 항체는 정맥내 주입 및/또는 주사, 종양내 주사를 포함하지만, 이에 한정되지 않는 다양한 투여 경로 또는 방식을 통해 투여될 수 있다. 투여되는 양은 당해 분야에 잘 공지된 바와 같이, 투여 경로, 투여 스케줄, 치료되는 암의 유형, 치료되는 암의 단계, 및 환자의 연령 및 체중과 같은 다른 파라미터에 좌우될 것이다.

도면의 간단한 설명

[0021] 6. 도면의 간단한 설명

도 1a-1d는 예시적 항-OX40 항체 Hu3738로 치료 후 시험관내 사람 T 세포의 기능성 활성화를 도시한다. 도 1a는 항-OX40 항체 Hu3738, 또는 문헌의 항체 11D4 또는 18D8을 사용한 치료 후 사람 말초 혈액 CD4+ T 세포의 증식을 도시한다. 도 1b는 항-OX40 항체 Hu3738, 또는 문헌의 항체 11D4 또는 18D8을 사용한 치료 후 사람 CD4+ T 세포에 의한 인터페론-감마(IFN- γ) 생성에서의 증가를 도시한다. 도 1c는 Hu3738, 또는 문헌의 항체 1A7을 사용한 치료 후 사람 말초 혈액 CD4+ T 세포의 증식을 도시한다. 도 1d는 Hu3738, 또는 문헌의 항체 1A7을 사용한 치료 후 사람 CD4+ T 세포에 의한 IFN- γ 생성에서의 증가를 도시한다.

도 2a-2b는 시험관내 사람 T 조절 (Treg) 세포-매개된 억제에 대한 예시적 항-OX40 항체 Hu3738의 효과를 보여준다. Treg 억제 검정은 CD4+/CD25- 응답자 T 세포 (Tresp) 대 CD4+/CD25+/CD127낮은 T 조절 세포(Treg)의 2개의 상이한 비율을 사용하여 설정하였다. Treg 억제 조사제 시약 비드(Insp)를 배양 웰에 자극을 위해 1:1 비드-대-세포 비율로 첨가하였다. 투명한 막대는 Insp의 존재하에 Tresp 세포의 증식을 나타낸다. 항-OX40 및 이소타입 대조군 사람 IgG₁ 항체는 가교결합 시약 (F(ab')₂ 염소 항-사람 IgG, Fc 특이적)의 부재 또는 1:4 비율로의 존재하에 10 μ g/mL 최종 농도로 3회 시험하였다. 플레이트는 4일 동안 5% CO₂에서 37 °C에서 항온처리하였다. 1 μ Ci/웰 ³H-티미딘을 첨가하고 플레이트는 또 다른 16시간 동안 추가로 항온처리하였다. 그래프는 분당 총수 (cpm)로 보여지는 바와 같은 증식을 나타낸다. 도 2a는 2:1 비율의 Tresp 대 Treg를 사용한 결과를 도시하고; 도 2b는 4:1 비율의 Tresp 대 Treg를 사용한 결과를 도시한다.

도 3은 가용성 사람 OX40 리간드 (OX40L)의 존재하에 예시적 항-OX40 항체 Hu3738의 결합 억제를 도시한다. 그래프는 OX40L의 농도 (μ g/mL)에 대한 평균 형광 강도 (MFI)를 보여준다. 사람 OX40-발현 주르캣 세포는 비표

지된 가용성 OX40L 및 0.2 µg/mL의 Hu3738 또는 이소타입 대조군 항체의 적정으로 동시 염색시켰다.

도 4a는 사람 OX40 (서열번호 1)과 마우스 OX40 (서열번호 3)의 아미노산 서열 정렬을 보여준다. 도 4b는 세포-표면 발현된 사람, 뮤린 또는 상응하는 사람 영역을 대체하는 마우스 시스템인 풍부 도메인 (CRD)을 함유하는 키메라 사람-마우스 OX40 분자로의 예시적 항-OX40 항체 Hu3738의 결합 활성을 도시한다. 사람 OX40은 “293s-huOX40”로서 나타내고, 뮤린 CRDI와 함께 키메라 사람 OX40은 “293s-huOX40-muCRDI”로서 나타내고, 뮤린 CRDII와 함께 키메라 사람 OX40은 “293s-huOX40-muCRDII”로서 나타내고, 뮤린 CRDIII와 함께 키메라 사람 OX40은 “293s-huOX40-muCRDIII”로서 나타내고, 뮤린 CRDIV와 함께 키메라 사람 OX40은 “293s-huOX40-muCRDIV”로서 나타내고, 뮤린 CRDI 및 뮤린 CRDIII와 함께 키메라 사람 OX40은 “293s-huOX40-muCRDI+III”로서 나타내고 뮤린 OX40은 “293s-muOX40”으로서 나타낸다.

도 5는 예시적 항-OX40 항체 Hu3738 또는 문헌의 항체(11D4, 18D8, 106-222, 119-122, 또는 1A7)에 의한 세포 표면 사람 OX40 결합에 대한 경쟁을 도시한다.

도 6a는 예시적 항-OX40 항체 Mu3738 또는 Hu3738, 또는 문헌의 항체 11D4, 18D8, 106-222, 또는 119-122, 또는 부가된 가교결합체의 부재하에 이소타입 대조군을 사용한 치료 시 사람 OX40-형질감염된 주르켓 리포터 세포주 내 NF-κB의 활성화를 도시한다. 도 6b는 예시적 항-OX40 항체 Hu3738, 또는 문헌의 항체 1A7, 또는 부가된 가교결합체의 부재하에 이소타입 대조군을 사용한 치료 시 사람 OX40-형질감염된 주르켓 리포터 세포주 내 NF-κB의 활성화를 도시한다.

도 7은 NSG 마우스에서 사람 PC3 입양 세포 종양 모델에서 예시적 항-OX40 항체 Hu3738의 항-종양 활성을 도시한다.

도 8은 총 4회 투여 동안 7일 마다 1회로 1 mg/kg Hu3738 또는 사람 IgG₁ 이소타입 대조군을 사용하여 마우스를 처리한 후, NSG 마우스에서 사람 말초 혈액 단핵 세포 (PBMC) 매개된 이식편 대 숙주 질환 (GVHD) 모델에서 인터류킨-8 (IL-8), 과립구 대식세포 콜로니-자극 인자 (GM-CSF), 종양 괴사 인자 알파 (TNF-α), 및 인터페론-감마(IFN-γ)의 수준을 도시한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

7. 발명의 상세한 설명

본원의 개시내용은 OX40에 특이적으로 결합하는 항체 및 이의 단편, 상기 항체를 포함하는 조성물, 항-OX40 항체를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드, 상기 항체를 생산할 수 있는 숙주 세포, 상기 항체를 제조하는데 유용한 방법 및 조성물, 및 이를 사용하는 다양한 방법에 관한 것이다.

당업자라면 인지할 수 있는 바와 같이, 항체 및 이의 단편은 사실상 "모듈식"이다. 본원 개시내용 전반에 걸쳐, 항-OX40 항체 또는 이의 결합 단편을 구성하는 다양한 "모듈"의 다양한 특정 구현예가 기재되어있다. 특정 비-제한적인 예로서, 중쇄 가변 도메인 (V_H) 상보성 결정 영역 (CDR), V_H 쇄, 경쇄 가변 도메인 (V_L) CDR 및 V_L 쇄의 다양한 특정 구현예가 기재되어있다. 각각의 특정 조합이 개별적으로 명시적으로 기술된 것처럼 특정 구현예 모두 서로 조합될 수 있는 것으로 의도된다.

7.1 약어

본원에 기술된 항체, 결합 단편, 및 폴리뉴클레오타이드는 많은 구현예에서 이들 각각의 폴리펩타이드 또는 폴리뉴클레오타이드 서열에 의해 기술된다. 달리 명시하지 않는 한, 폴리펩타이드 서열은 N→C 배향으로 제공되며; 폴리뉴클레오타이드 서열은 5'→3' 배향으로 제공된다. 폴리펩타이드 서열의 경우, 하기 표 1에 나타난 바와 같이, 유전학적으로 암호화된 아미노산에 대한 통상의 3-문자 또는 1-문자 약어가 사용될 수 있다.

[0027] [표 1]

암호화된 아미노산 약어		
아미노산	3-문자 약어	1-문자 약어
알라닌	Ala	A
아르기닌	Arg	R
아스파라긴	Asn	N
아스파르트산	Asp	D
시스테인	Cys	C
글루탐산	Glu	E
글루타민	Gln	Q
글리신	Gly	G
히스티딘	His	H
이소루신	Ile	I
루신	Leu	L
리신	Lys	K
메티오닌	Met	M
페닐알라닌	Phe	F
프롤린	Pro	P
세린	Ser	S
트레오닌	Thr	T
트립토판	Trp	W
티로신	Tyr	Y
발린	Val	V

[0028]

[0029]

특정 서열은 특정 부류 (예를 들어, 지방족, 소수성 등)에 속하는 아미노산 잔기를 특징하는 구조식에 의해 정의된다. 본원에서 사용된 바와 같이 유전학으로 암호화된 아미노산이 속하는 다양한 부류가 하기 표 2에 기재되어있다. 일부 아미노산은 하나 이상의 부류에 속할 수 있다. 설프하이드릴기를 함유한 시스테인 및, 구조적으로 제한된 프롤린은 부류에 할당되지 않는다.

[0030]

[표 2]

암호화된 아미노산 부류	
부류	아미노산
지방족	A, I, L, V
방향족	F, Y, W
비-극성	M, A, I, L, V
극성	N, Q, S, T
염기성	H, K, R
산성	D, E
소형	A, G

[0031]

[0032]

7.2. 정의

[0033]

본원에서 달리 정의되지 않는 한, 본 개시 내용과 관련하여 사용되는 과학적 및 기술적 용어는 당업자가 일반적으로 이해하는 의미를 갖는다.

[0034]

7.3. 항-OX40 항체 및 결합 단편

- [0035] OX40은 순수 면역 반응의 증진에 중추 역할을 갖고 동시에 조절 T 세포 활성을 억제하는 작용을 하는 동시-자극 분자이다. 또한 CD134 또는 종양 괴사 인자 수용체 슈퍼패밀리 4 (TNFRSF4)로서 공지된 OX40은 최근에 활성화된 T 세포 상에서 일시적으로 발현되고 활성화된 T 조절 세포 상에서 항상성으로 발현되는 종양 괴사 인자 (TNF) 수용체 슈퍼패밀리의 I형 막관통 세포 표면 구성원이다. OX40의 세포의 리간드 결합 도메인은 3개의 시스테인 풍부 도메인 (CRD) 및 4번째 부분 CRD (각각 CRDI, CRDII, CRDIII, 및 CRDIV)로 구성된다. 활성화된 CD4+ T 세포에 의해 주로 발현되지만, OX40은 활성화 후 B 세포, CD8+ T 세포 및 천연 킬러(NK) 및 천연 킬러 T (NKT) 세포 상에 발현될 수 있다. 호중구는 또한 OX40을 발현하는 것으로 보고되었고 사람 호중구에 대한 OX40을 통한 신호 전달은 아포토시스 세포사를 억제한다. OX40에 대한 리간드(OX40L)는 또한 종양 괴사 인자 리간드 슈퍼패밀리 4 (TNFSF4), CD252 또는 당단백질 34 (gp34)로서 공지되어 있고, 활성화된 항원-제공 세포 및 B 세포에 의해 상향조절된다. 항원-활성화된 T 세포 상에서 OX40으로의 리간드 결합은 다운스트림 NF- κ B 전좌 및 AKT 경로 활성화를 유도한다. NF- κ B 전좌는 Bcl-2, Bcl-XL과 같은 생존 촉진 분자의 상향 조절 및 세포 생존을 유도한다. OX40에 지시되는 활성화 항체는 적어도 부분적으로 T 이펙터 세포의 활성화 및 분화를 지속시킴에 의해 항원-특이적 면역 반응을 증진시키는 것으로 의도된다.
- [0036] 항원 활성화된 T 이펙터 세포에 대한 영향에 추가로, T 조절 세포에 의해 발현되는 OX40의 표적화는 또한 추정 작용 기작에 기여할 수 있다. T 조절 세포는 종양 미세환경 내 고수준의 OX40을 발현시킨다. OX40 활성화는 T 조절 세포의 억제 능력에 영향을 주어 종양 미세환경으로부터 OX40 양성 T 조절 세포의 활성 고갈을 유도하는 것으로 나타났다.
- [0037] 하나의 양상에서, 상기 개시내용은 OX40에 특이적으로 결합하는 항체에 관한 것이다.
- [0038] 본 명세서에 사용된 바와 같이, 용어 "항체"(Ab)는 특정 항원, 여기서는 OX40에 특이적으로 결합하는 면역글로불린 분자를 지칭한다. 일부 구현예에서, 본원 개시내용의 항-OX40 항체는 사람 OX40 (서열번호 1) (NCBI 참조 서열 NP003318)에 결합함으로써, 면역계를 조절한다. 결과적으로 일어나는 면역계 반응은 종양 세포에 세포독성이다. 항-OX40 항체는 경쇄 및 중쇄 가변 도메인 둘다에서 추가변 영역으로서도 공지되어 있는 상보성 결정 영역(CDR)을 포함한다. 가변 도메인의 보다 고도로 보존된 부분은 프레임워크(FR)라고 한다. 당 업계에 공지된 바와 같이, 항체의 추가변 영역을 나타내는 아미노산 위치/경계는 당 업계에 공지된 다양한 정의 및 문맥에 따라 다양할 수 있다. 가변 도메인 내의 일부 위치는 이들 위치가 한 세트의 기준하에 추가변 영역 내에 있는 것으로 간주될 수 있는 반면, 다른 세트의 기준하에 추가변 영역 외부에 있는 것으로 간주될 수 있다는 점에서, 하이브리드 추가변 위치로 보여질 수 있다. 이러한 위치 중 하나 이상은 연장된 추가변 영역에서 또한 발견될 수 있다. 본 개시 내용은 이러한 하이브리드 추가변 위치에서 변형을 포함하는 항체를 제공한다. 본래의 중쇄 및 경쇄의 가변 도메인은 각각 β -시트 구조를 채택하여 4개의 FR 영역을 포함하며, β -시트 구조를 연결하고 일부 경우에는 β -시트 구조의 일부를 형성하는 루프를 형성하는 3개의 CDR로 연결된다. 각각의쇄 내 CDR은 함께 FR 영역에 의해 친밀히 밀접하게 유지되고 있고, 다른쇄 기원의 CDR과 함께 항체의 표적 결합 부위의 형성에 기여한다. 문헌[Kabat et al, Sequences of Proteins of Immunological Interest (National Institute of Health, Bethesda, Md. 1987)]을 참조한다. 본원에서 사용된 바와 같이, 면역글로불린 아미노산 잔기의 넘버링은 달리 명시하지 않는 한, 캐뱃 등의 면역글로불린 아미노산 잔기 넘버링 시스템에 따라 행해진다.
- [0039] 본원 개시내용의 항체는 폴리클로날, 모노클로날, 유전학적으로 가공되고/되거나 달리 천연적으로 변형된 것일 수 있고, 키메라 항체, 사람화된 항체 및 사람 항체를 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 일부 구현예에서, 상기 불변 영역은 하기로부터 선택되는 이소타입이다: IgA(예를 들어, IgA₁ 또는 IgA₂), IgD, IgE, IgG(예를 들어, IgG₁, IgG₂, IgG₃ 또는 IgG₄) 및 IgM. 특정 구현예에서, 본원에 기재된 항-OX40 항체는 IgG₁을 포함한다. 다른 구현예에서, 항-OX40 항체는 IgG₂ 또는 IgG₄를 포함한다. 본원에서 사용된 바와 같이, 항체의 "불변 영역"은 천연 불변 영역, 알로타입 또는 사람 IgG₁에서 D356E 및 L358M, 또는 A431G와 같은 천연 변이체를 포함한다. 예를 들어, 문헌(Jefferis and Lefranc, MAbs, 1(4): 332-338 (Jul-Aug 2009))을 참조한다.
- [0040] 항-OX40 항체의 경쇄 불변 영역은 카파 (κ) 경쇄 영역 또는 람다 (λ) 영역일 수 있다. λ 경쇄 영역은 공지된 서브타입 중 임의의 것, 예를 들어 λ_1 , λ_2 , λ_3 , 또는 λ_4 일 수 있다. 일부 구현예에서, 항-OX40 항체는 카파 (κ) 경쇄 영역을 포함한다.
- [0041] 본원에 사용되는 용어 "모노클로날 항체"는 하이브리도마 기술을 통해 생성되는 항체에 제한되지 않는다. 모노클로날 항체는 임의의 진행세포, 원핵세포 또는 과지 클론을 비롯한 단일 클론으로부터, 당업계에서 이용가능한

또는 공지된 임의의 수단에 의해 유래된다. 본원의 개시내용과 함께 유용한 모노클로날 항체는 하이브리도마, 재조합 및 파지 디스플레이 기술 또는 그들의 조합의 이용을 포함하는 당업계에 공지된 다양한 기술을 사용하여 제조할 수 있다. 사람에서의 항-OX40 항체의 *생체내* 사용을 포함하는 본원 개시내용의 많은 용도에서, 키메라, 사람화된, 또는 사람 항체가 사용될 수 있다.

[0042] 본원에 사용되는 용어 "키메라" 항체는 비-사람 면역글로불린, 예컨대 랫트 또는 마우스 항체로부터 유도된 가변 서열, 및 전형적으로 사람 면역글로불린 주형으로부터 선택된 사람 면역글로불린 불변 영역을 갖는 항체를 언급한다. 키메라 항체를 생산하기 위한 방법은 당업계에 공지되어 있다. 예를 들어, 문헌(Morrison, 1985, Science 229(4719):1202-7; Oi *et al.*, 1986, BioTechniques 4:214-221; Gillies *et al.*, 1985, J. Immunol. Methods 125:191-202; 미국 특허 제5,807,715호; 제4,816,567호; 및 제4,816,397호)을 참조한다.

[0043] 비-사람(예를 들어, 무린) 항체의 "사람화된" 형태는 비-사람 면역글로불린으로부터 유도된 최소 서열을 함유하는 키메라 면역글로불린이다. 일반적으로, 사람화된 항체는 실질적으로 적어도 1개, 및 전형적으로 2개의 가변 도메인을 모두 포함할 것이며, 여기서 CDR 영역 모두 또는 실질적으로 모두는 비-사람 면역글로불린의 것에 상응하며, FR 영역 모두 또는 실질적으로 모두는 사람 면역글로불린 서열의 것들이다. 사람화된 항체는 또한 면역글로불린 불변 영역(Fc), 전형적으로 사람 면역글로불린 컨센서스 서열의 적어도 일부를 포함할 수 있다. 항체 사람화 방법은 당업계에 공지되어 있다. 예를 들어, 문헌(Riechmann *et al.*, 1988, Nature 332:323-7; 미국 특허 제 5,530,101호; 제5,585,089호; 제5,693,761호; 제5,693,762호; 및 제6,180,370호 (Queen *et al.*); EP239400; PCT 공개 WO 91/09967; 미국 특허 제5,225,539호; EP592106; EP519596; Padlan, 1991, Mol. Immunol., 28:489-498; Studnicka *et al.*, 1994, Prot. Eng. 7:805-814; Roguska *et al.*, 1994, Proc. Natl. Acad. Sci. 91:969-973; 및 미국 특허 제5,565,332호)를 참조한다.

[0044] "사람 항체"는 사람 면역글로불린의 아미노산 서열을 갖는 항체를 포함하며, 사람 면역글로불린 라이브러리로부터 또는 하나 이상의 사람 면역글로불린에 대해 형질전환되고 내인성 면역글로불린을 발현하지 않는 동물로부터 단리된 항체를 포함한다. 사람 항체는 사람 면역글로불린 서열로부터 유래된 항체 라이브러리를 사용하는 파지 디스플레이 방법을 포함하는 당업계에 공지된 다양한 방법에 의해 제조될 수 있다. 미국 특허 제 4,444,887호 및 제4,716,111호; 및 PCT 공보 WO 98/46645; WO 98/50433; WO 98/24893; WO 98/16654; WO 96/34096; WO 96/33735; 및 WO 91/10741을 참조한다. 사람 항체는 또한 기능적 내인성 면역글로불린을 발현할 수 없지만 사람 면역글로불린 유전자를 발현할 수 있는 형질전환된 마우스를 사용하여 생산될 수 있다. 예를 들어, PCT 공보 WO 98/24893; WO 92/01047; WO 96/34096; WO 96/33735; 미국 특허 제5,413,923호; 제5,625,126호; 제5,633,425호; 제5,569,825호; 제5,661,016호; 제5,545,806호; 제5,814,318호; 제5,885,793호; 제 5,916,771호; 및 제5,939,598호를 참조한다. 추가로 제조원(LakePharma, Inc. (Belmont, CA) 또는 Creative BioLabs (Shirley, NY))과 같은 회사는 상기된 것과 유사한 기술을 사용하여 선택된 항원에 대해 지시된 사람 항체를 제공하기 위해 관여할 수 있다. 선택된 에피토프를 인지하는 완전한 사람 항체는 "가이드 선택"으로서 언급되는 기술을 사용하여 생성될 수 있다. 이러한 접근법에서, 선택된 비-사람 모노클로날 항체, 예를 들어, 마우스 항체를 사용하여, 동일한 에피토프를 인지하는 완전한 사람 항체의 선택을 가이드하기 위해 사용된다(Jespers 등, 1988, Biotechnology 12:899-903 참조).

[0045] 또한, 항-OX40 항체 결합 단편이 고려된다. 본원 개시내용의 결합 단편은 특이적으로 OX40에 결합할 수 있는 것들을 포함한다. 항체 결합 단편의 예는 한 예로서 포함하며, Fab, Fab', F(ab')₂, Fv 단편, 단일쇄 Fv (scFv) 단편 및 단일 도메인 단편을 포함하지만, 이에 제한되지는 않는다.

[0046] Fab 단편은 경쇄의 불변 도메인 및 중쇄의 제1 불변 도메인(CH1)을 함유한다. Fab' 단편은 항체 힌지 영역으로부터의 하나 이상의 시스테인을 포함하는 중쇄 CH1 도메인의 카복실 말단에 약간의 잔기를 부가함으로써 Fab 단편과 상이하다. Fab' 단편은 F(ab')₂ 펩신 분해 생성물의 힌지 시스테인에서 디설파이드 결합의 절단에 의해 생성된다. 항체 단편의 추가적인 화학적 커플링은 당업자에게 공지되어 있다. Fab 및 F(ab')₂ 단편은 온전한 항체의 단편 결정화될 수 있는 (Fc) 영역이 없으며, 동물의 순환계로부터 보다 신속하게 제거되며, 온전한 항체보다 덜 비-특이적인 조직 결합을 가질 수 있다(예를 들어, Wahl 등, 1983, J. Med. 24:316 참조).

[0047] 당업계에서 통상적으로 이해되는 바와 같이, "Fc" 영역은 항원-특이적 결합 영역을 포함하지 않는 항체의 단편 결정화될 수 있는 불변 영역이다. IgG IgA 및 IgD 항체 이소타입에서, Fc 영역은 2개의 동일한 단백질 단편으로 구성되고, 이들은 항체의 2개의 중쇄의 제2 및 제3 불변 도메인 (각각 CH2 및 CH3 도메인)으로부터 유래한다. IgM 및 IgE Fc 영역은 각각의 폴리펩타이드 쇠에서 3개의 중쇄 불변 도메인 (CH2, CH3, 및 CH4 도메

인)을 함유한다 .

- [0048] "Fv" 단편은 완전한 표적 인지 및 결합 부위를 함유하는 항체의 최소 단편이다. 이러한 영역은 단단하게 비-공유적으로 회합된 하나의 중쇄 및 하나의 경쇄 가변 도메인의 이량체(V_H - V_L 이량체)로 이루어진다. V_H - V_L 이량체의 표면 상에 표적 결합 부위를 정의하기 위해 각 가변 도메인의 3개의 CDR이 상호작용하는 것이 이 구성에 있다. 흔히, 6개의 CDR은 항체에 표적 결합 특이성을 부여한다. 그러나 어떤 경우에는 단일 가변 도메인 (또는 표적에 특이적인 3개의 CDR만을 포함하는 Fv의 절반)조차도 전체 결합 부위보다 낮은 친화도에서도 표적을 인식하고 결합할 수 있는 능력을 가질 수 있다.
- [0049] "단일쇄 Fv" 또는 "scFv" 항체 결합 단편은 항체의 V_H 및 V_L 도메인을 포함하며, 이들 도메인은 단일의 폴리펩타이드 쇄에 존재한다. 일반적으로, Fv 폴리펩타이드는 scFv가 표적 결합을 위해 선호될 수 있는 구조를 형성할 수 있게 하는 V_H 및 V_L 도메인 사이에 폴리펩타이드 링커를 추가로 포함한다.
- [0050] "단일 도메인 단편"은 OX40에 대하여 충분한 친화성을 나타내는 단일의 V_H 또는 V_L 도메인으로 구성된다. 구체적인 구현예에서, 단일 도메인 단편은 낙타화된다(예를 들어, 문헌[Riechmann, 1999, Journal of Immunological Methods 231:25-38] 참조).
- [0051] 본원 개시내용의 항-OX40 항체는 유도체화된 항체를 포함한다. 예를 들어, 유도체화된 항체는 전형적으로 글리코실화, 아세틸화, 폐길화, 인산화, 아미드화, 공지된 보호/차단기에 의한 유도체화, 단백질 분해성 절단, 세포리간드 또는 다른 단백질에 대한 결합에 의해 변형된다. 특정 화학적 절단, 아세틸화, 포르밀화, 튜니카마이신(tunicamycin)의 대사 합성 등을 포함하지만, 이에 한정되지 않는 공지된 기술에 의해 수많은 화학적 변형 중 임의의 것이 수행될 수 있다. 또한, 유도체는 예를 들어, ambrx 기술을 사용하여, 하나 이상의 비-천연 아미노산을 함유할 수 있다(예를 들어, Wolfson, 2006, Chem. Biol. 13(10):1011-2 참조).
- [0052] 항-OX40 항체는 적어도 하나의 불변 영역-매개된 생물학적 이펙터 기능을 변경하도록 그의 서열이 변형된 항체일 수 있다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 항-OX40 항체는 변형되지 않은 항체와 비교하여 적어도 하나의 불변 영역-매개된 생물학적 이펙터 기능을 감소시키도록 변형될 수 있으며, 예를 들어, 하나 이상의 Fc 수용체($Fc\gamma R$), 예컨대, $Fc\gamma RI$, $Fc\gamma RIIA$, $Fc\gamma RIIB$, $Fc\gamma RIIIA$ 및/또는 $Fc\gamma RIIIB$ 에 대한 감소된 결합을 포함한다. $Fc\gamma R$ 결합은 $Fc\gamma R$ 상호작용에 필요한 특정 영역에서 항체의 면역글로불린 불변 영역 세그먼트를 돌연변이시킴으로써 감소될 수 있다(예를 들어, Canfield and Morrison, 1991, J. Exp. Med. 173:1483-1491; and Lund *et al.*, 1991, J. Immunol. 147:2657-2662 참조). 항체의 $Fc\gamma R$ 결합 능력의 감소는 또한 $Fc\gamma R$ 상호작용에 의존하는 다른 이펙터 기능, 예컨대 오프소닌화, 식작용 및 항원-의존성 세포의 세포독성("ADCC")을 감소시킬 수 있다. 예시적인 예에서, Fc 영역의 CH 2 도메인에서 V263L, V273C, V273E, V273F, V273L, V273M, V273S, 또는 V273Y 치환을 갖는 변이체 CH2 도메인은 상응하는 야생형 불변 영역과 비교하여 $Fc\gamma RIIIB$ 에 대해 감소된 친화성을 나타낼 수 있다.
- [0053] 본원에 기재된 항-OX40 항체는 예를 들어 $Fc\gamma R$ 상호작용을 증진시키기 위해 변형되지 않은 항체와 상대적으로 적어도 하나의 불변 영역-매개된 생물학적 이펙터 기능을 획득 또는 개선하도록 변형된 항체를 포함한다(예를 들어, 미국 특허 출원 제2006/0134709호 참조). 예를 들어, 본원 개시내용의 항-OX40 항체는 상응하는 야생형 불변 영역보다 큰 친화도로 $Fc\gamma RI$, $Fc\gamma RIIA$, $Fc\gamma RIIB$, $Fc\gamma RIIIA$ 및/또는 $Fc\gamma RIIIB$ 와 결합하는 불변 영역을 가질 수 있다. 예시적인 예에서, Fc 영역의 CH2 도메인에서 V263L, V273C, V273E, V273F, V273L, V273M, V273S, 또는 V273Y 치환을 갖는 변이체 CH2 도메인은 상응하는 야생형 불변 영역과 비교하여 $Fc\gamma RIIIB$ 에 대해 보다 큰 친화성을 나타낼 수 있다.
- [0054] 따라서, 본원 개시내용의 항-OX40 항체는 증가되거나 감소된 오프소닌화, 식작용 또는 ADCC를 유도하는 생물학적 활성에서의 변화를 가질 수 있다. 이러한 변화는 당해 기술 분야에 공지되어 있다. 예를 들어, ADCC 활성을 감소시키는 항체의 변형은 미국 특허 제5,834,597호에 기재되어 있다. 예시적인 ADCC 저하 변이체는 잔기 234 및 237(EU 넘버링 사용)이 알라닌으로 치환된 "돌연변이체 3"(미국 특허 제5,834,597호의 도 4에 도시된 "M3"으로도 공지되어 있음)에 상응한다. 돌연변이체 3("M3"으로도 공지되어 있음) 변이는 많은 항체 이소타입, 예를 들어 IgG₂M3에서 사용될 수 있다.
- [0055] 항-OX40 항체의 $Fc\gamma R$ 결합 및/또는 ADCC 이펙터 기능을 변형시킬 수 있는 추가적인 치환은 Fc 영역, 예를 들어, L234A/L235A 이중 치환을 갖는 사람 IgG₁에서의 K322A 치환 또는 L234A 및 L235A 이중 치환을 포함한다. 예를 들어, 문헌(Hezareh, et al. J. Virol., 75 (24): 12161-12168 (2001))을 참조한다.

- [0056] 일부 구현예에서, 항-OX40 항체는 푸코스의 수준이 낮거나 또는 결여되어 있다. 푸코스가 결여된 항체는 특히 항체의 저용량에서 증진된 ADCC 활성과 상관관계가 있다. 문헌(Shields *et al.*, 2002, *J. Biol. Chem.* 277:26733-26740; Shinkawa *et al.*, 2003, *J. Biol. Chem.* 278:3466-73)을 참조한다. 푸코스-적은 항체를 제조하는 방법은 랫트 골수종 YB2/0 세포 (ATCC CRL 1662)에서의 성장을 포함한다. YB2/0 세포는 폴리펩타이드의 푸코실화에 필요한 효소인 α -1,6-푸코실트랜스퍼라제를 암호화하는 FUT8 mRNA의 낮은 수준을 발현한다.
- [0057] 항-OX40 항체는 상응하는 야생형 CH2 또는 Fc 영역의 결합과 비교하여 Fc γ RIIB에 대한 결합을 증가시키고/시키거나 Fc γ RIIIA에 대한 결합을 감소시키는 아미노산 치환을 포함하는 변형된 (또는 변이체) CH2 도메인 또는 전체 Fc 도메인을 포함할 수 있다. 변이체 CH2 또는 변이체 Fc 도메인은 미국 특허 출원 제2014/0377253호에 기술되어 있다. 변이체 CH2 또는 변이체 Fc 도메인은 전형적으로 위치 263, 위치 266, 위치 273 및 위치 305에서 하나 이상의 치환을 포함하며, Fc 도메인에서 잔기의 넘버링은 캐뱃에서와 같이 EU 지수의 넘버링이다. 일부 구현예에서, 항-OX40 항체는 야생형 CH2 도메인에 비해 V263L, V266L, V273C, V273E, V273F, V273L, V273M, V273S, V273Y, V305K, 및 V305W로부터 선택된 하나 이상의 치환을 포함한다. 특정 구현예에서, CH2 도메인의 하나 이상의 치환은 사람 IgG₁의 CH2 도메인에 비해, V263L, V273E, V273F, V273M, V273S, 및 V273Y로부터 선택된다. 예를 들어, IgG₁ CH2 도메인의 하나 이상의 치환은 V273E일 수 있다. 또 다른 특정 구현예에서, 본원 개시내용의 항-OX40 항체는 아미노산 치환 V263L을 포함하는 변이체 IgG₁ CH2 도메인을 포함한다.
- [0058] 상응하는 야생형 CH2 또는 Fc 영역의 결합과 비교하여 Fc γ RIIB에 대한 증가된 결합 및/또는 Fc γ RIIIA에 대한 감소된 결합을 부여할 수 있는 변이체 CH2 또는 변이체 Fc 도메인의 다른 예는 문헌 [Vonderheide, 등 *Clin. Clin. Cancer Res.*, 19(5), 1035-1043 (2013)]에서 발견되는 것들, 예를 들어, 사람 IgG₁에서 S267E 또는 S267E/L328F를 포함한다.
- [0059] 일부 구현예에서, 항-OX40 항체는 예를 들어, FcRn 상호작용과 관련된 특정 영역에서 면역글로불린 불변 영역 세그먼트를 돌연변이시키므로써 태아 Fc 수용체, FcRn에 대한 그의 결합 친화도를 증가 또는 감소시키는 변형을 포함한다 (예를 들어, WO 2005/123780 참조). 특정 구현예에서, IgG 부류의 항-OX40 항체는 중쇄 불변 영역의 아미노산 잔기 250, 314 및 428 중 적어도 하나가 단독으로, 또는 그의 임의의 조합으로, 예컨대, 위치 250 및 428, 또는 위치 250 및 314, 또는 위치 314 및 428, 또는 위치 250, 314 및 428에서 치환되도록 돌연변이되며, 위치 250 및 428은 특정 조합이다. 위치 250에 대해, 치환된 아미노산 잔기는 알라닌, 시스테인, 아스파르트산, 글루탐산, 페닐알라닌, 글리신, 히스티딘, 이소루신, 리신, 루신, 메티오닌, 아스파라긴, 프롤린, 글루타민, 아르기닌, 세린, 발린, 트립토판 또는 티로신을 포함하지만 이에 한정되지 않는 트레오닌 이외의 임의의 아미노산 잔기일 수 있다. 위치 314에 대해, 치환된 아미노산 잔기는 알라닌, 시스테인, 아스파르트산, 글루탐산, 페닐알라닌, 글리신, 히스티딘, 이소루신, 리신, 루신, 메티오닌, 아스파라긴, 프롤린, 글루타민, 아르기닌, 세린, 트레오닌, 발린, 트립토판 또는 티로신을 포함하지만 이에 제한되지 않는 루신 이외의 임의의 아미노산 잔기일 수 있다. 위치 428에 대해, 치환된 아미노산 잔기는 알라닌, 시스테인, 아스파르트산, 글루탐산, 페닐알라닌, 글리신, 히스티딘, 이소루신, 리신, 루신, 아스파라긴, 프롤린, 글루타민, 아르기닌, 세린, 트레오닌, 발린, 트립토판 또는 티로신을 포함하지만 이에 한정되지 않는 메티오닌 이외의 임의의 아미노산 잔기일 수 있다. Fc 이펙터 기능을 변형시키는 것으로 알려진 예시적인 치환은 Fc 치환 T250Q와 조합하여 발생할 수 있는 Fc 치환 M428L이다. 적합한 아미노산 치환의 추가적인 특정 조합이 미국 특허 제7,217,797호의 표 1에 확인되어있다. 상기 돌연변이는 항체를 분해로부터 보호하고 반감기를 증가시키는 FcRn에 대한 결합을 증가시킨다.
- [0060] 항-OX40 항체는 예를 들어 문헌(Jung and Pluckthun, 1997, *Protein Engineering* 10:8, 959-966; Yazaki *et al.*, 2004, *Protein Eng. Des Sel.* 17(5):481-9. Epub 2004 Aug 17; and U.S. Pat. Appl. No. 2007/028093 1)에 기재된 바와 같이 하나 이상의 아미노산이 이의 CDR 중 하나 이상으로 삽입된 것일 수 있다.
- [0061] 사람 OX40(서열번호 1)에 대해 높은 친화성을 갖는 항-OX40 항체는 치료 및 진단 용도를 위해 바람직할 수 있다. 따라서, 본원의 개시내용은 사람 OX40에 대해 높은 결합 친화성을 갖는 항체를 고려한다. 구체적인 구현예에서, 사람 OX40에 결합하는 항-OX40 항체는 적어도 약 100 nM의 친화도로 결합하지만, 더 큰 친화도, 예를 들어, 적어도 약 90 nM, 80 nM, 70 nM, 60 nM, 50 nM, 40 nM, 30 nM, 25 nM, 20 nM, 15 nM, 10 nM, 7 nM, 6 nM, 5 nM, 4 nM, 3 nM, 2 nM, 1 nM, 0.1 nM, 0.01 nM 또는 훨씬 더 높은 친화도를 나타낼 수 있다. 일부 구현예에서, 항체는 약 1 pM 내지 약 100 nM 범위의 친화도로 또는 이전의 임의의 값들 사이의 범위의 친화도, 예를 들어, 이에 제한되지 않지만 약 0.001 내지 10 nM, 0.001 내지 5 nM, 0.01 내지 100 nM, 0.01 내지 50 nM,

0.01 내지 10 nM, 0.01 내지 5 nM, 또는 0.01 내지 1 nM의 친화도로 결합한다.

[0062] 사람 OX40에 대한 항-OX40 항체의 친화도는 당업계에서 공지된 기술 또는 본원에 기재된 기술, 예컨대 예를 들어 제한없이, ELISA, 등은 적정 열량계(ITC), 표면 플라즈몬 공명 또는 형광 편광 분석을 사용하여 측정될 수 있다.

[0063] 항-OX40 항체는 일반적으로 V_H CDR#1, V_H CDR#2, 및 V_H CDR#3으로서 본원에서 (N→C 순서로) 언급되는 3개의 상보성 결정 영역("CDR")을 갖는 가변 영역(V_H)을 포함하는 중쇄, 및 V_L CDR#1, V_L CDR#2, 및 V_L CDR#3으로서 본원에서 (N→C 순서로) 언급되는 3개의 상보성 결정 영역을 갖는 가변 영역 (V_L)을 포함하는 경쇄를 포함한다. 예시적인 항-OX40의 중쇄 및 경쇄의 V_H 및 V_L 영역의 아미노산 서열 뿐만 아니라 예시적인 CDR의 아미노산 서열이 본원에 제공된다. 항-OX40 항체의 특정 구현에는 사람 OX40을 상기 항체와 결합시키는데 경쟁하는 항체뿐만 아니라 상기 예시적인 CDR 및/또는 V_H 및/또는 V_L 서열을 포함한다.

[0064] 일부 구현예에서, 항-OX40 항체의 CDR의 아미노산 서열은 하기의 표 3에서 각각의 V_H 및 V_L CDR 서열로부터 선택되는 서열을 갖는다:

[0065] [표 3]

예시적 CDR 서열		
CDR	서열	확인자
V _H CDR#1:	GFTFSRYGMS	(서열번호 101)
	GYSIASGYWN	(서열번호 111)
	GFNIKDTYMH	(서열번호 121)
	GFSLTSYGVH	(서열번호 131)
V _H CDR#2:	TINSNGGRTYYPDSVKG	(서열번호 102)
	YISYDGSNNYNPSLG	(서열번호 112)
	RIDPANGNTKYDPKFQG	(서열번호 122)
	VIWSGGSTDYNAAFIS	(서열번호 132)
V _H CDR#3:	EGITTAYAMDY	(서열번호 103)
	TLPYYFDY	(서열번호 113)
	GGPAWFVY	(서열번호 123)
	EEFDY	(서열번호 133)
V _L CDR#1:	KASQSVVDYDGDSYMH	(서열번호 104)
	RASQDISNYLN	(서열번호 114)
V _L CDR#2:	AASILES	(서열번호 105)
	YTSRLHS	(서열번호 115)
	YTSRLRS	(서열번호 125)
V _L CDR#3:	QQSNEDPRT	(서열번호 106)
	QQGNTLPLT	(서열번호 116)
	QQGNTLPWT	(서열번호 126)
	QQGYTLPPT	(서열번호 136)

[0066] 상기 CDR을 갖는 항-OX40 항체의 특정 예시적 구현에는 본원에 기재된다: 일부 구현예에서, 항-OX40 항체는 서열번호 101, 102, 103, 104, 105, 및 106에 따른 CDR을 갖는다. 일부 구현예에서, 항-OX40 항체는 서열번호 111, 112, 113, 114, 115, 및 116에 따른 CDR을 갖는다. 일부 구현예에서, 항-OX40 항체는 서열번호 121, 122, 123, 114, 125, 및 126에 따른 CDR을 갖는다. 일부 구현예에서, 항-OX40 항체는 서열번호 131, 132, 133, 114, 115, 및 136에 따른 CDR을 갖는다.

[0068] 본원에 기재된 CDR은 개시내용의 항-OX40 항체의 V_H 및 V_L 쇠 내 결합 요소들을 형성한다. 하기의 표 4 및 5는 상기된 CDR을 함유하는 예시적 항-OX40 항체에 상응하는 V_H 및 V_L 쇠를 기재한다. CDR은 표 4 및 5에서 하기에 서 밀줄쳐져 있다. 일부 구현예에서, 항-OX40 항체는 표 4에 기재된 바와 같은 아미노산 서열을 갖는 V_H 쇠 및 표 5에 기재된 바와 같은 아미노산 서열을 갖는 V_L 쇠를 포함한다:

[0069]

[표 4]

예시적 V _H 서열		
V _H	서열	확인자
Mu3738 V _H	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFSRYGMSWVRQTPDKRLELVA TINSNGGRYYPD SVKGRFTISRDN AKNTLYLQMSSLKSEDTAMYYCAR EGITAYAMDYWGQGTSTVTVSS	(서열번호 21)
Hu3738 V _H .1b	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSAAASGFTFSRYGMSWVRQAPGKLELVA TINSNGGRYYPD SVKGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR EGITAYAMDYWGQGTSTVTVSS	(서열번호 22)
Mu3726 V _H	NVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCSVTGYSIASGYW WNI RQFPGNKLEWM GYISYDGSNNYNPSLGNRITISRDTSKNQVFLKLSVTTEDTATYYCVK TLPYYFDYWGQGTTLTVSS	(서열번호 23)
Hu3726 V _H .1a	EVQLQESGPGLVKPSDITSLTCAVSGYSIASGYW WNI RQFPGNKLEWM GYISYDGSNNYNPSLGNRITISRDTSKNQVSLKLSVTAVDTAVYYCVK TLPYYFDYWGQGTSTVTVSS	(서열번호 24)
Mu3739 V _H	EVQLQQSGAELVKPGASVKLSCTASGFNIKDTY MHW VKQRPEQGLEWIG RIDPANGNTKYDPK FQGR ATITADTSSNTAYLQLSSLTSEDTDVYYCAR GGPAWFVYWGQGTSLTVSA	(서열번호 25)
Hu3739 V _H .1b	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGFNIKDTY MHW VKQRAPGQGLEWIG RIDPANGNTKYDPK FQGR ATITADTSTNTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR GGPAWFVYWGQGTSLTVSS	(서열번호 26)
Mu3741 V _H	QVQLKQSGPGLVQPSSLSITCTVSGFSLTSYGV H WVRQSPGKLEWLG VIWSGGSTDYNAAFISRLSISKD NSK SQVFFKMNSLQADDTAIIYCCARE EFDYWGQGTTLTVSS	(서열번호 27)
Hu3741 V _H .2b	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSAAVSGFSLTSYGV H WVRQAPGKLEWLG VIWSGGSTDYNAAFISRLTISKD NSK STVYLQMNSLRAEDTAVYYCARE EFDYWGQGTSTVTVSS	(서열번호 28)

[0070]

[0071] [표 5]

예시적 V _L 서열		
V _L	서열	확인자
Mu3738 V _L	DI VLTQSPASLAVSLGQRATISCKASQSVDYDGD SYMHWYQQKPGQPP KLLIYAASILESGIPARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDAATYYCQQSN EDPRTFGGGTKLEIK	(서열번호 31)
Hu3738 V _{L.1}	DI VMTQSPDSLAVSLGERATINCKASQSVDYDGD SYMHWYQQKPGQPP KLLIYAASILESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQSN EDPRTFGGGTKVEIK	(서열번호 32)
Mu3726 V _L	DI QMTQTSSLSASLGDRVTISCRASQDISNYLNWYQQKPDGTVKLLI FYTSRLHSGVPSRFSGGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPL TFGAGTKLELK	(서열번호 33)
Hu3726 V _{L.1b}	DI QMTQTPSSLSASVGRVTTICRASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLI FYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQGNTLPL TFGQGTKLEIK	(서열번호 34)
Mu3739 V _L	DI QMTQTSSLSASLGDRVTISCRASQDISNYLNWYQQKPDGTVKLLI YYTSRLRSGLPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPW TFGGGTKLEIK	(서열번호 35)
Hu3739 V _{L.1b}	DI QMTQSPSSLSASVGRVTTICRASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLI YYTSRLRSGLPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQGNTLPW TFGGGTKVEIK	(서열번호 36)
Mu3741 V _L	DI QMTQTSSLSASLGDRVTISCRASQDISNYLNWFQQKPDGTVKLLI YYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGYTLPP TFGGGTKLEIK	(서열번호 37)
Hu3741 V _{L.1c}	DI QMTQSPSSLSASVGRVTTICRASQDISNYLNWFQQKPGKAPKLLI YYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQGYTLPP TFGGGTKVEIK	(서열번호 38)

[0072]

[0073]

일부 구현예에서, 항-OX40 항체는 서열번호 21에 따른 아미노산 서열을 갖는 V_H쇄; 및 서열번호 31에 따른 아미노산 서열을 갖는 V_L쇄를 포함한다. 일부 구현예에서, 항-OX40 항체는 서열번호 23에 따른 아미노산 서열을 갖는 V_H쇄; 및 서열번호 33에 따른 아미노산 서열을 갖는 V_L쇄를 포함한다. 일부 구현예에서, 항-OX40 항체는 서열번호 25에 따른 아미노산 서열을 갖는 V_H쇄; 및 서열번호 35에 따른 아미노산 서열을 갖는 V_L쇄를 포함한다. 일부 구현예에서, 항-OX40 항체는 서열번호 27에 따른 아미노산 서열을 갖는 V_H쇄; 및 서열번호 37에 따른 아미노산 서열을 갖는 V_L쇄를 포함한다.

[0074]

일부 구현예에서, 항-OX40 항체는 사람에게 투여하기에 적합하다. 특정 구현예에서, 항-OX40 항체는 사람화된다. 일부 구현예에서, 항-OX40 항체는 서열번호 22에 따른 아미노산 서열을 갖는 V_H쇄; 및 서열번호 32에 따른 아미노산 서열을 갖는 V_L쇄를 포함한다. 일부 구현예에서, 항-OX40 항체는 서열번호 24에 따른 아미노산 서열을 갖는 V_H쇄; 및 서열번호 34에 따른 아미노산 서열을 갖는 V_L쇄를 포함한다. 일부 구현예에서, 항-OX40 항체는 서열번호 26에 따른 아미노산 서열을 갖는 V_H쇄; 및 서열번호 36에 따른 아미노산 서열을 갖는 V_L쇄를 포함한다. 일부 구현예에서, 항-OX40 항체는 서열번호 28에 따른 아미노산 서열을 갖는 V_H쇄; 및 서열번호 38에 따른 아미노산 서열을 갖는 V_L쇄를 포함한다.

[0075]

본원에 기재된 항-OX40 항체에서의 V_H 또는 V_L 서열의 특정 돌연변이는 본 개시 내용의 범위 내에서 항-OX40 항

체를 제공한다고 당업자에 의해 이해될 것이다. 돌연변이는 유의한 항-OX40 활성을 유지하면서 본원에 개시된 바와 같은 V_H 또는 V_L 서열로부터의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 포함할 수 있다. 따라서, 일부 구현예에서, 항-OX40 항체는 표 4에 나타난 V_H 서열 중 어느 하나에 대해 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 93%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 V_H 서열을 포함한다. 항-OX40 항체는 표 4에 나타난 V_H 서열 중 어느 하나와 비교하여 최대 8개, 최대 7개, 최대 6개, 최대 5개, 최대 4개, 최대 3개 또는 최대 2개의 돌연변이를 갖는 V_H 서열을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 항-OX40 항체는 표 4에 나타난 V_H 서열 중 어느 하나와 비교하여 5개 이하, 4개, 이하, 3개 이하, 또는 2개 이하의 돌연변이를 갖는 V_H 서열을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 항-OX40 항체는 표 5에 나타난 V_L 서열 중 어느 하나에 대해 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 93%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 V_L 서열을 포함한다. 항-OX40 항체는 표 5에 나타난 V_L 서열 중 어느 하나와 비교하여 최대 8개, 최대 7개, 최대 6개, 최대 5개, 최대 4개, 최대 3개 또는 최대 2개의 돌연변이를 갖는 V_L 서열을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 항-OX40 항체는 표 5에 나타난 V_L 서열 중 어느 하나와 비교하여 5개 이하, 4개, 이하, 3개 이하, 또는 2개 이하의 돌연변이를 갖는 V_L 서열을 포함할 수 있다.

[0076] 전장의 중쇄 및 경쇄 아미노산 서열은 일반적으로 적당한 면역글로불린 불변 영역, 예를 들어, 사람 IgG₁ 또는 카파 경쇄 영역에 연결된 상기된 V_H 또는 V_L 쇄를 포함한다. 항-OX40 항체의 전장 서열에 대한 번역 후 변형, 예컨대 항체 중쇄의 C-말단상의 하나 이상의 (예를 들어, 1, 2, 3 또는 그 이상의) 아미노산 잔기의 절단이 발생할 수 있다. 상기 절단 생성물은 발현된 바와 같은 항-OX40 항체의 일부 또는 전부를 포함할 수 있다.

[0077] 따라서, 일부 구현예에서, 항-OX40 항체는 표 6에 기재된 바와 같은 중쇄 아미노산 서열을 포함한다:

[0078] [표 6]

예시적 중쇄 서열	
서열	확인자
<p>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYGMSWVRQAPGKGLELVATINSNGGRTYYPDS VKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREGITTAYAMDYWGQGTITVTVSSASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNQGEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGK</p>	<p>서열번 호 41</p>
<p>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYGMSWVRQAPGKGLELVATINSNGGRTYYPDS VKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREGITTAYAMDYWGQGTITVTVSSASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNQGEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPG</p>	<p>서열번 호 42</p>
<p>EVQLQESGPGLVKPSDTLSLTCAVSGYSIASGYWVNWIRQPPGKGLEWVWGYISYDGSNNYNPS LGNRITISRDTSKNQVSLKLSVAVDTAVYYCVKTLPPYFDYWGQGTITVTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSPGK</p>	<p>서열번 호 43</p>
<p>EVQLQESGPGLVKPSDTLSLTCAVSGYSIASGYWVNWIRQPPGKGLEWVWGYISYDGSNNYNPS LGNRITISRDTSKNQVSLKLSVAVDTAVYYCVKTLPPYFDYWGQGTITVTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSPG</p>	<p>서열번 호 44</p>

[0079]

예시적 중쇄 서열	
서열	확인자
EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVCSKASGFNIDKTYMHWRQAPGQGLEWIGRIDPANGNTKYDPK FQGRATITADTSTNTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGGPAWFVYWGQGLTVTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSIWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSL SLSPGK	서열번 호 45
EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVCSKASGFNIDKTYMHWRQAPGQGLEWIGRIDPANGNTKYDPK FQGRATITADTSTNTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGGPAWFVYWGQGLTVTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSIWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSL SLSPG	서열번 호 46
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSLTSYGVHWVRQAPGKLEWLVGIWSGGSTDYNAAF ISRLTI SKDNSKSTVYLQMNSLRAEDTAVYYCAREEFDYWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAP SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSIWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK	서열번 호 47
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSLTSYGVHWVRQAPGKLEWLVGIWSGGSTDYNAAF ISRLTI SKDNSKSTVYLQMNSLRAEDTAVYYCAREEFDYWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAP SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSIWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSP G	서열번 호 48

[0080]

[0081]

경쇄 아미노산 서열은 표 7에 기재된 바와 같다:

[0082] [표 7]

예시적 경쇄 서열	
서열	확인자
DI VMTQSPDSLAVSLGERATINCKASQSVVDYDGD SYMHWYQQKPGQPPKLLIYAASILESGVP DRFSGSGSGTDFTLTITSSSLQAEDVAVYYCQQSNEDPRTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSD EQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSITLTLTKAD YEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	서열번호 51
DIQMTQTPSSLSASVGDRTVITCRASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIFYTSRLLHSGVPSRFS GSGSGTDYTLTITSSSLQPEDFATYYCQQGNLPLTFGGGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLK SGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSITLTLTKADYEKHK KVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	서열번호 52
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRLLRSGLPSRFS GSGSGTDYTLTITSSSLQPEDFATYYCQQGNLPTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLK SGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSITLTLTKADYEKHK KVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	서열번호 53
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRLLHSGVPSRFS GSGSGTDYTLTITSSSLQPEDFATYYCQQGYTLPTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLK SGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSITLTLTKADYEKHK KVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	서열번호 54

[0083]

[0084]

여기서, 상기 밑줄 친 아미노산은 CDR을 나타내고, 이탤릭체 아미노산은 불변 영역을 나타낸다.

[0085]

일부 구현예에서, 항-OX40 항체는 서열번호 41 또는 42에 따른 중쇄 아미노산 서열; 및 서열번호 51에 따른 경쇄 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-OX40 항체는 서열번호 43 또는 44에 따른 중쇄 아미노산 서열; 및 서열번호 52에 따른 경쇄 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-OX40 항체는 서열번호 45 또는 46에 따른 중쇄 아미노산 서열; 및 서열번호 53에 따른 경쇄 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-OX40 항체는 서열번호 47 또는 48에 따른 중쇄 아미노산 서열; 및 서열번호 54에 따른 경쇄 아미노산 서열을 포함한다.

[0086]

일부 구현예에서, 항-OX40 항체는 서열번호 41-48 중 어느 하나에 따른 중쇄 서열에 대해 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 93%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 중쇄 서열을 포함한다. 항-OX40 항체는 서열번호 41-48 중 어느 하나에 따른 중쇄 서열과 비교하여 최대 8개, 최대 7개, 최대 6개, 최대 5개, 최대 4개, 최대 3개 또는 최대 2개의 돌연변이를 갖는 중쇄 서열을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 항-OX40 항체는 서열번호 41-48 중 어느 하나에 따른 중쇄 서열과 비교하여 5개 이하, 4개 이하, 3개 이하 또는 2개 이하의 돌연변이를 갖는 중쇄 서열을 포함할 수 있다.

[0087]

일부 구현예에서, 항-OX40 항체는 서열번호 51-54 중 어느 하나에 따른 경쇄 서열에 대해 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 93%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 경쇄 서열을 포함한다. 항-OX40 항체는 서열번호 51-54 중 어느 하나에 따른 경쇄 서열과 비교하여 최대 8개, 최대 7개, 최대 6개, 최대 5개, 최대 4개, 최대 3개 또는 최대 2개의 돌연변이를 갖는 경쇄 서열을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 항-OX40 항체는 서열번호 51-54 중 어느 하나에 따른 경쇄 서열과 비교하여 5개 이하, 4개 이하, 3개 이하 또는 2개 이하의 돌연변이를 갖는 경쇄 서열을 포함할 수 있다.

[0088]

항-OX40 항체의 추가적인 번역 후 변형은 글리코실화를 포함할 수 있다. 일반적인 바이안테너리 복합체는 2개의 N-아세틸글루코사민(GlcNAc), 3개의 만노스, 및 α-6 만노스와 α-3 만노스에 β-1,2 결합되어 2개의 안테나를 형성하는 2개의 GlcNAc 잔기를 갖는 코어 구조로 구성될 수 있다. 하나 이상의 푸코스(Fuc), 갈락토스(Gal), 고 만노스 글리칸 Man-5 또는 Man-9, 이등분 GlcNAc 및 N-아세틸뉴라민산(NANA) 또는 N-글리콜릴뉴라민산(NGNA) 잔기를 포함하는 시알산이 코어에 부착될 수 있다. N-연결된 글리코폼은 G0(코어 바이안테너리 글리코실화 구조를 갖는 단백질), G0F(푸코실화된 G0), G0F GlcNAc, G1(하나의 갈락토스 잔기를 갖는 코어 글리코실화 구조를 갖는 단백질), G1F(푸코실화 G1), G2(2개의 갈락토스 잔기를 갖는 코어 글리코실화 구조를 갖는 단백질)

질) 및/또는 G2F(푸코실화 G2)를 포함할 수 있다.

- [0089] 일부 구현예에서, 항-OX40 항체는 시험관내 검정법에서 사람 OX40 (서열번호 1)을 결합하는 것에 대해 기준 항체와 경쟁한다. 일부 구현예에서, 항-OX40 항체는 사람 OX40을 발현하는 세포 상에서 사람 OX40을 결합하는 것에 대해 경쟁한다. 기준 항체는 본원에 기재된 임의의 항-OX40 항체일 수 있다. 일부 구현예에서, 상기 기준 항체는 표 4에 기재된 것에 따른 V_H 및 표 5에 기재된 것에 따른 V_L 을 갖는 항체이다. 특정 구현예에서, 상기 기준 항체는 Mu3726 V_H 및 Mu3726 V_L (“Mu3726”)을 포함하는 마우스 항체, Mu3738 V_H 및 Mu3738 V_L (“Mu3738”)을 포함하는 마우스 항체, Mu3739 V_H 및 Mu3739 V_L (“Mu3739”)을 포함하는 마우스 항체, 또는 Mu3741 V_H 및 Mu3741 V_L (“Mu3741”)을 포함하는 마우스 항체이다. 일부 구현예에서, 상기 기준 항체는 Mu3726, Mu3738, Mu3739, 또는 Mu3741의 사람화된 버전이다. 특정 구현예에서, 상기 기준 항체는 서열번호 41 또는 42에 따른 중쇄 및 서열번호 51에 따른 경쇄를 포함하는 사람화된 항체(“Hu3738”), 서열번호 43 또는 44에 따른 중쇄 및 서열번호 52에 따른 경쇄를 포함하는 사람화된 항체(“Hu3726”), 서열번호 45 또는 46에 따른 중쇄 및 서열번호 53에 따른 경쇄를 포함하는 사람화된 항체(“Hu3739”), 또는 서열번호 47 또는 48에 따른 중쇄 및 서열번호 54에 따른 경쇄를 포함하는 사람화된 항체(“Hu3741”)이다.
- [0090] 본원에 기재된 항-OX40 항체는 일반적으로 사람 OX40에 특이적으로 결합한다. 다른 종, 예를 들어, 몽키, 예를 들어, 사이노몰구스 몽키로부터의 OX40과의 결합에 대한 항체의 교차 반응성은 몽키 동물 모델에서 생물학적 활성을 시험할 수 있는 능력과 같은 이점을 제공할 수 있다. 상기 동물 모델 시험은 효능, 예를 들어 호의적인 약동학과 관련된 성질, 또는 안전성, 예를 들어 감소된 간 독성과 관련된 성질을 선택하기 위해 항-OX40 항체를 스크리닝하는데 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, 항-OX40 항체는 사람 OX40 뿐만 아니라 시노몰구스 OX40 (서열번호 2) (NCBI 기준 서열 XP005545179)에 결합한다. 일부 구현예에서, 항-OX40 항체는 마우스 OX40 (서열번호 3) (NCBI 기준 서열 NP037181)에 결합하지 않는다.
- [0091] 경쟁에 대한 검정은 방사능 물질 표지된 면역검정법 (RIA), 효소-결합 면역흡착 검정 (ELISA), 샌드위치 ELISA, 형광 활성화 세포 분류 (FACS) 검정 및 표면 플라즈몬 공명 검정을 포함하지만, 이에 한정되지 않는다.
- [0092] 표면 플라즈몬 공명 (SPR) 검정은 2개의 단백질, 예를 들어, 수용체와 항체, 예를 들어, 사람 OX40 수용체 및 항-OX40 항체 간의 결합 동역학의 직접적인 측정을 리포터 신호 또는 태그에 대한 필요 없이 가능하게 한다. 결합 친화도의 척도인 평형 해리 상수 K_D , 및 이의 2개의 성분- 결합 동역학 속도 상수, k_a ($M^{-1} \cdot sec^{-1}$) (결합 상수 k_{on} , 또는 “온 레이트(on rate)”) 및 k_d (sec^{-1}) (해리 상수, k_{off} , 또는 “오프 레이트”) 둘다 SPR을 사용하여 결정될 수 있다. 상기 상수는 하기의 수학적식에 의해 관련된다:
- [0093] $K_D = k_d / k_a$.
- [0094] 일부 구현예에서, 항-OX40 항체는 적어도 약 100 nM의 K_D 를 갖지만, 더 큰 친화도, 예를 들어, 적어도 약 90 nM, 80 nM, 70 nM, 60 nM, 50 nM, 40 nM, 30 nM, 25 nM, 20 nM, 15 nM, 10 nM, 7 nM, 6 nM, 5 nM, 4 nM, 3 nM, 2 nM, 1 nM, 0.1 nM, 0.01 nM 또는 훨씬 더 높은 친화도를 나타낼 수 있다. 일부 구현예에서, 항-OX40 항체는 약 1 pM 내지 약 100 nM 범위의 K_D 또는 이전의 임의의 값들 사이의 범위의 친화도, 예를 들어, 이에 제한되지 않지만 약 0.001 내지 10 nM, 0.001 내지 5 nM, 0.01 내지 100 nM, 0.01 내지 50 nM, 0.01 내지 10 nM, 0.01 내지 5 nM, 또는 약 0.01 내지 1 nM의 친화도를 갖는다.
- [0095] 일부 구현예에서, 항-OX40 항체는 약 $10 sec^{-1}$ 이하, 예를 들어, 약 1, 0.5, 0.2, 0.1, 0.05, 0.01, 0.005, 0.001 sec^{-1} 이하, 또는 심지어 보다 낮은 해리 상수 k_d 를 갖는다. 일부 구현예에서, 항-OX40 항체는 약 0.001 sec^{-1} 내지 약 $10 sec^{-1}$ 범위의 k_d 또는 이전의 임의의 값들 사이 범위의 k_d , 예를 들어, 이에 제한되지 않지만 약 0.01 내지 $10 sec^{-1}$, 0.001 내지 $0.5 sec^{-1}$, 0.001 내지 $0.2 sec^{-1}$, 0.001 내지 $0.1 sec^{-1}$, 0.01 내지 $1 sec^{-1}$, 0.001 내지 $0.05 sec^{-1}$, 또는 약 0.001 내지 $1 sec^{-1}$ 의 k_d 를 갖는다.
- [0096] 일부 구현예에서, 항-OX40 항체는 적어도 약 $10^4 M^{-1} \cdot sec^{-1}$, 예를 들어, 적어도 약 1×10^4 , 5×10^4 , 1×10^5 , 5×10^5 , 1×10^6 , 5×10^6 , $1 \times 10^7 M^{-1} \cdot sec^{-1}$, 또는 심지어 보다 큰 결합 상수 k_a 를 갖는다. 일부 구

현예에서, 항-OX40 항체는 약 $10^4 \text{ M}^{-1}\text{-sec}^{-1}$ 내지 약 $10^7 \text{ M}^{-1}\text{-sec}^{-1}$ 범위의 k_d 또는 이전의 임의의 값들 사이 범위의 k_a , 예를 들어, 이에 제한되지 않지만 약 5×10^4 내지 $1 \times 10^7 \text{ M}^{-1}\text{-sec}^{-1}$, 5×10^4 내지 $5 \times 10^6 \text{ M}^{-1}\text{-sec}^{-1}$, 또는 약 1×10^4 내지 $5 \times 10^6 \text{ M}^{-1}\text{-sec}^{-1}$ 의 k_a 를 갖는다.

[0097] 본원 개시내용의 항-OX40 항체는 본원에 기재된 예시적인 항-OX40 항체 중 어느 하나에 대해 측정된 결합 동역학 상수 주변 범위의 K_D , k_d , 또는 k_a 를 나타낼 수 있다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 항-OX40 항체는 Hu3738, Hu3726, Hu3739, 및 Hu3741 중 어느 하나의 k_d 보다 약 0.01 내지 약 100-배, 예를 들어, 약 0.1 내지 약 10-배, 또는 약 0.5 내지 약 5-배 범위의 해리 상수 k_d 를 갖는다. 일부 구현예에서, 항-OX40 항체는 Hu3738, Hu3726, Hu3739, 및 Hu3741 중 어느 하나의 k_a 보다 약 0.01 내지 약 100-배, 예를 들어, 약 0.1 내지 약 10-배, 또는 약 0.5 내지 약 5-배 범위의 결합 상수 k_a 를 갖는다.

[0098] 기준 항체와 시험 항체 사이의 항체 경쟁 분석을 수행할 때 (중 또는 이소타입에 상관없이), 형광단, 바이오틴 또는 효소 (또는 심지어 방사능) 표지와 같은 검출가능한 표지로 기준물을 먼저 표지하여, 후속 동정을 가능하게 할 수 있다. 이 경우, 사람 OX40을 발현하는 세포가 표지되지않은 시험 항체로 항온처리되고, 표지된 기준 항체가 첨가되고, 결합된 표지의 강도가 측정된다. 시험 항체가 중첩 에피토프에 결합함으로써 표지된 기준 항체와 경쟁하는 경우, 시험 항체없이 수행된 대조군 반응과 비교하여 강도가 감소될 것이다.

[0099] 이러한 검정의 특정 구현예에서, 검정 조건 (예를 들어, 세포의 특정 밀도) 하에서 최대 결합의 80%를 생성하는 표지된 기준 항체의 농도("conc_{80%}")가 먼저 측정되고, 표지되지 않은 시험 항체의 10X conc_{80%} 및 표지된 기준 항체의 conc_{80%}를 사용하여 경쟁 검정이 수행된다.

[0100] 억제제는 하기의 수학적식에 따라 계산되는 억제 상수 또는 K_i 로서 표현될 수 있다:

$$[0101] K_i = IC_{50} / (1 + [\text{기준 Ab 농도}] / K_d),$$

[0102] 여기서, IC_{50} 은 기준 항체의 결합에서 50% 감소를 생성하는 시험 항체의 농도이고 K_d 는 사람 OX40에 대한 이의 친화도의 척도인 기준 항체의 해리 상수이다. 본원에 기재된 항-OX40 항체와 경쟁하는 항체는 본원에 기재된 검정 조건 하에서 10 pM 내지 10 nM의 K_i 를 가질 수 있다.

[0103] 다양한 구현예에서, 시험 항체는 사용된 특정 검정 조건 하에서 최대 결합의 80%인 기준 항체 농도에서, 및 기준 항체 농도보다 10배 높은 시험 항체 농도에서, 기준 항체의 결합을 적어도 약 20% 또는 그 이상, 예를 들어 적어도 약 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95% 또는 그 이상 감소시키는 경우, 또는 상기 값들 중 임의의 값 사이의 퍼센트 범위까지 감소시키는 경우, 기준 항체와 경쟁하는 것으로 고려된다.

[0104] 항체가 사람 OX40에 결합하는 것에 대해 본원에 기재된 기준 항체와 경쟁할지의 여부를 평가하기 위해 유용한 특정 검정 및 검정 조건은 섹션 8.1.4에 제공된다.

[0105] 일부 구현예에서, 본원의 개시내용의 항-OX40 항체는 사람 OX40(서열번호 1)을 활성화시킨다. OX40 수용체 활성화는 다수의 기전에 의해, 예를 들어, OX40 수용체에 대한 리간드 유사 활성을 부여함에 의해 일어날 수 있다. 상기 경우에, 항-OX40 항체는 OX40 수용체에 결합하는 것에 대해 사람 OX40 리간드(OX40L, CD252; UniProtKB/Swiss-Prot Code P23510.1) (서열번호 4)와 경쟁한다.

[0106] 본원 개시내용의 항-OX40 항체는 일반적으로 가교 결합의 존재하에 OX40 수용체를 활성화시킬 수 있다. 항-OX40 항체가 가교 결합의 존재하에 OX40 수용체, 예를 들어, 사람 OX40 수용체 (서열번호 1)를 활성화시킬 수 있는지를 평가하기 위해 유용한 특정 검정 및 검정 조건은 섹션 8.1.8에 제공된다. 일부 구현예에서, 항-OX40 항체는 가교 결합의 존재하에 약 1 pM 내지 약 500 nM, 예를 들어, 이에 제한되지 않지만 약 0.01 내지 약 300 nM, 약 0.01 내지 약 100 nM, 약 0.01 내지 약 10 nM, 약 0.01 내지 약 1 nM, 약 0.1 내지 약 300 nM, 약 0.1 nM 내지 약 100 nM, 약 1 nM 내지 약 100 nM, 또는 약 0.1 nM 내지 약 100 nM의 EC_{50} 으로 사람 OX40 수용체를 활성화시킨다. 일부 구현예에서, 100 $\mu\text{g/mL}$ 에서 항-OX40 항체는 가교 결합의 존재하에 사람 OX40 수용체를, 항-OX40 항체 부재하의 사람 OX40 수용체의 활성과 비교하여 적어도 약 3-배, 예를 들어, 약 3 내지 약 1000, 예를 들어, 약 5, 10, 15, 20, 30, 40, 50, 60, 80, 100, 200, 400, 500, 700, 800 또는 약 1000-배 높은 활성

으로 활성화시킬 수 있다.

[0107] 가교-결합은 외인성 가교 결합체의 부가를 포함하는 다수의 방법에 의해 제공될 수 있고, 예를 들어, 사람 또는 사람화된 항체의 중쇄, 경쇄 또는 가변 영역에 특이적인 항체 또는 항체 F(ab')₂ 단편에 의해; 가용성 또는 고정화된 단백질 A에 의해; Fc 수용체 형질감염된 세포주에 의해; 내인성 Fc 수용체 발현 세포주에 의해; 대상 항체를 플라스틱 표면으로 직접 코팅시킴에 의해; 외인성 가교 결합 항체 또는 Fc 수용체로 코팅된 플라스틱 표면에 의해 또는 상기 중 어느 하나에 접합된 비드에 의해 제공될 수 있다. 예시적 예에서, 대상 항체는 바이오틴과 같은 단백질에 접합시킬 수 있고, 가용성 또는 고정화된 아비딘 또는 스트렙타비딘은 가교 결합체로서 사용된다. 또 다른 예에서, 생체내 사람 림프절에서, 항-OX40 항체로의 결합후 OX40의 활성화는 내인성 Fc γ R4 항원-제공 세포에 의해 제공되는 수용체 가교 결합 후 일어나는 것으로 예측된다.

[0108] 일부 구현예에서, 항-OX40 항체는 가교 결합의 부재하에 사람 OX40 수용체에 결합하고 이를 활성화시킨다. 일부 구현예에서, 항-OX40 항체는 OX40L, 예를 들어, 사람 OX40L (서열번호 4)의 부재하에 OX40 수용체, 예를 들어, 사람 OX40 수용체 (서열번호 1)를 활성화시킨다. 항-OX40 항체가 가교 결합 부재하에 OX40 수용체를 활성화시킬 수 있는지를 평가하기 위해 유용한 특정 검정 및 검정 조건은 섹션 8.1.8에 제공된다. 일부 구현예에서, 항-OX40 항체는 가교 결합의 부재하에 약 1 pM 내지 약 500 nM, 예를 들어, 이에 제한되지 않지만 약 0.01 내지 약 300 nM, 약 0.01 내지 약 100 nM, 약 0.1 내지 약 300 nM, 약 0.1 nM 내지 약 100 nM, 약 1 nM 내지 약 100 nM, 약 0.1 nM 내지 약 100 nM, 약 1 nM 내지 약 300 nM, 또는 약 1 내지 약 100 nM, 약 1 내지 약 50nM, 또는 약 10 내지 약 100nM의 EC₅₀으로 사람 OX40 수용체를 활성화시킨다. 일부 구현예에서, 100 μ g/mL에서 항-OX40 항체는 가교 결합의 부재하에 사람 OX40 수용체를, 동등한 양의 이소타입 항체가 투여된 사람 OX40 수용체의 활성화와 비교하여 적어도 약 5-배, 예를 들어, 약 5 내지 약 1000, 예를 들어, 약 5, 10, 15, 20, 30, 40, 50, 60, 80, 100, 200, 400, 500, 700, 800 또는 약 1000-배 높은 활성으로 활성화시킬 수 있다. 일부 구현예에서, 10 μ g/mL에서 항-OX40 항체는 가교 결합의 부재하에 사람 OX40 수용체를, 동등한 양의 이소타입 항체가 투여된 사람 OX40 수용체의 활성화와 비교하여 적어도 약 3-배, 예를 들어, 약 3 내지 약 300, 예를 들어, 약 5, 6, 8, 10, 12, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 60, 80, 100, 200 또는 약 300-배 높은 활성으로 활성화시킬 수 있다. 일부 구현예에서, 1 μ g/mL에서 항-OX40 항체는 가교 결합의 부재하에 사람 OX40 수용체를, 동등한 양의 이소타입 항체가 투여된 사람 OX40 수용체의 활성화와 비교하여 적어도 약 3-배, 예를 들어, 약 3 내지 약 150, 예를 들어, 약 3, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 12, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 60, 80, 100 또는 약 150-배 높은 활성으로 활성화시킬 수 있다.

[0109] 일부 구현예에서, 항-OX40 항체는 가교 결합 부재와 비교하여 가교 결합 존재하에 보다 높은 수준으로 OX40 수용체, 예를 들어, 사람 OX40 수용체 (서열번호 1)을 활성화시킨다. 항-OX40 항체가 가교 결합 부재하에 OX40 수용체를 활성화시킬 수 있는지를 결정하기 위해 유용한 특정 검정 및 검정 조건은 섹션 8.1.8에 제공된다. 활성 수준은 예를 들어, EC₅₀ 및/또는 관찰된 최대 활성화 측면에서 측정될 수 있다. 일부 구현예에서, 100 μ g/mL에서 항-OX40 항체는 가교 결합 부재하에 OX40 수용체, 예를 들어, 사람 OX40 수용체 (서열번호 1)를 섹션 8.1.8.에 따른 검정에서 가교 결합의 존재하의 NF- κ B 활성화와 비교하여 NF- κ B 활성을 약 20% 내지 약 95%, 예를 들어, 약 25%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 또는 약 90%로 활성화시킨다.

[0110] 일부 구현예에서, 항-OX40 항체는 가교 결합의 부재하에 약 0.1 pM 내지 약 500 nM, 예를 들어, 이에 제한되지 않지만 약 1nM 내지 약 100 nM, 약 0.1 nM 내지 약 100 nM, 약 1 내지 약 300 nM, 약 1 내지 약 100 nM, 약 1 내지 50nM, 또는 약 10 내지 약 100 nM의 EC₅₀으로 사람 OX40 수용체를 활성화시킨다. 일부 구현예에서, 10 μ g/mL에서 항-OX40 항체는 가교 결합의 부재하에 사람 OX40 수용체를, 동등한 양의 이소타입 항체가 투여된 사람 OX40 수용체의 활성화와 비교하여 적어도 약 3-배, 예를 들어, 약 3 내지 약 300, 예를 들어, 약 3, 5, 6, 8, 10, 12, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 60, 80, 100, 200 또는 약 300-배 높은 활성으로 활성화시킬 수 있다. 일부 구현예에서, 항-OX40 항체는 가교 결합의 존재하에 섹션 8.1.8에 따른 검정에서 약 1 pM 내지 약 300 nM, 예를 들어, 이에 제한되지 않지만 약 0.01 내지 약 300 nM, 약 0.01 내지 약 100 nM, 약 0.01 내지 약 10 nM, 약 0.01 내지 약 1 nM, 약 0.1 내지 약 300 nM, 약 0.1 nM 내지 약 100 nM, 약 1 nM 내지 약 100 nM, 또는 약 0.1 nM 내지 약 100 nM의 EC₅₀으로 사람 OX40 수용체를 활성화시킨다. 일부 상기 구현예에서, 항-OX40 항체는 가교 결합의 존재하에 사람 OX40 수용체를 보다 낮은 EC₅₀에서, 예를 들어, 섹션 8.1.8에 따른 검정에서 미국 공개 번호 제2015/0307617호에 기재된 항체 1A7의 EC₅₀과 비교하여 약 1.5 내지 약 100 배, 예를 들어, 약 1.5 내지 약 10-배, 예를 들어, 약 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 약 10-배 낮은 EC₅₀ 으로 활성화시킬 수 있다.

- [0111] 본 발명의 항-OX40 항체는 가교 결합의 부재하에 사람 OX40 수용체를 섹션 8.1.8에 따른 검정에서 약 1nM 내지 약 100nM의 EC₅₀으로 활성화시킬 수 있고 가교 결합의 존재하에 사람 OX40 수용체를 섹션 8.1.8에 따른 검정에서 미국 공개 공보 제2015/0307617호에 기재된 항체 1A7의 EC₅₀과 비교하여 보다 낮은 EC₅₀ 으로, 예를 들어, 약 1.5 내지 약 10배 낮은 EC₅₀으로 활성화시킬 수 있다. 상기된 성질을 갖는 예시적 항-OX40 항체는 본원의 실시 예 2 내지 8에 기재된 Mu3738 및 Hu3738을 포함한다.
- [0112] 일반적으로, 항-OX40 항체를 사용한 치료시 OX40 활성화는 사이토킨 생성(예를 들어, 인터페론-감마(IFN- γ)) 및/또는 세포 증식, 예를 들어, CD4+ T 세포 증식에서의 증가와 같은 신호 전달을 유도한다. 일부 구현예에서, 1 μ g/mL의 항-OX40 항체를 사용한 처리 후 IFN- γ 생성의 증가는 동등한 양의 이소타입 항체를 사용한 처리 후 IFN- γ 생성 수준의 약 1.5 내지 약 50배, 예를 들어, 약 1.5, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 또는 약 50배이다. 일부 구현예에서, 1 μ g/mL의 항-OX40 항체를 사용한 처리 후 CD4+ T 세포 증식의 증가는 동등한 양의 이소타입 항체를 사용한 처리 후 CD4+ T 세포 증식 수준의 약 1.5 내지 약 20배, 예를 들어, 약 1.5, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 15 또는 약 20배이다. 사이토킨 수준을 결정하거나 세포 증식 수준을 결정하기 위한 검정은 당업계에 공지되어 있다. IFN- γ 생성 및/또는 CD4+ T 세포 증식을 위한 특정 검정 및 검정 조건은 본원에서 섹션 8.1.12에 제공된다.
- [0113] **7.4. 항-OX40 항체를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드, 발현 시스템 및 이들의 제조 방법**
- [0114] 본원 개시내용은 항-OX40 항체에 대한 면역글로불린 경쇄 및 중쇄 유전자를 암호화하는 핵산 분자, 상기 핵산을 포함하는 벡터, 및 본원 개시내용의 항-OX40 항체를 생산할 수 있는 숙주 세포를 포함한다.
- [0115] 본원 개시내용의 항-OX40 항체는 숙주 세포에서 면역글로불린 경쇄 및 중쇄 유전자의 재조합 발현에 의해 제조될 수 있다. 재조합으로 항체를 발현하기 위해, 숙주 세포는 항체의 면역글로불린 경쇄 및 중쇄를 암호화하는 DNA 단편을 갖는 하나 이상의 재조합 발현 벡터로 형질감염시켜 상기 경쇄 및 중쇄가 숙주 세포에서 발현되도록 하고, 임의로 숙주 세포가 배양되는 배지로 분비되도록 하고 상기 배지로부터 항체가 회수될 수 있다. 표준 재조합 DNA 방법을 사용하여 항체 중쇄 및 경쇄 유전자를 획득하고, 이들 유전자를 재조합 발현 벡터 내로 혼입시키고, 벡터를 숙주 세포, 예컨대, 문헌[참조: Molecular Cloning; A Laboratory Manual, Second Edition(Sambrook, Fritsch and Maniatis (eds), Cold Spring Harbor, N. Y., 1989), Current Protocols in Molecular Biology (Ausubel, F.M. *et al.*, eds., Greene Publishing Associates, 1989) 및 미국 특허 제 4,816,397호]에 기재된 것들과 같은 숙주 세포에 도입한다.
- [0116] 상기 항-OX40 항체를 암호화하는 핵산을 생성하기 위해, 경쇄 및 중쇄 가변 영역을 암호화하는 DNA 단편을 먼저 획득한다. 이들 DNA는 예를 들어, 증합효소 연쇄 반응 (PCR)을 사용하여 경쇄 및 중쇄 가변 서열을 암호화하는 생식계열 DNA 또는 cDNA의 증폭 및 변형에 의해 획득될 수 있다. 사람 중쇄 및 경쇄 가변 영역 유전자에 대한 생식계열 DNA 서열은 당업계에 공지되어 있다(문헌참조: 예를 들어, the "VBASE" human germline sequence database; see also Kabat, E. A. *et al.*, 1991, Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242; Tomlinson *et al.*, 1992, J. Mol. Biol. 22T:116-198; and Cox *et al.*, 1994, Eur. J. Immunol. 24:827-836).
- [0117] 일단 항-OX40 항체-관련 V_H 및 V_L 세그먼트를 암호화하는 DNA 단편이 획득되면, 이들 DNA 단편은 표준 재조합 DNA 기술, 예를 들어 가변 영역 유전자를 전장 항체 쇄 유전자로, Fab 단편 유전자로, 또는 scFv 유전자로 전환시키기 위해, 추가 조작될 수 있다. 이들 조작에서, V_L- 또는 V_H-암호화 DNA 단편은 또 다른 단백질, 예컨대 항체 불변 영역 또는 가요성 링커를 암호화하는 또 다른 DNA 단편에 작동가능하게 연결된다. 이와 관련하여 사용되는 바와 같이 용어 "작동가능하게 연결된"은, 2개의 DNA 단편에 의해 암호화된 아미노산 서열이 골격내(in-frame) 유지되도록 2개의 DNA 단편이 접합됨을 의미하는 것으로 의도된다.
- [0118] V_H 영역을 암호화하는 단리된 DNA는, V_H-암호화 DNA를 중쇄 불변 영역(CH1, CH2, CH3 및, 선택적으로 CH4)을 암호화하는 또 다른 DNA 분자에 작동가능하게 연결함으로써 전장 중쇄 유전자로 전환될 수 있다. 사람 중쇄 불변 영역 유전자의 서열은 당업계에 공지되어 있고(예를 들어, Kabat, E.A., 등, 1991, Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242 참조), 이들 영역을 포함하는 DNA 단편은 표준 PCR 증폭에 의해 획득될 수 있다. 중쇄 불변 영역은 IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄, IgA, IgE, IgM 또는 IgD 불변 영역일 수 있지만, 특정 구현예에서는 IgG₁ 또는 IgG₄이다. Fab 단편 중쇄 유전자에 대해, V_H-암호화 DNA는 단지 중쇄 CH1 불변 영역을 암호화하는 또 다른 DNA 분

자에 작동가능하게 연결될 수 있다.

- [0119] V_L 영역을 암호화하는 단리된 DNA는, V_L -암호화 DNA를 경쇄 불변 영역, CL을 암호화하는 또 다른 DNA 분자에 작동가능하게 연결함으로써 전장 경쇄 유전자(뿐만 아니라 Fab 경쇄 유전자)로 전환될 수 있다. 사람 경쇄 불변 영역 유전자의 서열은 당업계에 공지되어 있으며(예를 들어, Kabat, 등, 1991, Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242 참조), 이들 영역을 포함하는 DNA 단편은 표준 PCR 증폭에 의해 수득될 수 있다. 경쇄 불변 영역은 카파 또는 람다 불변 영역일 수 있지만, 특정 구현예에서는 카파 불변 영역이다. scFv 유전자를 생성하기 위해, V_H 및 V_L -암호화 DNA 단편은 가요성 링커를 암호화하는 또다른 단편, 예를 들어 아미노산 서열 $(Gly_4-Ser)_3$ (서열번호 60)을 암호화하는 또 다른 단편에 작동가능하게 연결되어, V_H 및 V_L 서열은 가요성 링커에 의해 결합된 V_L 및 V_H 영역을 갖는 연속하는 단일쇄 단백질로서 발현될 수 있다(예를 들어, Bird 등, 1988, Science 242:423-426; Huston 등, 1988, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883; McCafferty 등, 1990, Nature 348:552-554 참조).
- [0120] 본원 개시내용의 항-OX40 항체를 발현시키기 위해, 유전자가 전사 및 번역 제어 서열에 작동가능하게 연결되도록, 전술한 바와 같이 수득된 부분 또는 전장 경쇄 및 중쇄를 암호화하는 DNA가 발현 벡터에 삽입된다. 이러한 맥락에서, 용어 "작동가능하게 연결된"은 벡터 내의 전사 및 번역 제어 서열이 항체 유전자의 전사 및 번역을 조절하는 그들의 의도된 기능을 제공하도록 항체 유전자가 벡터 내로 결합되는 것을 의미하는 것으로 의도된다. 발현 벡터 및 발현 제어 서열은 사용된 발현 숙주 세포와 양립할 수 있도록 선택된다. 항체 경쇄 유전자 및 항체 중쇄 유전자는 별개의 벡터에 삽입될 수 있거나, 보다 전형적으로 유전자 둘다는 동일한 발현 벡터에 삽입된다.
- [0121] 항체 유전자는 표준 방법 (예를 들어, 항체 유전자 단편 및 벡터상의 상보적 제한 부위의 연결, 또는 제한 부위가 존재하지 않는 경우 평활 말단 연결)에 의해 발현 벡터에 삽입된다. 항-OX40 항체-관련 경쇄 또는 중쇄 서열을 삽입하기 전에, 발현 벡터는 이미 항체 불변 영역 서열을 보유할 수 있다. 예를 들어, 항-OX40 모노클로날 항체-관련 V_H 및 V_L 서열을 전장 항체 유전자로 전환시키는 하나의 접근법은 V_H 세그먼트가 벡터 내의 CH 세그먼트(들)에 작동가능하게 연결되고, V_L 세그먼트가 벡터 내의 CL 세그먼트에 작동가능하게 연결되도록, 이들을 각각 중쇄 불변 및 경쇄 불변 영역을 이미 암호화하는 발현 벡터 내로 삽입하는 것이다. 부가적으로 또는 대안적으로, 재조합 발현 벡터는 숙주 세포로부터 항체 쇄의 분비를 용이하게 하는 신호 펩타이드를 암호화할 수 있다. 항체 쇄 유전자는 신호 펩타이드가 항체 쇄 유전자의 아미노 말단에 골격내(in-frame) 연결되도록 벡터에 클로닝될 수 있다. 신호 펩타이드는 번역글로불린 신호 펩타이드 또는 이중 신호 펩타이드(즉, 비-번역글로불린 단백질로부터의 신호 펩타이드)일 수 있다.
- [0122] 항체 쇄 유전자 이외에, 본원 개시내용의 재조합 발현 벡터는 숙주 세포에서 항체 쇄 유전자의 발현을 제어하는 조절 서열을 보유한다. 용어 "조절 서열"은 프로모터, 인핸서 및 항체 쇄 유전자의 전사 또는 번역을 제어하는 다른 발현 제어 요소(예를 들어, 폴리아데닐화 신호)를 포함하는 것으로 의도된다. 상기 조절 서열은 예를 들어, 문헌(Goeddel, Gene Expression Technology: Methods in Enzymology 185, Academic Press, San Diego, CA, 1990)에 기재되어 있다. 조절 서열의 선택을 포함하는 발현 벡터의 설계가 형질전환될 숙주 세포의 선택, 원하는 단백질의 발현 수준 등과 같은 인자에 좌우될 수 있는 것이 해당 분야의 숙련자에 의해 인식될 것이다. 포유류 숙주 세포 발현을 위해 적합한 조절 서열은 포유류 세포에서 높은 수준의 단백질 발현을 지시하는 바이러스 요소, 예컨대, 사이토메갈로바이러스(CMV)(예컨대 CMV 프로모터/인핸서), 유인원 바이러스 40(SV40)(예컨대 SV40 프로모터/인핸서), 아데노바이러스(예를 들어, 아데노바이러스 주요 후기 프로모터(AdMLP)) 및 폴리오마로부터 유래된 프로모터 및/또는 인핸서를 포함한다. 바이러스 조절 요소 및 그의 서열의 추가 설명을 위해, 예를 들어 Stinski의 미국 특허 제5,168,062호, Bell 등의 미국 특허 제4,510,245호, 및 Schaffner 등의 미국 특허 제4,968,615호를 참조한다.
- [0123] 항체 쇄 유전자 및 조절 서열 이외에, 본원 개시내용의 재조합 발현 벡터는 숙주 세포내 벡터의 복제를 조절하는 서열(예를 들어, 복제 오리진) 및 선별 마커 유전자와 같은 추가 서열을 보유할 수 있다. 선별 마커 유전자는 벡터가 도입된 숙주 세포의 선택을 용이하게 한다(예를 들어, Axel 등의 미국 특허 제4,399,216호; 제4,634,665호; 및 제5,179,017호를 참조). 예를 들어, 전형적으로 선별 마커 유전자는 벡터가 도입된 숙주 세포에서 G418, 하이그로마이신 또는 메토티렉세이트와 같은 약물에 대한 내성을 부여한다. 적합한 선별 마커 유전자는 디하이드로폴레이트 리덕타제 (DHFR) 유전자(메토티렉세이트 선택/증폭을 갖는 DHFR^r 숙주 세포에 사용)

및 네오 유전자 (G418 선별)를 포함한다. 경쇄 및 중쇄의 발현을 위해, 중쇄 및 경쇄를 암호화하는 발현 벡터 (들)이 표준 기술에 의해 숙주 세포 내로 형질감염된다. 용어 "형질감염"의 다양한 형태는 외인성 DNA를 원핵 또는 진핵 숙주 세포로 도입하기 위해 일반적으로 이용되는 광범위한 기술, 예를 들어, 전기천공, 리포펙션, 인산-칼슘 침전, DEAE-덱스트란 형질감염 등을 포함하는 것으로 의도된다.

[0124] 원핵 또는 진핵 숙주 세포에서 본원 개시내용의 항-OX40 항체를 발현시킬 수 있다. 특정 구현예에서, 항체의 발현은 적절하게 폴딩되고 면역학적으로 활성인 항체의 최적 분비의 진핵 세포, 예를 들어, 포유동물 숙주 세포에서 수행된다. 본원 개시내용의 재조합 항체를 발현하기 위한 예시적인 포유동물 숙주 세포는 차이나이즈 햄스터 난소(CHO 세포)(예를 들어, Kaufman 및 Sharp, 1982, Mol. Biol. 159:601-621에 기재된 바와 같은 DHFR 선별 마커와 함께 사용된, Urlaub and Chasin, 1980, Proc. Sci. Acad. Sci. USA 77:4216-4220에 기재된 DHFR-CHO 세포 포함), NSO 골수종 세포, COS 세포 및 SP2 세포를 포함한다. 항체 유전자를 암호화하는 재조합 발현 벡터를 포유동물 숙주 세포로 도입하는 경우, 항체는 숙주 세포에서 항체의 발현 또는, 숙주 세포가 성장하는 배양 배지로의 항체의 분비를 허용하기에 충분한 기간 동안 숙주 세포를 배양함으로써 생성된다. 항체는 표준 단백질 정제 방법을 사용하여 배양 배지로부터 회수될 수 있다. 숙주 세포는 또한 Fab 단편 또는 scFv 분자와 같은, 항체의 항-OX40 결합 단편을 생성하기 위해 사용될 수 있다. 상기 절차에서의 변형이 본원 개시내용의 범위 내에 있음이 이해될 것이다. 예를 들어, 본원 개시 내용의 항-OX40 항체의 경쇄 또는 중쇄(둘 다는 아님)를 암호화하는 DNA에 의해 숙주 세포를 형질감염시키는 것이 바람직할 수 있다.

[0125] 또한, 재조합 DNA 기술을 이용하여 사람 OX40에 대한 결합에 필수적이지 않은 경쇄 및 중쇄 중의 어느 하나 또는 둘 다를 암호화하는 DNA 중 일부 또는 모두를 제거할 수 있다. 상기 절두된(truncated) DNA 분자로부터 발현된 분자가 또한 본원 개시내용의 항체에 포함된다.

[0126] 본원 개시내용의 항-OX40 항체의 재조합 발현을 위해, 숙주 세포는 본원 개시내용의 2개의 발현 벡터, 중쇄 유래 폴리펩타이드를 암호화하는 제1 벡터 및 경쇄 유래 폴리펩타이드를 암호화하는 제2 벡터로 동시-형질감염될 수 있다. 2개 벡터는 동일한 선별 마커를 포함할 수 있거나, 이들은 각각 별도의 선별 마커를 포함할 수 있다. 대안적으로, 중쇄 및 경쇄 폴리펩타이드 둘 다를 암호화하는 단일 벡터가 사용될 수 있다.

[0127] 일단 항-OX40 항체의 하나 이상의 부분을 암호화하는 핵산이 수득되면, 추가의 변경 또는 돌연변이를 암호화 서열 내로 도입하여, 예를 들어, 상이한 CDR 서열을 갖는 항체, Fc 수용체에 대한 친화성이 감소된 항체 또는 상이한 하위부류의 항체를 암호화하는 핵산을 생성할 수 있다.

[0128] 본원 개시내용의 항-OX40 항체는 또한 화학 합성(예를 들어, Solid Phase Peptide Synthesis, 2nd ed., 1984 The Pierce Chemical Co., Rockford, Ill.에 기재된 방법에 의해) 제조될 수 있다. 변이체 항체는 또한 세포-부재 플랫폼을 사용하여 생성될 수 있다(문헌참조: 예를 들어, Chu *et al.*, Biochemia No. 2, 2001 (Roche Molecular Biologicals) and Murray *et al.*, 2013, Current Opinion in Chemical Biology, 17:420-426).

[0129] 일단 본원 개시내용의 항-OX40 항체가 재조합 발현에 의해 생성되면, 면역글로불린 분자의 정제를 위한 당업계에 공지된 임의의 방법, 예를 들어 크로마토그래피(예를 들어, 이온 교환, 친화도 및 사이징 컬럼 크로마토그래피), 원심분리, 분별 용해도, 또는 단백질 정제를 위한 임의의 다른 표준 기술에 의해 정제될 수 있다. 또한, 본 개시 내용의 항-OX40 항체는 정제를 용이하게 하기 위해 본원에 기술된 또는 그렇지 않으면 당업계에 공지된 이중 폴리펩타이드 서열에 융합될 수 있다.

[0130] 일단 단리된 경우, 항-OX40 항체는 원한다면 예를 들어, 고성능 액체 크로마토그래피(예를 들어, Fisher, Laboratory Techniques In Biochemistry And Molecular Biology, Work and Burdon, eds., Elsevier, 1980 참조), 또는 Superdex™ 75 컬럼(Pharmacia Biotech AB, Uppsala, Sweden) 상의 겔 여과 크로마토그래피에 의해 추가 정제될 수 있다.

[0131] **7.5. 약제학적 조성물**

[0132] 본원에 기재된 항-OX40 항체는 항체 및 하나 이상의 담체, 부형제 및/또는 희석제(이 모두는 본원에서 “담체”로서 언급된다), 즉, 완충제, 안정화제, 보존제, 등장화제(isotonifier), 비-이온 세제, 항산화제, 및 다른 기타 부가제를 포함하는 조성물 형태로 존재할 수 있다. 문헌[Remington's Pharmaceutical Sciences, 16th edition (Osol, ed. 1980)]을 참조한다. 상기 조성물은 수의과 용도 또는 사람에서의 약제학적 용도와 같은 특정 용도를 위해 제형화될 수 있다. 조성물의 형태(예를 들어, 건조 분말, 액체 제형 등) 및 사용되는 담체는 항체의 의도된 용도 및 치료 용도에 따른 투여 방식에 좌우될 것이다.

- [0133] 치료학적 용도를 위해, 조성물은 약제학적으로 허용되는 담체를 포함하는 멸균된 약제학적 조성물의 일부로서 공급될 수 있다. 이러한 조성물은 (환자에게 이를 투여하는 소정의 방법에 의존하여) 임의의 적절한 형태로 존재할 수 있다. 약제학적 조성물은 환자에게 다양한 경로에 의해, 예컨대, 정맥내, 종양내, 또는 척수강내로 투여될 수 있다. 임의의 특정 경우에서 투여에 가장 적합한 경로는 특정 항체, 대상체, 및 질환의 성질 및 중증도 및 대상체의 신체 상태에 따라 달라질 것이다. 전형적으로, 약제학적 조성물은 정맥내로 투여된다.
- [0134] 약제학적 조성물은 용량 당 본원에 기재된 소정량의 항-OX40 항체를 함유하는 단위 투여 형태로 편리하게 제공될 수 있다. 단위 용량에 포함된 항-OX40 항체의 양은 당업계에 널리 공지된 다른 인자뿐만 아니라 치료되는 질환에 좌우될 것이다. 이러한 단위 투여 형태는 단일 투여에 적합한 양의 항체를 함유하는 동결건조 분말의 형태, 또는 액체의 형태일 수 있다. 건조 분말 단위 투여 형태는 주사기, 적당한 양의 담체 및/또는 투여에 유용한 기타 성분과 함께 키트에 패키징될 수 있다. 액체 형태의 단위 투여 형태는 단일 투여에 적합한 양의 항-OX40 항체가 사전-충진된 주사기의 형태로 편리하게 공급될 수 있다.
- [0135] 약제학적 조성물은 또한 다중 투여에 적합한 양의 항-OX40 항체를 함유하는 벌크 형태로 공급될 수 있다.
- [0136] 약제학적 조성물은 목적하는 정도의 순도를 갖는 항체를 당업계에서 전형적으로 사용되는 임의의 약제학적으로 허용되는 담체와 혼합함에 의해 동결건조된 제형 또는 수용액으로서 저장을 위해 제조될 수 있다. 이러한 첨가제는 사용된 용량 및 농도에서 수용자에게 무독성이어야 한다.
- [0137] 예를 들어, 정맥내 투여를 위해, 상기 조성물은 멸균 수 또는 주사 또는 주입에 적합한 다른 용액 (예를 들어, 0.9% 식염수, 링거액, 락테이티드 링거액 등)으로 재구성할 때, 상기 수성 조성물을 제공하는 동결건조된 분말의 형태일 수 있다.
- [0138] **7.6. 사용 방법**
- [0139] **7.6.1. 치료학적 이득**
- [0140] 본원에서 제공된 데이터는 개시된 항-OX40 항체가 암 세포의 존재하에 OX40 수용체를 활성화시키고 생체내 암에 대해 강력한 항암 활성을 발휘한다는 것을 입증한다. 따라서, 항-OX40 항체, 및/또는 상기 항-OX40 항체를 포함하는 약제학적 조성물은 암을 치료하기 위해 치료학적으로 사용될 수 있다.
- [0141] 일부 구현예에서, 상기 암은 고형 종양이다. 항-OX40 항체로 치료될 수 있는 고형 종양은 방광암, 유방암(예를 들어, 3중 음성 유방암), 두경부암, 신장암(예를 들어, 신장 세포 암종), 간암(예를 들어, 간세포 암종, 담도암), 폐암(예를 들어, 비-소세포 폐암, 중피종, 소세포 폐암), 흑색종 (예를 들어, 절개될 수 없거나 전이성 암종, 진행형 악성 흑색종), 피부암(예를 들어, 메르켈 세포 암종), 난소암, 위암, 및 DNA 미스매치 복구 결핍 증거를 갖는 종양을 포함한다. 상기 암은 OX40-발현 세포를 함유하는 종양으로 구성될 수 있거나; 일부가 OX40-발현 세포를 함유하고 일부가 함유하지 않는 종양으로 구성될 수 있거나; OX40-발현 세포가 없는 종양으로 구성될 수 있다. 암은 새로 진단되어 치료에 무반응일 수 있거나, 재발하거나, 불응성이거나, 재발 및 불응성이거나, 전이성 형태의 고형 종양일 수 있다. 일부 구현예에서, 고형 종양은 PD-1 또는 PD-L1 표적화제에 무반응이다. 다른 구현예에서, 고형 종양은 PD-1 또는 PD-L1 표적화제를 사용한 치료 후 재발 또는 불응성이다. 일부 구현예에서, 고형 종양은 방광암, 유방암, 두경부암, 신장암, 폐암, 흑색종 및 위암으로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 고형 종양은 흑색종(예를 들어, 절개불가능 또는 전이성 흑색종), 폐암(예를 들어, 비-소세포 폐암) 및 신장 세포 암종(예를 들어, 진행성 신장 세포 암종)으로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 고형 종양은 삼중 음성 유방암, 난소암, 간세포 암종, 위암, 소세포 폐암, 중피종, 담관암종, 메르켈 세포 암종 및 DNA 미스매치 치료 결핍의 증거가 있는 종양으로부터 선택된다. 특정 구현예에서, 폐암은 백금계 화학치료요법 시에 또는 이후 진행하는 전이성 비-소세포 폐암이다. 특정 구현예에서, 폐암은 백금계 치료요법 및 PD-1 또는 PD-L1 표적화제를 사용한 치료요법에 대해 실패한 국소적으로 진행성 또는 전이성 비-소세포 폐암이다. 특정 구현예에서, 두경부암은 국소 또는 전신 치료요법을 사용한 치유적 치료를 위한 후보물이 아닌, 재발성 편평 세포 두경부 암종이거나, 국소 치료요법에 의해 치유될 수 있는 것으로 간주된 구강, 인두, 인후, 및 후두의 전이성 (과중성) 두경부 편평 세포 암종이다.
- [0142] 상기된 바와 같이, 본원에 개시된 항-OX40 항체는 면역학적 반응을 조절한다. 따라서, 면역계가 손상된 환자는 치료에서 배제될 수 있다. 일부 구현예에서, 환자는 하기 기준 중 하나 이상을 충족시킨 후에 배제된다: (1) 지난 2년 내에 활성 또는 이전에 입증된 자가면역 질환(염증성 장 질환, 체강 질환, 베게너 증후군을 포함하지 않음), 이에 한정되지 않음). (소아기 아토피 또는 천식, 백반증, 탈모증, 하시모토 증후군, 그레이브스 병, 또는 전신 치료를 필요로 하지 않는 건선(과거 2년 이내)이 있는 대상체는 배제되지 않는다); (2) 원발성 면역결핍,

골수 이식, 만성 림프구성 백혈병, 고형 장기 이식 또는 결핵에 대한 이전 임상 진단의 병력; (3) 응고병증 또는 혈소판 장애의 병력; (4) 사람 면역결핍 바이러스(HIV) 또는 만성 또는 활동성 B형 또는 C형 간염을 갖는 대상체(B형 간염 또는 C형 간염의 병력이 있고 항-바이러스 치료요법을 받은 후 치유가 보고된 B형 또는 C형 간염의 병력을 갖는 대상체가 입회될 수 있다)에 대한 양성 시험 결과가 확인됨; (5) 면역 요법(CTLA-4, PD-L1, 또는 PD-1에 대한 약제를 포함하지만, 이에 한정되지 않음)을 받는 동안 이전의 3등급 이상의 면역-매개된 신경독성 또는 간질성 폐렴. 또한, 3개월 이내에 해결되지 않거나 무증상이 된 면역요법을 받는 동안 임의의 다른 이전의 3등급 이상의 면역-매개된 부작용; (6) 항-OX40 항체의 첫 번째 투여전 28일 이내에 생약독화된 백신 접종.

[0143] 본원 개시내용의 항-OX40 항체는 단독으로 (단일치료요법) 또는 다른 항암 치료요법 및/또는 표적화되거나 표적화되지 않은 항암제에 대한 보조제로 또는 이들과 함께 투여될 수 있다. 항-OX40 단일치료요법으로 투여될 때, 하나 이상의 항체가 사용될 수 있다. 단일치료요법으로 투여되거나 또는 다른 치료요법 또는 제제에 대한 보조제로 또는 이들과 함께 투여되는지간에, 항-OX40 항체의 양은 전체 치료 용법이 치료학적 이득을 제공하도록 투여된다.

[0144] 치료학적 이득은 환자에서 암을 치료하기 위한 항-OX40 항체의 사용이 임의의 치료요법 (적절한 경우) 또는 공지된 치료 표준에 비해 입증된 임의의 임상적 이득을 얻는 것을 의미한다. 임상적 이득은 당업자에게 공지된 임의의 방법으로 평가할 수 있다. 하나의 구현예에서, 임상적 이득은 객관적 반응 속도(ORR)(RECIST 버전 1.1을 사용하여 측정됨), 응답 지속 시간 (DOR), 무-진행 생존 (PFS) 및/또는 전체 생존 (OS)에 기초하여 평가된다. 일부 구현예에서, 완전한 반응은 치료학적 이득을 나타낸다. 일부 구현예에서, 부분 반응은 치료학적 이득을 나타낸다. 일부 구현예에서, 안정한 질환은 치료적 이득을 나타낸다. 일부 구현예에서, 전체 생존의 증가는 치료적 이득을 나타낸다. 일부 구현예에서, 치료학적 이득은 질환 진행에 대한 시간의 개선 및/또는 증상 또는 삶의 질의 개선을 포함한다. 다른 구현예에서, 치료학적 이득은 증가된 질환 제어 기간으로 해석되지 않고, 오히려 개선된 삶의 질을 초래하는 현저하게 감소된 증상 부담으로 해석될 수 있다. 당업자에게 자명한 바와 같이, 항-OX40 항체 단독 (단일치료요법)을 사용하거나 또는 다른 항암 치료요법 및/또는 표적화되거나 또는 표적화되지 않은 항-암 치료제에 대한 보조제로 또는 이와 함께 사용하여 치료학적 이득을 관찰할 수 있다.

[0145] 전형적으로, 치료학적 이득은 암에 대한 새로운 치료에 대한 반응을 측정하도록 고안된 표준 임상 시험을 사용하여 평가된다. 본원에 기재된 항-OX40 항체의 치료학적 이득을 평가하기 위하여, 하기의 시험 중 하나 또는 조합이 이용될 수 있다: (1) 고형 종양에서의 반응 평가 기준 (RECIST) 버전 1.1, (2) 면역-관련 RECIST(irRECIST), (3) 동부 협력 종양학 그룹(ECOG) 성능 상태, (4) 면역-관련 반응 기준(irRC), (5) 종양 항원의 평가로 평가할 수 있는 질환, (6) 검증된 환자 보고 결과 스케일, 및/또는 (7) 전체 생존 및 무진행 생존에 대한 카플란-마이어(Kaplan-Meier) 평가.

[0146] 종양 부담 변화의 평가는 암 치료제의 임상적 평가의 중요한 특징이다. 종양 수축 (객관적 반응)과 질환 진행의 발달까지 걸린 시간 둘다는 암 임상 시험의 중요한 평가변수(endpoint)이다. RECIST (고형 종양의 반응 평가 기준)로서 공지되어 있는 표준화된 반응 기준은 2000년에 발표되었다. 2009년에 업데이트(RECIST 1.1)가 배포되었다. RECIST 기준은 이들 결과 측정이 해부학적 종양 부담의 평가와 임상 진행 과정의 변화를 기반으로 하기 때문에 전형적으로, 객관적 반응이 주요 연구 평가변수인 임상 시험에서 뿐만 아니라, 안정적인 질환, 종양 진행 또는 진행 분석까지의 시간을 평가하는 임상 시험에서 사용된다. 표 8은 본원에 기재된 항-OX40 항체와 같은 연구 약물에 대한 객관적인 종양 반응을 결정하는데 사용된 반응 기준의 정의를 제공한다.

[0147] [표 8]

반응	기준
완전한 반응 (CR)	모든 대상 병변의 소멸. 모든 병리학 림프절 (표적이든 표적이 아니든)은 짧은 축에서 <10mm까지 감소해야 한다
부분적인 반응 PR	기준선 병합 직경을 기준으로, 대상 병변의 직경 합계가 적어도 30 % 감소한다.
진행성 질환 (PD)	연구에서 최소 합계를 기준으로 대상 병변 직경의 합계가 적어도 20 % 증가한다 (이는 연구에서 가장 작은 경우 기준선 합계를 포함함). 20%의 상대적 증가 외에도, 합계는 적어도 5mm의 절대 증가를 입증해야 한다. (참고: 하나 이상의 새로운 병변의 출현도 진행으로 간주됨).
안정적인 질환 (SD)	연구 중 가장 작은 합계 직경을 기준으로 PR에 대한 자격을 얻기에는 충분한 수축이 없었고, PD에 대한 자격이 충분하게 증가하지 않았다.

[0148]

[0149]

본원에 기재된 항-OX40 항체의 치료학적 이득을 결정하는데 사용될 수 있는 2차 결과 측정은 객관적인 반응 속도 (ORR), 무 진행 생존 (PFS), 전반적인 생존 (OS), 전체 반응의 지속 기간 (DOR) 및 반응 심도 (DpR)를 포함한다. ORR은 완전한 반응 (CR) 또는 부분적인 반응 (PR)을 얻은 참가자의 비율로 정의된다. PFS는 항-OX40 항체의 첫 번째 투여일부터 질환의 진행 또는 사망 중 어느 것이 먼저 발생한 시간으로 정의된다. OS는 질환의 진단 날짜 또는 치료 시작 시점으로부터 질환의 진단을 받은 환자가 아직 생존하는 지의 시간의 길이로 정의된다. DOR은 참가자의 초기 CR 또는 PR에서 질병 진행 시간까지의 시간으로 정의된다. DpR은 기준선 중앙 하중과 비교한 최대 반응 포인트에서 관찰된 중앙 수축률의 퍼센트로 정의된다. ORR과 PFS의 임상 평가변수는 상기된 RECIST 1.1 기준에 따라 결정될 수 있다.

[0150]

면역치료요법 치료를 받는 암 환자에게 특이적인 임상 평가를 위해 사용될 수 있는 부가적인 기준은 표준화된 면역-관련 RECIST(irRECIST) 기준을 포함한다. 예를 들어, 문헌(Nishino, M. et al. *Eur. J. Radiol.*, 84(7), pages 1259-1268 (2015 July))을 참조한다. 상기 가이드라인은 잠재적인 면역조절 효과를 고려하여 상기 RECIST 1.1 기준을 변형시켰다. 표 9는 본원에 기술된 항-OX40 항체와 같은 면역조절 약물에 대한 객관적인 중앙 반응을 결정하는데 사용된 반응 기준의 정의를 제공한다.

[0151]

[표 9]

반응	기준
완전한 반응 (irCR)	모든 측정가능하고 측정할 수 없는 병변이 완전히 사라진다. 림프절은 짧은 축에서 <10 mm로 감소해야 한다.
부분적인 반응 (irPR)	기준선과 비교하여 총 측정된 중앙 부하가 30% 이상 감소한 경우, 비-표적 병변은 irNN이며, 새로운 측정할 수 없는 병변은 확실하게 진행되지 않는다.
진행성 질환 (irPD)	비-표적 또는 새로운 측정불가능 병변에 대하여, nadir 또는 irPD에 비해 TMTB가 적어도 20% 이상 증가하고, 적어도 5 mm 절대 증가한다. 진행의 확인은 첫 번째 irPD 평가 후 적어도 4주 권장된다.
비-irCR 또는 비-irPD(irNN)	기준선과 추적 관찰에서 표적 질환이 확인되지 않았으므로 환자는 irCR 또는 irPD 기준을 충족시키지 못함
안정적인 질환 (irSD)	연구 중 가장 작은 합계 직경을 기준으로 irPR에 대한 자격을 얻기에는 충분한 수축이 없었고, irPD에 대한 자격이 충분하게 증가하지 않았다.
irNE	데이터가 충분하지 않은 예외적인 경우에 사용된다.

[0152]

[0153]

표 10에 나타난 수행능 상태(Performance Status)의 ECOG 스케일은 환자 자신을 케어하는 능력, 일상 활동 및 신체 능력의 측면에서 환자의 기능 수준을 기재하기 위해 사용된다. 이 스케일은 현재 기관(ECOG-ACRIN Cancer Research Group)의 일부인 동부 협동 중앙 그룹 (ECOG)에 의해 개발되어 1982년에 발표되었다.

[0154] [표 10]

등급	ECOG 수행능 상태
0	완전 활성, 제한없이 모든 질병 전 성능 수행 가능
1	육체적으로 격렬한 활동으로 제한되었지만, 이동하고, 가벼우며 앉아있는 성격의 일, 예를 들어, 가벼운 집안일, 사무를 수행할 수 있음
2	이동하고, 모든 셀프케어를 할 수 있지만, 임의의 업무 활동을 수행할 수 없음; 깨어있는 시간의 약 50% 이상
3	제한된 셀프 케어 가능; 깨어있는 시간의 50% 이상을 침대 또는 의자에서 보냄
4	완전히 무능하게 됨; 셀프케어를 수행할 수 없음; 전적으로 침대 또는 의자에서 보냄
5	사망

[0155]

[0156]

면역치료제, 예컨대, 항체-기반의 암 치료요법에 대한 반응을 완전히 특성화하고 이를 결정하기 위해 사용될 수 있는 또 다른 세트의 기준은 면역-관련 반응 기준(irRC)이며, 이는 2009년도에 고형 종양의 측정을 위해 개발되었으며, 2013년에 업데이트되었다(문헌참조: Wolchok, et al. Clin. Cancer Res. 2009; 15(23): 7412-7420 and Nishino, et al. Clin. Cancer Res. 2013; 19(14): 3936-3943). 업데이트된 irRC 기준은 전형적으로 종양 부담에 대한 본원에 기재된 항-OX40 항체와 같은 면역치료제의 효과를 평가하는데 사용되며, 표 11에 따른 반응을 정의한다.

[0157]

[표 11]

반응	기준
완전한 반응 (CR)	2주 연속 및 4주 이상 떨어져있는 관찰에서 모든 대상 병변의 소멸
부분적인 반응 (PR)	기준선 합계 직경을 기준으로, 대상 병변의 최장 직경 합계가 적어도 30% 감소한다.
진행성 질환 (PD)	연구에서 최소 합계를 기준으로 대상 병변 직경의 합계가 적어도 20% 증가한다 (이는 연구에서 가장 작은 경우 기준선 합계를 포함함). (참고: 하나 이상의 새로운 병변의 출현은 진행으로 간주되지 않는다. 새로운 병변의 측정은 측정의 합계에 포함됨).
안정적인 질환 (SD)	연구 중 가장 작은 합계 직경을 기준으로 PR에 대한 자격을 얻기에는 충분한 수축이 없었고, PD에 대한 자격이 충분하게 증가하지 않았다.

[0158]

[0159]

고형 종양을 치료하기 위한, 본원에 기재된 항-OX40 항체의 사용으로부터 야기된 하나의 예시적인 치료학적 이득은 단일치료요법으로 투여되든지 또는 다른 치료요법 또는 제제에 보조적으로 또는 이와 함께 투여되든지 완전한 반응이다. 고형 종양을 치료하기 위한, 항-OX40 항체의 사용으로부터 야기된 또 다른 예시적인 치료학적 이득은 단일치료요법으로 투여되든지 또는 다른 치료요법 또는 제제에 보조적으로 또는 이와 함께 투여되든지 부분적인 반응이다.

[0160]

검증된 환자보고 결과 스케일은 또한 특정 보고 시스템을 통해 각 환자에 의해 제공된 응답을 나타내기 위해 사용될 수 있다. 질환에 중점을 두기보다는 그러한 결과 스케일은 만성 병태를 관리하는 동안 보유된 기능과 관련이 있다. 검증된 환자가 보고한 결과 스케일의 한 비-제한적인 예는 미국 국립 보건원 (National Institutes of Health)의 PROMIS® (Patient Reported Outcomes Measurement Information System)이다. 예를 들어, 성인 암 환자를 위한 PROMIS® 신체 기능 기구는 상지 (예를 들어, 손재주), 하지 (예를 들어, 걷기 또는 이동) 및 중간 영역 (예를 들어, 목, 등 운동)의 기능에 대한 자체-보고 기능을 평가할 수 있으며, 구보 심부름과 같은 일상적인 일상 활동을 포함한다.

[0161]

카플란-마이어 곡선(Kaplan and Meier, J. Am. Stat. Assoc. 1958; 53(282): 457-481)은 또한 표준 케어와 비교하여 항-OX40 항체 치료요법을 받은 암 환자의 전반적인 생존 및 무 진행 생존을 평가하는데 사용될 수 있다.

[0162]

7.6.2. 보조 치료요법

[0163]

항-OX40 항체는 항-PD-1 항체 치료요법과 같은, 표준 케어 치료요법을 포함하는, 다른 제제 또는 항암 성질을 갖는 치료제에 보조적으로 또는 이와 함께 사용될 수 있다. 보조적으로 사용되는 경우, 항-OX40 항체 및 다른 제제(들)은 단일 조합 약제학적 제형으로 함께 제형화될 수 있거나, 단일 배위 투여 용법 또는 상이한 투여 용

법 중 하나에서 제형화되고 별도로 투여될 수 있다. 항-OX40 항체에 보조적으로 또는 항-OX40 항체와 함께 투여된 제제는 전형적으로 항-OX40 항체에 대한 상보적 활성을 가져 항체 및 다른 제제는 서로 악영향을 미치지 않을 것이다.

[0164] **7.7. 용량 및 투여 용법**

[0165] 투여되는 항-OX40 항체의 양은 치료된 암의 특정 유형, 치료되는 암의 단계, 투여 방식, 투여 빈도, 목적하는 치료학적 이득 및 환자의 연령, 체중 및 기타 특성과 같은 기타 변수 등을 포함하지만, 이에 한정되지 않는 다양한 인자들에 좌우될 것이다. 투여의 특정 모드 및 빈도에 대한 치료적 이득을 제공하는데 효과적인 투여량의 결정은 당업자의 능력 내에 있다.

[0166] 치료학적 이득을 제공하는데 효과적인 투여용량은 초기에 생체내 동물 모델로부터 평가될 수 있다. 다양한 질환에 적합한 동물 모델이 당업계에 공지되어 있다.

[0167] 본원에 기재된 항-OX40 항체는 치료될 병태에 적합한 임의의 경로로 투여될 수 있다. 일부 구현예에서, 항-OX40 항체는 서열번호 41 내지 48 중 어느 하나에 따른 아미노산 서열을 갖는 중쇄; 및 서열번호 51 내지 54 중 어느 하나에 따른 아미노산 서열을 갖는 경쇄를 갖는 사람화된 항체 중 어느 하나이다. 특정 구현예에서, 항-OX40 항체는 서열번호 41 또는 42에 따른 아미노산 서열을 갖는 중쇄 및 서열번호 51에 따른 아미노산 서열을 갖는 경쇄를 갖는다. 항-OX40 항체는 전형적으로 비경구적으로, 즉, 주입, 정맥내(IV), 척수강내, 볼루스, 종양내 주사 또는 경막외 투여될 것이다((Shire 등, 2004, *J. Sciences* 93(6):1390-1402 참조). 하나의 구현예에서, 항-OX40 항체는 바이알 내 동결건조된 분말로서 제공된다. 투여 전에, 동결건조된 분말을 주사용 멸균수(SWFI) 또는 다른 적합한 매질로 재구성하여, 항-OX40 항체를 함유하는 용액을 제공한다. 일부 구현예에서, 수득한 재구성된 용액은 식염수 또는 주입을 위해 적합한 다른 적합한 매질로 추가로 희석되고 2주 마다 1회, 즉, 13, 14 또는 15일 마다, IV 주입을 통해 투여된다.

[0168] 일부 구현예에서, 항-OX40 항체는 0.01 mg/kg, 0.1 mg/kg, 1.0 mg/kg, 또는 3.0 mg/kg으로 2주 마다 1회 IV 주입으로서 투여된다.

[0169] 다른 화학치료제와 같은 다른 제제에 대한 보조제로, 또는 이와 함께 투여될 때, 항-OX40 항체는 다른 제제(들)와 동일한 스케줄로 또는 상이한 스케줄에 따라 투여될 수 있다. 동일한 스케줄에서 투여될 때, 항-OX40 항체는 다른 제제의 전후, 또는 동시에 투여될 수 있다.

[0170] 당업자라면 알 수 있는 바와 같이, 전술한 다양한 제제에 대한 권장 투여량은 환자 반응을 최적화하고 치료적 이득을 최대화하기 위해 조정될 필요가 있을 수 있다.

[0171] **8. 실시예**

[0172] 본원에 기재된 항-OX40 항체의 예시적 구현예의 특정 특성 및 성질을 강조하는 하기 실시예는 설명의 목적으로 제공되는 것일뿐 제한하고자 하는 것은 아니다.

[0173] **실시예 1: 재료 및 방법**

[0174] **8.1.1. ELISA에 의한 사람 OX40으로의 항-OX40 항체 결합**

[0175] Immunolon 4xHB 96-웰 플레이트 (Thermo Scientific)는 밤새 4 °C에서 1 µg/mL의 사람 OX40-FC (R&D Systems)으로 코팅시켰다. 플레이트를 실온에서 30분 동안 1% 소 혈청 알부민(BSA)을 함유하는 인산-완충 식염수(PBS)로 차단시키고 이어서 플레이트 세척제를 사용하여 PBST (0.1% Tween 20을 갖는 PBS)로 3회 세척하였다. 이어서, OX40-코팅된 플레이트를 1시간 동안 실온에서 지정된 농도의 시험 항체로 항온 처리하였다. 플레이트를 PBST로 4회 세척하고, 이어서 실온에서 1시간 동안, 1% BSA를 함유하는 PBS 중의 1:5000의 희석액으로 제조된 염소 항-사람 Fab 단편 특이적-바이오틴 (Jackson ImmunoResearch) 100 µL로 항온처리하였다. 이어서 플레이트를 PBST에서 5회 세척하고, 스트렙타비딘-서양고추냉이 퍼옥시다제(HRP) (Thermo Scientific)의 1:1000 희석액 100 µL를 각 웰에 첨가하고, 실온에서 30분 동안 항온처리하였다. 후속적으로 PBST에서 플레이트를 5회 세척하고, TMB 1 성분 (Surmodics) 100 µL를 각 웰에 첨가하고 발색될 때까지(약 5-10분) 실온(RT)에서 항온 처리하였다. 광학 밀도(OD)를 650 nm (Molecular Devices Spectromax 190)에서 관독하였다.

[0176] **8.1.2. ELISA에 의한 시노몰구스 몽키 OX40으로의 항-OX40 항체 결합**

[0177] Immunolon 4xHB 96-웰 플레이트 (Thermo Scientific)는 밤새 4 °C에서 1 µg/mL의 Cyno OX40-Fc 용합물로 코팅시켰다. 플레이트를 실온에서 30분 동안 1% 소 혈청 알부민(BSA)을 함유하는 PBS로 차단시키고 이어서 PBST

(0.1% Tween 20을 갖는 PBS)로 3회 세척하였다. 이어서, OX40-코팅된 플레이트를 1시간 동안 실온에서 지정된 농도의 항-OX40 항체로 항온처리하였다. 플레이트를 PBST로 4회 세척하고, 이어서 실온에서 1시간 동안, 1% BSA를 함유하는 PBS 중의 1:5000의 희석액으로 제조된 염소 항-사람 Fab 단편 특이적-바이오틴 (Jackson ImmunoResearch) 100 μ L로 항온처리하였다. 이어서 플레이트를 PBST에서 5회 세척하고, 스트렙타비딘-HRP (Thermo Scientific)의 1:1000 희석액 100 μ L를 각 웰에 첨가하고, 실온에서 30분 동안 항온처리하였다. 이어서 PBST에서 플레이트를 5회 세척하고, TMB 1 성분 (Surmodics) 100 μ L를 각 웰에 첨가하고 발색될 때까지(약 5-10분) 실온에서 항온처리하였다. 광학 밀도(OD)를 650 nm (Molecular Devices Spectromax 190)에서 관독하였다.

[0178] **8.1.3. 유동 세포측정에 의한 레서스 OX40로의 항-OX40 항체 결합**

[0179] 레서스 마카쿠에(Rhesus macaque) (마카카 무라타 (*Macaca mulatta*)) OX40은 아미노산 서열 측면에서 시노물구스 몽키(마카카 패시쿨라리스(*Macaca fascicularis*)) OX40 (서열번호 2)와 동일하다. 레서스 OX40을 발현하는 293 NF- κ B 리포터 세포주는 10% 태아 소 혈청(FBS) 및 페니실린/스트렙토마이신을 함유하는 돌베코 변형 이글 배지 (DMEM)에서 배양하였다. 결합 검정을 위해 세포는 mL 당 500만 세포로 재현탁시켰다. 50 μ L (250,000 세포)/웰은 500 μ L 폴리프로필렌 96-웰 플레이트 (Nunc)의 각각의 웰에 전달하였다. 시험 항-OX40 항체 또는 이소타입 대조군 모노클로날 항체의 2X 스톡을 배양 배지에서 666, 333, 111, 37.03, 12.34, 4.11, 0.457, 0.152, 0.0508, 0.0169, 0.00564 nM로 별도의 희석 플레이트에 제조하였다. 모노클로날 항체(50 μ L/웰)를 검정 플레이트의 각각의 웰에 전달하였다. 세포는 4 °C에서 30분동안 1차 항체와 항온처리하고 800rpm에서 3분동안 원심분리함에 의해 250 μ L/웰의 PBS로 2회 세척하였다. 결합된 항체는 4°C에서 30분동안 PBS 중에 2 μ g/mL (50 μ L/웰)로 희석된 Cy5-당나귀 항-사람 IgG (H+L) (Jackson ImmunoResearch)로 검출하였다. 세포는 250 μ L/웰의 PBS로 1회 세척하고, 1% 포름알데하이드를 함유하는 PBS 중에 재현탁시키고 이원 레이저 FACSCalibur(Becton Dickinson) 상에서 분석하였다.

[0180] **8.1.4. 표면 플라즈몬 공명에 의한 사람 및 레서스 OX40에 대한 항-OX40 항체 결합 친화도**

[0181] 재조합 가용성 OX40 ECD(세포외 도메인)에 대한 항-OX40 항체의 결합 동역학은 항-Fc 포획 검정 접근법을 사용하여 25°C에서 Biacore T200 기기로 수행된 표면 플라즈몬 공명-기반 측정에 의해 결정되었다. 사람 OX40 (잔기 1번-216번) 및 레서스 마카쿠에 OX40 (잔기 28-214)의 재조합 세포외 도메인 (ECD)을 구입하였고(Creative Biomart) 추가로 10 mM 의 4-(2-하이드록시에틸)-1-피페라진에탄설폰산(HEPES), pH 7.4, 150 mM NaCl, 3 mM 에틸렌디아민테트라아세트산 (EDTA) 중에서 Superex 200 (GE Healthcare)을 사용한 겔 여과에 의해 추가로 정제하였다. 레서스 마카쿠에(Rhesus macaque) (마카카 무라타 (*Macaca mulatta*)) OX40은 아미노산 서열 측면에서 시노물구스 몽키(마카카 패시쿨라리스(*Macaca fascicularis*)) OX40 (서열번호 2)와 동일하다. 칩 제조 및 결합 동역학 측정은 검정 완충액 HBS-EP+(10 mM HEPES, pH 7.4, 150 mM NaCl, 3 mM EDTA, 0.05% 트윈(Tween) 20) 중에서 이루어졌다. 항-Fc 포획 칩 제조를 위해, 10 mM 나트륨 아세테이트(pH 4.5)에서 25 μ g/mL로 희석한 염소 항-사람 IgG Fc 폴리클로날 항체 대략 2000 공명 유니트(RU)를 표준 아민 커플링 키트를 제조업체의 지침 및 절차에 따라 사용하여 CM5 바이오센서 칩에 직접 고정화시켰다. 바이오센서 표면 상의 반응하지 않은 모이어티는 에탄올아민으로 차단하였다. 결합 동역학 측정을 위하여, 각각의 검정 사이클은 다음 단계들로 이루어졌다: (1) 시험 표면 단독에서의 시험 항-OX40 항체의 포획 단계; (2) 기준면과 시험 표면 모두에서 80 μ L/분으로 240 μ L 분석물 주입(OX40 ECD 또는 완충액 단독), 그 후, 80 μ L/분으로 900초 동안 해리를 모니터링하는 단계; 및 (3) 기준 및 시험 표면 둘다의 위로 10 mM 글리신-HCl, pH 1.5 주입에 의한 포획 표면의 재생 단계. 검정 동안, 모든 측정은 포획 표면 단독에 대해서 (즉, 포획된 시험 항체 없이) 참조되었고, 완충액-단독 주입을 이중 참조에 사용하였다. OX40 주입은 각각 무작위화된 9- 또는 3배 희석 계열로 900 nM 또는 300 nM의 농도 범위였다. 비아코어(Biacore) T200 평가 소프트웨어를 사용하여 데이터를 처리하고 범용으로 1:1 결합 모델에 피팅하여 결합 동역학 속도 상수인 $k_a(M^{-1} \cdot sec^{-1})$ 및 $k_d(sec^{-1})$, 그리고 평형 해리 상수 $KD(M)$ 을 결정하였다.

[0182] **8.1.5. 항-OX40 항체를 사용한 OX40 리간드 차단**

[0183] 사람 OX40으로 안정하게 형질감염된 주르켓 세포는 2×10^5 세포/웰로 배양하고 동시에 RT에서 30분동안 환자 96-웰 플레이트에서 1% BSA를 함유하는 PBS 중에서 0.2 μ g/mL 시험 항-OX40 항체 및 적정된 가용성 사람 OX40L (R&D systems)으로 항온처리하였다. 세포는 2회 세척하고 웰(Jackson ImmunoResearch) 당 염소-항 사람 Fc PE의 1:500 희석액 100 μ L로 추가로 30분동안 항온처리하였다. 이어서 세포는 2회 세척하고 FACSCanto (BD Biosciences)를 사용하여 획득하고, FCSDiva를 사용하여 분석하였다.

[0184] **8.1.6. 세포 표면 발현된 사람 OX40으로의 항-OX40 항체 결합**

[0185] 사람 OX40 단백질을 발현하는 주르캣 NF-κB 리포터 세포주는 10% FBS 및 페니실린/스트렙토마이신(pen/strep)을 함유하는 DMEM 중에 배양하였다. 결합 검정을 위해, 각각 세포주는 mL 당 500만 세포로 재현탁하였다. 50 μL (250,000 세포)/웰은 500 μL 폴리프로필렌 96-웰 플레이트 (Nunc)의 각각의 웰에 전달하였다. 시험 항-OX40 항체 또는 이소타입 대조군 mAb의 2X 스톡을 배양 배지에서 666, 333, 111, 37.03, 12.34, 4.11, 0.457, 0.152, 0.0508, 0.0169, 0.00564 nM로 별도의 희석 플레이트에 제조하였다. 각각의 항체(50 μL/웰)를 검정 플레이트의 각각의 웰에 전달하였다. 세포는 30분동안 4 °C에서 시험 항-OX40 항체 또는 이소타입 대조군 항체로 항온처리하고 800rpm에서 3분동안 원심분리함에 의해 250 μL/웰의 PBS로 2회 세척하였다. 결합된 항체는 4 °C에서 30분동안 PBS 중에 2 μg/mL (50 μL/웰)로 희석된 Cy5-당나귀 항-사람 IgG (H+L) (Jackson ImmunoResearch)로 검출하였다. 세포는 250 μL/웰의 PBS로 1회 세척하고, 1% 포름알데하이드를 함유하는 PBS 중에 재현탁시키고 이원 레이저 FACSCalibur(Becton Dickinson) 상에서 분석하였다.

[0186] **8.1.7. 키메라 OX40 수용체로의 항-OX40 항체 결합**

[0187] 293s-기반 형질감염체는 개별적으로 반응하는 사람 CRD를 대체하는 마우스 OX40 시스템인 풍부 도메인 (CRD)을 함유하는 사람 OX40 분자의 키메라 버전을 발현하기 위해 생성하였다. G418 선별 후, 생존 세포는 MoFlo 유동 세포측정기 (Beckman) 상에서의 발현을 위해 분류하였다: 293s-huOX40, 293s-huOX40-muCRD1, 293s-huOX40-muCRDII, 293s-huOX40-muCRDIII, 293s-huOX40-muCRDIV, 293s-huOX40-muCRDII+III 및 293s-muOX40. 총 2 x 10⁵의 각각의 293s OX40 키메라 형질감염체 세포를 웰 당 500 μL 폴리프로필렌 96-웰 플레이트(Nunc)에 첨가하였다. 세포를 분주한 후, 2 μg/mL에서 50 μL의 Hu3738 또는 이소타입 대조군 항체는 각각의 세포주에 대해 2회 반응하는 웰에 첨가하였고 병상에서 30분동안 항온처리되도록 방치하였다. 항온처리 후, 200 μL의 둘베코 인산 완충 식염수(DPBS)를 각각의 웰에 첨가하고 플레이트를 3분동안 1000rpm으로 회전시켰다. 각각의 웰로부터의 상등액을 제거하고 50 μL의 Cy5-당나귀 항-사람 IgG (Jackson ImmunoResearch) 2차 항체를 1:250의 희석물로 첨가하고 이어서 이는 암실에서 병상에서 30분동안 항온처리하였다. 항온처리 기간 후, 200 μL의 DPBS를 첨가한 후 3분동안 1000rpm에서 플레이트를 회전시켰다. 상등액을 제거하고 각각의 웰을 100 μL의 DPBS + 1% 포름알데하이드로 재현탁시켰다. 샘플은 이원 레이저 FACSCaibur 유동 세포측정기 (Becton Dickinson) 상에서 분석하였다.

[0188] **8.1.8. 사람 및 레서스 OX40에 대한 NF-κB 형광 리포터 활성**

[0189] 각각 사람 및 레서스 OX40 단백질을 발현하는 NF-κB 리포터 세포주인 주르캣-NF-κB-huOX40 및 293-NF-κB-RhOX40은 10% FBS 및 페니실린/스트렙토마이신 (100 U/mL)을 함유하는 DMEM을 포함하는 배양 배지에서 유지시켰다. NF-κB 리포터 검정을 위해, 주르캣-NF-κB-huOX40 세포주는 100만/mL (최종 50,000 세포/웰)로 성장 배지 (배양 배지와 동일한)에 재현탁시키고 293-NF-κB-RhOX40 세포주는 50만/mL (최종 25,000 세포/웰)로 성장 배지에 재현탁시켰다. 50 μL/웰은 백색/투명한 바닥 96-웰 검정 플레이트(Costar 3903)의 내부 60개 웰에 전달하였다. 하기 항체의 3X 스톡은 별도의 U-바닥 96-웰 희석 플레이트 (Becton Dickinson) 중에서 만들었다: 음성 대조군 항체로서 사용되는 항-PD-1 항체, 및 항-OX40 항체. 외인성 가교 결합체 부재하에 항체 활성을 시험하기 위한 연속 희석물은 배양 배지 중에서 2000, 500, 125, 31.25, 7.812, 1.953, 0.488, 0.122, 0.0305, 0.00762 nM을 포함하였다. 항-OX40 항체의 활성에 대한 가교 결합체의 효과를 시험하기 위한 연속 희석물은 200, 50, 12.5, 3.125, 0.7812, 0.1953, 0.0488, 0.0122, 0.00305, 0.000762 nM 항체를 포함하였다. 2회로, 50 μL/웰의 항체를 검정 플레이트의 각각의 웰에 전달하였다. 항체 단독의 플레이트에, 50 μL/웰의 배지를 내부 60 웰에 첨가하였다. 가교 결합체 연속 희석을 위해, 특이적인 염소 항-사람 IgG Fc(Jackson ImmunoResearch)를 800, 200, 50, 12.5, 3.125, 0.7812, 0.1953, 0.0488, 0.0122, 0.00305 nM 및 50 μL/웰로 희석시키고 이를 내부 60 웰에 전달하여 항-OX40 항체 및 가교 결합체의 4:1 비율을 유지하였다. 성장 배지 (150 μL)를 외부 웰에 첨가하여 내부 60 웰에서의 증발을 막는다. 플레이트를 37°C에서 대략 18시간 동안 항온처리하였다. 루시퍼라제 활성은 BriteLite Plus (Perkin Elmer)를 사용하여 정량하였다. 간략하게, 기질을 10 mL의 판매자-제공된 완충액으로 용해시키고 75 μL의 기질/웰을 각각의 플레이트 내부 60 웰에 첨가하였다. 플레이트는 발광 세팅을 사용하여 빅토르5(Victor5) (Molecular Devices) 상에서 분석하였다.

[0190] **8.1.9. ADCC 리포터 검정**

[0191] 사람 FcγRIII (Promega)를 발현하는 ADCC 이펙터 세포를 해동시키고 프로토콜 추천에 따라 성장시켰다. 세포는 사용 전 2회 스플릿시켰다. 사람 또는 레서스 OX40으로 안정적으로 형질감염된 HEK293 세포는 표적 세포로

서 사용하였다. 이들 세포는 10% 열 불성화된 FBS (Sigma) 및 5 µg/mL의 블라스티시딘(Gibco Life Technologies)과 함께 HyClone™ DMEM 중에서 증식시켰다.

[0192] 검정 전 날에, OX40-발현 HEK293 표적 세포는 0.25% 트립신 (Gibco Life Technologies)으로 수거하였다. 세포를 세척하고, 계수하고 96-웰 코스타르 플레이트 (Corning)에 10,000 세포/웰로 분주하였다. 플레이트는 DMEM 10% FBS에서 37°C에서 밤새 항온처리하였다. ADCC 생검정 이펙터 세포, 증식 모델 프로토콜 G7102에 이어서 검정하였다. 이펙터 대 표적 세포 비율은 7.5:1이었다. 발광성은 EnSpireManager 소프트웨어를 사용한 EnSpire 알파 판독기 (Perkin Elmer)로 측정하였다. 상기 검정에서 시험된 항체는 이소타입 대조군 항체 및 항-OX40 항체를 포함하였다.

[0193] **8.1.10. 활성화된 사람 CD4+ 세포로의 항-OX40 항체 결합**

[0194] 사람 PBMC를 스탠포드 혈액 센터(Palo Alto, CA)로부터 구입한 버피 코트로부터 단리하였다. 간단히 말해서, 버피 코트를 마그네슘과 칼슘이 없는 PBS(GE Healthcare)로 1:1 비율로 희석하였다. 희석된 혈액(30 mL)을 SepMate 튜브(Stemcell Technology)에 함유된 마그네슘 및 칼슘이 없는 PBS에서 제조된 90% Ficoll-Paque Plus (GE Healthcare) 15 mL 위에 적층하였다. 튜브를 1200g에서 10분 동안 회전시켰다. 계면을 수집하고 1X PBS로 2회 세척하였다. CD4+ T 세포는 Stemcell Technology CD4 집적 키트 (Stem Cell Technologies)를 사용하여 단리하였다. 세포는 RPMI/10%FBS 중에서 2×10^6 세포/mL로 재현탁시켰다. Dynal CD3/28 비드(Life Technologies)는 1:1의 비율로 첨가하였다. 세포는 엔드 오버 엔드 회전기(end over) 상에서 20분 동안 실온에서 항온처리하였다. 세포는 24시간 동안 37 °C에서 6-웰 플레이트에서 배양하였다.

[0195] 24시간 후, 비드는 자기를 사용하여 제거하였다. 세포는 계수하고 1.5×10^6 /mL로 재현탁시켰다. 세포 현탁액의 적정액(100 µL)을 염색 당 사용하였다. 시험 항체는 1 µg/mL에서 개시하는 4 배 연속 희석물로 적정하였다. 세포는 30분동안 염색시키고 2회 세척하였다. 염소 항 사람 Fc 특이적-PE/웰 (4 µg/mL) (Jackson ImmunoResearch)의 1:250 희석물을 1% BSA를 함유하는 100 µL/웰 PBS 중에 첨가하였다. 세포는 추가의 30분 동안 염색시키고 2회 세척하고, 튜브로 전달하고 BD LSR Fortessa 유동 세포측정기를 사용하여 획득하였고, FACSDiva 분석 소프트웨어 버전 8.0.1을 사용하여 분석하였다.

[0196] **8.1.11 활성화된 시노몰구스 T 세포로의 항-OX40 항체 결합**

[0197] 시노몰구스 몽키 전혈은 기관(Worldwide Primates)으로부터 구입하였다. PBMC의 단리를 위해, 전혈은 마그네슘과 칼슘이 없는 PBS(GE Healthcare)로 1:1 비율로 희석하였다. 희석된 혈액(30 mL)을 50-mL 원뿔 튜브 중에서 마그네슘 및 칼슘 부재의 PBS (GE Healthcare)에서 제조된 95% Ficoll-Paque Plus (GE Healthcare) 13 mL 아래에 적층하였다. 튜브를 1000g에서 25분 동안 회전시켰다. 계면을 수집하고 1X PBS로 2회 세척하였다. 세포는 RPMI/10%FBS 중에서 2×10^6 세포/mL로 재현탁시켰다. 세포는 6-웰 플레이트 중에서 72시간 동안 10 mg/mL 피토헤마글루티닌 (PHA) (Sigma) 및 100 U/mL 재조합체 사람 인터류킨-2 (IL-2) (Proleukin®, Prometheus)로 항온처리하였다. 24시간 후, 세포를 세척하고, 계수하고 2×10^6 /mL로 재현탁시켰다. 100 µL의 세포는 염색 당 사용하였다. 시험 항-OX40 항체는 1 µg/mL에서 개시하는 4배 연속 희석물로 적정하였다. 세포는 30분동안 염색시키고 2회 세척하였다. 1% BSA를 함유하는 100 µL PBS 에서 염소 항-사람 IgG Fc 특이적-PE (Jackson ImmunoResearch)의 1:250 희석물 (4 µg/mL)을 웰당 첨가하였다. 세포는 추가의 30분동안 염색시키고 2회 세척하고, 튜브로 전달하고 BD LSR Fortessa 유동 세포측정기를 사용하여 획득하였고, FACSDiva 분석 소프트웨어 버전 8.0.1을 사용하여 분석하였다.

[0198] **8.1.12. 활성화된 사람 T 세포 증식 및 IFN-γ 유도**

[0199] 사람 버피 코트를 스탠포드 혈액 센터(Palo Alto, CA)로부터 구입하였다. 사람 PBMC의 단리를 위해, 버피 코트는 마그네슘과 칼슘 부재의 PBS(GE Healthcare)로 1:1 비율로 희석하였다. 희석된 혈액(30 mL)을 SepMate 튜브(Stemcell Technology)에 함유된 마그네슘 및 칼슘이 없는 PBS에서 제조된 90% Ficoll-Paque Plus 15 mL 위에 적층하였다. 튜브를 1200g에서 10분 동안 회전시켰다. 계면을 수집하고 1X PBS로 2회 세척하였다. CD4+ T 세포는 EasySep CD4+ T 세포 집적 키트(Stemcell Technologies)를 사용하여 PBMC로부터 단리하였다. CD4+ T 세포는 RPMI+10% FCS plus 2 µg/mL PHA (Sigma) 및 20 IU/mL 재조합 사람 IL-2 (Proleukin®, Prometheus) 중에서 72시간 동안 6-웰 플레이트에서 2×10^6 세포/mL로 배양하였다.

[0200] 바이오코트 T 세포 활성화 대조군 플레이트-96-웰 플레이트 (Corning)은 100 µL/웰 PBS에서 4 °C에서 밤새 2

μg/mL의 특이적 염소 항-마우스 IgG Fc(Jackson ImmunoResearch) 및 2 μg/mL의 특이적 염소 항-사람 IgG-Fc (Jackson ImmunoResearch)로 코팅하였다. 플레이트는 실온에서 30분동안 PBS에서 200 μL/웰의 1% BSA (Rockland)로 차단하였다. 플레이트는 200 μL/웰의 PBS로 2회 세척하였다. 4 ng/mL의 항-사람 CD3 OKT3 (eBioscience)은 100 μL/웰 PBS 중에서 첨가하고 37°C에서 90분동안 항온처리하였다. 플레이트는 200 μL/웰의 PBS로 2회 세척하였다. 5 μg/mL로 개시하는 항-OX40 항체 및 이소타입 대조군 모노클로날 항체의 3-배 연속 희석물을 100 μL PBS 중에 플레이트에 첨가하였다. 플레이트는 37°C에서 90분동안 항온처리하였다. 플레이트는 200 μL/웰의 PBS로 2회 세척하였다. 세척된 PHA 및 IL-2 활성화된 CD4+ T 세포 (2×10^5)를 각각의 웰에 첨가하였다.

[0201] 37°C에서 48시간 배양 후, 각각의 복제물로부터 30 μL의 상등액을 Luminex (Millipore)를 사용하여 IFN-γ 분석을 위해 모오그 바이오플렉스 매지저 (Bioplex Manager) 6.0 (BioRad) 상에서 분석하였다. 플레이트는 0.25 μCi ^3H -티미딘 (Perkin Elmer)으로 밤새 펄싱하고 다음날 아침에 5 mL의 울티마 골드 신틸레이션 유체 (Ultima Gold Scintillation fluid) (Perkin Elmer)와 함께 필터매트 (Filtermats) (Perkin Elmer) 상에 수거하였다. 필터매트는 1450 마이크로베타 왈락 트릴룩스 계수기(PerkinElmer) 상에서 계수하였다.

[0202] **8.1.13. 사람 조절 T 세포 억제 검정**

[0203] 새로운 말초 혈액 단핵구 세포 (PBMC)는 기관 (AllCells 또는 Stemcell Technologies)으로부터 수득하였다. 세포를 회전 하강시키고, 세포 펠렛은 1X PBS로 재현탁시키고 다시 한번 실온에서 10분동안 1200 rpm에서 회전 하강시켰다. 상등액을 제거하고 세포는 이어서 RoboSep 완충액 (Stemcell Technologies)으로 재현탁시켰다. 세포 생존능 및 세포 총수는 Vi-세포 XR 세포 계수기 베크만 쿨터(Beckman Coulter)를 사용하여 결정하였다. 1억 내지 -1억 5천개의 세포는 Stemcell EasySep 사람 CD4+ T 세포 집적 키트를 사용하는 CD4+ T 세포 집적을 위해 비축하였다. 집적된 CD4+ T 세포는 이어서 Stemcell EasySep 사람 CD25+ 선택 키트를 사용하여 CD25+ 세포를 고갈시켰다. 상기 공정으로 정제된 CD4+/CD25- 응답자 T 세포 (Tresp)를 수득하였다. 잔류 PBMC는 Stemcell EasySep 사람 CD4+/CD127낮은/CD49d-조절 T 세포 집적 키트로부터의 지침에 따라 조절 T 세포 (Treg)를 단리하기 위해 사용하였다. CD4+/CD25- Tresp 및 Treg의 단리 후, 세포는 각각 1×10^6 세포/mL 및 5×10^5 세포/mL로 10% 열 불활성화된 FBS 및 0.01 mM 2-머캅토에탄올을 갖는 RPMI 1640으로 재현탁시켰다.

[0204] Treg 억제 검정은 2:1 및 4:1의 2개의 상이한 Tresp 대 Treg의 비율을 사용하여 설정하였다. 2:1 비율에 대해, 5×10^4 Tresp 세포 및 2.5×10^4 Treg 세포를 96-웰 U-바닥 플레이트에 첨가하였다. 4:1 비율에 대해, 5×10^4 Tresp 세포 및 1.25×10^4 Treg 세포를 96-웰 플레이트에 첨가하였다. Treg 억제 조사제 비드 시약 (Miltenyi Biotec)를 또한 웰에 자극을 위해 1:1 비드-대-세포 비율로 첨가하였다. 항-OX40 항체 및 이소타입 대조군 사람 IgG₁ 항체는 Fc 특이적 F(ab')₂ 염소 항-사람 IgG의 부재 또는 1:4 비율로의 존재하에 10 μg/mL 최종 농도로 3회 시험하였다. 플레이트는 4일 동안 5% CO₂에서 37 °C에서 항온처리하였다. 플레이트는 1 μCi/웰 ^3H -티미딘으로 처리하고 추가로 5% CO₂에서 37 °C에서 또 다른 16시간 동안 추가로 항온처리하였다. 항온처리 후, 플레이트를 수거하고 증식은 울티마 골드 신틸레이션 유체(Ultima Gold Scintillation fluid) (Perkin Elmer) 및 1450 마이크로베타 왈락 트릴룩스 신틸레이션 계수기(Microbeta Wallac Trilux scintillation counter) (PerkinElmer)를 사용하여 측정하였다.

[0205] **8.1.14. 사람 면역 세포-접목된 PC-3 마우스 종양 모델**

[0206] 접종 일에, 사람 T 세포, 자가 사람 moDC (단핵구-유래된 수지상 세포) 및 PC-3 세포는 Vi-세포 XR (Beckman Coulter)로 계수하고 이들을 조합하여 1×10^7 PC-3, 1×10^6 T 세포 및 5×10^5 moDC를 NSG 마우스 (NOD.Cg-Prkdc^{scid} Il2rg^{tm1Wjl}/SzJ 마우스) 당 00 μL 둘베코 인산 완충 식염수 (DPBS) (GE Lifesciences) 중에서 피하 주사하여 전달한다. 10 mg/kg의 이소타입 대조군 모노클로날 항체 및 10 mg/kg의 Hu3738의 치료 그룹 (n= 8 마우스/그룹)을 북막내 주사를 위해 200 μL DPBS 중에서 제조하였다. 단일 항체 용량을 세포-혼합물 접종 시에 주사하였다. 종양 성장의 측정은 표준 캘리퍼 측정에 의해 평가하고 종양 성장 용적(길이 x 폭 x 높이 /2)을 계산하였다.

[0207] **8.1.15. NSG 마우스에서 사람 PBMC GVHD 모델**

- [0208] 사람 말초 혈액 단핵구 세포 (PBMCs)는 기관(A11Cells) (Oakland, CA)으로부터 구입하였다. 면역결핍 NSG 마우스 (NOD.Cg-Prkdc^{scid} Il2rg^{tm1Wj1}/SzJ)에 1일째에 2×10^7 사람 PBMC를 복막내로 접종하였다. 항-OX40 항체 Hu3738 또는 이소타입 대조군은 1일째에 개시하여 1주 1회 복막내 투여하였다. 일단 마우스가 이식편대 숙주 질환 (GVHD)(예를 들어, 구부린 자세, 주름진 털)을 나타내는 경우, 혈청 샘플을 수득하고 혈청 내 사이토킨의 수준은 루미넥스 비드 어레이 검정(Luminex bead array assay) (Millipore)을 사용하여 결정하였다.
- [0209] **실시예 2:마우스 항-OX40 항체의 생성 및 사람화**
- [0210] 마우스는 당업계에 공지된 방법에 따라 면역화시켰다(문헌참조: Harlow, D. Lane. Antibody: A Laboratory Manual, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 1998)). 마우스 이소타이핑(Mouse Isotyping) 키트(Roche)를 사용하여 각 모노클로날 항체의 이소타입을 결정하였다. 관심 대상의 항체를 생산하는 하이브리도마 클론을 정제하고, 표면 플라즈몬 공명에 의한 친화도 및 FACS에 의한 리간드 경쟁(ELISA)에 대해 추가로 특징 분석하였다.
- [0211] 발현 벡터의 클로닝 및 구축은 재조합 모노클로날 항체의 발현을 위한 당업계에 공지된 방법에 의해 성취하였다.
- [0212] 항체 V 영역의 사람화는 문헌(Queen, C. et al. (Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1989; 86:10029-10033)에 의해 명시된 바와 같이 실시하였다. CDR의 표준 구조는 Huang 등 (Methods, 2005; 36: 35-42)에 따라 결정하였다. 동일하거나 가장 유사한 CDR 표준 구조를 갖는 사람 가변성 생식선 서열이 동정되었고, 적당한 사람 VH, VL 및 J 세그먼트 서열을 선택하여 항-OX40 가변 영역에 대한 프레임워크를 제공하였다. 컴퓨터 모델이 CDR과의 상당한 접촉을 시사하는 프레임워크 위치에서, 무린 항-OX40 V 영역으로부터의 아미노산은 원래의 사람 프레임워크 아미노산으로 대체되었다(역-돌연변이).
- [0213] 항-OX40 마우스 항체 Mu3726, Mu3738, Mu3739, 및 Mu3741은 상기된 방법에 따라 사람화하였다. Mu3726 V_H의 사람화된 버전은 Hu3726 V_H.1a이고 이는 사람 V_H4-28 프레임워크 영역을 가졌고 I48M, V67I, M69I, V71R, F78V, A93V, 및 R94K의 7개의 역 돌연변이를 갖는다. Hu3726 V_H.1a는 Y48F 및 F71Y의 2개의 역 돌연변이와 함께 사람 VK1-39 프레임워크 영역을 갖는, 이의 각각의 사람화된 경쇄 Hu3726 V_L.1b와 조합하였다. Mu3738 V_H의 사람화된 버전은 Hu3738 V_H.1b이고, 이는 사람 V_H 3-7 프레임워크 영역을 갖고 W47L의 1개의 역 돌연변이를 갖는다. Hu3738 V_H.1b는 사람 VK4-1 프레임워크 영역을 갖고 어떠한 역 돌연변이도 갖지 않는 이의 각각의 사람화된 경쇄 Hu3738 V_L.1과 조합하였다. Mu3739 V_H의 사람화된 버전은 Hu3739 V_H.1b이고 이는 사람 V_H1-69 프레임워크 영역을 가졌고 M48I, V67A, E73T, 및 S76N의 4개의 역 돌연변이를 갖는다. Hu3739 V_H.1b는 V58L 및 F71Y의 2개의 역 돌연변이와 함께 사람 VK1-39 프레임워크 영역을 갖는, 이의 각각의 사람화된 경쇄 Hu3739 V_L.1b와 조합하였다. Mu3741 V_H의 사람화된 버전은 Hu3741 V_H.2b이고 이는 사람 V_H3-66 프레임워크 영역을 가졌고 A24V, V48L, S49G, F67L, R71K, N76S, 및 L78V의 7개의 역 돌연변이를 갖는다. Hu3741 V_H.2b는 Y36F 및 F71Y의 2개의 역 돌연변이와 함께 사람 VK1-39 프레임워크 영역을 갖는, 이의 각각의 사람화된 경쇄 Hu3741 V_L.1c와 조합하였다.
- [0214] **실시예 3: 항-OX40 항체의 결합 친화성**
- [0215] 하기 표 3-1은 예시적 항-OX40 항체 Hu3738 또는 미국 특허 제7,960,515호에 기재된 문헌의 항-OX40 항체 11D4 또는 18D8의 시험관내 결합 친화도 데이터를 보여준다. 11D4 및 18D8 각각은 경쇄 카파 영역을 갖는 사람 IgG₁이다.
- [0216] 본원에 사용된 바와 같은 11D4는 하기에 따른 아미노산 서열을 갖는 V_H:
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLEWVSYISSSSSTIDYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRDEDTAVYYCARESGWYLFYDWGQGLTVTVSS (서열번호 61), 및 하기에 따른 아미노산 서열을 갖는 V_L:
DIQMTQSPSSLSASVGRVITITCRASQGISWLAWYQKPEKAPKSLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLPEDFATYYCQYNSYPPTFGGGTKVEIK (서열번호 62)을 갖는다. 18D8은 하기에 따른 아미노산 서열을 갖는 V_H:
EVQLVESGGGLVQPGRLRLSCAASGFTFDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGSIYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAKQDSTADYYFYFGMDVWGGGTTTVTVSS (서열번호 63), 및 하기에 따른 아미노산 서열을 갖는 하기에 따른 아미노산 서열을 갖

는

V_L:

EIVVTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFLTITSSLEPEDFAVYYCQQRSNWPTFGQGTK
VEIK (서열번호 64)을 갖는다.

[0217] Hu3738은 표면 플라즈몬 공명에 의해 사람 OX40에 대해 강력한 결합 성질 또는 실시예 1의 검정에서 측정된 바와 같이 사람 OX40을 발현하는 형질감염된 주르켓 NF-κB 리포터 세포에서 강력한 결합 성질을 나타내며, Hu3739 또는 Hu3741과 비교하여 SPR에 의해 보다 높은 결합 친화도를 나타냈다.

[0218] [표 3-1]

사람 OX40에 대한 예시적 항체의 결합 성질			
	K _D (M)*	k ₄ (1/sec)*	주르켓 세포 표면 결합 EC ₅₀ (ng/mL)
11D4	1.6E-09	2.7E-04	55
18D8	9.1E-09	1.1E-01	258
Hu3738	4.2E-08	4.2E-02	75
Hu3739	3.6E-07	1.6E-02	N/A
Hu3741	3.0E-06	3.1E-01	N/A

*실시예 1에 따른 표면 플라즈몬 공명에 의해 결정된 바와 같이; 지수 표기법으로 나타냄(예를 들어, 3.0E-09 = 3.0 × 10⁻⁹); N/A = 가용하지 않음.

[0219]

[0220] 예시적 항-OX40 항체 Hu3738은 시노물구스 또는 레서스 몽키 OX40에 대한 교차 반응을 나타냈지만, 마우스 또는 래트 OX40에 대한 상당한 결합이 입증되지 않았다. Hu3738의 재조합 사람 또는 시노물구스(cyno) OX40, 또는 세포-표면 사람 또는 레서스 몽키 OX40으로의 결합 활성은 실시예 1에 기재된 바와 같은 검정에 의해 결정된 바와 같이 표 3-2에 요약한다.

[0221] [표 3-2]

사람, 시노물구스 또는 레서스 OX40에 대한 Hu3738의 결합 성질		
검정		EC ₅₀ (nM)
ELISA	사람	0.044
	Cyno	0.039
주르켓(Jurkat) NF-κB 세포	사람	0.50
	레서스	2.1

[0222]

[0223] 실시예 4: 항-OX40 항체 Hu3738의 시험관내 생물학적 활성

[0224] 내인성으로 발현된 사람 OX40으로의 Hu3738의 결합을 평가하기 위해, 활성화된 CD4+ T 세포 및 비자극된 말초 혈액 단핵구 세포 (PBMC) 둘다를 유동 세포측정에 의해 조사하였다. 표 4-1은 실시예 1에 기재된 검정에 따른 CD3/CD28 비드 활성화된 사람 CD4+ T 세포, 또는 피토헤마글루티닌 (PHA) 및 인터류킨-2 (IL-2) 활성화된 시노물구스 몽키 CD4+ T 세포 상의 세포 표면 OX40에 대한 Hu3738의 결합을 위한 데이터를 요약한다. 표 4-1에 나타낸 바와 같이, Hu3738은 사람 및 시노물구스 T 세포 배양물에서 활성화된 CD4+ T 세포상의 OX40에 강력하게 결합하였다.

[0225] [표 4-1]

예시적 항체 Hu3738 의 CD4+ T 세포 결합	
OX40 종	EC ₅₀ (nM)
사람	0.053
시노볼구스	0.024

[0226]

[0227]

Hu3738에 의한 사람 OX40의 서브나노몰 결합은 섹션 8.1.12에 기재된 검정에 따라 Hu3738을 사용한 시험관내 처리 후 사람 말초 혈액 CD40+ T 세포의 증가된 증식 및 사람 CD4+ T 세포에 의한 증진된 인터페론- γ 생성에 의해 입증된 바와 같이 기능적 활성화를 부여하였다(도 1a, 1b). 도 1a에 도시된 전형적인 실험에 나타난 바와 같이, Hu3738은 이소타입 대조군 huIgG₁과 비교하여 약 1.5- 내지 약 6-배로 사람 말초 혈액 CD4+ T 세포의 증식을 증가시켰고, 이는 T 세포가 유효량의 문헌의 항-OX40 항체 11D4 또는 18D8과 함께 투여되는 경우 관찰된 증식 증가에 상응하거나 이를 초과하였다. Hu3738은 8 공여자로부터의 평균 수행에서 EC₅₀ = 0.11 nM (16 ng/mL)을 보여주었다.

[0228]

도 1c는 Hu3738을 사용한 시험관내 치료 후 사람 말초 혈액 CD4+ T 세포의 증식이, 각각이 섹션 8.1.12에 기재된 T 세포 증식 검정에 따라 시험된 경우, 약 0.001 내지 약 1 μ g/mL의 광범위한 항체 농도 범위 상에서 문헌의 항-OX40 항체 1A7과 유사함을 보여준다.

[0229]

미국 공개 번호 제2015/0307617호에 기재된 항체 1A7은 카파 경쇄를 갖는 사람 IgG₁이고, 이는 하기에 따른 V_H 아미노산 서열: EVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYTFTDSYMSWVKQSHGKTLIEWIGDMPDNGDSSYNQKFKREKVTLTVDKSSSTAYMEFRSLTSEDSAVYYCVLAPRWYFSVWGVTGTTVTVSS (서열번호 69), 및 하기에 따른 V_L 아미노산 서열: DIQMTQTSSLSASLGDVRTISCRASQDISNYLNWYQQKPDGTVKLLIYYTSLRSLGVPVSRFSGSGSGKDYFLTISNLEQEDVAAYFCQQGHTLPPFTFGGGTKLEIK (서열번호 70)을 갖는다.

[0230]

도 1b에 도시된 전형적인 실험에서 보여지는 바와 같이, IFN- γ 생성은 시험된 농도 범위에 걸쳐 Hu3738로 처리된 경우 약 2- 내지 약 10-배로 사람 CD4+ T 세포에서 증가하였다. IFN- γ 생성과 관련하여, Hu3738은 9 공여자로부터의 평균 수행에서 EC₅₀ = 0.16 nM (24 ng/mL)을 나타냈다. 문헌의 항-OX40 항체 11D4 및 18D8은 또한 이들 검정 조건 하에 IFN- γ 생성에 대해 유사한 효과를 입증하였다.

[0231]

도 1d는 Hu3738가, 각각이 섹션 8.1.12에 기재된 T 세포 IFN- γ 생산 검정에 따라 시험된 경우, 문헌의 항-OX40 항체 1A7과 비교하여 사람 CD4+ T 세포에서 IFN- γ 생산을 보다 증가시킴을 보여준다.

[0232]

CD4+ T 세포의 증식을 증가시키고 IFN- γ 의 생성을 증진시키는데 있어서 다운스트림 신호전달 활성화 효과에 추가로, 예시적 항-OX40 항체 Hu3738는 또한 시험관내 사람 T 조절 세포 활성을 억제하였고, 이는 종양을 공격하기 위해 신체에 의한 면역학적 반응을 억제할 수 있는 고휘 종양 내 T 조절 세포가 Hu3738의 투여와 함께 억제될 수 있음을 시사한다.

[0233]

T 조절 활성화에 대한 Hu3738의 효과는 섹션 8.1.13에 기재된 검정에 따라 시험관내 평가하였다. 자가 CD4+/CD25- T 응답자 (Tresp) 세포는 CD4+/CD25+/CD127 낮은 T 조절 (Treg) 세포 및 활성화제 비드(Insp)와 2:1 또는 4:1 Tresp : Treg 비율로 동시 배양하였다(도 2a, 2b). Treg의 부재하에, Tresp 세포는 활성화제 비드에 응답하여 증식하였다. Treg의 존재하에, 증식은 억제되었다. 배양 내지 내 10 μ g/mL Hu3738의 내포는 Treg 매개된 억제에 대해 영향을 미치지 않았다. 이들 T 조절 억제 검정을 위해 사용되는 이소타입 대조군은 불변 영역 변이체 L234A 및 L235A를 갖는 huIgG₁이었다. 가교 결합제와 함께 huIgG₁ 이소타입 대조군을 사용하여 수행된 별도의 실험은 상기 검정에 대해 어떠한 효과를 보여주지 않았다.

[0234]

대조적으로, 외인성 가교-결합제의 존재하에, Hu3738은 Tresp 증식을 완전히 복구시켰다(도 2a 및 2b). 가교 결합제의 존재하에 Hu3738은 상기 검정에서 단독의 활성화제 비드에 대한 Tresp 응답 수준을 초과하여 증식을

증진시켰다. 상기 결과는 OX40 신호가 T 조절 세포 매개된 억제를 극복할 수 있고 상기 보고된 결과와 일치하여 항원-특이적 반응을 증진시킬 수 있다.

[0235] Hu3738에 의해 매개된 ADCC 활성은 섹션 8.1.9.에 기재된 바와 같은 상업적으로 가용한 ADCC 리포터 검정을 사용하여 평가하였다. 상기 검정은 이펙터 세포로서 사람 Fc γ R11a 및 활성화된 T 세포 (NFAT) 리포터의 핵 인자를 발현하는 가공된 주르켓 세포를 사용하였다. 사람 OX40을 발현하는 HEK 293 세포는 표적 세포로서 사용하였고, 항-OX40 항체는 표적 상에서 발현되는 OX40에 결합하는 것으로 예상되었다. 추가로, Hu3738의 Fc 영역은 리포터 세포의 세포 표면 상에 Fc γ R11a 수용체에 결합하는 것으로 예상되었다. 이들 결합 반응은 NFAT 경로 활성화의 결과로서 발광 관독을 통해 측정된 효과로서 ADCC 리포터 활성 활성화를 유도하는 2개의 세포 유형의 다중 가교 결합을 유도하였다. 이소타입 대조군과 비교하여, Hu3738은 ADCC 리포터 활성을 증가시켰고 EC₅₀ = 0.51 nM (77 ng/mL)이다.

[0236] 실시예 5: 예시적 항-OX40 항체의 에피토프 분류

[0237] 8.5.1. Hu3738와 사람/마우스 키메라 OX40의 결합

[0238] 가용성 OX40L은 OX40으로의 Hu3738 결합을 차단시켰고 섹션 8.1.5에 기재된 사람 OX40-발현 주르켓 세포 검정에서 IC₅₀ = 67 pM (10 ng/mL)이고(도 3), 이는 Hu3738이 상기 분자의 리가드 결합 영역에서 사람 OX40에 결합함을 시사한다.

[0239] Hu3738 항체 결합의 보다 상세한 에피토프 맵핑을 위해, 사람/마우스 시스테인-풍부 도메인(CRD)-대체된 OX40 분자를 발현하는 일련의 세포주를 생성하였다. 상기 방법은 Hu3738이 마우스 OX40에 결합하지 않는다는 관찰을 기초로 한다(도 4b). 사람 OX40 (서열번호 1)과 마우스 OX40 (서열번호 3)의 아미노산 서열 정렬을 도 4a에 나타낸다. 서열의 분석으로부터, 내부 대체된 마우스 CRD 서열을 갖는 사람 OX40 수용체의 키메라 버전을 발현하는 일련의 293 형질감염체를 생성하고 Hu3738로 염색하였다.

[0240] 밑줄쳐 나타난 무린 내부 대체된 영역을 갖는 사람-마우스 OX40 수용체 키메라의 아미노산 서열(신호 서열을 포함하는)은 다음과 같다. 사람 CRDI를 대체하는 무린 CRDI를 갖는 사람 OX40 키메라는 하기에 따른 아미노산 서열을 갖는다:

[0241] MCVGARRLGRGPCAALLLLGLGLSTVTGLNCVKHTYPSGHKCCRECPQHGVMVSRCDHTRDILCHPCGPGFYNDVSSKPKPCTWCNLRSGSERKQLCTATQDTVCRCRAGTQPLDSYKPGVDCAPCPPGHFSPGDNQACKPWTNCTLAGKHTLQPASNSSDAICEDRPPATQPQETQGPPARPITVQPTEAWPRTSQGPSTRPVEVPGGRAVAAILGLGLVLGLLGPLAILLALYLLRRDQRLPPDAHKKPPGGGFRTPIQEEQADAHSTLAKI (서열번호 5),

[0242] 사람 CRDII를 대체하는 무린 CRDII를 갖는 사람 OX40 키메라는 하기에 따른 아미노산 서열을 갖는다: MCVGARRLGRGPCAALLLLGLGLSTVTGLHCVGDTYPSNDRCCHECRPGNGMVSRCRSRQNTVCRPCETGFYNEAVNYDTCKOCTQCNHRSGSELKQNCTPTQDTVCRCRAGTQPLDSYKPGVDCAPCPPGHFSPGDNQACKPWTNCTLAGKHTLQPASNSSDAICEDRPPATQPQETQGPPARPITVQPTEAWPRTSQGPSTRPVEVPGGRAVAAILGLGLVLGLLGPLAILLALYLLRRDQRLPPDAHKKPPGGGFRTPIQEEQADAHSTLAKI (서열번호 6),

[0243] 사람 CRDIII를 대체하는 무린 CRDIII를 갖는 사람 OX40 키메라는 하기에 따른 아미노산 서열을 갖는다:

[0244] MCVGARRLGRGPCAALLLLGLGLSTVTGLHCVGDTYPSNDRCCHECRPGNGMVSRCRSRQNTVCRPCGPGFYNDVSSKPKPCTWCNLRSGSERKQLCTATQDTVCRCPGTQPRQDSGYKLGVDVCPGPHFSPGDNQACKPWTNCTLAGKHTLQPASNSSDAICEDRPPATQPQETQGPPARPITVQPTEAWPRTSQGPSTRPVEVPGGRAVAAILGLGLVLGLLGPLAILLALYLLRRDQRLPPDAHKKPPGGGFRTPIQEEQADAHSTLAKI (서열번호 7),

[0245] 사람 CRDIV를 대체하는 무린 CRDIV를 갖는 사람 OX40 키메라는 하기에 따른 아미노산 서열을 갖는다:

[0246] MCVGARRLGRGPCAALLLLGLGLSTVTGLHCVGDTYPSNDRCCHECRPGNGMVSRCRSRQNTVCRPCGPGFYNDVSSKPKPCTWCNLRSGSERKQLCTATQDTVCRCRAGTQPLDSYKPGVDCAPCPPGHFSPGNNQACKPWTNCTLSGKQTRHPASDSLDAVCEDRPPATQPQETQGPPARPITVQPTEAWPRTSQGPSTRPVEVPGGRAVAAILGLGLVLGLLGPLAILLALYLLRRDQRLPPDAHKKPPGGGFRTPIQEEQADAHSTLAKI (서열번호 8),

[0247] 그리고 사람 CRDII 및 CRDIII를 대체하는 무린 CRDII 및 CRDIII를 갖는 사람 OX40 키메라는 하기에 따른 아미노산 서열을 갖는다:

[0248] MCVGARRLGRGPCAALLLLGLGLSTVTGLHCVGDTYPSNDRCCHECRPGNGMVSRCRSRQNTVCRPCETGFYNEAVNYDTCKOCTQCNHRSGSELKQNCTPTQDTVCRCPGTQPRQDSGYKLGVDVCPGPHFSPGDNQACKPWTNCTLAGKHTLQPASNSSDAICEDRPPATQPQETQGPPARPITVQPTEAWPRTSQGPSTRPVEVPGGRAVAAILGLGLVLGLLGPLAILLALYLLRRDQRLPPDAHKKPPGGGFRTPIQEEQADAHSTLAKI (서열번호 9).

[0249] 이러한 일련의 키메라에 대한 Hu3738의 결합 결정은 섹션 8.1.7에 기재된 검정에 따라 수행하여 특이적 CRD 영

역에 대한 결합 부위를 국한시켰다. 결합 상실은 CRD가 특정 항체에 의한 OX40 인지를 위해 중요함을 시사하였다. 이 경우에, 마우스 내 특이적 CRD-대체된 영역으로의 검출가능한 결합의 부재는 Hu3738에 의해 인지되는 사람 OX40 수용체의 영역을 시사하였다. 항-OX40 항체 Hu3738는 사람 CRDII가 상응하는 마우스 CRDII로 대체되는 경우 결합을 상실하는 것으로 나타났고, 이는 Hu3738이 사람 OX40의 CRDII에 결합하는 것과 일치한다(도 4b).

[0250] **8.5.2. 사람 OX40에 결합되는 예시적 항-OX40 항체 Hu3738와의 경쟁 검정**

[0251] 추가 문헌의 사람화된 항-OX40 항체는 본원의 개시내용의 예시적 항-OX40 항체와 비교하기 위해 제조하였다. 미국 공개 공보 제2013/0280275호에 기재된 항체 106-222와 119-122는 카파 경쇄를 갖는 사람 IgG₁이다.

[0252] 항체 106-222는 하기에 따른 V_H 아미노산 서열:

[0253] QVQLVQSGSELKPKGASVKVSKASGYFTDYSMHVWRQAPGQGLKWMGWINTETGEPTYADDFKGRFVFSLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCANPYDDYVSYIAMDYWGQGTITVTVSS (서열번호 65), 및

[0254] 하기에 따른 V_L 아미노산 서열:

[0255] DIQMTQSPSSLSASVGRVITITCKASQDVSTAVAWYQQKPKAPKLLIYSASYLYTGVPSTRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCQQHYSTPRTFGQGT KLEIK (서열번호 66)을 갖는다.

[0256] 항체 119-122는 하기에 따른 V_H 아미노산 서열:

[0257] EVQLVESGGGLVQPGLSLRSCAASEYEFPSHDMSVWRQAPGKGLLELVAAINSDGGSTIYPDTMERRFTISRDNKNSLYLQMNLSRAEDTAVYYCARHYDDYYAWFAYWGQGTMTVTVSS (서열번호 67), 및

[0258] 하기에 따른 V_L 아미노산 서열:

[0259] EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASKSVSTSGYSYMHWYQQKPGQAPRLLIYLSANLESGVPARFSGSGSGTDFTLTITSSLEPEDFAVYYCQHSRELPLTFGGGTKVEIK (서열번호 68)를 갖는다.

[0260] 세포-표면 발현된 OX40으로의 Hu3738의 결합은 직접적인 경쟁 연구에 의해 일부와는 경쟁하지만 문헌의 모든 항-OX40 항체와는 경쟁하지 않는 것으로 나타났다. 도 5에 나타낸 바와 같이, 문헌의 항체의 적정 용량으로 처리된 주르캣-NF-κB-huOX40 세포는 이어서 후속적으로 2 μg/mL의 형광성 ALEXA FLUOR® 647-표지된 Hu3738에 적용하여 결합 경쟁을 결정하였다. 분석은 유동 세포측정에 의해 수행하였다. 문헌의 항-OX40 항체 106-222 또는 1A7은 Hu3738과 경쟁하였다. 그러나, 항체 11D4, 18D8, 또는 119-122는 100 μg/mL 까지 Hu3738과 경쟁하지 않았다.

[0261] **실시예 6: 예시적 항-OX40 항체 Hu3738에 의한 OX40 활성화**

[0262] 주르캣 NF-κB 세포 데이터는 가교 결합제의 부재하에서도 예시적 항-OX40 항체 Hu3738의 활성화 능력을 강조한다(도 6a, 6b). 도 6a에 나타낸 바와 같이, 약 0.001 내지 약 100 μg/mL의 항체 농도 범위에 걸쳐 유의적 NF-κB 신호 전달 활성을 입증한 유일한 항-OX40 항체는 Hu3738 및 상응하는 무린 Mu3738이었다. 문헌의 항-OX40 항체 11D4, 18D8, 106-222, 및 119-122는 각각 약 100 μg/mL의 항체까지 유의적 NF-κB 신호 전달 효과가 없었다.

[0263] 외인성 가교 결합의 부재하에 Hu3738의 활성화는 동일한 검정 조건하에서 다른 문헌의 항-OX40 항체의 활성화 부재와는 대조적이었다. NF-κB 세포 신호 전달 데이터의 요약은 표 6-1 및 6-2에 나타낸다. 주지할만하게, Hu3738이 사람 OX40과 결합하는 것에 대해 문헌의 항-OX40 항체 106-222 및 1A7와 경쟁하지만, Hu3738은 가교 결합제의 부재하의 각각의 항체와 비교하여 상이한 기능적 활성을 나타냈다.

[0264] [표 6-1]

주르켓-NF-κB-huOX40 세포에서 NF-κB 신호 전달		
항체	가교 결합제 부재하에 EC ₅₀ (nM)	가교 결합제 존재하에 EC ₅₀ (nM)
Hu3738	20	0.088
11D4	NS*	0.94
18D8	NS*	0.50
106-222	NS*	0.63
119-122	NS*	0.34
이소타입	NS*	NS*

* NS = 100 μg/mL 항체까지 어떠한 유의적 NF-κB 신호 전달이 없음 ; N/A = 가용하지 않음.

[0265]

[0266] 주르켓-NF-κB-huOX40 세포에서 외인성 가교 결합제의 부재하에 NF-κB 신호 전달을 수행하기 위한 이의 능력에 추가로, Hu3738은 또한 문헌의 항-OX40 항체 11D4, 18D8, 106-222, 및 119-122와 비교하여, 가교 결합제와 함께 EC₅₀에 의해 측정된 바와 같이 보다 큰 효능을 입증하였다(표 6-1).

[0267] Hu3738과 1A7의 병행 비교는 도 6b에 나타내고 하기 표 6-2에 요약한다. 주르켓-NF-κB-huOX40 세포에서 외인성 가교 결합제의 부재하에 NF-κB 신호 전달의 부재에 추가로, 상기된 문헌의 항-OX40 항체 각각은 또한 Hu3738과 비교하여 보다 낮은 EC₅₀을 나타냈다.

[0268] [표 6-2]

주르켓-NF-κB-huOX40 세포에서 NF-κB 신호 전달		
항체	가교 결합제 부재하에 EC ₅₀ (nM)	가교 결합제 존재하에 EC ₅₀ (nM)
Hu3738	22	0.020
1A7	NS*	0.066
이소타입	NS*	NS*

* NS = 100 μg/mL 항체까지 어떠한 유의적 NF-κB 신호 전달이 없음.

[0269]

[0270] 실시예 7: 마우스에서 사람 세포 입양 전달 모델에서 Hu3738의 항-종양 활성

[0271] Hu3738은 섹션 8.1.14에 기재된 프로토콜에 따라 사람 PC3 세포, T 세포 및 자가 단핵구-유래된 수지상 세포 (moDC)로의 단일 용량 접종 후 생체내 NSG 마우스 모델에서 항-종양 활성을 입증하였다(도 7). 접종 일, 사람 T 세포, moDC 및 PC3 세포는 각각의 NSG 마우스에 피하 주사에 의해 전달하였다. 이소타입 대조군 모노클로날 항체 또는 Hu3738 (10 mg/kg)는 각각 각각의 처리 그룹 (n=8)에서 동물 당 복막내로 투여하고 항체 용량은 접종시에 주사하였다. 종양 성장의 측정은 표준 캘리퍼 측정에 의해 평가하고 종양 성장 용적(길이 x 폭 x 높이/2)을 계산하였다.

[0272] 도 7에 나타낸 바와 같이, Hu3738은 등가 용량의 이소타입 대조군 항체와 비교하여 접종 17일 후 NSG 마우스에서 PC3 종양의 성장을 상당히 억제하였다.

[0273] 실시예 8: 사람 PBMC GVHD 모델에서 생체내 면역 활성화

[0274] NSG 마우스는 사람 PBMC를 복막내로 접종하였다. 마우스는 이어서 사람 세포로 접종 직후 1일째 제1 용량과 함께 1 mg/kg Hu3738 또는 huIgG₁ 이소타입 대조군 q7d X 4 (즉, 총 4개 용량에 대해 7일 마다 1회)으로 처리하였다. 22일째에, 마우스는 희생시키고 혈청 중 사이토킨 수준은 루미넥스 비드 어레이 검정 (Luminex bead array assay) (Millipore)을 사용하여 결정하였다.

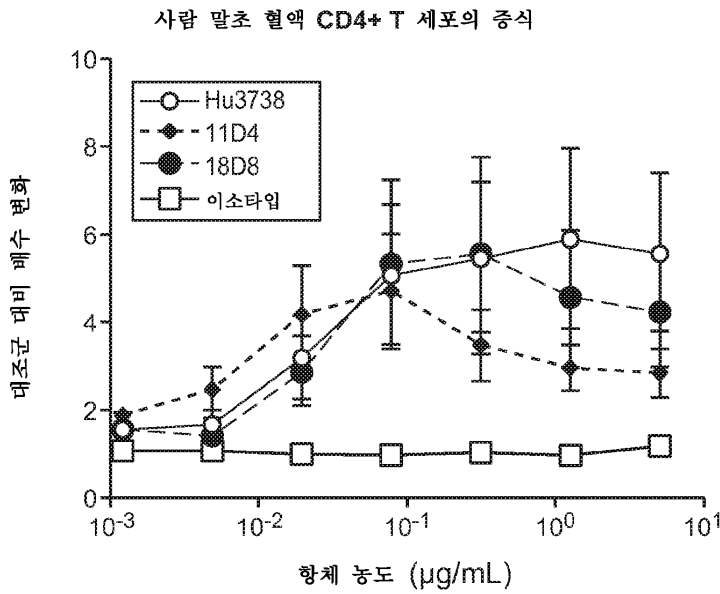
[0275] 도 8에서의 결과는 인터류킨-8(IL-8), 과립구 대식세포 콜로니-자극 인자 (GM-CSF), 종양 괴사 인자 알파 (TNF-α), 및 인터페론-감마(IFN-γ)에서의 증진이 이소타입과 비교하여 항-OX40 항체 Hu3738의 투여 후 관찰되었음을 입증하였고, 이는 H3738로 인해 마우스에서 면역학적 반응이 증가됨을 시사한다.

[0276] 본원에 인용된 모든 공보, 특히, 특허 출원 및 기타 문헌은 각각의 개별 공보, 특허, 특허 출원 또는 기타 문헌이 모든 목적을 위해 참고로 포함되도록 개별적으로 표시되는 경우와 동일한 정도로 모든 목적을 위해 그 전체가 본원에 참고로 통합된다.

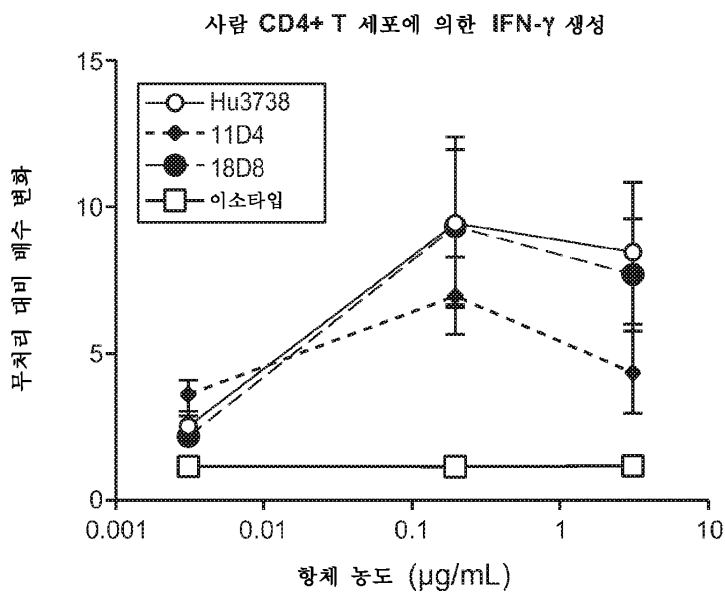
[0277] 다양한 특정 구현예가 도시되고 기술되었지만, 본 발명의 사상 및 범위를 벗어나지 않으면서 다양한 변경이 이루어질 수 있음을 이해할 것이다.

도면

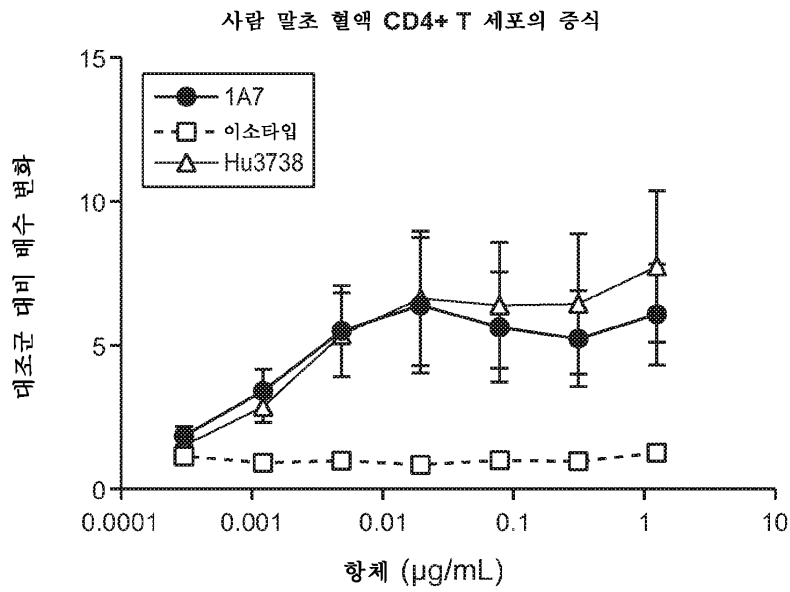
도면1a



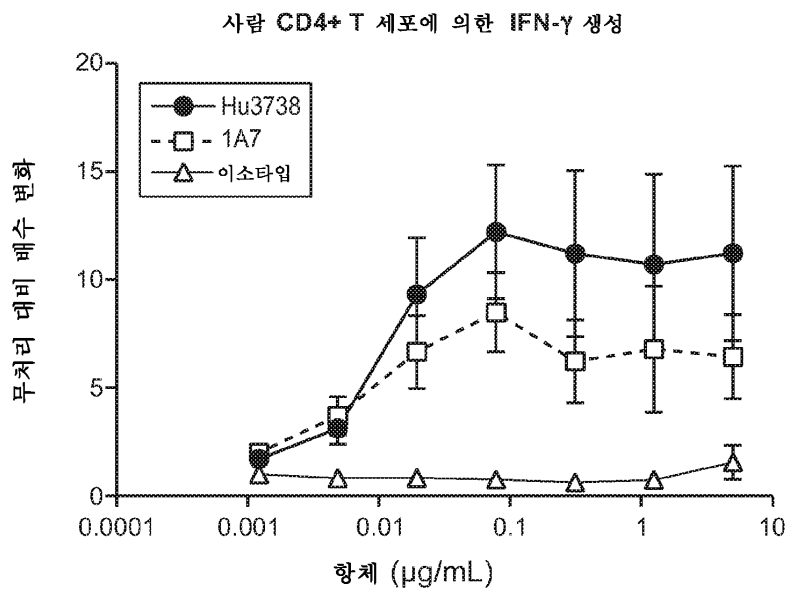
도면1b



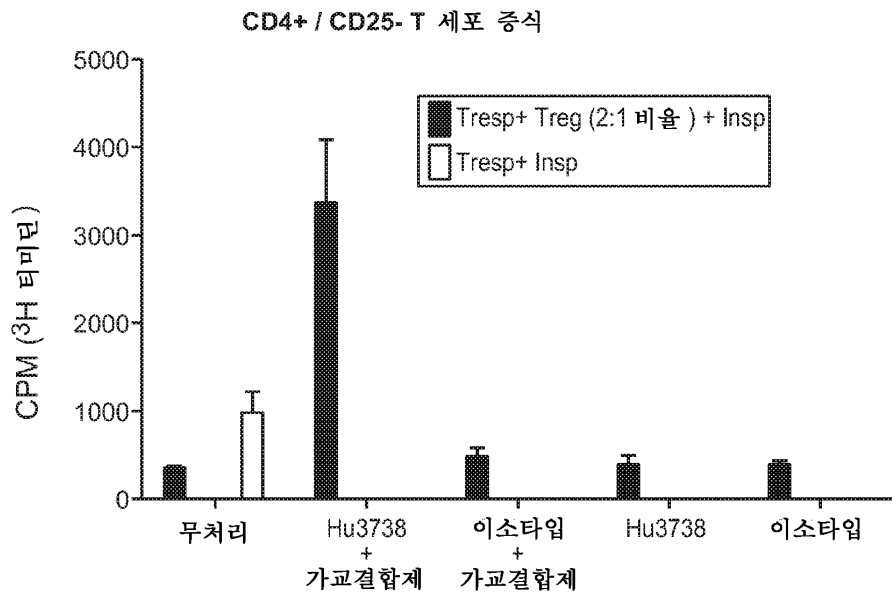
도면1c



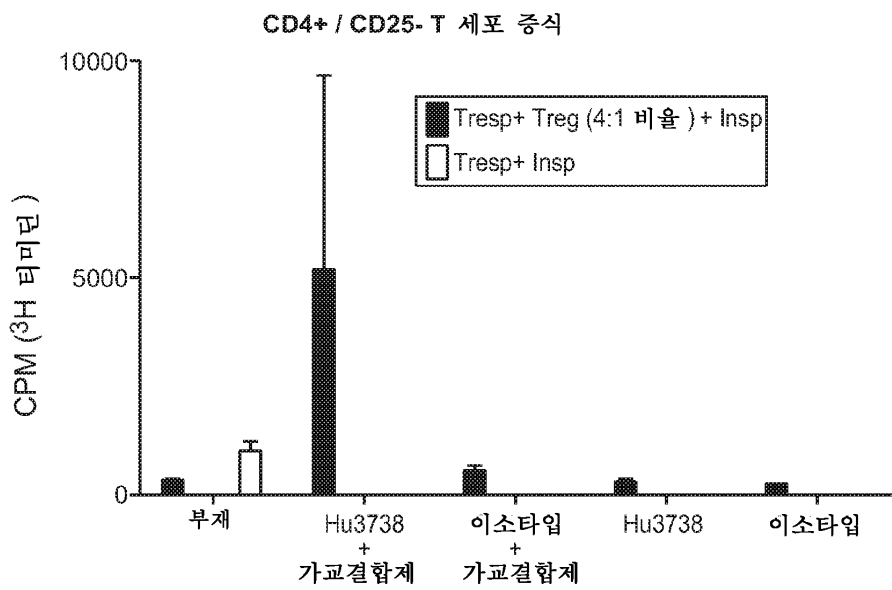
도면1d



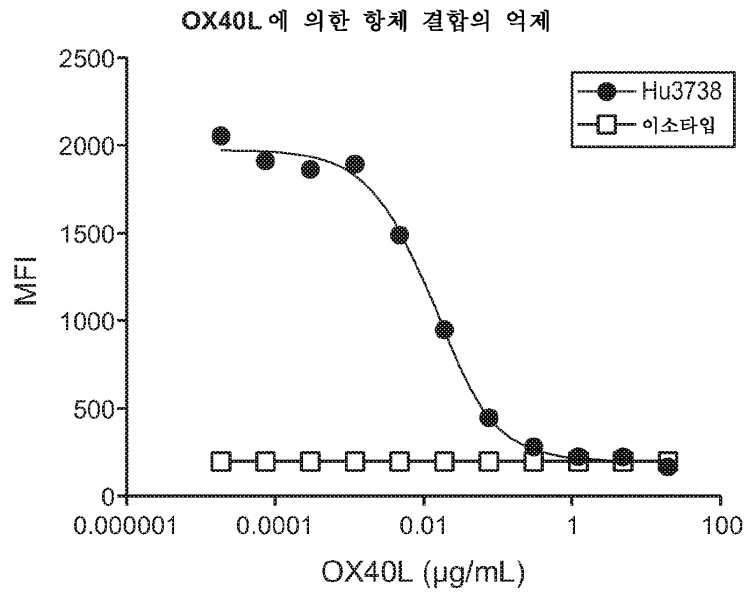
도면2a



도면2b



도면3



도면4a

신호 계열

[CRDI]

[CRDII]

[CRDIII]

[CRDIV]

마관봉

사람 MCVGARRLGRGPCAALLLLGLGLS - TVTGLHCVGDITYPSNDRRCHECRPGNGMVSRCSRS
 마우스 MY - - - - VVVQPTALLLLGLTLGVTARRLNCVKHTYPSGHKCCRECPGHGMVSRCDHT

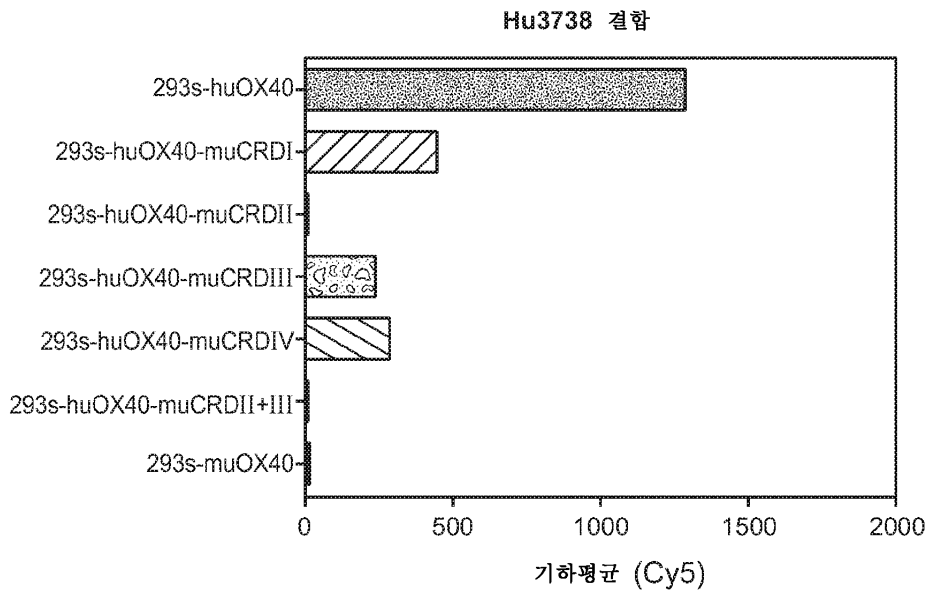
사람 QNTVCRPCGGFFYNDVVSSKPKPCTWCNLRSGSEKQLCTATQDTVCRCRAGTQPLD - -
 마우스 RDTLCHPCETGFYNEAVNYDTCKQCTQCNHRSGSELKQNC TPTQDTVCRCRPGTQPRQDS

사람 SYKPGVDCAPCPPGHFSPGDNOACKPWNTNCTLAGKHTLQPPASNSSDAICEIDRDRPPATQPO
 마우스 GYKLGVDCVPCPPGHFSPGNNOACKPWNTNCTLSGKQTRHPASDSLDAVCEDRSLLATLLW

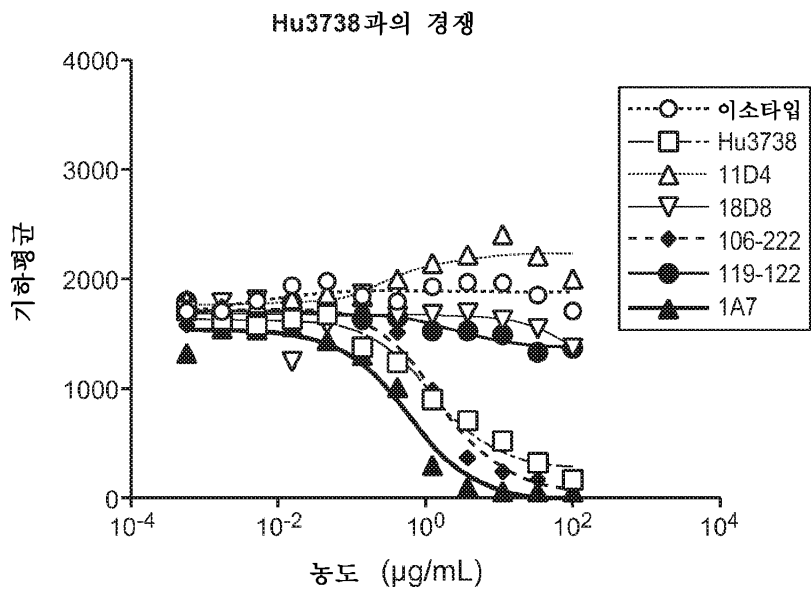
사람 ETQGP PARPI TVQPT EAWPRTSQGPSTRPVEVPGGRAVAA:ILGLGLVLLGLLGLLAL
 마우스 ETQRPTFRPTTVQSTTVWPRRTSELPSPPTLVTPPEGPA:FAVLLGLG - - LGLLAPLTVLLAL

사람 YLLRRDQRLPPDAHKKPPGGGSFRFTPIQEEQADAHSTLAKI (서열번호:1)
 마우스 YLLRKAWRLLPN - TPKPCWGNFRFTPIQEEHTDAHFTLAKI (서열번호:3)

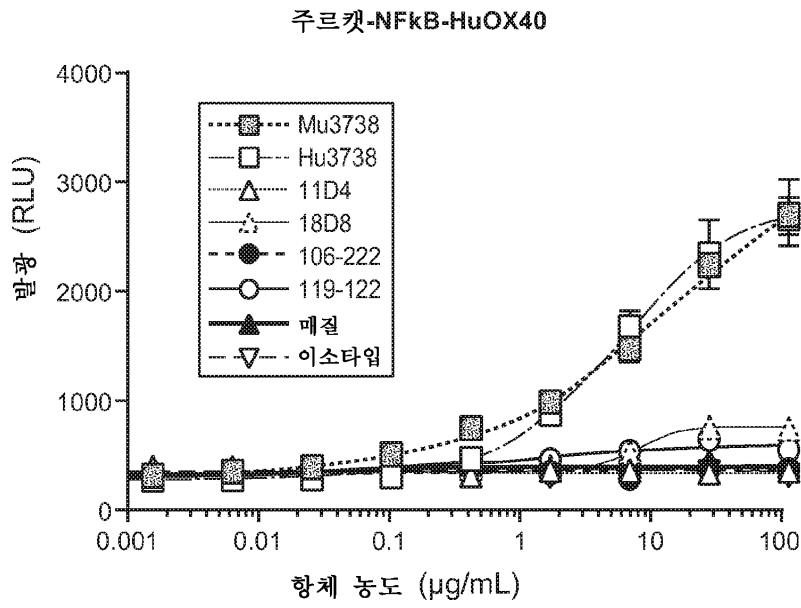
도면4b



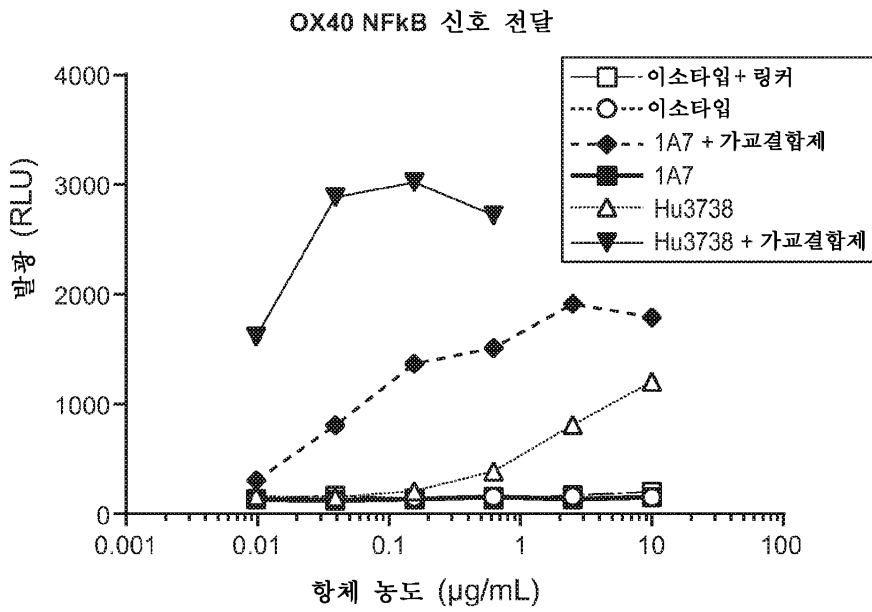
도면5



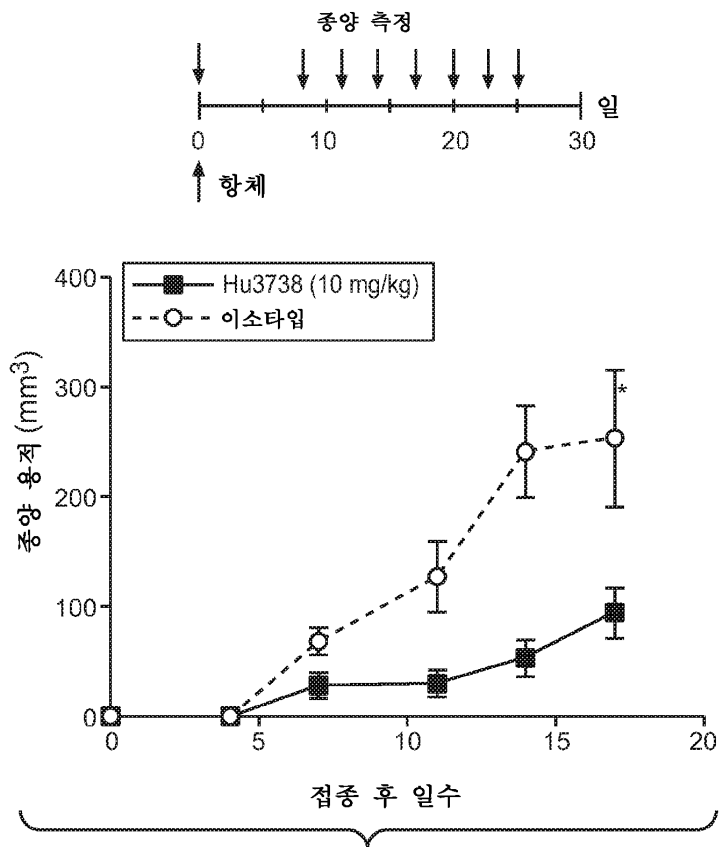
도면6a



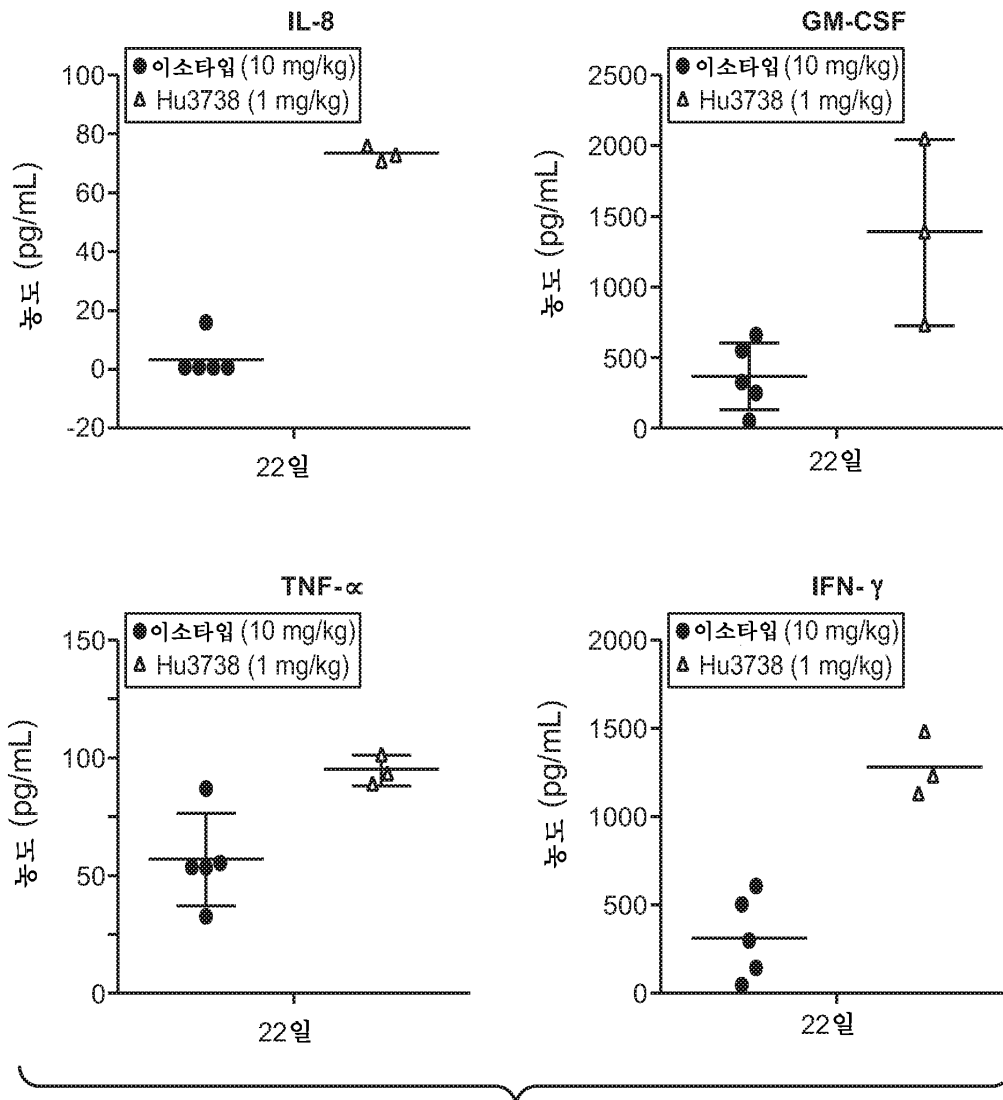
도면6b



도면7



도면8



서열목록

<110> ABBVIE BIOTHERAPEUTICS INC.

<120> ANTI-OX40 ANTIBODIES AND THEIR USES

<130> 381493-368W0

<140><141><150> 62/434,761

<151> 2016-12-15

<160> 136

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 277

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

Met Cys Val Gly Ala Arg Arg Leu Gly Arg Gly Pro Cys Ala Ala Leu
 1 5 10 15

Leu Leu Leu Gly Leu Gly Leu Ser Thr Val Thr Gly Leu His Cys Val
 20 25 30

Gly Asp Thr Tyr Pro Ser Asn Asp Arg Cys Cys His Glu Cys Arg Pro
 35 40 45

Gly Asn Gly Met Val Ser Arg Cys Ser Arg Ser Gln Asn Thr Val Cys
 50 55 60

Arg Pro Cys Gly Pro Gly Phe Tyr Asn Asp Val Val Ser Ser Lys Pro
 65 70 75 80

Cys Lys Pro Cys Thr Trp Cys Asn Leu Arg Ser Gly Ser Glu Arg Lys
 85 90 95

Gln Leu Cys Thr Ala Thr Gln Asp Thr Val Cys Arg Cys Arg Ala Gly
 100 105 110

Thr Gln Pro Leu Asp Ser Tyr Lys Pro Gly Val Asp Cys Ala Pro Cys
 115 120 125

Pro Pro Gly His Phe Ser Pro Gly Asp Asn Gln Ala Cys Lys Pro Trp
 130 135 140

Thr Asn Cys Thr Leu Ala Gly Lys His Thr Leu Gln Pro Ala Ser Asn
 145 150 155 160

Ser Ser Asp Ala Ile Cys Glu Asp Arg Asp Pro Pro Ala Thr Gln Pro
 165 170 175

Gln Glu Thr Gln Gly Pro Pro Ala Arg Pro Ile Thr Val Gln Pro Thr
 180 185 190

Glu Ala Trp Pro Arg Thr Ser Gln Gly Pro Ser Thr Arg Pro Val Glu
 195 200 205

Val Pro Gly Gly Arg Ala Val Ala Ala Ile Leu Gly Leu Gly Leu Val
 210 215 220

Leu Gly Leu Leu Gly Pro Leu Ala Ile Leu Leu Ala Leu Tyr Leu Leu
 225 230 235 240

Arg Arg Asp Gln Arg Leu Pro Pro Asp Ala His Lys Pro Pro Gly Gly
 245 250 255
 Gly Ser Phe Arg Thr Pro Ile Gln Glu Glu Gln Ala Asp Ala His Ser
 260 265 270
 Thr Leu Ala Lys Ile
 275

<210> 2

<211> 277

<212> PRT

<213> *Macaca fascicularis*

<400> 2

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

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

Pro Pro Gly His Phe Ser Pro Gly Asp Asn Gln Ala Cys Lys Pro Trp
 130 135 140
 Thr Asn Cys Thr Leu Ala Gly Lys His Thr Leu Gln Pro Ala Ser Asn
 145 150 155 160
 Ser Ser Asp Ala Ile Cys Glu Asp Arg Asp Pro Pro Pro Thr Gln Pro

165 170 175
 Gln Glu Thr Gln Gly Pro Pro Ala Arg Pro Thr Thr Val Gln Pro Thr
 180 185 190

Glu Ala Trp Pro Arg Thr Ser Gln Arg Pro Ser Thr Arg Pro Val Glu
 195 200 205

Val Pro Arg Gly Pro Ala Val Ala Ala Ile Leu Gly Leu Gly Leu Ala
 210 215 220

Leu Gly Leu Leu Gly Pro Leu Ala Met Leu Leu Ala Leu Leu Leu Leu
 225 230 235 240

Arg Arg Asp Gln Arg Leu Pro Pro Asp Ala Pro Lys Ala Pro Gly Gly
 245 250 255

Gly Ser Phe Arg Thr Pro Ile Gln Glu Glu Gln Ala Asp Ala His Ser
 260 265 270

Ala Leu Ala Lys Ile
 275

<210> 3

<211> 272

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 3

Met Tyr Val Trp Val Gln Gln Pro Thr Ala Leu Leu Leu Leu Gly Leu
 1 5 10 15

Thr Leu Gly Val Thr Ala Arg Arg Leu Asn Cys Val Lys His Thr Tyr
 20 25 30

Pro Ser Gly His Lys Cys Cys Arg Glu Cys Gln Pro Gly His Gly Met
 35 40 45

Val Ser Arg Cys Asp His Thr Arg Asp Thr Leu Cys His Pro Cys Glu
 50 55 60

Thr Gly Phe Tyr Asn Glu Ala Val Asn Tyr Asp Thr Cys Lys Gln Cys
 65 70 75 80

Thr Gln Cys Asn His Arg Ser Gly Ser Glu Leu Lys Gln Asn Cys Thr
 85 90 95

Pro Thr Gln Asp Thr Val Cys Arg Cys Arg Pro Gly Thr Gln Pro Arg

100 105 110

Gln Asp Ser Gly Tyr Lys Leu Gly Val Asp Cys Val Pro Cys Pro Pro

115 120 125

Gly His Phe Ser Pro Gly Asn Asn Gln Ala Cys Lys Pro Trp Thr Asn

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Thr Gln Arg Pro Thr Phe Arg Pro Thr Thr Val Gln Ser Thr Thr Val

180 185 190

Trp Pro Arg Thr Ser Glu Leu Pro Ser Pro Pro Thr Leu Val Thr Pro

195 200 205

Glu Gly Pro Ala Phe Ala Val Leu Leu Gly Leu Gly Leu Gly Leu Leu

210 215 220

Ala Pro Leu Thr Val Leu Leu Ala Leu Tyr Leu Leu Arg Lys Ala Trp

225 230 235 240

Arg Leu Pro Asn Thr Pro Lys Pro Cys Trp Gly Asn Ser Phe Arg Thr

245 250 255

Pro Ile Gln Glu Glu His Thr Asp Ala His Phe Thr Leu Ala Lys Ile

260 265 270

<210> 4

<211> 183

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 4

Met Glu Arg Val Gln Pro Leu Glu Glu Asn Val Gly Asn Ala Ala Arg

1 5 10 15

Pro Arg Phe Glu Arg Asn Lys Leu Leu Leu Val Ala Ser Val Ile Gln

20 25 30

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

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

Tyr Lys Asp Lys Val Tyr Leu Asn Val Thr Thr Asp Asn Thr Ser Leu
 145 150 155 160
 Asp Asp Phe His Val Asn Gly Gly Glu Leu Ile Leu Ile His Gln Asn
 165 170 175

Pro Gly Glu Phe Cys Val Leu
 180

<210> 5

<211> 277

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 5

Met Cys Val Gly Ala Arg Arg Leu Gly Arg Gly Pro Cys Ala Ala Leu
 1 5 10 15
 Leu Leu Leu Gly Leu Gly Leu Ser Thr Val Thr Gly Leu Asn Cys Val
 20 25 30

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

275

<210> 6

<211> 277

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 6

Met Cys Val Gly Ala Arg Arg Leu Gly Arg Gly Pro Cys Ala Ala Leu

1 5 10 15

Leu Leu Leu Gly Leu Gly Leu Ser Thr Val Thr Gly Leu His Cys Val

 20 25 30

Gly Asp Thr Tyr Pro Ser Asn Asp Arg Cys Cys His Glu Cys Arg Pro

 35 40 45

Gly Asn Gly Met Val Ser Arg Cys Ser Arg Ser Gln Asn Thr Val Cys

 50 55 60

Arg Pro Cys Glu Thr Gly Phe Tyr Asn Glu Ala Val Asn Tyr Asp Thr

65 70 75 80

Cys Lys Gln Cys Thr Gln Cys Asn His Arg Ser Gly Ser Glu Leu Lys

 85 90 95

Gln Asn Cys Thr Pro Thr Gln Asp Thr Val Cys Arg Cys Arg Ala Gly

 100 105 110

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

 115 120 125

Pro Pro Gly His Phe Ser Pro Gly Asp Asn Gln Ala Cys Lys Pro Trp

 130 135 140

Thr Asn Cys Thr Leu Ala Gly Lys His Thr Leu Gln Pro Ala Ser Asn

145 150 155 160

Ser Ser Asp Ala Ile Cys Glu Asp Arg Asp Pro Pro Ala Thr Gln Pro

 165 170 175

Gln Glu Thr Gln Gly Pro Pro Ala Arg Pro Ile Thr Val Gln Pro Thr

180 185 190
 Glu Ala Trp Pro Arg Thr Ser Gln Gly Pro Ser Thr Arg Pro Val Glu
 195 200 205
 Val Pro Gly Gly Arg Ala Val Ala Ala Ile Leu Gly Leu Gly Leu Val
 210 215 220

 Leu Gly Leu Leu Gly Pro Leu Ala Ile Leu Leu Ala Leu Tyr Leu Leu
 225 230 235 240
 Arg Arg Asp Gln Arg Leu Pro Pro Asp Ala His Lys Pro Pro Gly Gly
 245 250 255
 Gly Ser Phe Arg Thr Pro Ile Gln Glu Glu Gln Ala Asp Ala His Ser
 260 265 270
 Thr Leu Ala Lys Ile
 275
 <210> 7
 <211> 279
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221
 > source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide"
 <400> 7
 Met Cys Val Gly Ala Arg Arg Leu Gly Arg Gly Pro Cys Ala Ala Leu
 1 5 10 15
 Leu Leu Leu Gly Leu Gly Leu Ser Thr Val Thr Gly Leu His Cys Val
 20 25 30
 Gly Asp Thr Tyr Pro Ser Asn Asp Arg Cys Cys His Glu Cys Arg Pro
 35 40 45
 Gly Asn Gly Met Val Ser Arg Cys Ser Arg Ser Gln Asn Thr Val Cys

 50 55 60
 Arg Pro Cys Gly Pro Gly Phe Tyr Asn Asp Val Val Ser Ser Lys Pro
 65 70 75 80
 Cys Lys Pro Cys Thr Trp Cys Asn Leu Arg Ser Gly Ser Glu Arg Lys

85 90 95
 Gln Leu Cys Thr Ala Thr Gln Asp Thr Val Cys Arg Cys Arg Pro Gly
 100 105 110
 Thr Gln Pro Arg Gln Asp Ser Gly Tyr Lys Leu Gly Val Asp Cys Val
 115 120 125
 Pro Cys Pro Pro Gly His Phe Ser Pro Gly Asp Asn Gln Ala Cys Lys
 130 135 140
 Pro Trp Thr Asn Cys Thr Leu Ala Gly Lys His Thr Leu Gln Pro Ala
 145 150 155 160
 Ser Asn Ser Ser Asp Ala Ile Cys Glu Asp Arg Asp Pro Pro Ala Thr
 165 170 175
 Gln Pro Gln Glu Thr Gln Gly Pro Pro Ala Arg Pro Ile Thr Val Gln
 180 185 190
 Pro Thr Glu Ala Trp Pro Arg Thr Ser Gln Gly Pro Ser Thr Arg Pro
 195 200 205
 Val Glu Val Pro Gly Gly Arg Ala Val Ala Ala Ile Leu Gly Leu Gly
 210 215 220
 Leu Val Leu Gly Leu Leu Gly Pro Leu Ala Ile Leu Leu Ala Leu Tyr
 225 230 235 240
 Leu Leu Arg Arg Asp Gln Arg Leu Pro Pro Asp Ala His Lys Pro Pro
 245 250 255
 Gly Gly Gly Ser Phe Arg Thr Pro Ile Gln Glu Glu Gln Ala Asp Ala
 260 265 270
 His Ser Thr Leu Ala Lys Ile
 275
 <210> 8
 <211> 277
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide"

<400> 8

Met Cys Val Gly Ala Arg Arg Leu Gly Arg Gly Pro Cys Ala Ala Leu
 1 5 10 15

Leu Leu Leu Gly Leu Gly Leu Ser Thr Val Thr Gly Leu His Cys Val
 20 25 30

Gly Asp Thr Tyr Pro Ser Asn Asp Arg Cys Cys His Glu Cys Arg Pro
 35 40 45

Gly Asn Gly Met Val Ser Arg Cys Ser Arg Ser Gln Asn Thr Val Cys
 50 55 60

Arg Pro Cys Gly Pro Gly Phe Tyr Asn Asp Val Val Ser Ser Lys Pro
 65 70 75 80

Cys Lys Pro Cys Thr Trp Cys Asn Leu Arg Ser Gly Ser Glu Arg Lys
 85 90 95

Gln Leu Cys Thr Ala Thr Gln Asp Thr Val Cys Arg Cys Arg Ala Gly
 100 105 110

Thr Gln Pro Leu Asp Ser Tyr Lys Pro Gly Val Asp Cys Ala Pro Cys
 115 120 125

Pro Pro Gly His Phe Ser Pro Gly Asn Asn Gln Ala Cys Lys Pro Trp
 130 135 140

Thr Asn Cys Thr Leu Ser Gly Lys Gln Thr Arg His Pro Ala Ser Asp
 145 150 155 160

Ser Leu Asp Ala Val Cys Glu Asp Arg Asp Pro Pro Ala Thr Gln Pro
 165 170 175

Gln Glu Thr Gln Gly Pro Pro Ala Arg Pro Ile Thr Val Gln Pro Thr
 180 185 190

Glu Ala Trp Pro Arg Thr Ser Gln Gly Pro Ser Thr Arg Pro Val Glu
 195 200 205

Val Pro Gly Gly Arg Ala Val Ala Ala Ile Leu Gly Leu Gly Leu Val
 210 215 220

Leu Gly Leu Leu Gly Pro Leu Ala Ile Leu Leu Ala Leu Tyr Leu Leu
 225 230 235 240

Arg Arg Asp Gln Arg Leu Pro Pro Asp Ala His Lys Pro Pro Gly Gly
 245 250 255

Gly Ser Phe Arg Thr Pro Ile Gln Glu Glu Gln Ala Asp Ala His Ser
 260 265 270

Thr Leu Ala Lys Ile
 275

<210> 9

<211> 279

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 9

Met Cys Val Gly Ala Arg Arg Leu Gly Arg Gly Pro Cys Ala Ala Leu
 1 5 10 15

Leu Leu Leu Gly Leu Gly Leu Ser Thr Val Thr Gly Leu His Cys Val
 20 25 30

Gly Asp Thr Tyr Pro Ser Asn Asp Arg Cys Cys His Glu Cys Arg Pro
 35 40 45

Gly Asn Gly Met Val Ser Arg Cys Ser Arg Ser Gln Asn Thr Val Cys
 50 55 60

Arg Pro Cys Glu Thr Gly Phe Tyr Asn Glu Ala Val Asn Tyr Asp Thr
 65 70 75 80

Cys Lys Gln Cys Thr Gln Cys Asn His Arg Ser Gly Ser Glu Leu Lys
 85 90 95

Gln Asn Cys Thr Pro Thr Gln Asp Thr Val Cys Arg Cys Arg Pro Gly
 100 105 110

Thr Gln Pro Arg Gln Asp Ser Gly Tyr Lys Leu Gly Val Asp Cys Val
 115 120 125

Pro Cys Pro Pro Gly His Phe Ser Pro Gly Asp Asn Gln Ala Cys Lys
 130 135 140

Pro Trp Thr Asn Cys Thr Leu Ala Gly Lys His Thr Leu Gln Pro Ala
 145 150 155 160
 Ser Asn Ser Ser Asp Ala Ile Cys Glu Asp Arg Asp Pro Pro Ala Thr
 165 170 175
 Gln Pro Gln Glu Thr Gln Gly Pro Pro Ala Arg Pro Ile Thr Val Gln
 180 185 190
 Pro Thr Glu Ala Trp Pro Arg Thr Ser Gln Gly Pro Ser Thr Arg Pro
 195 200 205
 Val Glu Val Pro Gly Gly Arg Ala Val Ala Ala Ile Leu Gly Leu Gly
 210 215 220
 Leu Val Leu Gly Leu Leu Gly Pro Leu Ala Ile Leu Leu Ala Leu Tyr
 225 230 235 240
 Leu Leu Arg Arg Asp Gln Arg Leu Pro Pro Asp Ala His Lys Pro Pro
 245 250 255
 Gly Gly Gly Ser Phe Arg Thr Pro Ile Gln Glu Glu Gln Ala Asp Ala
 260 265 270
 His Ser Thr Leu Ala Lys Ile
 275
 <210> 10
 <400> 10
 000
 <210> 11
 <400> 11
 000
 <210> 12
 <400> 12
 000
 <210> 13
 <400> 13
 000
 <210> 14
 <400> 14

000

<210> 15

<400> 15

000

<210> 16

<400> 16

000

<210> 17

<400> 17

000

<210> 18

<400> 18

000

<210> 19

<400> 19

000

<210> 20

<400> 20

000

<210> 21

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 21

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

1 5 10 15

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

20

25

30

Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Asp Lys Arg Leu Glu Leu Val

35

40

45

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

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

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

<210> 22

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 22

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Tyr
 20 25 30

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

Ala Thr Ile Asn Ser Asn Gly Gly Arg Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
 65 70 75 80

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

Ala Arg Glu Gly Ile Thr Thr Ala Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 23

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 23

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Tyr Trp Asn Trp Ile Arg Gln Phe Pro Gly Asn Lys Leu Glu Trp

35 40 45

Met Gly Tyr Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Asn Tyr Asn Pro Ser Leu

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Val Lys Thr Leu Pro Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr

100 105 110

Leu Thr Val Ser Ser

115

<210> 24

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 24

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

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

Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 25

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><

221> source

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

<400> 25

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

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

<210

> 26

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 26

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

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

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 27

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 27

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

1 5 10 15

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

 20 25 30

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

 35

 40

 45

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

 50 55 60

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

65 70 75 80

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

 85 90 95

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

 100

 105

 110

Ser

<210> 28

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 28

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

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

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

<210> 29

<400> 29

000

<210> 30

<400> 30

000

<210> 31

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 31

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

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

<210> 32

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 32

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95
 Glu Asp Pro Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110
 <210> 33
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide"
 <400> 33
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
 20 25 30
 Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Phe Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Gly Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln
 65 70 75 80
 Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Leu

85 90 95
 Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
 100 105
 <210> 34
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide"
 <400> 34

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

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

<210> 35

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 35

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

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

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 36

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 36

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Trp

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 37

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 37

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 38

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 38

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

```

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65              70              75              80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Tyr Thr Leu Pro Pro
              85              90              95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
              100              105
<210> 39
<400> 39
000
<210> 40
<400> 40
000
<210> 41
<211> 450
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
          polypeptide"
<400> 41
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1          5          10          15

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

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

```

Ala Arg Glu Gly Ile Thr Thr Ala Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly 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
 165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
 195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
 210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
 225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 260 265 270

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

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

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 305 310 315 320

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

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

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

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

Gly Lys
 450

<210> 42

<211> 449

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 42

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

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

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

 Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly 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
 165 170 175
 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190

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

 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 260 265 270
 Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 275 280 285
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
 290 295 300
 Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 325 330 335
 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 340 345 350
 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 355 360 365
 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 385 390 395 400
 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 405 410 415
 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 420 425 430
 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 435 440 445

Gly

<210> 43

<211> 447

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 43

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

Met Gly Tyr Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
 50 55 60

Gly Asn Arg Ile Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val Ser
 65 70 75 80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Val Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Val Lys Thr Leu Pro Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
 115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
 130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
 145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
 165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
 180 185 190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
 195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
 210 215 220

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
 225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
 245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
 260 265 270

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

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser

290 295 300
 Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
 305 310 315 320
 Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
 325 330 335
 Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
 340 345 350
 Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu

355 360 365
 Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
 370 375 380
 Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
 385 390 395 400
 Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
 405 410 415
 Trp Gln Gln 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 Pro Gly Lys
 435 440 445

<210> 44

<211> 446

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 44

Glu Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Asp
 1 5 10 15
 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Tyr Ser Ile Ala Ser Gly

20 25 30
 Tyr Tyr Trp Asn Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp

35 40 45
 Met Gly Tyr Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
 50 55 60
 Gly Asn Arg Ile Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val Ser
 65 70 75 80
 Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Val Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Val Lys Thr Leu Pro Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr
 100 105 110
 Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
 115 120 125
 Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
 130 135 140
 Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
 145 150 155 160
 Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
 165 170 175
 Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
 180 185 190
 Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
 195 200 205
 Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
 210 215 220
 Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
 225 230 235 240
 Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
 245 250 255
 Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
 260 265 270
 Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
 275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
 290 295 300
 Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
 305 310 315 320
 Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
 325 330 335
 Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
 340 345 350
 Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
 355 360 365
 Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
 370 375 380
 Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
 385 390 395 400
 Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
 405 410 415
 Trp Gln Gln 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 Pro Gly
 435 440 445
 <210> 45
 <211> 447
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide"
 <400> 45
 Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr
 20 25 30

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

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

 325 330 335
 Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
 340 345 350
 Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
 355 360 365
 Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
 370 375 380
 Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser

 385 390 395 400
 Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
 405 410 415
 Trp Gln Gln 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 Pro Gly Lys
 435 440 445
 <210> 46
 <211> 446
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide"
 <400> 46
 Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr

20 25 30
 Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Gly Arg Ile Asp Pro Ala Asn Gly Asn Thr Lys Tyr Asp Pro Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Ala Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asn Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Gly Gly Pro Ala Trp Phe Val Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 100 105 110
 Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
 115 120 125
 Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
 130 135 140
 Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
 145 150 155 160
 Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
 165 170 175
 Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
 180 185 190
 Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
 195 200 205
 Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
 210 215 220
 Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
 225 230 235 240
 Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
 245 250 255
 Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
 260 265 270

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

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

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

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
 325 330 335

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
 340 345 350

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

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

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
 385 390 395 400

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

Trp Gln Gln 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 Pro Gly
 435 440 445

<210> 47
 <211> 443
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide"
 <400> 47

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Ser Tyr
 20 25 30
 Gly Val His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu
 35 40 45
 Gly Val Ile Trp Ser Gly Gly Ser Thr Asp Tyr Asn Ala Ala Phe Ile
 50 55 60
 Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ser Lys Ser Thr Val Tyr Leu
 65 70 75 80
 Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95
 Arg Glu Glu Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser
 100 105 110
 Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser
 115 120 125
 Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp
 130 135 140
 Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr
 145 150 155 160
 Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr
 165 170 175
 Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln
 180 185 190
 Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp
 195 200 205
 Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
 210 215 220
 Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
 225 230 235 240
 Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
 245 250 255
 Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn

260 265 270
 Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
 275 280 285
 Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val

 290 295 300
 Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
 305 310 315 320
 Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
 325 330 335
 Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu
 340 345 350
 Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe

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

 420 425 430
 Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 435 440
 <210> 48
 <211> 442
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide"
 <400> 48
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Ser Tyr

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

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

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

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

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
 260 265 270
 Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
 275 280 285
 Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
 290 295 300
 Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
 305 310 315 320
 Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
 325 330 335
 Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu
 340 345 350
 Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
 355 360 365
 Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
 370 375 380
 Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
 385 390 395 400
 Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
 405 410 415
 Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
 420 425 430
 Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 435 440
 <210> 49
 <400> 49
 000
 <210> 50
 <400> 50
 000
 <210> 51
 <211> 218

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 51

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205
 Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215
 <210> 52
 <211> 214
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide"
 <400> 52
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15

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

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

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

165 170 175
 Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
 180 185 190
 Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
 195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 53

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 53

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

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

100 105 110
 Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
 115 120 125
 Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

130 135 140
 Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
 145 150 155 160
 Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser

 165 170 175
 Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
 180 185 190
 Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
 195 200 205
 Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210
 <210> 54
 <211> 214
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

 polypeptide"
 <400> 54
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
 20 25 30
 Leu Asn Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

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

100 105 110
 Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
 115 120 125

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

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

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

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

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

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210

<210> 55

<400> 55

000

<210> 56

<400> 56

000

<210> 57

<400> 57

000

<210> 58

<400> 58

000

<210> 59

<400> 59

000

<210> 60

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 60

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

1 5 10 15

<210> 61

<211> 118

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 61

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 62

<211> 107

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 62

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

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

<210> 63

<211> 124

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 63

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

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

Ala Lys Asp Gln Ser Thr Ala Asp Tyr Tyr Phe Tyr Tyr Gly Met Asp
 100 105 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 64

<211

> 106

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 64

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

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

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

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

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

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Thr
 85 90 95

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 65

<211> 122

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 65

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

1 5 10 15

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

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

Gly Trp Ile Asn Thr Glu Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Asp Asp Phe
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr Ser Val Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Asn Pro Tyr Tyr Asp Tyr Val Ser Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp
 100 105 110

Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 66

<211> 107

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 66

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

1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Ala
 20 25 30

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

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

65 70 75 80
 Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Ser Thr Pro Arg
 85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105

<210> 67

<211> 120

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 67

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Glu Tyr Glu Phe Pro Ser His

20 25 30

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

35 40 45

Ala Ala Ile Asn Ser Asp Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Pro Asp Thr Met

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg His Tyr Asp Asp Tyr Tyr Ala Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 68

<211> 111

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 68

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

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser

20 25 30

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

35 40 45

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

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

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

<210> 69

<211> 117

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 69

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

Tyr Met Ser Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Thr Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

Gly Asp Met Tyr Pro Asp Asn Gly Asp Ser Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
 50 55 60

Arg Glu Lys Val Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Thr Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

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

Val Leu Ala Pro Arg Trp Tyr Phe Ser Val Trp Gly Thr Gly Thr Thr
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 70

<211> 107

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 70

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

<210> 71

<400> 71

000

<210> 72

<400> 72

000

<210> 73

<400> 73

000

<210> 74

<400> 74

000

<210> 75

<400> 75

000

<210> 76

<400> 76

000

<210> 77
<400> 77
000
<210> 78
<400> 78
000
<210> 79
<400> 79
000
<210> 80
<400> 80
000
<210> 81
<400> 81
000
<210> 82
<400> 82
000
<210> 83
<400> 83
000
<210> 84
<400> 84
000
<210> 85
<400> 85
000
<210> 86
<400> 86
000
<210> 87
<400> 87
000
<210> 88
<400> 88
000

<210> 89

<400> 89
000
<210> 90
<400> 90
000
<210> 91
<400> 91
000
<210> 92
<400> 92
000
<210> 93
<400> 93
000
<210> 94
<400> 94
000
<210> 95
<400> 95
000
<210> 96
<400> 96
000
<210> 97
<400> 97
000
<210> 98
<400> 98
000
<210> 99
<400> 99
000
<210> 100

<400> 100
 000
 <210> 101
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide"

<400> 101
 Gly Phe Thr Phe Ser Arg Tyr Gly Met Ser

1 5 10

<210> 102
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide"

<400> 102
 Thr Ile Asn Ser Asn Gly Gly Arg Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 103
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide"

<400> 103
 Glu Gly Ile Thr Thr Ala Tyr Ala Met Asp Tyr

1 5 10

<210> 104

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 104

Lys Ala Ser Gln Ser Val Asp Tyr Asp Gly Asp Ser Tyr Met His

1 5 10 15

<210> 105

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 105

Ala Ala Ser Ile Leu Glu Ser

1 5

<210> 106

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 106

Gln Gln Ser Asn Glu Asp Pro Arg Thr

1 5

<210> 107

<400> 107

000

<210> 108

<400> 108

000

<210> 109

<400> 109

000

<210> 110

<400> 110

000

<210> 111

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 111

Gly Tyr Ser Ile Ala Ser Gly Tyr Tyr Trp Asn

1 5 10

<210> 112

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 112

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

1 5 10 15

<210> 113

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"
 <400> 113
 Thr Leu Pro Tyr Tyr Phe Asp Tyr
 1 5
 <210> 114
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"
 <400> 114
 Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn
 1 5 10
 <210> 115
 <211> 7

 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"
 <400> 115
 Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser
 1 5
 <210> 116
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"
 <400> 116

Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Leu Thr

1 5

<210> 117

<400> 117

000

<210> 118

<400> 118

000

<210> 119

<400> 119

000

<210> 120

<400> 120

000

<210> 121

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 121

Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr Tyr Met His

1 5 10

<210> 122

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 122

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

1 5 10 15

Gly

<210> 123

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 123

Gly Gly Pro Ala Trp Phe Val Tyr

1 5

<210> 124

<400> 124

000

<210> 125

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400

> 125

Tyr Thr Ser Arg Leu Arg Ser

1 5

<210> 126

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 126

Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Trp Thr

1 5

<210> 127

<400> 127

000

<210> 128

<400> 128

000

<210> 129

<400> 129

000

<210> 130

<400> 130

000

<210> 131

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 131

Gly Phe Ser Leu Thr Ser Tyr Gly Val His

1 5 10

<210> 132

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 132

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

1 5 10 15

<210> 133

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 133

Glu Glu Phe Asp Tyr

1 5

<210> 134

<400> 134

000

<210> 135

<400> 135

000

<210> 136

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 136

Gln Gln Gly Tyr Thr Leu Pro Pro Thr

1 5