



**(19) 대한민국특허청(KR)**  
**(12) 공개특허공보(A)**

(11) 공개번호 10-2021-0024542  
(43) 공개일자 2021년03월05일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
A61K 47/68 (2017.01) A61K 39/00 (2006.01)  
A61P 43/00 (2006.01) C07K 16/28 (2006.01)
- (52) CPC특허분류  
A61K 47/6867 (2017.08)  
A61K 47/6803 (2017.08)
- (21) 출원번호 10-2021-7001186
- (22) 출원일자(국제) 2019년06월19일  
심사청구일자 없음
- (85) 번역문제출일자 2021년01월14일
- (86) 국제출원번호 PCT/IB2019/055178
- (87) 국제공개번호 WO 2019/244082  
국제공개일자 2019년12월26일
- (30) 우선권주장  
62/687,382 2018년06월20일 미국(US)

- (71) 출원인  
노파르티스 아게  
스위스 체하-4056 바젤 리히트스트라제 35
- (72) 발명자  
보이타노, 앤서니 에드워드  
미국 02468 매사추세츠주 워반 에블린 로드 27  
버거, 매튜 티.  
미국 02139 매사추세츠주 캠프리지 매사추세츠 애  
비뉴 250 노바티스 인스티튜츠 포 바이오메디칼  
리서치, 인크.  
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인  
양영준, 이상영

전체 청구항 수 : 총 41 항

(54) 발명의 명칭 **조혈 줄기 세포를 절제하기 위한 항체 약물 접합체**

**(57) 요약**

본 발명은 항체 약물 접합체를 제공하는데, 여기서 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편은 선택적으로 링커를 통해 약물 모이어티에 연결된다. 본 발명은 항체 약물 접합체를 포함하는 약제학적 조성물 및 이의 제조 방법 및 필요로 하는 환자에서 조혈 줄기 세포를 절제하기 위하여 이러한 약제학적 조성물을 사용하는 방법을 추가로 제공한다.

(52) CPC특허분류

- A61K 47/6849 (2017.08)
- A61P 43/00 (2018.01)
- C07K 16/2803 (2013.01)
- A61K 2039/505 (2013.01)
- C07K 2317/35 (2013.01)
- C07K 2317/55 (2013.01)
- C07K 2317/565 (2013.01)
- C07K 2317/70 (2013.01)
- C07K 2317/92 (2013.01)

(72) 발명자

**셀리티, 수잔 이.**

미국 92121 캘리포니아주 샌디에고 존 제이 홉킨스 드라이브 10675 디비에이 지노믹스 인스티튜트 오브 더 노바티스 리서치 파운데이션 노바티스 인스티튜트 포 펑셔널 지노믹스, 인크.

**쿠크, 마이클 폴**

미국 02445 매사추세츠주 브루클라인 유니버시티 애비뉴 135 #1

**피너, 카트린**

독일 82152 플라네그 제멜 바이스트라쎄 7 모르포 시스 아게

**가이에르스탄거, 베른하르트 휴베르트**

미국 92121 캘리포니아주 샌디에고 존 제이 홉킨스 드라이브 10675 디비에이 지노믹스 인스티튜트 오브 더 노바티스 리서치 파운데이션 노바티스 인스티튜트 포 펑셔널 지노믹스, 인크.

**리-희플리히, 시 뚜엔**

미국 02420 매사추세츠주 렉싱턴 샌더슨 로드 41

**팜, 흥응옥 티**

미국 92122 캘리포니아주 샌디에고 샤르망 드라이브 7572 #231

**솔라이어, 슈 호**

미국 94530 캘리포니아주 엘세리토 몬테 비스타 애비뉴 2649

**티소트, 카트린**

독일 82152 플라네그 제멜 바이스트라쎄 7 모르포 시스 아게

**우노, 테츠오**

미국 92121 캘리포니아주 샌디에고 존 제이 홉킨스 드라이브 10675 디비에이 지노믹스 인스티튜트 오브 더 노바티스 리서치 파운데이션 노바티스 인스티튜트 포 펑셔널 지노믹스, 인크.

**완, 용친**

미국 92121 캘리포니아주 샌디에고 존 제이 홉킨스 드라이브 10675 디비에이 지노믹스 인스티튜트 오브 더 노바티스 리서치 파운데이션 노바티스 인스티튜트 포 펑셔널 지노믹스, 인크.

**원, 번**

미국 92121 캘리포니아주 샌디에고 존 제이 홉킨스 드라이브 10675 디비에이 지노믹스 인스티튜트 오브 더 노바티스 리서치 파운데이션 노바티스 인스티튜트 포 펑셔널 지노믹스, 인크.

**장, 창 (알렌)**

미국 02139 매사추세츠주 캠브리지 매사추세츠 애비뉴 250 노바티스 인스티튜츠 포 바이오메디칼 리서치, 인크.

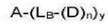
명세서

청구범위

청구항 1

하기 화학식 I의 접합체 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염:

[화학식 I]



(상기 식에서,

A는 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 단편이고;

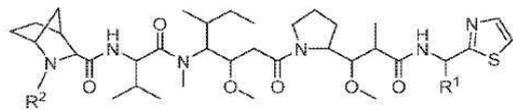
L<sub>B</sub>는 링커이고;

n은 1 내지 10의 정수이고;

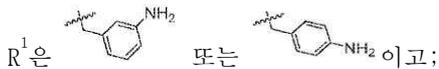
y는 1 내지 10의 정수이고;

D는 화학식 A의 화합물로부터 선택된 세포독성제이고:

[화학식 A]



상기 식에서,



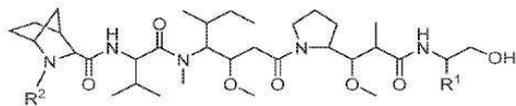
R<sup>2</sup>는 H, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>알킬, -C(=O)R<sup>3</sup>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>OH, -C(=O)(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>OH, -C(=O)((CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>O)<sub>n</sub>R<sup>4</sup>, -((CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>O)<sub>n</sub>R<sup>4</sup>, 또는 -CN, -C(=O)NH<sub>2</sub> 또는 1개 내지 5개의 하이드록실로 선택적으로 치환된 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>알킬이고;

각각의 R<sup>3</sup>은 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>알킬 및 1개 내지 5개의 하이드록실로 선택적으로 치환된 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>알킬로부터 독립적으로 선택되고;

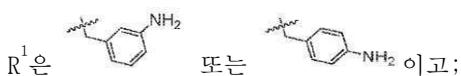
각각의 R<sup>4</sup>는 H 및 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>알킬로부터 독립적으로 선택되고; 또는

D는 화학식 B의 화합물로부터 선택된 세포독성제이고:

[화학식 B]



상기 식에서,



R<sup>2</sup>는 H, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>알킬, -C(=O)R<sup>3</sup>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>OH, -C(=O)(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>OH, -C(=O)((CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>O)<sub>n</sub>R<sup>4</sup>, -((CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>O)<sub>n</sub>R<sup>4</sup>, 또는 -CN, -C(=O)NH<sub>2</sub> 또는 1개 내지 5개의 하이드록실로 선택적으로 치환된 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>알킬이고;

각각의 R<sup>3</sup>은 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>알킬 및 1개 내지 5개의 하이드록실에 의해 선택적으로 치환된 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>알킬로부터 독립적으로 선택되고;

각각의 R<sup>4</sup>는 H 및 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>알킬로부터 독립적으로 선택됨).

**청구항 2**

제1항에 있어서, n은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 또는 8인, 집합체.

**청구항 3**

제1항 또는 제2항에 있어서, y는 1, 2, 3 또는 4인, 집합체.

**청구항 4**

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 각각의 L<sub>B</sub>는 절단 가능한 링커 또는 절단 불가능한 링커로부터 독립적으로 선택되는, 집합체.

**청구항 5**

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 각각의 L<sub>B</sub>는 절단 가능한 링커인, 집합체.

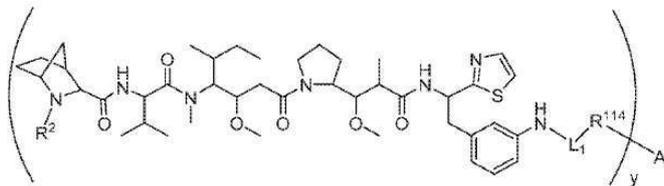
**청구항 6**

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 각각의 L<sub>B</sub>는 절단 불가능한 링커인, 집합체.

**청구항 7**

하기 화학식 E의 구조를 갖는 집합체:

[화학식 E]



(상기 식에서,

A는 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')을 나타내고;

y는 1 내지 10의 정수이고;

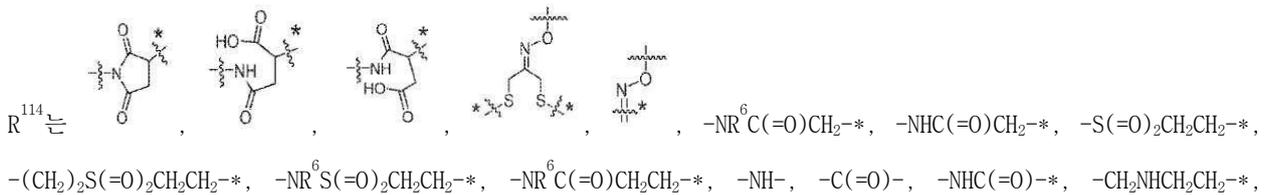
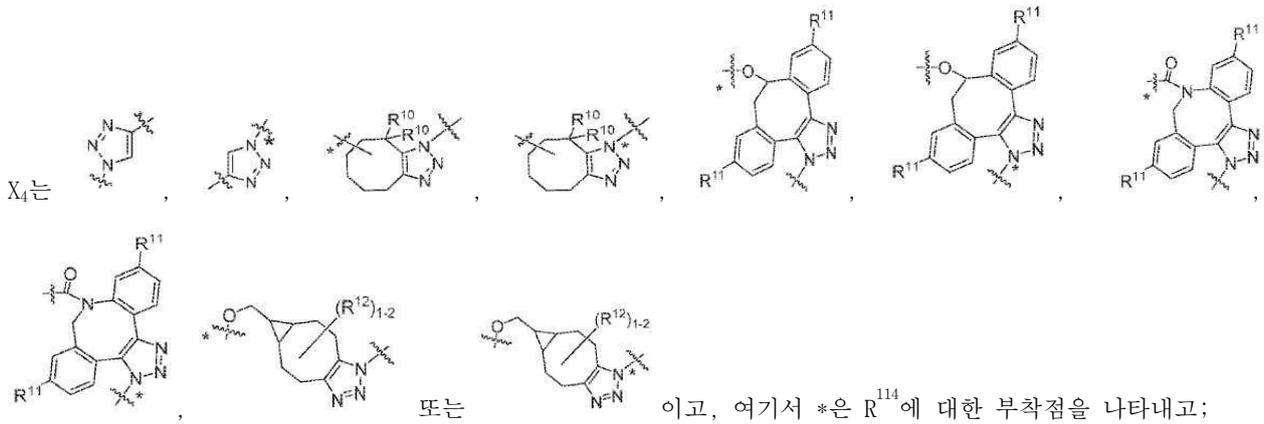
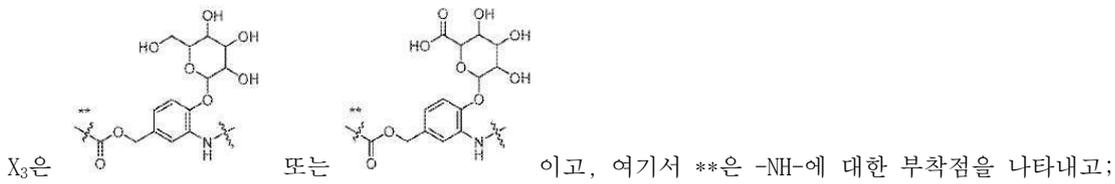
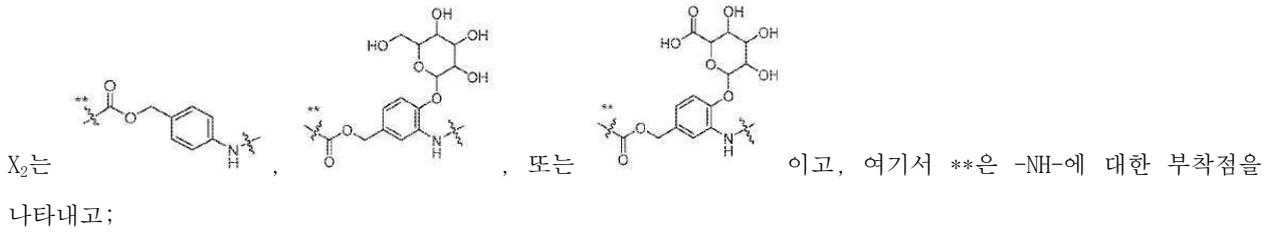
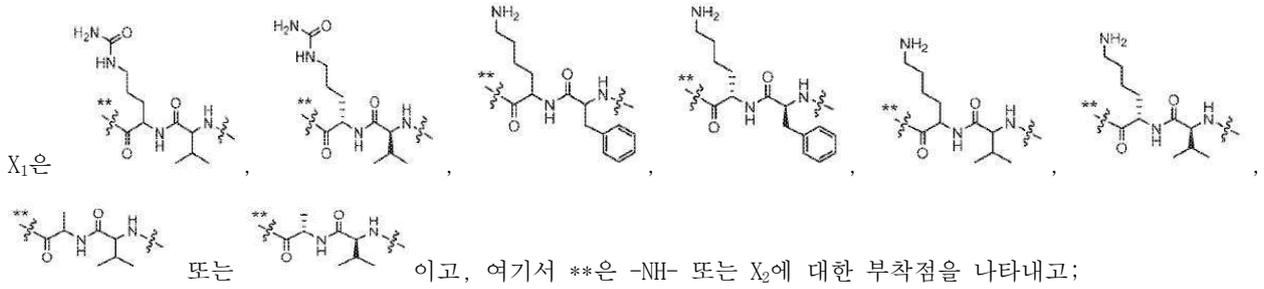
R<sup>2</sup>는 H, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>알킬, -C(=O)R<sup>3</sup>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>OH, -C(=O)(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>OH, -C(=O)((CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>O)<sub>n</sub>R<sup>4</sup>, -((CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>O)<sub>n</sub>R<sup>4</sup> 또는, -CN, -C(=O)NH<sub>2</sub> 또는 1개 내지 5개의 하이드록시로 선택적으로 치환된 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>알킬이고;

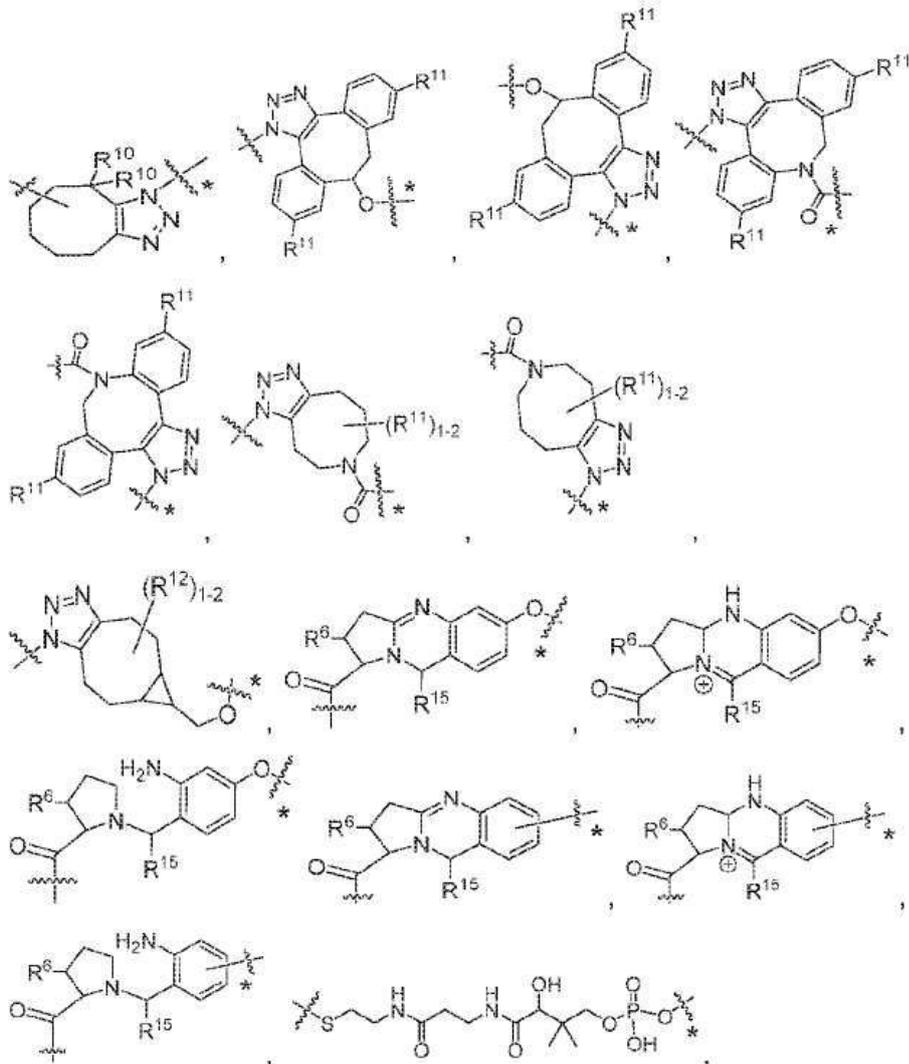
각각의 R<sup>3</sup>은 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>알킬 및 1개 내지 5개의 하이드록실로 선택적으로 치환된 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>알킬로부터 독립적으로 선택되고;

각각의 R<sup>4</sup>는 H 및 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>알킬로부터 독립적으로 선택되고;

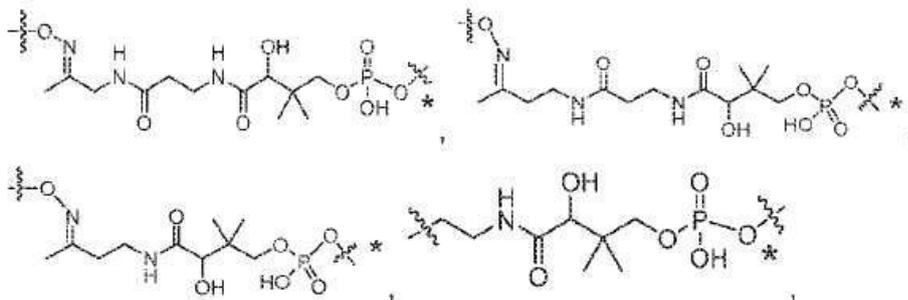
L<sub>1</sub>은 -X<sub>1</sub>C(=O)((CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>O)<sub>p</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-\*\*, -X<sub>1</sub>C(=O)(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-\*\*, -X<sub>2</sub>X<sub>1</sub>C(=O)((CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>O)<sub>p</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-\*\*, -X<sub>2</sub>X<sub>1</sub>C(=O)(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-\*\*,  
 -X<sub>3</sub>C(=O)((CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>O)<sub>p</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-\*\*, -X<sub>3</sub>C(=O)(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-\*\*, -X<sub>3</sub>C(=O)(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>NHC(=O)((CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>O)<sub>p</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-\*\*,  
 -X<sub>3</sub>C(=O)(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>NHC(=O)(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-\*\*, -X<sub>3</sub>C(=O)(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-\*\*, -X<sub>1</sub>C(=O)((CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>O)<sub>p</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>X<sub>4</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-\*\*,  
 -X<sub>1</sub>C(=O)(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>X<sub>4</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-\*\*, -X<sub>2</sub>X<sub>1</sub>C(=O)((CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>O)<sub>p</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>X<sub>4</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-\*\* 또는 -X<sub>2</sub>X<sub>1</sub>C(=O)(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>X<sub>4</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-\*\*이고, 여기서

\*\*은 R<sup>114</sup>에 대한 부착점을 나타내고;

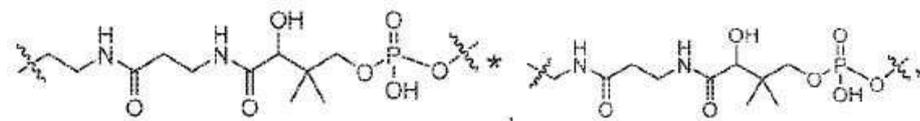




-NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>\*, -S-



또는



이고, 여기서 \*은 A에 대한

부착점을 나타내고;

각각의 R<sup>6</sup>은 H 및 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>알킬로부터 독립적으로 선택되고;

각각의 R<sup>10</sup>은 H, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>알킬, F, Cl, 및 -OH로부터 독립적으로 선택되고;

각각의 R<sup>11</sup>은 H, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>알킬, F, Cl, -NH<sub>2</sub>, -OCH<sub>3</sub>, -OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, -N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, -CN, -NO<sub>2</sub> 및 -OH로부터 독립적으로 선택되

고;

각각의 R<sup>12</sup>는 H, C<sub>1-6</sub>알킬, 플루오로, -C(=O)OH로 치환된 벤질옥시, -C(=O)OH로 치환된 벤질, -C(=O)OH로 치환된 C<sub>1-4</sub>알콕시 및 -C(=O)OH로 치환된 C<sub>1-4</sub>알킬로부터 독립적으로 선택되고;

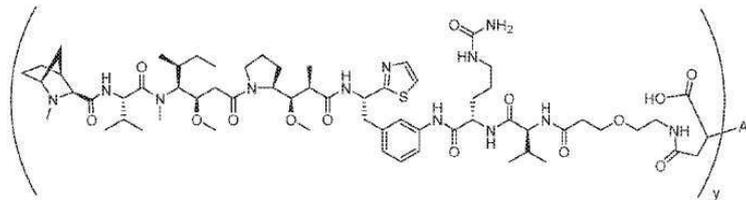
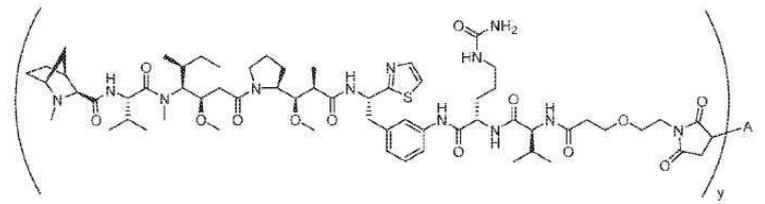
각각의 R<sup>15</sup>는 H, -CH<sub>3</sub> 및 페닐로부터 독립적으로 선택되고;

각각의 m은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 및 10으로부터 독립적으로 선택되고,

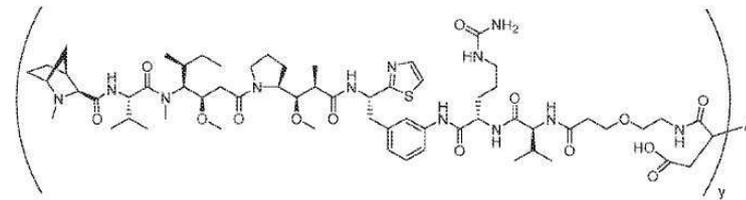
각각의 p는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 및 14로부터 독립적으로 선택됨).

**청구항 8**

제7항에 있어서,



및



로부터 선택되는 집합체:

(상기 식에서,

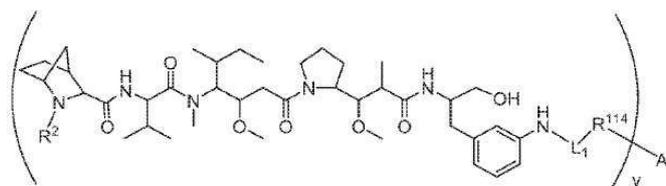
A는 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')을 나타내고;

y는 1 내지 10의 정수임).

**청구항 9**

하기 화학식 G의 구조를 갖는 집합체:

[화학식 G]



(상기 식에서,

A는 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')을 나타내고;

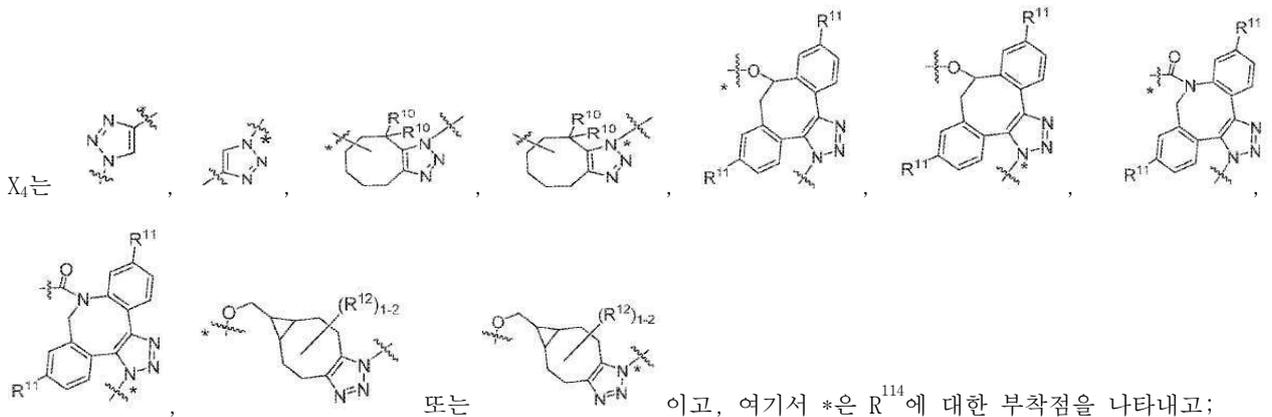
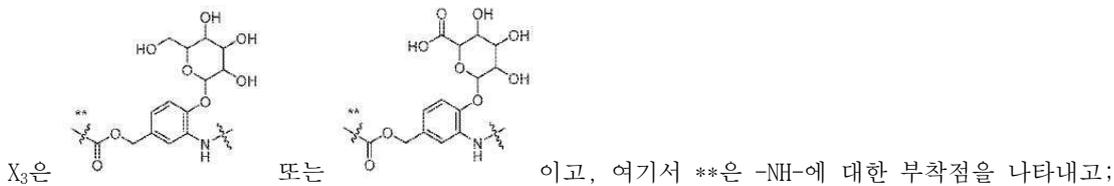
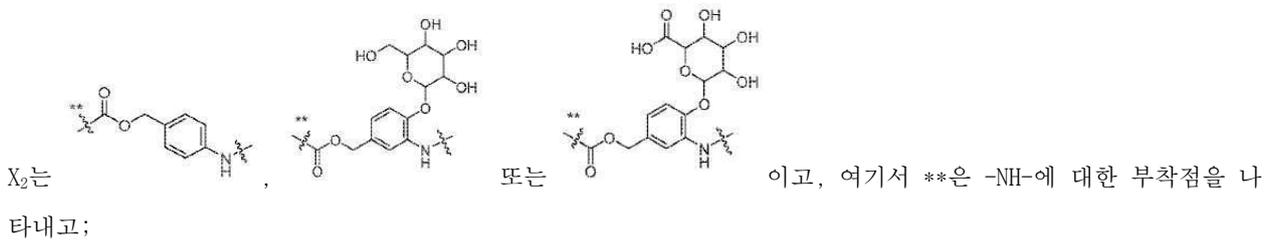
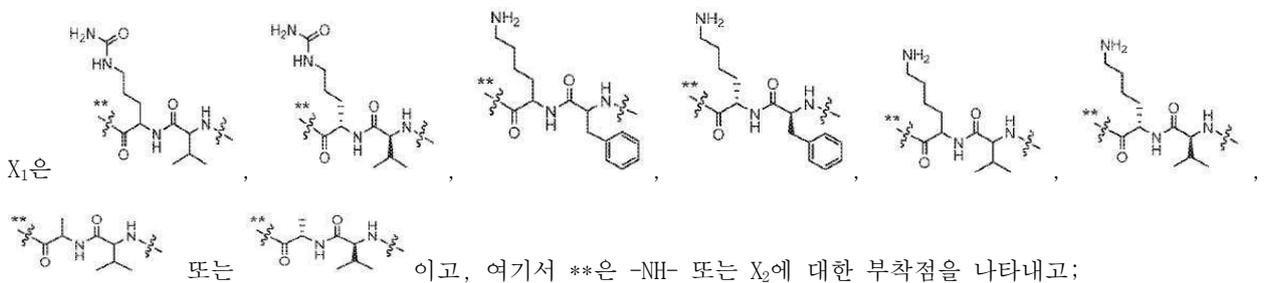
y는 1 내지 10의 정수이고;

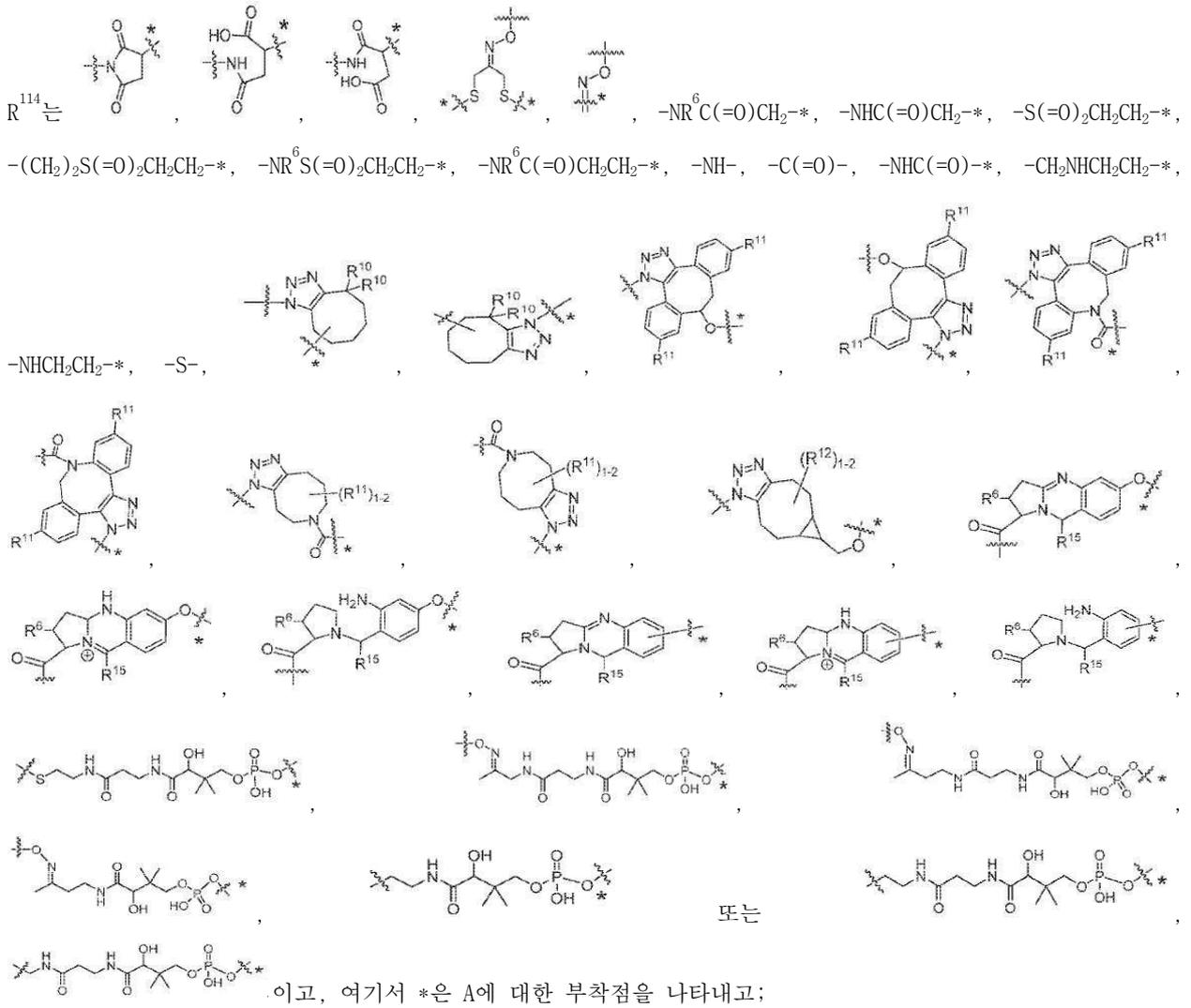
R<sup>2</sup>는 H, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>알킬, -C(=O)R<sup>3</sup>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>OH, -C(=O)(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>OH, -C(=O)((CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>O)<sub>n</sub>R<sup>4</sup>, -((CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>O)<sub>n</sub>R<sup>4</sup> 또는, -CN, -C(=O)NH<sub>2</sub> 또는 1개 내지 5개의 하이드록시로 선택적으로 치환된 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>알킬이고;

각각의 R<sup>3</sup>은 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>알킬 및 1개 내지 5개의 하이드록실로 선택적으로 치환된 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>알킬로부터 독립적으로 선택되고;

각각의 R<sup>4</sup>는 H 및 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>알킬로부터 독립적으로 선택되고;

L<sub>1</sub>은 -X<sub>1</sub>C(=O)((CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>)<sub>p</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-\*\*, -X<sub>1</sub>C(=O)(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-\*\*, -X<sub>2</sub>X<sub>1</sub>C(=O)((CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>)<sub>p</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-\*\*, -X<sub>2</sub>X<sub>1</sub>C(=O)(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-\*\*, -X<sub>3</sub>C(=O)((CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>)<sub>p</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-\*\*, -X<sub>3</sub>C(=O)(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-\*\*, -X<sub>3</sub>C(=O)(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>NHC(=O)((CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>)<sub>p</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-\*\*, -X<sub>3</sub>C(=O)(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>NHC(=O)(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-\*\*, -X<sub>3</sub>C(=O)(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-\*\*, -X<sub>1</sub>C(=O)((CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>)<sub>p</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>X<sub>4</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-\*\*, -X<sub>1</sub>C(=O)(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>X<sub>4</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-\*\*, -X<sub>2</sub>X<sub>1</sub>C(=O)((CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>)<sub>p</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>X<sub>4</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-\*\* 또는 -X<sub>2</sub>X<sub>1</sub>C(=O)(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>X<sub>4</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-\*\*이고, 여기서 \*\*은 R<sup>114</sup>에 대한 부착점을 나타내고;





각각의  $R^6$ 은 H 및  $C_1$ - $C_6$ 알킬로부터 독립적으로 선택되고;

각각의  $R^{10}$ 은 H,  $C_1$ - $C_6$ 알킬, F, Cl, 및  $-\text{OH}$ 로부터 독립적으로 선택되고;

각각의  $R^{11}$ 은 H,  $C_1$ - $C_6$ 알킬, F, Cl,  $-\text{NH}_2$ ,  $-\text{OCH}_3$ ,  $-\text{OCH}_2\text{CH}_3$ ,  $-\text{N}(\text{CH}_3)_2$ ,  $-\text{CN}$ ,  $-\text{NO}_2$  및  $-\text{OH}$ 로부터 독립적으로 선택되고;

각각의  $R^{12}$ 는 H,  $C_1$ - $C_6$ 알킬, 플루오로,  $-\text{C}(=\text{O})\text{OH}$ 로 치환된 벤질옥시,  $-\text{C}(=\text{O})\text{OH}$ 로 치환된 벤질,  $-\text{C}(=\text{O})\text{OH}$ 로 치환된  $C_{1-4}$ 알콕시 및  $-\text{C}(=\text{O})\text{OH}$ 로 치환된  $C_{1-4}$ 알킬로부터 독립적으로 선택되고;

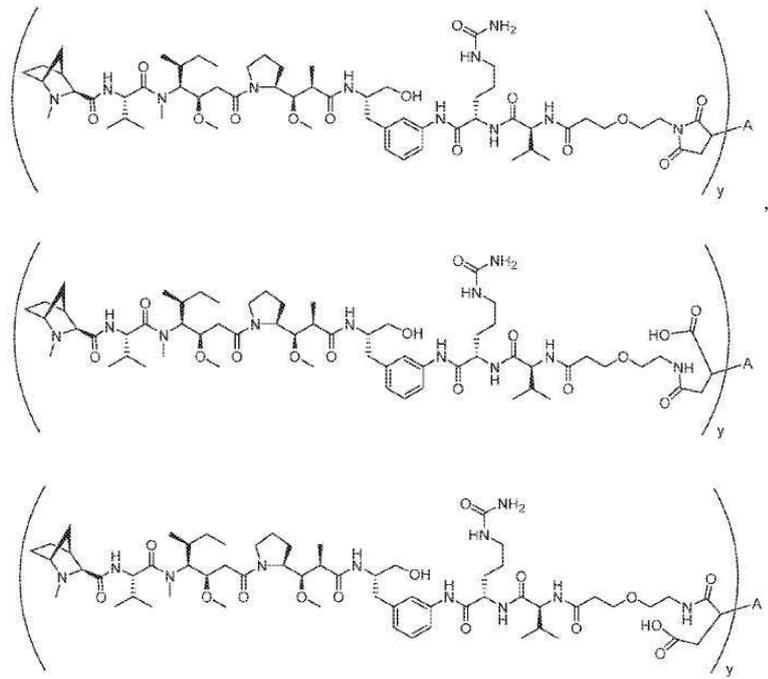
각각의  $R^{15}$ 는 H,  $-\text{CH}_3$  및 페닐로부터 독립적으로 선택되고;

각각의 m은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 및 10으로부터 독립적으로 선택되고,

각각의 p는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 및 14로부터 독립적으로 선택됨).

**청구항 10**

제9항에 있어서,



및

로부터 선택되는 접합체:

(상기 식에서,

A는 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')을 나타내고;

y는 1 내지 10의 정수임).

**청구항 11**

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 항체 단편은 인간 cKIT의 세포외 도메인(서열 번호 112)에 특이적으로 결합하는, 접합체.

**청구항 12**

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 항체 단편은 인간 cKIT의 도메인 1 내지 3에서의 에피토프(서열 번호 113)에 특이적으로 결합하는, 접합체.

**청구항 13**

제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 항체 단편은 Fab 또는 Fab'인, 접합체.

**청구항 14**

제1항 내지 제10항 및 제13항 중 어느 한 항에 있어서, 항체 단편은

- (1) (i) (a) 서열 번호 1의 HCDR1(중쇄 상보성 결정 영역 1), (b) 서열 번호 2의 HCDR2(중쇄 상보성 결정 영역 2), 및 (c) 서열 번호 3의 HCDR3(중쇄 상보성 결정 영역 3)을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 (ii) (d) 서열 번호 16의 LCDR1(경쇄 상보성 결정 영역 1), (e) 서열 번호 17의 LCDR2(경쇄 상보성 결정 영역 2), 및 (f) 서열 번호 18의 LCDR3(경쇄 상보성 결정 영역 3)을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 Fab 또는 Fab';
- (2) (i) (a) 서열 번호 4의 HCDR1, (b) 서열 번호 5의 HCDR2, 및 (c) 서열 번호 3의 HCDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 (ii) (d) 서열 번호 19의 LCDR1, (e) 서열 번호 20의 LCDR2, 및 (f) 서열 번호 21의 LCDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 Fab 또는 Fab';
- (3) (i) (a) 서열 번호 6의 HCDR1, (b) 서열 번호 2의 HCDR2, 및 (c) 서열 번호 3의 HCDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 (ii) (d) 서열 번호 16의 LCDR1, (e) 서열 번호 17의 LCDR2, 및 (f) 서열 번호 18의 LCDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 Fab 또는 Fab';
- (4) (i) (a) 서열 번호 7의 HCDR1, (b) 서열 번호 8의 HCDR2, 및 (c) 서열 번호 9의 HCDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 (ii) (d) 서열 번호 22의 LCDR1, (e) 서열 번호 20의 LCDR2, 및 (f) 서열 번호 18의 LCDR3을 포함



쇄 가변 영역; 및 (ii) (d) 서열 번호 101의 LCDR1, (e) 서열 번호 102의 LCDR2, 및 (f) 서열 번호 103의 LCDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 Fab 또는 Fab';

(20) (i) (a) 서열 번호 92의 HCDR1, (b) 서열 번호 93의 HCDR2, 및 (c) 서열 번호 94의 HCDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 (ii) (d) 서열 번호 107의 LCDR1, (e) 서열 번호 105의 LCDR2, 및 (f) 서열 번호 103의 LCDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 Fab 또는 Fab';

(21) 서열 번호 10을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH) 및 서열 번호 23을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하는 Fab 또는 Fab';

(22) 서열 번호 36을 포함하는 VH 및 서열 번호 47을 포함하는 VL을 포함하는 Fab 또는 Fab';

(23) 서열 번호 54를 포함하는 VH 및 서열 번호 23을 포함하는 VL을 포함하는 Fab 또는 Fab';

(24) 서열 번호 69를 포함하는 VH 및 서열 번호 82를 포함하는 VL을 포함하는 Fab 또는 Fab';

(25) 서열 번호 95를 포함하는 VH 및 서열 번호 108을 포함하는 VL을 포함하는 Fab 또는 Fab';

(26) 서열 번호 14를 포함하는 중쇄 및 서열 번호 25를 포함하는 경쇄를 포함하는 Fab';

(27) 서열 번호 40을 포함하는 중쇄 및 서열 번호 49를 포함하는 경쇄를 포함하는 Fab';

(28) 서열 번호 58을 포함하는 중쇄 및 서열 번호 25를 포함하는 경쇄를 포함하는 Fab';

(29) 서열 번호 73을 포함하는 중쇄 및 서열 번호 84를 포함하는 경쇄를 포함하는 Fab';

(30) 서열 번호 99를 포함하는 중쇄 및 서열 번호 110을 포함하는 경쇄를 포함하는 Fab';

(31) 서열 번호 118을 포함하는 중쇄 및 서열 번호 122를 포함하는 경쇄를 포함하는 Fab;

(32) 서열 번호 118을 포함하는 중쇄 및 서열 번호 123을 포함하는 경쇄를 포함하는 Fab;

(33) 서열 번호 124를 포함하는 중쇄 및 서열 번호 128을 포함하는 경쇄를 포함하는 Fab;

(34) 서열 번호 124를 포함하는 중쇄 및 서열 번호 129를 포함하는 경쇄를 포함하는 Fab;

(35) 서열 번호 130을 포함하는 중쇄 및 서열 번호 134를 포함하는 경쇄를 포함하는 Fab;

(36) 서열 번호 130을 포함하는 중쇄 및 서열 번호 135를 포함하는 경쇄를 포함하는 Fab;

(37) 서열 번호 136을 포함하는 중쇄 및 서열 번호 140을 포함하는 경쇄를 포함하는 Fab;

(38) 서열 번호 141을 포함하는 중쇄 및 서열 번호 145를 포함하는 경쇄를 포함하는 Fab;

(39) 서열 번호 119, 120 또는 121로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호 25의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하는 Fab;

(40) 서열 번호 125, 126 또는 127로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호 49의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하는 Fab;

(41) 서열 번호 131, 132 또는 133으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호 25의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하는 Fab;

(42) 서열 번호 137, 138 또는 139로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호 84의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하는 Fab; 또는

(43) 서열 번호 142, 143 또는 144로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호 110의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하는 Fab 중 임의의 것으로부터 선택되는, 집합체.

#### 청구항 15

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 항체 단편은 인간 또는 인간화된 Fab 또는 Fab'인, 집합체.

#### 청구항 16

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 항체 단편은 Fab'이고, 링커(L<sub>B</sub>)는 Fab'의 힌지 영역에서의 자연적

시스템인 잔기에 부착된, 집합체.

**청구항 17**

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 항체 단편은 불변 영역으로 도입된 적어도 하나의 비자연적 시스템을 포함하고, 링커(L<sub>B</sub>)는 비자연적 시스템에 부착된, 집합체.

**청구항 18**

제7항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 항체 단편은 Fab'이고, R<sup>114</sup>는 Fab'의 힌지 영역에서의 자연적 시스템 잔기에 부착된, 집합체.

**청구항 19**

제7항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 항체 단편은 불변 영역으로 도입된 적어도 하나의 비자연적 시스템을 포함하고, R<sup>114</sup>는 비자연적 시스템에 부착된, 집합체.

**청구항 20**

제17항 또는 제19항에 있어서, 항체 단편은

- (a) 중쇄의 152번 위치,
- (b) 카파 경쇄의 114번 또는 165번 위치, 또는
- (c) 람다 경쇄의 143번 위치 중 하나 이상(모든 위치는 EU 넘버링에 의한 것임)에 시스템을 포함하는, 집합체.

**청구항 21**

제1항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서, 집합체의 반감기가 약 24 내지 48시간 미만인, 집합체.

**청구항 22**

제1항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서, 집합체는 비만 세포 탈과립을 유도하지 않는, 집합체.

**청구항 23**

제1항 내지 제22항 중 어느 한 항의 집합체 및 약제학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 약제학적 조성물.

**청구항 24**

제23항에 있어서, 다른 치료제를 추가로 포함하는, 약제학적 조성물.

**청구항 25**

제23항 또는 제24항에 있어서, 조성물은 동결건조물인, 약제학적 조성물.

**청구항 26**

필요로 하는 환자에서 조혈 줄기 세포를 절제하는 방법으로서, 유효량의 제1항 내지 제22항 중 어느 한 항의 집합체 또는 제23항 또는 제24항의 약제학적 조성물을 환자에 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

**청구항 27**

제26항에 있어서, 환자는 조혈 줄기 세포 이식 수혜자인, 방법.

**청구항 28**

제27항에 있어서, 상기 방법은 환자에 대한 조혈 줄기 세포 이식 전에 수행되는, 방법.

**청구항 29**

조혈 줄기 세포 이식 환자의 컨디션 조절 방법으로서, 유효량의 제1항 내지 제22항 중 어느 한 항의 접합체 또는 제23항 또는 제24항의 약제학적 조성물을 환자에게 투여하는 단계, 및 환자에 대한 조혈 줄기 세포 이식을 수행하기 전에 접합체가 환자의 순환으로부터 제거되게 하기에 충분한 시간을 허용하는 단계를 포함하는, 방법.

**청구항 30**

제26항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서, 환자는 유전성 면역결핍 질환, 자가면역 장애, 조혈 장애, 선천성 대사 장애를 갖거나, 자가유래 줄기 세포 이식으로 과거에 치료된, 방법.

**청구항 31**

제30항에 있어서, 조혈 장애는 급성 골수성 백혈병(AML: Acute myeloid leukemia), 급성 림프모구성 백혈병(ALL: Acute lymphoblastic leukemia), 급성 단핵구 백혈병(AMoL: acute monocytic leukemia), 만성 골수성 백혈병(CML: Chronic myeloid leukemia), 만성 림프성 백혈병(CLL: Chronic lymphocytic leukemia), 골수증식성 장애, 골수형성이상 증후군, 다발성 골수종, 비호지킨 림프종, 호지킨병, 재생불량성 빈혈, 진정 적혈구계 무형성증, 발작성 야간 헤모글로빈뇨증, 판코니 빈혈, 중증성 지중해빈혈, 겸상 적혈구빈혈, 중증 복합 면역결핍증, 비스코트 올드리치 증후군(Wiskott-Aldrich syndrome), 적혈구포식성 림프조직구증으로부터 선택되는, 방법.

**청구항 32**

제30항에 있어서, 선천성 대사 장애는 점액 다당류증, 고세병(Gaucher disease), 이염색백색질장애 또는 부신백색질형성장애로부터 선택되는, 방법.

**청구항 33**

제26항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서, 환자는 중증 재생불량성 빈혈(SAA), 비스코트 올드리치 증후군, 후를러 증후군(Hurlers Syndrome), FHL, CGD, 코스트만 증후군(Kostmanns syndrome), 중증 면역결핍 증후군(SCID: Severe immunodeficiency syndrome), 다른 자가면역 장애, 예컨대 SLE, 다발성 경화증, IBD, 크론병, 쇼그렌 증후군(Sjogrens syndrome), 혈관염, 루푸스, 중증 근육무력증, 베게너병, 선천성 대사 장애 및/또는 다른 면역결핍증으로부터 선택되는 비악성 질환 또는 병태를 갖는, 방법.

**청구항 34**

제26항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서, 환자는 골수형성이상 증후군(MDS: myelodysplastic syndrome), 급성 림프모구성 백혈병(ALL), 급성 골수성 백혈병(AML), 급성 단핵구 백혈병(AMoL), 만성 림프성 백혈병(CLL), 만성 골수성 백혈병(CML), 털세포 백혈병(HCL: hairy cell leukemia), T 세포 전림프구성 백혈병(T-PLL: T-cell prolymphocytic leukemia), 대과립 림프구성 백혈병, 성인 T 세포 백혈병, 전구체 T 세포 백혈병/림프종, 버킷 림프종, 소포성 림프종, 광범위 큰 B 세포 림프종, 외투 세포 림프종, B 세포 만성 림프성 백혈병/림프종, MALT 림프종, 균상 식육종, 달리 명시되지 않은 말초 T 세포 림프종, 호지킨 림프종의 결절 경화 형태, 호지킨 림프종의 혼합 세포중실성 아형으로부터 선택되는 악성 질환 또는 병태를 갖는, 방법.

**청구항 35**

필요로 하는 환자에서 조혈 줄기 세포를 절제하기 위한, 제1항 내지 제22항 중 어느 한 항의 접합체 또는 제23항 또는 제24항의 약제학적 조성물의 용도.

**청구항 36**

필요로 하는 환자에서 조혈 줄기 세포를 절제하기 위한 약제의 제조에서의, 제1항 내지 제22항 중 어느 한 항의 접합체 또는 제23항 또는 제24항의 약제학적 조성물의 용도.

**청구항 37**

인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편으로서,

(1) (i) (a) 서열 번호 1의 HCDR1(중쇄 상보성 결정 영역 1), (b) 서열 번호 2의 HCDR2(중쇄 상보성 결정 영역 2), 및 (c) 서열 번호 3의 HCDR3(중쇄 상보성 결정 영역 3)을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 (ii) (d) 서열 번호 16의 LCDR1(경쇄 상보성 결정 영역 1), (e) 서열 번호 17의 LCDR2(경쇄 상보성 결정 영역 2), 및 (f) 서열 번



쇄 가변 영역; 및 (ii) (d) 서열 번호 107의 LCDR1, (e) 서열 번호 105의 LCDR2, 및 (f) 서열 번호 103의 LCDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체 또는 항체 단편;

(17) 서열 번호 10을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH) 및 서열 번호 23을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하는 항체 또는 항체 단편;

(18) 서열 번호 36을 포함하는 VH 및 서열 번호 47을 포함하는 VL을 포함하는 항체 또는 항체 단편;

(19) 서열 번호 69를 포함하는 VH 및 서열 번호 82를 포함하는 VL을 포함하는 항체 또는 항체 단편;

(20) 서열 번호 95를 포함하는 VH 및 서열 번호 108을 포함하는 VL을 포함하는 항체 또는 항체 단편;

(21) 서열 번호 14를 포함하는 중쇄 및 서열 번호 25를 포함하는 경쇄를 포함하는 항체 또는 항체 단편;

(22) 서열 번호 40을 포함하는 중쇄 및 서열 번호 49를 포함하는 경쇄를 포함하는 항체 또는 항체 단편;

(23) 서열 번호 73을 포함하는 중쇄 및 서열 번호 84를 포함하는 경쇄를 포함하는 항체 또는 항체 단편;

(24) 서열 번호 99를 포함하는 중쇄 및 서열 번호 110을 포함하는 경쇄를 포함하는 항체 또는 항체 단편;

(25) 서열 번호 118을 포함하는 중쇄 및 서열 번호 122를 포함하는 경쇄를 포함하는 항체 또는 항체 단편;

(26) 서열 번호 118을 포함하는 중쇄 및 서열 번호 123을 포함하는 경쇄를 포함하는 항체 또는 항체 단편;

(27) 서열 번호 124를 포함하는 중쇄 및 서열 번호 128을 포함하는 경쇄를 포함하는 항체 또는 항체 단편;

(28) 서열 번호 124를 포함하는 중쇄 및 서열 번호 129를 포함하는 경쇄를 포함하는 항체 또는 항체 단편;

(29) 서열 번호 130을 포함하는 중쇄 및 서열 번호 134를 포함하는 경쇄를 포함하는 항체 또는 항체 단편;

(30) 서열 번호 130을 포함하는 중쇄 및 서열 번호 135를 포함하는 경쇄를 포함하는 항체 또는 항체 단편;

(31) 서열 번호 136을 포함하는 중쇄 및 서열 번호 140을 포함하는 경쇄를 포함하는 항체 또는 항체 단편;

(32) 서열 번호 141을 포함하는 중쇄 및 서열 번호 145를 포함하는 경쇄를 포함하는 항체 또는 항체 단편;

(33) 서열 번호 12를 포함하는 중쇄 및 서열 번호 25를 포함하는 경쇄를 포함하는 항체;

(34) 서열 번호 38을 포함하는 중쇄 및 서열 번호 49를 포함하는 경쇄를 포함하는 항체;

(35) 서열 번호 71을 포함하는 중쇄 및 서열 번호 84를 포함하는 경쇄를 포함하는 항체; 또는

(36) 서열 번호 97을 포함하는 중쇄 및 서열 번호 110을 포함하는 경쇄를 포함하는 항체 중 임의의 것으로부터 선택되는, 항체 또는 항체 단편.

**청구항 38**

제37항의 항체 또는 항체 단편을 암호화하는 핵산.

**청구항 39**

제38항의 핵산을 포함하는 벡터.

**청구항 40**

제39항의 벡터를 포함하는 숙주 세포.

**청구항 41**

항체 또는 항체 단편의 생산 방법으로서, 제40항의 숙주 세포를 배양하는 단계 및 배양물로부터 항체 또는 항체 단편을 회수하는 단계를 포함하는, 방법.

**발명의 설명**

**기술 분야**

**관련 출원에 대한 상호 참조**

[0001]

[0002] 본 출원은 그 전체가 본원에 참고로 포함된 2018년 6월 20일에 출원된 미국 가출원 제62/687,382호의 이익을 주장한다.

[0003] **기술분야**

[0004] 본 발명은 항-cKIT 항체 약물 접합체, 및 이를 필요로 하는 환자, 예를 들어 조혈 줄기 세포 이식 수혜자에서 조혈 줄기 세포를 절제하기 위한 이의 용도에 관한 것이다.

[0005] **서열 목록**

[0006] 본 출원은 ASCII 형식으로 전자 제출되고, 그 전체가 본원에 참고로 포함된 서열 목록을 함유한다. 2019년 5월 2일에 생성된 상기 ASCII 복사본은 PAT058157-WO-PCT\_SL.txt로 명명되고 크기는 186,540 바이트이다.

**배경 기술**

[0007] cKIT(CD117)는 리간드 줄기 세포 인자(SCF: Stem Cell Factor)에 결합하는 단일 막관통 수용체 티로신 키나제이다. SCF는 cKIT의 동종이합체화를 유도하고, 이는 이의 티로신 키나제 활성을 활성화시키고, PI3-AKT 및 MAPK 경로를 통해 신호를 전달한다(Kindblom et al., Am J. Path. 1998 152(5):1259). cKIT는 처음에 고양이과 레트로바이러스에 의해 발현된 절두된 형태로 종양유전자로서 발견되었다(Besmer et al., Nature 1986 320:415-421). 상응하는 인간 유전자의 클로닝은 cKIT가 수용체 티로신 키나제의 III형 클래스의 구성원임을 증명하였는데, 이러한 클래스는 패밀리 구성원에 FLT3, CSF-1 수용체 및 PDGF 수용체가 포함된다. cKIT는 조혈 세포, 생식 세포, 비만 세포 및 멜라닌세포의 발달에 필요하다. 골수에서 조혈 전구 세포, 예를 들어 조혈 줄기 세포(HSC: hematopoietic stem cell)는 세포 표면 상에 높은 수준의 cKIT를 발현한다. 또한, 피부의 비만 세포, 멜라닌세포 및 소화관에서의 카잘(Cajal)의 사이질 세포는 cKIT를 발현한다.

[0008] 조혈 줄기 세포(HSC)는 이식 수혜자에서 모든 혈액 세포 및 면역 세포를 재생시킬 수 있어 치료적 잠재성이 크다. 조혈 줄기 세포 이식은 백혈병, 림프종 및 다른 생명을 위협하는 질환의 치료법으로 널리 사용된다. 그러나 불량한 생착, 면역 거부, 이식편 대 숙주 질환(GVHD: graft-versus-host disease) 또는 감염을 포함한 많은 위험이 이러한 이식과 관련이 있다. 동종이계 조혈 줄기 세포 이식은 일반적으로 이식편의 면역 거부를 방지하기 위하여 세포감퇴 치료(cyto-reductive treatment)를 통한 수혜자의 컨디션 조절을 요구한다. 현재의 컨디션 조절 계획은 종종 숙주에 치명적이어서 이식 환자의 대형 집단에 사용이 금지되고/금지되거나 이식편 대 숙주 질환을 방지하기 위하여 충분한 양으로 제공될 수 없다. 따라서, 컨디션 조절 및 이식 방법을 개선하고, 조혈 줄기 세포 이식과 관련된 위험을 감소시키고, 다양한 장애에 대한 조혈 줄기 세포 이식의 효율을 증가시킬 필요가 있다.

**발명의 내용**

[0009] 본 발명은 항체 약물 접합체를 제공하는데, 여기서 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')은 선택적으로 링커를 통해 약물 모이어티(예를 들어, 세포독성제)에 연결된다. 이러한 항체 약물 접합체는 선택적으로 cKIT를 발현하는 세포, 예를 들어 조혈 줄기 세포에 세포독성제를 전달하여서, 환자, 예를 들어 조혈 줄기 세포 이식 수혜자에서 이러한 세포를 선택적으로 절제할 수 있다. 바람직하게는, cKIT 항체 약물 접합체는 약물동역학 특성을 가져서, 장기간 환자의 순환 내에 존재하지 않고/않거나 활성을 나타내지 않을 것이므로, 조혈 줄기 세포 이식 전에 조혈 줄기 세포 이식 수혜자의 컨디션 조절에 이용될 수 있다. 일부 구현예에서, 선택적으로 링커를 통해 약물 모이어티(예를 들어, 세포독성제)에 연결된 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')을 포함하는 접합체가 본원에 제공된다. 놀랍게도, 본 발명자들은 전장 항-cKIT 항체(예를 들어, 전장 IgG), F(ab')<sub>2</sub> 단편, 및 이의 독소 접합체가 비만 세포 탈과립을 유발하지만, 항-cKIT Fab' 또는 Fab-독소 접합체는 비만 세포 탈과립을 유발하지 않으며, 심지어 환자가 Fab 단편을 인식하는 항-약물 항체를 발달시켰거나 Fab 단편을 인식하는 기존의 항-약물 항체를 가졌을 경우에 관찰될 수 있는 것과 같이 가고결합되고/되거나 더 큰 복합체로 다합체화될 때에도 그러하다는 점을 발견하였다. 본 발명은 항체 약물 접합체를 포함하는 약제학적 조성물 및 이의 제조 방법 및 필요로 하는 환자, 예를 들어 조혈 줄기 세포 이식 수혜자에서 조혈 줄기 세포를 절제하기 위하여 이러한 약제학적 조성물을 사용하는 방법을 추가로 제공한다.

[0010] 일 양태에서, 본 발명은 하기 화학식 I의 접합체에 관한 것이다:

[0011] [화학식 I]

[0012]  $A-(L_B-(D)_n)_y$

[0013] 상기 식에서,

[0014] A는 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 단편이고;

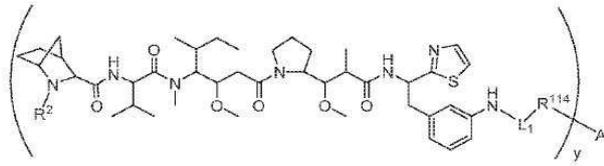
[0015]  $L_B$ 는 링커이고;

[0016] D는 세포독성제이고;

[0017] n은 1 내지 10의 정수이고, y는 1 내지 10의 정수이다.

[0018] 일 양태에서, 본 발명은 하기 화학식 E의 구조를 갖는 접합체에 관한 것이다:

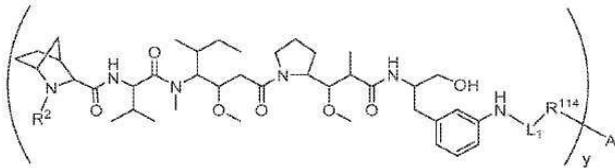
[0019] [화학식 E]



[0020] 상기 식에서,  $R^2$ , A,  $L_1$ , y 및  $R^{114}$ 는 본원에 정의된 바와 같다.

[0022] 일 양태에서, 본 발명은 하기 화학식 G의 구조를 갖는 접합체에 관한 것이다:

[0023] [화학식 G]



[0025] 상기 식에서,  $R^2$ , A,  $L_1$ , y 및  $R^{114}$ 는 본원에 정의된 바와 같다.

[0026] 다른 양태에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 및 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')이 본원에 제공된다. 이러한 항-cKIT 항체 및 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')은 본원에 기재된 접합체 중 임의의 것에 사용될 수 있다.

[0027] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')은 인간 cKIT의 세포외 도메인(서열 번호 112)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')이다.

[0028] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')은 인간 cKIT의 도메인 1 내지 3(서열 번호 113)에서의 에피토프에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')이다.

[0029] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')은 표 1에 기재된 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')이다.

[0030] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')은 서열 번호 1의 HCDR1; 서열 번호 2의 HCDR2; 서열 번호 3의 HCDR3; 서열 번호 16의 LCDR1; 서열 번호 17의 LCDR2; 및 서열 번호 18의 LCDR3을 포함한다.

[0031] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')은 서열 번호 4의 HCDR1; 서열 번호 5의 HCDR2; 서열 번호 3의 HCDR3; 서열 번호 19의 LCDR1; 서열 번호 20의 LCDR2; 및 서열 번호 21의 LCDR3을 포함한다.



LCDR2; 및 서열 번호 103의 LCDR3을 포함한다.

- [0047] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')은 서열 번호 89의 HCDR1; 서열 번호 90의 HCDR2; 서열 번호 88의 HCDR3; 서열 번호 104의 LCDR1; 서열 번호 105의 LCDR2; 및 서열 번호 106의 LCDR3을 포함한다.
- [0048] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')은 서열 번호 91의 HCDR1; 서열 번호 87의 HCDR2; 서열 번호 88의 HCDR3; 서열 번호 101의 LCDR1; 서열 번호 102의 LCDR2; 및 서열 번호 103의 LCDR3을 포함한다.
- [0049] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')은 서열 번호 92의 HCDR1; 서열 번호 93의 HCDR2; 서열 번호 94의 HCDR3; 서열 번호 107의 LCDR1; 서열 번호 105의 LCDR2; 및 서열 번호 103의 LCDR3을 포함한다.
- [0050] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')은 서열 번호 10의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH) 및 서열 번호 23의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL)을 포함한다.
- [0051] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')은 서열 번호 36의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열 번호 47의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.
- [0052] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')은 서열 번호 54의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열 번호 23의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.
- [0053] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')은 서열 번호 69의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열 번호 82의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.
- [0054] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')은 서열 번호 95의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열 번호 108의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.
- [0055] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 단편(예를 들어, Fab')은 서열 번호 14의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호 25의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.
- [0056] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 단편(예를 들어, Fab')은 서열 번호 40의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호 49의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.
- [0057] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 단편(예를 들어, Fab')은 서열 번호 58의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호 25의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.
- [0058] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 단편(예를 들어, Fab')은 서열 번호 73의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호 84의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.
- [0059] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 단편(예를 들어, Fab')은 서열 번호 99의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호 110의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.
- [0060] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 단편(예를 들어, Fab)은 서열 번호 118의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호 122의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.
- [0061] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 단편(예를 들어, Fab)은 서열 번호 118의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호 123의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.
- [0062] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 단편(예를 들어, Fab)은 서열 번호 124의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호 128의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.
- [0063] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 단편(예를 들어, Fab)은 서열 번호 124의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호 129의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.
- [0064] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 단편(예를 들어, Fab)은 서열 번호 130의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호 134의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.
- [0065] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 단편(예를 들어, Fab)은 서열 번호 130의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호 135의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.

- [0066] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 단편(예를 들어, Fab)은 서열 번호 136의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호 140의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.
- [0067] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 단편(예를 들어, Fab)은 서열 번호 141의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호 145의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.
- [0068] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 단편(예를 들어, Fab')은 서열 번호 119, 120 또는 121로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호 25의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.
- [0069] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 단편(예를 들어, Fab')은 서열 번호 125, 126 또는 127로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호 49의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.
- [0070] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 단편(예를 들어, Fab')은 서열 번호 131, 132 또는 133으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호 25의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.
- [0071] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 단편(예를 들어, Fab')은 서열 번호 137, 138 또는 139로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호 84의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.
- [0072] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 단편(예를 들어, Fab')은 서열 번호 142, 143 또는 144로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호 110의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.
- [0073] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체는 서열 번호 12의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호 25의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.
- [0074] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체는 서열 번호 38의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호 49의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.
- [0075] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체는 서열 번호 56의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호 25의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.
- [0076] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체는 서열 번호 71의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호 84의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.
- [0077] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체는 서열 번호 97의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호 110의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.
- [0078] 일부 구현예에서, 선택적으로 링커를 통해 약물 모이어티(예를 들어, 세포독성제)에 연결된 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')(항-cKIT Fab 또는 Fab')을 포함하는 접합체가 본원에 제공된다. 항-cKIT Fab 또는 Fab'는 본원에 기재된 Fab 또는 Fab' 중 임의의 것, 예를 들어 표 1의 Fab 또는 Fab' 중 임의의 것일 수 있다. 본원에 기재된 바와 같이, 이러한 항-cKIT Fab' 또는 Fab-독소 접합체는 시험관내 및 생체내 인간 HSC 세포를 절제할 수 있지만, 가교결합되고/되거나 더 큰 복합체로 다합체화될 때에도 비만 세포 탈과립을 유발하지 않는다.

**도면의 간단한 설명**

- [0079] **도 1의 A-1의 C**는 항-cKIT Fab'-DAR4 접합체 샘플의 하위집단(접합체 상세내용에 대해 표 2 참조)에 의한 대략 동일한 효력을 갖는 시험관내 인간 줄기 세포 및 전구세포(cKIT<sup>+</sup> / CD90<sup>+</sup> 세포)의 사멸의 선 그래프를 보여준다. **도 1의 A**는 J4(마름모꼴), J5(빈 원, 파선), J8(정사각형) 및 J9(빈 삼각형, 점선)로부터의 데이터를 보여준다. **도 1의 B**는 J10(빈 정사각형) 및 J11(원)로부터의 데이터를 보여준다. **도 1의 C**는 아이스타입 대조군 항-HER2 Fab'-DAR4 접합체에 대한 항-cKit Fab'1-DAR4 및 항-cKit Fab'2-DAR4 접합체 및 비처리된 세포(정사각형, 점선): J10(마름모꼴), J15(원), J16(빈 정사각형), J19(빈 원, 파선) 및 J20(빈 삼각형)을 보여준다.
- 도 2의 A-2의 O**는, 인간 말초 혈액 HSC 유래 비만 세포 및 베타-헥소스아미니다아제 방출을 (405 nm에서의 흡광도에서 620 nm에서의 기준 흡광도 기반 기준선을 감하여 평가된) 판독치로 사용한, 시험관내 인간 비만 세포 탈

과립 분석의 대표적인 결과를 보여주는 선 그래프이다. 여기에 나타난 데이터는 SCF 부재 하에 수집된 것이다. 선 그래프는 (x축 상에서 적정된) 항체 시험 체제 상의 Fab 부분에 특이적인 항체를 사용하여 시험 체제가 가교 결합되었을 때 다양한 농도: 0.006 nM(삼각형); 0.098 nM(마름모꼴); 1.6 nM(원형); 및 25 nM(사각형)의 항체 또는 항체 단편에 의해 촉발된 비만 세포 탈과립 수준을 보여준다. 참조를 위하여, 가교결합제 항체 단독을 각각의 그래프에 표시하였다(개방된 마름모꼴, 파선). **도 2의 A-2의 C**는 전장 항-cKIT Ab4(도 2의 A) 및 항-cKIT F(ab'<sub>4</sub>)<sub>2</sub> 단편(도 2의 B)이 가교결합되었을 때 비만 세포 탈과립을 유발하지만, 모든 시험된 농도에서 항-cKIT Fab4(HC-E152C) 단편에 의해서는 비만 세포 탈과립이 전혀 촉발되지 않았음(도 2의 C)을 보여준다. **도 2의 D-2의 F**는 전장 항-cKIT Ab1(도 2의 D) 및 항-cKIT F(ab'<sub>1</sub>)<sub>2</sub> 단편(도 2의 E)이 가교결합되었을 때 비만 세포 탈과립을 유발하지만, 모든 시험된 농도에서 항-cKIT Fab1(HC-E152C) 단편에 의해서는 비만 세포 탈과립이 전혀 촉발되지 않았음(도 2의 F)을 보여준다. **도 2의 G-2의 I**는 전장 항-cKIT Ab2(도 2의 G) 및 항-cKIT F(ab'<sub>2</sub>)<sub>2</sub> 단편(도 2의 H)이 가교결합되었을 때 비만 세포 탈과립을 유발하지만, 모든 시험된 농도에서 항-cKIT Fab2(HC-E152C) 단편에 의해서는 비만 세포 탈과립이 전혀 촉발되지 않았음(도 2의 I)을 보여준다. **도 2의 J-2의 L**은 전장 항-cKIT Ab3(도 2의 J) 및 항-cKIT F(ab'<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 단편(도 2의 K)이 가교결합되었을 때 비만 세포 탈과립을 유발하지만, 모든 시험된 농도에서 항-cKIT Fab3(HC-E152C) 단편에 의해서는 비만 세포 탈과립이 전혀 촉발되지 않았음(도 2의 L)을 보여준다. **도 2의 M-2의 O**는 가교결합되었을 때 항-Her2 항체(도 2의 M), 항-Her2-F(ab'<sub>2</sub>)<sub>2</sub> 단편(도 2의 N) 또는 항-Her2-Fab(HC-E152C) 단편(도 2의 O)에 의해 유발된 비만 세포 탈과립이 전혀 없음을 보여주는 선 그래프이다.

**도 3**은 항-cKit 접합체를 사용하여 마우스 숙주로부터의 인간 HSC의 생체내 절제를 보여주는 선 도표이다.

**발명을 실시하기 위한 구체적인 내용**

[0080] 본 발명은 항체 약물 접합체를 제공하는데, 여기서 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')은 선택적으로 링커를 통해 약물 모이어티(예를 들어, 세포독성제)에 연결된다. 이러한 항체 약물 접합체는 선택적으로 cKIT를 발현하는 세포, 예를 들어 조혈 줄기 세포에 세포독성제를 전달하여서, 환자, 예를 들어 조혈 줄기 세포 이식 수혜자에서 이러한 세포를 선택적으로 절제할 수 있다. 바람직하게는, cKIT 항체 약물 접합체는 약물동역학 특성이 있어, 연장된 시간(예를 들어, 반감기는 24-48시간 미만임) 동안 환자의 순환에 존재하지 않고/않거나 활성을 나타내지 않을 것이므로, 조혈 줄기 세포 이식 전에 조혈 줄기 세포 이식 수혜자의 컨디션 조절에 이용될 수 있다. 일부 구현예에서, 선택적으로 링커를 통해 약물 모이어티(예를 들어, 세포독성제)에 연결된 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')을 포함하는 접합체가 본원에 제공된다. 놀랍게도, 본 발명자들은 전장 항-cKIT 항체(예를 들어, 전장 IgG), F(ab'<sub>2</sub>)<sub>2</sub> 단편, 및 이의 독소 접합체가 비만 세포 탈과립을 유발하지만, 항-cKIT Fab' 또는 Fab-독소 접합체는 비만 세포 탈과립을 유발하지 않으며, 심지어 환자가 Fab 단편을 인식하는 항-약물 항체를 발달시켰거나 Fab 단편을 인식하는 기존의 항-약물 항체를 가졌을 경우에 관찰될 수 있는 것과 같이 가교결합되고/되거나 더 큰 복합체로 다량체화될 때에도 그러하다는 점을 발견하였다. 본 발명은 항체 약물 접합체를 포함하는 약제학적 조성물 및 이의 제조 방법 및 필요로 하는 환자, 예를 들어 조혈 줄기 세포 이식 수혜자에서 조혈 줄기 세포를 절제하기 위하여 이러한 약제학적 조성물을 사용하는 방법을 추가로 제공한다.

[0081] 정의

[0082] 달리 언급되지 않는 한, 본원에 사용된 다음의 용어 및 어구는 다음의 의미를 갖는다:

[0083] 용어 "알킬"은 특정 수의 탄소 원자를 갖는 1가 포화 탄화수소 사슬을 지칭한다. 예를 들어, C<sub>1-6</sub>알킬은 1개 내지 6개의 탄소 원자를 갖는 알킬기를 지칭한다. 알킬기는 직선형 또는 분지형일 수 있다. 대표적인 분지형 알킬기는 1개, 2개 또는 3개의 분지를 갖는다. 알킬기의 예는 메틸, 에틸, 프로필(n-프로필 및 이소프로필), 부틸(n-부틸, 이소부틸, sec-부틸 및 t-부틸), 펜틸(n-펜틸, 이소펜틸 및 네오펜틸) 및 헥실을 포함하지만, 이들로 제한되지는 않는다.

[0084] 본원에 사용된 바와 같은 용어 "항체"는 항원에 특이적으로 결합하는 면역글로불린 분자로부터 유래된 단백질 또는 폴리펩타이드 서열을 지칭한다. 항체는 다중클론성 또는 단일클론성, 다중 또는 단일 사슬, 또는 온전한 면역글로불린일 수 있고, 천연 공급원으로부터 또는 재조합 공급원으로부터 유래될 수 있다. 자연 발생 "항체"는 이황화 결합에 의해 상호연결된 적어도 2개의 중쇄(H) 및 2개의 경쇄(L)를 포함하는 당단백질이다. 각각의 중쇄는 중쇄 가변 영역(본원에서 VH로 약칭됨) 및 중쇄 불변 영역으로 구성된다. 중쇄 불변 영역은 세 개의 도

메인 CH1, CH2 및 CH3으로 구성된다. 각각의 경쇄는 경쇄 가변 영역(본원에서 VL로 약칭됨) 및 경쇄 불변 영역으로 구성된다. 경쇄 불변 영역은 하나의 도메인 CL로 구성된다. VH 및 VL 영역은 상보성 결정 영역(CDR: complementarity determining region)으로 불리는 추가변성의 영역들로 더 세분될 수 있으며, 이들 사이에는 프레임워크 영역(FR: framework region)으로 불리는 더 보존된 영역들이 산재되어 있다. 각각의 VH 및 VL은 FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4의 순서로 아미노 말단으로부터 카복시 말단으로 배열된 3개의 CDR 및 4개의 FR로 구성된다. 중쇄 및 경쇄의 가변 영역은 항원과 상호작용하는 결합 도메인을 함유한다. 항체의 불변 영역은 숙주 조직 또는 면역계의 다양한 세포(예를 들어, 효과기 세포) 및 전통적인 보체 시스템의 제1 성분(C1q)을 포함하는 인자에 대한 면역글로불린의 결합을 매개할 수 있다. 항체는 단일클론 항체, 인간 항체, 인간화된 항체, 낙타과 항체 또는 키메라 항체일 수 있다. 항체는 임의의 이소형(예를 들어, IgG, IgE, IgM, IgD, IgA 및 IgY), 종류(예를 들어, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 및 IgA2) 또는 하위종류의 항체일 수 있다.

[0085] "상보성 결정 도메인" 또는 "상보성 결정 영역"("CDR")은 상호 교환적으로 VL 및 VH의 추가변 영역을 지칭한다. CDR은 표적 단백질에 대한 특이성을 보유하는 항체 사슬의 표적 단백질 결합 부위이다. 각각의 인간 VL 또는 VH에 3개의 CDR(N-말단으로부터 순차적으로 넘버링된 CDR1 내지 3)이 있고, 이들은 가변 도메인의 약 15% 내지 20%를 구성한다. CDR은 그것들의 영역 및 순서에 의해 지칭될 수 있다. 예를 들어, "VHCDR1" 또는 "HCDR1" 둘 다는 중쇄 가변 영역의 첫 번째 CDR을 지칭한다. CDR은 표적 단백질의 에피토프에 대해 구조적으로 상보적이며, 따라서 결합 특이성의 직접적인 원인이 된다. VL 또는 VH의 나머지 스트레치(stretch), 소위 프레임워크 영역은 아미노산 서열의 보다 적은 변형을 나타낸다(Kuby, Immunology, 4th ed., Chapter 4. W.H. Freeman & Co., New York, 2000).

[0086] 주어진 CDR의 정확한 아미노산 서열 경계는 문헌[Kabat *et al.* (1991), "Sequences of Proteins of Immunological Interest," 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD]("카밧" 넘버링 체계), 문헌[Al-Lazikani *et al.*, (1997) JMB 273, 927-948]("초티아" 넘버링 체계) 및 ImMunoGenTics(IMG) 넘버링(Lefranc, M.-P., The Immunologist, 7, 132-136 (1999); Lefranc, M.-P. *et al.*, Dev. Comp. Immunol., 27, 55-77 (2003)("IMG" 넘버링 체계)에 기재된 것들을 포함하는 다수의 주지된 체계 중 임의의 것을 이용하여 결정될 수 있다. 예를 들어, 고전적인 형식의 경우, 카밧 하에서, 중쇄 가변 도메인(VH) 내의 CDR 아미노산 잔기는 31번 내지 35번(HCDR1), 50번 내지 65번(HCDR2) 및 95번 내지 102번(HCDR3)으로 넘버링되고; 경쇄 가변 도메인(VL) 내의 CDR 아미노산 잔기는 24번 내지 34번(LCDR1), 50번 내지 56번(LCDR2) 및 89번 내지 97번(LCDR3)으로 넘버링된다. 초티아 하에서, VH 내의 CDR 아미노산은 26번 내지 32번(HCDR1), 52번 내지 56번(HCDR2), 및 95번 내지 102번(HCDR3)으로 넘버링되고; VL 내의 아미노산 잔기는 26번 내지 32번(LCDR1), 50번 내지 52번(LCDR2), 및 91번 내지 96번(LCDR3)으로 넘버링된다. 카밧 및 초티아 둘 다의 CDR 정의를 조합함으로써, CDR은 인간 VH 내의 아미노산 잔기 26번 내지 35번(HCDR1), 50번 내지 65번(HCDR2), 및 95번 내지 102번(HCDR3) 및 인간 VL 내의 아미노산 잔기 24번 내지 34번(LCDR1), 50번 내지 56번(LCDR2), 및 89번 내지 97번(LCDR3)으로 이루어진다. IMG 하에서 VH 내의 CDR 아미노산 잔기는 대략 26번 내지 35번(CDR1), 51번 내지 57번(CDR2) 및 93번 내지 102번(CDR3)으로 넘버링되고, VL 내의 CDR 아미노산 잔기는 대략 27번 내지 32번(CDR1), 50번 내지 52번(CDR2) 및 89번 내지 97번(CDR3)("카밧"에 따른 넘버링)으로 넘버링된다. IMG 하에서, 항체의 CDR 영역은 IMG/DomainGap Align 프로그램을 사용하여 결정될 수 있다.

[0087] 경쇄와 중쇄 둘 다는 구조적 및 기능적 상동성 영역으로 나뉜다. 용어 "불변" 및 "가변"은 기능적으로 사용된다. 이와 관련하여, 경쇄(VL) 및 중쇄(VH) 부분의 가변 도메인이 항원 인식 및 특이성을 결정한다는 점이 인정될 것이다. 역으로, 경쇄의 불변 도메인(CL) 및 중쇄의 불변 도메인(CH1, CH2 또는 CH3, 및 일부 경우, CH4)은 분비, 태반 통과 이동성, Fc 수용체 결합, 보체 결합, FcRn 수용체 결합, 반감기, 약물동역학 등과 같은 중요한 생물학적 성질을 부여한다. 관례상, 불변 영역 도메인의 넘버링은 불변 영역 도메인이 항체의 항원 결합 부위 또는 아미노 말단으로부터 멀어질수록 증가된다. N 말단은 가변 영역이고, C 말단에는 불변 영역이 있으며; CH3 및 CL 도메인은 실제로 각각 중쇄 및 경쇄의 카복시 말단 도메인을 포함한다.

[0088] 본원에 사용된 바와 같은 용어 "항체 단편" 또는 "항원 결합 단편"은 항원(예를 들어, cKIT)의 에피토프와 (예를 들어, 결합, 입체 장해, 안정화/탈안정화, 공간 분포에 의해) 특이적으로 상호작용하는 능력을 보유하는 항체의 하나 이상의 부분을 지칭한다. 항체 단편의 예는, VL, VH, CL 및 CH1 도메인으로 구성된 1가 단편인 Fab 단편; VL, VH, CL, CH1 도메인, 및 힌지 영역으로 구성된 1가 단편인 Fab' 단편; 힌지 영역에서 이황화 브리지에 의해 연결된 2개의 Fab 단편을 포함한 2가 단편인 F(ab')<sub>2</sub> 단편; 이황화 브리지에 의해 연결된 단일 중쇄 및 단일 경쇄를 포함하는 절반 항체; Fc 영역에 연결된 Fab 단편을 포함하는 일 아암 항체; CH3 도메인 이합체에 연결된 2개의 Fab 단편을 포함하는 CH2 도메인 결실 항체(문헌[Glaser, J Biol Chem. 2005; 280(50):41494-

503] 참조); 단쇄 Fv(scFv); 이황화 연결된 Fv(sdFv); VH 및 CH1 도메인으로 구성된 Fd 단편; 항체의 단일 아암의 VL 및 VH 도메인으로 구성된 Fv 단편; VH 도메인으로 구성된 dAb 단편(Ward *et al.*, Nature 341:544-546, 1989); 및 항체의 단리된 상보성 결정 영역(CDR) 또는 기타 에피토프 결합 단편을 포함하지만, 이들로 제한되지는 않는다. 예를 들어, Fab 단편은 항체의 중쇄의 아미노산 1번 내지 222번 잔기(EU 넘버링)를 포함할 수 있는 한편; Fab' 단편은 항체의 중쇄의 아미노산 1번 내지 236번 잔기(EU 넘버링)를 포함할 수 있다. 항체의 Fab 또는 Fab' 단편은 재조합에 의해 또는 모 항체의 효소적 소화에 의해 생성될 수 있다. 재조합으로 생성된 Fab 또는 Fab'는 시스테인(Junutula, J. R.; *et al.*, Nature biotechnology 2008, 26, 925), 피롤린-카복시-리신(Ou, W. *et al.*, Proc Natl Acad Sci USA 2011;108(26):10437-42) 또는 비천연 아미노산(예를 들어, Tian, F. *et al.*, Proc Natl Acad Sci USA 2014, 111, 1766, Axup, J. Y. *et al.*, Proc Natl Acad Sci USA. 2012, 109, 16101)과 같은 부위 특이적 접합을 위해 아미노산을 도입하도록 조작될 수 있다. 이와 유사하게, 돌연변이 또는 펩타이드 태그가 포스포판테테인 트랜스퍼라아제(Grunewald, J. *et al.*, Bioconjugate chemistry 2015, 26, 2554), 포밀 글리신 형성 효소(Drake, P. M. *et al.*, Bioconjugate chemistry 2014, 25, 1331), 트랜스글루타미나아제(Strop, P. *et al.*, Chemistry & biology 2013, 20, 161), 소르타제(sortase)(Beerli, R. R.; Hell, T.; Merkel, A. S.; Grawunder, U. PloS one 2015, 10, e0131177)를 통한 접합 또는 기타 효소적 접합 전략을 촉진하기 위하여 첨가될 수 있다. 게다가, Fv 단편의 2개의 도메인 VL 및 VH가 별도의 유전자에 의해 암호화될 수 있지만, 이들은, VL 및 VH 영역이 짝을 지어 (단쇄 Fv("scFv"))로 알려져 있는) 1가 분자를 형성하는 단일 단백질 사슬로서 제조될 수 있게 하는 합성 링커에 의해 재조합 방법을 이용하여 연결될 수 있고; 예를 들어 문헌[Bird *et al.*, Science 242:423-426, 1988; 및 Huston *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. 85:5879-5883, 1988]을 참조한다. 이러한 단쇄 항체는 또한 용어 "항원 결합 단편"에 포함된다. 이들 항원 결합 단편은 당업자에게 알려진 통상적인 기법을 사용하여 얻어지며, 이들 단편은 온전한 항체와 동일한 방식으로 유용성을 위해 스크리닝된다.

[0089] 항체 단편 또는 항원 결합 단편은 또한 단일 도메인 항체, 맥시바디, 미니바디, 나노바디, 인트라바디, 디아바디, 트리아바디, 테트라바디, v-NAR 및 비스 scFv에 포함될 수 있다(예를 들어, 문헌[Hollinger and Hudson, Nature Biotechnology 23:1126-1136, 2005] 참조). 항원 결합 단편은 폴리펩타이드, 예컨대 피브로넥틴 III형(Fn3)을 기반으로 한 스캐폴드로 그래프팅될 수 있다(피브로넥틴 폴리펩타이드 모노바디를 기술한 미국 특허 제 6,703,199호 참조).

[0090] 항체 단편 또는 항원 결합 단편은, 상보성 경쇄 폴리펩타이드와 함께 한 쌍의 항원 결합 영역을 형성하는 한 쌍의 탠덤 Fv 분절(VH-CH1-VH-CH1)을 포함하는 단쇄 분자로 통합될 수 있다(Zapata *et al.*, Protein Eng. 8:1057-1062, 1995; 및 미국 특허 제5,641,870호).

[0091] 본원에 사용된 바와 같은 용어 "단일클론 항체" 또는 "단일클론 항체 조성물"은 실질적으로 동일한 아미노산 서열을 갖거나 동일한 유전적 출처로부터 유래하는 항체 및 항원 결합 단편을 포함하는 폴리펩타이드를 지칭한다. 이 용어는 또한 단일 분자 조성물의 항체 분자의 체제를 포함한다. 단일클론 항체 조성물은 특정 에피토프에 대한 단일 결합 특이성 및 친화성을 나타낸다.

[0092] 본원에 사용된 바와 같은 "인간 항체"라는 용어는 프레임워크 영역과 CDR 영역이 둘 다 인간 유래의 서열로부터 유래된 가변 영역을 갖는 항체를 포함한다. 게다가, 항체가 불변 영역을 함유하면, 불변 영역은 또한 이러한 인간 서열, 예를 들어 인간 생식선 서열, 또는 인간 생식선 서열의 돌연변이 버전, 또는 인간 프레임워크 서열 분석으로부터 유래된 공통 프레임워크 서열을 함유하는 항체(예를 들어, 문헌[Knappik *et al.*, J. Mol. Biol. 296:57-86, 2000]에 기술된 바와 같음)로부터 유래된다.

[0093] 본 발명의 인간 항체는 인간 서열에 의해 암호화되지 않는 아미노산 잔기(예를 들어, 시험관내 무작위 또는 위치 특이적 돌연변이 유발에 의하거나 생체내 체세포 돌연변이에 의해 도입된 돌연변이, 또는 안정성 또는 제작을 촉진하기 위한 보존적 치환)를 포함할 수 있다.

[0094] 본원에 사용된 바와 같은 용어 "인식하다"는, 에피토프가 선형인지 입체적인지와 관계 없이, 자신의 에피토프를 확인하고 이와 상호작용하는(예를 들어, 결합하는) 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 지칭한다. 용어 "에피토프"는 본 발명의 항체 또는 항원 결합 단편이 특이적으로 결합하는 항원 상의 위치를 지칭한다. 에피토프는 인접한 아미노산들로부터 형성되거나 단백질의 3차 폴딩에 의해 병치된 인접하지 않은 아미노산들로부터 형성될 수 있다. 인접한 아미노산들로부터 형성된 에피토프는 전형적으로 변성 용매에 대한 노출 시 유지되는 반면, 3차 폴딩에 의해 형성된 에피토프는 변성 용매 처리 시 전형적으로 상실된다. 에피토프는 독특한 공간적 입체 형태로 적어도 3개, 4개, 5개, 6개, 7개, 8개, 9개, 10개, 11개, 12개, 13개, 14개 또는 15개의 아미노산

을 전형적으로 포함한다. 에피토프의 공간적 입체 형태를 결정하는 방법은 당해 분야의 기술, 예를 들어, x선 결정학 및 2차원 핵 자기 공명을 포함한다(예를 들어, 문헌[Epitope Mapping Protocols in Methods in Molecular Biology, Vol. 66, G. E. Morris, Ed. (1996)] 참조). "과라토프"는 항원의 에피토프를 인식하는 항체의 부분이다.

- [0095] 항원(예를 들어, 단백질)과 항체, 항체 단편 또는 항체 유래 결합제 사이의 상호작용을 기술하는 맥락에서 사용될 때 어구 "특이적으로 결합한다" 또는 "선택적으로 결합한다"는 단백질 및 기타 생물체제의 비균질 집단, 예를 들어, 생물학적 샘플, 예를 들어 혈액, 혈청, 혈장 또는 조직 샘플 내의 항원의 존재를 결정짓는 결합 반응을 지칭한다. 따라서, 특정한 지정된 면역검정 조건 하에, 특정한 결합 특이성이 있는 항체 또는 결합제는 특정 항원에 배경값의 적어도 2배로 결합하고, 샘플 내에 존재하는 다른 항원에는 실질적으로 유의미한 양으로 결합하지 않는다. 일 양태에서, 지정된 면역검정 조건 하에, 특정한 결합 특이성이 있는 항체 또는 결합제는 특정 항원에 배경값의 적어도 10배로 결합하고, 샘플 내에 존재하는 다른 항원에는 실질적으로 유의미한 양으로 결합하지 않는다. 이러한 조건 하에서의 항체 또는 결합제에 대한 특이적인 결합은 이 항체 또는 결합제가 특정 단백질에 대한 이의 특이성에 대해 선택됨을 요구할 수 있다. 원한다면 또는 적합하다면, 이러한 선택은 다른 종(예를 들어, 마우스 또는 래트) 또는 다른 하위유형으로부터의 분자와 교차반응하는 항체를 제외시키는 것에 의해 달성될 수 있다. 대안적으로, 일부 양태에서, 특정한 원하는 분자와 교차반응하는 항체 또는 항체 단편이 선택된다.
- [0096] 본원에 사용된 바와 같은 용어 "친화도"는 단일 항원 부위에서의 항체와 항원 사이의 상호작용의 강도를 의미한다. 각각의 항원 부위 내에서, 항체 "아암"의 가변 영역은 여러 부위에서 항원과 약한 비공유 결합력을 통해 상호작용하며; 상호작용이 많을수록 친화도는 더 강하다.
- [0097] 용어 "단리된 항체"는 상이한 항원 특이성을 갖는 다른 항체가 실질적으로 없는 항체를 지칭한다. 그러나, 하나의 항원에 특이적으로 결합하는 단리된 항체는 다른 항원에 대해 교차 반응성을 가질 수 있다. 또한, 단리된 항체는 다른 세포 물질 및/또는 화학물질이 실질적으로 없을 수 있다.
- [0098] 용어 "상응하는 인간 생식선 서열"은 인간 생식선 면역글로불린 가변 영역 서열에 의해 암호화되는 모든 다른 공지된 가변 영역 아미노산 서열과 비교하여 기준 가변 영역 아미노산 서열 또는 하위 서열과 가장 높게 결정된 아미노산 서열 동일성을 공유하는 인간 가변 영역 아미노산 서열 또는 하위 서열을 암호화하는 핵산 서열을 지칭한다. 상응하는 인간 생식선 서열은 또한 모든 다른 평가된 가변 영역 아미노산 서열과 비교하여 기준 가변 영역 아미노산 서열 또는 하위서열과 아미노산 서열 동일성이 가장 높은 인간 가변 영역 아미노산 서열 또는 하위서열을 지칭할 수 있다. 상응하는 인간 생식선 서열은 프레임워크 영역 단독, 상보성 결정 영역 단독, 프레임워크 및 상보성 결정 영역, (위에 정의된 바와 같은) 가변 분절, 또는 가변 영역을 포함하는 서열 또는 하위서열의 기타 조합일 수 있다. 본원에 기재된 방법을 이용하여, 예를 들어, 2개의 서열을 BLAST, ALIGN, 또는 당해 분야에 공지된 다른 정렬 알고리즘을 사용하여 정렬하여, 서열 동일성을 결정할 수 있다. 상응하는 인간 생식선 핵산 또는 아미노산 서열은 기준 가변 영역 핵산 또는 아미노산 서열과 적어도 약 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 서열 동일성을 가질 수 있다.
- [0099] 다양한 면역검정 형식을 이용하여 특정 단백질과 특이적으로 면역반응성을 나타내는 항체를 선택할 수 있다. 예를 들어, 고상 ELISA 면역검정은 단백질과 특이적으로 면역반응성을 나타내는 항체를 선택하는데 통상적으로 사용된다(예를 들어, 특이적 면역반응성을 결정하는 데 사용될 수 있는 면역검정 형식 및 조건에 대한 설명은 문헌[Harlow & Lane, Using Antibodies, A Laboratory Manual (1998)] 참조). 전형적으로, 특이적 또는 선택적 결합 반응은 배경 신호에 비해 적어도 2배, 더욱 전형적으로는 배경에 대해 적어도 10배 내지 100배의 신호를 생성할 것이다.
- [0100] 용어 "평형 해리 상수(KD [M])"는 결합 속도 상수( $k_a [s^{-1}, M^{-1}]$ )로 나눈 해리 속도 상수( $k_d [s^{-1}]$ )를 지칭한다. 당해 분야의 임의의 공지된 방법을 이용하여 평형 해리 상수를 측정할 수 있다. 본 발명의 항체는 일반적으로 평형 해리 상수가 약  $10^{-7}$  또는  $10^{-8}$  M 미만, 예를 들어, 약  $10^{-9}$  M 또는  $10^{-10}$  M 미만, 일부 양태에서는 약  $10^{-11}$  M,  $10^{-12}$  M 또는  $10^{-13}$  M 미만일 것이다.
- [0101] 용어 "생체이용률"은 환자에 투여된 주어진 양의 약물의 전신 이용률(즉, 혈액/혈장 수준)을 지칭한다. 생체이용률은 투여된 투여 형태로부터 일반 순환에 도달하는 약물의 시간(속도) 및 총량(정도)의 측정치를 가리키는 절대적인 용어이다.

- [0102] 본원에 사용된 바와 같은 어구 "본질적으로 이루어지는"은 방법 또는 조성물에 포함된 활성 약제의 속 또는 종류 뿐만 아니라 방법 또는 조성물의 의도된 목적에 대해 불활성인 임의의 부형제도 지칭한다. 일부 양태에서, 어구 "본질적으로 이루어지는"은 본 발명의 항체 약물 접합체 이외의 1종 이상의 추가의 활성제의 포함을 명백하게 배제한다. 일부 양태에서, 어구 "본질적으로 이루어지는"은 본 발명의 항체 약물 접합체 및 제2의 공동-투여 제제 이외의 1종 이상의 추가의 활성제의 포함을 명백하게 배제한다.
- [0103] 용어 "아미노산"은 자연 발생, 합성, 및 비천연 아미노산뿐만 아니라 자연 발생 아미노산과 유사한 방식으로 기능하는 아미노산 유사체 및 아미노산 모방체를 지칭한다. 자연 발생 아미노산은 유전 코드에 의해 암호화되는 것들뿐만 아니라 추후에 변형된 아미노산, 예를 들어 하이드록시프롤린,  $\gamma$ -카복시글루타메이트 및 O-포스포세린이다. 아미노산 유사체는 자연 발생 아미노산과 동일한 기본 화학 구조, 즉 수소, 카복실기, 아미노기 및 R기에 결합된  $\alpha$ -탄소가 있는 화합물, 예를 들어 호모세린, 노르류신, 메티오닌 설펍시드, 메티오닌 메틸 설펍음을 지칭한다. 이러한 유사체는 변형된 R기(예를 들어, 노르류신) 또는 변형된 펩타이드 골격을 갖지만, 자연 발생 아미노산과 동일한 기본 화학 구조를 유지한다. 아미노산 모방체는 아미노산의 일반적인 화학 구조와 상이한 구조를 갖지만 자연 발생 아미노산과 유사한 방식으로 기능하는 화학적 화합물을 지칭한다.
- [0104] 용어 "보존적으로 변형된 변이체"는 아미노산 서열 및 핵산 서열 둘 다에 적용된다. 특정 핵산 서열과 관련하여, 보존적으로 변형된 변이체는 동일하거나 본질적으로 동일한 아미노산 서열을 암호화하는 핵산을 지칭하거나, 핵산이 아미노산 서열을 암호화하지 않는 경우, 본질적으로 동일한 서열을 지칭한다. 유전 코드의 축퇴성으로 인해, 다수의 기능적으로 동일한 핵산이 임의의 주어진 단백질을 암호화한다. 예를 들어, GCA, GCC, GCG 및 GCU 코돈은 모두 알라닌 아미노산을 암호화한다. 따라서, 알라닌이 코돈에 의해 특정되는 모든 위치에서, 이 코돈은 암호화되는 폴리펩타이드를 바꾸지 않으면서 기재된 상응하는 코돈 중 임의의 것으로 변경될 수 있다. 이러한 핵산 변이는 "침묵 변이"이고, 이는 보존적으로 변형된 변이의 한 종류이다. 폴리펩타이드를 암호화하는 본원에서의 모든 핵산 서열은 또한 핵산의 모든 가능한 침묵 변이를 설명한다. 당업자는 핵산 내의 각각의 코돈(통상적으로 메티오닌에 대한 유일한 코돈인 AUG, 그리고 통상적으로 트립토판에 대한 유일한 코돈인 TGG를 제외)이 기능적으로 동일한 분자를 생성하도록 변형될 수 있음을 인식할 것이다. 따라서, 폴리펩타이드를 코딩하는 핵산의 각각의 침묵 변이는 기술된 각각의 서열에 암시적이다.
- [0105] 폴리펩타이드 서열에 대해, "보존적으로 변형된 변이체"는, 아미노산을 화학적으로 유사한 아미노산으로 치환시키는, 폴리펩타이드 서열에서의 개별 치환, 결실 또는 부가를 포함한다. 기능적으로 유사한 아미노산을 제공하는 보존적 치환 표는 당해 분야에 잘 알려져있다. 이러한 보존적으로 변형된 변이체는 다형성 변이체, 중간 상동체 및 대립유전자에 대해 부가적이고, 이를 배제하지 않는다. 다음의 8개 군이 서로에 대해 보존적 치환인 아미노산을 함유한다: 1) 알라닌(A), 글리신(G); 2) 아스파르트산(D), 글루탐산(E); 3) 아스파라긴(N), 글루타민(Q); 4) 아르기닌(R), 리신(K); 5) 이소류신(I), 류신(L), 메티오닌(M), 발린(V); 6) 페닐알라닌(F), 티로신(Y), 트립토판(W); 7) 세린(S), 트레오닌(T); 및 8) 시스테인(C), 메티오닌(M)(예를 들어, 문헌[Creighton, Proteins (1984)] 참조). 일부 양태에서, 용어 "보존적 서열 변형"은 아미노산 서열을 함유하는 항체의 결합 특성에 유의미하게 영향을 미치지거나 이를 유의미하게 변경하지 않는 아미노산 변형을 지칭하도록 사용된다.
- [0106] 본원에 사용된 바와 같은 용어 "최적화된"은 생산 세포 또는 유기체, 일반적으로는 진핵생물 세포, 예를 들어 효모 세포, 피키아(Pichia) 세포, 진균 세포, 트리코데르마(Trichoderma) 세포, 중국 햄스터 난소 세포(CHO) 또는 인간 세포에서 선호되는 코돈을 사용하여 아미노산 서열을 암호화하도록 변경된 뉴클레오타이드 서열을 지칭한다. 최적화된 뉴클레오타이드 서열은 "모" 서열로도 공지된 시작 뉴클레오타이드 서열에 의해 원래 암호화되는 아미노산 서열을 완전히 또는 가능한 한 많이 유지하도록 조작된다.
- [0107] 2종 이상의 핵산 또는 폴리펩타이드 서열의 맥락에서 용어 "동일한 비율" 또는 "동일성(%)"은 2개 이상의 서열 또는 하위서열이 동일한 정도를 지칭한다. 비교되는 영역에 걸쳐 동일한 서열의 아미노산 또는 뉴클레오타이드를 갖는다면 2개의 서열은 "동일"하다. 다음의 서열 비교 알고리즘 중 하나를 사용하여 또는 수동 정렬 및 육안 검사에 의해 측정하였을 때, 비교항 또는 지정된 영역에 걸친 최대 상응성을 비교하고 정렬하는 경우, 2개의 서열에 소정의 백분율(즉, 소정의 영역에 걸쳐, 또는 특정되지 않은 경우 전체 서열에 걸쳐, 60% 동일성, 선택적으로는 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 또는 99% 동일성)의 동일한 아미노산 잔기 또는 뉴클레오타이드가 있으면 2개의 서열은 "실질적으로 동일"하다. 선택적으로, 동일성은 적어도 약 30개의 뉴클레오타이드(또는 10개의 아미노산) 길이의 영역에 걸쳐, 또는 더욱 바람직하게는 100개 내지 500개 또는 1000개 이상의 뉴클레오타이드(또는 20개, 50개, 200개 이상의 아미노산) 길이의 영역에 걸쳐 존재한다.
- [0108] 서열 비교를 위해, 전형적으로 하나의 서열은 시험 서열이 비교되는 기준 서열로서 작용한다. 서열 비교 알고리

즘을 사용하는 경우에, 시험 서열 및 기준 서열은 컴퓨터에 입력되고, 필요한 경우에 하위서열 좌표가 지정되고, 서열 알고리즘 프로그램 매개변수가 지정된다. 디폴트 프로그램 매개변수가 사용될 수 있거나, 대안적인 매개변수가 지정될 수 있다. 이후, 서열 비교 알고리즘은 프로그램 매개변수에 기초하여, 기준 서열에 대한 시험 서열의 서열 동일성(%)을 계산한다.

[0109] "비교 창"은 본원에 사용된 바대로 20개 내지 600개, 일반적으로는 약 50개 내지 약 200개, 더욱 일반적으로는 약 100개 내지 약 150개로 이루어진 군으로부터 선택된 인접한 위치의 수 중 임의의 하나의 분절에 대한 참조를 포함하고, 여기서 서열은 2개의 서열이 최적으로 정렬된 후에 인접한 위치의 동일한 수의 기준 서열과 비교될 수 있다. 비교를 위한 서열의 정렬 방법은 당해 분야에 잘 알려져 있다. 비교를 위한 서열의 최적 정렬은 예를 들어 문헌[Smith and Waterman, Adv. Appl. Math. 2:482c (1970)]의 국소 상동성 알고리즘, 문헌[Needleman and Wunsch, J. Mol. Biol. 48:443 (1970)]의 상동성 정렬 알고리즘, 문헌[Pearson and Lipman, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:2444 (1988)]의 유사성 검색 방법에 의해, 이들 알고리즘의 컴퓨터 실행(Wisconsin Genetics Software Package(미국 위스콘신 주 매디슨 사이언스 드라이브 575 소재 Genetics Computer Group)의 GAP, BESTFIT, FASTA 및 TFASTA)에 의해, 또는 수동 정렬 및 육안 검사(예를 들어, 문헌[Brent *et al.*, Current Protocols in Molecular Biology, 2003] 참조)에 의해 수행될 수 있다.

[0110] 퍼센트 서열 동일성 및 서열 유사성을 결정하는데 적합한 알고리즘의 2가지 예는 BLAST 및 BLAST 2.0 알고리즘이며, 이들은 각각 문헌 [Altschul *et al.*, Nuc. Acids Res. 25:3389-3402, 1977; 및 Altschul *et al.*, J. Mol. Biol. 215:403-410, 1990]에 기술된 BLAST 및 BLAST 2.0 알고리즘이다. BLAST 분석을 수행하기 위한 소프트웨어는 미국 국립 생명공학 정보 센터(National Center for Biotechnology Information)를 통해 공개적으로 이용 가능하다. 이 알고리즘은 데이터베이스 서열에서 동일한 길이의 단어와 정렬될 때 일부 양수 값의 임계 점수 T와 일치하거나 이를 만족하는 조희 서열에서 길이가 W인 짧은 단어를 확인함으로써 높은 점수를 매기는 서열 쌍(HSP: high scoring sequence pair)을 처음에 확인하는 것을 포함한다. T는 이웃 워드 점수 역치라 지칭된다(상기 Altschul 등의 문헌 참조). 이러한 초기 이웃 워드 히트(hit)는 이를 함유하는 더 긴 HSP를 찾는 검색 개시를 위한 시드(seed)로서 작용한다. 누적 정렬 점수가 증가될 수 있는 한, 워드 히트는 각각의 서열을 따라 양 방향으로 확장된다. 뉴클레오타이드 서열에 대해, 매개변수 M(한 쌍의 매치되는 잔기에 대한 보상 점수; 항상 > 0) 및 N(미스매치된 잔기에 대한 페널티 점수; 항상 < 0)을 사용하여 누적 점수가 계산된다. 아미노산 서열의 경우, 누적 점수를 계산하기 위해 득점 행렬이 사용된다. 누적 정렬 점수가 최대 달성 값에서 X 양만큼 떨어질 때 각각의 방향의 단어 히트의 확장이 중단되며; 누적 점수는 하나 이상의 음수 스코어링 잔기 정렬의 누적으로 인해 0 이하가 되거나; 서열 중 어느 하나의 끝에 도달한다. BLAST 알고리즘 매개변수인 W, T 및 X는 정렬의 민감도와 속도를 결정한다. BLASTN 프로그램(뉴클레오타이드 서열의 경우)은 디폴트로서 워드 길이(W) 11, 기대값(E) 또는 10, M=5, N=-4 및 양쪽 가닥의 비교를 사용한다. 아미노산 서열의 경우, BLASTP 프로그램은 디폴트로서 워드 길이 3, 및 예상값(E) 10, 및 BLOSUM62 득점 행렬(문헌[Henikoff and Henikoff, (1989) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:10915] 참조) 정렬 (B) 50, 기대값(E) 10, M=5, N=-4, 및 양쪽 가닥의 비교를 사용한다.

[0111] BLAST 알고리즘은 또한, 2개의 서열 간의 유사성의 통계 분석을 수행한다(예를 들어, 문헌[Karlin and Altschul, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:5873-5877, 1993] 참조) BLAST 알고리즘이 제공하는 유사성의 한 척도는 2개의 뉴클레오타이드 또는 아미노산 서열 간의 매치가 우연히 일어날 확률의 지표를 제공하는 최소 합계 확률(P(N))이다. 예를 들어, 기준 핵산에 대한 시험 핵산의 비교에서 최소 합계 확률이 약 0.2 미만, 더욱 바람직하게는 약 0.01 미만, 가장 바람직하게는 약 0.001 미만이면 핵산은 기준 서열과 유사한 것으로 여겨진다.

[0112] 2개의 아미노산 서열 사이의 동일성 퍼센트는 또한 PAM120 가중치 잔기 표, 갭 길이 페널티 12 및 갭 페널티 4를 사용하여 ALIGN 프로그램(버전 2.0) 내에 포함된 문헌[E. Meyers and W. Miller, Comput. Appl. Biosci. 4:11-17, (1988)]의 알고리즘을 이용하여 결정될 수 있다. 또한, 2개의 아미노산 서열들 사이의 동일성(%)은 GCG 소프트웨어 패키지(www.gcg.com에서 이용 가능함) 내의 GAP 프로그램 내로 통합된 문헌[Needleman and Wunsch, J. Mol. Biol. 48:444-453, (1970)]의 알고리즘을 이용하여, Blossom 62 행렬 또는 PAM250 행렬, 및 갭 가중치 16, 14, 12, 10, 8, 6 또는 4 및 길이 가중치 1, 2, 3, 4, 5 또는 6을 사용하여 결정될 수 있다.

[0113] 상기 주지된 서열 동일성 퍼센트 외에, 2개의 핵산 서열 또는 폴리펩타이드들이 실질적으로 동일하다는 다른 표시는, 제1 핵산에 의해 암호화된 폴리펩타이드가, 하기 기재된 바와 같이 제2 핵산에 의해 암호화된 폴리펩타이드에 대해 생성된 항체와 면역학적으로 교차 반응성이라는 것이다. 따라서, 예를 들어, 2개의 펩타이드가 보존적 치환만이 상이한 경우에, 폴리펩타이드는 전형적으로 제2의 폴리펩타이드와 실질적으로 동일하다. 2개의 핵산 서열이 실질적으로 동일하다는 다른 표시는, 하기 기재된 바와 같이, 2개의 분자 또는 이들의 보체가 엄격한

조건 하에 서로 혼성화한다는 점이다. 2개의 핵산 서열이 실질적으로 동일하다는 또 다른 표시는 서열을 증폭시키는 데 동일한 프라이머가 사용될 수 있다는 점이다.

- [0114] 용어 "핵산"은 본원에서 용어 "폴리뉴클레오타이드"와 상호호환적으로 사용되고, 단일 가닥 또는 이중 가닥 형태의 데옥시리보뉴클레오타이드 또는 리보뉴클레오타이드 및 이의 중합체를 지칭한다. 이러한 용어는 합성, 자연 발생적, 및 비자연 발생적이고, 기준 핵산과 결합 성질이 유사하며, 기준 뉴클레오타이드와 유사한 방식으로 대사되는, 공지된 뉴클레오타이드 유사체 또는 변형된 골격 잔기 또는 연결을 함유하는 핵산을 포괄한다. 이러한 유사체의 예는 제한 없이 포스포로티오에이트, 포스포르아미데이트, 메틸 포스포네이트, 키랄-메틸 포스포네이트, 2'-O-메틸 리보뉴클레오타이드, 펩타이드-핵산(PNA)을 포함한다.
- [0115] 달리 표시하지 않는 한, 특정 핵산 서열은 또한 이의 보존적으로 변형된 변이체(예컨대 축퇴 코돈 치환) 및 상보적 서열뿐만 아니라 명백하게 표시된 서열을 함축적으로 포함한다. 구체적으로는, 이하에 상술하는 바와 같이, 축퇴성 코돈 치환은 1개 이상의 선택된(또는 모든) 코돈의 제3 위치가 혼합-염기 및/또는 데옥시이노신 잔기로 치환되는 서열을 생성함으로써 달성될 수 있다(Batzer *et al.*, (1991) *Nucleic Acid Res.* 19:5081; Ohtsuka *et al.*, (1985) *J. Biol. Chem.* 260:2605-2608; 및 Rossolini *et al.*, (1994) *Mol. Cell. Probes* 8:91-98).
- [0116] 핵산의 맥락에서 용어 "작동 가능하게 연결된"은 2개 이상의 폴리뉴클레오타이드(예를 들어, DNA) 분절 간의 기능적인 관계를 지칭한다. 전형적으로, 이는 전사된 서열에 대한 전사 조절 서열의 기능적 관계를 지칭한다. 예를 들어, 프로모터 또는 인핸서 서열이 적절한 숙주 세포 또는 기타 발현 시스템에서의 암호화 서열의 전사를 자극하거나 조절할 경우, 이 서열이 암호화 서열에 작동 가능하게 연결된다. 일반적으로, 전사된 서열에 작동 가능하게 연결된 프로모터 전사 조절 서열은 전사된 서열에 물리적으로 인접해 있고, 즉 이들은 시스(cis)-작용성이다. 그러나, 일부 전사 조절 서열, 예컨대 인핸서는 자신이 전사를 강화하는 암호화 서열에 물리적으로 인접해 있거나 이에 근접하여 위치할 필요가 없다.
- [0117] 용어 "폴리펩타이드" 및 "단백질"은 본원에서 아미노산 잔기의 중합체를 지칭하기 위해 상호호환적으로 사용된다. 이 용어는 자연 발생 아미노산 중합체 및 자연 비발생 아미노산 중합체뿐만 아니라 하나 이상의 아미노산 잔기가 상응하는 자연 발생 아미노산의 인공적인 화학적 모방체인 아미노산 중합체에도 적용된다. 달리 표시되지 않는 한, 특정 폴리펩타이드 서열은 또한 이의 보존적으로 변형된 변이체를 암시적으로 포함한다.
- [0118] 본원에 사용된 바와 같은 용어 "접합체" 또는 "항체 약물 접합체"는 항체 또는 이의 항원 결합 단편과 다른 제제, 예컨대 화학요법제, 독소, 면역요법제, 영상화 프로브 등의 연결을 지칭한다. 이러한 연결은 공유 결합, 또는 비공유적 상호 작용, 예컨대 정전기력을 통한 비공유적 상호작용일 수 있다. 당해 분야에 공지된 다양한 링커가 접합체를 형성하기 위해 사용될 수 있다. 추가적으로, 접합체는 접합체를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드로부터 발현될 수 있는 융합 단백질 형태로 제공될 수 있다. 본원에 사용된 바와 같은 "융합 단백질"은 본래는 별개의 (펩타이드 및 폴리펩타이드를 포함하는) 단백질을 암호화하는 2개 이상의 유전자 또는 유전자 단편의 연결을 통해 생성된 단백질을 지칭한다. 융합 유전자의 번역은 본래의 단백질 각각으로부터 유래된 기능적 성질이 있는 단일 단백질을 초래한다.
- [0119] 용어 "대상체"는 인간 및 비인간 동물을 포함한다. 비인간 동물은 모든 척추동물, 예를 들어 포유동물 및 비포유동물, 예컨대 비 인간 영장류, 양, 개, 소, 닭, 양서류 및 파충류를 포함한다. 언급된 경우를 제외하고, 용어 "환자" 또는 "대상체"는 본원에서 상호호환적으로 사용된다.
- [0120] 본원에 사용된 바와 같은 용어 "독소", "세포독소" 또는 "세포독성제"는 세포의 성장 및 증식에 해롭고, 세포 또는 악성 종양의 감소, 억제 또는 파괴 작용을 할 수 있는 임의의 제제를 지칭한다.
- [0121] 본원에 사용된 바와 같은 용어 "항암제"는 비제한적인 예로서 세포독성제, 화학요법제, 방사선요법 및 방사선요법제, 표적화된 항암제 및 면역요법제를 포함하는 암과 같은 세포 증식성 장애를 치료하는 데 사용될 수 있는 임의의 제제를 지칭한다.
- [0122] 본원에 사용된 바와 같은 용어 "약물 모이어티" 또는 "페이로드(payload)"는 항체 또는 항원 결합 단편에 접합되거나 이에 대한 접합에 적합한 화학 모이어티를 지칭하고, 원하는 치료학적 또는 진단학적 특성을 갖는 본원에 개시된 항체 약물 접합체의 임의의 치료학적 또는 진단학적 물질 및 대사물질, 예를 들어 항암제, 소염제, 항감염제(예를 들어, 항진균제, 항박테리아제, 항기생충제, 항바이러스제) 또는 마취제를 포함할 수 있다. 특정 양태에서, 약물 모이어티는 Eg5 억제제, V-ATPase 억제제, HSP90 억제제, IAP 억제제, mTor 억제제, 미세관 안정화제, 미세관 탈안정화제, 아우리스타틴, 둘라스타틴, 메탄탄시노이드, MetAP(메티오닌 아미노펩티다아제),

단백질 CRM1의 핵 유출의 억제제, DPPIV 억제제, 미토콘드리아에서의 포스포릴 전달 반응의 억제제, 단백질 합성 억제제, 키나제 억제제, CDK2 억제제, CDK9 억제제, 프로테아솜 억제제, 키네신 억제제, HDAC 억제제, DNA 손상제, DNA 알킬화제, DNA 삽입제, DNA 작은 홈 결합제, RNA 중합효소 억제제, 아마니틴, 스플라이솜 억제제, 국소이성질화효소 억제제 및 DHFR 억제제로부터 선택된다. 이들 각각을 본 발명의 항체 및 방법에 적합한 링커에 부착시키는 방법은 당해 분야에 공지되어 있다. 예를 들어, 문헌[Singh et al., (2009) Therapeutic Antibodies: Methods and Protocols, vol. 525, 445-457]을 참조한다. 또한, 페이로드는 생물물리학적 프로브, 형광단, 스핀 표지, 적외선 프로브, 친화성 프로브, 킬레이터, 분광 프로브, 방사성 프로브, 지질 분자, 폴리에틸렌 글리콜, 중합체, 스핀 표지, DNA, RNA, 단백질, 펩타이드, 표면, 항체, 항체 단편, 나노입자, 양자점, 리포솜, PLGA 입자, 당류 또는 다당류일 수 있다.

[0123] 용어 "암"은 원발성 악성 종양(예를 들어, 종양 세포가 원래의 종양 위치 이외의 대상체의 신체 내의 위치로 이동하지 않은 종양) 및 2차 악성 종양(예를 들어, 종양 세포가 원래 종양의 위치와 상이한 2차 위치로 이동하는 것인 전이로부터 발생된 종양)을 포함한다.

[0124] 용어 (KIT, PBT, SCFR, C-Kit, CD117로도 알려져 있는) "cKIT"는 수용체 티로신 키나제 III 패밀리의 구성원인 티로신 키나제 수용체를 지칭한다. 인간 cKIT 이소형의 핵산 및 아미노산 서열은 공지되어 있고, 다음의 수탁번호로 GenBank에 공개되었다:

[0125] NM\_000222.2 → NP\_000213.1 비만/줄기 세포 성장 인자 수용체 Kit 이소형 1 전구체;

[0126] NM\_001093772.1 → NP\_001087241.1 비만/줄기 세포 성장 인자 수용체 Kit 이소형 2 전구체.

[0127] 구조적으로, cKIT 수용체는 I형 막관통 단백질이고, 신호 펩타이드, 세포외 도메인 내의 5개의 Ig-유사 C2 도메인을 함유하며, 이의 세포내 도메인에 단백질 키나제 도메인을 가지고 있다. 본원에 사용된 바와 같은 용어 "cKIT"는 cKIT 단백질의 모든 자연 발생적인 이소형, 또는 이의 변이체를 집합적으로 지칭하는 데 사용된다.

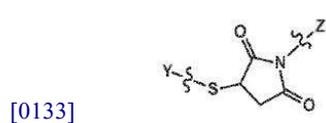
[0128] 용어 "변이체"는 기준 폴리펩타이드와 실질적으로 동일한 아미노산 서열을 가지거나, 실질적으로 동일한 뉴클레오타이드 서열에 의해 암호화되고, 기준 폴리펩타이드의 하나 이상의 활성을 가질 수 있는 폴리펩타이드를 지칭한다. 예를 들어, 변이체는 기준 폴리펩타이드의 하나 이상의 활성을 보유하면서, 기준 폴리펩타이드에 대해 약 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 그 이상의 서열 동일성을 가질 수 있다.

[0129] 본원에 사용된 바와 같은 임의의 질환 또는 장애의 "치료하다", "치료하는" 또는 "치료"라는 용어는 일 양태에서 질환 또는 장애를 개선하는 것(즉, 질환 또는 이의 임상 증상 중 적어도 하나의 발현을 늦추거나 저지하거나 감소시키는 것)을 지칭한다. 다른 양태에서, "치료하다", "치료하는" 또는 "치료"는 환자가 식별할 수 없을 것들을 포함한 적어도 하나의 물리적 매개변수를 경감시키거나 호전시키는 것을 지칭한다. 다른 양태에서, "치료하다", "치료하는" 또는 "치료"는 물리적으로 (예를 들어, 식별 가능한 증상의 안정화), 생리적으로 (예를 들어, 물리적 파라미터의 안정화), 또는 둘 다에 의해 질환 또는 장애를 조절하는 것을 지칭한다. 또 다른 양태에서, "치료하다", "치료하는" 또는 "치료"는 질환 또는 장애의 발병 또는 발달 또는 진행을 예방하거나 지연시키는 것을 지칭한다.

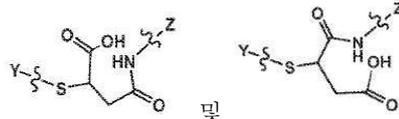
[0130] 용어 "치료적으로 허용 가능한 양" 또는 "치료학적 유효 용량"은 상호교환적으로 원하는 결과(즉, 종양 크기 감소, 종양 성장 억제, 전이 방지, 바이러스, 박테리아, 진균 또는 기생충 감염의 억제 또는 방지)를 일으키는 데 충분한 양을 지칭한다. 일부 양태에서, 치료적으로 허용 가능한 양은 바람직하지 않은 부작용을 유도하거나 야기하지 않는다. 치료적으로 허용 가능한 양은, 먼저 낮은 용량을 투여한 후, 원하는 효과가 달성될 때까지 그 용량을 점증적으로 증가시켜 결정할 수 있다. 본 발명의 분자의 "치료학적 유효 투여량"은 각각 암과 관련된 증상을 포함한 질환 증상의 발병을 방지하거나 이의 중증도의 감소를 초래할 수 있다.

[0131] 용어 "동시 투여(co-administer)"는 개체의 혈액 중 2종의 활성제의 동시적인 존재를 지칭한다. 동시 투여되는 활성제는 동시에 또는 순차적으로 전달될 수 있다.

[0132] 본원에 사용된 바와 같은 용어 '티올-말레이미드'는 다음의 일반식을 갖는, 티올과 말레이미드의 반응에 의해 형성된 기를 지칭한다:



[0134] 여기서, Y 및 Z는 티올-말레이미드 연결을 통해 연결되는 기이고, 링커 성분, 항체 또는 페이로드를 포함할 수



있다. 티올-말레이미드는 다음의 고리 개방형 구조 및 를 형성할 수 있다.

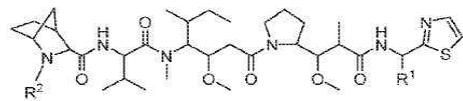
[0135] 본원에 사용된 바와 같은 "절단 가능한"은 공유 연결에 의해 두 모이어티를 연결하지만 분해되어 생리적으로 관련 있는 조건 하에서 모이어티 사이의 공유 연결을 절단하는 연결 기 또는 링커 성분을 지칭하고, 전형적으로 절단 가능한 연결 기는 세포 외부에 있을 때보다는 세포내 환경에서 더욱 빠르게 생체내 절단되어, 페이로드의 방출이 표적화된 세포 내부에서 우선적으로 발생하게 한다. 절단은 효소적 또는 비효소적일 수 있지만, 일반적으로는 항체를 분해하지 않고 항체로부터 페이로드를 방출시킨다. 절단은 연결 기 또는 링커 성분의 일부 부분이 페이로드에 부착되게 둘 수 있거나, 연결 기의 임의의 잔기 없이 페이로드를 방출시킬 수 있다.

[0136] 본원에 사용된 바와 같은 "절단 불가능한"은 생리학적 조건 하에서 특별히 분해에 취약하지 않은 연결 기 또는 링커 성분을 지칭하고, 예를 들어 이는 적어도 접합체의 항체 또는 항원 결합 단편 부분만큼 안정적이다. 이러한 연결 기는 때때로 '안정적'이라 지칭되는데, 항체 또는 항원 결합 단편 자체가 적어도 부분적으로 분해될 때까지 항체 또는 항원 결합 단편에 페이로드가 연결된 상태를 유지하도록 이들이 분해에 대해 충분히 저항성을 나타냄을 의미하고, 즉 항체 또는 항원 결합 단편의 분해가 생체내 연결 기의 절단에 선행한다. 안정적 또는 절단 불가능한 연결 기를 갖는 ADC의 항체 부분의 분해는 연결 기의 일부 또는 전부, 예를 들어 항체로부터의 하나 이상의 아미노산 기가 페이로드 또는 생체내 전달되는 약물 모이어티에 부착되게 둘 수 있다.

[0137] **약물 모이어티(D)**

[0138] 일 양태에서, 본 발명의 약물 모이어티는 하기 화학식 A의 화합물이다:

[0139] [화학식 A]



[0140] [0141] 상기 식에서,

[0142] R<sup>1</sup>은 이고;

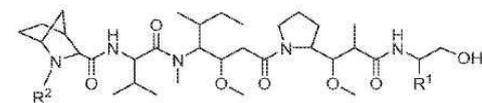
[0143] R<sup>2</sup>는 H, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>알킬, -C(=O)R<sup>3</sup>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>OH, -C(=O)(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>OH, -C(=O)((CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>)<sub>n</sub>R<sup>4</sup>, -((CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>)<sub>n</sub>R<sup>4</sup>, 또는 -CN, -C(=O)NH<sub>2</sub> 또는 1개 내지 5개의 하이드록실로 선택적으로 치환된 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>알킬이고;

[0144] 각각의 R<sup>3</sup>은 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>알킬 및 1개 내지 5개의 하이드록실로 선택적으로 치환된 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>알킬로부터 독립적으로 선택되고;

[0145] 각각의 R<sup>4</sup>는 H 및 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>알킬로부터 독립적으로 선택된다.

[0146] 일 양태에서, 본 발명의 약물 모이어티는 하기 화학식 B의 화합물이다:

[0147] [화학식 B]



[0148] [0149] 상기 식에서,

[0150] R<sup>1</sup>은 이고;

[0151]  $R^2$ 는 H,  $C_1-C_6$ 알킬,  $-C(=O)R^3$ ,  $-(CH_2)_mOH$ ,  $-C(=O)(CH_2)_mOH$ ,  $-C(=O)((CH_2)_mO)_nR^4$ ,  $-((CH_2)_mO)_nR^4$ , 또는  $-CN$ ,  $-C(=O)NH_2$  또는 1개 내지 5개의 하이드록실로 선택적으로 치환된  $C_1-C_6$ 알킬이고;

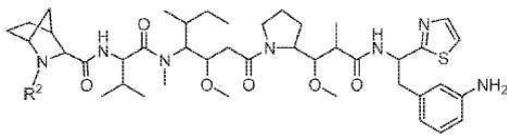
[0152] 각각의  $R^3$ 은  $C_1-C_6$ 알킬 및 1개 내지 5개의 하이드록실로 선택적으로 치환된  $C_1-C_6$ 알킬로부터 독립적으로 선택되고;

[0153] 각각의  $R^4$ 는 H 및  $C_1-C_6$ 알킬로부터 독립적으로 선택된다.

[0154] 본 발명의 약물 모이어티의 소정의 양태 및 예가 추가의 열거된 구현예의 하기 목록에 제공된다. 각각의 구현예에 명시된 특징은 다른 명시된 특징과 조합되어 본 발명의 추가 구현예를 제공할 수 있음이 인식될 것이다.

[0155] 구현예 1. 하기 화학식 A-1의 구조 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 갖는, 화학식 A의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염:

[0156] [화학식 A-1]



[0157]

[0158] 상기 식에서,

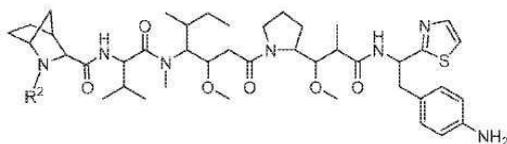
[0159]  $R^2$ 는 H,  $C_1-C_6$ 알킬,  $-C(=O)R^3$ ,  $-(CH_2)_mOH$ ,  $-C(=O)(CH_2)_mOH$ ,  $-C(=O)((CH_2)_mO)_nR^4$ ,  $-((CH_2)_mO)_nR^4$ , 또는  $-CN$ ,  $-C(=O)NH_2$  또는 1개 내지 5개의 하이드록실로 선택적으로 치환된  $C_1-C_6$ 알킬이고;

[0160] 각각의  $R^3$ 은  $C_1-C_6$ 알킬 및 1개 내지 5개의 하이드록실로 선택적으로 치환된  $C_1-C_6$ 알킬로부터 독립적으로 선택되고;

[0161] 각각의  $R^4$ 는 H 및  $C_1-C_6$ 알킬로부터 독립적으로 선택된다.

[0162] 구현예 2. 하기 화학식 A-2의 구조 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 갖는, 화학식 A의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염:

[0163] [화학식 A-2]



[0164]

[0165] 상기 식에서,

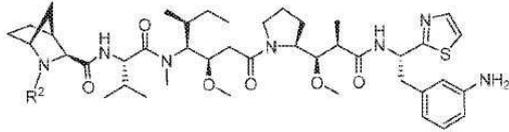
[0166]  $R^2$ 는 H,  $C_1-C_6$ 알킬,  $-C(=O)R^3$ ,  $-(CH_2)_mOH$ ,  $-C(=O)(CH_2)_mOH$ ,  $-C(=O)((CH_2)_mO)_nR^4$ ,  $-((CH_2)_mO)_nR^4$ , 또는  $-CN$ ,  $-C(=O)NH_2$  또는 1개 내지 5개의 하이드록실로 선택적으로 치환된  $C_1-C_6$ 알킬이고;

[0167] 각각의  $R^3$ 은  $C_1-C_6$ 알킬 및 1개 내지 5개의 하이드록실로 선택적으로 치환된  $C_1-C_6$ 알킬로부터 독립적으로 선택되고;

[0168] 각각의  $R^4$ 는 H 및  $C_1-C_6$ 알킬로부터 독립적으로 선택된다.

[0169] 구현예 3. 하기 화학식 A-3의 구조 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 갖는, 화학식 A의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염:

[0170] [화학식 A-3]



[0171]

[0172] 상기 식에서,

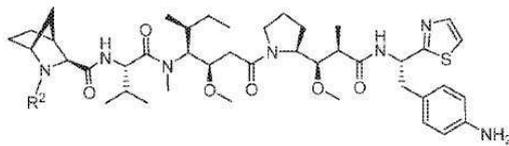
[0173]  $R^2$ 는 H,  $C_1-C_6$ 알킬,  $-C(=O)R^3$ ,  $-(CH_2)_mOH$ ,  $-C(=O)(CH_2)_mOH$ ,  $-C(=O)((CH_2)_mO)_nR^4$ ,  $-((CH_2)_mO)_nR^4$ , 또는  $-CN$ ,  $-C(=O)NH_2$  또는 1개 내지 5개의 하이드록실로 선택적으로 치환된  $C_1-C_6$ 알킬이고;

[0174] 각각의  $R^3$ 은  $C_1-C_6$ 알킬 및 1개 내지 5개의 하이드록실로 선택적으로 치환된  $C_1-C_6$ 알킬로부터 독립적으로 선택되고;

[0175] 각각의  $R^4$ 는 H 및  $C_1-C_6$ 알킬로부터 독립적으로 선택된다.

[0176] 구현예 2. 하기 화학식 A-4의 구조 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 갖는, 화학식 A의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염:

[0177] [화학식 A-4]



[0178]

[0179] 상기 식에서,

[0180]  $R^2$ 는 H,  $C_1-C_6$ 알킬,  $-C(=O)R^3$ ,  $-(CH_2)_mOH$ ,  $-C(=O)(CH_2)_mOH$ ,  $-C(=O)((CH_2)_mO)_nR^4$ ,  $-((CH_2)_mO)_nR^4$ , 또는  $-CN$ ,  $-C(=O)NH_2$  또는 1개 내지 5개의 하이드록실로 선택적으로 치환된  $C_1-C_6$ 알킬이고;

[0181] 각각의  $R^3$ 은  $C_1-C_6$ 알킬 및 1개 내지 5개의 하이드록실로 선택적으로 치환된  $C_1-C_6$ 알킬로부터 독립적으로 선택되고;

[0182] 각각의  $R^4$ 는 H 및  $C_1-C_6$ 알킬로부터 독립적으로 선택된다.

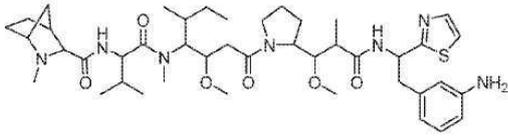
[0183] 구현예 3. 화학식 A, 화학식 A-1, 화학식 A-2, 화학식 A-3 또는 화학식 A-4의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염으로서,  $R^2$ 는 H 또는  $C_1-C_6$ 알킬인, 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

[0184] 구현예 4. 화학식 A, 화학식 A-1, 화학식 A-2, 화학식 A-3 또는 화학식 A-4의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염으로서,  $R^2$ 는 H 또는 메틸인, 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

[0185] 구현예 5. 화학식 A, 화학식 A-1, 화학식 A-2, 화학식 A-3 또는 화학식 A-4의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염으로서,  $R^2$ 는 H인, 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

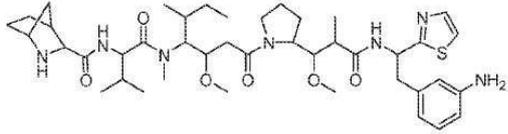
[0186] 구현예 6. 화학식 A, 화학식 A-1, 화학식 A-2, 화학식 A-3 또는 화학식 A-4의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염으로서,  $R^2$ 는 메틸인, 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

[0187] 구현예 7. 화학식 A, 화학식 A-1 또는 화학식 A-3의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염으로서, 화합물은



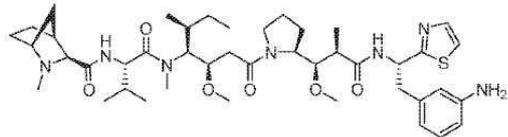
[0188] 인, 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

[0189] 구현예 8. 화학식 A, 화학식 A-1 또는 화학식 A-3의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염으로서, 화합물은



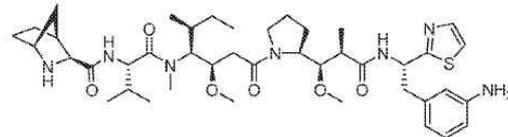
[0190] 인, 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

[0191] 구현예 9. 화학식 A, 화학식 A-1 또는 화학식 A-3의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염으로서, 화합물은



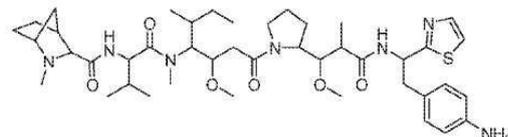
[0192] 인, 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

[0193] 구현예 10. 화학식 A, 화학식 A-1 또는 화학식 A-3의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염으로서, 화합물은



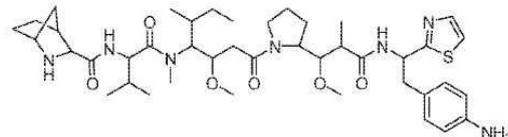
[0194] 인, 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

[0195] 구현예 11. 화학식 A, 화학식 A-2 또는 화학식 A-4의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염으로서, 화합물은



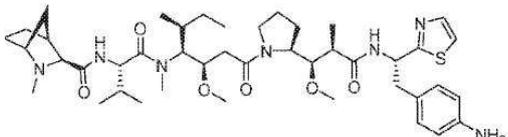
[0196] 인, 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

[0197] 구현예 12. 화학식 A, 화학식 A-2 또는 화학식 A-4의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염으로서, 화합물은



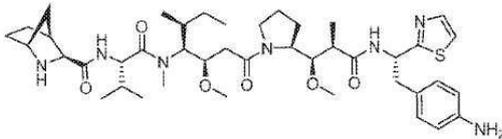
[0198] 인, 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

[0199] 구현예 13. 화학식 A, 화학식 A-2 또는 화학식 A-4의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염으로서, 화합물은



[0200] 인, 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

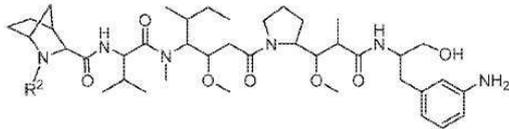
[0201] 구현예 14. 화학식 A, 화학식 A-2 또는 화학식 A-4의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염으로서, 화합물은



[0202] 인, 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

[0203] 구현예 15. 하기 화학식 B-1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염의 구조를 갖는, 화학식 B의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염:

[0204] [화학식 B-1]



[0205]

[0206] 상기 식에서,

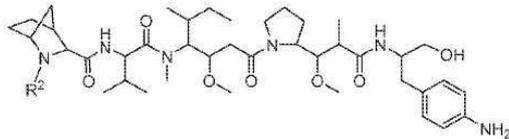
[0207]  $R^2$ 는 H,  $C_1-C_6$ 알킬,  $-C(=O)R^3$ ,  $-(CH_2)_mOH$ ,  $-C(=O)(CH_2)_mOH$ ,  $-C(=O)((CH_2)_mO)_nR^4$ ,  $-((CH_2)_mO)_nR^4$ , 또는  $-CN$ ,  $-C(=O)NH_2$  또는 1개 내지 5개의 하이드록실로 선택적으로 치환된  $C_1-C_6$ 알킬이고;

[0208] 각각의  $R^3$ 은  $C_1-C_6$ 알킬 및 1개 내지 5개의 하이드록실로 선택적으로 치환된  $C_1-C_6$ 알킬로부터 독립적으로 선택되고;

[0209] 각각의  $R^4$ 는 H 및  $C_1-C_6$ 알킬로부터 독립적으로 선택된다.

[0210] 구현예 16. 하기 화학식 B-2 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염의 구조를 갖는, 화학식 B의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염:

[0211] [화학식 B-2]



[0212]

[0213] 상기 식에서,

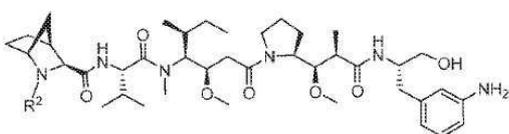
[0214]  $R^2$ 는 H,  $C_1-C_6$ 알킬,  $-C(=O)R^3$ ,  $-(CH_2)_mOH$ ,  $-C(=O)(CH_2)_mOH$ ,  $-C(=O)((CH_2)_mO)_nR^4$ ,  $-((CH_2)_mO)_nR^4$ , 또는  $-CN$ ,  $-C(=O)NH_2$  또는 1개 내지 5개의 하이드록실로 선택적으로 치환된  $C_1-C_6$ 알킬이고;

[0215] 각각의  $R^3$ 은  $C_1-C_6$ 알킬 및 1개 내지 5개의 하이드록실로 선택적으로 치환된  $C_1-C_6$ 알킬로부터 독립적으로 선택되고;

[0216] 각각의  $R^4$ 는 H 및  $C_1-C_6$ 알킬로부터 독립적으로 선택된다.

[0217] 구현예 17. 하기 화학식 B-3 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염의 구조를 갖는, 화학식 B의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염:

[0218] [화학식 B-3]



[0219]

[0220] 상기 식에서,

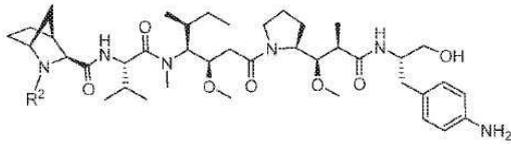
[0221]  $R^2$ 는 H,  $C_1-C_6$ 알킬,  $-C(=O)R^3$ ,  $-(CH_2)_mOH$ ,  $-C(=O)(CH_2)_mOH$ ,  $-C(=O)((CH_2)_mO)_nR^4$ ,  $-((CH_2)_mO)_nR^4$ , 또는  $-CN$ ,  $-C(=O)NH_2$  또는 1개 내지 5개의 하이드록실로 선택적으로 치환된  $C_1-C_6$ 알킬이고;

[0222] 각각의  $R^3$ 은  $C_1-C_6$ 알킬 및 1개 내지 5개의 하이드록실로 선택적으로 치환된  $C_1-C_6$ 알킬로부터 독립적으로 선택되고;

[0223] 각각의  $R^4$ 는 H 및  $C_1-C_6$ 알킬로부터 독립적으로 선택된다.

[0224] 구현예 18. 하기 화학식 B-4 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염의 구조를 갖는, 화학식 B의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염:

[0225] [화학식 B-4]



[0226]

[0227] 상기 식에서,

[0228]  $R^2$ 는 H,  $C_1-C_6$ 알킬,  $-C(=O)R^3$ ,  $-(CH_2)_mOH$ ,  $-C(=O)(CH_2)_mOH$ ,  $-C(=O)((CH_2)_mO)_nR^4$ ,  $-((CH_2)_mO)_nR^4$ , 또는  $-CN$ ,  $-C(=O)NH_2$  또는 1개 내지 5개의 하이드록실로 선택적으로 치환된  $C_1-C_6$ 알킬이고;

[0229] 각각의  $R^3$ 은  $C_1-C_6$ 알킬 및 1개 내지 5개의 하이드록실로 선택적으로 치환된  $C_1-C_6$ 알킬로부터 독립적으로 선택되고;

[0230] 각각의  $R^4$ 는 H 및  $C_1-C_6$ 알킬로부터 독립적으로 선택된다.

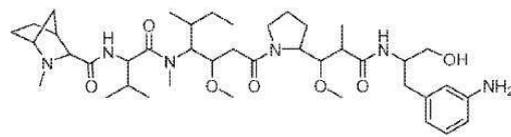
[0231] 구현예 19. 화학식 B, 화학식 B-1, 화학식 B-2, 화학식 B-3 또는 화학식 B-4의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염으로서,  $R^2$ 는 H 또는  $C_1-C_6$ 알킬인, 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

[0232] 구현예 20. 화학식 B, 화학식 B-1, 화학식 B-2, 화학식 B-3 또는 화학식 B-4의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염으로서,  $R^2$ 는 H 또는 메틸인, 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

[0233] 구현예 21. 화학식 B, 화학식 B-1, 화학식 B-2, 화학식 B-3 또는 화학식 B-4의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염으로서,  $R^2$ 는 H인, 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

[0234] 구현예 22. 화학식 B, 화학식 B-1, 화학식 B-2, 화학식 B-3 또는 화학식 B-4의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염으로서,  $R^2$ 는 메틸인, 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

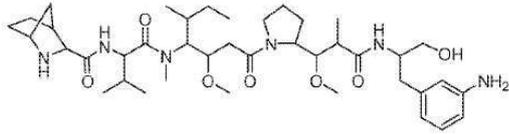
[0235] 구현예 23. 화학식 B, 화학식 B-1 또는 화학식 B-3의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염으로서, 화합물은



[0236]

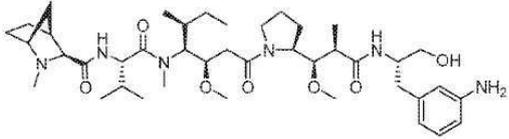
인, 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

[0237] 구현예 24. 화학식 B, 화학식 B-1 또는 화학식 B-3의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염으로서, 화합물은



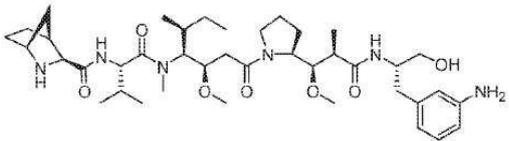
[0238] 인, 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

[0239] 구현예 25. 화학식 B, 화학식 B-1 또는 화학식 B-3의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염으로서, 화합물은



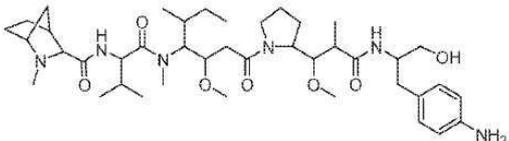
[0240] 인, 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

[0241] 구현예 26. 화학식 B, 화학식 B-1 또는 화학식 B-3의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염으로서, 화합물은



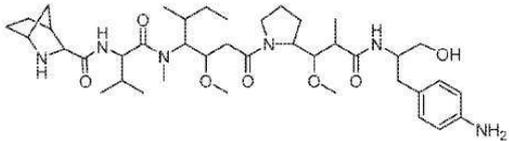
[0242] 인, 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

[0243] 구현예 27. 화학식 B, 화학식 B-2 또는 화학식 B-4의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염으로서, 화합물은



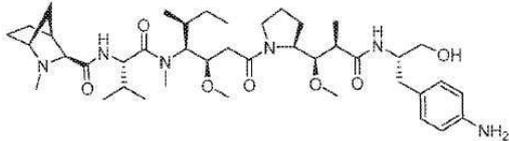
[0244] 인, 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

[0245] 구현예 28. 화학식 B, 화학식 B-2 또는 화학식 B-4의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염으로서, 화합물은



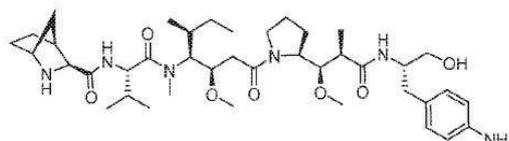
[0246] 인, 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

[0247] 구현예 29. 화학식 B, 화학식 B-2 또는 화학식 B-4의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염으로서, 화합물은



[0248] 인, 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

[0249] 구현예 30. 화학식 A, 화학식 A-2 또는 화학식 A-4의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염으로서, 화합물은



[0250] 인, 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

[0251] 링커-약물 모이어티(L<sub>n</sub>-D<sub>n</sub>)

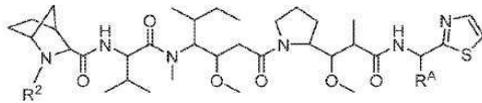
[0252] 일 양태에서, 본 발명의 링커-약물 모이어티는 링커(L<sub>B</sub>)에 공유 부착된 하나 이상의 세포독소를 포함하고, 여기서 하나 이상의 세포독소는 화학식 A, 화학식 A-1, 화학식 A-2, 화학식 A-3, 화학식 A-4, 화학식 B, 화학식 B-1, 화학식 B-2, 화학식 B-3 또는 화학식 B-4의 화합물 또는 구현에 7 내지 14 중 어느 하나 또는 구현에 23 내지 30 중 어느 하나의 화합물로부터 독립적으로 선택된다.

[0253] 일 양태에서, 본 발명의 링커-약물 모이어티는 링커(L<sub>B</sub>)에 공유 부착된 하나 이상의 세포독소를 포함하고, 여기서 하나 이상의 세포독소는 화학식 A, 화학식 A-1, 화학식 A-2, 화학식 A-3 또는 화학식 A-4의 화합물, 또는 구현에 7 내지 14 중 어느 하나의 화합물로부터 독립적으로 선택된다.

[0254] 일 양태에서, 본 발명의 링커-약물 모이어티는 링커(L<sub>B</sub>)에 공유 부착된 하나 이상의 세포독소를 포함하고, 여기서 하나 이상의 세포독소는 화학식 B, 화학식 B-1, 화학식 B-2, 화학식 B-3 또는 화학식 B-4의 화합물, 또는 구현에 23 내지 30 중 어느 하나의 화합물로부터 독립적으로 선택된다.

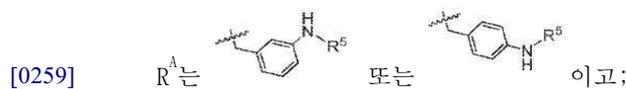
[0255] 일 양태에서, 본 발명의 링커-약물 모이어티는 하기 화학식 C의 구조를 갖는 화합물, 또는 이의 입체 이성질체 또는 약제학적으로 허용 가능한 염이다:

[0256] [화학식 C]



[0257]

[0258] 상기 식에서,



[0260] R<sup>2</sup>는 H, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>알킬, -C(=O)R<sup>3</sup>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>OH, -C(=O)(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>OH, -C(=O)((CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>)<sub>n</sub>R<sup>4</sup>, -((CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>)<sub>n</sub>R<sup>4</sup>, 또는 -CN, -C(=O)NH<sub>2</sub> 또는 1개 내지 5개의 하이드록실로 선택적으로 치환된 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>알킬이고;

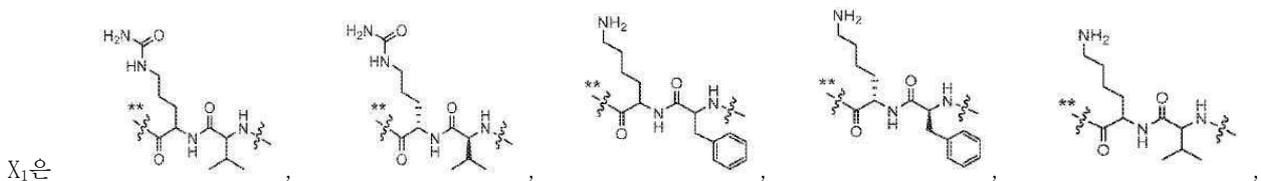
[0261] 각각의 R<sup>3</sup>은 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>알킬 및 1개 내지 5개의 하이드록실로 선택적으로 치환된 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>알킬로부터 독립적으로 선택되고;

[0262] 각각의 R<sup>4</sup>는 H 및 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>알킬로부터 독립적으로 선택되고;

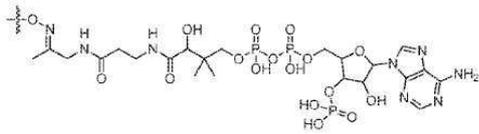
[0263] R<sup>5</sup>는 -L<sub>1</sub>R<sup>14</sup>, -L<sub>1</sub>R<sup>24</sup>, -L<sub>1</sub>R<sup>34</sup> 또는 -L<sub>1</sub>R<sup>44</sup>이고;

[0264] L<sub>1</sub>은 -X<sub>1</sub>C(=O)((CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>)<sub>p</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>\*\*\*, -X<sub>1</sub>C(=O)(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>\*\*, -X<sub>2</sub>X<sub>1</sub>C(=O)((CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>)<sub>p</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>\*\*, -X<sub>2</sub>X<sub>1</sub>C(=O)(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>\*\*, -X<sub>3</sub>C(=O)((CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>)<sub>p</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>\*\*, -X<sub>3</sub>C(=O)(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>\*\*, -X<sub>3</sub>C(=O)(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>NHC(=O)((CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>)<sub>p</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>\*\*, -X<sub>3</sub>C(=O)(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>NHC(=O)(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>\*\*, -X<sub>3</sub>C(=O)(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>\*\*, -X<sub>1</sub>C(=O)((CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>)<sub>p</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>X<sub>4</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>\*\*, -X<sub>1</sub>C(=O)(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>X<sub>4</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>\*\*, -X<sub>2</sub>X<sub>1</sub>C(=O)((CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>)<sub>p</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>X<sub>4</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>\*\* 또는 -X<sub>2</sub>X<sub>1</sub>C(=O)(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>X<sub>4</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>\*\*이고, 여기서 \*\*은 R<sup>14</sup>에 대한 부착점을 나타내고;

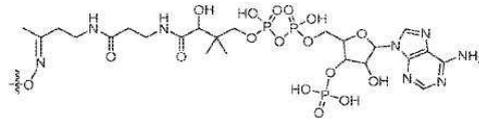
[0265]



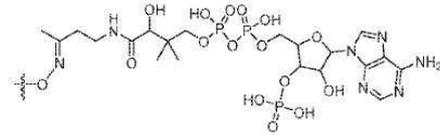




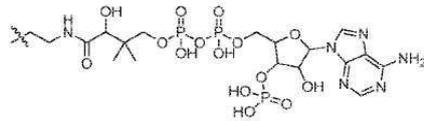
[0270]



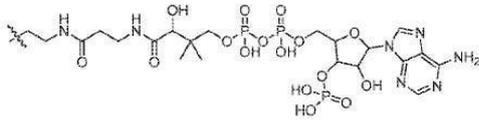
[0271]



[0272]

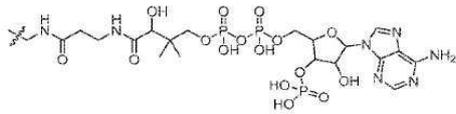


[0273]



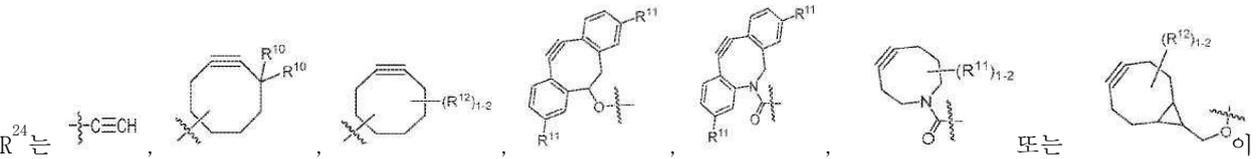
[0274]

또는

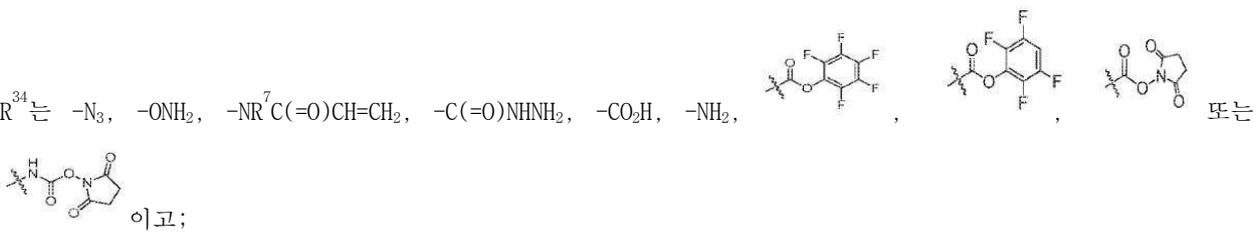


[0275]

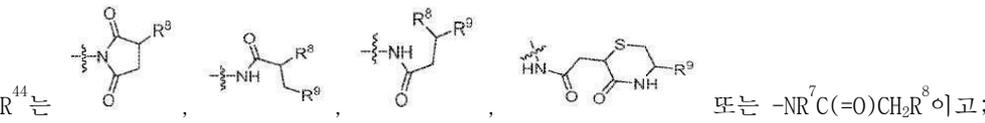
이고;



[0276]



[0277]



[0278]

[0279] 각각의  $R^6$  은 H 및  $\text{C}_1\text{-C}_6$  알킬로부터 독립적으로 선택되고;

[0280]  $R^7$  은 2-피리딜 또는 4-피리딜이고;

[0281]  $R^8$  은  $-\text{S}(\text{CH}_2)_n\text{CHR}^9\text{NH}_2$  이고;

[0282]  $R^9$  는  $-\text{C}(=\text{O})\text{OR}^7$  이고;

[0283] 각각의 R<sup>10</sup>은 H, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>알킬, F, Cl, 및 -OH로부터 독립적으로 선택되고;

[0284] 각각의 R<sup>11</sup>은 H, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>알킬, F, Cl, -NH<sub>2</sub>, -OCH<sub>3</sub>, -OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, -N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, -CN, -NO<sub>2</sub> 및 -OH로부터 독립적으로 선택되고;

[0285] 각각의 R<sup>12</sup>는 H, C<sub>1</sub>-6알킬, 플루오로, -C(=O)OH로 치환된 벤질옥시, -C(=O)OH로 치환된 벤질, -C(=O)OH로 치환된 C<sub>1-4</sub>알콕시 및 -C(=O)OH로 치환된 C<sub>1-4</sub>알킬로부터 독립적으로 선택되고;

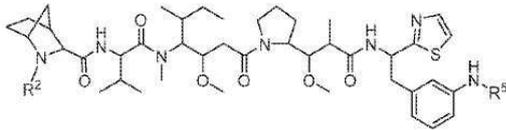
[0286] 각각의 m은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 및 10으로부터 독립적으로 선택되고,

[0287] 각각의 p는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 및 14로부터 독립적으로 선택된다.

[0288] 본 발명의 링커-약물 모이어티의 소정의 양태 및 예가 추가의 열거된 구현예의 하기 목록에 제공된다. 각각의 구현예에 명시된 특징은 다른 명시된 특징과 조합되어 본 발명의 추가 구현예를 제공할 수 있음이 인식될 것이다.

[0289] 구현예 31. 하기 화학식 C-1의 구조 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 갖는, 화학식 C의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염:

[0290] [화학식 C-1]

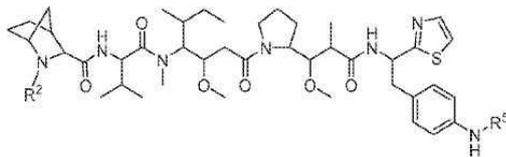


[0291]

[0292] 상기 식에서, R<sup>2</sup> 및 R<sup>5</sup>는 화학식 C의 화합물에 대해 상기 정의된 바와 같다.

[0293] 구현예 32. 하기 화학식 C-2의 구조 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 갖는, 화학식 C의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염:

[0294] [화학식 C-2]

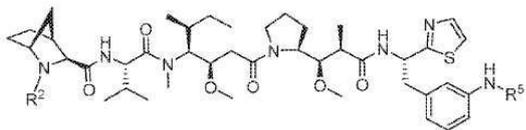


[0295]

[0296] 상기 식에서, R<sup>2</sup> 및 R<sup>5</sup>는 화학식 C의 화합물에 대해 상기 정의된 바와 같다.

[0297] 구현예 33. 하기 화학식 C-3의 구조 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 갖는, 화학식 C의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염:

[0298] [화학식 C-3]

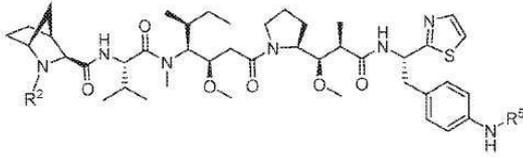


[0299]

[0300] 상기 식에서, R<sup>2</sup> 및 R<sup>5</sup>는 화학식 C의 화합물에 대해 상기 정의된 바와 같다.

[0301] 구현예 32. 하기 화학식 C-4의 구조 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 갖는, 화학식 C의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염:

[0302] [화학식 C-4]



[0303]

[0304] 상기 식에서, R<sup>2</sup> 및 R<sup>5</sup>는 화학식 C의 화합물에 대해 상기 정의된 바와 같다.

[0305] 구현예 33. 화학식 C, 화학식 C-1, 화학식 C-2, 화학식 C-3 또는 화학식 C-4의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염으로서, R<sup>2</sup>는 H 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>알킬인, 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

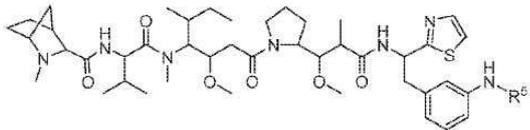
[0306] 구현예 34. 화학식 C, 화학식 C-1, 화학식 C-2, 화학식 C-3 또는 화학식 C-4의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염으로서, R<sup>2</sup>는 H 또는 메틸인, 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

[0307] 구현예 35. 화학식 C, 화학식 C-1, 화학식 C-2, 화학식 C-3 또는 화학식 C-4의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염으로서, R<sup>2</sup>는 H인, 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

[0308] 구현예 36. 화학식 C, 화학식 C-1, 화학식 C-2, 화학식 C-3 또는 화학식 C-4의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염으로서, R<sup>2</sup>는 메틸인, 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

[0309] 구현예 37. 하기 화학식 C-5의 구조 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 갖는, 화학식 C, 화학식 C-1 또는 화학식 C-3의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염:

[0310] [화학식 C-5]

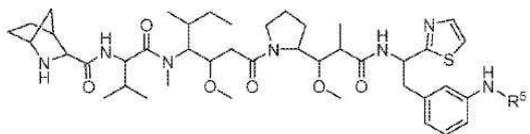


[0311]

[0312] 상기 식에서, R<sup>5</sup>는 화학식 C의 화합물에 대해 상기 정의된 바와 같다.

[0313] 구현예 38. 하기 화학식 C-6의 구조 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 갖는, 화학식 C, 화학식 C-1 또는 화학식 C-3의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염:

[0314] [화학식 C-6]

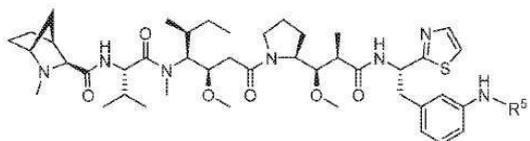


[0315]

[0316] 상기 식에서, R<sup>5</sup>는 화학식 C의 화합물에 대해 상기 정의된 바와 같다.

[0317] 구현예 39. 하기 화학식 C-7의 구조 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 갖는, 화학식 C, 화학식 C-1 또는 화학식 C-3의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염:

[0318] [화학식 C-7]

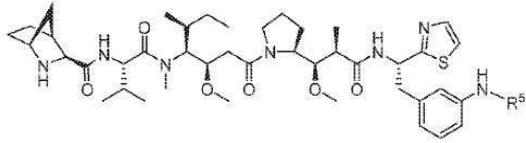


[0319]

[0320] 상기 식에서, R<sup>5</sup>는 화학식 C의 화합물에 대해 상기 정의된 바와 같다.

[0321] 구현예 40. 하기 화학식 C-8의 구조 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 갖는, 화학식 C, 화학식 C-1 또는 화학식 C-3의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염:

[0322] [화학식 C-8]

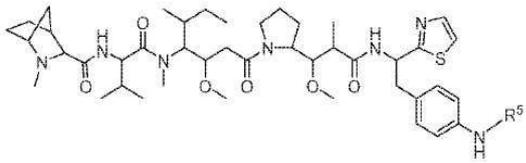


[0323]

[0324] 상기 식에서, R<sup>5</sup>는 화학식 C의 화합물에 대해 상기 정의된 바와 같다.

[0325] 구현예 41. 하기 화학식 C-9의 구조 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 갖는, 화학식 C, 화학식 C-1 또는 화학식 C-3의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염:

[0326] [화학식 C-9]

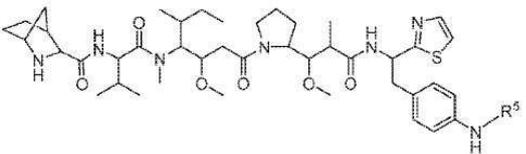


[0327]

[0328] 상기 식에서, R<sup>5</sup>는 화학식 C의 화합물에 대해 상기 정의된 바와 같다.

[0329] 구현예 42. 하기 화학식 C-10의 구조 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 갖는, 화학식 C, 화학식 C-1 또는 화학식 C-3의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염:

[0330] [화학식 C-10]

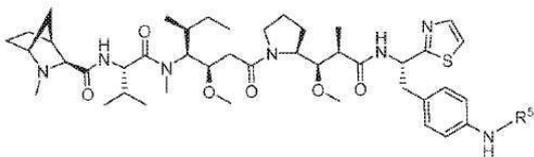


[0331]

[0332] 상기 식에서, R<sup>5</sup>는 화학식 C의 화합물에 대해 상기 정의된 바와 같다.

[0333] 구현예 43. 하기 화학식 C-11의 구조 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 갖는, 화학식 C, 화학식 C-1 또는 화학식 C-3의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염:

[0334] [화학식 C-11]

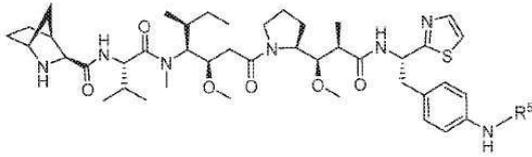


[0335]

[0336] 상기 식에서, R<sup>5</sup>는 화학식 C의 화합물에 대해 상기 정의된 바와 같다.

[0337] 구현예 44. 하기 화학식 C-12의 구조 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 갖는, 화학식 C, 화학식 C-1 또는 화학식 C-3의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염:

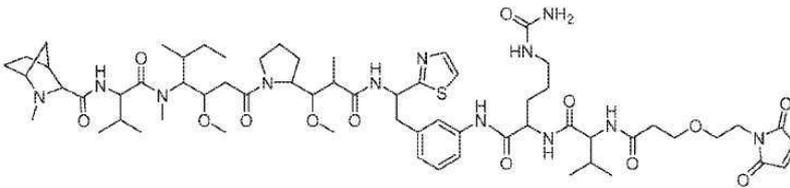
[0338] [화학식 C-12]



[0339]

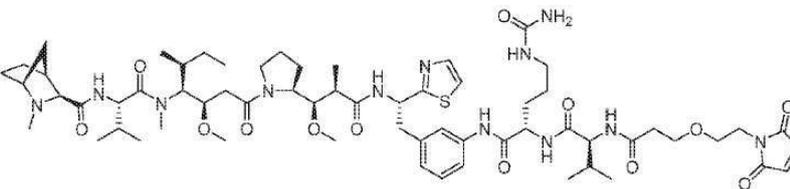
[0340] 상기 식에서, R<sup>5</sup>는 화학식 C의 화합물에 대해 상기 정의된 바와 같다.

[0341] 구현예 45. 화학식 C, 화학식 C-1 또는 화학식 C-3, 또는 구현예 37의 화합물로서, 화합물은



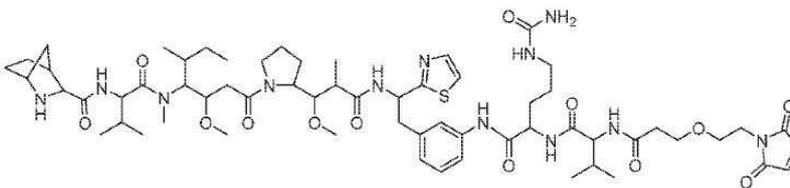
[0342] 인, 화합물.

[0343] 구현예 46. 화학식 C, 화학식 C-1 또는 화학식 C-3, 또는 구현예 37의 화합물로서, 화합물은



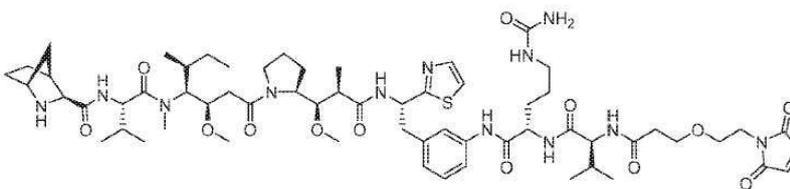
[0344] 인, 화합물.

[0345] 구현예 47. 화학식 C, 화학식 C-1 또는 화학식 C-3, 또는 구현예 38의 화합물로서, 화합물은



[0346] 인, 화합물.

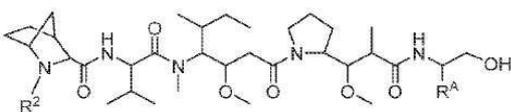
[0347] 구현예 48. 화학식 C, 화학식 C-1 또는 화학식 C-3, 또는 구현예 38의 화합물로서, 화합물은



[0348] 인, 화합물.

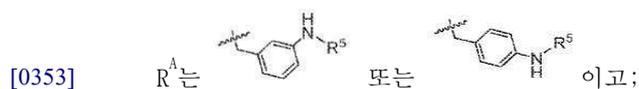
[0349] 일 양태에서, 본 발명의 링커-약물 모이어티는 하기 화학식 C의 구조를 갖는 화합물, 또는 이의 입체이성질체 또는 약제학적으로 허용 가능한 염이다:

[0350] [화학식 D]



[0351]

[0352] 상기 식에서,



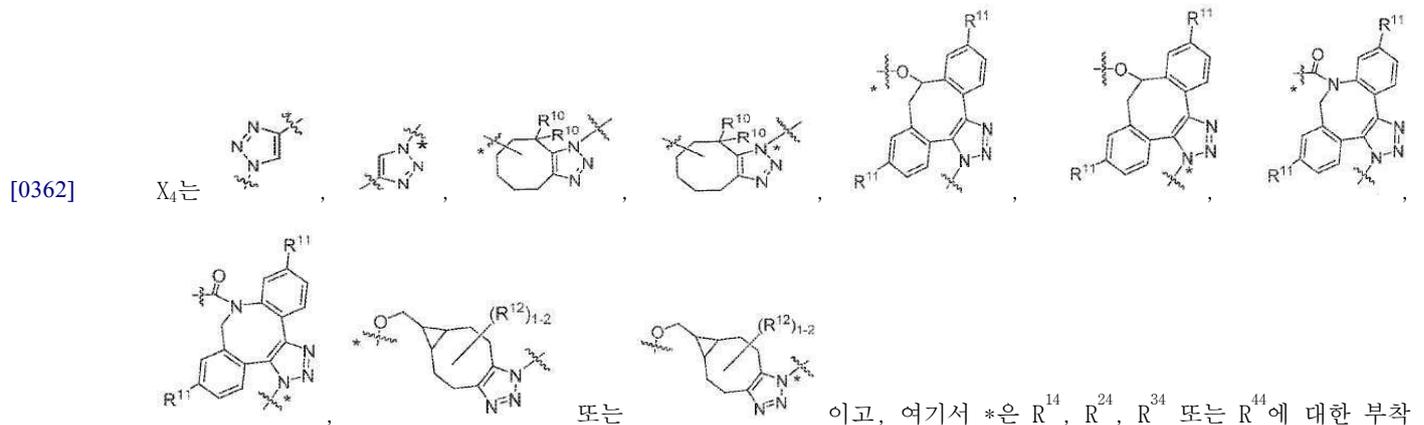
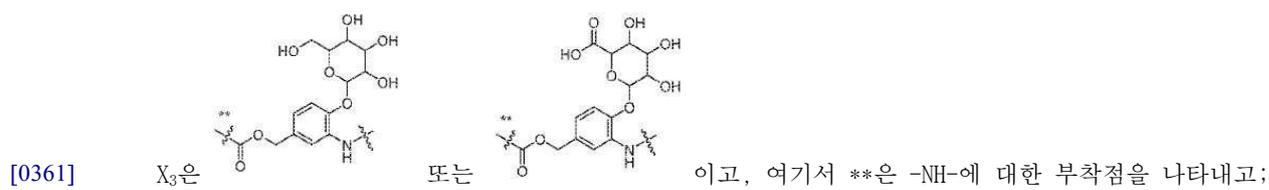
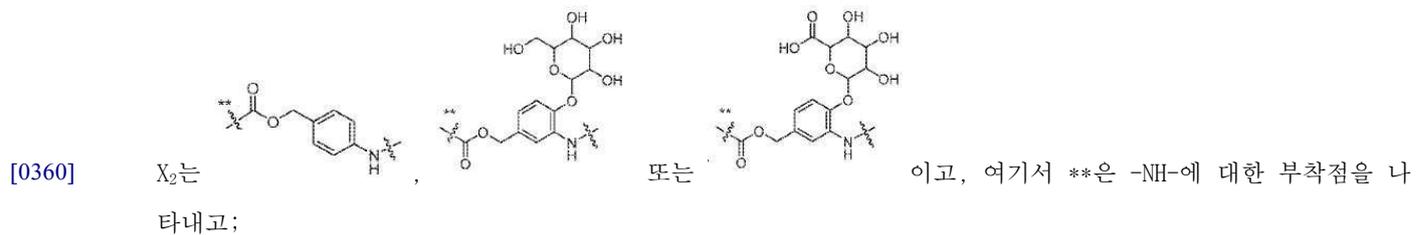
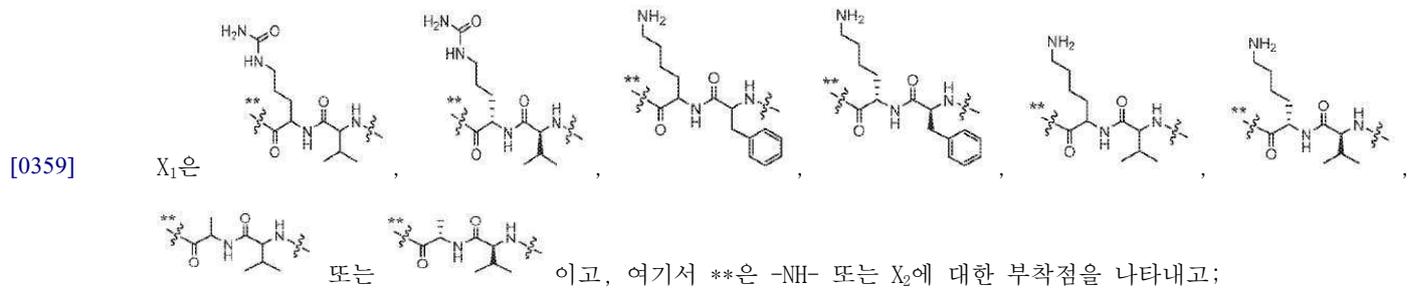
[0354]  $R^2$ 는 H,  $C_1$ - $C_6$ 알킬,  $-C(=O)R^3$ ,  $-(CH_2)_mOH$ ,  $-C(=O)(CH_2)_mOH$ ,  $-C(=O)((CH_2)_mO)_nR^4$ ,  $-((CH_2)_mO)_nR^4$ , 또는  $-CN$ ,  $-C(=O)NH_2$  또는 1개 내지 5개의 하이드록실로 선택적으로 치환된  $C_1$ - $C_6$ 알킬이고;

[0355] 각각의  $R^3$ 은  $C_1$ - $C_6$ 알킬 및 1개 내지 5개의 하이드록실로 선택적으로 치환된  $C_1$ - $C_6$ 알킬로부터 독립적으로 선택되고;

[0356] 각각의  $R^4$ 는 H 및  $C_1$ - $C_6$ 알킬로부터 독립적으로 선택되고;

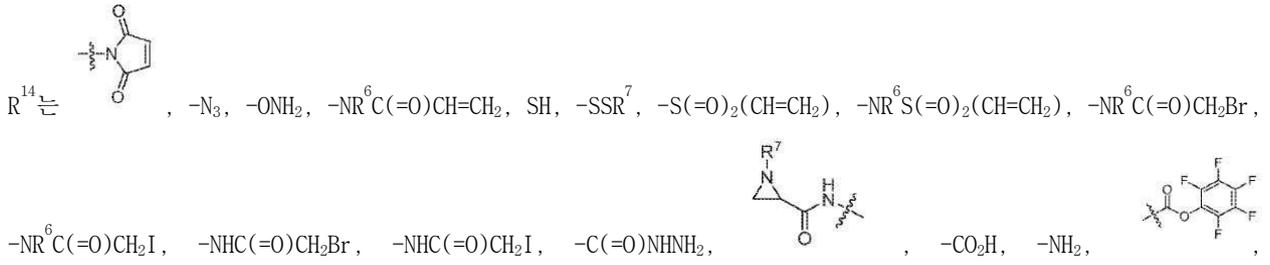
[0357]  $R^5$ 는  $-L_1R^{14}$ ,  $-L_1R^{24}$ ,  $-L_1R^{34}$  또는  $-L_1R^{44}$  이고;

[0358]  $L_1$ 은  $-X_1C(=O)((CH_2)_mO)_p(CH_2)_m^{**}$ ,  $-X_1C(=O)(CH_2)_m^{**}$ ,  $-X_2X_1C(=O)((CH_2)_mO)_p(CH_2)_m^{**}$ ,  $-X_2X_1C(=O)(CH_2)_m^{**}$ ,  $-X_3C(=O)((CH_2)_mO)_p(CH_2)_m^{**}$ ,  $-X_3C(=O)(CH_2)_m^{**}$ ,  $-X_3C(=O)(CH_2)_mNHC(=O)((CH_2)_mO)_p(CH_2)_m^{**}$ ,  $-X_3C(=O)(CH_2)_mNHC(=O)(CH_2)_m^{**}$ ,  $-X_3C(=O)(CH_2)_m^{**}$ ,  $-X_1C(=O)((CH_2)_mO)_p(CH_2)_mX_4(CH_2)_m^{**}$ ,  $-X_1C(=O)(CH_2)_mX_4(CH_2)_m^{**}$ ,  $-X_2X_1C(=O)((CH_2)_mO)_p(CH_2)_mX_4(CH_2)_m^{**}$  또는  $-X_2X_1C(=O)(CH_2)_mX_4(CH_2)_m^{**}$  이고, 여기서  $**$ 은  $R^{14}$ 에 대한 부착점을 나타내고;

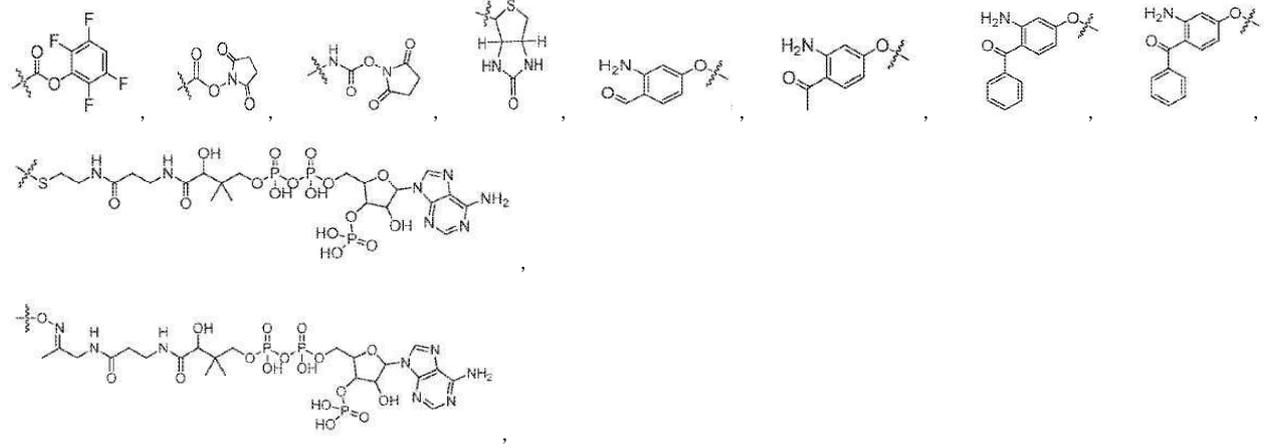


점을 나타내고;

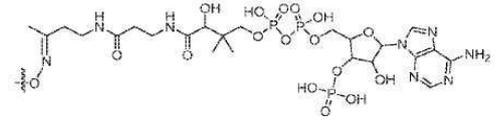
[0363]



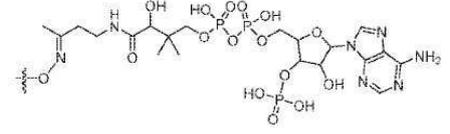
[0364]



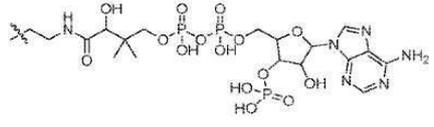
[0365]



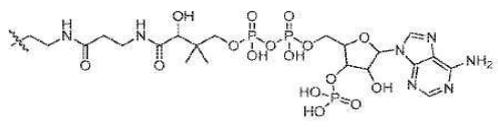
[0366]



[0367]

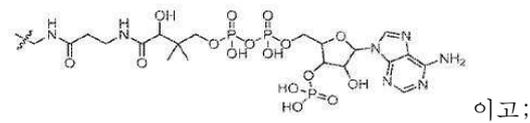


[0368]



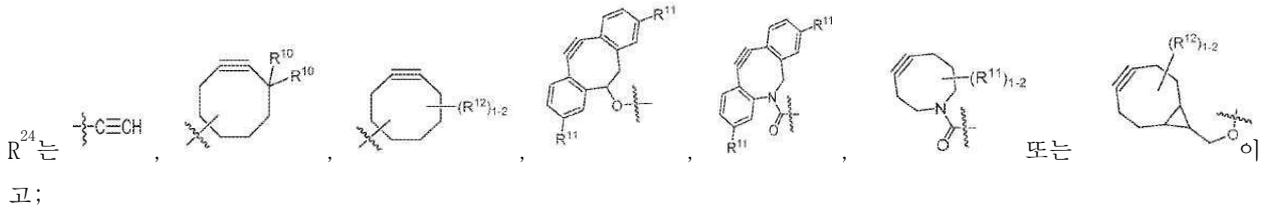
또는

[0369]

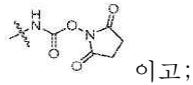
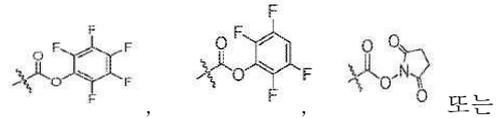


이고;

[0370]



[0371] R<sup>34</sup>는 -N<sub>3</sub>, -ONH<sub>2</sub>, -NR<sup>7</sup>C(=O)CH=CH<sub>2</sub>, -C(=O)NHNH<sub>2</sub>, -CO<sub>2</sub>H, -NH<sub>2</sub>,



[0372] R<sup>44</sup>는 또는 -NR<sup>7</sup>C(=O)CH<sub>2</sub>R<sup>8</sup>이고;

[0373] 각각의 R<sup>6</sup>은 H 및 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>알킬로부터 독립적으로 선택되고;

[0374] R<sup>7</sup>은 2-피리딜 또는 4-피리딜이고;

[0375] R<sup>8</sup>은 -S(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>CHR<sup>9</sup>NH<sub>2</sub>이고;

[0376] R<sup>9</sup>는 -C(=O)OR<sup>7</sup>이고;

[0377] 각각의 R<sup>10</sup>은 H, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>알킬, F, Cl, 및 -OH로부터 독립적으로 선택되고;

[0378] 각각의 R<sup>11</sup>은 H, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>알킬, F, Cl, -NH<sub>2</sub>, -OCH<sub>3</sub>, -OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, -N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, -CN, -NO<sub>2</sub> 및 -OH로부터 독립적으로 선택되고;

[0379] 각각의 R<sup>12</sup>는 H, C<sub>1-6</sub>알킬, 플루오로, -C(=O)OH로 치환된 벤질옥시, -C(=O)OH로 치환된 벤질, -C(=O)OH로 치환된 C<sub>1-4</sub>알콕시 및 -C(=O)OH로 치환된 C<sub>1-4</sub>알킬로부터 독립적으로 선택되고;

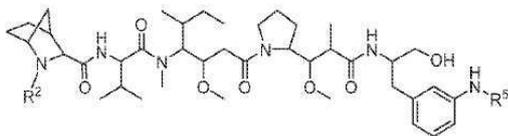
[0380] 각각의 m은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 및 10으로부터 독립적으로 선택되고,

[0381] 각각의 p는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 및 14로부터 독립적으로 선택된다.

[0382] 본 발명의 링커-약물 모이어티의 소정의 양태 및 예가 추가의 열거된 구현예의 하기 목록에 제공된다. 각각의 구현예에 명시된 특징은 다른 명시된 특징과 조합되어 본 발명의 추가 구현예를 제공할 수 있음이 인식될 것이다.

[0383] 구현예 49. 하기 화학식 D-1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염의 구조를 갖는, 화학식 D의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염:

[0384] [화학식 D-1]

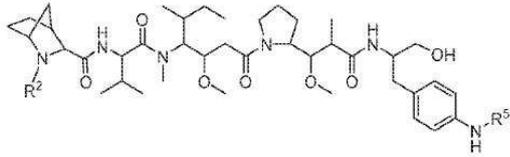


[0385]

[0386] 상기 식에서, R<sup>2</sup> 및 R<sup>5</sup>는 화학식 D의 화합물에 대해 상기 정의된 바와 같다.

[0387] 구현예 50. 하기 화학식 D-2 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염의 구조를 갖는, 화학식 D의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염:

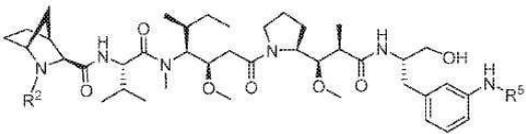
[0388] [화학식 D-2]



[0389] 상기 식에서,  $R^2$  및  $R^5$ 는 화학식 D의 화합물에 대해 상기 정의된 바와 같다.

[0391] 구현예 51. 하기 화학식 D-3 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염의 구조를 갖는, 화학식 D의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염:

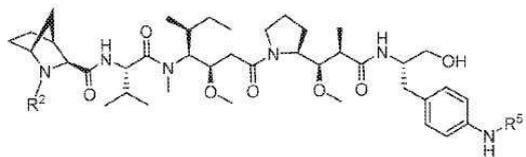
[0392] [화학식 D-3]



[0393] 상기 식에서,  $R^2$  및  $R^5$ 는 화학식 D의 화합물에 대해 상기 정의된 바와 같다.

[0395] 구현예 52. 하기 화학식 D-4 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염의 구조를 갖는, 화학식 D의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염:

[0396] [화학식 D-4]



[0397] 상기 식에서,  $R^2$  및  $R^5$ 는 화학식 D의 화합물에 대해 상기 정의된 바와 같다.

[0399] 구현예 53. 화학식 D, 화학식 D-1, 화학식 D-2, 화학식 D-3 또는 화학식 D-4의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염으로서,  $R^2$ 는 H 또는  $C_1-C_6$ 알킬인, 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

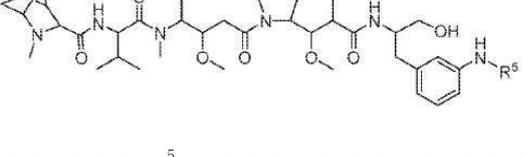
[0400] 구현예 54. 화학식 D, 화학식 D-1, 화학식 D-2, 화학식 D-3 또는 화학식 D-4의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염으로서,  $R^2$ 는 H 또는 메틸인, 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

[0401] 구현예 55. 화학식 D, 화학식 D-1, 화학식 D-2, 화학식 D-3 또는 화학식 D-4의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염으로서,  $R^2$ 는 H인, 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

[0402] 구현예 56. 화학식 D, 화학식 D-1, 화학식 D-2, 화학식 D-3 또는 화학식 D-4의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염으로서,  $R^2$ 는 메틸인, 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

[0403] 구현예 57. 하기 화학식 D-5 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염의 구조를 갖는, 화학식 D, 화학식 D-1 또는 화학식 D-3의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염:

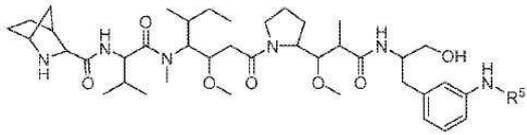
[0404] [화학식 D-5]



[0405] 상기 식에서,  $R^5$ 는 화학식 D의 화합물에 대해 상기 정의된 바와 같다.

[0407] 구현예 58. 하기 화학식 D-6 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염의 구조를 갖는, 화학식 D, 화학식 D-1 또는 화학식 D-3의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염:

[0408] [화학식 D-6]

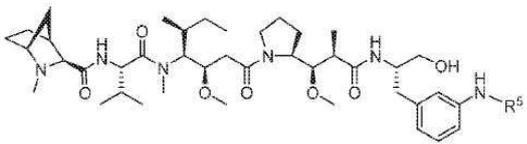


[0409]

[0410] 상기 식에서, R<sup>5</sup>는 화학식 D의 화합물에 대해 상기 정의된 바와 같다.

[0411] 구현예 59. 하기 화학식 D-7 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염의 구조를 갖는, 화학식 D, 화학식 D-1 또는 화학식 D-3의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염:

[0412] [화학식 D-7]

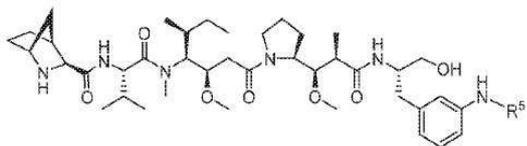


[0413]

[0414] 상기 식에서, R<sup>5</sup>는 화학식 D의 화합물에 대해 상기 정의된 바와 같다.

[0415] 구현예 60. 하기 화학식 D-8 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염의 구조를 갖는, 화학식 D, 화학식 D-1 또는 화학식 D-3의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염:

[0416] [화학식 D-8]

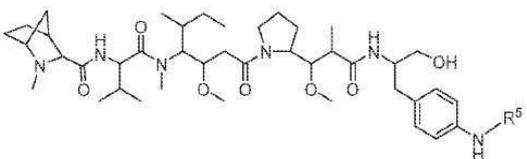


[0417]

[0418] 상기 식에서, R<sup>5</sup>는 화학식 D의 화합물에 대해 상기 정의된 바와 같다.

[0419] 구현예 61. 하기 화학식 D-9 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염의 구조를 갖는, 화학식 D, 화학식 D-1 또는 화학식 D-3의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염:

[0420] [화학식 D-9]

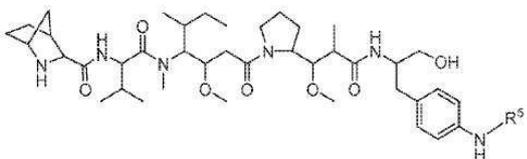


[0421]

[0422] 상기 식에서, R<sup>5</sup>는 화학식 D의 화합물에 대해 상기 정의된 바와 같다.

[0423] 구현예 62. 하기 화학식 D-10 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염의 구조를 갖는, 화학식 D, 화학식 D-1 또는 화학식 D-3의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염:

[0424] [화학식 D-10]

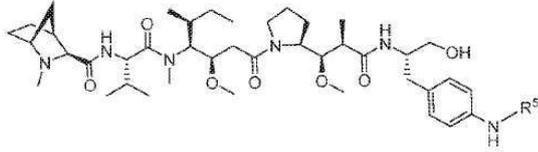


[0425]

[0426] 상기 식에서, R<sup>5</sup>는 화학식 D의 화합물에 대해 상기 정의된 바와 같다.

[0427] 구현예 63. 하기 화학식 D-11 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염의 구조를 갖는, 화학식 D, 화학식 D-1 또는 화학식 D-3의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염:

[0428] [화학식 D-11]

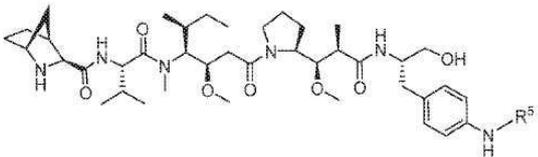


[0429] 상기 식에서, R<sup>5</sup>는 화학식 D의 화합물에 대해 상기 정의된 바와 같다.

[0430] 상기 식에서, R<sup>5</sup>는 화학식 D의 화합물에 대해 상기 정의된 바와 같다.

[0431] 구현예 64. 하기 화학식 D-12 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염의 구조를 갖는, 화학식 D, 화학식 D-1 또는 화학식 D-3의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염:

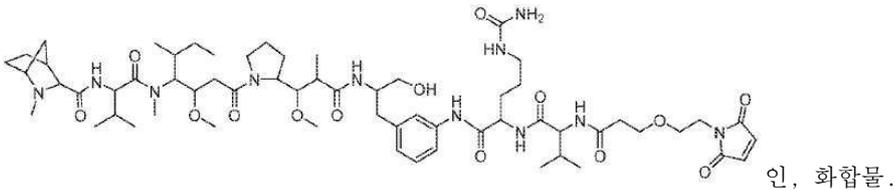
[0432] [화학식 D-12]



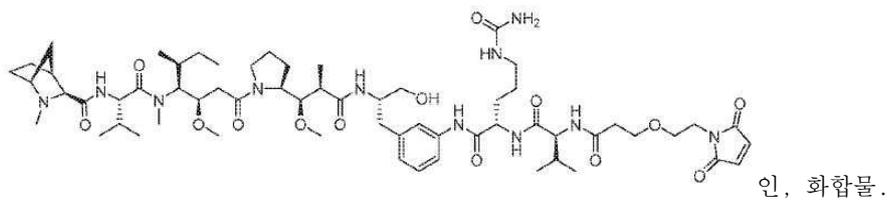
[0433] 상기 식에서, R<sup>5</sup>는 화학식 D의 화합물에 대해 상기 정의된 바와 같다.

[0434] 상기 식에서, R<sup>5</sup>는 화학식 D의 화합물에 대해 상기 정의된 바와 같다.

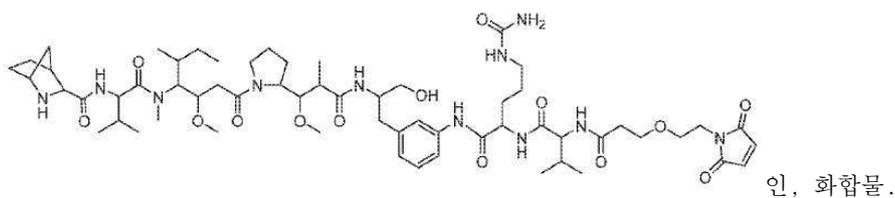
[0435] 구현예 65. 화학식 D, 화학식 D-1 또는 화학식 D-3, 또는 구현예 57의 화합물로서, 화합물은



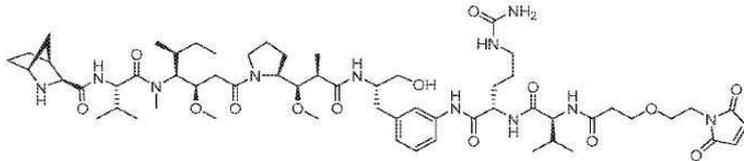
[0437] 구현예 66. 화학식 D, 화학식 D-1 또는 화학식 D-3, 또는 구현예 57의 화합물로서, 화합물은



[0439] 구현예 67. 화학식 D, 화학식 D-1 또는 화학식 D-3, 또는 구현예 58의 화합물로서, 화합물은



[0441] 구현예 68. 화학식 D, 화학식 D-1 또는 화학식 D-3, 또는 구현예 58의 화합물로서, 화합물은



인, 화합물.

[0442]

[0443] **항체 약물 접합체**

[0444] 본 발명은 항체 약물 접합체를 제공하고, 여기서 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')은 선택적으로 링커를 통해 약물 모이어티(예를 들어, 세포독성제)에 연결된다. 일 양태에서, 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')은 세포독성제인 약물 모이어티에 링커에 의해 공유 부착을 통해 연결된다.

[0445] 항체 약물 접합체는 선택적으로 세포독성제를 cKIT를 발현하는 세포, 예를 들어 조혈 줄기 세포에 전달하여, 환자, 예를 들어 조혈 줄기 세포 이식 수혜자에서 이러한 세포를 선택적으로 절제할 수 있다. 바람직하게는, cKIT 항체 약물 접합체는 짧은 반감기를 가져, 환자의 순환으로부터 제거될 것이어서, 조혈 줄기 세포 이식 전에 조혈 줄기 세포 이식 수혜자의 컨디션 조절에 이용될 수 있다.

[0446] 일부 구현예에서, 본 설명에 개시된 cKIT 항체 약물 접합체는, 심지어 가교결합되고/되거나 더 큰 복합체로 다합체화될 때에도, 비만 세포 탈과립을 유도하는 능력이 감소되도록 변형된다. 예를 들어, 본 설명에 개시된 cKIT 항체 약물 접합체는 심지어 가교결합되고/되거나 더 큰 복합체로 다합체화될 때에도, 전장 cKIT 항체, 이의 F(ab')<sub>2</sub> 또는 F(ab)<sub>2</sub> 단편, 또는 접합체와 비교하여 약, 또는 적어도 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 99% 감소한, 비만 세포 탈과립을 유도하는 감소된 능력을 갖도록 변형된다. 일부 구현예에서, 본 설명에 개시된 cKIT 항체 약물 접합체는 항-cKIT Fab 또는 Fab' 단편을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 본 설명에 개시된 항-cKIT 항체 약물 접합체는 심지어 가교결합되고/되거나 더 큰 복합체로 다합체화될 때에도, 비만 세포 탈과립을 유도하는 최소의 활성, 예를 들어 베타-헥소스아미니다아제 방출 검정에서, 0.25 미만, 예를 들어 0.2 미만, 0.15 미만, 또는 0.1 미만의 기준선 보정된 O.D. 판독치를 나타낼 수 있다.

[0447] 일부 구현예에서, 선택적으로 링커를 통해 약물 모이어티(예를 들어, 세포독성제)에 연결된 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')(항-cKIT Fab 또는 Fab')을 포함하는 접합체가 본원에 제공된다. 본원에 기재된 바와 같이, 이러한 항-cKIT Fab' 또는 Fab-독소 접합체는 시험관내 및 생체내 인간 HSC 세포를 절제할 수 있지만, 가교결합되고/되거나 더 큰 복합체로 다합체화될 때에도 비만 세포 탈과립을 유발하지 않는다.

[0448] 일 양태에서, 본 발명은 하기 화학식 I의 접합체를 제공한다:

[0449] [화학식 I]



[0451] 상기 식에서,

[0452] A는 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')이고;

[0453] L<sub>B</sub>는 링커이고;

[0454] D는 세포독성제이고;

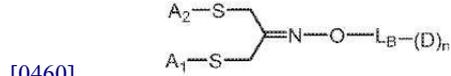
[0455] n은 1 내지 10의 정수이고,

[0456] y는 1 내지 10의 정수이고,

[0457] 여기서 링커-약물 모이어티(L<sub>B</sub>-(D)<sub>n</sub>)는 항체 단편(A)에 공유적으로 부착된다.

[0458] 일 양태에서, 본 발명은 하기 화학식 II의 접합체에 관한 것이다:

[0459] [화학식 II]



[0461] A<sub>1</sub>은 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab') 또는 사슬(예를 들어, HC 또는 LC)이고;

[0462] A<sub>2</sub>는 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab') 또는 사슬(예를 들어, HC 또는 LC)이고;

[0463] L<sub>B</sub>는 링커이고;

[0464] D는 세포독성제이고,

[0465] n은 1 내지 10의 정수이고,

[0466] 여기서 링커-약물 모이어티(L<sub>B</sub>-(D)<sub>n</sub>)는 항체 단편 A<sub>1</sub> 및 A<sub>2</sub>를 공유적으로 결합시킨다.

[0467] 일 양태에서, 본 발명의 접합체는 링커(L<sub>B</sub>)에 공유 부착된 하나 이상의 세포독소를 포함하고, 여기서 하나 이상의 세포독소는 화학식 A, 화학식 A-1, 화학식 A-2, 화학식 A-3, 화학식 A-4, 화학식 B, 화학식 B-1, 화학식 B-2, 화학식 B-3 또는 화학식 B-4의 화합물 또는 구현예 7 내지 14 중 어느 하나 또는 구현예 23 내지 30 중 어느 하나의 화합물로부터 독립적으로 선택된다.

[0468] 일 양태에서, 본 발명의 접합체는 링커(L<sub>B</sub>)에 공유 부착된 하나 이상의 세포독소를 포함하고, 여기서 하나 이상의 세포독소는 화학식 A, 화학식 A-1, 화학식 A-2, 화학식 A-3 또는 화학식 A-4의 화합물, 또는 구현예 7 내지 14 중 어느 하나의 화합물로부터 독립적으로 선택된다.

[0469] 일 양태에서, 본 발명의 접합체는 링커(L<sub>B</sub>)에 공유 부착된 하나 이상의 세포독소를 포함하고, 여기서 하나 이상의 세포독소는 화학식 B, 화학식 B-1, 화학식 B-2, 화학식 B-3 또는 화학식 B-4의 화합물, 또는 구현예 23 내지 30 중 어느 하나의 화합물로부터 독립적으로 선택된다.

[0470] 화학식 I의 접합체에서, 하나 이상의 링커-약물 모이어티(L<sub>B</sub>-(D)<sub>n</sub>)는 항체 단편 A(예를 들어, Fab 또는 Fab')에 공유적으로 부착될 수 있어서, 하나 이상의 약물 모이어티 D를 링커 L<sub>B</sub>를 통해 항체 단편 A(예를 들어, Fab 또는 Fab')에 공유 부착시킬 수 있다. L<sub>B</sub>는 항체 단편 A(예를 들어, Fab 또는 Fab')를 하나 이상의 약물 모이어티 D에 연결할 수 있는 임의의 화학적 모이어티이다. 하나 이상의 약물 모이어티 D가 항체 단편 A(예를 들어, Fab 또는 Fab')에 공유 연결된 화학식 I의 접합체는 동일하거나 상이한 하나 이상의 반응성 기능기를 갖는 이작용성 또는 다작용성 링커 시약을 사용하여 형성될 수 있다. 이작용성 또는 다작용성 링커 시약의 반응성 작용기 중 하나는 항체 단편 A 상의 기, 예로서, 티올 또는 아민(예를 들어, 시스테인, N 말단 또는 아미노산 측쇄, 예컨대, 리신)과 반응하여 링커 L<sub>B</sub>의 한쪽 말단과 공유 연결을 형성하도록 사용된다. 이작용성 또는 다작용성 링커 시약의 이러한 반응성 작용기는 말레이미드, 티올 및 NHS 에스테르를 포함하지만, 이들로 제한되지는 않는다. 이작용성 또는 다작용성 링커 시약의 다른 반응성 작용기 또는 기들은 하나 이상의 약물 모이어티 D를 링커 L<sub>B</sub>에 공유 부착시키도록 사용된다.

[0471] 화학식 II의 접합체에서, 항체 단편 A<sub>1</sub> 및 A<sub>2</sub> 상의 펜던트 티올 및 1,3-디할로아세톤, 예를 들어 1,3-디클로로아세톤, 1,3-디브로모아세톤, 1,3-디요도아세톤, 및 1, 3-디하이드록시아세톤의 비스설포네이트 에스테르의 반응에 의해 케톤 브리지가 형성되고, 이는 항체 단편 A<sub>1</sub> 및 A<sub>2</sub>를 공유 커플링시킨다. 이 케톤 브리지 모이어티는 하나 이상의 약물 모이어티 D를 링커 L<sub>B</sub>를 통해 항체 단편 A<sub>1</sub> 및 A<sub>2</sub>에 공유 부착시키도록 사용된다. L<sub>B</sub>는 항체 단편 A<sub>1</sub> 및 A<sub>2</sub>를 하나 이상의 약물 모이어티 D에 연결할 수 있는 임의의 화학적 모이어티이다. 하나 이상의 약물 모이어티 D가 항체 단편 A<sub>1</sub> 및 A<sub>2</sub>에 공유 연결된 화학식 II의 접합체는 동일하거나 상이한 하나 이상의 반응성 작용기를 갖는 이작용성 또는 다작용성 링커 시약을 사용하여 형성될 수 있다. 일 구현예에서, 이작용성 또는 다작용성 링커 시약의 반응성 작용기 중 하나는 알록시아민이고, 이는 케톤 브리지와 반응하여 링커 L<sub>B</sub>의 한쪽 말단과 옥심 연결을 형성하도록 사용되고, 이작용성 또는 다작용성 링커 시약의 다른 반응성 작용기 또는 기

들은 하나 이상의 약물 모이어티 D를 링커 L<sub>B</sub>에 공유 부착시키도록 사용된다. 다른 구현예에서, 이작용성 또는 다작용성 링커 시약의 반응성 작용기 중 하나는 하이드라진이고, 이는 케톤 브리지와 반응하여 링커 L<sub>B</sub>의 한쪽 말단과 하이드라존 연결을 형성하도록 사용되고, 이작용성 또는 다작용성 링커 시약의 다른 반응성 작용기 또는 기들은 하나 이상의 약물 모이어티 D를 링커 L<sub>B</sub>에 공유 부착시키도록 사용된다.

[0472] 일 양태에서, L<sub>B</sub>는 절단 가능한 링커이다. 다른 양태에서, L<sub>B</sub>는 절단 불가능한 링커이다. 일부 양태에서, L<sub>B</sub>는 산 불안정 링커, 광 불안정 링커, 펩티다아제 절단 가능한 링커, 에스테라아제 절단 가능한 링커, 글리코시다아제 절단 가능한 링커, 포스포디에스테라아제 절단 가능한 링커, 디설파이드 결합 환원성 링커, 친수성 링커, 또는 디카복실산 기반 링커이다.

[0473] 약물 대 항체 비율은 소정의 접합체 분자의 경우 정확한 정수 값을 갖지만(예를 들어, 화학식 I의 n과 y의 곱과 화학식 II의 "n"), 이 값이 여러 분자를 함유하는 샘플을 설명하기 위하여 사용될 때에는 전형적으로는 접합 단계와 연관된 어느 정도의 불균질성으로 인해 종종 평균 값일 것임이 이해된다. 접합체의 샘플에 대한 평균 로딩은 분원에서 약물 대 항체(또는 Fab') 비율, 또는 "DAR"로 지칭된다. 일부 양태에서, DAR은 약 1 내지 약 5이고, 전형적으로는 약 1, 2, 3 또는 4이다. 일부 양태에서, 샘플의 적어도 50중량%는 평균 DAR ± 2를 갖는 화합물이고, 바람직하게는 샘플의 적어도 50%는 평균 DAR ± 1을 함유하는 접합체이다. 다른 양태는 DAR이 약 2인 접합체를 포함한다. 일부 양태에서, '약 y'의 DAR은 DAR에 대해 측정된 값이 화학식 I의 n과 y의 곱의 20% 이내임을 의미한다. 일부 양태에서, '약 n'의 DAR은 DAR에 대해 측정된 값이 화학식 II의 n의 20% 이내임을 의미한다.

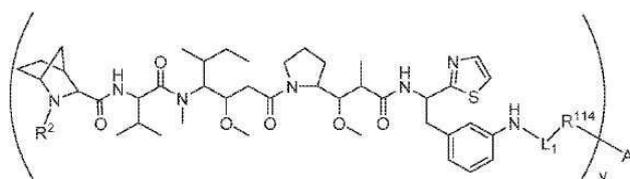
[0474] 일 양태에서, 화학식 I의 접합체에서 약물 대 항체 단편(Fab 또는 Fab')의 평균 물 비율(즉, 약물 대 항체 비율(DAR)로도 공지된 n과 y의 곱의 평균 값)은 약 1 내지 약 10, 약 1 내지 약 6(예를 들어, 0.9, 1.0, 1.1, 1.2, 1.3, 1.4, 1.5, 1.6, 1.7, 1.8, 1.9, 2.0, 2.1, 2.2, 2.3, 2.4, 2.5, 2.6, 2.7, 2.8, 2.9, 3.0, 3.1, 3.2, 3.3, 3.4, 3.5, 3.6, 3.7, 3.8, 3.9, 4.0, 4.1, 4.2, 4.3, 4.4, 4.5, 4.6, 4.7, 4.8, 4.9, 5.0, 5.1, 5.2, 5.3, 5.4, 5.5, 5.6, 5.7, 5.8, 5.9, 6.0), 약 1 내지 약 5, 약 1.5 내지 약 4.5, 또는 약 2 내지 약 4이다.

[0475] 일 양태에서, 화학식 II의 접합체에서 약물 대 항체 단편 A<sub>1</sub> 및 A<sub>2</sub>의 평균 물 비율(즉, 약물 대 항체 비율(DAR)로도 공지된 n의 평균 값)은 약 1 내지 약 10, 약 1 내지 약 6(예를 들어, 0.9, 1.0, 1.1, 1.2, 1.3, 1.4, 1.5, 1.6, 1.7, 1.8, 1.9, 2.0, 2.1, 2.2, 2.3, 2.4, 2.5, 2.6, 2.7, 2.8, 2.9, 3.0, 3.1, 3.2, 3.3, 3.4, 3.5, 3.6, 3.7, 3.8, 3.9, 4.0, 4.1, 4.2, 4.3, 4.4, 4.5, 4.6, 4.7, 4.8, 4.9, 5.0, 5.1, 5.2, 5.3, 5.4, 5.5, 5.6, 5.7, 5.8, 5.9, 6.0), 약 1 내지 약 5, 약 1.5 내지 약 4.5, 또는 약 2 내지 약 4이다.

[0476] 본 발명에 의해 제공된 일 양태에서, 접합체는 실질적으로 높은 순도를 가지며, 다음 특징 중 하나 이상을 갖는다: (a) 약 90% 초과(예를 들어, 약 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상, 또는 100%), 바람직하게는 약 95% 초과(예를 들어, 약 96%, 97%, 98%, 99% 이상, 또는 100%)의 접합체 종이 단량체성임, (b) 접합체 체제 내의 비접합된 링커 수준이 (전체 링커에 대해) 약 10% 미만임(예를 들어, 약 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1% 이하, 또는 0%), (c) 접합체 종의 10% 미만(예를 들어, 약 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1% 이하, 또는 0%)이 가교됨, (d) 접합체 체제 내의 유리 약물(예를 들어, 아우리스타틴, 아마니틴, 메이탄시노이드 또는 사포린) 수준이 약 2% 미만임(예를 들어, 약 1.5%, 1.4%, 1.3%, 1.2%, 1.1%, 1.0%, 0.9%, 0.8%, 0.7%, 0.6%, 0.5%, 0.4%, 0.3%, 0.2%, 0.1% 이하, 또는 0%)(전체 세포독성제에 대한, mol/mol).

[0477] 일 양태에서, 본 발명의 접합체는 하기 화학식 E의 구조를 갖는다:

[0478] [화학식 E]



[0479]

[0480] 상기 식에서,

[0481] A는 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')을 나타내고;

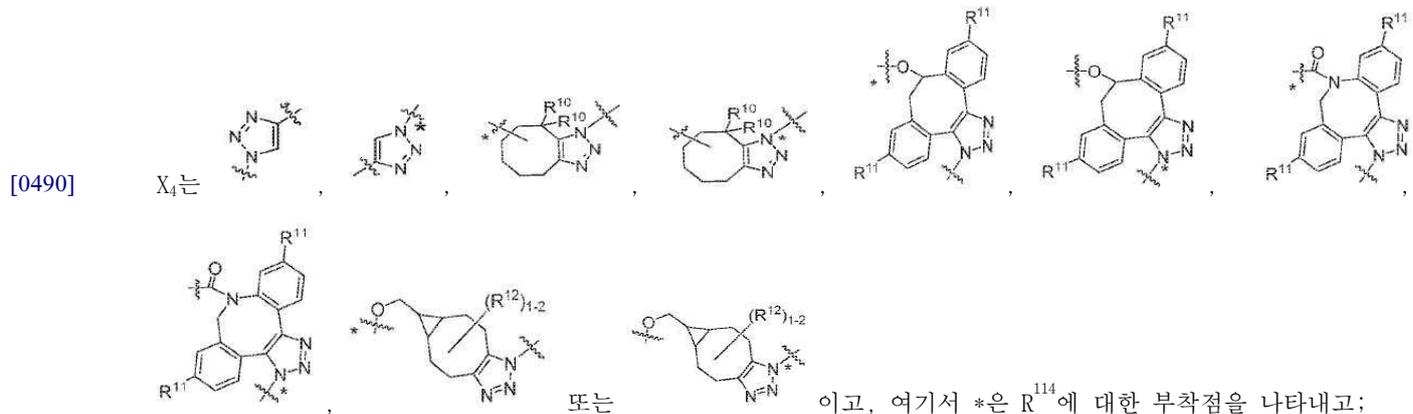
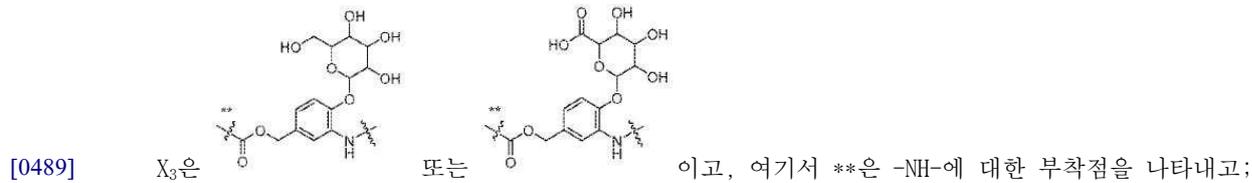
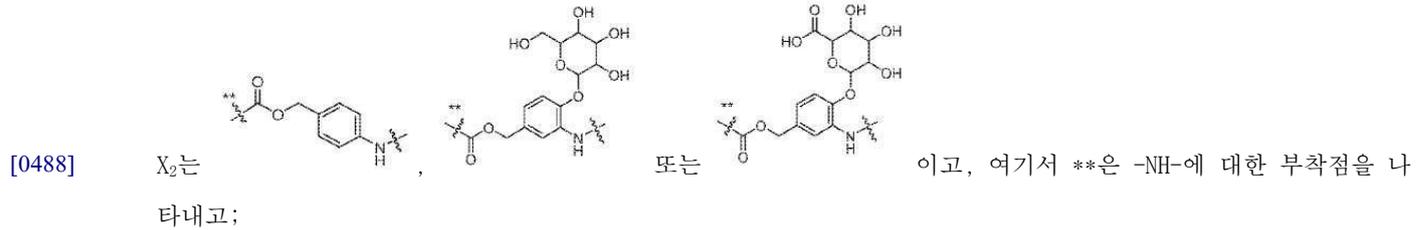
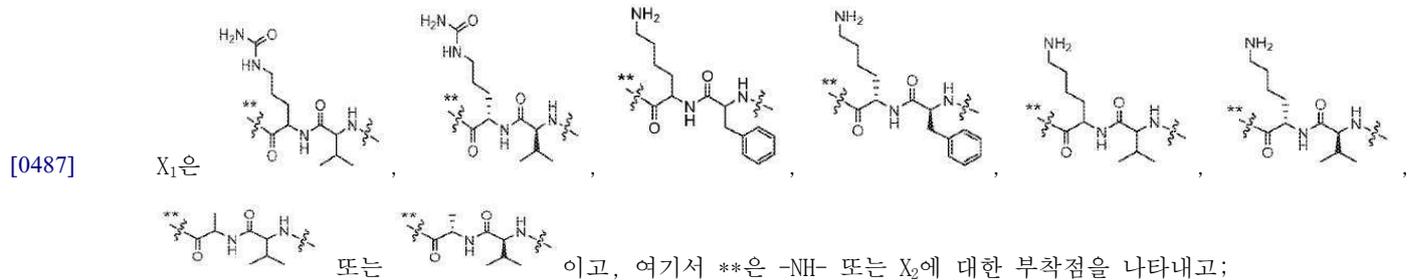
[0482] y는 1 내지 10의 정수이고;

[0483] R<sup>2</sup>는 H, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>알킬, -C(=O)R<sup>3</sup>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>OH, -C(=O)(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>OH, -C(=O)((CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>O)<sub>n</sub>R<sup>4</sup>, -((CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>O)<sub>n</sub>R<sup>4</sup> 또는, -CN, -C(=O)NH<sub>2</sub> 또는 1개 내지 5개의 하이드록시로 선택적으로 치환된 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>알킬이고;

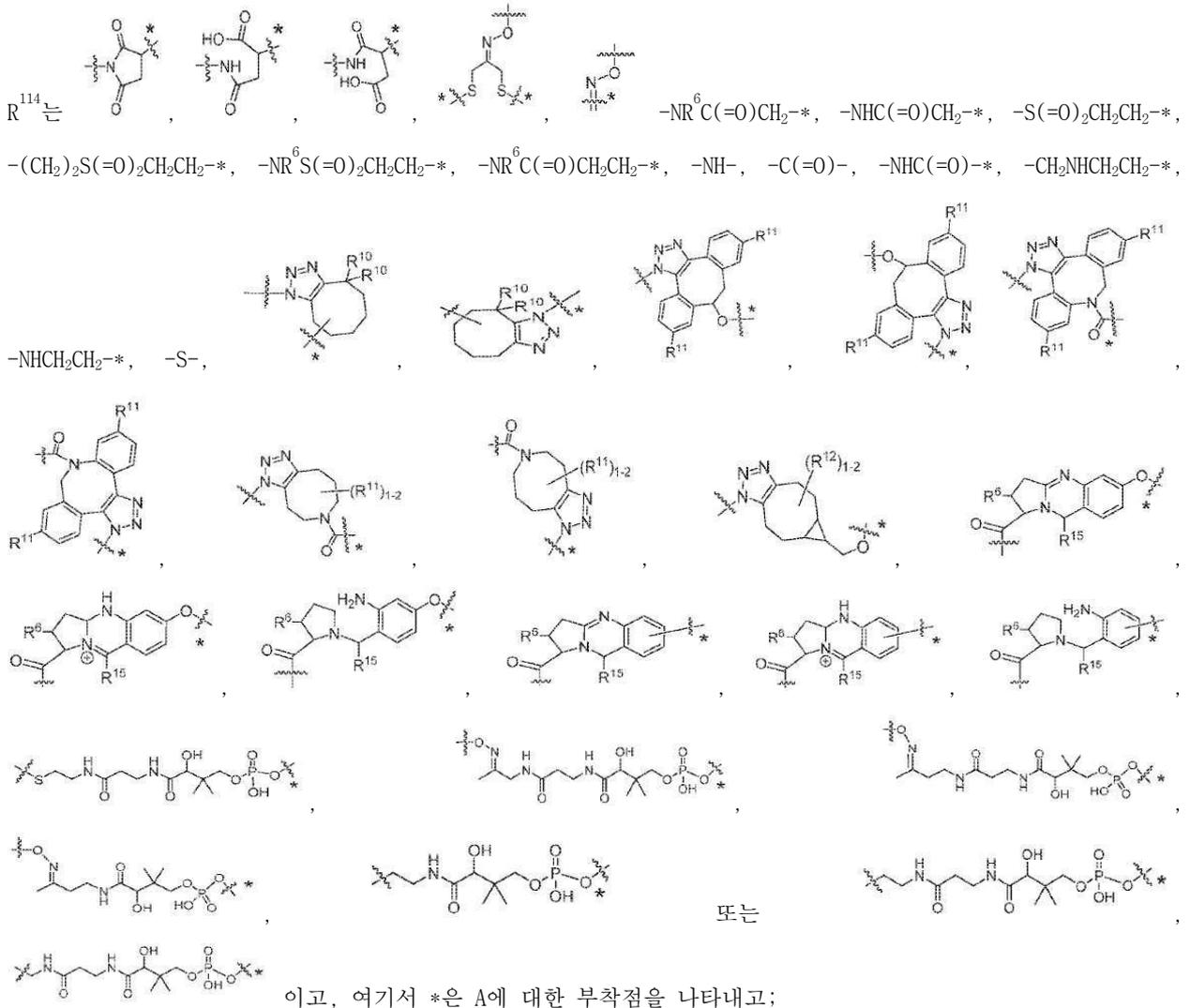
[0484] 각각의 R<sup>3</sup>은 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>알킬 및 1개 내지 5개의 하이드록실로 선택적으로 치환된 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>알킬로부터 독립적으로 선택되고;

[0485] 각각의 R<sup>4</sup>는 H 및 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>알킬로부터 독립적으로 선택되고;

[0486] L<sub>1</sub>은 -X<sub>1</sub>C(=O)((CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>)<sub>p</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-\*\*, -X<sub>1</sub>C(=O)(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-\*\*, -X<sub>2</sub>X<sub>1</sub>C(=O)((CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>)<sub>p</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-\*\*, -X<sub>2</sub>X<sub>1</sub>C(=O)(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-\*\*, -X<sub>3</sub>C(=O)((CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>)<sub>p</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-\*\*, -X<sub>3</sub>C(=O)(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-\*\*, -X<sub>3</sub>C(=O)(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>NHC(=O)((CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>)<sub>p</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-\*\*, -X<sub>3</sub>C(=O)(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>NHC(=O)(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-\*\*, -X<sub>3</sub>C(=O)(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-\*\*, -X<sub>1</sub>C(=O)((CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>)<sub>p</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>X<sub>4</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-\*\*, -X<sub>1</sub>C(=O)(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>X<sub>4</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-\*\*, -X<sub>2</sub>X<sub>1</sub>C(=O)((CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>)<sub>p</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>X<sub>4</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-\*\* 또는 -X<sub>2</sub>X<sub>1</sub>C(=O)(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>X<sub>4</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-\*\*이고, 여기서 \*\*은 R<sup>114</sup>에 대한 부착점을 나타내고;



[0491]



[0492]

각각의  $R^6$ 은 H 및  $C_1-C_6$ 알킬로부터 독립적으로 선택되고;

[0493]

각각의  $R^{10}$ 은 H,  $C_1-C_6$ 알킬, F, Cl, 및  $-OH$ 로부터 독립적으로 선택되고;

[0494]

각각의  $R^{11}$ 은 H,  $C_1-C_6$ 알킬, F, Cl,  $-NH_2$ ,  $-OCH_3$ ,  $-OCH_2CH_3$ ,  $-N(CH_3)_2$ ,  $-CN$ ,  $-NO_2$  및  $-OH$ 로부터 독립적으로 선택되고;

[0495]

각각의  $R^{12}$ 은 H,  $C_1-C_6$ 알킬, 플루오로,  $-C(=O)OH$ 로 치환된 벤질옥시,  $-C(=O)OH$ 로 치환된 벤질,  $-C(=O)OH$ 로 치환된  $C_{1-4}$ 알콕시 및  $-C(=O)OH$ 로 치환된  $C_{1-4}$ 알킬로부터 독립적으로 선택되고;

[0496]

각각의  $R^{15}$ 은 H,  $-CH_3$  및 페닐로부터 독립적으로 선택되고;

[0497]

각각의 m은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 및 10으로부터 독립적으로 선택되고,

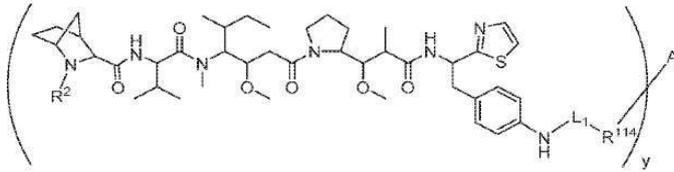
[0498]

각각의 p는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 및 14로부터 독립적으로 선택된다.

[0499]

일 양태에서, 본 발명의 접합체는 하기 화학식 F의 구조를 갖는다:

[0500] [화학식 F]



[0501]

[0502] 상기 식에서,

[0503] A는 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')을 나타내고;

[0504] y는 1 내지 10의 정수이고;

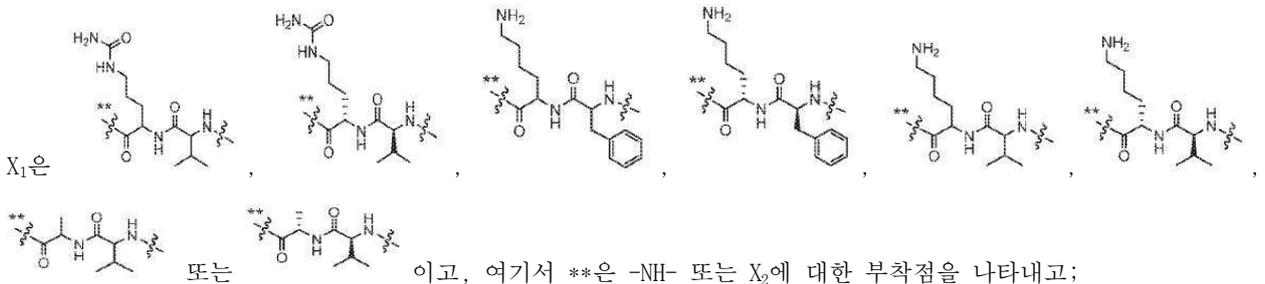
[0505] R<sup>2</sup>는 H, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>알킬, -C(=O)R<sup>3</sup>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>OH, -C(=O)(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>OH, -C(=O)((CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>O)<sub>n</sub>R<sup>4</sup>, -((CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>O)<sub>n</sub>R<sup>4</sup> 또는, -CN, -C(=O)NH<sub>2</sub> 또는 1개 내지 5개의 하이드록시로 선택적으로 치환된 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>알킬이고;

[0506] 각각의 R<sup>3</sup>은 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>알킬 및 1개 내지 5개의 하이드록실로 선택적으로 치환된 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>알킬로부터 독립적으로 선택되고;

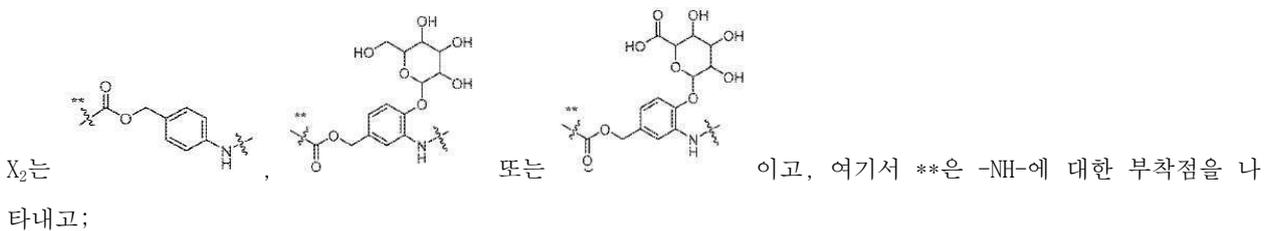
[0507] 각각의 R<sup>4</sup>는 H 및 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>알킬로부터 독립적으로 선택되고;

[0508] L<sub>1</sub>은 -X<sub>1</sub>C(=O)((CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>O)<sub>p</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-\*\*, -X<sub>1</sub>C(=O)(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-\*\*, -X<sub>2</sub>X<sub>1</sub>C(=O)((CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>O)<sub>p</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-\*\*, -X<sub>2</sub>X<sub>1</sub>C(=O)(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-\*\*, -X<sub>3</sub>C(=O)((CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>O)<sub>p</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-\*\*, -X<sub>3</sub>C(=O)(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-\*\*, -X<sub>3</sub>C(=O)(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>NHC(=O)((CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>O)<sub>p</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-\*\*, -X<sub>3</sub>C(=O)(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>NHC(=O)(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-\*\*, -X<sub>3</sub>C(=O)(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-\*\*, -X<sub>1</sub>C(=O)((CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>O)<sub>p</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>X<sub>4</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-\*\*, -X<sub>1</sub>C(=O)(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>X<sub>4</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-\*\*, -X<sub>2</sub>X<sub>1</sub>C(=O)((CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>O)<sub>p</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>X<sub>4</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-\*\* 또는 -X<sub>2</sub>X<sub>1</sub>C(=O)(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>X<sub>4</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-\*\*이고, 여기서 \*\*은 R<sup>114</sup>에 대한 부착점을 나타내고;

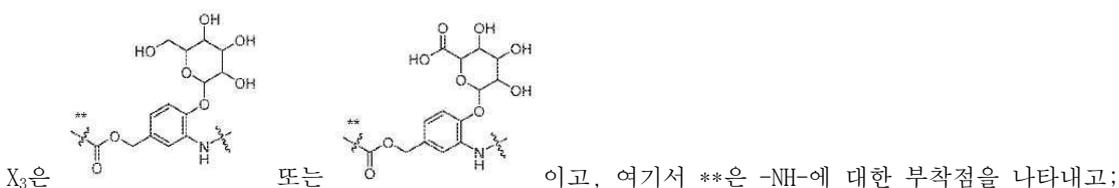
[0509]



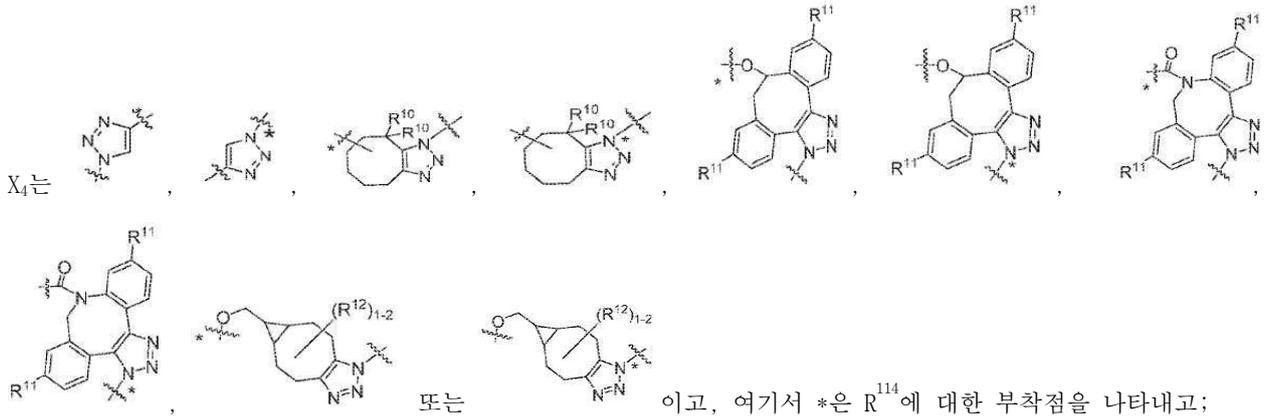
[0510]



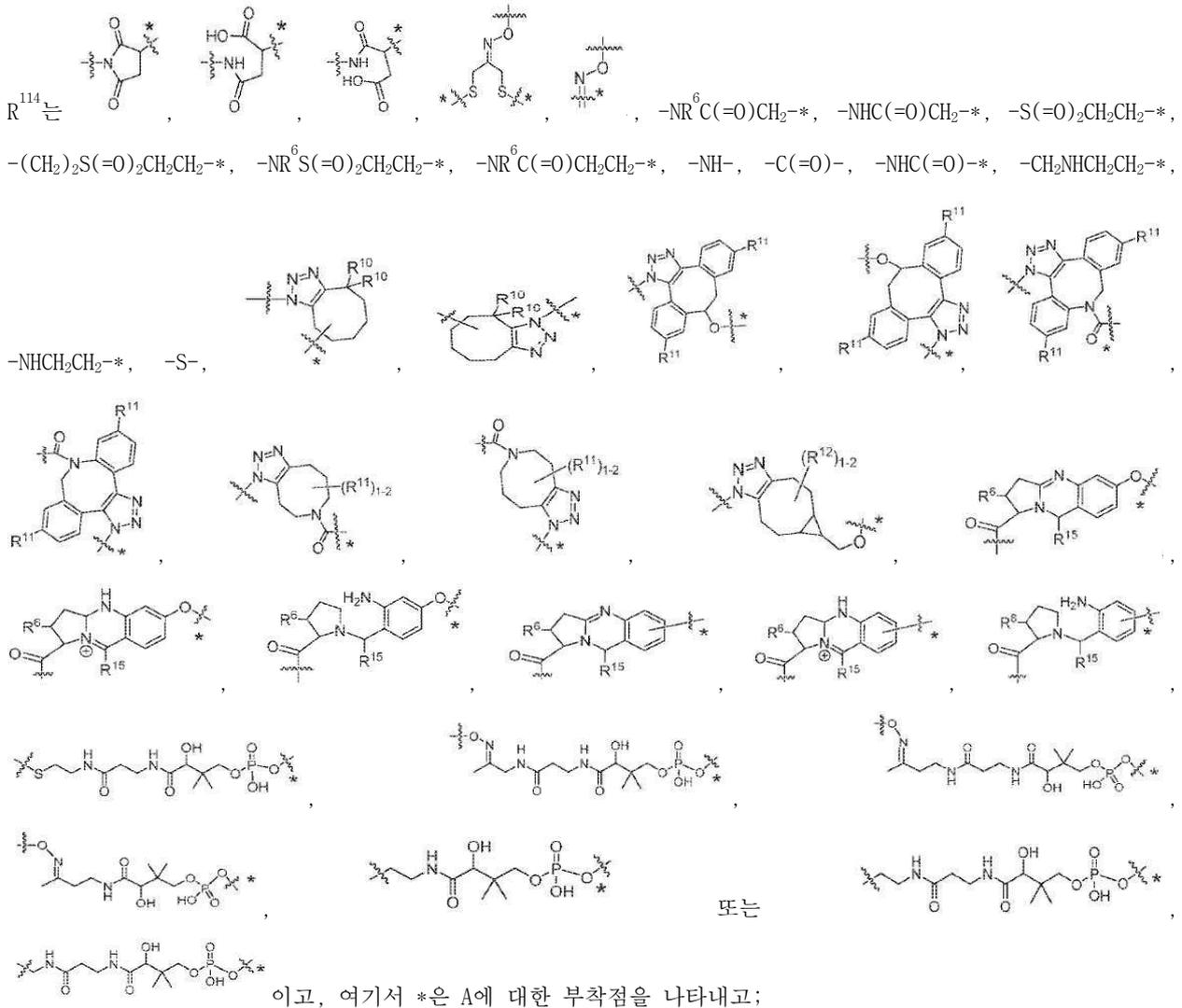
[0511]



[0512]



[0513]



[0514]

각각의 R<sup>6</sup>은 H 및 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>알킬로부터 독립적으로 선택되고;

[0515]

각각의 R<sup>10</sup>은 H, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>알킬, F, Cl, 및 -OH로부터 독립적으로 선택되고;

[0516]

각각의 R<sup>11</sup>은 H, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>알킬, F, Cl, -NH<sub>2</sub>, -OCH<sub>3</sub>, -OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, -N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, -CN, -NO<sub>2</sub> 및 -OH로부터 독립적으로 선택되고;

[0517]

각각의 R<sup>12</sup>은 H, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>알킬, 플루오로, -C(=O)OH로 치환된 벤질옥시, -C(=O)OH로 치환된 벤질, -C(=O)OH로 치환된

C<sub>1-4</sub>알콕시 및 -C(=O)OH로 치환된 C<sub>1-4</sub>알킬로부터 독립적으로 선택되고;

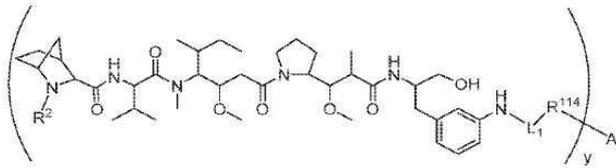
[0518] 각각의 R<sup>15</sup>는 H, -CH<sub>3</sub> 및 페닐로부터 독립적으로 선택되고;

[0519] 각각의 m은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 및 10으로부터 독립적으로 선택되고,

[0520] 각각의 p는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 및 14로부터 독립적으로 선택된다.

[0521] 일 양태에서, 본 발명의 집합체는 하기 화학식 G의 구조를 갖는다:

[0522] [화학식 G]



[0523]

상기 식에서,

[0524]

A는 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')을 나타내고;

[0525]

y는 1 내지 10의 정수이고;

[0526]

R<sup>2</sup>는 H, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>알킬, -C(=O)R<sup>3</sup>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>OH, -C(=O)(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>OH, -C(=O)((CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>O)<sub>n</sub>R<sup>4</sup>, -((CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>O)<sub>n</sub>R<sup>4</sup> 또는, -CN, -C(=O)NH<sub>2</sub> 또는 1개 내지 5개의 하이드록시로 선택적으로 치환된 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>알킬이고;

[0527]

각각의 R<sup>3</sup>은 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>알킬 및 1개 내지 5개의 하이드록실로 선택적으로 치환된 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>알킬로부터 독립적으로 선택되고;

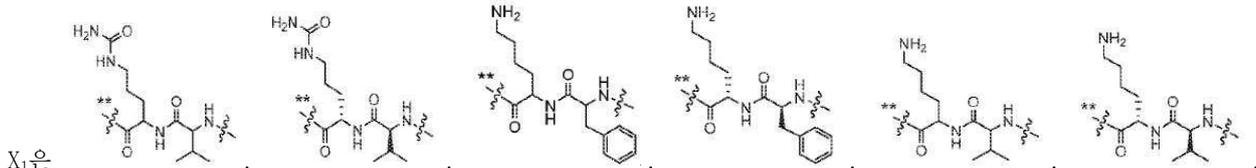
[0528]

각각의 R<sup>4</sup>는 H 및 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>알킬로부터 독립적으로 선택되고;

[0529]

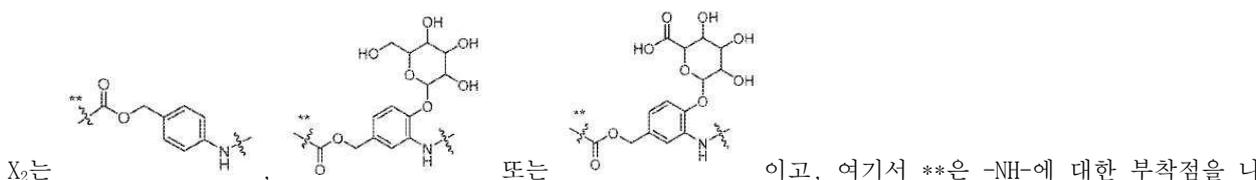
L<sub>1</sub>은 -X<sub>1</sub>C(=O)((CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>)<sub>p</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-\*\*, -X<sub>1</sub>C(=O)(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-\*\*, -X<sub>2</sub>X<sub>1</sub>C(=O)((CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>)<sub>p</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-\*\*, -X<sub>2</sub>X<sub>1</sub>C(=O)(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-\*\*, -X<sub>3</sub>C(=O)((CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>)<sub>p</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-\*\*, -X<sub>3</sub>C(=O)(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-\*\*, -X<sub>3</sub>C(=O)(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>NHC(=O)((CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>)<sub>p</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-\*\*, -X<sub>3</sub>C(=O)(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>NHC(=O)(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-\*\*, -X<sub>3</sub>C(=O)(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-\*\*, -X<sub>1</sub>C(=O)((CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>)<sub>p</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>X<sub>4</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-\*\*, -X<sub>1</sub>C(=O)(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>X<sub>4</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-\*\*, -X<sub>2</sub>X<sub>1</sub>C(=O)((CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>)<sub>p</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>X<sub>4</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-\*\* 또는 -X<sub>2</sub>X<sub>1</sub>C(=O)(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>X<sub>4</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-\*\*이고, 여기서 \*\*은 R<sup>114</sup>에 대한 부착점을 나타내고;

[0530]



[0531]

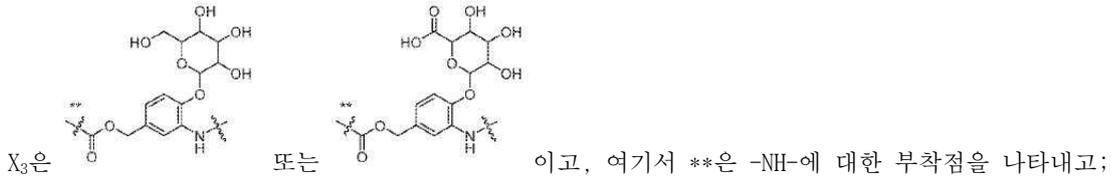
X<sub>1</sub>은 , , , , , , 또는 이고, 여기서 \*\*은 -NH- 또는 X<sub>2</sub>에 대한 부착점을 나타내고;



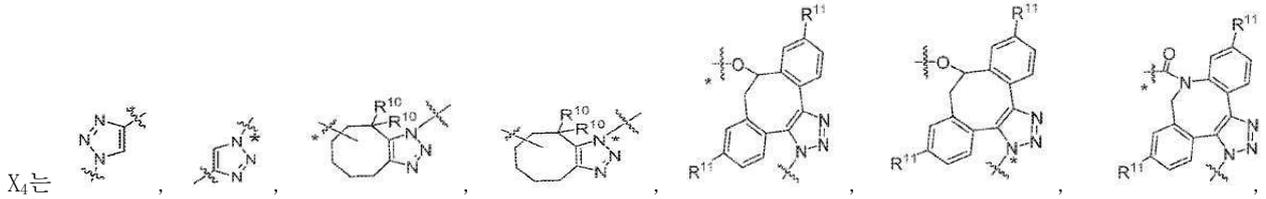
[0532]

X<sub>2</sub>는 , 또는 이고, 여기서 \*\*은 -NH-에 대한 부착점을 나타내고;

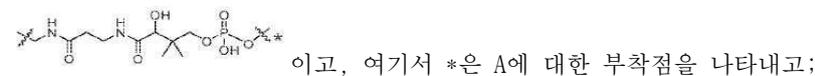
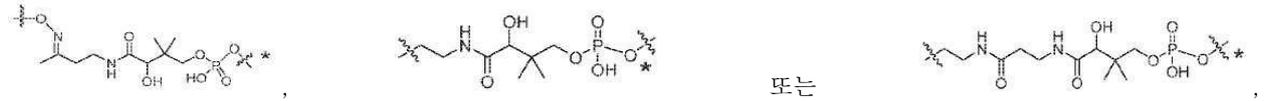
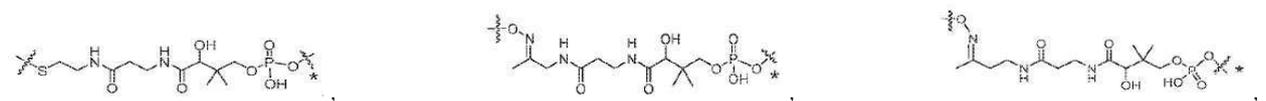
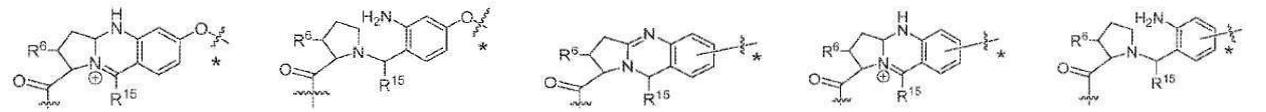
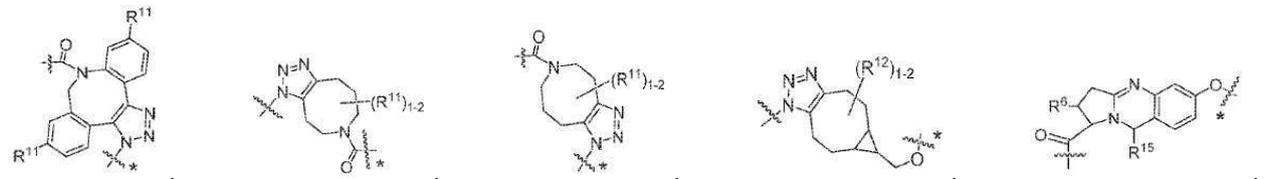
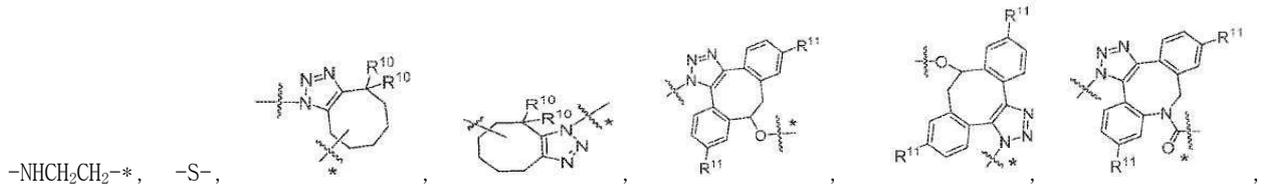
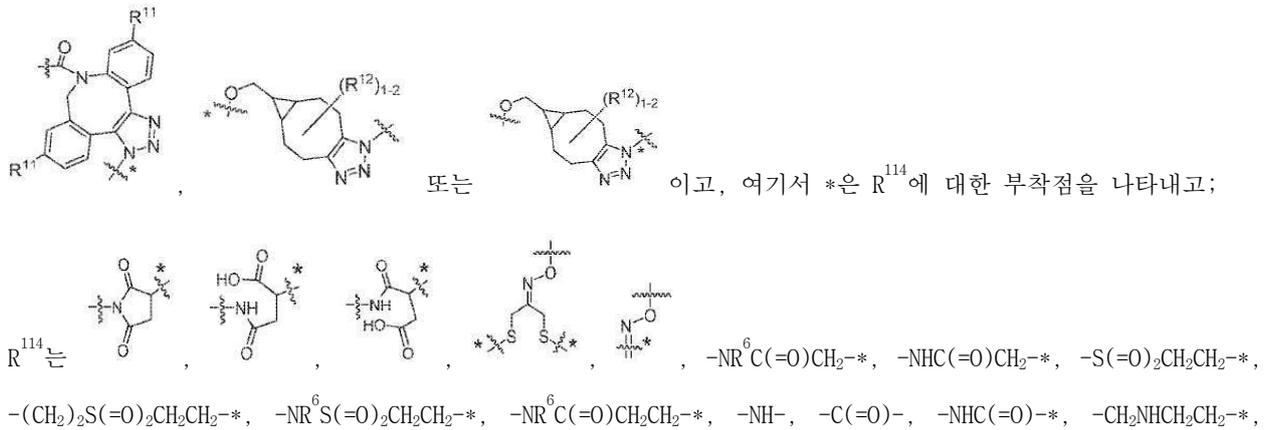
[0533]



[0534]



[0535]



[0536]

각각의  $R^6$ 은 H 및  $\text{C}_1$ - $\text{C}_6$ 알킬로부터 독립적으로 선택되고;

[0537]

각각의  $R^{10}$ 은 H,  $\text{C}_1$ - $\text{C}_6$ 알킬, F, Cl, 및 -OH로부터 독립적으로 선택되고;

[0538] 각각의 R<sup>11</sup>은 H, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>알킬, F, Cl, -NH<sub>2</sub>, -OCH<sub>3</sub>, -OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, -N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, -CN, -NO<sub>2</sub> 및 -OH로부터 독립적으로 선택되고;

[0539] 각각의 R<sup>12</sup>는 H, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>알킬, 플루오로, -C(=O)OH로 치환된 벤질옥시, -C(=O)OH로 치환된 벤질, -C(=O)OH로 치환된 C<sub>1-4</sub>알콕시 및 -C(=O)OH로 치환된 C<sub>1-4</sub>알킬로부터 독립적으로 선택되고;

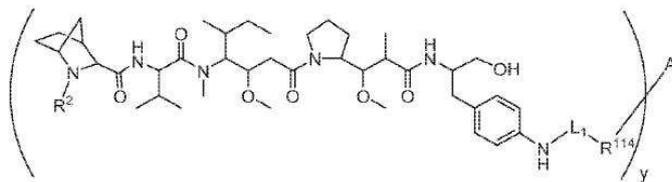
[0540] 각각의 R<sup>15</sup>는 H, -CH<sub>3</sub> 및 페닐로부터 독립적으로 선택되고;

[0541] 각각의 m은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 및 10으로부터 독립적으로 선택되고,

[0542] 각각의 p는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 및 14로부터 독립적으로 선택된다.

[0543] 일 양태에서, 본 발명의 접합체는 하기 화학식 H의 구조를 갖는다:

[0544] [화학식 H]



[0545]

[0546] 상기 식에서,

[0547] A는 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')을 나타내고;

[0548] y는 1 내지 10의 정수이고;

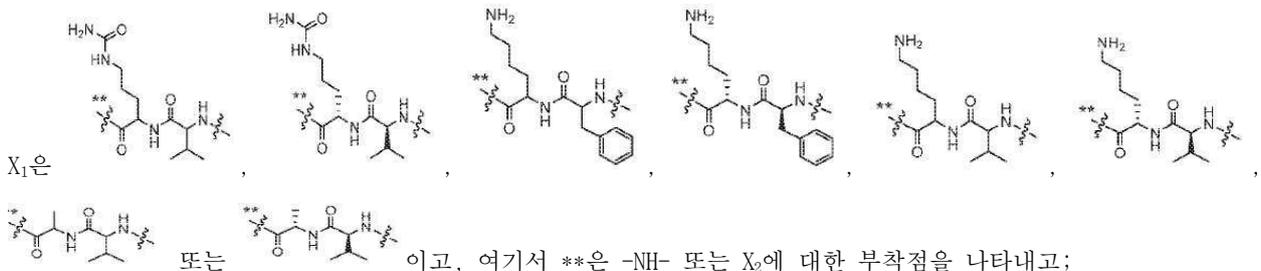
[0549] R<sup>2</sup>는 H, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>알킬, -C(=O)R<sup>3</sup>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>OH, -C(=O)(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>OH, -C(=O)((CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>O)<sub>n</sub>R<sup>4</sup>, -((CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>O)<sub>n</sub>R<sup>4</sup> 또는, -CN, -C(=O)NH<sub>2</sub> 또는 1개 내지 5개의 하이드록시로 선택적으로 치환된 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>알킬이고;

[0550] 각각의 R<sup>3</sup>은 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>알킬 및 1개 내지 5개의 하이드록실로 선택적으로 치환된 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>알킬로부터 독립적으로 선택되고;

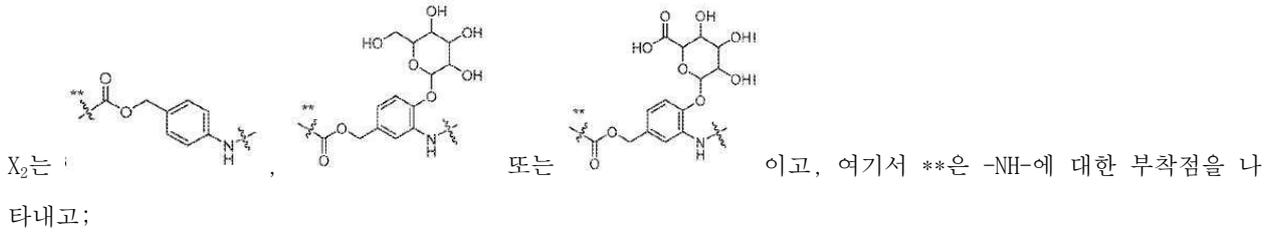
[0551] 각각의 R<sup>4</sup>는 H 및 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>알킬로부터 독립적으로 선택되고;

[0552] L<sub>1</sub>은 -X<sub>1</sub>C(=O)((CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>)<sub>p</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-\*\*, -X<sub>1</sub>C(=O)(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-\*\*, -X<sub>2</sub>X<sub>1</sub>C(=O)((CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>)<sub>p</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-\*\*, -X<sub>2</sub>X<sub>1</sub>C(=O)(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-\*\*, -X<sub>3</sub>C(=O)((CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>)<sub>p</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-\*\*, -X<sub>3</sub>C(=O)(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-\*\*, -X<sub>3</sub>C(=O)(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>NHC(=O)((CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>)<sub>p</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-\*\*, -X<sub>3</sub>C(=O)(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>NHC(=O)(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-\*\*, -X<sub>3</sub>C(=O)(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-\*\*, -X<sub>1</sub>C(=O)((CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>)<sub>p</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>X<sub>4</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-\*\*, -X<sub>1</sub>C(=O)(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>X<sub>4</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-\*\*, -X<sub>2</sub>X<sub>1</sub>C(=O)((CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>)<sub>p</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>X<sub>4</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-\*\* 또는 -X<sub>2</sub>X<sub>1</sub>C(=O)(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>X<sub>4</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-\*\*이고, 여기서 \*\*은 R<sup>114</sup>에 대한 부착점을 나타내고;

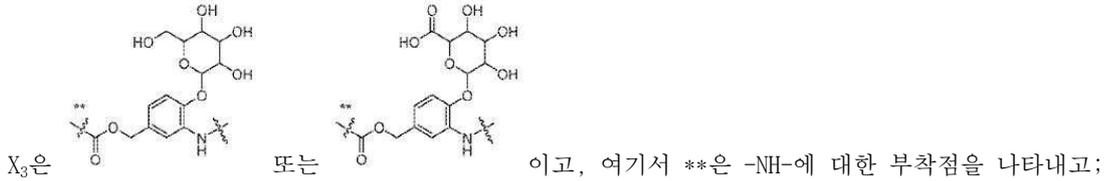
[0553]



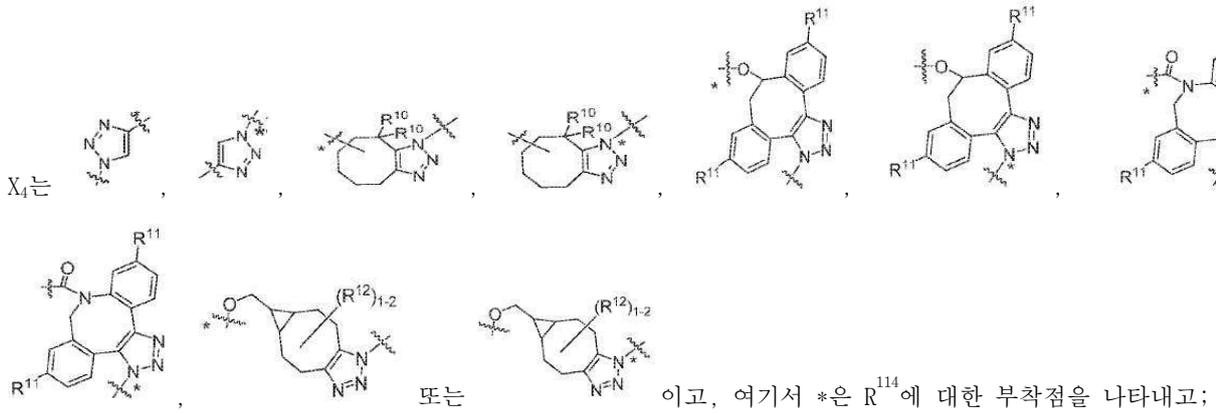
[0554]



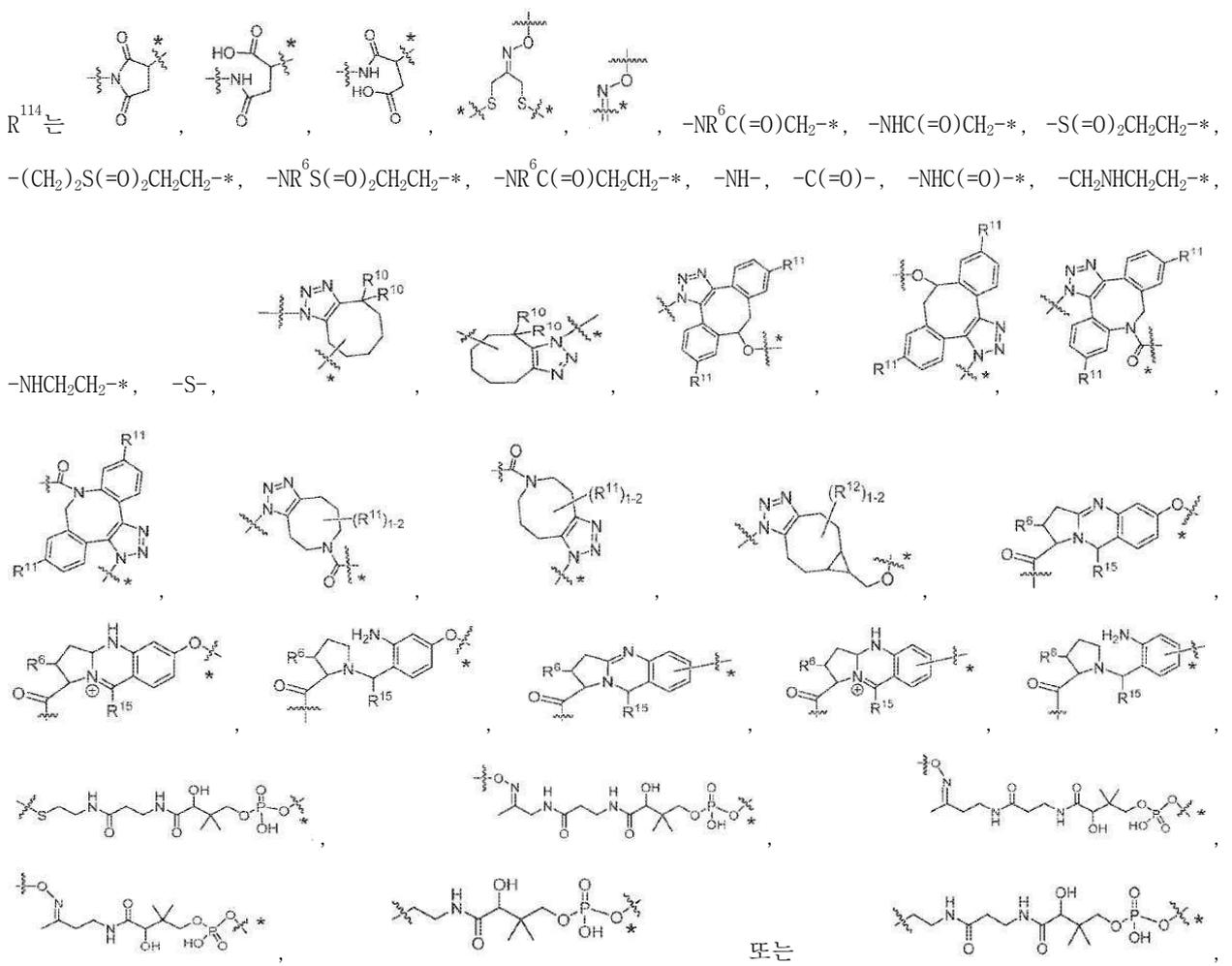
[0555]

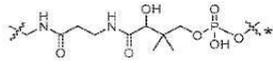


[0556]



[0557]

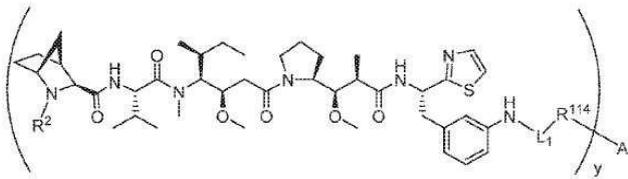




이고, 여기서 \*은 A에 대한 부착점을 나타내고;

- [0558] 각각의 R<sup>6</sup>은 H 및 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>알킬로부터 독립적으로 선택되고;
- [0559] 각각의 R<sup>10</sup>은 H, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>알킬, F, Cl, 및 -OH로부터 독립적으로 선택되고;
- [0560] 각각의 R<sup>11</sup>은 H, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>알킬, F, Cl, -NH<sub>2</sub>, -OCH<sub>3</sub>, -OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, -N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, -CN, -NO<sub>2</sub> 및 -OH로부터 독립적으로 선택되고;
- [0561] 각각의 R<sup>12</sup>는 H, C<sub>1-6</sub>알킬, 플루오로, -C(=O)OH로 치환된 벤질옥시, -C(=O)OH로 치환된 벤질, -C(=O)OH로 치환된 C<sub>1-4</sub>알콕시 및 -C(=O)OH로 치환된 C<sub>1-4</sub>알킬로부터 독립적으로 선택되고;
- [0562] 각각의 R<sup>15</sup>는 H, -CH<sub>3</sub> 및 페닐로부터 독립적으로 선택되고;
- [0563] 각각의 m은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 및 10으로부터 독립적으로 선택되고,
- [0564] 각각의 p는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 및 14로부터 독립적으로 선택된다.
- [0565] 본 발명의 접합체의 소정의 양태 및 예가 추가의 열거된 구현예의 하기 목록에 제공된다. 각각의 구현예에 명시된 특징은 다른 명시된 특징과 조합되어 본 발명의 추가 구현예를 제공할 수 있음이 인식될 것이다.
- [0566] 구현예 69. 하기 화학식 E-1의 구조를 갖는 접합체는 화학식 E의 구조를 갖는 접합체:

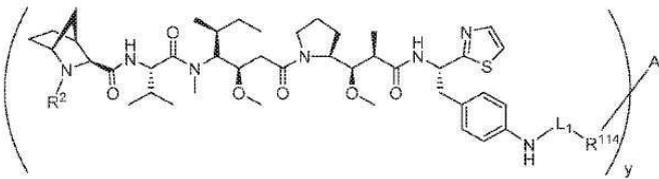
[0567] [화학식 E-1]



- [0568]
- [0569] 상기 식에서, R<sup>2</sup>, R<sup>114</sup>, A, y 및 L<sub>1</sub>은 상기 화학식 E의 접합체에 대해 정의된 바와 같다.

[0570] 구현예 70. 화학식 F의 구조를 갖는 접합체는 하기 화학식 F-1의 구조를 갖는 접합체이다:

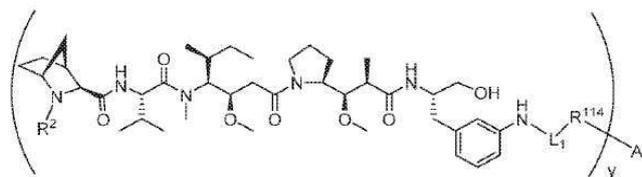
[0571] [화학식 F-1]



- [0572]
- [0573] 상기 식에서, R<sup>2</sup>, R<sup>114</sup>, A, y 및 L<sub>1</sub>은 상기 화학식 F의 접합체에 대해 정의된 바와 같다.

[0574] 구현예 71. 화학식 G의 구조를 갖는 접합체는 하기 화학식 G-1의 구조를 갖는 접합체이다:

[0575] [화학식 G-1]

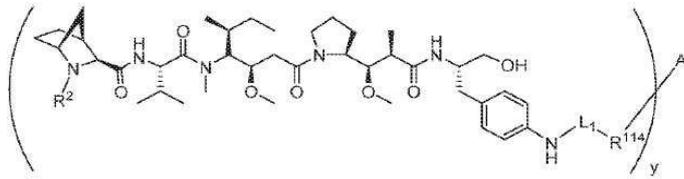


[0576]

[0577] 상기 식에서,  $R^2$ ,  $R^{114}$ , A, y 및  $L_1$ 은 상기 화학식 G의 집합체에 대해 정의된 바와 같다.

[0578] 구현예 72. 화학식 H의 구조를 갖는 집합체는 하기 화학식 H-1의 구조를 갖는 집합체이다:

[0579] [화학식 H-1]



[0580] 상기 식에서,  $R^2$ ,  $R^{114}$ , A, y 및  $L_1$ 은 상기 화학식 H의 집합체에 대해 정의된 바와 같다.

[0582] 구현예 73. 화학식 E, 화학식 F, 화학식 G, 화학식 H 또는 구현예 69 내지 72 중 어느 하나에 있어서,  $R^2$ 는 H 또는  $C_1$ - $C_6$ 알킬인, 집합체.

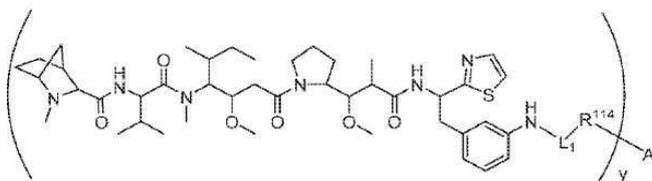
[0583] 구현예 74. 화학식 E, 화학식 F, 화학식 G, 화학식 H 또는 구현예 69 내지 72 중 어느 하나에 있어서,  $R^2$ 는 H 또는 메틸인, 집합체.

[0584] 구현예 75. 화학식 E, 화학식 F, 화학식 G, 화학식 H 또는 구현예 69 내지 72 중 어느 하나에 있어서,  $R^2$ 는 H인, 집합체.

[0585] 구현예 76. 화학식 E, 화학식 F, 화학식 G, 화학식 H 또는 구현예 69 내지 72 중 어느 하나에 있어서,  $R^2$ 는 메틸인, 집합체.

[0586] 구현예 77. 화학식 E의 구조를 갖는 집합체는 하기 화학식 E-2의 구조를 갖는 집합체이다:

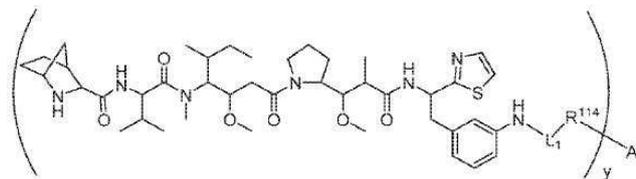
[0587] [화학식 E-2]



[0588] 상기 식에서,  $R^{114}$ , A, y 및  $L_1$ 은 상기 화학식 E의 집합체에 대해 정의된 바와 같다.

[0590] 구현예 78. 화학식 E의 구조를 갖는 집합체는 하기 화학식 E-3의 구조를 갖는 집합체이다:

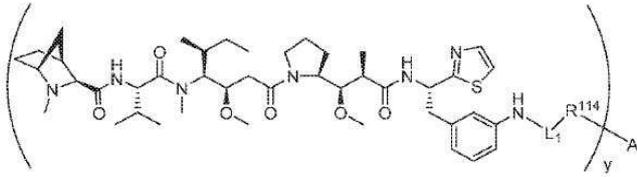
[0591] [화학식 E-3]



[0592] 상기 식에서,  $R^{114}$ , A, y 및  $L_1$ 은 상기 화학식 E의 집합체에 대해 정의된 바와 같다.

[0594] 구현예 79. 화학식 E 또는 화학식 E-1의 구조를 갖는 집합체는 하기 화학식 E-4의 구조를 갖는 집합체이다:

[0595] [화학식 E-4]

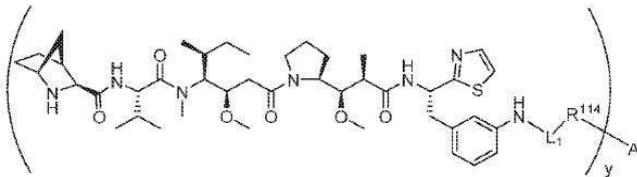


[0596]

[0597] 상기 식에서, R<sup>114</sup>, A, y 및 L<sub>1</sub>은 상기 화학식 E의 접합체에 대해 정의된 바와 같다.

[0598] 구현예 80. 화학식 E 또는 화학식 E-1의 구조를 갖는 접합체는 하기 화학식 E-5의 구조를 갖는 접합체이다:

[0599] [화학식 E-5]

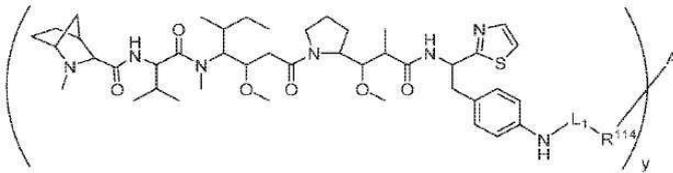


[0600]

[0601] 상기 식에서, R<sup>114</sup>, A, y 및 L<sub>1</sub>은 상기 화학식 E의 접합체에 대해 정의된 바와 같다.

[0602] 구현예 81. 화학식 F의 구조를 갖는 접합체는 하기 화학식 F-2의 구조를 갖는 접합체이다:

[0603] [화학식 F-2]

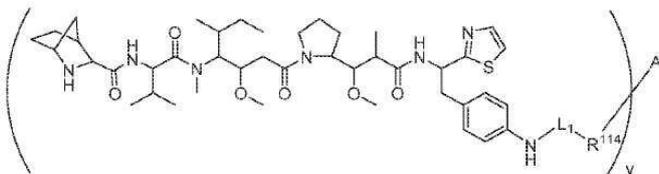


[0604]

[0605] 상기 식에서, R<sup>114</sup>, A, y 및 L<sub>1</sub>은 상기 화학식 F의 접합체에 대해 정의된 바와 같다.

[0606] 구현예 82. 화학식 F의 구조를 갖는 접합체는 하기 화학식 F-3의 구조를 갖는 접합체이다:

[0607] [화학식 F-3]

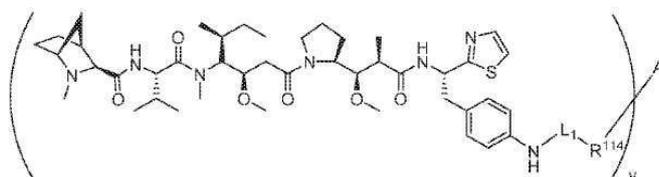


[0608]

[0609] 상기 식에서, R<sup>114</sup>, A, y 및 L<sub>1</sub>은 상기 화학식 F의 접합체에 대해 정의된 바와 같다.

[0610] 구현예 83. 화학식 F 또는 화학식 F-1의 구조를 갖는 접합체는 하기 화학식 F-4의 구조를 갖는 접합체이다:

[0611] [화학식 F-4]

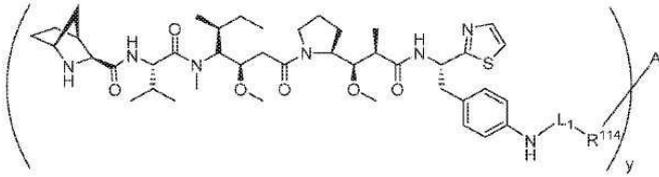


[0612]

[0613] 상기 식에서,  $R^{114}$ , A, y 및  $L_1$ 은 상기 화학식 F의 접합체에 대해 정의된 바와 같다.

[0614] 구현예 84. 화학식 F 또는 화학식 F-1의 구조를 갖는 접합체는 하기 화학식 F-5의 구조를 갖는 접합체이다:

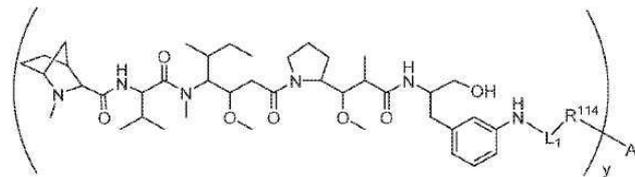
[0615] [화학식 F-5]



[0616] 상기 식에서,  $R^{114}$ , A, y 및  $L_1$ 은 상기 화학식 F의 접합체에 대해 정의된 바와 같다.

[0618] 구현예 85. 화학식 G의 구조를 갖는 접합체는 하기 화학식 G-2의 구조를 갖는 접합체이다:

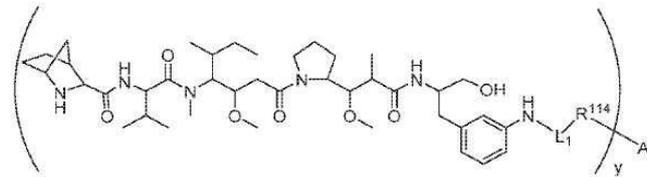
[0619] [화학식 G-2]



[0620] 상기 식에서,  $R^{114}$ , A, y 및  $L_1$ 은 상기 화학식 G의 접합체에 대해 정의된 바와 같다.

[0622] 구현예 86. 화학식 G의 구조를 갖는 접합체는 하기 화학식 G-3의 구조를 갖는 접합체이다:

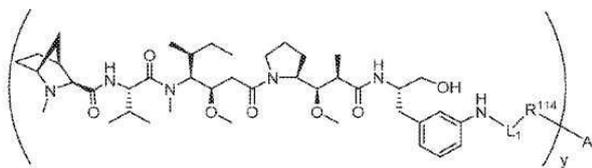
[0623] [화학식 G-3]



[0624] 상기 식에서,  $R^{114}$ , A, y 및  $L_1$ 은 상기 화학식 G의 접합체에 대해 정의된 바와 같다.

[0626] 구현예 87. 화학식 G 또는 화학식 G-1의 구조를 갖는 접합체는 하기 화학식 G-4의 구조를 갖는 접합체이다:

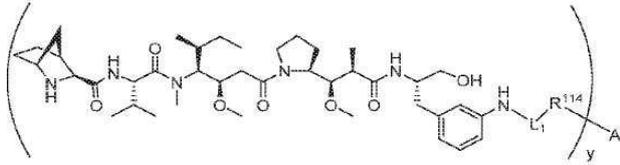
[0627] [화학식 G-4]



[0628] 상기 식에서,  $R^{114}$ , A, y 및  $L_1$ 은 상기 화학식 G의 접합체에 대해 정의된 바와 같다.

[0630] 구현예 88. 화학식 G 또는 화학식 G-1의 구조를 갖는 접합체는 하기 화학식 G-5의 구조를 갖는 접합체이다:

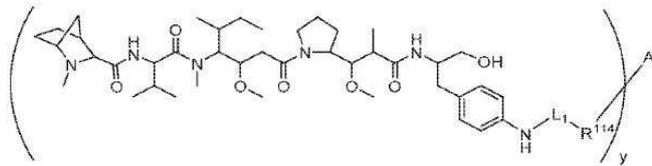
[0631] [화학식 G-5]



[0632] 상기 식에서, R<sup>114</sup>, A, y 및 L<sub>1</sub>은 상기 화학식 G의 집합체에 대해 정의된 바와 같다.

[0633] 구현예 89. 화학식 H의 구조를 갖는 집합체는 하기 화학식 H-2의 구조를 갖는 집합체이다:

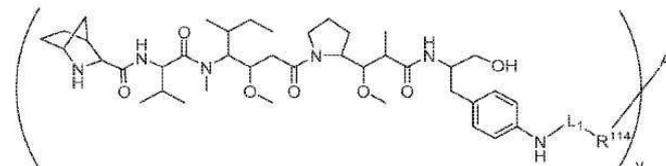
[0634] [화학식 H-2]



[0635] 상기 식에서, R<sup>114</sup>, A, y 및 L<sub>1</sub>은 상기 화학식 H의 집합체에 대해 정의된 바와 같다.

[0636] 구현예 90. 화학식 H의 구조를 갖는 집합체는 하기 화학식 H-3의 구조를 갖는 집합체이다:

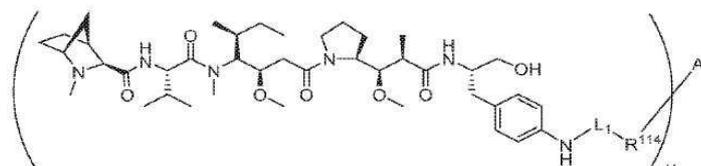
[0637] [화학식 H-3]



[0638] 상기 식에서, R<sup>114</sup>, A, y 및 L<sub>1</sub>은 상기 화학식 H의 집합체에 대해 정의된 바와 같다.

[0639] 구현예 91. 화학식 H 또는 화학식 H-1의 구조를 갖는 집합체는 하기 화학식 H-4의 구조를 갖는 집합체이다:

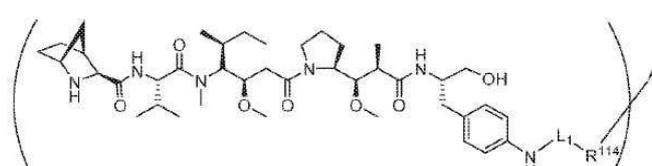
[0640] [화학식 H-4]



[0641] 상기 식에서, R<sup>114</sup>, A, y 및 L<sub>1</sub>은 상기 화학식 H의 집합체에 대해 정의된 바와 같다.

[0642] 구현예 92. 화학식 H 또는 화학식 H-1의 구조를 갖는 집합체는 하기 화학식 H-5의 구조를 갖는 집합체이다:

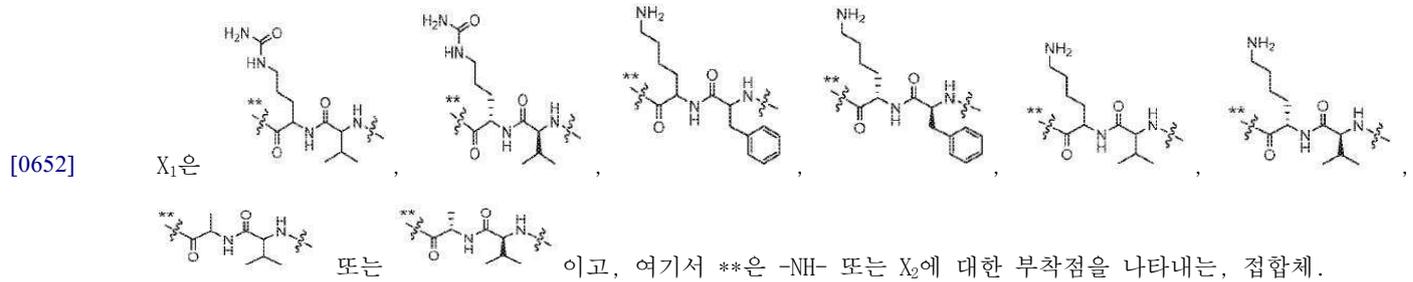
[0643] [화학식 H-5]



[0644] 상기 식에서, R<sup>114</sup>, A, y 및 L<sub>1</sub>은 상기 화학식 H의 집합체에 대해 정의된 바와 같다.

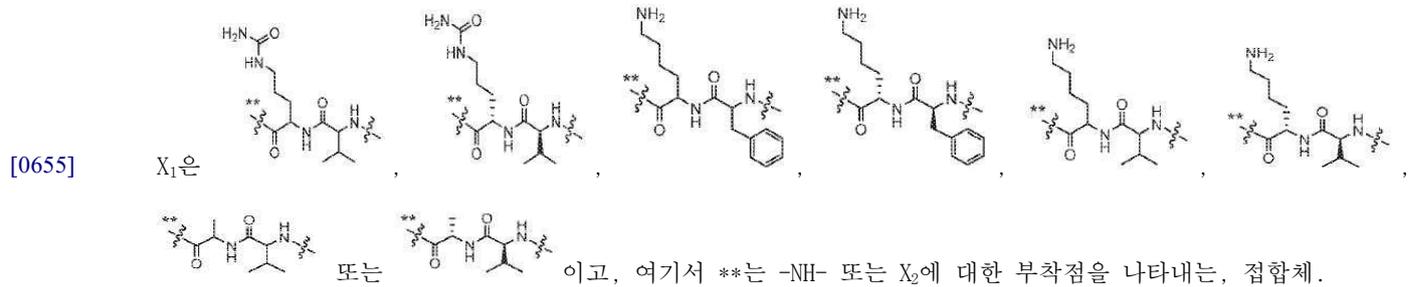
[0650] 구현예 93. 화학식 E, 화학식 F, 화학식 G, 화학식 H 또는 구현예 69 내지 92 중 어느 하나에 있어서,

[0651]  $L_1$ 은  $-X_1C(=O)((CH_2)_mO)_p(CH_2)_m-^{**}$  또는  $-X_1C(=O)(CH_2)_m-^{**}$ 이고, 여기서  $^{**}$ 은  $R^{114}$ 에 대한 부착점을 나타내고;



[0653] 구현예 94. 화학식 E, 화학식 F, 화학식 G, 화학식 H 또는 구현예 69 내지 92 중 어느 하나에 있어서,

[0654]  $L_1$ 은  $-X_1C(=O)((CH_2)_mO)_p(CH_2)_m-^{**}$ 이고, 여기서  $^{**}$ 은  $R^{114}$ 에 대한 부착점을 나타내고;



[0656] 구현예 95. 화학식 E, 화학식 F, 화학식 G, 화학식 H 또는 구현예 69 내지 94 중 어느 하나에 있어서, 각각의  $m$ 은 1, 2, 3, 4, 5 및 6으로부터 독립적으로 선택되는, 집합체.

[0657] 구현예 96. 화학식 E, 화학식 F, 화학식 G, 화학식 H 또는 구현예 69 내지 94 중 어느 하나에 있어서, 각각의  $m$ 은 1, 2, 3, 4 및 5로부터 독립적으로 선택되는, 집합체.

[0658] 구현예 97. 화학식 E, 화학식 F, 화학식 G, 화학식 H 또는 구현예 69 내지 94 중 어느 하나에 있어서, 각각의  $m$ 은 1, 2, 3 및 4로부터 독립적으로 선택되는, 집합체.

[0659] 구현예 98. 화학식 E, 화학식 F, 화학식 G, 화학식 H 또는 구현예 69 내지 94 중 어느 하나에 있어서, 각각의  $m$ 은 1, 2 및 3으로부터 독립적으로 선택되는, 집합체.

[0660] 구현예 99. 화학식 E, 화학식 F, 화학식 G, 화학식 H 또는 구현예 69 내지 94 중 어느 하나에 있어서, 각각의  $m$ 은 1 및 2로부터 독립적으로 선택되는, 집합체.

[0661] 구현예 100. 화학식 E, 화학식 F, 화학식 G, 화학식 H 또는 구현예 69 내지 99 중 어느 하나에 있어서, 각각의  $n$ 은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 및 12로부터 독립적으로 선택되는, 집합체.

[0662] 구현예 101. 화학식 E, 화학식 F, 화학식 G, 화학식 H 또는 구현예 69 내지 99 중 어느 하나에 있어서, 각각의  $n$ 은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 및 11로부터 독립적으로 선택되는, 집합체.

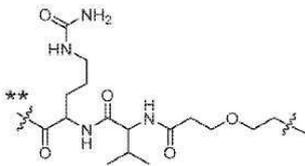
[0663] 구현예 102. 화학식 E, 화학식 F, 화학식 G, 화학식 H 또는 구현예 69 내지 99 중 어느 하나에 있어서, 각각의  $n$ 은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 및 10으로부터 독립적으로 선택되는, 집합체.

[0664] 구현예 103. 화학식 E, 화학식 F, 화학식 G, 화학식 H 또는 구현예 69 내지 99 중 어느 하나에 있어서, 각각의  $n$ 은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 및 9로부터 독립적으로 선택되는, 집합체.

[0665] 구현예 104. 화학식 E, 화학식 F, 화학식 G, 화학식 H 또는 구현예 69 내지 99 중 어느 하나에 있어서, 각각의  $n$ 은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 및 8로부터 독립적으로 선택되는, 집합체.

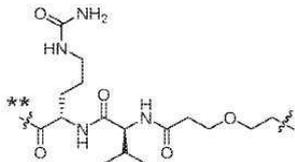
[0666] 구현예 105. 화학식 E, 화학식 F, 화학식 G, 화학식 H 또는 구현예 69 내지 99 중 어느 하나에 있어서, 각각의  $n$ 은 1, 2, 3, 4, 5, 6 및 7로부터 독립적으로 선택되는, 집합체.

- [0667] 구현예 106. 화학식 E, 화학식 F, 화학식 G, 화학식 H 또는 구현예 69 내지 99 중 어느 하나에 있어서, 각각의 n은 1, 2, 3, 4, 5 및 6으로부터 독립적으로 선택되는, 집합체.
- [0668] 구현예 107. 화학식 E, 화학식 F, 화학식 G, 화학식 H 또는 구현예 69 내지 99 중 어느 하나에 있어서, 각각의 n은 1, 2, 3, 4 및 5로부터 독립적으로 선택되는, 집합체.
- [0669] 구현예 108. 화학식 E, 화학식 F, 화학식 G, 화학식 H 또는 구현예 69 내지 99 중 어느 하나에 있어서, 각각의 n은 1, 2, 3 및 4로부터 독립적으로 선택되는, 집합체.
- [0670] 구현예 109. 화학식 E, 화학식 F, 화학식 G, 화학식 H 또는 구현예 69 내지 99 중 어느 하나에 있어서, 각각의 n은 1, 2 및 3으로부터 독립적으로 선택되는, 집합체. 상기 구현예 중 어느 하나에 있어서, 각각의 n은 1 및 2로부터 독립적으로 선택되는, 집합체.
- [0671] 구현예 110. 화학식 E, 화학식 F, 화학식 G, 화학식 H 또는 구현예 69 내지 109 중 어느 하나에 있어서, 각각의 y는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 및 12로부터 독립적으로 선택되는, 집합체.
- [0672] 구현예 111. 화학식 E, 화학식 F, 화학식 G, 화학식 H 또는 구현예 69 내지 109 중 어느 하나에 있어서, 각각의 y는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 및 11로부터 독립적으로 선택되는, 집합체.
- [0673] 구현예 112. 화학식 E, 화학식 F, 화학식 G, 화학식 H 또는 구현예 69 내지 109 중 어느 하나에 있어서, 각각의 y는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 및 10으로부터 독립적으로 선택되는, 집합체.
- [0674] 구현예 113. 화학식 E, 화학식 F, 화학식 G, 화학식 H 또는 구현예 69 내지 109 중 어느 하나에 있어서, 각각의 y는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 및 9로부터 독립적으로 선택되는, 집합체.
- [0675] 구현예 114. 화학식 E, 화학식 F, 화학식 G, 화학식 H 또는 구현예 69 내지 109 중 어느 하나에 있어서, 각각의 y는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 및 8로부터 독립적으로 선택되는, 집합체.
- [0676] 구현예 115. 화학식 E, 화학식 F, 화학식 G, 화학식 H 또는 구현예 69 내지 109 중 어느 하나에 있어서, 각각의 y는 1, 2, 3, 4, 5, 6 및 7로부터 독립적으로 선택되는, 집합체.
- [0677] 구현예 116. 화학식 E, 화학식 F, 화학식 G, 화학식 H 또는 구현예 69 내지 109 중 어느 하나에 있어서, 각각의 y는 1, 2, 3, 4, 5 및 6으로부터 독립적으로 선택되는, 집합체.
- [0678] 구현예 117. 화학식 E, 화학식 F, 화학식 G, 화학식 H 또는 구현예 69 내지 109 중 어느 하나에 있어서, 각각의 y는 1, 2, 3, 4 및 5로부터 독립적으로 선택되는, 집합체.
- [0679] 구현예 118. 화학식 E, 화학식 F, 화학식 G, 화학식 H 또는 구현예 69 내지 109 중 어느 하나에 있어서, 각각의 y는 1, 2, 3 및 4로부터 독립적으로 선택되는, 집합체.
- [0680] 구현예 119. 화학식 E, 화학식 F, 화학식 G, 화학식 H 또는 구현예 69 내지 109 중 어느 하나에 있어서, 각각의 y는 1, 2 및 3으로부터 독립적으로 선택되는, 집합체.
- [0681] 구현예 120. 화학식 E, 화학식 F, 화학식 G, 화학식 H 또는 구현예 69 내지 109 중 어느 하나에 있어서, 각각의 y는 1 및 2로부터 독립적으로 선택되는, 집합체.
- [0682] 구현예 121. 화학식 E, 화학식 F, 화학식 G, 화학식 H 또는 구현예 69 내지 120 중 어느 하나에 있어서,



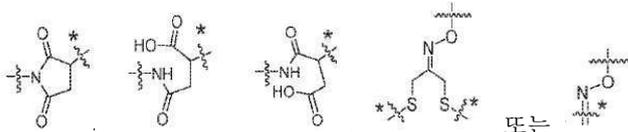
[0683] L<sub>1</sub>은 이고, 여기서 \*\*은 -NH- 또는 X<sub>2</sub>에 대한 부착점을 나타내는, 집합체

[0684] 구현예 121. 화학식 E, 화학식 F, 화학식 G, 화학식 H 또는 구현예 69 내지 120 중 어느 하나에 있어서,



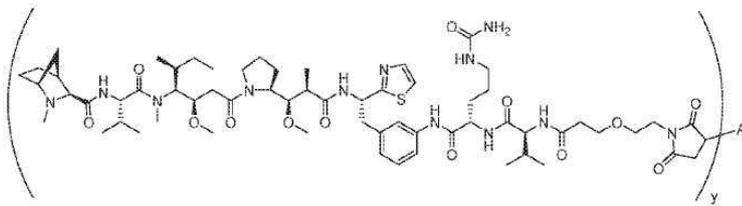
[0685] L<sub>1</sub>은 이고, 여기서 \*\*은 -NH- 또는 X<sub>2</sub>에 대한 부착점을 나타내는, 접합체

[0686] 구현예 122. 화학식 E, 화학식 F, 화학식 G, 화학식 H 또는 구현예 69 내지 121 중 어느 하나에 있어서,

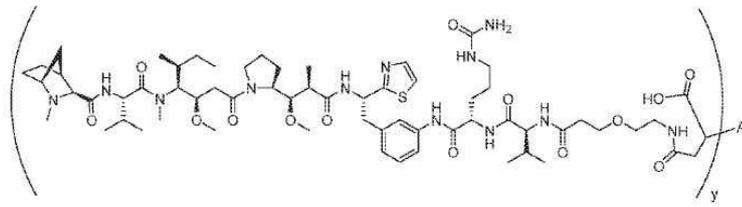


[0687] R<sup>114</sup>는 이고, 여기서 \*은 A에 대한 부착점을 나타내는, 접합체.

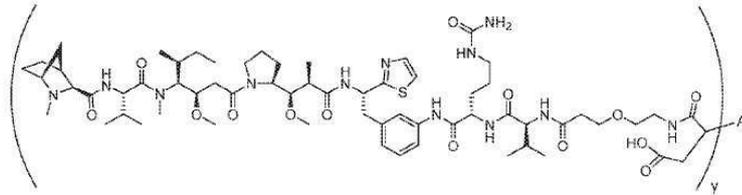
[0688] 구현예 123. 화학식 E, 화학식 E-1, 화학식 E-2 및 화학식 E-4의 접합체로서,



[0689] ,

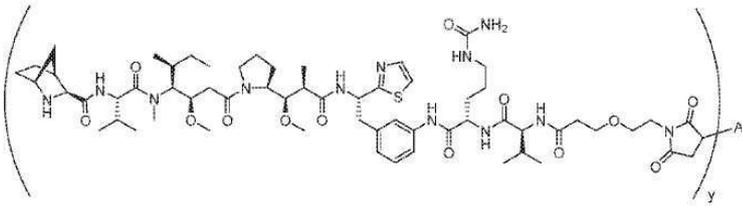


[0690] 및

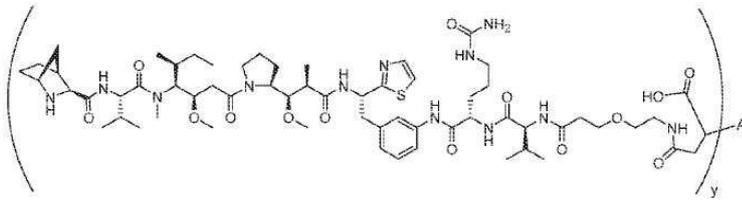


[0691] 로부터 선택되고, 여기서 y 및 A는 상기 화학식 E의 접합체에 대해 정의된 바와 같은, 접합체.

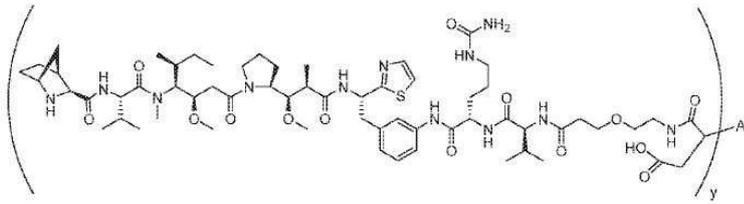
[0692] 구현예 124. 화학식 E, 화학식 E-1, 화학식 E-3 및 화학식 E-5의 접합체로서,



[0693] ,

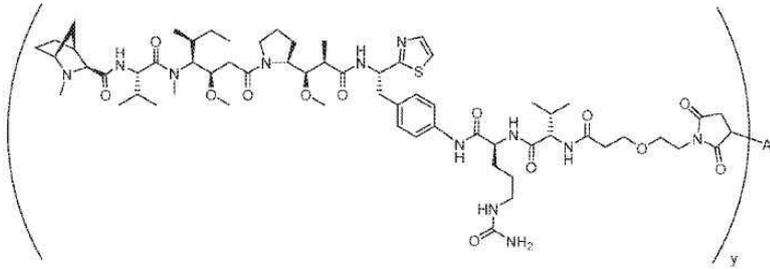


[0694] 및

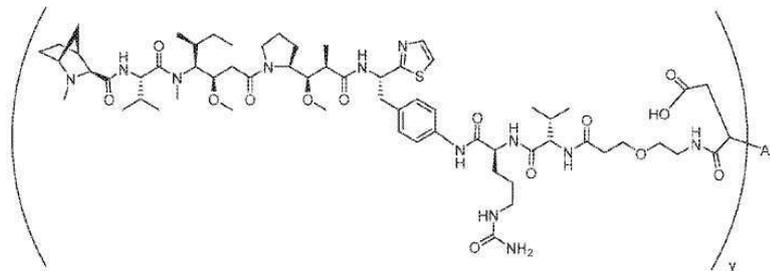


[0695] 화학식 E의 접합체에 대해 정의된 바와 같은, 접합체. 로부터 선택되고, 여기서 y 및 A는 상기 화

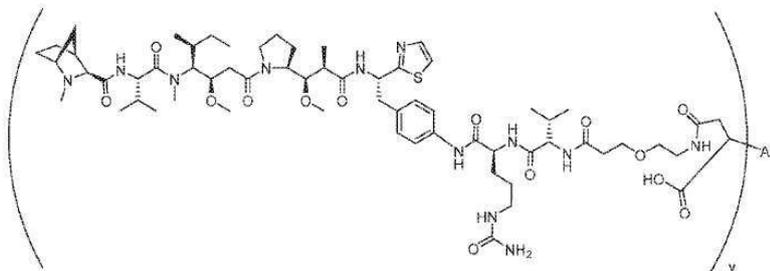
[0696] 구현예 125. 화학식 F, 화학식 F-1, 화학식 F-2 및 화학식 F-4의 접합체로서,



[0697] ,



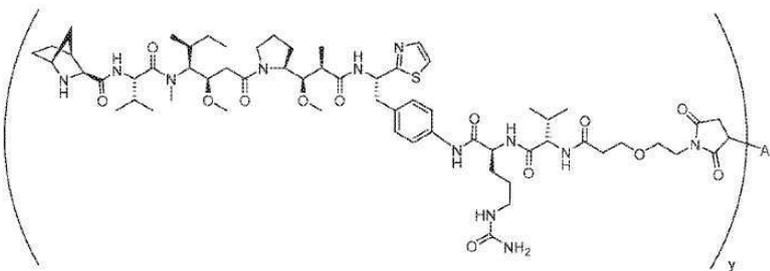
[0698] 및



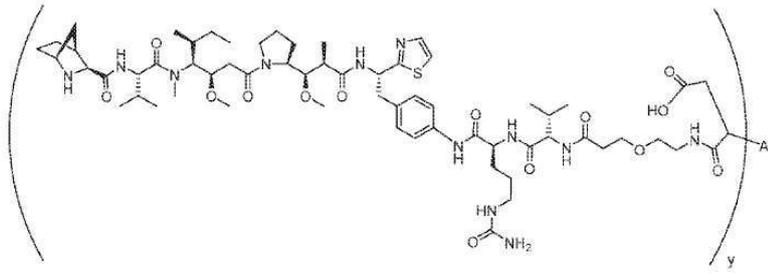
[0699] 로부터 선택되고,

[0700] 여기서 y 및 A는 상기 화학식 F의 접합체에 대해 정의된 바와 같은, 접합체.

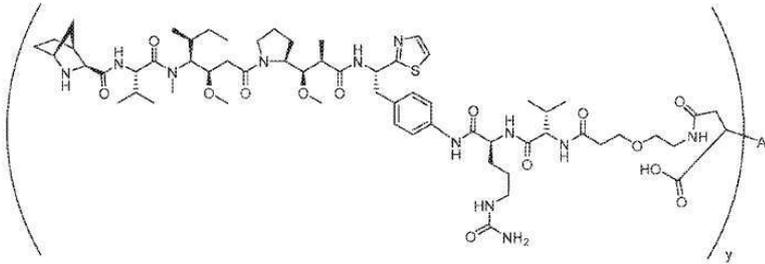
[0701] 구현예 126. 화학식 F, 화학식 F-1, 화학식 F-3 및 화학식 F-5의 접합체로서,



[0702] ,



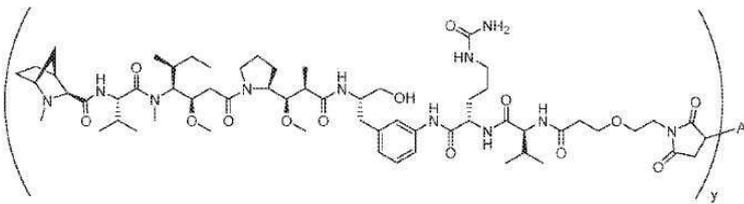
[0703] 및



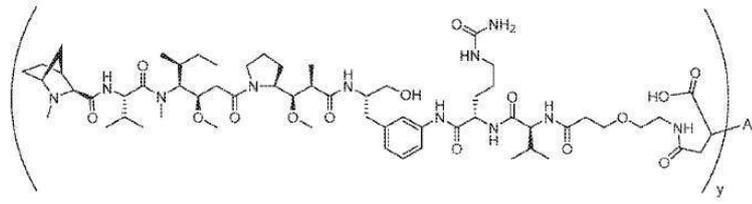
[0704]로부터 선택되고,

[0705] 여기서 y 및 A는 상기 화학식 F의 집합체에 대해 정의된 바와 같은, 집합체.

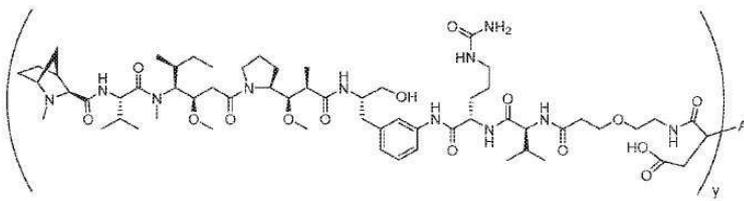
[0706] 구현예 127. 화학식 G, 화학식 G-1, 화학식 G-2 및 화학식 G-4의 집합체로서,



[0707] ,



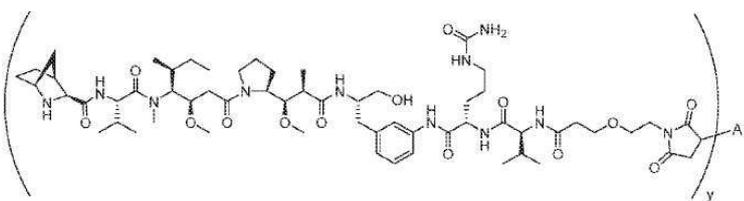
[0708] 및



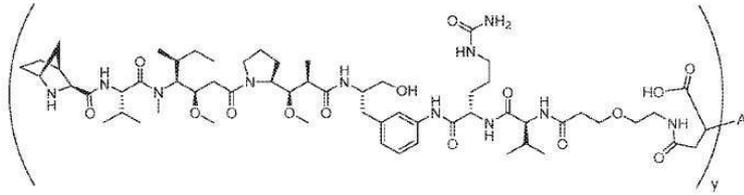
[0709]로부터 선택되고,

[0710] 여기서 y 및 A는 상기 화학식 G의 집합체에 대해 정의된 바와 같은, 집합체.

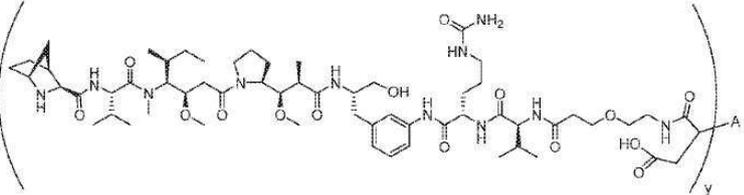
[0711] 구현예 128. 화학식 G, 화학식 G-1, 화학식 G-3 및 화학식 G-5의 집합체로서,



[0712] ,



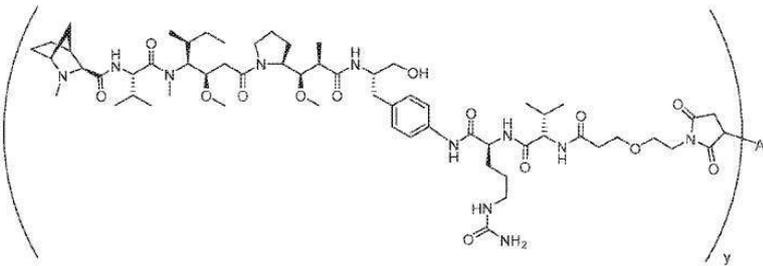
[0713] 및



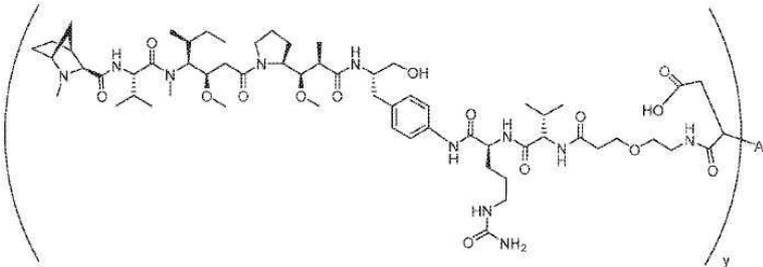
[0714]로부터 선택되고,

[0715] 여기서 y 및 A는 상기 화학식 G의 집합체에 대해 정의된 바와 같은, 집합체.

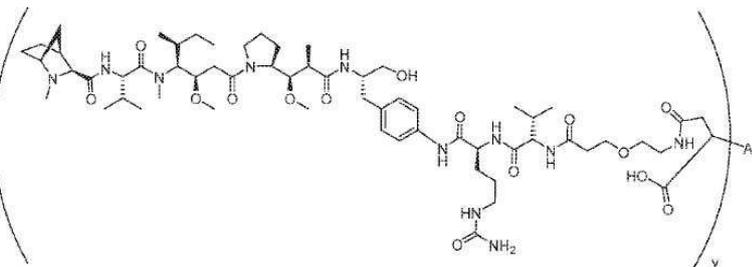
[0716] 구현예 129. 화학식 H, 화학식 H-1, 화학식 H-2 및 화학식 H-4의 집합체로서,



[0717] ,



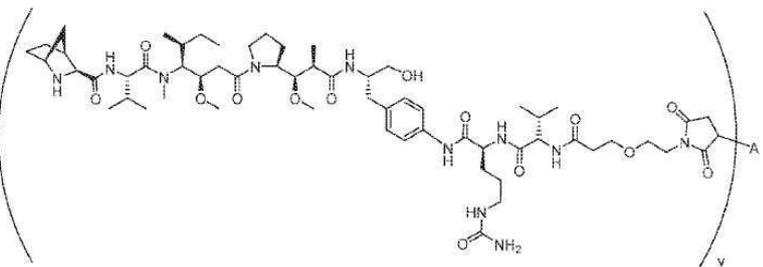
[0718] 및



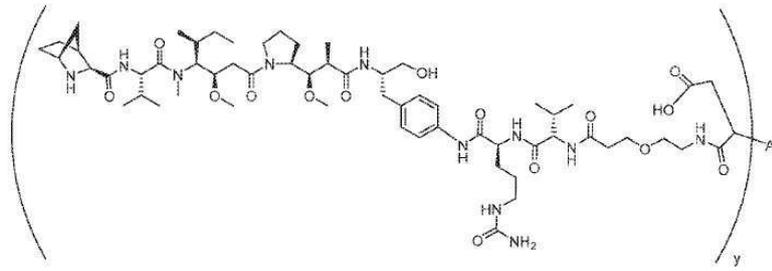
[0719]로부터 선택되고,

[0720] 여기서 y 및 A는 상기 화학식 H의 집합체에 대해 정의된 바와 같은, 집합체.

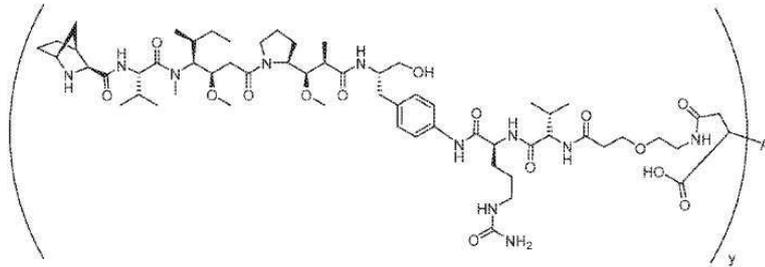
[0721] 구현예 130. 화학식 H, 화학식 H-1, 화학식 H-3 및 화학식 H-5의 집합체로서,



[0722] ,



[0723] 및



[0724] 로부터 선택되고,

[0725] 여기서 y 및 A는 상기 화학식 H의 집합체에 대해 정의된 바와 같은, 집합체.

[0726] 본원에 개시된 임의의 화학식의 화합물, 예를 들어 화학식 A, 화학식 B, 화학식 C, 화학식 D, 화학식 E, 화학식 F, 화학식 G 및 화학식 H는 하기 실시예에 기재된 방법을 이용하여 제조될 수 있다. 하기 실시예는 본 발명을 예시하고자 하는 것이며, 본 발명을 제한하는 것으로 해석되어서는 안 된다. 온도는 섭씨로 제공된다. 달리 언급되지 않는다면, 모든 증발은 감압, 전형적으로 약 15 mmHg 내지 100 mmHg (= 20 내지 133 mbar)에서 수행된다. 최종 생성물, 중간체 및 출발 물질의 구조는 표준 분석 방법, 예를 들어, 마이크로분석 및 분광적 특성, 예를 들어, MS, IR, NMR에 의해 확인된다. 사용되는 약어는 당해 분야에서 통상적인 것이다.

[0727] 약어:

aq. 수성	Boc <sub>2</sub> O 디-tert-부틸 디카보네이트
br: 넓음	Cbz: 카복실벤질
d 이중항; dd: 이중항의 이중항	DCM 디클로로메탄
m: 다중항	DEAD: 디에틸 아조디카복실레이트,
q: 사중항	DI EA: N,N-디이소프로필에틸아민
s: 단일항	DIP-클로라이드 <sup>TM</sup> : (+)-B-클로로디이소피노캄페닐보란
t: 삼중항	DIPEA: N,N-디이소프로필에틸아민
h, hr: 시간(들)	DMF: 디메틸 포름아미드
ESI-MS: 전기분무 이온화 질량 분광법	DMSO: 디메틸설폭사이드
HPLC: 고압 액체 크로마토그래피	DPPA: 디페닐 포스포릴 아지드
Isco, ISCO: Teledyne Isco에 의해 제공된 실리카 겔을 함유하는 플래시 크로마토그래피 카트리지	EtOAc: 에틸 아세테이트
LC 및 LCMS: 액체 크로마토그래피 및 액체 크로마토그래피-질량 분광법	EEDQ: 2-에톡시-1-에톡시카보닐-1,2-디하이드로퀴놀린
MS: 질량	HATU: 1-[비스(디메틸아미노)메틸렌]-1H-1,2,3-트리아졸로[4,5-f]피리디늄 3-옥시드 헥사플루오로포스페이트
min(s): 분(들)	MeCN: 아세토니트릴
m/z: 질량 대 전하 비	TFA: 트리플루오로아세트산
M 및 mM: 몰 및 밀리몰	HF: 테트라하이드로푸란
mg: 밀리그램	TMEDA: N,N,N',N'-테트라메틸에틸렌디아민
μL, mL 및 L: 마이크로리터, 밀리리터 및 리터	RT 및 rt: 실온
mmol 및 μmol: 밀리몰 및 마이크로몰	
NMR: 핵 자기 공명	
wt: 중량	

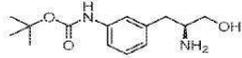
[0728]

[0729] 본 발명의 화합물을 합성하는 데 사용되는 모든 출발 물질, 빌딩 블록, 시약, 산, 염기, 탈수제, 용매 및 촉매는 상업적으로 입수 가능하거나 당업자에게 알려진 유기 합성 방법에 의해 제조될 수 있거나, 본원에 기재된 유기 합성 방법에 의해 제조될 수 있다.

[0730] **중간체의 합성**

[0731] (S)-t-부틸 (3-(2-아미노-3-하이드록시프로필)페닐)카바메이트(i-1)의 합성

[0732] **[화합물 i-1]**



[0733] **단계 1:** THF(1M, 10 ml) 중의 BH<sub>3</sub>을 0℃에서 교반하면서 THF(10 ml) 중의 (S)-2-((t-부톡시카보닐)아미노)-3-(3-니트로페닐)프로판산(562 mg, 1.81 mmol)에 첨가하였다. 이후, 반응물을 50℃에서 1h 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 0℃에서 냉각시키고, 물로 킨칭하고, EtOAc로 희석하고, 10% 수성 K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>으로 세척하고, MgSO<sub>4</sub> 위에서 건조시키고, 여과시키고 농축시켰다. 미정제물을 실리카 겔 칼럼(30% 내지 70% EtOAc-헥산)에 의해 정제하여 백색의 고체로서 (S)-t-부틸 (1-하이드록시-3-(3-니트로페닐)프로판-2-일)카바메이트를 얻었다. MS m/z 319.1 (M+Na). 머무름 시간 1.183분. <sup>1</sup>H NMR (600 MHz, 클로로포름-d) δ 8.13 - 8.04 (m, 2H), 7.57 (d, J = 7.7 Hz, 1H), 7.46 (dd, J = 8.9, 7.6 Hz, 1H), 4.76 (s, 1H), 3.87 (dq, J = 8.0, 4.6, 4.1 Hz, 1H), 3.69 (dd, J = 10.9, 3.9 Hz, 1H), 3.58 (dd, J = 10.8, 4.7 Hz, 1H), 2.97 (td, J = 13.1, 12.5, 7.3 Hz, 2H), 1.37 (s, 9H).

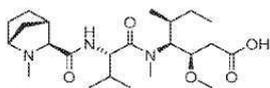
[0735] **단계 2:** 아세트니트릴(5 ml) 중의 (S)-t-부틸 (1-하이드록시-3-(3-니트로페닐)프로판-2-일)카바메이트(0.31 g, 1.0 mmol)에 10% 염산(5 ml)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 rt에서 48h 동안 교반하고, 이후 농축시켜 HCl 염으로서 (S)-2-아미노-3-(3-니트로페닐)프로판-1-올을 생성시켰다. MS m/z 197.2 (M+H). 머무름 시간 0.775분.

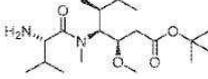
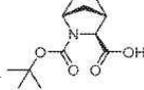
[0736] **단계 3:** (S)-2-아미노-3-(3-니트로페닐)프로판-1-올 HCl 염(0.243 g, 1.046 mmol)을 MeOH(10 ml)에 용해시키고, 탄소상 10% 팔라듐(50 mg, 0.047 mmol)을 첨가하였다. 2 l 수소 별론을 부착시켰다. 반응물을 H<sub>2</sub>로 3회 플러싱 처리하고, 이후 rt에서 1h 동안 교반하였다. LCMS는 반응이 완료되었음을 나타냈다. 반응물을 셀라이트 패드를 통해 여과시키고 농축시켜 HCl 염으로서 (S)-2-아미노-3-(3-아미노페닐)프로판-1-올을 생성시켰다. MS m/z 167.2 (M+H). 머무름 시간 0.373분.

[0737] **단계 4:** (S)-2-아미노-3-(3-아미노페닐)프로판-1-올 HCl 염(0.212 g, 1.046 mmol) 및 Boc<sub>2</sub>O(228 mg, 1.05 mmol) 및 디옥산-물-AcOH(10:9:1, 20 ml)을 합하고, rt에서 3일 동안 교반하였다. LCMS는 반응이 75% 완료되었음을 나타냈다. 추가의 Boc<sub>2</sub>O(150 mg)를 첨가하고, 반응물을 6h 동안 추가로 교반하였다. 이후, 반응 혼합물을 농축시키고 분취용 HPLC(물 중의 10%-40% 아세트니트릴과 0.05% TFA)로 정제하여 오일로서 (S)-t-부틸 (3-(2-아미노-3-하이드록시프로필)페닐)카바메이트(i-1)를 생성시켰다. MS m/z 267.2 (M+H). 머무름 시간 1.011분.

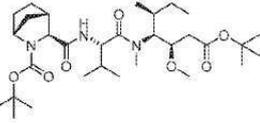
[0738] (3R,4S,5S)-4-((S)-N,3-디메틸-2-((1R,3S,4S)-2-메틸-2-아자바이사이클로[2.2.1]헵탄-3-카복사미도)부탄아미도)-3-메톡시-5-메틸헵탄산(i-2)의 합성

[0739] **[화합물 i-2]**



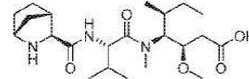
[0740] **단계 1:** Di l-OtBu HCl 염(  : 388 mg, 0.982 mmol), (1R,3S,4S)-2-t-부톡시카보닐)-2-아자바이사이클로[2.2.1]헵탄-3-카복실산(  , 287 mg, 1.19 mmol), HATU(411 mg, 1.08 mmol) 및 DIEA(0.42 ml, 2.38 mmol) 및 DMF(5 ml)를 합하고, rt에서 30분 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 물(10 ml)로 희석하고, RP-C18 ISCO에 의해 정제하여 tert-부틸 (1R,3S,4S)-3-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-(tert-부톡시)-3-메

톡시-5-메틸-1-옥소헵탄-4-일)(메틸)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)카바모일)-2-아자바이사이클로[2.2.1]헵탄



-2-카복실레이트를 생성시켰다. MS (m+1) = 582.5, HPLC 피크 RT = 1.542분

[0742] **단계 2:** 1.4-디옥산(10 ml) 중의 4M HCl 중의 단계 1에서 얻은 생성물(540 mg, 0.93 mmol)을 rt에서 밤새 교반하였다. 반응 혼합물을 농축시켜 (3R,4S,5S)-4-((S)-2-((1R,3S,4S)-2-아자바이사이클로[2.2.1]헵탄-3-카복사미

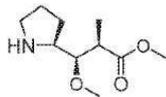


도)-N,3-디메틸부탄아미도)-3-메톡시-5-메틸헵탄산을 생성시켰다, MS (m+1) = 426.2, HPLC 피크 RT = 0.736분

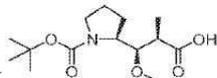
[0743] **단계 3:** 단계 2에서 얻은 생성물(430 mg, 0.93 mmol), 37% 포름알데하이드 용액(0.38 ml, 4.7 mmol), 아세트산(0.27 ml, 4.65 mmol), NaBH<sub>3</sub>CN(585 mg, 9.31 mmol) 및 MeOH(10 ml)를 합하고, rt에서 30분 동안 교반하고, 이후 농축시켰다. 잔류물을 RP-C18 ISCO에 의해 정제하여 TFA 염으로서 450 mg의 (3R,4S,5S)-4-((S)-N,3-디메틸-2-((1R,3S,4S)-2-메틸-2-아자바이사이클로[2.2.1]헵탄-3-카복사미도)부탄아미도)-3-메톡시-5-메틸헵탄산(i-2)을 생성시켰다. TFA 염을 10 ml의 12N HCl 용액으로 처리하고 2회 농축시켜 (3R,4S,5S)-4-((S)-N,3-디메틸-2-((1R,3S,4S)-2-메틸-2-아자바이사이클로[2.2.1]헵탄-3-카복사미도)부탄아미도)-3-메톡시-5-메틸헵탄산 HCl 염을 생성시켰다. MS (m+1) = 440.2, HPLC 피크 RT = 0.754분.

[0744] Dap-OMe: ((2R,3R)-메틸 3-메톡시-2-메틸-3-((S)-피롤리딘-2-일)프로파노에이트)(i-3)의 합성

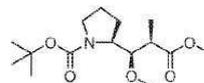
[0745] **[화합물 i-3]**



[0746]



[0747] **단계 1:** Boc-Dap-OH( , 3.11 g, 10.8 mmol), K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(2.99 g, 21.6 mmol), 요오도메탄(2.95 g) 및 아세톤(55 ml)을 합했다. 반응물을 20°C에서 2h 동안 교반하였다. 추가의 메틸요오다이드(2.28 g)를 반응물에 첨가하고, 반응물을 40°C에서 3h 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 농축시켰다. 잔류물을 200 ml의 EtOAc와 100 ml의 H<sub>2</sub>O 사이에 분배하였다. 유기 층을 분리하고, 50 ml의 포화 aq NaCl로 세척하고, MgSO<sub>4</sub> 위에서 건조시

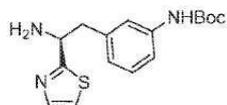


키고, 여과시키고 농축시켜 황색의 오일로서 Boc-Dap-OMe, 를 얻었다. MS (ESI+) m/z 계산치 324.2, 실측치 324.2 (M+23). 머무름 시간 1.245분.

[0748] **단계 2:** Boc-Dap-OMe(3.107 g, 10.3 mmol)를 디에틸 에테르 중의 HCl(2 M, 10 ml)과 합하고 농축시켰다. 이 조작을 반복하였다. 반응은 7회 처리 후 완료되었다. Dap-OMe(i-3)의 HCl 염을 농축시킨 후 백색의 염으로서 얻었다. MS (ESI+) m/z 계산치 202.1, 실측치 202.2 (M+1). 머무름 시간 0.486분. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 4.065-4.041 (m, 1H), 3.732 (br.s, 1H), 3.706 (s, 3H), 3.615 (s, 3H), 3.368 (br.s, 1H), 3.314 (br.s, 1H), 2.795 (q, 1H, J=6.8Hz), 2.085-1.900 (m, 4H), 1.287 (d, 3H, J=7.2Hz).

[0749] tert-부틸 (S)-(3-(2-아미노-2-(티아졸-2-일)에틸)페닐)카바메이트(i-4)의 합성

[0750] **[화합물 i-4]**



[0751]

[0752] **단계 1:** DMF(건조, 17 ml) 중의 2-(3-니트로페닐)아세트산(3 g, 16.56 mmol)의 용액에 RT에서 HATU(6.93 g, 18.22 mmol), N,O-디메틸하이드록실아민 하이드록로라이드(1.615 g, 16.56 mmol) 및 DIPEA(14.46 ml, 83

mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 RT에서 밤새 교반하였다. 반응 혼합물을 고진공 하에 농축시켜 대부분의 용매를 제거하였다. 이후, 잔류물을 DCM과 물 사이에 추출하였다. aq. 상을 DCM 2x에 의해 추출하였다. 합한 DCM 상을 진공 하에 농축시켰다. 잔류물을 실리카 겔 플래시 칼럼(EtOAc/헥산 0%-70%, 이어서 70%)에 의해 분리하여 백색의 고체로서 3.5 g의 N-메톡시-N-메틸-2-(3-니트로페닐)아세트아미드를 얻었다. MS m/z 225.1 (M+1). 머무름 시간 1.09분. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, 클로로포름-d) δ 8.28 - 8.09 (m, 2H), 7.67 (m, 1H), 7.63 - 7.46 (m, 1H), 3.90 (s, 2H), 3.74 (s, 3H), 3.24 (s, 3H).

[0753] **단계 2:** -78°C(아세톤-드라이아이스 욕)에서 N<sub>2</sub> 분위기 하에 THF(건조, 30 ml) 중의 TMEDA(2.63 ml, 17.39 mmol)의 용액에 n-부틸리튬(헥산 중 2.5 M)(1.028 g, 16.06 mmol)을 첨가하였다. 이후 -78°C에서 2-브로모티아졸(2.63 g, 16.06 mmol)을 또한 반응 혼합물에 첨가하였다. 반응 혼합물을 -78°C에서 1h 동안 교반시켰다. THF(30 ml) 중의 N-메톡시-N-메틸-2-(3-니트로페닐)아세트아미드(3 g, 13.38 mmol)의 혼합물을 -78°C에서 반응 혼합물에 첨가하였다. 반응 혼합물을 -78°C에서 1h 동안, 이후 -10°C(아세톤-드라이아이스 욕)에서 2h 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 포화 KHSO<sub>4</sub> aq. 용액을 첨가하여 퀘칭하고, 이후 EtOAc 3x로 추출하였다. 합한 EtOAc 상을 포화 NaCl, NaSO<sub>4</sub> 위에서 건조시키고 농축시켰다. 잔류물을 실리카 겔 플래시 칼럼(EtOAc/헥산 0%-30%, 이후 30%)에 의해 분리하여 밝은 황색의 오일로서 1.95g 2-(3-니트로페닐)-1-(티아졸-2-일)에탄-1-올을 얻었다. MS m/z 249.0 (M+1). 머무름 시간 1.34분. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, 클로로포름-d) δ 8.33 - 8.22 (m, 1H), 8.17 (ddd, J = 8.1, 2.3, 1.0 Hz, 1H), 8.10 (d, J = 3.0 Hz, 1H), 7.79 - 7.67 (m, 2H), 7.54 (t, J = 7.9 Hz, 1H), 4.62 (s, 2H).

[0754] **단계 3:** 0°C(얼음-물 욕)에서 N<sub>2</sub> 분위기 하에 디에틸 에테르(7 ml) 중의 (+)-DIP-클로라이드<sup>TM</sup>(9.22 g, 28.8 mmol)의 용액에 디에틸 에테르(37 ml) 중의 2-(3-니트로페닐)-1-(티아졸-2-일)에탄-1-올(2.38 g, 9.59 mmol)의 용액을 첨가하였다. 반응 혼합물을 0°C에서 24h 동안 교반하였다. 이후, 혼합물을 물-얼음 욕에서 10°C에서의 10% NaOH 및 30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>의 30 ml의 (1:1) 혼합물로 중화시켰다. 혼합물을 RT에서 1h 동안 교반하였다. 이후, 혼합물을 물로 희석하고, EtOAc 3x로 추출하였다. 합한 EtOAc 상을 포화 K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 포화 NaCl로 세척하고, NaSO<sub>4</sub> 위에서 건조시키고 농축시켰다. 잔류물을 실리카 겔 플래시 칼럼(EtOAc/헥산 0%-60%, 이후 60%)에 의해 분리하여 밝은 황색의 고체로서 1.639 g의 (R)-2-(3-니트로페닐)-1-(티아졸-2-일)에탄-1-올을 얻었다. MS m/z 251.1 (M+1). 머무름 시간 1.09분. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, 클로로포름-d) δ 8.33 - 8.07 (m, 2H), 8.07 - 7.80 (m, 1H), 7.74 - 7.55 (m, 1H), 7.55 - 7.36 (m, 2H), 5.55 (dd, J = 7.9, 4.1 Hz, 1H), 4.48 (s, 1H), 3.53 (dd, J = 13.9, 4.0 Hz, 1H), 3.32 (dd, J = 13.9, 8.1 Hz, 1H). 키랄 SFC에 의해 결정된 92% e.e..

[0755] **단계 4:** MeOH(20 ml) 중의 (R)-2-(3-니트로페닐)-1-(티아졸-2-일)에탄-1-올(1.636 g, 6.54 mmol)의 용액에 Pd/C(10%, 0.696 g, 0.654 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 3회 진공/H<sub>2</sub> 사이클 후 H<sub>2</sub>(1 atm)로 충전하고, RT에서 교반하였다. 밤새 교반한 후, 반응 혼합물을 Celite를 통해 여과시키고, MeOH로 세척하였다. 여과액을 진공 하에 농축시켜 고체로서 1.3 g의 (R)-2-(3-아미노페닐)-1-(티아졸-2-일)에탄-1-올을 얻고, 이것을 추가의 정제 없이 다음 단계에 바로 사용하였다. MS m/z 221.1 (M+1). 머무름 시간 0.50분. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 7.72 (d, J = 3.2 Hz, 1H), 7.59 (d, J = 3.2 Hz, 1H), 6.88 (t, J = 7.7 Hz, 1H), 6.46 (t, J = 1.9 Hz, 1H), 6.42 - 6.29 (m, 2H), 6.14 (d, J = 5.7 Hz, 1H), 5.03 - 4.78 (m, 3H), 3.03 (dd, J = 13.7, 4.0 Hz, 1H), 2.72 (dd, J = 13.7, 8.7 Hz, 1H).

[0756] **단계 5:** 디옥산/물(1/1, 16 ml/16 ml) 중의 (R)-2-(3-아미노페닐)-1-(티아졸-2-일)에탄-1-올(1.3 g, 5.92 mmol)의 혼합물에 Boc<sub>2</sub>O(1.512 ml, 6.51 mmol) 및 NaOH(0.284 g, 7.10 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 RT에서 밤새 교반하였다. 반응 혼합물을 10 ml의 물을 첨가하고, 이후 EtOAc(3\* 40 ml)로 추출하였다. 유기 상을 합하고, 무수 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 위에서 건조시키고, 이후 진공 하에 농축시켰다. 이후, 잔류물을 실리카 겔 플래시 칼럼(EtOAc/헥산 0 내지 80%, 이어서 80%)에 의해 분리하여 고체로서 1.24 g의 tert-부틸 (R)-(3-(2-하이드록시-2-(티아졸-2-일)에틸)페닐)카바메이트를 얻었다. MS m/z 321.3 (M+1). 머무름 시간 1.26분. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 9.24 (s, 1H), 7.73 (d, J = 3.2 Hz, 1H), 7.60 (d, J = 3.3 Hz, 1H), 7.39 (t, J = 1.8 Hz, 1H), 7.25 (ddd, J = 8.2, 2.3, 1.1 Hz, 1H), 7.11 (t, J = 7.8 Hz, 1H), 6.80 (dt, J = 7.7, 1.2 Hz, 1H), 6.20 (d, J = 5.7 Hz, 1H), 4.97 (ddd, J = 8.6, 5.7, 4.0 Hz, 1H), 3.13 (dd, J = 13.7, 4.0 Hz, 1H), 2.83

(dd,  $J = 13.7, 8.7$  Hz, 1H), 1.47 (s, 9H).

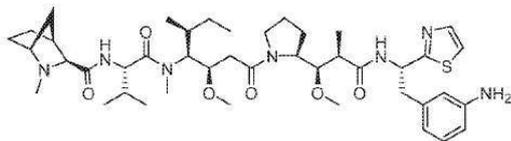
[0757] **단계 6:** N<sub>2</sub> 분위기 하에 THF(건조, 25 ml) 중의 tert-부틸 (R)-(3-(2-하이드록시-2-(티아졸-2-일)에틸)페닐)카바메이트(1.2 g, 3.75 mmol)의 얼음-물 욕 냉각된 용액에 PPh<sub>3</sub>(1.670 g, 6.37 mmol)을 첨가하였다. 이후, DEAD (톨루엔 중 40 중량%)(2.90 ml, 6.37 mmol), 이어서 DPPA(1.372 ml, 6.37 mmol)를 0°C에서 적가하였다. 이후, 차가운 욕을 제거하였다. 반응 혼합물을 RT에서 밤새 교반하였다. 반응 혼합물을 진공 하에 농축시키고, 이후 플래시 실리카 겔 칼럼 분리(EtOAc/헵탄 0% 내지 30%, 이어서 30%)로 처리하여 오일로서 1.03 g의 tert-부틸 (S)-(3-(2-아지도-2-(티아졸-2-일)에틸)페닐)카바메이트를 얻었다. MS  $m/z$  346.3 (M+1). 머무름 시간 1.55분. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  9.29 (s, 1H), 7.86 (d,  $J = 3.2$  Hz, 1H), 7.76 (d,  $J = 3.2$  Hz, 1H), 7.41 (t,  $J = 1.9$  Hz, 1H), 7.29 (ddd,  $J = 8.3, 2.2, 1.1$  Hz, 1H), 7.16 (t,  $J = 7.8$  Hz, 1H), 6.86 (dt,  $J = 7.9, 1.2$  Hz, 1H), 5.31 (dd,  $J = 8.7, 5.7$  Hz, 1H), 3.17 (d,  $J = 5.3$  Hz, 1H), 3.09 (dd,  $J = 13.9, 8.7$  Hz, 1H), 1.47 (s, 9H).

[0758] **단계 7:** MeOH(4 ml) 중의 tert-부틸 (S)-(3-(2-아지도-2-(티아졸-2-일)에틸)페닐)카바메이트(861 mg, 2.493 mmol)의 용액에 Pd/C(10% 습식, 265 mg, 0.249 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 3회 진공/H<sub>2</sub> 사이클 후 H<sub>2</sub>(1 atm)로 충전하고, RT에서 교반하였다. 밤새 교반한 후, 반응 혼합물을 농축시키고, 이후 Celite를 통해 여과시키고, MeOH로 세척하였다. 여과액을 진공 하에 농축시켜 점착성 오일로서 781 mg의 tert-부틸 (S)-(3-(2-아미노-2-(티아졸-2-일)에틸)페닐)카바메이트(**i-4**)를 얻었다. MS  $m/z$  320.2 (M+1). 머무름 시간 0.91분. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  9.26 (s, 1H), 7.71 (d,  $J = 3.3$  Hz, 1H), 7.55 (d,  $J = 3.3$  Hz, 1H), 7.36 (t,  $J = 1.9$  Hz, 1H), 7.26 (dt,  $J = 8.3, 1.5$  Hz, 1H), 7.13 (t,  $J = 7.8$  Hz, 1H), 6.78 (dt,  $J = 7.6, 1.3$  Hz, 1H), 4.31 (dd,  $J = 8.7, 4.7$  Hz, 1H), 3.14 (dd,  $J = 21.2, 5.0$  Hz, 1H), 2.73 (dd,  $J = 13.4, 8.7$  Hz, 1H), 2.11 (s, 2H), 1.47 (s, 9H).

[0759] **예시적인 약물 모이어티의 합성**

[0760] **실시예 A:** (1R,3S,4S)-N-((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((S)-2-(3-아미노페닐)-1-(티아졸-2-일)에틸)아미노)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필)피롤리딘-1-일)-3-메톡시-5-메틸-1-옥소헵탄-4-일)(메틸)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)-2-메틸-2-아자바이사이클로[2.2.1]헵탄-3-카복사미드(**C1**)의 합성

[0761] **[화합물 C1]**



[0762]

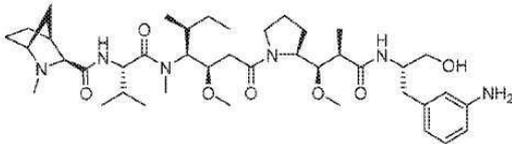
[0763] **단계 1:** DMF(4 ml) 중의 (2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-N,3-디메틸-2-((1R,3S,4S)-2-메틸-2-아자바이사이클로[2.2.1]헵탄-3-카복사미도)부탄아미도)-3-메톡시-5-메틸헵타노일)피롤리딘-2-일)-3-메톡시-2-메틸프로판산(250 mg, 0.346 mmol)의 용액에 tert-부틸 (S)-(3-(2-아미노-2-(티아졸-2-일)에틸)페닐)카바메이트(**i-4**)(110 mg, 0.346 mmol), HATU(158 mg, 0.415 mmol) 및 DIPEA(362  $\mu$ l, 2.075 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 RT에서 밤새 교반하였다. 반응 혼합물을 진공 하에 농축시켰다. 이후, 잔류물을 MeOH에 용해시키고, ISCO 골드 C-18 100 그램 역상 칼럼(MeCN/H<sub>2</sub>O 0%-100%)에 의해 분리하여 백색의 분말로서 173 mg의 tert-부틸 (3-((S)-2-((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-N,3-디메틸-2-((1R,3S,4S)-2-메틸-2-아자바이사이클로[2.2.1]헵탄-3-카복사미도)부탄아미도)-3-메톡시-5-메틸헵타노일)피롤리딘-2-일)-3-메톡시-2-메틸프로판아미도)-2-(티아졸-2-일)에틸)페닐)카바메이트를 얻었다. MS  $m/z$  911.0 (M+1). 머무름 시간 1.15분.

[0764] **단계 2:** tert-부틸 (3-((S)-2-((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-N,3-디메틸-2-((1R,3S,4S)-2-메틸-2-아자바이사이클로[2.2.1]헵탄-3-카복사미도)부탄아미도)-3-메톡시-5-메틸헵타노일)피롤리딘-2-일)-3-메톡시-2-메틸프로판아미도)-2-(티아졸-2-일)에틸)페닐)카바메이트 (173 mg, 0.190 mmol)를 1 ml의 디옥산에 용해시키고, 이후 디옥산 중의 10 ml의 4N HCl을 혼합물에 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 30분 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 고진공 하에 농축시키고, 이후 포화 NaHCO<sub>3</sub>과 DCM 사이에 분배하여 8로서 aq. 상 pH를 만들었다. 염기성 aq. 상을 DCM 3x로 추출하였다. 합한 DCM 상을 포화 NaCl 및 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 위에서 건조시키고, 이후 고진공 하에

농축시켜 고체로서 155 mg의 (1R,3S,4S)-N-((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((S)-2-(3-아미노페닐)-1-(티아졸-2-일)에틸)아미노)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필)피롤리딘-1-일)-3-메톡시-5-메틸-1-옥소헵탄-4-일)(메틸)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)-2-메틸-2-아자바이사이클로[2.2.1]헵탄-3-카복사미드를 얻었다. MS m/z 810.5 (M+1). 머무름 시간 0.90분.

[0765] 실시예 B: (1R,3S,4S)-N-((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((S)-1-(3-아미노페닐)-3-하이드록시프로판-2-일)아미노)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필)피롤리딘-1-일)-3-메톡시-5-메틸-1-옥소헵탄-4-일)(메틸)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)-2-메틸-2-아자바이사이클로[2.2.1]헵탄-3-카복사미드(C2)의 합성

[0766] [화합물 C2]



[0767]

[0768] 단계 1: DIEA(0.105 ml, 0.60 mmol) 및 HATU(45.5 mg, 0.12 mmol)를 DMF(2 ml) 중의 (3R,4S,5S)-4-((S)-N,3-디메틸-2-((1R,3S,4S)-2-메틸-2-아자바이사이클로[2.2.1]헵탄-3-카복사미도)부탄아미도)-3-메톡시-5-메틸헵탄산(i-2)(57 mg, 0.12 mmol)에 첨가하였다. 반응 혼합물을 rt에서 5분 동안 교반하고, 이후 DMF(1 ml) 중의 DapOMe(i-3)(28.5 mg, 0.12 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 rt에서 1h 동안 교반하고, 이후 분취용 HPLC(0.05% TFA를 함유하는 10%-50% 아세토니트릴-H<sub>2</sub>O)에 의해 정제하여 (2R,3R)-메틸 3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-N,3-디메틸-2-((1R,3S,4S)-2-메틸-2-아자바이사이클로[2.2.1]헵탄-3-카복사미도)부탄아미도)-3-메톡시-5-메틸헵타노일)피롤리딘-2-일)-3-메톡시-2-메틸프로파노에이트를 얻었다. MS m/z 623.5 (M+H). 머무름 시간 1.225분.

[0769] 단계 2: LiOH(30 mg, 1.25 mmol)를 MeOH-H<sub>2</sub>O(1:1, 4 ml) 중의 (2R,3R)-메틸 3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-N,3-디메틸-2-((1R,3S,4S)-2-메틸-2-아자바이사이클로[2.2.1]헵탄-3-카복사미도)부탄아미도)-3-메톡시-5-메틸헵타노일)피롤리딘-2-일)-3-메톡시-2-메틸프로파노에이트(43.2 mg, 0.059 mmol)에 첨가하였다. 반응 혼합물을 rt에서 18h 동안 교반하고, 농축시키고, HCl(1 N, 1 ml)로 산성화시켰다. 미정제물을 분취용 HPLC(0.05% TFA를 함유하는 10%-38% 아세토니트릴-H<sub>2</sub>O)에 의해 정제하여 TFA 염으로서 (2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-N,3-디메틸-2-((1R,3S,4S)-2-메틸-2-아자바이사이클로[2.2.1]헵탄-3-카복사미도)부탄아미도)-3-메톡시-5-메틸헵타노일)피롤리딘-2-일)-3-메톡시-2-메틸프로판산을 얻었다. MS m/z 609.5 (M+H). 머무름 시간 0.962분.

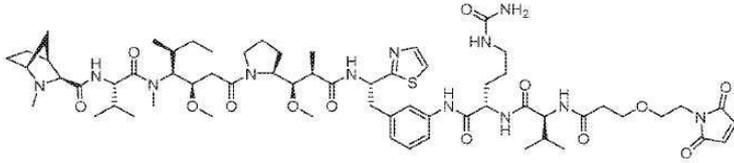
[0770] 단계 3: DMF(1 ml) 중의 (2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-N,3-디메틸-2-((1R,3S,4S)-2-메틸-2-아자바이사이클로[2.2.1]헵탄-3-카복사미도)부탄아미도)-3-메톡시-5-메틸헵타노일)피롤리딘-2-일)-3-메톡시-2-메틸프로판산(45.7 mg, 0.063 mmol)에 DIEA(0.055 ml, 0.32 mmol) 및 HATU(24.0 mg, 0.063 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 rt에서 10분 동안 교반하고, 이후 DMF(1 ml) 중의 (S)-t-부틸 (3-(2-아미노-3-하이드록시프로필)페닐)카바메이트 TFA 염(i-1)(24.1 mg, 0.063 mmol)에 첨가하였다. 반응 혼합물을 rt에서 1h 동안 교반하고, 이후 농축시켰다. 미정제물을 분취용 HPLC(0.05% TFA를 함유하는 20%-70% 아세토니트릴-H<sub>2</sub>O)에 의해 정제하여 TFA 염으로서 t-부틸 (3-((S)-2-((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-N,3-디메틸-2-((1R,3S,4S)-2-메틸-2-아자바이사이클로[2.2.1]헵탄-3-카복사미도)부탄아미도)-3-메톡시-5-메틸헵타노일)피롤리딘-2-일)-3-메톡시-2-메틸프로판아미도)-3-하이드록시프로필)페닐)카바메이트를 얻었다. MS m/z 857.5 (M+H). 머무름 시간 1.145분.

[0771] 단계 4: 아세토니트릴-물(1:1, 4 ml)과 5% HCl 중의 t-부틸 (3-((S)-2-((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-N,3-디메틸-2-((1R,3S,4S)-2-메틸-2-아자바이사이클로[2.2.1]헵탄-3-카복사미도)부탄아미도)-3-메톡시-5-메틸헵타노일)피롤리딘-2-일)-3-메톡시-2-메틸프로판아미도)-3-하이드록시프로필)페닐)카바메이트(61.4 mg, 0.063 mmol)의 용액을 rt에서 24h 동안 교반하였다. 이후, 반응 혼합물을 농축시키고, 분취용 HPLC(0.05% TFA를 함유하는 10%-30% 아세토니트릴-H<sub>2</sub>O)에 의해 정제하여 TFA 염으로서 (1R,3S,4S)-N-((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((S)-1-(3-아미노페닐)-3-하이드록시프로판-2-일)아미노)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필)피롤리딘-1-일)-3-메톡시-5-메틸-1-옥소헵탄-4-일)(메틸)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)-2-메틸-2-아자바이사이클로[2.2.1]헵탄-3-카복사미드(C2)를 생성시켰다. MS m/z 757.5 (M+H). 머무름 시간 0.744분.

[0772] 예시적인 링커-약물 화합물의 합성

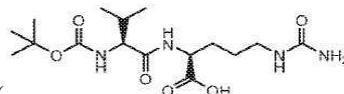
[0773] 실시예 C: (1R,3S,4S)-N-((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((S)-2-(3-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로판아미도)-3-메틸부탄아미노)-5-우레이도펜탄아미도)페닐)-1-(티아졸-2-일)에틸)아미노)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필)피롤리딘-1-일)-3-메톡시-5-메틸-1-옥소헥탄-4-일)(메틸)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)-2-메틸-2-아자바이사이클로[2.2.1]헵탄-3-카복사미드(LP1)의 합성

[0774] [화합물 LP1]



[0775]

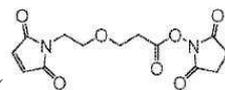
[0776] 단계 1: DCM(5 ml)/MeOH(0.1 ml) 중의 (1R,3S,4S)-N-((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((S)-2-(3-아미노페닐)-1-(티아졸-2-일)에틸)아미노)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필)피롤리딘-1-일)-3-메톡시-5-메틸-1-옥소헥탄-4-일)(메틸)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)-2-메틸-2-아자바이사이클로[2.2.1]헵탄-3-카복사미드(C1)



(154 mg, 0.190 mmol)와 Boc-Val-Cit-OH(92 mg, 0.247 mmol)의 혼합물을 EEDQ(94 mg, 0.380 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 RT에서 밤새 교반하였다. 반응 혼합물을 진공 하에 농축시켰다. 이후, 잔류물을 MeOH에 용해시키고, ISCO 골드 C-18 50 그램 역상 칼럼(0.05% TFA를 함유하는 MeCN/H<sub>2</sub>O, 0%-100%)에 의해 분리하여 TFA 염으로서 232 mg의 tert-부틸 ((S)-1-(((S)-1-((3-((S)-2-((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-N,3-디메틸-2-((1R,3S,4S)-2-메틸-2-아자바이사이클로[2.2.1]헵탄-3-카복사미도)부탄아미도)-3-메톡시-5-메틸헥타노일)피롤리딘-2-일)-3-메톡시-2-메틸프로판아미도)-2-(티아졸-2-일)에틸)페닐)아미노)-1-옥소-5-우레이도펜탄-2-일)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)카바메이트를 얻었다. MS m/z 1167.3 (M+1). 머무름 시간 1.10분.

[0777] 단계 2: tert-부틸 ((S)-1-(((S)-1-((3-((S)-2-((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-N,3-디메틸-2-((1R,3S,4S)-2-메틸-2-아자바이사이클로[2.2.1]헵탄-3-카복사미도)부탄아미도)-3-메톡시-5-메틸헥타노일)피롤리딘-2-일)-3-메톡시-2-메틸프로판아미도)-2-(티아졸-2-일)에틸)페닐)아미노)-1-옥소-5-우레이도펜탄-2-일)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)카바메이트(232 mg, 0.181 mmol)에 얼음-물 욕에 의해 0°C에서의 TFA/DCM(25%, 6 ml)의 차가운 용액에 첨가하고, 이후 혼합물을 0°C에서 15분 동안 교반하고, 이후 RT까지 가온되게 하였다. 혼합물을 RT에서 30분 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 진공 하에 농축시켰다. 이후, 잔류물을 DMSO에 용해시키고, ISCO 골드 C-18 50 그램 역상 칼럼(0.05% TFA를 함유하는 MeCN/H<sub>2</sub>O, 0%-100%)에 의해 분리하여 TFA 염으로서 219 mg의 ((1R,2R)-3-(((S)-2-(3-((S)-2-((S)-2-아미노-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)페닐)-1-(티아졸-2-일)에틸)아미노)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필)피롤리딘-1-일)-3-메톡시-5-메틸-1-옥소헥탄-4-일)(메틸)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)-2-메틸-2-아자바이사이클로[2.2.1]헵탄-3-카복사미드를 얻었다. MS m/z 1067.2 (M+1). 머무름 시간 0.88분.

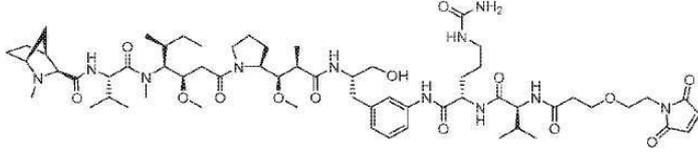
[0778] 단계 3: ((1R,2R)-3-(((S)-2-(3-((S)-2-((S)-2-아미노-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)페닐)-1-(티아졸-2-일)에틸)아미노)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필)피롤리딘-1-일)-3-메톡시-5-메틸-1-옥소헥탄-4-일)(메틸)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)-2-메틸-2-아자바이사이클로[2.2.1]헵탄-3-카복사미드(219 mg 0.18 mmol)를

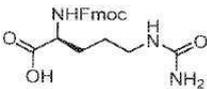


DMF(2 ml)에 용해시키고, 이후 MAL-PEG1-NHS 에스테르(73.1 mg, 0.236 mmol) 및 DIPEA(190 μl, 1.087 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 RT에서 1h 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 진공 하에 농축시켰다. 이후, 잔류물을 DMSO에 용해시키고, ISCO 골드 C-18 50 그램 역상 칼럼(0.05% TFA를 함유하는 MeCN/H<sub>2</sub>O, 0%-100%)에 의해 분리하여 TFA 염으로서 174 mg의 (1R,3S,4S)-N-((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((S)-2-(3-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)페닐)-1-(티아졸-2-일)에틸)아미노)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필)피롤리딘-1-일)-3-메톡시-5-메틸-1-옥소헥탄-4-일)(메틸)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)-2-메틸-2-아자바이사이클로[2.2.1]헵탄-3-카복사미드(LP1)를 얻었다. MS m/z 1262.4 (M+1). 머무름 시간 1.02분.

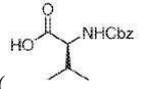
[0779] 실시예 D: (1R,3S,4S)-N-((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((S)-1-(3-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로판아미도)-3-메틸부탄아미노)-5-우레이도펜탄아미도)페닐)-3-하이드록시프로판-2-일)아미노)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필)피롤리딘-1-일)-3-메톡시-5-메틸-1-옥소헥탄-4-일)(메틸)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)-2-메틸-2-아자비사이클로[2.2.1]헵탄-3-카복사미드(LP2)의 합성

[0780] [화합물 LP2]

[0781] 

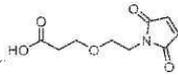
[0782] 단계 1: DMF(1 ml) 중의 Fmoc-Cit-OH(, 10.0 mg, 0.025 mmol)의 용액에 DIEA(13.0 mg, 0.10 mmol) 및 이어서 HATU(9.6 mg, 0.025 mmol)를 첨가하고, 반응 혼합물을 rt에서 5분 동안 교반하고, 이후 용액을 (1R,3S,4S)-N-((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((S)-1-(3-아미노페닐)-3-하이드록시프로판-2-일)아미노)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필)피롤리딘-1-일)-3-메톡시-5-메틸-1-옥소헥탄-4-일)(메틸)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)-2-메틸-2-아자바이사이클로[2.2.1]헵탄-3-카복사미드(C2)(20 mg, 0.025 mmol)에 첨가하였다. 이 반응 혼합물을 rt에서 1시간 동안 교반하고, 이후 0.05% TFA를 함유하는 10%-45% 아세토니트릴-H<sub>2</sub>O로 용리되는 C18 칼럼을 사용하여 역상 HPLC에 의해 정제하였다. 원하는 생성물을 함유하는 분획을 농축시켜 TFA 염으로서 (9H-플루오렌-9-일)메틸 ((S)-1-((3-((S)-2-((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-N,3-디메틸-2-((1R,3S,4S)-2-메틸-2-아자바이사이클로[2.2.1]헵탄-3-카복사미도)부탄아미도)-3-메톡시-5-메틸헥타노일)피롤리딘-2-일)-3-메톡시-2-메틸프로판아미도)-3-하이드록시프로필)페닐)아미노)-1-옥소-5-우레이도펜탄-2-일)카바메이트를 얻었다. LCMS MS m/z 1136.6 (M+1), 머무름 시간 1.042분.

[0783] 단계 2: (9H-플루오렌-9-일)메틸 ((S)-1-((3-((S)-2-((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-N,3-디메틸-2-((1R,3S,4S)-2-메틸-2-아자바이사이클로[2.2.1]헵탄-3-카복사미도)부탄아미도)-3-메톡시-5-메틸헥타노일)피롤리딘-2-일)-3-메톡시-2-메틸프로판아미도)-3-하이드록시프로필)페닐)아미노)-1-옥소-5-우레이도펜탄-2-일)카바메이트(31.5 mg, 0.025 mmol) TFA 염을 MeOH(1 ml)에 용해시켰다. 이후, Pd/C(10 mg, 9.40 μmol)를 첨가하였다. 2 l 수소 별론을 부착시키고, 반응 혼합물을 H<sub>2</sub>로 3회 진공 플라싱하고, 이후 H<sub>2</sub> 하에 rt에서 30분 동안 교반하였다. 이후, 촉매를 셀라이트를 통한 여과에 의해 제거하고, 혼합물을 농축시키고, 1N NaOH로 처리하였다. 미정제 혼합물을 0.05% TFA를 함유하는 5%-37% 아세토니트릴-H<sub>2</sub>O로 용리되는 C18 컬럼을 사용하여 역상 HPLC에 의해 정제하였다. 원하는 생성물을 함유하는 분획을 동결건조시켜 TFA 염으로서 (1R,3S,4S)-N-((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((S)-1-(3-((S)-2-아미노-5-우레이도펜탄아미도)페닐)-3-하이드록시프로판-2-일)아미노)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필)피롤리딘-1-일)-3-메톡시-5-메틸-1-옥소헥탄-4-일)(메틸)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)-2-메틸-2-아자바이사이클로[2.2.1]헵탄-3-카복사미드를 얻었다. LCMS m/z 914.6 (M+1), 머무름 시간 0.773분.

[0784] 단계 3: DMF(1 ml) 중의 Cbz-Val-OH(, 2.6 mg, 0.011 mmol)의 용액에 DIEA(0.011 ml, 0.061 mmol) 및 이어서 HATU(3.86 mg, 0.011 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 rt에서 5분 동안 교반하고, 이후 DMF(1 ml) 중의 (1R,3S,4S)-N-((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((S)-1-(3-((S)-2-아미노-5-우레이도펜탄아미도)페닐)-3-하이드록시프로판-2-일)아미노)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필)피롤리딘-1-일)-3-메톡시-5-메틸-1-옥소헥탄-4-일)(메틸)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)-2-메틸-2-아자바이사이클로[2.2.1]헵탄-3-카복사미드(11.6 mg, 0.011 mmol) TFA 염의 용액에 첨가하였다. 반응 혼합물을 rt에서 1시간 동안 교반하고, 이후 0.05% TFA를 함유하는 10%-50% 아세토니트릴-H<sub>2</sub>O로 용리되는 C18 칼럼을 사용하여 역상 HPLC에 의해 미정제물을 정제하였다. 원하는 생성물을 함유하는 분획을 동결건조시켜 TFA 염으로서 벤질 ((S)-1-(((S)-1-((3-((S)-2-((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-N,3-디메틸-2-((1R,3S,4S)-2-메틸-2-아자바이사이클로[2.2.1]헵탄-3-카복사미도)부탄아미도)-3-메톡시-5-메틸헥타노일)피롤리딘-2-일)-3-메톡시-2-메틸프로판아미도)-3-하이드록시프로필)페닐)아미노)-1-옥소-5-우레이도펜탄-2-일)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)카바메이트를 얻었다. LCMS

m/z 1147.6 (M+1), 머무름 시간 0.986분.

[0785] **단계 4:** 벤질 ((S)-1-(((S)-1-((3-((S)-2-((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-N,3-디메틸-2-((1R,3S,4S)-2-메틸-2-아자바이사이클로[2.2.1]헵탄-3-카복사미드)부탄아미도)-3-메톡시-5-메틸헵타노일)피롤리딘-2-일)-3-메톡시-2-메틸프로판아미도)-3-하이드록시프로필)페닐)아미노)-1-옥소-5-우레이도펜탄-2-일)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)카바메이트(7.7 mg, 0.006 mmol) TFA 염을 MeOH(2 ml)에 용해시키고, 이후 Pd/C(5 mg, 4.70 μmol)를 첨가하였다. 2 ℓ 수소 벌룬을 부착시키고, 반응 혼합물을 H<sub>2</sub>로 3회 진공 플러싱하고, 이후 H<sub>2</sub> 하에 30 분 동안 교반하였다. LCMS는 반응이 완료되었음을 나타냈다. 이후, 촉매를 셀라이트를 통해 여과에 의해 제거하고, 혼합물을 이후 농축시켜 TFA 염으로서 (1R,3S,4S)-N-((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-((S)-1-((3-((S)-2-((S)-2-아미노-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)페닐)-3-하이드록시프로판-2-일)아미노)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필)피롤리딘-1-일)-3-메톡시-5-메틸-1-옥소헵탄-4-일)(메틸)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)-2-메틸-2-아자바이사이클로[2.2.1]헵탄-3-카복사미드를 생성시켰다. LCMS m/z 1013.6 (M+1) 머무름 시간 0.774분.



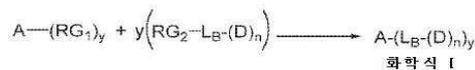
[0786] **단계 5:** DMF(0.5 ml) 중의 Mal-PEG1-산( , 1.0 mg, 0.005 mmol)의 용액에 DIEA(2.8 mg, 0.022 mmol) 및 이어서 HATU(1.8 mg, 0.005 mmol)를 첨가하였다. 반응물을 rt에서 5분 동안 교반하고, 이후 DMF(1 ml) 중의 (1R,3S,4S)-N-((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-((S)-1-((3-((S)-2-((S)-2-아미노-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)페닐)-3-하이드록시프로판-2-일)아미노)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필)피롤리딘-1-일)-3-메톡시-5-메틸-1-옥소헵탄-4-일)(메틸)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)-2-메틸-2-아자바이사이클로[2.2.1]헵탄-3-카복사미드(4.8 mg, 0.005 mmol) TFA 염의 용액에 첨가하였다. 반응물을 rt에서 1시간 동안 교반하고, 이후 0.05% TFA를 함유하는 10%-38% 아세토니트릴-H<sub>2</sub>O로 용리되는 C18 칼럼을 사용하여 역상 HPLC에 의해 미정제물을 정제하였다. 원하는 생성물을 함유하는 분획을 동결건조시켜 TFA 염(LP-2)으로서 (1R,3S,4S)-N-((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-((S)-1-((3-((S)-2-((S)-2-아미노-3-메틸부탄아미도)-5-우레이도펜탄아미도)페닐)-3-하이드록시프로판-2-일)아미노)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필)피롤리딘-1-일)-3-메톡시-5-메틸-1-옥소헵탄-4-일)(메틸)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)-2-메틸-2-아자바이사이클로[2.2.1]헵탄-3-카복사미드를 얻었다. LCMS m/z 1208.5 (M+1) 머무름 시간 0.882분.

[0787] 3. 접합 및 ADC의 제조

[0788] 화학식 I의 항체 접합체의 제조 방법

[0789] 화학식 I의 접합체 형성을 위한 일반적인 반응식은 하기 반응식 1에 도시되어 있다:

[0790] [반응식 1]

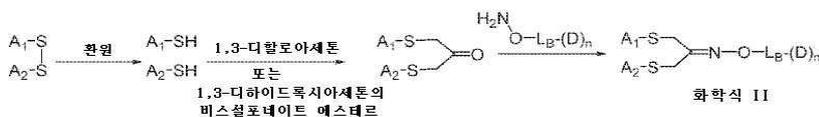


[0791]

[0792] 여기서, RG<sub>1</sub>은 링커-약물 모이어티에 부착된 적합한 반응성 기 RG<sub>2</sub>와 반응하여, 항체 단편 A를 하나 이상의 링커-약물 모이어티에 공유 연결하는 반응성 기이며, 오로지 예로서, 티올 또는 아민 또는 케톤이다. RG<sub>1</sub> 및 RG<sub>2</sub> 기의 이러한 반응의 비제한적인 예는 티올(RG<sub>1</sub>)과 반응하여 석신이미드 고리를 제공하는 말레이미드(RG<sub>2</sub>) 또는 케톤(RG<sub>1</sub>)과 반응하여 옥심을 제공하는 하이드록실아민(RG<sub>2</sub>)이다.

[0793] 화학식 II의 접합체 형성을 위한 일반적인 반응식은 하기 반응식 2에 도시되어 있다:

[0794] [반응식 2]



[0795]

[0796] 여기서, A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>, L<sub>B</sub>, D 및 n은 본원에 정의된 바와 같고, 1,3-디할로아세톤은 1,3-디클로로아세톤, 1,3-디브로모

아세톤 및 1,3-디요도도아세톤으로부터 선택되고, 환원 단계는 디티오프레이톨(DTT) 및 트리스(2-카복시에틸)포스핀 하이드로클로라이드(TCEP-HCl)로부터 선택된 환원제를 이용하여 달성된다.

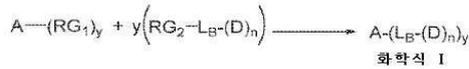
[0797] 접합 및 ADC의 제조

[0798] 화학식 I의 항체 접합체의 제조 방법

[0799] 화학식 I의 접합체 형성을 위한 일반적인 반응식은 하기 반응식 1에 도시되어 있다:

[0800] [반응식 1]

[0801]



[0802]

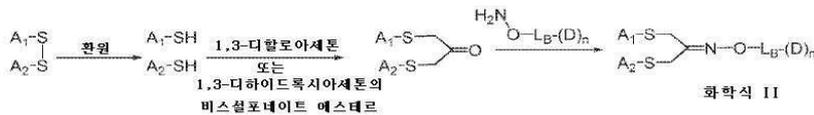
여기서, RG<sub>1</sub>은 링커-약물 모이어티에 부착된 적합한 반응성 기 RG<sub>2</sub>와 반응하여, 항체 단편 A를 하나 이상의 링커-약물 모이어티에 공유 연결하는 반응성 기이며, 오로지 예로서, 티올 또는 아민 또는 케톤이다. RG<sub>1</sub> 및 RG<sub>2</sub> 기의 이러한 반응의 비제한적인 예는 티올(RG<sub>1</sub>)과 반응하여 석신이미드 고리를 제공하는 말레이미드(RG<sub>2</sub>) 또는 케톤(RG<sub>1</sub>)과 반응하여 옥심을 제공하는 하이드록실아민(RG<sub>2</sub>)이다.

[0803]

화학식 II의 접합체 형성을 위한 일반적인 반응식은 하기 반응식 2에 도시되어 있다:

[0804] [반응식 2]

[0805]



[0806]

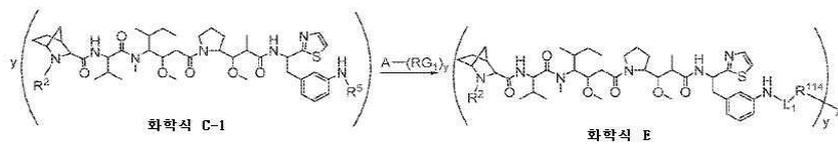
여기서, A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>, L<sub>B</sub>, D 및 n은 본원에 정의된 바와 같고, 1,3-디할로아세톤은 1,3-디클로로아세톤, 1,3-디브로모아세톤 및 1,3-디요도도아세톤으로부터 선택되고, 환원 단계는 디티오프레이톨(DTT) 및 트리스(2-카복시에틸)포스핀 하이드로클로라이드(TCEP-HCl)로부터 선택된 환원제를 이용하여 달성된다.

[0807]

화학식 E의 접합체 형성을 위한 일반적인 반응식은 하기 반응식 3에 도시되어 있다:

[0808] [반응식 3]

[0809]



[0810]

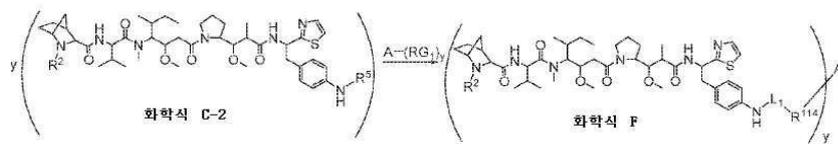
여기서, R<sup>5</sup>는 -L<sub>1</sub>R<sup>14</sup>, -L<sub>1</sub>R<sup>24</sup>, -L<sub>1</sub>R<sup>34</sup> 또는 -L<sub>1</sub>R<sup>44</sup> 이고, RG<sub>1</sub>은 화학식 C-1의 화합물의 적합한 R<sup>14</sup>, R<sup>24</sup>, R<sup>34</sup> 또는 R<sup>44</sup> 기와 반응하여 상응하는 R<sup>114</sup> 기를 형성하는 반응성 기이며, 오로지 예로서, 티올 또는 아민 또는 케톤이다. 예로서, 티올과 반응하여 석신이미드 고리를 제공하는 말레이미드, 또는 케톤과 반응하여 옥심을 제공하는 하이드록실아민. A, y, L<sub>1</sub>, R<sup>2</sup>, R<sup>5</sup> 및 R<sup>114</sup>는 본원에 정의된 바와 같다.

[0811]

화학식 F의 접합체 형성을 위한 일반적인 반응식은 하기 반응식 4에 도시되어 있다:

[0812] [반응식 4]

[0813]



[0814]

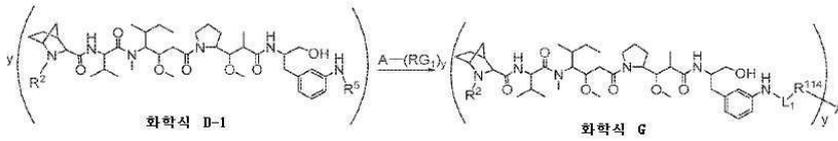
여기서, R<sup>5</sup>는 -L<sub>1</sub>R<sup>14</sup>, -L<sub>1</sub>R<sup>24</sup>, -L<sub>1</sub>R<sup>34</sup> 또는 -L<sub>1</sub>R<sup>44</sup> 이고, RG<sub>1</sub>은 화학식 C-2의 화합물의 적합한 R<sup>14</sup>, R<sup>24</sup>, R<sup>34</sup> 또는 R<sup>44</sup>

기와 반응하여 상응하는 R<sup>114</sup> 기를 형성하는 반응성 기이며, 오로지 예로서, 티올 또는 아민 또는 케톤이다. 예로서, 티올과 반응하여 석신이미드 고리를 제공하는 말레이미드, 또는 케톤과 반응하여 옥심을 제공하는 하이드록실아민. A, y, L<sub>1</sub>, R<sup>2</sup>, R<sup>5</sup> 및 R<sup>114</sup>는 본원에 정의된 바와 같다.

[0815] 화학식 G의 접합체 형성을 위한 일반적인 반응식은 하기 반응식 5에 도시되어 있다:

[0816] [반응식 5]

[0817]

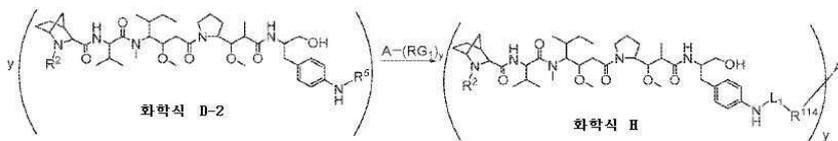


[0818] 여기서, R<sup>5</sup>는 -L<sub>1</sub>R<sup>14</sup>, -L<sub>1</sub>R<sup>24</sup>, -L<sub>1</sub>R<sup>34</sup> 또는 -L<sub>1</sub>R<sup>44</sup>이고, RG<sub>1</sub>은 화학식 D-1의 화합물의 적합한 R<sup>14</sup>, R<sup>24</sup>, R<sup>34</sup> 또는 R<sup>44</sup> 기와 반응하여 상응하는 R<sup>114</sup> 기를 형성하는 반응성 기이며, 오로지 예로서, 티올 또는 아민 또는 케톤이다. 예로서, 티올과 반응하여 석신이미드 고리를 제공하는 말레이미드, 또는 케톤과 반응하여 옥심을 제공하는 하이드록실아민. A, y, L<sub>1</sub>, R<sup>2</sup>, R<sup>5</sup> 및 R<sup>114</sup>는 본원에 정의된 바와 같다.

[0819] 화학식 H의 접합체 형성을 위한 일반적인 반응식은 하기 반응식 6에 도시되어 있다:

[0820] [반응식 6]

[0821]



[0822] 여기서, R<sup>5</sup>는 -L<sub>1</sub>R<sup>14</sup>, -L<sub>1</sub>R<sup>24</sup>, -L<sub>1</sub>R<sup>34</sup> 또는 -L<sub>1</sub>R<sup>44</sup>이고, RG<sub>1</sub>은 화학식 D-2의 화합물의 적합한 R<sup>14</sup>, R<sup>24</sup>, R<sup>34</sup> 또는 R<sup>44</sup> 기와 반응하여 상응하는 R<sup>114</sup> 기를 형성하는 반응성 기이며, 오로지 예로서, 티올 또는 아민 또는 케톤이다. 예로서, 티올과 반응하여 석신이미드 고리를 제공하는 말레이미드, 또는 케톤과 반응하여 옥심을 제공하는 하이드록실아민. A, y, L<sub>1</sub>, R<sup>2</sup>, R<sup>5</sup> 및 R<sup>114</sup>는 본원에 정의된 바와 같다.

[0823] 4. 원하는 항-cKIT ADC의 규명 및 선택

[0824] **DAR의 결정 및 ADC의 응집**

[0825] cKIT ADC의 DAR 값은 액체 크로마토그래피-질량 분광분석법(LC-MS)로 평가되었다. 환원된 샘플 및 (적절한 경우, 즉 Fc가 포함될 때) 탈글리코실화된 샘플에 대해 LC-MS 데이터로부터 화합물 대 항체 비율을 외삽하였다. LC-MS는 접합체 샘플 내의 항체에 부착된 링커-페이로드(화합물)의 평균 분자 수의 정량화를 가능하게 한다.

[0826] 본 발명의 항체 약물 접합체는 분석 방법을 이용하여 평가되었다. 이러한 분석 방법론 및 결과는 접합체가 유리한 특성, 예를 들어 더 제조하기 쉽도록, 환자에 더 투여하기 쉽도록, 더 효과적이도록, 그리고/또는 잠재적으로 환자에 더 안전하도록 하는 특성을 갖는다는 점을 증명할 수 있다. 하나의 예는 크기 배제 크로마토그래피(SEC)에 의한 분자 크기의 측정이고, 여기서 샘플에 존재하는 고분자량의 오염물(예를 들어, 이합체, 다합체 또는 응집된 항체) 또는 저분자량의 오염물(예를 들어, 항체 단편, 분해 산물 또는 개별 항체 사슬)의 양과 비교하여 샘플 내의 원하는 항체 종의 양이 측정된다. 일반적으로, 항체 샘플의 다른 특성, 예컨대 비제한적인 예로서 제거율, 면역원성 및 독성에 대한 예를 들어 응집체의 영향으로 인해 더 많은 양의 단량체, 및 더 적은 양의 예를 들어 응집된 항체를 갖는 것이 바람직하다. 추가의 예는 소수성 상호 작용 크로마토그래피(HIC)에 의한 소수성의 결정이며, 여기서 샘플의 소수성은 알려진 특성의 표준 항체 세트와 비교하여 평가된다. 일반적으로, 항체 샘플의 다른 특성, 예컨대 비제한적인 예로서 응집, 시간 경과에 따른 응집, 표면에 대한 부착, 간독성, 제거율 및 약동학적 노출에 대한 소수성의 영향으로 인해 더 낮은 소수성을 갖는 것이 바람직하다. 문헌[Damle, N.K., Nat Biotechnol. 2008; 26(8):884-885; Singh, S.K., Pharm Res. 2015; 32(11):3541-71]을 참조한다.

[0827] 항-cKIT ADC의 선택

[0828] 본원에 기재된 방법에 사용하기에 적합한 항-cKIT ADC를 선택하기 위하여, 시험관내 인간 조혈 줄기 세포 사멸 검정은 항-cKIT ADC의 유효성 및 효능을 스크리닝하기 위해 사용될 수 있다. 예를 들어, 실시예 5에 기재된 방법은 항-cKIT ADC를 스크리닝하기 위해 사용될 수 있다. 적합한 항-cKIT ADC는 EC50을 기준으로 하여 선택될 수 있고, 예를 들어 항-cKIT ADC는 500 µg/ml 미만, 예를 들어 100 µg/ml 미만, 50 µg/ml 미만, 10 µg/ml 미만, 또는 5 µg/ml 미만의 EC50을 갖는다.

[0829] 게다가, cKIT는 비만 세포 상에서 발현되고, cKIT의 리간드인 줄기 세포 인자(SCF)는 시험관내 및 생체내 래트 복막 비만 세포의 직접적인 탈과립을 유도한다고 보고된 바 있다(Taylor et al., Immunology. 1995 Nov;86(3):427-33). SCF는 또한 생체내 인간 비만 세포 탈과립을 유도한다(Costa et al., J Exp Med. 1996; 183(6): 2681-6). 이식 수혜자에서 비만 세포 탈과립으로 인해 초래된 잠재적인 해로운 효과를 막기 위하여, 시험관내 비만 세포 탈과립을 유도하는 능력에 대해 선택된 cKIT ADC가 시험될 수 있다. 예를 들어, 실시예 6에 기재된 실험이 cKIT ADC를 스크리닝하는 데 사용될 수 있고, 적합한 항-cKIT ADC는 최소의 비만 세포 탈과립, 예를 들어 베타-헥소스아미니다아제 방출 검정에서 0.25 미만, 예를 들어 0.2 미만, 0.15 미만, 또는 0.1 미만의 기준선 보정된 O.D. 판독치를 기준으로 선택될 수 있다.

[0830] cKIT 항체 및 항체 단편

[0831] 본 발명은 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예를 들어, 항원 결합 단편)을 제공한다. 본 발명의 항체 또는 항체 단편(예를 들어, 항원 결합 단편)은 하기 기재된 인간 단일클론 항체 또는 이의 단편을 포함하지만, 이들로 제한되지는 않는다.

[0832] 일부 구현예에서, 현재 개시된 항-cKIT 항체 또는 항체 단편(예를 들어, 항원 결합 단편)은 전장 항-cKIT 항체와 비교하여, 심지어 가교결합되고/되거나 더 큰 복합체로 다합체화될 때에도, 감소된 비만 세포 탈과립 유도 능력을 갖는다. 일부 구현예에서, 본원에 개시된 항-cKIT 항체 또는 항체 단편(예를 들어, 항원 결합 단편)은 심지어 가교결합되고/되거나 더 큰 복합체로 다합체화될 때에도, 감소된 비만 세포 탈과립 유도 능력을 갖도록 변형된다. 예를 들어, 본원에 개시된 항-cKIT 항체 또는 항체 단편(예를 들어, 항원 결합 단편)은, 심지어 가교결합되고/되거나 더 큰 복합체로 다합체화될 때에도, 전장 항-cKIT 항체, 또는 이의 F(ab')<sub>2</sub> 또는 F(ab)<sub>2</sub> 단편과 비교하여 약 또는 적어도 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% 감소한, 감소된 비만 세포 탈과립 유도 능력을 갖도록 변형된다. 일부 구현예에서, 본원에 개시된 항-cKIT 항체 또는 항체 단편(예를 들어, 항원 결합 단편)은 항-cKIT Fab 또는 Fab' 단편을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 본원에 개시된 항-cKIT 항체 또는 항체 단편(예를 들어, 항원 결합 단편)은, 심지어 가교결합되고/되거나 더 큰 복합체로 다합체화될 때에도, 비만 세포 탈과립을 유도하는 최소의 능력, 예를 들어 베타-헥소스아미니다아제 방출 검정에서, 0.25 미만, 예를 들어 0.2 미만, 0.15 미만, 또는 0.1 미만의 기준선 보정된 O.D. 판독치를 나타낼 수 있다.

[0833] 본원에 제공된 항체 약물 접합체는 인간 cKIT에 결합하는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')을 포함한다. 일부 구현예에서, 본원에 제공된 항체 약물 접합체는 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 인간 또는 인간화 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')을 포함한다. 일부 구현예에서, 본원에 제공된 항체 약물 접합체는 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 인간 또는 인간화 Fab'를 포함한다. 일부 구현예에서, 본원에 제공된 항체 약물 접합체는 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 인간 또는 인간화된 Fab를 포함한다.

[0834] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')은 표 1에 기재된 임의의 VH 도메인의 아미노산 서열(예를 들어, 서열 번호 10, 36, 54, 69, 95)을 갖는 VH 도메인을 포함한다. 다른 적합한 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')은 표 1에 기재된 VH 도메인 중 임의의 VH 도메인에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 VH 도메인을 포함할 수 있다.

[0835] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')은 표 1에 기재된 VH CDR(또는 HCDR) 중 임의의 하나의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR(또는 HCDR)을 포함한다. 특정 양태에서, 본 발명은 표 1에 기재된 VH CDR(또는 HCDR) 중 임의의 것의 아미노산 서열을 갖는 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 이상의 VH CDR(또는 HCDR)을 포함하는(또는 대안적으로는 이들로 구성된) 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')을 제공한다.

[0836] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')은 표 1에 기재된 임의의 VL 도메인의 아미노산 서열(예를 들어, 서열 번호 23, 47, 82, 108)을 갖는 VL 도메인을 포함한다.

다. 다른 적합한 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')은 표 1에 기재된 VL 도메인 중 임의의 VL 도메인에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 VL 도메인을 포함할 수 있다.

- [0837] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')은 표 1에 기재된 VL CDR(또는 LCDR) 중 임의의 하나의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR(또는 LCDR)을 포함한다. 특정 양태에서, 본 발명은 표 1에 기재된 VL CDR(또는 LCDR) 중 임의의 것의 아미노산 서열을 갖는 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 이상의 VL CDR(또는 LCDR)을 포함하는(또는 대안적으로는 이들로 구성된) 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')을 제공한다.
- [0838] 본원에 개시된 다른 항-cKIT 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')은 돌연변이되지만, 표 1에 기재된 서열에 도시된 CDR 영역과 CDR 영역에서 적어도 60%, 70%, 80%, 90% 또는 95%의 서열 동일성을 갖는 아미노산을 포함한다. 일부 양태에서, 이는 표 1에 기재된 서열에 도시된 CDR 영역과 비교할 때, CDR 영역에서 1개, 2개, 3개, 4개 또는 5개 이하의 아미노산이 돌연변이된 돌연변이체 아미노산 서열을 포함한다.
- [0839] 본 발명은 또한 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')의 VH, VL, 중쇄 및 경쇄를 암호화하는 핵산 서열을 제공한다. 이러한 핵산 서열은 포유동물 세포에서의 발현을 위해 최적화될 수 있다.

표 1

예시적인 항-cKIT 항체 및 항체 단편의 서열

항-cKIT Ab1/Fab1/Fab'1		
서열 번호 1	HCDR1 (카밧)	SYAIS
서열 번호 2	HCDR2 (카밧)	VIFPAEGAPGYAQKFQG
서열 번호 3	HCDR3 (카밧)	GGYISDFDV
서열 번호 4	HCDR1 (훤티아)	GGTFSSY
서열 번호 5	HCDR2 (훤티아)	FPAEGA
서열 번호 3	HCDR3 (훤티아)	GGYISDFDV
서열 번호 6	HCDR1 (조합된)	GGTFSSY AIS
서열 번호 2	HCDR2 (조합된)	VIFPAEGAPGYAQKFQG
서열 번호 3	HCDR3 (조합된)	GGYISDFDV
서열 번호 7	HCDR1 (IMGT)	GGTFSSYA
서열 번호 8	HCDR2 (IMGT)	IFPAEGAP
서열 번호 9	HCDR3 (IMGT)	ARGGYISDFDV
서열 번호 10	VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSSYAI SWVRQAPGQGLEWMGVIFPAEGAPGYAQKFQG RVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGG YISDFDVWGQGLVTVSS
서열 번호 11	VH DNA	CAGGTGCAATTGGTGCAGAGCGGTGCCGAAGT GAAAAAACCGGGCAGCAGCGTGAAGTTAGCT GCAAAGCATCCGGAGGGACGTTTAGCAGCTAT GCGATTAGCTGGGTGCGCCAGGCCCGGGCC AGGGCCTCGAGTGGATGGGCGTTATCTTCCCG GCTGAAGGCGCTCCGGTTACGCCAGAAATT TCAGGGCCGGGTGACCATTACGCCGATGAAA GCACCAGCACCGCCTATATGGAAGTGAAGCAGC CTGCGCAGCGAAGATACGGCCGTGATTATTG CGCGCGTGGTGGTTACATCTCTGACTTCGATG TTTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGACTGTTAGC TCA
서열 번호 12	Ab HC	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSSYAI SWVRQAPGQGLEWMGVIFPAEGAPGYAQKFQG RVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGG YISDFDVWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHCPCPPELL GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVWVDV SHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV

[0840]

		<p>VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS          KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK          GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDS          FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVSMHEALHNHY          TQKLSLSLSPGK</p>
<p>서열 번호 13</p>	<p>Ab HC DNA</p>	<p>CAGGTGCAATTGGTGCAGAGCGGTGCCGAAGT          GAAAAAACCGGGCAGCAGCGTGAAAGTTAGCT          GCAAAGCATCCGGAGGGACGTTTAGCAGCTAT          GCGATTAGCTGGGTGCGCCAGGCCCCGGGCC          AGGGCCTCGAGTGGATGGGCGTTATCTTCCCG          GCTGAAGGCGCTCCGGGTTACGCCAGAAATT          TCAGGGCCGGGTGACCATTACCGCCGATGAAA          GCACCAGCACCGCCTATATGGAAGTGAAGCAGC          CTGCGCAGCGAAGATACGGCCGTGATTATTG          CGCGCGTGGTGGTTACATCTCTGACTTCGATG          TTTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGAAGTGTAGC          TCAGCTAGCACCAAGGGCCCCAGCGTGTTCOC          CCTGGCCCCCAGCAGCAAGTCTACTTCCGGCG          GAACTGCTGCCCTGGGTTGCCTGGTGAAGGAC          TACTTCCCCGAGCCCGTGACAGTGTCTTGAA          CTCTGGGGCTCTGACTTCCGGCGTGACACCT          TCCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTAC          AGCCTGAGCAGCGTGGTGACAGTGCCCTCCAG          CTCTCTGGGAACCCAGACCTATATCTGCAACGT          GAACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACA          AGAGAGTGGAGCCCAAGAGCTGCGACAAGACC          CACACCTGCCCCCCTGCCAGCTCCAGAAGT          GCTGGGAGGGCCTTCCGTGTTCTGTTCCCCC          CCAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCAGCAGG          ACCCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACG          TGTCCCACGAGGACCCAGAGGTGAAGTTCAAC          TGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACG          CCAAGACCAAGCCCAGAGAGGAGCAGTACAAC          AGCACCTACAGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGT          GCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAAT          ACAAGTGCAAAGTCTCCAACAAGGCCCTGCCA          GCCCCAATCGAAAAGACAATCAGCAAGGCCAA          GGGCCAGCCACGGGAGCCCCAGGTGTACACC          CTGCCCCCAGCCGGGAGGAGATGACCAAGA          ACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTGGTGAAGGGC          TTCTACCCAGCGATATCGCCGTGGAGTGGGA          GAGCAACGGCCAGCCCGAGAACAATAACAAGA          CCACCCCCCAGTGCTGGACAGCGACGGCAG</p>

[0841]

		CTTCTTCCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAA GTCCAGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTTCAGCT GCAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCAC TACACCCAGAAGTCCCTGAGCCTGAGCCCCG CAAG
서열 번호 14	Fab' HC(EU236)	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAI SWVRQAPGQGLEWMGVIFPAEGAPGYAQKFQG RVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGG YISDFDVWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPPELL G
서열 번호 15	Fab' HC DNA	CAGGTGCAATTGGTGCAGAGCGGTGCCGAAGT GAAAAAACCGGGCAGCAGCGTGAAAGTTAGCT GCAAAGCATCCGGAGGGACGTTTAGCAGCTAT GCGATTAGCTGGGTGCGCCAGGCCCGGGCC AGGGCCTCGAGTGGATGGGCGTTATCTTCCC GCTGAAGGCGCTCCGGGTTACGCCAGAAATT TCAGGGCCGGTGACCATTACGCCGATGAAA GCACCAGCACCGCCTATATGGAAGTGAAGCAGC CTGCGCAGCGAAGATACGGCCGTGATTATTG CGCGCGTGGTGGTTACATCTCTGACTTCGATG TTTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGACTGTTAGC TCAGCTAGCACCAAGGGCCCCAGCGTGTCCC CCTGGCCCCCAGCAGCAAGTCTACTTCCGGCG GAACTGCTGCCCTGGGTTGCCTGGTGAAGGAC TACTTCCCCGAGCCCGTGACAGTGTCTGGAA CTCTGGGGCTCTGACTTCCGGCGTGACACCT TCCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTAC AGCCTGAGCAGCGTGGTACAGTGCCCTCCAG CTCTCTGGGAACCCAGACCTATATCTGCAACGT GAACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACA AGAGAGTGGAGCCCAAGAGCTGCGACAAGACC CACACCTGCCCCCCCTGCCAGCTCCAGAAGT GCTGGGA
서열 번호 118	Cys Fab- HC(EU221)-HC- E152C (EU)	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAI SWVRQAPGQGLEWMGVIFPAEGAPGYAQKFQG RVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGG YISDFDVWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPQPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKRVKPKSCD

[0842]

서열 번호 119	Fab' HC(EU230)	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSSYAI SWVRQAPGQGLEWMGVIFPAEGAPGYAQKFQG RVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGG YISDFDVWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKRVKPKSCKDKTHTCPPCP
서열 번호 120	Fab' HC(EU232)	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSSYAI SWVRQAPGQGLEWMGVIFPAEGAPGYAQKFQG RVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGG YISDFDVWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKRVKPKSCKDKTHTCPPCPAP
서열 번호 121	Fab' HC(EU236)-Pro	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSSYAI SWVRQAPGQGLEWMGVIFPAEGAPGYAQKFQG RVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGG YISDFDVWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKRVKPKSCKDKTHTCPPCPAPELL GP
서열 번호 16	LCDR1 (카밧)	RASQSSISNYLA
서열 번호 17	LCDR2 (카밧)	DASSLQS
서열 번호 18	LCDR3 (카밧)	QQYYYESIT
서열 번호 19	LCDR1 (초티아)	SQSSISNY
서열 번호 20	LCDR2 (초티아)	DAS
서열 번호 21	LCDR3 (초티아)	YYYESI
서열 번호 16	LCDR1 (조합된)	RASQSSISNYLA
서열 번호 17	LCDR2 (조합된)	DASSLQS
서열 번호 18	LCDR3 (조합된)	QQYYYESIT
서열 번호 22	LCDR1 (IMGT)	QSISNY
서열 번호 20	LCDR2 (IMGT)	DAS
서열 번호 18	LCDR3 (IMGT)	QQYYYESIT
서열 번호 23	VL (카파)	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSSISNYLA WYQQKPGKAPKLLIYDASSLQSGVPSRFSGSGS GTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYYYESITFGQGT KVEIK
서열 번호 24	VL DNA	GATATCCAGATGACCCAGAGCCCGAGCAGCCT GAGCGCCAGCGTGGGCGATCGCGTGACCATTA CCTGCAGAGCCAGCCAGTCTATTTCTAACTACC

[0843]

		TGGCTTGGTACCAGCAGAAACCGGGCAAAGCG CCGAAACTATTAATCTACGACGCTTCTTCTCTG CAAAGCGGCGTGCCGAGCCGCTTTAGCGGCA GCGGATCCGGCACCGATTTACCCTGACCATT AGCTCTCTGCAACCGGAAGACTTTGCGACCTAT TATTGCCAGCAGTACTACTACGAATCTATCACC TTTGCCAGGGCACGAAAGTTGAAATTA
서열 번호 25	Ab/Fab' LC (카파)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRASQISNYLA WYQQKPGKAPKLLIYDASSLQSGVPSRFSGSGS GTDFTLTISSLQPEDFATYYCQYYYESITFGQGT KVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK DSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSS PVTKSFNRGEC
서열 번호 26	Ab/Fab' LC DNA	GATATCCAGATGACCCAGAGCCCGAGCAGCCT GAGCGCCAGCGTGGGCGATCGCGTGACCATTA CCTGCAGAGCCAGCCAGTCTATTTCTAACTACC TGGCTTGGTACCAGCAGAAACCGGGCAAAGCG CCGAAACTATTAATCTACGACGCTTCTTCTCTG CAAAGCGGCGTGCCGAGCCGCTTTAGCGGCA GCGGATCCGGCACCGATTTACCCTGACCATT AGCTCTCTGCAACCGGAAGACTTTGCGACCTAT TATTGCCAGCAGTACTACTACGAATCTATCACC TTTGCCAGGGCACGAAAGTTGAAATTAACGT ACGGTGGCCGCTCCCAGCGTTCATCTTCCC CCCCAGCGACGAGCAGCTGAAGAGTGGCACC GCCAGCGTGGTGTGCCTGCTGAACAATTCTA CCCCCGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTG GACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGG AGAGCGTCACCGAGCAGGACAGCAAGGACTCC ACCTACAGCCTGAGCAGCACCCCTGACCCTGAG CAAGGCCGACTACGAGAAGCATAAGGTGTACG CCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGTCCAG CCCCGTGACCAAGAGCTTCAACAGGGGCGAGT GC
서열 번호 122	Cys Fab-LC-E165C (EU)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRASQISNYLA WYQQKPGKAPKLLIYDASSLQSGVPSRFSGSGS GTDFTLTISSLQPEDFATYYCQYYYESITFGQGT KVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTCQDSK DSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSS PVTKSFNRGEC

[0844]

서열 번호 123	Cys Fab-LC-S114C (EU)	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSSISNYLA WYQQKPGKAPKLLIYDASSLQSGVPSRFSGSGS GTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYYYESITFGQGT KVEIKRTVAAPCVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK DSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSS PVTKSFNRGEC
<b>항-cKIT Ab2/Fab2/Fab'2</b>		
서열 번호 27	HCDR1 (카밧)	SHALS
서열 번호 28	HCDR2 (카밧)	GIIPSFGTADYAQKFQG
서열 번호 29	HCDR3 (카밧)	GLYDFDY
서열 번호 30	HCDR1 (초티아)	GGTFSSH
서열 번호 31	HCDR2 (초티아)	IPSFGT
서열 번호 29	HCDR3 (초티아)	GLYDFDY
서열 번호 32	HCDR1 (조합된)	GGTFSSHALS
서열 번호 28	HCDR2 (조합된)	GIIPSFGTADYAQKFQG
서열 번호 29	HCDR3 (조합된)	GLYDFDY
서열 번호 33	HCDR1 (IMGT)	GGTFSSHA
서열 번호 34	HCDR2 (IMGT)	IIPSFGTA
서열 번호 35	HCDR3 (IMGT)	ARGLYDFDY
서열 번호 36	VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSHA LSWVRQAPGQGLEWMGGIIPSFGTADYAQKFQG RVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGL YDFDYWGQGLVTVSS
서열 번호 37	VH DNA	CAGGTGCAATTGGTGACAGCGGTGCCGAAGT GAAAAAACCGGGCAGCAGCGTGAAAGTTAGCT GCAAAGCATCCGGAGGGACGTTTTCTTCTCAT GCTCTGTCTTGGGTGCGCCAGGCCCGGGCC AGGGCCTCGAGTGGATGGGCGGTATCATCCCC TCTTCGGCACTGCGGACTACGCCAGAAATTT CAGGGCCGGGTGACCATTACCGCCGATGAAAG CACCAGCACCGCCTATATGGAAGTACTGAGCAGCC TGCGCAGCGAAGATACGGCCGTGATTATTGC GCGCGTGGTCTGTACGACTTCGACTACTGGGG CCAAGGCACCCTGGTACTGTTAGCTCA
서열 번호 38	Ab HC	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSHA LSWVRQAPGQGLEWMGGIIPSFGTADYAQKFQG RVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGL YDFDYWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKV

[0845]

		<p>HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNV          NHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELL          GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE          DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV          VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS          KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK          GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGS          FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHY          TQKLSLSLSPGK</p>
<p>서열 번호 39</p>	<p>Ab HC DNA</p>	<p>CAGGTGCAATTGGTGCAGAGCGGTGCCGAAGT          GAAAAAACCGGGCAGCAGCGTGAAAGTTAGCT          GCAAAGCATCCGGAGGGACGTTTTCTTCTCAT          GCTCTGTCTTGGGTGCGCCAGGCCCGGGCC          AGGGCCTCGAGTGGATGGGCGGTATCATCCCG          TCTTTCGGCACTGCGGACTACGCCCAGAAATTT          CAGGGCCGGGTGACCATTACCGCCGATGAAAG          CACCAGCACCGCCTATATGGAAGTACTGAGCAGCC          TGCGCAGCGAAGATACGGCCGTGTATTATTGC          GCGCGTGGTCTGTACGACTTCGACTACTGGGG          CCAAGGCACCCTGGTGAAGTACTGCTAGCTA          GCACCAAGGGCCCCAGCGTGTCCCCCTGGC          CCCCAGCAGCAAGTCTACTTCCGGCGGAACTG          CTGCCCTGGGTTGCCTGGTGAAGGACTACTTC          CCCGAGCCCGTGACAGTGTCCCTGGAACTCTGG          GGCTCTGACTTCCGGCGTGCACACCTTCCCCG          CCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACAGCCTG          AGCAGCGTGGTGACAGTGCCCTCCAGCTCTCT          GGGAACCCAGACCTATATCTGCAACGTGAACC          ACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGA          GTGGAGCCCAAGAGCTGCGACAAGACCCACAC          CTGCCCCCCTGCCAGCTCCAGAAGTCTGG          GAGGGCCTTCCGTGTTCTGTTCCCCCCAAG          CCCAAGGACACCCTGATGATCAGCAGGACCCC          CGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCC          CACGAGGACCCAGAGGTGAAGTTCAACTGGTA          CGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAG          ACCAAGCCCAGAGAGGAGCAGTACAACAGCAC          CTACAGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGC          ACCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAATAACAAG          TGCAAAGTCTCCAACAAGGCCCTGCCAGCCCC          AATCGAAAAGACAATCAGCAAGGCCAAGGGCC          AGCCACGGGAGCCCCAGGTGTACACCCTGCC          CCCCAGCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAG</p>

[0846]

		GTGTCCCTGACCTGTCTGGTGAAGGGCTTCTA CCCCAGCGATATCGCCGTGGAGTGGGAGAGC AACGGCCAGCCCGAGAACAACAAGACCAC CCCCCAGTGTCTGGACAGCGACGGCAGCTTCT TCCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGTCC AGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTTCAGCTGCAG CGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACA CCCAGAAGTCCCTGAGCCTGAGCCCCGGCAAG
서열 번호 40	Fab' HC(EU236)	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSHA LSWVRQAPGQGLEWMGGIIPSGTADYAQKFQG RVTITADESTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARGL YDFDYWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKV HTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNV NHNKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEL LGG
서열 번호 41	Fab' HC DNA	CAGGTGCAATTGGTGCAGAGCGGTGCCGAAGT GAAAAAACCGGGCAGCAGCGTGAAAGTTAGCT GCAAAGCATCCGGAGGGACGTTTTCTTCTCAT GCTCTGTCTTGGGTGCGCCAGGCCCGGGCC AGGGCCTCGAGTGGATGGGCGGTATCATCCCC TCTTTCGGCACTGCGGACTACGCCAGAAATTT CAGGGCCGGGTGACCATTACCGCCGATGAAAG CACCAGCACCGCCTATATGGAAGTGAAGCAGCC TGCGCAGCGAAGATACGGCCGTGATTATTGC GCGCGTGGTCTGTACGACTTCGACTACTGGGG CCAAGGCACCCTGGTACTGTTAGCTCAGCTA GCACCAAGGGCCCCAGCGTGTTCCCCCTGGC CCCCAGCAGCAAGTCTACTTCCGGCGGAACTG CTGCCCTGGGTTGCCTGGTGAAGGACTACTTC CCCCAGCCCCGTGACAGTGCCTGGAAGTCTGG GGCTCTGACTTCCGGCGTGCACACCTTCCCCG CCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACAGCCTG AGCAGCGTGGTGAAGTGCCTCCAGCTCTCT GGGAACCCAGACCTATATCTGCAACGTGAACC ACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGA GTGGAGCCCAAGAGCTGCGACAAGACCCACAC CTGCCCCCCTGCCAGCTCCAGAACTGCTGG GA
서열 번호 124	Cys Fab- HC(EU221)-HC- E152C (EU)	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSHA LSWVRQAPGQGLEWMGGIIPSGTADYAQKFQG RVTITADESTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARGL YDFDYWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS

[0847]

		TSGGTAALGCLVKDYFPQPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKRVEPKSCD
서열 번호 125	Fab' HC(EU230)	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSHA LSWVRQAPGQGLEWMGGIIPSGTADYAQKFQG RVTITADESTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARGL YFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCP
서열 번호 126	Fab' HC(EU232)	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSHA LSWVRQAPGQGLEWMGGIIPSGTADYAQKFQG RVTITADESTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARGL YFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAP
서열 번호 127	Fab' HC(EU236)-Pro	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSHA LSWVRQAPGQGLEWMGGIIPSGTADYAQKFQG RVTITADESTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARGL YFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPPELL GP
서열 번호 42	LCDR1 (카밧)	RASQDISQDLA
서열 번호 17	LCDR2 (카밧)	DASSLQS
서열 번호 43	LCDR3 (카밧)	QYYYLPST
서열 번호 44	LCDR1 (효티아)	SQDISQD
서열 번호 20	LCDR2 (효티아)	DAS
서열 번호 45	LCDR3 (효티아)	YYYLPS
서열 번호 42	LCDR1 (조합된)	RASQDISQDLA
서열 번호 17	LCDR2 (조합된)	DASSLQS
서열 번호 43	LCDR3 (조합된)	QYYYLPST
서열 번호 46	LCDR1 (IMGT)	QDISQD
서열 번호 20	LCDR2 (IMGT)	DAS
서열 번호 43	LCDR3 (IMGT)	QYYYLPST
서열 번호 47	VL (카파)	DIQMTQSPSSLSASVGRVITICRASQDISQDLA WYQQKPGKAPKLLIYDASSLQSGVPSRFGSGS GTDFTLTISLQPEDFAVYYCQYYYLPSTFGQG TKVEIK

[0848]

<p>서열 번호 48</p>	<p>VL DNA</p>	<p>GATATCCAGATGACCCAGAGCCCGAGCAGCCT GAGCGCCAGCGTGGGCGATCGCGTGACCATTA CCTGCAGAGCCAGCCAGGACATTTCTCAGGAC CTGGCTTGGTACCAGCAGAAACCGGGCAAAGC GCCGAAACTATTAATCTACGACGCTTCTTCTCT GCAAAGCGGCGTGCCGAGCCGCTTTAGCGGC AGCGGATCCGGCACCGATTTACCCTGACCAT TAGCTCTCTGCAACCGGAAGACTTTGCGGTGT ATTATTGCCAGCAGTACTACTACCTGCCGTCTA CCTTTGGCCAGGGCACGAAAGTTGAAATTA</p>
<p>서열 번호 49</p>	<p>Ab/Fab' LC (카파)</p>	<p>DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDISQDLA WYQQKPGKAPKLLIYDASSLQSGVPSRFSGSGS GTDFTLTISLQPEDFAVYYCQYYLPSFTFGQG TKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDS KDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLS SPVTKSFNRGEC</p>
<p>서열 번호 50</p>	<p>Ab/Fab' LC DNA</p>	<p>GATATCCAGATGACCCAGAGCCCGAGCAGCCT GAGCGCCAGCGTGGGCGATCGCGTGACCATTA CCTGCAGAGCCAGCCAGGACATTTCTCAGGAC CTGGCTTGGTACCAGCAGAAACCGGGCAAAGC GCCGAAACTATTAATCTACGACGCTTCTTCTCT GCAAAGCGGCGTGCCGAGCCGCTTTAGCGGC AGCGGATCCGGCACCGATTTACCCTGACCAT TAGCTCTCTGCAACCGGAAGACTTTGCGGTGT ATTATTGCCAGCAGTACTACTACCTGCCGTCTA CCTTTGGCCAGGGCACGAAAGTTGAAATTAAC GTACGGTGGCCGCTCCCAGCGTGTTTCATCTTC CCCCCAGCGACGAGCAGCTGAAGAGTGGCA CCGCCAGCGTGGTGTGCCTGCTGAACAACCTC TACCCCGGGAGGCCAAGGTGCAGTGAAGG TGGACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCA GGAGAGCGTCACCGAGCAGGACAGCAAGGAC TCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCTGACCCT GAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCATAAGGTGT ACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGTC CAGCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACAGGGGCG AGTGC</p>
<p>서열 번호 128</p>	<p>Cys Fab-LC-E165C (EU)</p>	<p>DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDISQDLA WYQQKPGKAPKLLIYDASSLQSGVPSRFSGSGS GTDFTLTISLQPEDFAVYYCQYYLPSFTFGQG TKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTCQDS</p>

[0849]

		KDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLS SPVTKSFNRGEC
서열 번호 129	Cys Fab-LC-S114C (EU)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISQDLA WYQQKPGKAPKLLIYDASSLQSGVPSRFSGSGS GTDFTLTISLQPEDFAVYYCQQYYLPSTFGQG TKVEIKRTVAAPCVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDS KDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLS SPVTKSFNRGEC
<b>항-cKIT Ab3/Fab3/Fab'3</b>		
서열 번호 1	HCDR1 (카밧)	SYAIS
서열 번호 51	HCDR2 (카밧)	TIGPFEGQPRYAQKFQG
서열 번호 3	HCDR3 (카밧)	GGYISDFDV
서열 번호 4	HCDR1 (초티아)	GGTFSSY
서열 번호 52	HCDR2 (초티아)	GPFEGQ
서열 번호 3	HCDR3 (초티아)	GGYISDFDV
서열 번호 6	HCDR1 (조합된)	GGTFSSY AIS
서열 번호 51	HCDR2 (조합된)	TIGPFEGQPRYAQKFQG
서열 번호 3	HCDR3 (조합된)	GGYISDFDV
서열 번호 7	HCDR1 (IMGT)	GGTFSSYA
서열 번호 53	HCDR2 (IMGT)	IGPFEGQP
서열 번호 9	HCDR3 (IMGT)	ARGGYISDFDV
서열 번호 54	VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSSYAI SWVRQAPGQGLEWMGTIGPFEGQPRYAQKFQG RVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGG YISDFDVWGQGLVTVSS
서열 번호 55	VH DNA	CAGGTGCAATTGGTGCAGAGCGGTGCCGAAGT GAAAAAACC GGGCAGCAGCGTGAAAGTTAGCT GCAAAGCATCCGGAGGGACGTTTAGCAGCTAT GCGATTAGCTGGGTGCGCCAGGCCCGGGCC AGGGCCTCGAGTGGATGGGCACTATCGGTCCG TTCGAAGGCCAGCCGCGTTACGCCAGAAATT TCAGGGCCGGGTGACCATTACGCCGATGAAA GCACCAGCACCGCCTATATGGAAGT GAGCAGC CTGCGCAGCGAAGATACGGCCGTGATTATTG CGCGCGTGGTGGTTACATCTCTGACTTCGATG TTTGGGGCCAAGGCACCCTGGT GACTGTTAGC TCA
서열 번호 56	Ab HC	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSSYAI SWVRQAPGQGLEWMGTIGPFEGQPRYAQKFQG

[0850]

		<p>RVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGG          YISDFDVWQGGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK          STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG          VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN          VNHKPSNTKVDKRVKPKCDKHTCPPCPAPELL          GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVWVDVSHE          DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV          VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS          KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK          GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDS          FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHY          TQKLSLSLSPGK</p>
<p>서열 번호 57</p>	<p>Ab HC DNA</p>	<p>CAGGTGCAATTGGTGCAGAGCGGTGCCGAAGT          GAAAAAACCGGGCAGCAGCGTGAAAGTTAGCT          GCAAAGCATCCGGAGGGACGTTTAGCAGCTAT          GCGATTAGCTGGGTGCGCCAGGCCCGGGCC          AGGGCCTCGAGTGGATGGGCACTATCGGTCCG          TTCGAAGGCCAGCCGCGTTACGCCCAGAAATT          TCAGGGCCGGGTGACCATTACGCCGATGAAA          GCACCAGCACCGCCTATATGGAAGTGAAGCAGC          CTGCGCAGCGAAGATACGGCCGTGTATTATTG          CGCGCGTGGTGGTTACATCTCTGACTTCGATG          TTTGGGGCCAAGGCACCCTGGTACTGTTAGC          TCAGCTAGCACCAAGGGCCCAAGTGTGTTTCC          CCTGGCCCCCAGCAGCAAGTCTACTTCCGGCG          GAACTGCTGCCCTGGGTTGCCTGGTGAAGGAC          TACTTCCCCGAGCCCGTGACAGTGCCTGGAA          CTCTGGGGCTCTGACTTCCGGCGTGACACCT          TCCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTAC          AGCCTGAGCAGCGTGGTGCAGTGCCCTCCAG          CTCTCTGGGAACCCAGACCTATATCTGCAACGT          GAACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACA          AGAGAGTGGAGCCCAAGAGCTGCGACAAGACC          CACACCTGCCCCCCTGCCAGCTCCAGAAGT          GCTGGGAGGGCCTTCCGTGTTCCCTGTTCCCC          CCAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCAGCAGG          ACCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACG          TGTCCACGAGGACCCAGAGGTGAAGTTCAAC          TGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACG          CCAAGACCAAGCCCAGAGAGGAGCAGTACAAC          AGCACCTACAGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGT          GCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAAT          ACAAGTGCAAAGTCTCCAACAAGGCCCTGCCA</p>

[0851]

		GCCCCAATCGAAAAGACAATCAGCAAGGCCAA GGGCCAGCCACGGGAGCCCCAGGTGTACACC CTGCCCCCAGCCGGGAGGAGATGACCAAGA ACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTGGTGAAGGGC TTCTACCCAGCGATATCGCCGTGGAGTGGA GAGCAACGGCCAGCCGAGAACAACACTACAAGA CCACCCCCCAGTGCTGGACAGCGACGGCAG CTTCTTCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAA GTCCAGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTAGCT GCAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCAC TACACCCAGAAGTCCCTGAGCCTGAGCCCCGG CAAG
서열 번호 58	Fab' HC(EU236)	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAI SWVRQAPGQGLEWMGTIGPFEGQPRYAQKFQG RVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGG YISDFDVWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELL G
서열 번호 59	Fab' HC DNA	CAGGTGCAATTGGTGCAGAGCGGTGCCGAAGT GAAAAAACCGGGCAGCAGCGTGAAAGTTAGCT GCAAAGCATCCGGAGGGACGTTTAGCAGCTAT GCGATTAGCTGGGTGCGCCAGGCCCGGGCC AGGGCCTCGAGTGGATGGGCACTATCGGTCCG TTCGAAGGCCAGCCGCGTTACGCCCAGAAATT TCAGGGCCGGGTGACCATTACCGCCGATGAAA GCACCAGCACCGCCTATATGGAAGTGAAGCAGC CTGCGCAGCGAAGATACGGCCGTGTATTATTG CGCGCGTGGTGGTTACATCTCTGACTTCGATG TTTGGGGCCAAGGCACCCTGGTACTGTTAGC TCAGCTAGCACCAAGGGCCCAAGTGTGTTTCC CCTGGCCCCCAGCAGCAAGTCTACTTCCGGCG GAACTGCTGCCCTGGGTTGCCTGGTGAAGGAC TACTTCCCCGAGCCCGTGACAGTGCCTGGAA CTCTGGGGCTCTGACTTCCGGCGTGACACCT TCCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTAC AGCCTGAGCAGCGTGGTGAAGTGCCTCCAG CTCTCTGGGAACCCAGACCTATATCTGCAACGT GAACACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACA AGAGAGTGGAGCCCAAGAGCTGCGACAAGACC CACACCTGCCCCCCTGCCAGCTCCAGAAGT

[0852]

		GCTGGGA
서열 번호 130	Cys Fab HC(EU221)-HC- E152C (EU)	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSSYAI SWVRQAPGQGLEWMGTIGPFEGQPRYAQKFQG RVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGG YISDFDVGQGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPCPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKKVEPKSCD
서열 번호 131	Fab' HC(EU230)	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSSYAI SWVRQAPGQGLEWMGTIGPFEGQPRYAQKFQG RVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGG YISDFDVGQGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKRV EPKSCDKTHTCPPCP
서열 번호 132	Fab' HC(EU232)	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSSYAI SWVRQAPGQGLEWMGTIGPFEGQPRYAQKFQG RVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGG YISDFDVGQGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKRV EPKSCDKTHTCPPCPAP
서열 번호 133	Fab' HC(EU236)-Pro	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSSYAI SWVRQAPGQGLEWMGTIGPFEGQPRYAQKFQG RVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGG YISDFDVGQGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKRV EPKSCDKTHTCPPCPAP ELL GP
서열 번호 16	LCDR1 (카밧)	RASQSI NYLA
서열 번호 17	LCDR2 (카밧)	DASSLQS
서열 번호 18	LCDR3 (카밧)	QYYYYESIT
서열 번호 19	LCDR1 (초티아)	SQSI NY
서열 번호 20	LCDR2 (초티아)	DAS
서열 번호 21	LCDR3 (초티아)	YYESI
서열 번호 16	LCDR1 (조합된)	RASQSI NYLA
서열 번호 17	LCDR2 (조합된)	DASSLQS
서열 번호 18	LCDR3 (조합된)	QYYYYESIT

[0853]

서열 번호 22	LCDR1 (IMGT)	QSSISNY
서열 번호 20	LCDR2 (IMGT)	DAS
서열 번호 18	LCDR3 (IMGT)	QQYYYYESIT
서열 번호 23	VL (카파)	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSSISNYLA WYQQKPGKAPKLLIYDASSLQSGVPSRFSGSGS GTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYYYYESITFGQGT KVEIK
서열 번호 24	VL DNA	GATATCCAGATGACCCAGAGCCCGAGCAGCCT GAGCGCCAGCGTGGGCGATCGCGTGACCATTA CCTGCAGAGCCAGCCAGTCTATTTCTAACTACC TGGCTTGGTACCAGCAGAAACCGGGCAAAGCG CCGAAACTATTAATCTACGACGCTTCTTCTCTG CAAAGCGGCGTGCCGAGCCGCTTTAGCGGCA GCGGATCCGGCACCGATTTACCCTGACCATT AGCTCTCTGCAACCGGAAGACTTTGCGACCTAT TATTGCCAGCAGTACTACTACGAATCTATCACC TTTGGCCAGGGCACGAAAGTTGAAATTA
서열 번호 25	Ab/Fab' LC (카파)	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSSISNYLA WYQQKPGKAPKLLIYDASSLQSGVPSRFSGSGS GTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYYYYESITFGQGT KVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK DSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSS PVTKSFNRGEC
서열 번호 26	Ab/Fab' LC DNA	GATATCCAGATGACCCAGAGCCCGAGCAGCCT GAGCGCCAGCGTGGGCGATCGCGTGACCATTA CCTGCAGAGCCAGCCAGTCTATTTCTAACTACC TGGCTTGGTACCAGCAGAAACCGGGCAAAGCG CCGAAACTATTAATCTACGACGCTTCTTCTCTG CAAAGCGGCGTGCCGAGCCGCTTTAGCGGCA GCGGATCCGGCACCGATTTACCCTGACCATT AGCTCTCTGCAACCGGAAGACTTTGCGACCTAT TATTGCCAGCAGTACTACTACGAATCTATCACC TTTGGCCAGGGCACGAAAGTTGAAATTAACGT ACGGTGGCCGCTCCCAGCGTGTTTCATCTTCCC CCCCAGCGACGAGCAGCTGAAGAGTGGCACC GCCAGCGTGGTGTGCCTGCTGAACAATTCTA CCCCCGGGAGGCCAAGGTGCAAGTGAAGGTG GACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGG AGAGCGTCACCGAGCAGGACAGCAAGGACTCC ACCTACAGCCTGAGCAGCACCTGACCCTGAG CAAGGCCGACTACGAGAAGCATAAGGTGTACG

[0854]

		CCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGTCCAG CCCCGTGACCAAGAGCTTCAACAGGGGCGAGT GC
서열 번호 134	Cys Fab-LC-E165C (EU)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQISNYLA WYQQKPGKAPKLLIYDASSLQSGVPSRFSGSGS GTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYYESITFGQGT KVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTCQDSK DSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSS PVTKSFNRGEC
서열 번호 135	Cys Fab-LC-S114C (EU)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQISNYLA WYQQKPGKAPKLLIYDASSLQSGVPSRFSGSGS GTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYYESITFGQGT KVEIKRTVAAPCVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK DSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSS PVTKSFNRGEC
<b>항-cKIT Ab4/Fab4/Fab'4</b>		
서열 번호 60	HCDR1 (카밧)	TNSAAWN
서열 번호 61	HCDR2 (카밧)	RIYYRSQWLNDYAVSVKS
서열 번호 62	HCDR3 (카밧)	QLTYPYTVYHKALDV
서열 번호 63	HCDR1 (초티아)	GDSVSTNSA
서열 번호 64	HCDR2 (초티아)	YYRSQWL
서열 번호 62	HCDR3 (초티아)	QLTYPYTVYHKALDV
서열 번호 65	HCDR1 (조합된)	GDSVSTNSAAWN
서열 번호 61	HCDR2 (조합된)	RIYYRSQWLNDYAVSVKS
서열 번호 62	HCDR3 (조합된)	QLTYPYTVYHKALDV
서열 번호 66	HCDR1 (IMGT)	GDSVSTNSAA
서열 번호 67	HCDR2 (IMGT)	IYYRSQWLN
서열 번호 68	HCDR3 (IMGT)	ARQLTYPYTVYHKALDV
서열 번호 69	VH	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCAISGDSVSTNSA AWNWIRQSPSRGLEWLGRIYYRSQWLNDYAVSV KSRITINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYYCARQ LTYPTYVYHKALDVWGQGLVTVSS
서열 번호 70	VH DNA	CAGGTGCAATTGCAGCAGAGCGGTCCGGGGCCT GGTCAAACCGAGCCAGACCCTGAGCCTGACCT GCGCGATTTCCGGAGATAGCGTGAGCACTAAC TCTGCTGCTTGGAACTGGATTCGTGAGAGCCC GAGCCGTGGCCTCGAGTGGCTGGGCCGTATCT ACTACCGTAGCCAGTGGCTGAACGACTATGCC GTGAGCGTGAAAAGCCGCATTACCATTAACCC

[0855]

		GGATACTTCGAAAAACCAAGTTTAGCCTGCAACT GAACAGCGTGACCCCGGAAGATACGGCCGTGT ATTATTGCGCGCGTCAGCTGACTTACCCGTACA CTGTTTACCATAAAGCTCTGGATGTTTGGGGTC AAGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCG
서열 번호 71	Ab HC	QVQLQQSGPGLVKPSQTLTCAISGDSVSTNSA AWNWIRQSPSRGLEWLGRIYYRSQWLNDYAVSV KSRITINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYYCARQ LTYPYTVYHKALDVWGQGLVTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLG TQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPP CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPV LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK
서열 번호 72	Ab HC DNA	CAGGTGCAATTGCAGCAGAGCGGTCCGGGCCT GGTGAAACCGAGCCAGACCCTGAGCCTGACCT GCGCGATTTCCGGAGATAGCGTGAGCACTAAC TCTGCTGCTTGAACTGGATTCGTCAGAGCCC GAGCCGTGGCCTCGAGTGGCTGGGCCGTATCT ACTACCGTAGCCAGTGGCTGAACGACTATGCC GTGAGCGTGAAAAGCCGCATTACCATTAACCC GGATACTTCGAAAAACCAAGTTTAGCCTGCAACT GAACAGCGTGACCCCGGAAGATACGGCCGTGT ATTATTGCGCGCGTCAGCTGACTTACCCGTACA CTGTTTACCATAAAGCTCTGGATGTTTGGGGTC AAGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCGGCTAGC ACCAAGGGCCCCAGCGTGTCCCCCTGGCCCC CAGCAGCAAGTCTACTTCCGGCGGAACTGCTG CCCTGGGTTGCCTGGTGAAGGACTACTCCCC GAGCCCGTGACAGTGCCTGGAACCTCTGGGGC TCTGACTTCCGGCGTGCACACCTTCCCCGCCG TGCTGCAGAGCAGCGCCTGTACAGCCTGAGC AGCGTGGTGACAGTGCCCTCCAGCTCTCTGGG AACCCAGACCTATATCTGCAACGTGAACCACAA GCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTGG AGCCCAAGAGCTGCGACAAGACCCACACCTGC CCCCCTGCCAGCTCCAGAAGTCTGGGAGG GCCTTCCGTGTTCTGTTCCCCCCCCAAGCCCA

[0856]

		<p>AGGACACCCTGATGATCAGCAGGACCCCGAG                  GTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCCACGA                  GGACCCAGAGGTGAAGTTCAACTGGTACGTGG                  ACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAA                  GCCCAGAGAGGAGCAGTACAACAGCACCTACA                  GGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCACCAG                  GACTGGCTGAACGGCAAAGAATACAAGTGCAA                  AGTCTCCAACAAGGCCCTGCCAGCCCCAATCG                  AAAAGACAATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCA                  CGGGAGCCCCAGGTGTACACCCTGCCCCCA                  GCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGTC                  CCTGACCTGTCTGGTGAAGGGCTTCTACCCCA                  GCGATATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGG                  CCAGCCCCGAGAACAACACTACAAGACCACCCCC                  CAGTGCTGGACAGCGACGGCAGCTTCTTCCTG                  TACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCAGGTG                  GCAGCAGGGCAACGTGTTTACGCTGCAGCGTGA                  TGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAG                  AAGTCCCTGAGCCTGAGCCCCGGCAAG</p>
서열 번호 73	Fab' HC (EU236)	<p>QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCAISGDSVSTNSA                  AWNWIRQSPSRGLEWLGRIYYRSQWLNDYAVSV                  KSRITINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYYCARQ                  LTPYTVYHKALDVWGQGLVTVSSASTKGPSVF                  PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS                  GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPPSSSLG                  TQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPP                  CPAPELLG</p>
서열 번호 74	Fab' HC DNA	<p>CAGGTGCAATTGCAGCAGAGCGGTCCGGGCCT                  GGTGAAACCGAGCCAGACCCTGAGCCTGACCT                  GCGCGATTTCCGGAGATAGCGTGAGCACTAAC                  TCTGCTGCTTGGAACTGGATTTCGTGAGAGCCC                  GAGCCGTGGCCTCGAGTGGCTGGGCCGTATCT                  ACTACCGTAGCCAGTGGCTGAACGACTATGCC                  GTGAGCGTGAAAAGCCGCATTACCATTAACCC                  GGATACTTCGAAAAACCGATTTAGCCTGCAACT                  GAACAGCGTGACCCCGGAAGATACGGCCGTGT                  ATTATTGCGCGCGTCAGCTGACTTACCCGTACA                  CTGTTTACCATAAAGCTCTGGATGTTTGGGGTC                  AAGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCGGCTAGC                  ACCAAGGGCCCCAGCGTGTTCGCCCTGGCCCC                  CAGCAGCAAGTCTACTTCCGGCGGAACTGCTG                  CCCTGGGTTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCC                  GAGCCCGTGACAGTGTCTGGAAGTCTGGGGC</p>

[0857]

		TCTGACTTCCGGCGTGCACACCTTCCCCGCGG TGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACAGCCTGAGC AGCGTGGTGACAGTGCCCTCCAGCTCTCTGGG AACCCAGACCTATATCTGCAACGTGAACCACAA GCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTGG AGCCCAAGAGCTGCGACAAGACCCACACCTGC CCCCCTGCCAGCTCCAGAACTGCTGGGA
서열 번호 136	Cys Fab HC(EU221)-HC- E152C (EU)	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTLCAISGDSVSTNSA AWNWIRQSPSRGLEWLGRIYYRSQWLNDYAVSV KSRITINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYYCARQ LTPYPTVYHKALDVWGQGLVTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPCPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCD
서열 번호 137	Fab' HC(EU230)	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTLCAISGDSVSTNSA AWNWIRQSPSRGLEWLGRIYYRSQWLNDYAVSV KSRITINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYYCARQ LTPYPTVYHKALDVWGQGLVTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLG TQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPP CP
서열 번호 138	Fab' HC(EU232)	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTLCAISGDSVSTNSA AWNWIRQSPSRGLEWLGRIYYRSQWLNDYAVSV KSRITINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYYCARQ LTPYPTVYHKALDVWGQGLVTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLG TQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPP CPAP
서열 번호 139	Fab' HC(EU236)-Pro	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTLCAISGDSVSTNSA AWNWIRQSPSRGLEWLGRIYYRSQWLNDYAVSV KSRITINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYYCARQ LTPYPTVYHKALDVWGQGLVTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLG TQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPP CPAPELLGP
서열 번호 75	LCDR1 (카밧)	SGDNLGDQYVS
서열 번호 76	LCDR2 (카밧)	DDTDRPS
서열 번호 77	LCDR3 (카밧)	QSTDSKSVV
서열 번호 78	LCDR1 (초티아)	DNLGDQY

[0858]

서열 번호 79	LCDR2 (초티아)	DDT
서열 번호 80	LCDR3 (초티아)	TDSKSV
서열 번호 75	LCDR1 (조합된)	SGDNLGDQYVS
서열 번호 76	LCDR2 (조합된)	DDTDRPS
서열 번호 77	LCDR3 (조합된)	QSTDSKSVV
서열 번호 81	LCDR1 (IMGT)	NLGDQY
서열 번호 79	LCDR2 (IMGT)	DDT
서열 번호 77	LCDR3 (IMGT)	QSTDSKSVV
서열 번호 82	VL (람다)	DIELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDNLGDQYVSW YQQKPGQAPVLIYDDTDRPSGIPERFSGSNSGN TATLTISGTQAEDEADYYCQSTDSKSVVFGGGTK LTVL
서열 번호 83	VL DNA	GATATCGAACTGACCCAGCCGCCGAGCGTGAG CGTGAGCCCGGGCCAGACCGCGAGCATTACCT GTAGCGGCGATAACCTGGGTGACCAATACGTT TCTTGGTACCAGCAGAAACCGGGCCAGGCGCC GGTGCTGGTGATCTACGACGACACTGACCGTC CGAGCGGCATCCCGGAACGTTTTAGCGGATCC AACAGCGGCAACACCGCGACCCTGACCATTAG CGGCACCCAGGCGGAAGACGAAGCGGATTATT ACTGCCAGTCTACTGACTCTAAATCTGTTGTGT TTGGCGGCGGCACGAAGTTAACCCTCCTA
서열 번호 84	Ab/Fab' LC (람다)	DIELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDNLGDQYVSW YQQKPGQAPVLIYDDTDRPSGIPERFSGSNSGN TATLTISGTQAEDEADYYCQSTDSKSVVFGGGTK LTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLIS DFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSN KYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVE KTVAPTECS
서열 번호 85	Ab/Fab' LC DNA	GATATCGAACTGACCCAGCCGCCGAGCGTGAG CGTGAGCCCGGGCCAGACCGCGAGCATTACCT GTAGCGGCGATAACCTGGGTGACCAATACGTT TCTTGGTACCAGCAGAAACCGGGCCAGGCGCC GGTGCTGGTGATCTACGACGACACTGACCGTC CGAGCGGCATCCCGGAACGTTTTAGCGGATCC AACAGCGGCAACACCGCGACCCTGACCATTAG CGGCACCCAGGCGGAAGACGAAGCGGATTATT ACTGCCAGTCTACTGACTCTAAATCTGTTGTGT TTGGCGGCGGCACGAAGTTAACCCTCCTAGGC CAGCCTAAGGCCGCTCCCTCCGTGACCCTGTT CCCCCCCAGCTCCGAGGAAGTGCAGGCCAACA AGGCCACCCTGGTGTGCCTGATCAGCGACTTC

[0859]

		TACCCTGGCGCCGTGACCGTGGCCTGGAAGG CCGACAGCAGCCCCGTGAAGGCCGGCGTGGA GACAACCACCCCCAGCAAGCAGAGCAACAACA AGTACGCCGCCAGCAGCTACCTGAGCCTGACC CCCCGAGCAGTGGAAGAGCCACAGAAGCTACAG CTGCCAGGTCACCCACGAGGGCAGCACCGTG GAGAAAACCGTGGCCCCACCGAGTGCAGC
서열 번호 140	Cys Fab-LC (람다)- A143C (EU)	DIELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDNLGDQYVSW YQKPGQAPVLIYDDTDRPSGIPERFSGSNSGN TATLTISGTQAEDEADYQCSTDSKSVVFGGGTK LTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLIS DFYPGCVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNN KYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVE KTVAPTECS
<b>항-cKIT Ab5/Fab5/Fab'5</b>		
서열 번호 86	HCDR1 (카밧)	NYWIA
서열 번호 87	HCDR2 (카밧)	IIYPSNSYTLYSPSFQG
서열 번호 88	HCDR3 (카밧)	VPPGGSISYPAFDH
서열 번호 89	HCDR1 (초티아)	GYSFTNY
서열 번호 90	HCDR2 (초티아)	YPSNSY
서열 번호 88	HCDR3 (초티아)	VPPGGSISYPAFDH
서열 번호 91	HCDR1 (조합된)	GYSFTNYWIA
서열 번호 87	HCDR2 (조합된)	IIYPSNSYTLYSPSFQG
서열 번호 88	HCDR3 (조합된)	VPPGGSISYPAFDH
서열 번호 92	HCDR1 (IMGT)	GYSFTNYW
서열 번호 93	HCDR2 (IMGT)	IYPSNSYT
서열 번호 94	HCDR3 (IMGT)	ARVPPGGSISYPAFDH
서열 번호 95	VH	QVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTNYWI AWVRQMPGKGLEWMGIIYPSNSYTLYSPSFQGG VTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARVPP GGISYPAFDHWGQGLVTVSS
서열 번호 96	VH DNA	CAGGTGCAATTGGTGCAGAGCGGTGCGGAAGT GAAAAAACCGGGCGAAAGCCTGAAAATTAGCT GCAAAGGCTCCGGATATAGCTTCACTAACTACT GGATCGCTTGGGTGCGCCAGATGCCGGGCAA AGGTCTCGAGTGGATGGGCATCATCTACCCGT CTAACAGCTACACCCTGTATAGCCCCGAGCTTTC AGGGCCAGGTGACCATTAGCGCGGATAAAAAGC ATCAGCACCGCGTATCTGCAATGGAGCAGCCT GAAAGCGAGCGATACCGCGATGTATTATTGCG CGCGTGTTCCGCCGGGTGGTTCTATCTCTTAC

[0860]

		CCGGCTTTTCGATCATTGGGGCCAAGGCACCCT GGTGA CTGTTAGCTCA
서열 번호 97	Ab HC	QVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTNYWI AWVRQMPGKGLEWMGIIYPSNSYTLYSPSFQGG VTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARVPP GGISYPAFDHWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLA PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCP APPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALH NHYTQKSLSLSPGK
서열 번호 98	Ab HC DNA	CAGGTGCAATTGGTGCAGAGCGGTGCGGAAGT GAAAAAACCGGGCGAAAGCCTGAAAATTAGCT GCAAAGGCTCCGGATATAGCTTCACTAACTACT GGATCGCTTGGGTGCGCCAGATGCCGGGCAA AGGTCTCGAGTGGATGGGCATCATCTACCCGT CTAACAGCTACACCCTGTATAGCCCGAGCTTTC AGGGCCAGGTGACCATTAGCGCGGATAAAAGC ATCAGCACCGCGTATCTGCAATGGAGCAGCCT GAAAGCGAGCGATACCGCGATGTATTATTGCG CGCGTGTTCGCGCGGGTGGTTCTATCTCTTAC CCGGCTTTTCGATCATTGGGGCCAAGGCACCCT GGTGA CTGTTAGCTCAGCTAGCACCAAGGGCC CCAGCGTGTTCCTCCGCCCCAGCAGCAAG TCTACTTCCGGCGGAACTGCTGCCCTGGGTTG CCTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGA CAGTGTCTGGA ACTCTGGGGCTCTGACTTCC GGCGTGACACCTTCCCCGCGTGCTGCAGAG CAGCGGCCTGTACAGCCTGAGCAGCGTGGTGA CAGTGCCCTCCAGCTCTCTGGGAACCCAGACC TATATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCAGCAAC ACCAAGGTGGACAAGAGAGTGGAGCCCAAGAG CTGCGACAAGACCCACACCTGCCCCCCTGCC CAGCTCCAGAACTGCTGGGAGGGCCTTCCGTG TTCCTGTTCCCCCAAGCCCAAGGACACCCT GATGATCAGCAGGACCCCGAGGTGACCTGCG TGGTGGTGGACGTGTCCCACGAGGACCCAGA GGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGG

[0861]

		<p>AGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCCAGAGAG                  GAGCAGTACAACAGCACCTACAGGGTGGTGTC                  CGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGACTGGCTGA                  ACGGCAAAGAATAACAAGTGCAAAGTCTCCAACA                  AGGCCCTGCCAGCCCCAATCGAAAAGACAATC                  AGCAAGGCCAAGGGCCAGCCACGGGAGCCCC                  AGGTGTACACCCTGCCCCCAGCCGGGAGGA                  GATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGTC                  TGGTGAAGGGCTTCTACCCAGCGATATCGCC                  GTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCCAGAGA                  ACAACTACAAGACCACCCCCCAGTGCTGGAC                  AGCGACGGCAGCTTCTCCTGTACAGCAAGCT                  GACCGTGGACAAGTCCAGGTGGCAGCAGGGC                  AACGTGTTAGCTGCAGCGTGATGCACGAGGC                  CCTGCACAACCACTACCCCAGAAGTCCCTGA                  GCCTGAGCCCCGGCAAG</p>
서열 번호 99	Fab' HC (EU236)	<p>QVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTNYWI                  AWVRQMPGKGLEWMGIIPSNSYTLSPSFQGG                  VTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYCARVPP                  GGSISYPAFDHWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLA                  PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA                  LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQ                  TYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKHTCPCP                  APELLG</p>
서열 번호 100	Fab' HC DNA	<p>CAGGTGCAATTGGTGCAGAGCGGTGCGGAAGT                  GAAAAAACCGGGCGAAAGCCTGAAAATTAGCT                  GCAAAGGCTCCGGATATAGCTTCACTAACTACT                  GGATCGCTTGGGTGCGCCAGATGCCGGGCAA                  AGGTCTCGAGTGGATGGGCATCATCTACCCGT                  CTAACAGCTACACCCTGTATAGCCCCGAGCTTTC                  AGGGCCAGGTGACCATTAGCGCGGATAAAAGC                  ATCAGCACCGCGTATCTGCAATGGAGCAGCCT                  GAAAGCGAGCGATACCGCGATGTATTATTGCG                  CGCGTGTTCGCCGGGTGGTTCTATCTTTAC                  CCGGCTTTCGATCATTGGGGCCAAGGCACCCT                  GGTGACTGTTAGCTCAGCTAGCACCAAGGGCC                  CCAGCGTGTTCGCCCTGGCCCCAGCAGCAAG                  TCTACTTCCGGCGGAACTGCTGCCCTGGGTTG                  CCTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGA                  CAGTGTCTGGAACCTCTGGGGCTCTGACTTCC                  GGCGTGCACACCTTCCCCGCCGTGCTGCAGAG                  CAGCGGCCTGTACAGCCTGAGCAGCGTGGTGA                  CAGTGCCCTCCAGCTCTCTGGGAACCCAGACC</p>

[0862]

		TATATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCAGCAAC ACCAAGGTGGACAAGAGAGTGGAGCCCAAGAG CTGCGACAAGACCCACACCTGCCCCCCTGCC CAGCTCCAGAACTGCTGGGA
서열 번호 141	Cys Fab HC(EU221)-HC- E152C (EU)	QVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTNYWI AWVRQMPGKGLEWMGIIYPSNSYTLYSPSFQGG VTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARVPP GGISYPAFDHWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLA PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPCPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCD
서열 번호 142	Fab' HC(EU230)	QVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTNYWI AWVRQMPGKGLEWMGIIYPSNSYTLYSPSFQGG VTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARVPP GGISYPAFDHWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLA PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCP
서열 번호 143	Fab' HC(EU232)	QVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTNYWI AWVRQMPGKGLEWMGIIYPSNSYTLYSPSFQGG VTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARVPP GGISYPAFDHWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLA PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCP AP
서열 번호 144	Fab' HC(EU236)-Pro	QVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTNYWI AWVRQMPGKGLEWMGIIYPSNSYTLYSPSFQGG VTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARVPP GGISYPAFDHWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLA PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCP APELLGP
서열 번호 101	LCDR1 (카밧)	SGDNIGSIYAS
서열 번호 102	LCDR2 (카밧)	RDNKRPS
서열 번호 103	LCDR3 (카밧)	SVTDMEQHSV
서열 번호 104	LCDR1 (쵸티아)	DNIGSIY
서열 번호 105	LCDR2 (쵸티아)	RDN
서열 번호 106	LCDR3 (쵸티아)	TDMEQHS
서열 번호 101	LCDR1 (조합된)	SGDNIGSIYAS
서열 번호 102	LCDR2 (조합된)	RDNKRPS

[0863]

서열 번호 103	LCDR3 (조합된)	SVTDMEQHSV
서열 번호 107	LCDR1 (IMGT)	NIGSIY
서열 번호 105	LCDR2 (IMGT)	RDN
서열 번호 103	LCDR3 (IMGT)	SVTDMEQHSV
서열 번호 108	VL (람다)	DIELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDNIGSIYASWY QQKPGQAPVLYIYRDNKRPSGIPERFSGSNSGNT ATLTISGTQAEDEADYYCSVTDMEQHSVFGGGT KLTVL
서열 번호 109	VL DNA	GATATCGAACTGACCCAGCCGCCGAGCGTGAG CGTGAGCCCGGGCCAGACCGCGAGCATTACCT GTAGCGGCGATAACATCGGTTCTATCTACGCTT CTTGGTACCAGCAGAAACCGGGCCAGGCGCC GGTGCTGGTGATCTACCGTGACAACAAACGTC CGAGCGGCATCCCGGAACGTTTTAGCGGATCC AACAGCGGCAACACCGCGACCCTGACCATTAG CGGCACCCAGGCGGAAGACGAAGCGGATTATT ACTGCTCCGTTACTGACATGGAACAGCATTCTG TGTTTGCGGCGGCACGAAGTTAACCGTCCTA
서열 번호 110	Ab/Fab' LC (람다)	DIELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDNIGSIYASWY QQKPGQAPVLYIYRDNKRPSGIPERFSGSNSGNT ATLTISGTQAEDEADYYCSVTDMEQHSVFGGGT KLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLI SDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSN NKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTV EKTVAPECS
서열 번호 111	Ab/Fab' LC DNA	GATATCGAACTGACCCAGCCGCCGAGCGTGAG CGTGAGCCCGGGCCAGACCGCGAGCATTACCT GTAGCGGCGATAACATCGGTTCTATCTACGCTT CTTGGTACCAGCAGAAACCGGGCCAGGCGCC GGTGCTGGTGATCTACCGTGACAACAAACGTC CGAGCGGCATCCCGGAACGTTTTAGCGGATCC AACAGCGGCAACACCGCGACCCTGACCATTAG CGGCACCCAGGCGGAAGACGAAGCGGATTATT ACTGCTCCGTTACTGACATGGAACAGCATTCTG TGTTTGCGGCGGCACGAAGTTAACCGTCCTA GGCCAGCCTAAGGCCGCTCCCTCCGTGACCCT GTTCCCCCCCAGCTCCGAGGAACTGCAGGCCA ACAAGGCCACCCTGGTGTGCCTGATCAGCGAC TTCTACCCTGGCGCCGTGACCGTGGCCTGGAA GGCCGACAGCAGCCCCGTGAAGGCCGGCGTG GAGACAACCACCCAGCAAGCAGAGCAACAA CAAGTACGCCGCCAGCAGCTACCTGAGCCTGA CCCCGAGCAGTGGAAGAGCCACAGAAGCTAC

[0864]

		AGCTGCCAGGTCACCCACGAGGGCAGCACCG TGGAGAAAACCGTGGCCCCACCGAGTGCAGC
서열 번호 145	Cys Fab-LC (람다)- A144C (EU)	DIELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDNIGSIYASWY QQKPGQAPVLYIYRDNKRPSGIPERFSGSNSGNT ATLTISGTQAEDEADYYCSVTDMEQHSVFGGGT KLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLI SDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSN NKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTV EKTVAPECS

[0865]

[0866]

본원에 개시된 다른 항-cKIT 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')은 아미노산 또는 아미노산을 암호화하는 핵산이 돌연변이되지만 표 1에 기재된 서열에 대해 적어도 60%, 70%, 80%, 90% 또는 95%의 동일성을 갖는 것을 포함한다. 일부 양태에서, 이는 표 1에 기재된 서열에 도시된 가변 영역과 비교할 때 가변 영역에서 1

개, 2개, 3개, 4개 또는 5개 이하의 아미노산이 돌연변이되지만 실질적으로 동일한 치료 활성을 보유하는 돌연변이체 아미노산 서열을 포함한다.

- [0867] 이러한 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')의 각각은 cKIT에 결합할 수 있으므로, VH, VL, 중쇄, 및 경쇄 서열(아미노산 서열 및 아미노산 서열을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열)을 "혼합 및 매치"하여 cKIT에 결합하는 다른 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')을 생성할 수 있다. 이러한 "혼합 및 매치된" cKIT에 결합하는 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')은 당해 분야에 공지된 결합 분석법(예를 들어, ELISA, 및 실시예 부문에 기재된 기타 분석법)을 이용하여 시험할 수 있다. 이들 사슬이 혼합 및 매치될 때, 특정 VH/VL 쌍으로부터의 VH 서열은 구조적으로 유사한 VH 서열로 교체되어야 한다. 마찬가지로 특정 중쇄/경쇄 쌍으로부터의 중쇄 서열은 구조적으로 유사한 중쇄 서열로 교체되어야 한다. 마찬가지로, 특정 VH/VL 쌍으로부터의 VL 서열은 구조적으로 유사한 VL 서열로 교체되어야 한다. 마찬가지로, 특정 중쇄/경쇄 쌍으로부터 경쇄 서열은 구조적으로 유사한 경쇄 서열로 교체되어야 한다.
- [0868] 따라서, 일 양태에서, 본 발명은 서열 번호 10, 36, 54, 69 및 95로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(표 1); 및 서열 번호 23, 47, 82 및 108로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(표 1)을 갖는 단리된 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')을 제공하고; 여기서 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')은 인간 cKIT에 특이적으로 결합한다.
- [0869] 다른 양태에서, 본 발명은 서열 번호 12, 38, 56, 71 및 97로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및 서열 번호 25, 49, 84 및 110으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 갖는 단리된 항체를 제공한다.
- [0870] 다른 양태에서, 본 발명은 서열 번호 14, 40, 58, 73 및 99로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및 서열 번호 25, 49, 84 및 110으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 갖는 단리된 항체 단편(예를 들어, Fab')을 제공한다.
- [0871] 다른 양태에서, 본 개시는 표 1에 기재된 바와 같은 중쇄 및 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3, 또는 이의 조합을 포함하는 cKIT에 결합하는 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')을 제공한다. 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')의 VH CDR1(또는 HCDR1)의 아미노산 서열은 서열 번호 1, 4, 6, 7, 27, 30, 32, 33, 60, 63, 65, 66, 86, 89, 91 및 92에 기재되어 있다. 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')의 VH CDR2(또는 HCDR2)의 아미노산 서열은 서열 번호 2, 5, 8, 28, 31, 34, 51, 52, 53, 61, 64, 67, 87, 90 및 93에 기재되어 있다. 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')의 VH CDR3(또는 HCDR3)의 아미노산 서열은 서열 번호 3, 9, 29, 35, 62, 68, 88 및 94에 기재되어 있다. 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')의 VL CDR1(또는 LCDR1)의 아미노산 서열은 서열 번호 16, 19, 22, 42, 44, 46, 75, 78, 81, 101, 104 및 107에 기재되어 있다. 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')의 VL CDR2(또는 LCDR2)의 아미노산 서열은 서열 번호 17, 20, 76, 79, 102 및 105에 기재되어 있다. 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')의 VL CDR3(또는 LCDR3)의 아미노산 서열은 서열 번호 18, 21, 43, 45, 77, 80, 103 및 106에 기재되어 있다.
- [0872] 이들 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')의 각각이 인간 cKIT에 결합할 수 있다는 점 및 항원 결합 특이성이 주로 CDR1, 2 및 3 영역에 의해 제공된다는 점을 고려하면, VH CDR1, 2 및 3 서열(또는 HCDR1, 2, 3) 및 VL CDR1, 2 및 3 영역들(또는 LCDR1, 2, 3)은 "혼합 및 매치"될 수 있다(즉, 상이한 항체로부터의 CDR이 혼합 및 매치될 수 있지만, cKIT에 결합하는 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')을 생성하기 위하여 각각의 항체는 VH CDR1, 2 및 3, 그리고 VL CDR1, 2 및 3을 함유하여야 한다). 이러한 "혼합 및 매치된" cKIT에 결합하는 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')은 당해 분야에 공지된 결합 분석법을 이용하여 시험할 수 있다. VH CDR 서열이 혼합 및 매칭되는 경우, 특정 VH 서열로부터의 CDR1, CDR2, 및/또는 CDR3 서열은 구조적으로 유사한 CDR 서열(들)로 대체되어야 한다. 마찬가지로, VL CDR 서열이 혼합 및 매칭되는 경우, 특정 VL 서열로부터의 CDR1, CDR2, 및/또는 CDR3 서열은 구조적으로 유사한 CDR 서열(들)로 대체되어야 한다. 하나 이상의 VH 및/또는 VL CDR 영역 서열을 본원에 기재된 CDR 서열로부터의 구조적으로 유사한 서열로 치환하여 신규의 VH 및 VL 서열을 생성할 수 있다는 점을 당업자는 쉽게 알 수 있을 것이다.
- [0873] 따라서, 본 발명은 서열 번호 1, 4, 6, 7, 27, 30, 32, 33, 60, 63, 65, 66, 86, 89, 91 및 92로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 CDR1(HCDR1); 서열 번호 2, 5, 8, 28, 31, 34, 51, 52, 53, 61, 64, 67, 87, 90 및 93으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 CDR2(HCDR2); 서열 번호 3, 9, 29, 35, 62, 68, 88 및 94로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 CDR3(HCDR3); 서열 번호 16, 19, 22, 42, 44, 46, 75, 78, 81, 101, 104 및 107로 이루어진 군으로부터 선택된

아미노산 서열을 포함하는 경쇄 CDR1(LCDR1); 서열 번호 17, 20, 76, 79, 102 및 105로 이루어진 균으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 CDR2(LCDR2); 및 서열 번호 18, 21, 43, 45, 77, 80, 103 및 106으로 이루어진 균으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 CDR3(LCDR3)을 포함하는 단리된 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')을 제공하고; 여기서 항체는 cKIT에 특이적으로 결합한다.

- [0874] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')은 서열 번호 1의 HCDR1; 서열 번호 2의 HCDR2; 서열 번호 3의 HCDR3; 서열 번호 16의 LCDR1; 서열 번호 17의 LCDR2; 및 서열 번호 18의 LCDR3을 포함한다.
- [0875] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')은 서열 번호 4의 HCDR1; 서열 번호 5의 HCDR2; 서열 번호 3의 HCDR3; 서열 번호 19의 LCDR1; 서열 번호 20의 LCDR2; 및 서열 번호 21의 LCDR3을 포함한다.
- [0876] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')은 서열 번호 6의 HCDR1; 서열 번호 2의 HCDR2; 서열 번호 3의 HCDR3; 서열 번호 16의 LCDR1; 서열 번호 17의 LCDR2; 및 서열 번호 18의 LCDR3을 포함한다.
- [0877] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')은 서열 번호 7의 HCDR1; 서열 번호 8의 HCDR2; 서열 번호 9의 HCDR3; 서열 번호 22의 LCDR1; 서열 번호 20의 LCDR2; 및 서열 번호 18의 LCDR3을 포함한다.
- [0878] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')은 서열 번호 27의 HCDR1; 서열 번호 28의 HCDR2; 서열 번호 29의 HCDR3; 서열 번호 42의 LCDR1; 서열 번호 17의 LCDR2; 및 서열 번호 43의 LCDR3을 포함한다.
- [0879] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')은 서열 번호 30의 HCDR1; 서열 번호 31의 HCDR2; 서열 번호 29의 HCDR3; 서열 번호 44의 LCDR1; 서열 번호 20의 LCDR2; 및 서열 번호 45의 LCDR3을 포함한다.
- [0880] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')은 서열 번호 32의 HCDR1; 서열 번호 28의 HCDR2; 서열 번호 29의 HCDR3; 서열 번호 42의 LCDR1; 서열 번호 17의 LCDR2; 및 서열 번호 43의 LCDR3을 포함한다.
- [0881] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')은 서열 번호 33의 HCDR1; 서열 번호 34의 HCDR2; 서열 번호 35의 HCDR3; 서열 번호 46의 LCDR1; 서열 번호 20의 LCDR2; 및 서열 번호 43의 LCDR3을 포함한다.
- [0882] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')은 서열 번호 1의 HCDR1; 서열 번호 51의 HCDR2; 서열 번호 3의 HCDR3; 서열 번호 16의 LCDR1; 서열 번호 17의 LCDR2; 및 서열 번호 18의 LCDR3을 포함한다.
- [0883] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')은 서열 번호 4의 HCDR1; 서열 번호 52의 HCDR2; 서열 번호 3의 HCDR3; 서열 번호 19의 LCDR1; 서열 번호 20의 LCDR2; 및 서열 번호 21의 LCDR3을 포함한다.
- [0884] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')은 서열 번호 6의 HCDR1; 서열 번호 51의 HCDR2; 서열 번호 3의 HCDR3; 서열 번호 16의 LCDR1; 서열 번호 17의 LCDR2; 및 서열 번호 18의 LCDR3을 포함한다.
- [0885] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')은 서열 번호 7의 HCDR1; 서열 번호 53의 HCDR2; 서열 번호 9의 HCDR3; 서열 번호 22의 LCDR1; 서열 번호 20의 LCDR2; 및 서열 번호 18의 LCDR3을 포함한다.
- [0886] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')은 서열 번호 60의 HCDR1; 서열 번호 61의 HCDR2; 서열 번호 62의 HCDR3; 서열 번호 75의 LCDR1; 서열 번호 76의 LCDR2; 및 서열 번호 77의 LCDR3을 포함한다.
- [0887] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')은 서열 번호 63의 HCDR1; 서열 번호 64의 HCDR2; 서열 번호 62의 HCDR3; 서열 번호 78의 LCDR1; 서열 번호 79의 LCDR2;

및 서열 번호 80의 LCDR3을 포함한다.

- [0888] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')은 서열 번호 65의 HCDR1; 서열 번호 61의 HCDR2; 서열 번호 62의 HCDR3; 서열 번호 75의 LCDR1; 서열 번호 76의 LCDR2; 및 서열 번호 77의 LCDR3을 포함한다.
- [0889] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')은 서열 번호 66의 HCDR1; 서열 번호 67의 HCDR2; 서열 번호 68의 HCDR3; 서열 번호 81의 LCDR1; 서열 번호 79의 LCDR2; 및 서열 번호 77의 LCDR3을 포함한다.
- [0890] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')은 서열 번호 86의 HCDR1; 서열 번호 87의 HCDR2; 서열 번호 88의 HCDR3; 서열 번호 101의 LCDR1; 서열 번호 102의 LCDR2; 및 서열 번호 103의 LCDR3을 포함한다.
- [0891] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')은 서열 번호 89의 HCDR1; 서열 번호 90의 HCDR2; 서열 번호 88의 HCDR3; 서열 번호 104의 LCDR1; 서열 번호 105의 LCDR2; 및 서열 번호 106의 LCDR3을 포함한다.
- [0892] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')은 서열 번호 91의 HCDR1; 서열 번호 87의 HCDR2; 서열 번호 88의 HCDR3; 서열 번호 101의 LCDR1; 서열 번호 102의 LCDR2; 및 서열 번호 103의 LCDR3을 포함한다.
- [0893] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')은 서열 번호 92의 HCDR1; 서열 번호 93의 HCDR2; 서열 번호 94의 HCDR3; 서열 번호 107의 LCDR1; 서열 번호 105의 LCDR2; 및 서열 번호 103의 LCDR3을 포함한다.
- [0894] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')은 서열 번호 10의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH) 및 서열 번호 23의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL)을 포함한다.
- [0895] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')은 서열 번호 36의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열 번호 47의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.
- [0896] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')은 서열 번호 54의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열 번호 23의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.
- [0897] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')은 서열 번호 69의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열 번호 82의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.
- [0898] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')은 서열 번호 95의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열 번호 108의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.
- [0899] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 단편(예를 들어, Fab')은 서열 번호 14의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호 25의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.
- [0900] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 단편(예를 들어, Fab')은 서열 번호 40의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호 49의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.
- [0901] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 단편(예를 들어, Fab')은 서열 번호 58의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호 25의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.
- [0902] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 단편(예를 들어, Fab')은 서열 번호 73의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호 84의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.
- [0903] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 단편(예를 들어, Fab')은 서열 번호 99의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호 110의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.
- [0904] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 단편(예를 들어, Fab')은 서열 번호 119, 120 또는 121로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호 25의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.

- [0905] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 단편(예를 들어, Fab')은 서열 번호 125, 126 또는 127로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호 49의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.
- [0906] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 단편(예를 들어, Fab')은 서열 번호 131, 132 또는 133으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호 25의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.
- [0907] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 단편(예를 들어, Fab')은 서열 번호 137, 138 또는 139로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호 84의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.
- [0908] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 단편(예를 들어, Fab')은 서열 번호 142, 143 또는 144로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호 110의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.
- [0909] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체는 서열 번호 12의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호 25의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.
- [0910] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체는 서열 번호 38의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호 49의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.
- [0911] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체는 서열 번호 56의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호 25의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.
- [0912] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체는 서열 번호 71의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호 84의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.
- [0913] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체는 서열 번호 97의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호 110의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.
- [0914] 소정의 양태에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')은 표 1에 기재된 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')이다.
- [0915] 1. 동일한 에피토프에 결합하는 항체
- [0916] 본 발명은 인간 cKIT 수용체의 세포외 도메인 내의 에피토프에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')을 제공한다. 소정의 양태에서, 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')은 인간 cKIT 세포외 도메인의 도메인 1 내지 3 내의 에피토프에 결합할 수 있다.
- [0917] 본 발명은 또한 표 1에 기재된 항-cKIT 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')과 동일한 에피토프에 결합하는 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')을 제공한다. 따라서, 추가의 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')은 cKIT 결합 검정에서 다른 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')과 교차경쟁하는 능력(예를 들어, 통계적으로 유의미한 방식으로 결합을 경쟁적으로 억제하는 능력)을 기반으로 하여 확인될 수 있다. 교차 경쟁을 기반으로 하여 항체를 "비닝(binning)"하는 고처리량 공정은 국제 특허 출원 WO 2003/48731호에 기재되어 있다. 본원에 개시된 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')의 cKIT 단백질(예를 들어, 인간 cKIT)에 대한 결합을 억제하는 시험 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')의 능력은 시험 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')이 cKIT에 대한 결합에 대해 그 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')과 경쟁할 수 있으며; 이러한 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')은, 비제한적인 이론에 따르면, 그것이 경쟁하는 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')과 cKIT 단백질 상의 동일하거나 관련된(예를 들어, 구조적으로 유사하거나 공간적으로 가장 가까운) 에피토프에 결합할 수 있음을 증명한다. 소정의 양태에서, 본원에 개시된 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')과 cKIT 상의 동일한 에피토프에 결합하는 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')은 인간 또는 인간화된 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')이다. 이러한 인간 또는 인간화된 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')은 본원에 기재된 바와 같이 제조되고 단리될 수 있다.
- [0918] 2. 프레임워크의 변형
- [0919] 본원에 개시된 항체 약물 접합체는 예를 들어 항체 약물 접합체의 특성을 개선하기 위하여, VH 및/또는 VL 내의

프레임워크 잔기에 대한 변형을 포함하는, 변형된 cKIT 결합 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')을 포함할 수 있다.

- [0920] 일부 구현예에서, 프레임워크 변형은 항체 또는 항체 약물 접합체의 면역원성을 감소시키기 위하여 이루어진다. 예를 들어, 하나의 접근법은 1개 이상의 프레임워크 잔기를 상응하는 생식선 서열로 "역돌연변이"시키는 것이다. 이러한 잔기는 항체 프레임워크 서열을 항체가 유래된 생식선 서열과 비교함으로써 확인될 수 있다. 프레임워크 영역 서열을 원하는 생식선 배열에 "매칭"시키기 위해, 잔기는 예를 들어 부위 특이적 돌연변이유발에 의해 상응하는 생식선 서열로 "역돌연변이"될 수 있다. 이러한 "역돌연변이"된 항체 또는 항체 약물 접합체는 또한 본 발명에 포함된다.
- [0921] 다른 유형의 프레임워크 변형은 프레임워크 영역 내, 또는 심지어 1개 이상의 CDR 영역 내의 1개 이상의 잔기를 돌연변이시켜 T 세포 에피토프를 제거함으로써 항체 또는 항체 약물 접합체의 잠재적인 면역원성을 감소시키는 것을 수반한다. 이러한 접근법은 또한, "탈면역화"로도 지칭되고, Carr 등에 의한 미국 특허 공개 2003/0153043 호에 더 상세히 기술되어 있다.
- [0922] 프레임워크 또는 CDR 영역 내에서 이루어진 변형에 추가로 또는 대안적으로, 항체의 1종 이상의 기능적 특성, 예컨대 혈청 반감기, 보체 고정을 변경하기 위하여 항체를 조작할 수 있다. 나아가, 다시 항체의 1종 이상의 기능적 특성을 변경하기 위하여, 항체를 화학적으로 변형할 수 있거나(예를 들어, 1종 이상의 화학적 모이어티는 항체에 부착될 수 있음), 이의 글리코실화가 변경되도록 변형할 수 있다. 각각의 이러한 양태를 아래에서 더 상세히 기술한다.
- [0923] 일 양태에서, CH1의 힌지 영역은, 힌지 영역 내의 시스테인 잔기의 수가 변경되도록, 예를 들어 증가되거나 감소되도록 변형된다. 이 접근법은 Bodmer 등에 의한 미국 특허 5,677,425호에 더 기술되어 있다. CH1의 힌지 영역 내의 시스테인 잔기의 수는 예를 들어 경쇄 및 중쇄의 조립을 용이하게 하거나, 항체의 안정성을 증가시키거나 감소시키거나, 다른 분자에 대한 접합을 가능하도록 변경된다.
- [0924] 일부 구현예에서, 본원에 개시된 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')은 약물 모이어티에 대한 접합 부위로서, 변형된 또는 조작된 아미노산 잔기, 예를 들어 1개 이상의 시스테인 잔기를 포함한다(Junutula JR, et al.: Nat Biotechnol 2008, 26:925-932). 일 구현예에서, 본 발명은 본원에 기재된 위치에서 1개 이상의 아미노산의 시스테인으로의 치환을 포함하는 변형된 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')을 제공한다. 시스테인 치환을 위한 부위는 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')의 불변 영역 내이고, 따라서 다양한 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')에 적용 가능하고, 이 부위는 안정적이고 균질한 접합체를 제공하도록 선택된다. 변형된 항체 또는 단편은 1개, 2개 이상의 시스테인 치환을 가질 수 있고, 이들 치환은 본원에 기재된 바와 같은 다른 변형 및 접합 방법과 조합하여 사용될 수 있다. 시스테인을 항체의 특정 위치에 삽입하는 방법은 당해 분야에 공지되어 있고, 예를 들어 문헌[Lyons et al, (1990) Protein Eng., 3:703-708], WO 2011/005481호, WO2014/124316호, WO 2015/138615호를 참조한다. 소정의 구현예에서, 변형된 항체는 항체의 중쇄의 117번, 119번, 121번, 124번, 139번, 152번, 153번, 155번, 157번, 164번, 169번, 171번, 174번, 189번, 191번, 195번, 197번, 205번, 207번, 246번, 258번, 269번, 274번, 286번, 288번, 290번, 292번, 293번, 320번, 322번, 326번, 333번, 334번, 335번, 337번, 344번, 355번, 360번, 375번, 382번, 390번, 392번, 398번, 400번 및 422번 위치로부터 선택된 불변 영역 상에서 1개 이상의 아미노산의 시스테인으로의 치환을 포함하며, 여기서 이 위치는 EU 시스템에 따라 넘버링된다. 소정의 구현예에서, 변형된 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')은 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')의 중쇄의 121번, 124번, 152번, 153번, 155번, 157번, 164번, 169번, 171번, 174번, 189번 및 207번 위치로부터 선택된 불변 영역 상에서 1개 이상의 아미노산의 시스테인으로의 치환을 포함하며, 여기서 이 위치는 EU 시스템에 따라 넘버링된다. 소정의 구현예에서, 변형된 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')은 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')의 중쇄의 124번, 152번, 153번, 155번, 157번, 164번, 174번, 189번 및 207번 위치로부터 선택된 불변 영역 상에서 1개 이상의 아미노산의 시스테인으로의 치환을 포함하며, 여기서 이 위치는 EU 시스템에 따라 넘버링된다.
- [0925] 일부 구현예에서, 변형된 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')은 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')의 경쇄의 107번, 108번, 109번, 114번, 126번, 127번, 129번, 142번, 143번, 145번, 152번, 154번, 156번, 157번, 159번, 161번, 165번, 168번, 169번, 170번, 182번, 183번, 188번, 197번, 199번 및 203번 위치로부터 선택된 불변 영역 상에서 1개 이상의 아미노산의 시스테인으로의 치환을 포함하며, 여기서 이 위치는 EU 시스템에 따라 넘버링되고, 이 경쇄는 인간 카파 경쇄이다. 일부 구현예에서, 변형된 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')은 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')의 경쇄의 위치 107번, 108번, 114번,

126번, 127번, 129번, 142번, 159번, 161번, 165번, 183번 및 203번 위치로부터 선택된 불변 영역 상에서 1개 이상의 아미노산의 시스템으로의 치환을 포함하며, 여기서 이 위치는 EU 시스템에 따라 넘버링되고, 이 경쇄는 인간 카파 경쇄이다. 일부 구현예에서, 변형된 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')은 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')의 경쇄의 114번, 129번, 142번, 145번, 152번, 159번, 161번, 165번 및 197번 위치로부터 선택된 불변 영역 상에서 1개 이상의 아미노산의 시스템으로의 치환을 포함하며, 여기서 이 위치는 EU 시스템에 따라 넘버링되고, 이 경쇄는 인간 카파 경쇄이다. 일부 구현예에서, 변형된 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')은 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')의 경쇄의 107번, 108번, 109번, 126번, 143번, 145번, 152번, 154번, 156번, 157번, 159번, 182번, 183번, 188번, 197번, 199번 및 203번 위치로부터 선택된 불변 영역 상에서 1개 이상의 아미노산의 시스템으로의 치환을 포함하고, 여기서 이 위치는 EU 시스템에 따라 넘버링되고, 이 경쇄는 인간 카파 경쇄이다. 일부 구현예에서, 변형된 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')은 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')의 경쇄의 145번, 152번 및 197번 위치로부터 선택된 불변 영역 상에서 1개 이상의 아미노산의 시스템으로의 치환을 포함하고, 여기서 이 위치는 EU 시스템에 따라 넘버링되고, 이 경쇄는 인간 카파 경쇄이다. 일부 구현예에서, 변형된 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')은 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')의 경쇄의 114번 및 165번 위치로부터 선택된 불변 영역 상에서 1개 이상의 아미노산의 시스템으로의 치환을 포함하며, 여기서 이 위치는 EU 시스템에 따라 넘버링되고, 이 경쇄는 인간 카파 경쇄이다.

[0926] 일부 구현예에서, 변형된 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')은 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')의 경쇄의 143번, 145번, 147번, 156번, 159번, 163번, 168번 위치로부터 선택된 불변 영역 상에서 1개 이상의 아미노산의 시스템으로의 치환을 포함하며, 여기서 이 위치는 EU 시스템에 따라 넘버링되고, 이 경쇄는 인간 람다 경쇄이다. 일부 구현예에서, 변형된 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')은 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')의 경쇄의 (EU 넘버링에 의한) 143번 위치에서 시스템을 포함하며, 여기서 이 경쇄는 인간 람다 경쇄이다.

[0927] 소정의 구현예에서, 변형된 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')은 불변 영역 상에서 2개 이상의 아미노산의 시스템으로의 치환의 조합을 포함하며, 위치의 조합은 위에 열거된 위치 중 임의의 위치로부터 선택될 수 있다.

[0928] 일부 구현예에서, 변형된 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')은 중쇄의 124번 위치, 중쇄의 152번 위치, 중쇄의 153번 위치, 중쇄의 155번 위치, 중쇄의 157번 위치, 중쇄의 164번 위치, 중쇄의 174번 위치, 경쇄의 114번 위치, 경쇄의 129번 위치, 경쇄의 142번 위치, 경쇄의 159번 위치, 경쇄의 161번 위치 또는 경쇄의 165번 위치 중 하나 이상에서 시스템을 포함하며, 여기서 이 위치들은 EU 시스템에 따라 넘버링되고, 경쇄는 카파 사슬이다. 일부 구현예에서, 변형된 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')은 중쇄의 124번 위치, 중쇄의 152번 위치, 중쇄의 153번 위치, 중쇄의 155번 위치, 중쇄의 157번 위치, 중쇄의 164번 위치, 중쇄의 174번 위치, 경쇄의 114번 위치, 경쇄의 129번 위치, 경쇄의 142번 위치, 경쇄의 159번 위치, 경쇄의 161번 위치 또는 경쇄의 165번 위치 중 4곳에서 시스템을 포함하며, 여기서 이 위치들은 EU 시스템에 따라 넘버링되고, 경쇄는 카파 사슬이다.

[0929] 일부 구현예에서, 변형된 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')은 중쇄의 152번 위치에서 시스템을 포함하고, 여기서 이 위치는 EU 시스템에 따라 넘버링된다. 일부 구현예에서, 변형된 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')은 중쇄의 124번 위치에서 시스템을 포함하고, 여기서 이 위치는 EU 시스템에 따라 넘버링된다. 일부 구현예에서, 변형된 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')은 경쇄의 165번 위치에서 시스템을 포함하고, 여기서 이 위치는 EU 시스템에 따라 넘버링되고, 이 경쇄는 카파 사슬이다. 일부 구현예에서, 변형된 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')은 경쇄의 114번 위치에서 시스템을 포함하고, 여기서 이 위치는 EU 시스템에 따라 넘버링되고, 이 경쇄는 카파 사슬이다. 일부 구현예에서, 변형된 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')은 경쇄의 143번 위치에서 시스템을 포함하고, 여기서 이 위치는 EU 시스템에 따라 넘버링되고, 이 경쇄는 람다 사슬이다.

[0930] 일부 구현예에서, 변형된 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')은 중쇄의 152번 위치 및 경쇄의 165번 위치에서 시스템을 포함하고, 여기서 이 위치는 EU 시스템에 따라 넘버링되고, 이 경쇄는 카파 사슬이다. 일부 구현예에서, 변형된 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')은 중쇄의 152번 위치 및 경쇄의 114번 위치에서 시스템을 포함하고, 여기서 이 위치는 EU 시스템에 따라 넘버링되고, 이 경쇄는 카파 사슬이다. 일부 구현예에서, 변형된 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')은 중쇄의 152번 위치 및 경쇄의 143번 위치에서 시스템을 포함하고, 여기서 이 위치는 EU 시스템에 따라 넘버링되고, 이 경쇄는 람다 사슬이다.

일부 구현예에서, 변형된 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')은 중쇄의 124번 위치 및 152번 위치에서 시스테인을 포함하고, 여기서 이 위치는 EU 시스템에 따라 넘버링된다.

[0931] 일부 구현예에서, 변형된 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')은 중쇄의 155번 위치, 중쇄의 189번 위치, 중쇄의 207번 위치, 경쇄의 145번 위치, 경쇄의 152번 위치 또는 경쇄의 197번 위치 중 하나 이상에서 시스테인을 포함하며, 여기서 이 위치는 EU 시스템에 따라 넘버링되고, 경쇄는 카파 사슬이다. 일부 구현예에서, 변형된 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')은 중쇄의 155번 위치, 중쇄의 189번 위치, 중쇄의 207번 위치, 경쇄의 145번 위치, 경쇄의 152번 위치 또는 경쇄의 197번 위치 중 2곳 이상(예를 들어, 2곳, 3곳, 4곳)에서 시스테인을 포함하며, 여기서 이 위치는 EU 시스템에 따라 넘버링되고, 경쇄는 카파 사슬이다.

[0932] 일부 구현예에서, 변형된 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')은 중쇄의 124번 위치, 중쇄의 152번 위치, 중쇄의 153번 위치, 중쇄의 155번 위치, 중쇄의 157번 위치, 중쇄의 164번 위치, 중쇄의 174번 위치, 경쇄의 114번 위치, 경쇄의 129번 위치, 경쇄의 142번 위치, 경쇄의 159번 위치, 경쇄의 161번 위치 또는 경쇄의 165번 위치 중 하나 이상에서 시스테인을 포함하며, 여기서 이 위치들은 EU 시스템에 따라 넘버링되고, 경쇄는 카파 사슬이다. 일부 구현예에서, 변형된 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')은 중쇄의 124번 위치, 중쇄의 152번 위치, 중쇄의 153번 위치, 중쇄의 155번 위치, 중쇄의 157번 위치, 중쇄의 164번 위치, 중쇄의 174번 위치, 경쇄의 114번 위치, 경쇄의 129번 위치, 경쇄의 142번 위치, 경쇄의 159번 위치, 경쇄의 161번 위치 또는 경쇄의 165번 위치 중 2곳 이상(예를 들어, 2곳, 3곳, 4곳)에서 시스테인을 포함하며, 여기서, 이 위치는 EU 시스템에 따라 넘버링되고, 경쇄는 카파 사슬이다.

[0933] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 변형된 항체 단편(예를 들어, Fab)은 서열 번호 118의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호 122의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.

[0934] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 변형된 항체 단편(예를 들어, Fab)은 서열 번호 118의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호 123의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.

[0935] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 변형된 항체 단편(예를 들어, Fab)은 서열 번호 124의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호 128의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.

[0936] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 변형된 항체 단편(예를 들어, Fab)은 서열 번호 124의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호 129의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.

[0937] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 변형된 항체 단편(예를 들어, Fab)은 서열 번호 130의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호 134의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.

[0938] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 변형된 항체 단편(예를 들어, Fab)은 서열 번호 130의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호 135의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.

[0939] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 변형된 항체 단편(예를 들어, Fab)은 서열 번호 136의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호 140의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.

[0940] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 변형된 항체 단편(예를 들어, Fab)은 서열 번호 141의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호 145의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.

[0941] 3. cKIT 항체 및 항체 단편의 제조

[0942] 항-cKIT 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')은, 예를 들어 하이브리도마 또는 재조합 생산에 의해 획득될 수 있는, 비제한적인 예로서 전장 단일클론 항체의 재조합 발현, 화학적 합성 또는 효소적 소화를 포함하는, 당해 분야에 공지된 임의의 수단에 의해 생산될 수 있다. 재조합 발현은 당해 분야에 공지된 임의의 적당한 숙주 세포, 예를 들어 포유동물 숙주 세포, 박테리아 숙주 세포, 효모 숙주 세포, 곤충 숙주 세포로부터 일어날 수 있거나, 무세포 시스템(예컨대, Sutro의 Xpress CF™ 플랫폼, <http://www.sutro.bio.com/technology/>)에 의해 이루어질 수 있다.

[0943] 본 발명은 본원에 기재된 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드, 예를 들어 본원에 기재된 바와 같은 상보성 결정 영역을 포함하는 중쇄 또는 경쇄 가변 영역 또는 절편을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 추가로 제공한다. 일부 양태에서, 중쇄 가변 영역(VH)을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드는 서열 번호 11, 37, 55, 70 및 96으로 이루어진 군으로부터 선택된 폴리뉴클레오타이드와 적어도 85%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 핵산 서열 동일성을 갖는다. 일부 양태

에서, 경쇄 가변 영역(VL)을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드는 서열 번호 24, 48, 83 및 109로 이루어진 군으로부터 선택된 폴리뉴클레오타이드와 적어도 85%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 핵산 서열 동일성을 갖는다.

[0944] 일부 양태에서, 항체 중쇄를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드는 서열 번호 13, 39, 57, 72 및 98의 폴리뉴클레오타이드와 적어도 85%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 핵산 서열 동일성을 갖는다. 일부 양태에서, 항체 경쇄를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드는 서열 번호 26, 50, 85 및 111의 폴리뉴클레오타이드와 적어도 85%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 핵산 서열 동일성을 갖는다.

[0945] 일부 양태에서, Fab' 중쇄를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드는 서열 번호 15, 41, 59, 74 및 100의 폴리뉴클레오타이드와 적어도 85%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 핵산 서열 동일성을 갖는다. 일부 양태에서, Fab' 경쇄를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드는 서열 번호 26, 50, 85 및 111의 폴리뉴클레오타이드와 적어도 85%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 핵산 서열 동일성을 갖는다.

[0946] 본 발명의 폴리뉴클레오타이드는 항-cKIT 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')의 가변 영역 서열만을 암호화할 수 있다. 이들은 또한 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')의 가변 영역 및 불변 영역을 둘 다 암호화할 수 있다. 폴리뉴클레오타이드 서열 중 일부는 예시된 항-cKIT 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab') 중 하나의 중쇄 및 경쇄 둘 다의 가변 영역을 포함하는 폴리펩타이드를 암호화한다.

[0947] 폴리뉴클레오타이드 서열은 신생 고상 DNA 합성에 의해, 또는 항-cKIT 항체 또는 이의 결합 단편을 암호화하는 기존의 서열(예컨대, 아래 실시예에 기술된 바와 같은 서열들)의 PCR 돌연변이 유발에 의해 제조될 수 있다. 핵산의 직접적인 화학적 합성은 당해 분야에 공지된 방법, 예컨대, 문헌[Narang *et al.*, *Meth. Enzymol.* 68:90, 1979]의 포스포트리에스테르 방법; 문헌[Brown *et al.*, *Meth. Enzymol.* 68:109, 1979]의 포스포디에스테르 방법; 문헌[Beaucage *et al.*, *Tetra. Lett.*, 22:1859, 1981]의 디에틸포스포아미다이트 방법; 및 미국 특허 4,458,066호의 고체 지지체 방법에 의해 달성될 수 있다. PCR에 의해 폴리뉴클레오타이드 서열에 돌연변이를 도입하는 것은 예를 들어 문헌[PCR Technology: Principles and Applications for DNA Amplification, H.A. Erlich (Ed.), Freeman Press, NY, NY, 1992; PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications, Innis *et al.* (Ed.), Academic Press, San Diego, CA, 1990; Mattila *et al.*, *Nucleic Acids Res.* 19:967, 1991; 및 Eckert *et al.*, *PCR Methods and Applications* 1:17, 1991]에 기술된 바와 같이 수행될 수 있다.

[0948] 위에서 기술된 항-cKIT 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')을 생산하기 위한 발현 벡터 및 숙주 세포가 본 발명에 또한 제공된다. 다양한 발현 벡터는 항-cKIT 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 발현시키도록 사용될 수 있다. 바이러스 기반 발현 벡터와 비바이러스 발현 벡터 둘 다 포유동물 숙주 세포에서 항체를 생산하기 위해 사용될 수 있다. 비바이러스 벡터 및 시스템은 플라스미드, 에피솜 벡터(전형적으로는, 단백질 또는 RNA 발현을 위한 발현 카세트가 있음), 및 인간 인공 염색체(예를 들어, 문헌[Harrington *et al.*, *Nat Genet.* 15:345, 1997] 참조)를 포함한다. 예를 들어, 포유동물(예를 들어, 인간) 세포에서의 항-cKIT 폴리뉴클레오타이드 및 폴리펩타이드의 발현에 유용한 비바이러스 벡터는 pThioHis A, B & C, pcDNA3.1/His, pEBVHis A, B & C(Invitrogen, 미국 캘리포니아주 샌디에고 소재), MPSV 벡터, 및 다른 단백질 발현을 위한, 당해 분야에 공지된 다수의 기타 벡터를 포함한다. 유용한 바이러스 벡터는 레트로바이러스, 아데노바이러스, 아데노-연관 바이러스, 헤르페스 바이러스를 기반으로 한 벡터, SV40, 유두종 바이러스, HBP 엡스타인 바 바이러스를 기반으로 한 벡터, 백시니아 바이러스 벡터 및 셈리키 포레스트(Semliki Forest) 바이러스(SFV)를 포함한다. Brent 등의 상기 문헌; 문헌[Smith, *Annu. Rev. Microbiol.* 49:807, 1995; 및 Rosenfeld *et al.*, *Cell* 68:143, 1992]을 참조한다.

[0949] 발현 벡터의 선택은 벡터가 발현되는 의도된 숙주 세포에 따라 다르다. 전형적으로, 발현 벡터는 항-cKIT 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드에 작동 가능하게 연결된 프로모터 및 기타 조절 서열(예를 들어, 인핸서)을 함유한다. 일부 양태에서, 유도성 프로모터가 유도 조건 하인 경우를 제외하고는 삽입된 서열의 발현을 방지하도록 사용된다. 유도성 프로모터는, 예를 들어, 아라비노스, lacZ, 메탈로티오네인 프로모터 또는 열 충격 프로모터를 포함한다. 발현 산물이 숙주 세포에 의해 더 잘 허용되는 암호화 서열에 대해 집단을 편향시키지 않으면서, 형질전환된 유기체의 배양물을 비유도 조건 하에 증식시킬 수 있다. 프로모터 이외에, 기타 조절 요소는 또한 항-cKIT 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab')의 효율적인 발현에 필요하거나 바람직할 수 있다. 이러한 요소는 전형적으로 ATG 개시 코돈 및 인접한 리보솜 결합 부

위 또는 기타 서열을 포함한다. 또한, 사용되는 세포 시스템에 적합한 인헨서를 포함하는 것에 의해 발현 효율을 증진시킬 수 있다(예를 들어, 문헌[ Scharf *et al.*, Results Probl. Cell Differ. 20:125, 1994; 및 Bittner *et al.*, Meth. Enzymol., 153:516, 1987] 참조). 예를 들어, SV40 인헨서 또는 CMV 인헨서는 포유동물 숙주 세포에서의 발현을 증가시키기 위하여 사용될 수 있다.

[0950] 발현 벡터는 또한 삽입된 항-cKIT 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab') 서열에 의해 암호화되는 폴리펩타이드와 융합 단백질을 형성하도록 분비 신호 서열 위치를 제공할 수 있다. 더욱 종종, 삽입된 항-cKIT 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab') 서열은 신호 서열에 연결된 후에 벡터에 포함된다. 항-cKIT 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab') 경쇄 및 중쇄 가변 도메인을 암호화하는 서열을 수용하는데 사용되는 벡터는 때때로 불변 영역 또는 이의 일부를 또한 암호화한다. 이러한 벡터는 가변 영역이 불변 영역과의 융합 단백질을 발현되게 하고, 이에 의해 온전한 항체 또는 이의 단편을 생산할 수 있게 한다.

[0951] 항-cKIT 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab') 사슬의 보유 및 발현을 위한 숙주 세포는 원핵생물 또는 진핵 생물 세포일 수 있다. 이. 콜라이는 본 발명의 폴리뉴클레오타이드의 클로닝 및 발현에 유용한 원핵생물 숙주 중 하나이다. 사용하기에 적절한 다른 미생물 숙주는 바실루스(*Bacillus*), 예컨대 바실루스 서브틸리스(*Bacillus subtilis*) 및 다른 엔테로박테리아세아에(*enterobacteriaceae*), 예컨대 살모넬라(*Salmonella*), 세라티아(*Serratia*) 및 다양한 슈도모나스(*Pseudomonas*) 종을 포함한다. 이러한 원핵생물 숙주에서, 숙주 세포와 적합한 발현 제어 서열(예를 들어, 복제 기원)을 전형적으로 함유하는 발현 벡터를 또한 제조할 수 있다. 또한, 임의의 수의 다양한 주지된 프로모터, 예컨대 락토스 프로모터 시스템, 트립토판(*trp*) 프로모터 시스템, 베타-락타마아제 프로모터 시스템, 또는 파지 람다로부터의 프로모터 시스템이 존재할 것이다. 프로모터는 전형적으로, 선택적으로 오퍼레이터 서열과 함께, 발현을 제어하고, 전사 및 번역을 개시하고 완료하기 위한 리보솜 결합 부위 서열 등을 가지고 있다. 효모와 같은 다른 미생물은 또한 항-cKIT 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab') 폴리펩타이드를 발현하도록 사용될 수 있다. 바칼로바이러스 벡터와 함께 곤충 세포를 또한 사용할 수 있다.

[0952] 다른 양태에서, 포유동물 숙주 세포는 본 발명의 항-cKIT 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab') 폴리펩타이드를 발현하고 생산하도록 사용된다. 예를 들어, 이들은 내인성 면역글로불린 유전자를 발현하는 하이브리도마 세포주(예를 들어, 실시예에 기술된 바와 같은 골수종 하이브리도마 클론), 또는 외인성 발현 벡터를 보유하는 포유동물 세포주(예를 들어, 아래에 예시된 SP2/0 골수종 세포)일 수 있다. 이들은 임의의 정상적인 사멸성 또는 정상적 또는 비정상적인 불멸성 동물 또는 인간 세포를 포함한다. 예를 들어, CHO 세포주, 다양한 COS 세포주, HeLa 세포, 골수종 세포주, 형질전환된 B 세포 및 하이브리도마를 포함하는, 온전한 면역글로불린을 분비할 수 있는 다수의 적합한 숙주 세포주가 개발되었다. 폴리펩타이드를 발현시키기 위해 포유동물 조직 세포 배양을 사용하는 것은 예를 들어 문헌[Winnacker, From Genes to Clones, VCH Publishers, N.Y., N.Y., 1987]에 일반적으로 논의되어 있다. 포유동물 숙주 세포를 위한 발현 벡터는 발현 제어 서열, 예컨대 복제 기원, 프로모터, 및 인헨서(예를 들어, 문헌[Queen *et al.*, Immunol. Rev. 89:49-68, 1986] 참조), 및 필요한 프로세싱 정보 부위, 예컨대 리보솜 결합 부위, RNA 스플라이스 부위, 폴리아데닐화 부위, 및 전사 종결자 서열을 포함할 수 있다. 이러한 발현 벡터는 보통 포유동물 유전자로부터 또는 포유동물 바이러스로부터 유래된 프로모터를 함유한다. 적합한 프로모터는 항시적, 세포 유형 특이적, 단계 특이적, 및/또는 조정 가능 또는 조절 가능한 프로모터일 수 있다. 유용한 프로모터는 메탈로티오네인 프로모터, 항시적 아데노바이러스 주요 후기 프로모터, 텍사메타손-유도성 MMTV 프로모터, SV40 프로모터, MRP polIII 프로모터, 항시적 MPSV 프로모터, 테트라사이클린-유도성 CMV 프로모터(예컨대 인간 극초기 CMV 프로모터), 구성적 CMV 프로모터, 및 당해 분야에 공지된 프로모터-인헨서 조합을 포함하지만, 이들로 제한되지는 않는다.

[0953] 관심 폴리뉴클레오타이드 서열을 함유하는 발현 벡터를 도입하는 방법은 세포 숙주의 유형에 따라 다르다. 예를 들어, 염화칼슘 형질주입이 원핵생물 세포에 통상적으로 사용되는 반면, 인산칼슘 처리 또는 전기천공은 다른 세포 숙주에 사용될 수 있다(일반적으로, Sambrook 등의 상기 문헌 참조). 다른 방법은 예를 들어 전기천공, 인산칼슘 처리, 리포솜 매개 형질전환, 주사 및 미량주사, 유전자총 방법(ballistic method), 비로솜, 면역리소솜, 다중양이온:핵산 접합체, 네이키드 DNA, 인공 비리온, 헤르페스 바이러스 구조 단백질 VP22에 대한 융합(Elliot and O'Hare, Cell 88:223, 1997), DNA의 제제-향상된 흡수 및 생체의 형질도입을 포함한다. 재조합 단백질을 장기간 고수율로 제조하기 위해서는, 안정적인 발현이 흔히 요망될 것이다. 예를 들어, 바이러스 복제 기원 또는 내인성 발현 요소 및 선별 가능한 마커 유전자를 함유하는 발현 벡터를 사용하여 항-cKIT 항체 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 또는 Fab') 사슬을 안정적으로 발현하는 세포주를 제조할 수 있다. 벡터의 도입 후, 선별 배지로 전환하기 전에 세포를 강화 배지에서 1일 내지 2일 동안 성장시킬 수 있다. 선별 마커의 목적

은 선택에 대한 저항성을 부여하는 것이며, 선별 마커의 존재는 선별 배지에서 도입 서열을 성공적으로 발현시키는 세포가 성장할 수 있게 한다. 안정적으로 형질주입된 저항성 세포는 세포 유형에 적합한 조직 배양 기술을 이용해 증식될 수 있다.

[0954] 항체 단편, 예컨대, Fab 또는 Fab'은 (Fab 단편 생성을 위하여) 파파인 또는 (Fab' 단편 생성을 위하여) 펩신 등과 같은 효소를 사용하여 면역글로불린 분자의 단백질분해 절단에 의해 생성될 수 있다. Fab 단편과 비교하여, Fab' 단편은 면역글로불린 분자의 2개의 중쇄 사이에 디설파이드 결합을 형성하는 2개의 천연 시스템을 포함하는 힌지 영역을 또한 함유한다.

[0955] 치료학적 용도

[0956] 본 발명의 접합체는 이를 필요로 하는 환자, 예를 들어 조혈 줄기 세포 이식 수혜자에서의 비제한적인 예로서 조혈 줄기 세포를 절제하는 것을 포함하는 다양한 적용에 있어서 유용하다. 따라서, 유효량의 본원에 기재된 임의의 접합체를 환자에게 투여하여 이를 필요로 하는 환자에서 조혈 줄기 세포를 절제하는 방법이 본원에 제공된다. 유효량의 본원에 기재된 임의의 접합체를 투여하고, 환자에게 조혈 줄기 세포 이식을 수행하기 전에 접합체가 환자의 순환으로부터 제거되기에 충분한 시간을 허용함으로써, 조혈 줄기 세포 이식 환자(예를 들어, 이식 수혜자)의 컨디션을 조절하는 방법이 본원에 또한 제공된다. 접합체는 환자에 정맥내로 투여될 수 있다. 이를 필요로 하는 환자에서 조혈 줄기 세포를 절제하기 위한 본원에 기재된 접합체 또는 약제학적 조성물 중 임의의 것의 용도가 또한 제공된다. 이를 필요로 하는 환자에서 조혈 줄기 세포를 절제하기 위한 의학의 제조에 있어서의 본원에 기재된 접합체 또는 약제학적 조성물 중 임의의 것의 용도가 추가로 제공된다.

[0957] 내인성 조혈 줄기 세포는 보통 골수 동양혈관 내에 상재한다. 줄기 세포가 상재하는 이 물리적 환경은 줄기 세포 미세환경, 또는 줄기 세포 니쉬(niche)라 지칭된다. 이 니쉬와 관련된 간질 세포 및 다른 세포는 가용성 인자 및 결합 인자를 제공하며, 이들은 다수의 효과를 나타낸다. 조혈 줄기 세포와 이의 니쉬 사이의 상호작용에 대한 다양한 모델이 제안되어 있다. 예를 들어, 줄기 세포가 분열할 경우, 하나의 딸 세포만 니쉬에 남아 있고, 나머지 딸 세포는 니쉬를 떠나 분화하는 모델이 제안되어 있다. 내인성 조혈 줄기 세포의 선택적 고갈 및 이에 의한 공여자 줄기 세포의 이식을 위한 줄기 세포 니쉬 개방에 의해 이식 효율이 증진될 수 있음이 제기되었다(예컨대, WO 2008/067115호 참조).

[0958] 조혈 줄기 세포(HSC) 이식, 또는 (초기에 지칭된 바와 같은) 골수 이식은 백혈병, 중증 빈혈, 면역 결핍 및 일부 효소 결핍 질환과 같은 신체의 혈액 줄기 세포에 영향을 미치는 광범위한 질병을 위한 확립된 치료법이다. 이러한 병은 종종 환자로 하여금 골수를 새로운 건강한 혈액 세포로 교체할 필요가 있도록 만든다.

[0959] HSC 이식은 종종 동종이계적이며, 이는 환자가 형제, 일치 혈연, 절반일치 혈연 또는 비혈연, 자원 공여자인, 동일한 종의 다른 개체로부터 줄기 세포를 받음을 의미한다. 조혈 줄기 세포 이식을 필요로 하는 환자의 약 30%는 조직 유형이 적합한 형제에 접근할 수 있다고 추정된다. 나머지 70%의 환자는 비혈연, 자원 공여자의 일치도 또는 절반일치, 혈연 공여자의 이용 가능성에 의존해야만 한다. 공여자 세포와 환자 세포의 특징이 비슷하다는 점이 중요하다. 조혈 줄기 세포 이식은 또한 자가 이식일 수 있는데, 여기서 이식된 세포는 대상체 자신으로부터 기원하고, 즉 공여자와 수혜자는 동일한 개체이다. 추가로, 이식은 공통 유전자성일 수 있고, 즉 쌍둥이와 같이, 유전적으로 동일한 개체로부터 기원할 수 있다. 추가의 양태에서, 이식은 이종성일 수 있고, 즉 이는 장기 이식의 경우와 같이 동일한 종에 충분한 공여자가 없을 때 관심의 대상이 되는 상이한 종으로부터 기원할 수 있다.

[0960] HSC 이식 전에, 환자들은 보통 전처리 또는 컨디션 조절 방법을 거친다. 이 전처리 또는 컨디션 조절의 목적은 거부반응을 최소화하고/최소화하거나 공여자 줄기 세포를 줄기 세포 니쉬 내로 효율적으로 이식하기 위하여 내인성 HSC를 고갈시킴으로써 이러한 니쉬를 열고자 가능한 한 신체 내의 많은 원치 않는 세포(예를 들어, 악성/암 세포)를 제거하는 것이다. 이후, 공여자의 건강한 HSC를 환자에 정맥내로 또는 일부 경우에 골내로 제공한다. 그러나 불량한 생착, 면역학적 반응, 이식편 대 숙주 질환(GVHD), 또는 감염을 포함한 많은 위험이 HSC 이식과 연관된다. 공여자의 세포와 환자의 세포는 조직 유형의 측면에서 동일하다고 보이지만, 예를 들어 MHC 분자가 일치(또는 절반일치)하긴 하지만, 이들 개체 사이에는 여전히 사소한 차이가 있으며, 이를 면역 세포는 위험하다고 인식할 수 있다. 이는 새로운 면역계(새로운 줄기 세포로부터의 백혈구)가 새로운 신체를 "외래"로 인지하여, 면역 공격을 유발함을 의미한다. 이식편 대 숙주 질환(GVHD)이라 지칭되는 이 반응은 환자에게는 생명을 위협하는 것이 될 수 있다. HSC 이식 후의 환자는 또한 새로운 골수가 기능을 시작하기 전에 백혈구의 부재로 인하여 감염 위험이 증가한다. 이 기간은 일부 경우 새로운 면역계가 성숙할 때까지 여러 달 동안 지속될 수 있다. 이러한 기회 감염의 일부는 생명을 위협할 수 있다.

- [0961] 따라서, 컨디션 조절 및 이식 방법을 개선하고, HSC 이식과 관련된 위험을 감소시키고, 다양한 장애에 대한 이의 효율을 증가시킬 필요가 있다. 이식 전에 수혜자의 내인성 HSC를 특이적으로 사멸하여(그러나 다른 면역 세포를 전부 사멸하지는 않음), 부분 활성의 면역 방어를 유지하여 이식 직후에 감염을 방지함과 동시에, 대상체는 그 자신의 HSC로부터 새로운 면역 세포를 형성할 수 없으므로, 간접적인 면역억제 효과를 제공하는 새로운 항체 약물 접합체가 본원에 제공된다. 이 전처리는 화학요법 또는 방사선요법보다는 가볍고, 덜 심각한 부작용을 가져올 수 있으므로, 이는 이식 환자에서 GVHD를 덜 유도할 수 있다.
- [0962] 본원에 기재된 항체 약물 접합체는 예를 들어 조혈 줄기 세포 이식 전에 전처리/컨디션 조절 방법에서, 내인성 조혈 줄기 세포를 절제하는 데 사용될 수 있다. 예를 들어, 본 발명의 접합체는 줄기 세포 이식이 유리할 수 있는 임의의 비악성 병태/장애, 예컨대, 중증 재생불량성 빈혈(SAA: Severe aplastic anemia), 비스코트 올드리치 증후군, 후를러 증후군, 가족성 적혈구포식성 림프조직구증(FHL: familial haemophagocytic lymphohistiocytosis), 만성 육아종병(CGD: Chronic granulomatous disease), 코스트만 증후군, 중증 면역결핍 증후군(SCID: Severe immunodeficiency syndrome), 기타 자가면역 장애, 예컨대, SLE, 다발성 경화증, IBD, 크론병, 켈양성 대장염, 쇼그렌 증후군, 혈관염, 루푸스, 중증 근육무력증, 베게너병, 선천 대사장애 및/또는 기타 면역결핍증을 치료하는 데 사용될 수 있다.
- [0963] 추가로, 본 발명의 접합체는 줄기 세포 이식이 유리할 수 있는 임의의 악성 병태/장애, 예컨대, 혈액학적 질환, 혈액학적 악성 종양 또는 고형 종양(예를 들어, 신장암, 간암, 췌장암)을 치료하는 데 사용될 수 있다. 청구된 방법 및 항체로 치료될 수 있는 일반적인 유형의 혈액학적 질환/악성 종양은 백혈병, 림프종 및 골수형성이상 증후군이다. 백혈병은 아세포라 불리는 미성숙 백혈구의 비정상 증가를 특징으로 하는 혈액 또는 골수의 암의 유형이고, 상기 용어 백혈병은 급성 림프아구성 백혈병(ALL), 급성 골수성 백혈병(AML), 급성 단핵구성 백혈병(AMoL), 만성 림프구성 백혈병(CLL), 만성 골수성 백혈병(CML) 및 다른 백혈병, 예컨대 모발 세포 백혈병(HCL), T 세포 전립프구성 백혈병(T-PLL), 거대 과립 림프구성 백혈병 및 성체 T-세포 백혈병을 포함한다. 본 발명의 일 양태에서, 치료된 백혈병은 급성 백혈병이다. 추가의 양태에서, 백혈병은 ALL, AML 또는 AMoL이다. 림프종은 전구체 T 세포 백혈병/림프종, 버킷 림프종, 소포성 림프종, 광범위 큰 B 세포 림프종, 외부 세포 림프종, B 세포 만성 림프성 백혈병/림프종, MALT 림프종, 균상 식육종, 달리 명시되지 않은 말초 T 세포 림프종, 호지킨 림프종의 결절 경화 형태, 호지킨 림프종의 혼합 세포질 아형을 포함한다. 골수형성이상 증후군(MDS)은 골수의 혈액 형성 세포가 손상될 때 발생하는 병태군의 명칭이다. 이는 하나 이상의 유형의 혈액 세포의 적은 수를 초래한다. MDS는 한계열 형성이상 불응성 혈구감소증(Refractory cytopenia with unilineage dysplasia, RCUD), 철적혈모구 불응성 빈혈(Refractory anemia with ringed sideroblasts, RARS), 다계열 형성이상 불응성 혈구 감소증(Refractory cytopenia with multilineage dysplasia, RCMD), 모세포 증가 불응성 빈혈-1(Refractory anemia with excess blasts-1, RAEB-1), 모세포 증가 불응성 빈혈-2(Refractory anemia with excess blasts-2, RAEB-2), 미분류 골수형성이상 증후군(MDS-U) 및 5q 단독 결손 골수형성이상 증후군(Myelodysplastic syndrome associated with isolated del (5q))의 7개의 카테고리 세분된다.
- [0964] 일부 구현예에서, 조혈 줄기 세포를 절제할 필요가 있는 환자(예를 들어, 조혈 줄기 세포 이식 수혜자)는 유전성 면역결핍 질환, 자가면역 장애, 조혈 장애, 또는 선천 대사 이상을 앓을 수 있다.
- [0965] 일부 구현예에서, 조혈 장애는 급성 골수성 백혈병(AML), 급성 림프모구성 백혈병(ALL), 급성 단핵구 백혈병(AMoL), 만성 골수성 백혈병(CML), 만성 림프성 백혈병(CLL), 골수증식성 질환, 골수형성이상 증후군, 다발성 골수종, 비호지킨 림프종, 호지킨병, 재생불량성 빈혈, 진정 적혈구계 무형성증, 발작성 야간 헤모글로빈뇨증, 판코니 빈혈, 중증성 지중해빈혈, 겸상 적혈구빈혈, 중증 복합 면역결핍증, 비스코트 올드리치 증후군, 적혈구포식성 림프조직구증의 임의의 것으로부터 선택될 수 있다.
- [0966] 선천 대사 이상은 또한 유전성 대사질환(IMB) 또는 선천 대사질환으로 알려져 있으며, 이는 탄수화물 대사 선천 장애, 아미노산 대사 선천 장애, 유기산 대사 선천 장애, 또는 리소좀 축적병을 포함하는 유전병의 한 부류이다. 일부 구현예에서, 선천 대사 장애는 점액 다당류증, 고세병, 이염색백색질장애 또는 부신백색질형성 장애로부터 선택된다.
- [0967] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 항체 약물 접합체는 본원에 개시된 질환 또는 병태에 대해 자가유래 줄기 세포 이식으로 이전에 치료된 환자에서 동종이계 줄기 세포 이식 전에 감소된 강도의 컨디션닝 방법으로서 내인성 조혈 줄기 세포를 절제하기 위해 사용될 수 있다. 예를 들어, 본원에 기재된 항체 약물 접합체는 문헌[Chen et al., Biol Blood Marrow Transplant 21 (2015) 1583e1588]에 기재된 바대로 자가유래 줄기 세포 이식으로 이전에 치료된 환자에게 동종이계 줄기 세포 이식에서 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, 동종이계 줄기 세포 이식

은 환자가 자가유래 줄기 세포 이식을 받은 후 1개월, 2개월, 3개월, 4개월, 5개월, 6개월, 또는 초과에 수행될 수 있다.

[0968] 추가로, 본 발명의 접합체는 위장관 기질 종양(GIST), 예컨대 cKIT 양성인 GIST를 치료하는 데 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, 본 발명의 접합체는 야생형 cKIT를 발현하는 GIST를 치료하는 데 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, 본 발명의 접합체는 치료, 예를 들어 이마티닙(Glivec®/Gleevec®)에 대해 저항성인 GIST를 치료하는 데 사용될 수 있다.

[0969] 병용 요법

[0970] 소정의 경우, 본 발명의 항체 약물 접합체는 다른 컨디션 조절 계획, 예컨대 방사선요법 또는 화학요법과 조합되어 사용될 수 있다.

[0971] 소정의 경우, 본 발명의 항체 약물 접합체는 다른 치료제, 예컨대 항암제, 항오심제(또는 항구토제), 통증 완화제, 동원제, 또는 이들의 조합과 조합되어 사용될 수 있다.

[0972] 병용 요법에서의 사용을 위해 고려되는 일반적인 화학요법제는 아나스트로졸(Arimidex®), 비칼루타미드(Casodex®), 블레오마이신 설페이트(Blenoxane®), 부설판(Myleran®), 부설판 주사제(Busulfex®), 카페시타빈(Xeloda®), N4-펜톡시카르보닐-5-데옥시-5-플루오로시티딘, 카르보플라틴(Paraplatin®), 카르무스틴(BiCNU®), 클로람부실(Leukeran®), 시스플라틴(Platinol®), 클라드리빈(Leustatin®), 사이클로스포린(Sandimmune®), Neoral® 또는 Restasis®), 시클로포스파미드(Cytoxan® 또는 Neosar®), 사이타라빈, 사이토신 아라비노시드(Cytosar-U®), 사이타라빈 리포솜 주사제(DepoCyt®), 다카르바진(DTIC-Dome®), 닥티노마이신(Actinomycin D, Cosmegen), 다우노루비신 하이드로클로라이드(Cerubidine®), 다우노루비신 시트레이트 리포솜 주사제(DaunoXome®), 텍사메타손, 도세탁셀(Taxotere®), 독소루비신 히드로클로라이드(Adriamycin®, Rubex®), 에토포시드(Vepesid®), 플루다라빈 포스페이트(Fludara®), 5-플루오로우라실(Adrucil®, Efudex®), 플루타미드(Eulexin®), 테자시티빈, 켐시타빈(디플루오로데옥시시티딘), 히드록시우레아(Hydrea®), 아이다루비신(Idamycin®), 이포스파미드(IFEX®), 이리노테칸(Camptosar®), L-아스파라기나아제(ELSPAR®), 류코보린 칼슘, 멜팔란(Alkeran®), 6-머캅토피린(Purinethol®), 메토티렉세이트(Folex®), 미톡산트론(Novantrone®), 마일로타그, 파클리탁셀(Taxol®), 피닉스(Yttrium90/MX-DTPA), 펜토스타틴, 카무스틴 임플란트가 있는 폴리페프로산 20(Gliadel®), 타목시펜 시트레이트(Nolvadex®), 테니포시드(Vumon®), 6-티오구아닌, 티오테파, 티라파자민(Tirazone®), 주사용 토포테칸 하이드로클로라이드(Hycamptin®), 빈블라스틴(Velban®), 빈크리스틴(Oncovin®), 및 비노렐빈(Navelbine®)을 포함한다.

[0973] 일부 구현예에서, 본 개시의 항체 약물 접합체는 CD47 차단제, 예를 들어 항-CD47 항체 또는 이의 단편과 조합되어 사용될 수 있다. CD47 및 신호 조절 단백질 알파(SIRP α) 사이의 상호작용을 차단하는 항-CD47 미소체가 내이키드 항-c-Kit 항체에 의해 내인성 HSC의 고갈을 증진시킬 수 있음이 보고되었다(Chhabra et al., *Science Translational Medicine* 8 (351), 351ra105).

[0974] 일부 구현예에서, 본 발명의 항체 약물 접합체는 조혈 줄기 세포 또는 조혈 전구세포에 특이적으로 결합하는 다른 항체 또는 이의 단편, 예를 들어 항-CD45 항체 또는 이의 단편, 항-CD34 항체 또는 이의 단편, 항-CD133 항체 또는 이의 단편, 항-CD59 항체 또는 이의 단편, 또는 항-CD90 항체 또는 이의 단편과 조합되어 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, 본 발명의 항체 약물 접합체는 Dyrk1a 억제제, 예컨대 하민(Harmine), INDY, ML 315 하이드로클로라이드, ProINDY, 토크리스(Tocris™) TC-S 7044, 토크리스 TG 003, FINDY, TBB, DMAT, CaNDY 등과 조합되어 사용될 수 있다.

[0975] 일부 구현예에서, 본 발명의 항체 약물 접합체는 1종 이상의 면역억제제, 예를 들어 글루코코르티코이드, 예컨대, 프레드니손, 텍사메타손 및 하이드로코르티손; 세포증식억제제, 예를 들어 알킬화제, 항대사제, 메토티렉세이트, 아자티오프린, 메르캅토피린, 닥티노마이신 등; 이뮤노필린에 작용하는 약물, 예를 들어 타크로리무스(프로그래프(Prograf®), 아스토그라프 XL(Astograf XL®) 또는 엔바르수스(Envarsus XR®), 시로리무스(라파마이신 또는 라파뮌(Rapamune®)) 및 에버롤리무스; 인터페론; 오피오이드; TNF 결합 단백질; 미코페놀레이트; 핑골리모드; 미리오신; 등과 조합되어 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, 본 발명의 항체 약물 접합체는 T 세포를 특이적으로 고갈시키는 1종 이상의 작용제, 예컨대 플루다라빈, 시클로스포린, 항-CD52 항체, 예를 들어 알렘투주맵, 항가슴샘세포 글로불린(ATG), 항-CD3 항체 또는 이의 단편, 항-CD4 항체 또는 이의 단편, 항-CD8 항체 또는 이의 단편, 또는 항-인간 TCR α/β 항체 또는 이의 단편과 조합되어 사용될 수 있다. T 세포 고갈 요법은 이식물의 거부반응을 초래할 수 있는 숙주 대 이식편 반응을 감소시킬 수 있다.

- [0976] 일부 구현예에서, 본 발명의 항체 약물 접합체는 플레릭사포르(AMD3100, Mozobil®로도 알려져 있음), 과립구 대식세포 콜로니 자극 인자(GM-CSF), 예를 들어 사그라모스틴(Leukine®) 또는 과립구 콜로니 자극 인자(G-CSF), 예를 들어 필그라스틴 또는 페그필그라스틴(Zarzio®, Zarxio®, Neupogen®, Neulasta®, Nufil®, Religrast®, Emgrast®, Neukine®, Grafeel®, Imumax®, Filcad®)로부터 선택된 1종 이상의 제제와 조합되어 사용될 수 있다.
- [0977] 일 양태에서, 본 발명의 항체 약물 접합체는 항암 특성을 갖는 제2의 화합물과 약제학적 조합 제형 내에서, 또는 병용 요법으로서 투약 계획 내에서 조합된다. 약제학적 조합 제형 또는 투약 계획의 제2의 화합물은 그것들이 서로 부정적으로 영향을 미치지 않도록 이 조합의 접합체에 대해 상보적 활성을 가질 수 있다.
- [0978] 본원에서 사용된 바와 같은 용어 "약제학적 조합"은 하나의 투여량 단위 형태의 고정 조합 또는 비고정 조합 또는 조합 투여를 위한 부품 키트를 나타내며, 여기서 2개 이상의 치료제가 동시에 독립적으로 또는 시간 간격 내에서 별도로 투여될 수 있고, 특히 이러한 시간 간격은 조합 파트너가 협동, 예를 들어 상승 효과를 나타낼 수 있게 한다.
- [0979] 용어 "병용 요법"은 본 발명에 기재된 치료 질환 또는 장애를 치료하기 위한 2개 이상의 치료제의 투여를 나타낸다. 이러한 투여는 이들 치료제를 실질적으로 동시적인 방식으로, 예컨대 고정된 비율의 활성 성분을 갖는 단일 캡슐로 공동투여하는 것을 포괄한다. 대안적으로, 이러한 투여는 각각의 활성 성분을 위한 다수의 또는 별도의 용기(예를 들어, 캡슐, 분말 및 액체)에서의 공동투여를 포함한다. 분말 및/또는 액체는 투여 전에 원하는 용량으로 재구성되거나 희석될 수 있다. 또한, 이러한 투여는 거의 동시에 또는 다른 시간에 각각의 유형의 치료제를 순차적으로 사용하는 것도 포함한다. 어느 경우든, 치료 요법은 본원에 기재된 병태 또는 장애의 치료에 있어서 약물 조합의 이로운 효과를 제공할 것이다.
- [0980] 병용 요법은 "상승 효과"를 제공할 수 있고, "상승적임"을 증명할 수 있고, 즉 활성 성분들이 함께 사용될 때 달성된 효과가 화합물을 별도로 사용함으로써 발생하는 효과의 총 합계보다 크다. 상승적 효과는 활성 성분이 (1) 공동 제형화되어 투여되거나 조합된, 단위 투여 제형으로 동시에 전달될 때; (2) 별도의 제형으로 교대로 또는 병행하여 전달될 때; 또는 (3) 일부 다른 계획에 의해 전달될 때, 얻어질 수 있다. 교대 요법으로 전달될 때, 상승적 효과는 화합물이 순차적으로, 예를 들어 별도의 주사기로 상이한 주사에 의해 투여되거나 전달될 때 얻어질 수 있다. 일반적으로, 교대 요법 동안에, 각각의 활성 성분의 유효한 투여량이 순차적으로, 즉 연속하여 투여되지만, 병용 요법에서는 2종 이상의 활성 성분의 유효한 투여량이 함께 투여된다.
- [0981] 약제학적 조성물
- [0982] 본원에 기재된 1종 이상의 항체 약물 접합체를 포함하는 약제학적 또는 멸균 조성물을 제조하기 위하여, 제공된 접합체(들)는 약제학적으로 허용 가능한 담체 또는 부형제와 혼합될 수 있다.
- [0983] 치료제 및 진단제의 제형은 생리적으로 허용 가능한 담체, 부형제 또는 안정화제와 예를 들어 동결건조 분말, 슬러리, 수용액, 로션, 또는 현탁액의 형태로 혼합하여 제조될 수 있다(예를 들어, 문헌[Hardman et al., Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, McGraw-Hill, New York, N.Y., 2001; Gennaro, Remington: The Science and Practice of Pharmacy, Lippincott, Williams, and Wilkins, New York, N.Y., 2000; Avis, et al. (eds.), Pharmaceutical Dosage Forms: Parenteral Medications, Marcel Dekker, NY, 1993; Lieberman, et al. (eds.), Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets, Marcel Dekker, NY, 1990; Lieberman, et al. (eds.) Pharmaceutical Dosage Forms: Disperse Systems, Marcel Dekker, NY, 1990; Weiner and Kotkoskie, Excipient Toxicity and Safety, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., 2000] 참조).
- [0984] 일부 구현예에서, 본 발명의 항체 접합체를 포함하는 약제학적 조성물은 동결건조 제제이다. 소정의 구현예에서, 항체 접합체를 포함하는 약제학적 조성물은 항체 접합체, 히스티딘, 수크로스 및 폴리소르베이트 20을 함유하는 바이알 내의 동결건조물이다. 소정의 구현예에서, 항체 접합체를 포함하는 약제학적 조성물은 항체 접합체, 석신산나트륨 및 폴리소르베이트 20을 함유하는 바이알 내의 동결건조물이다. 소정의 구현예에서, 항체 접합체를 포함하는 약제학적 조성물은 항체 접합체, 트레할로스, 시트레이트 및 폴리소르베이트 8을 함유하는 바이알 내의 동결건조물이다. 동결건조물은 주사를 위해, 예를 들어 물, 염수로 재구성될 수 있다. 특정 구현예에서, 용액은 약 5.0의 pH에서 항체 접합체, 히스티딘, 수크로스, 및 폴리소르베이트 20를 포함한다. 다른 특정 구현예에서, 용액은 항체 접합체, 석신산나트륨, 및 폴리소르베이트 20을 포함한다. 다른 특정 구현예에서, 용액은 약 6.6의 pH에서 항체 접합체, 트레할로스 디하이드레이트, 시트레이트 디하이드레이트, 시트르산, 및 폴리소르베이트 8을 포함한다. 정맥내 투여를 위해, 수득된 용액은 통상적으로 담체 용액 중에 추

가로 희석될 것이다.

- [0985] 치료제에 대한 투여 요법의 선택은 개체의 혈청 또는 조직 전환율, 증상의 수준, 개체의 면역원성, 및 생물학적 매트릭스 내의 표적 세포의 접근성을 포함하는 여러 인자에 따라 다르다. 소정의 구현예에서, 투여 요법은 허용 가능한 부작용 수준에 맞게 환자에게 전달되는 치료제의 양을 최대화한다. 따라서, 전달되는 생물체제의 양은 부분적으로 특정 개체 및 치료되는 병태의 중증도에 따라 다르다. 항체, 사이토카인 및 소분자의 적절한 용량을 선택하는 데 있어서 지침을 이용할 수 있다(예를 들어, 문헌[Wawrzynczak, Antibody Therapy, Bios Scientific Pub. Ltd, Oxfordshire, UK, 1996; Kresina (ed.), Monoclonal Antibodies, Cytokines and Arthritis, Marcel Dekker, New York, N.Y., 1991; Bach (ed.), Monoclonal Antibodies and Peptide Therapy in Autoimmune Diseases, Marcel Dekker, New York, N.Y., 1993; Baert et al., New Engl. J. Med. 348:601-608, 2003; Milgrom et al., New Engl. J. Med. 341:1966-1973, 1999; Slamon et al., New Engl. J. Med. 344:783-792, 2001; Beniaminovitz et al., New Engl. J. Med. 342:613-619, 2000; Ghosh et al., New Engl. J. Med. 348:24-32, 2003; Lipsky et al., New Engl. J. Med. 343:1594-1602, 2000] 참조).
- [0986] 적절한 용량의 결정은 예를 들어 치료에 영향을 미치는 것으로 당해 분야에 알려지거나 의심되는, 또는 치료에 영향을 미칠 것으로 예상되는 매개변수 또는 인자를 이용하여 임상적에 의해 이루어진다. 일반적으로, 투여량은 최적 용량보다 다소 적은 양으로 시작하여, 이후 임의의 부정적 부작용에 비해 원하는 또는 최적의 효과가 달성 될 때까지 조금씩 증가한다. 중요한 진단 척도는 예를 들어 염증의 증상 또는 생산된 염증성 사이토카인의 수준의 척도를 포함한다.
- [0987] 본 발명의 약제학적 조성물 내 유효 성분의 실제 투여량 수준은, 환자에게 독성이 없으면서 특정 환자, 조성물, 및 투여 방식에 대해 원하는 치료 반응을 달성하는 데 효과적인 유효 성분의 양이 되도록 달라질 수 있다. 선택된 투여량 수준은 사용되는 본 발명의 특정한 조성물의 활성, 투여 경로, 투여 시간, 사용되는 특정한 화합물의 배출 속도, 치료 지속기간, 사용되는 특정한 조성물과 조합되어 사용되는 기타 약물, 화합물 및/또는 물질, 치료되는 환자의 연령, 성별, 체중, 병태, 전반적 건강 및 과거 병력, 및 의학 분야에 공지된 유사 인자를 포함한 다양한 약동학적 인자에 따라 달라질 것이다.
- [0988] 본 발명의 항체 접합체를 포함하는 조성물은 연속 주입에 의해, 또는 예를 들어 1일, 1주의 간격으로, 또는 1주에 1회 내지 7회, 2주에 1회, 3주에 1회, 4주에 1회, 5주에 1회, 6주에 1회, 7주에 1회, 또는 8주에 1회의 용량으로 제공될 수 있다. 용량은 정맥내, 피하 또는 골내로 제공될 수 있다. 구체적 용량 프로토콜은 유의미한 바람직하지 않은 부작용을 회피하는 최대 용량 또는 용량 빈도를 포함하는 것이다.
- [0989] 본 발명의 항체 접합체의 경우, 환자에게 투여되는 투여량은 환자 체중을 기준으로 0.0001 mg/kg 내지 100 mg/kg일 수 있다. 투여량은 환자 체중을 기준으로 0.001 mg/kg 내지 50 mg/kg, 0.005 mg/kg 내지 20 mg/kg, 0.01 mg/kg 내지 20 mg/kg, 0.02 mg/kg 내지 10 mg/kg, 0.05 내지 5 mg/kg, 0.1 mg/kg 내지 10 mg/kg, 0.1 mg/kg 내지 8 mg/kg, 0.1 mg/kg 내지 5 mg/kg, 0.1 mg/kg 내지 2 mg/kg, 0.1 mg/kg 내지 1 mg/kg일 수 있다. 항체 접합체의 투여량은 환자의 체중(kg)에 투여될 용량(mg/kg)을 곱하여 계산될 수 있다.
- [0990] 본 발명의 항체 접합체의 투여는 반복될 수 있고, 투여 간격은 1일 미만, 적어도 1일, 2일, 3일, 5일, 10일, 15일, 30일, 45일, 2개월, 75일, 3개월, 4개월, 5개월, 또는 적어도 6개월일 수 있다. 일부 구현예에서, 본 발명의 항체 접합체는 매주 2회, 매주 1회, 2주에 1회, 3주에 1회, 4주에 1회, 또는 덜 빈번하게 투여된다.
- [0991] 특정 환자에 대한 유효량은 치료될 병태, 환자의 전반적 건강, 투여 방법, 경로 및 용량, 그리고 부작용의 중증도와 같은 인자에 따라 달라질 수 있다(예를 들어, 문헌[Maynard et al., A Handbook of SOPs for Good Clinical Practice, Interpharm Press, Boca Raton, Fla., 1996; Dent, Good Laboratory and Good Clinical Practice, Urch Publ., London, UK, 2001] 참조).
- [0992] 투여 경로는 예를 들어 국소 또는 피부 적용, 피하, 정맥내, 복강내, 뇌내, 근육내, 눈내, 동맥내, 뇌척수내, 병변내 투여에 의한 주사 또는 주입, 또는 지효성 방출 시스템 또는 이식에 의한 것일 수 있다(예를 들어, 문헌[Sidman et al., Biopolymers 22:547-556, 1983; Langer et al., J. Biomed. Mater. Res. 15:167-277, 1981; Langer, Chem. Tech. 12:98-105, 1982; Epstein et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82:3688-3692, 1985; Hwang et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4030-4034, 1980]; 미국 특허 번호 6,350,466호 및 6,316,024호 참조). 필요한 경우에, 조성물은 또한 주사 부위에서의 통증을 경감하기 위해 가용화제 또는 국부 마취제, 예컨대 리도카인, 또는 둘 다를 포함할 수 있다. 또한, 폐 투여는 예를 들어 흡입기 또는 네블라이저의 사용, 및 에어로졸화제를 사용한 제형화에 의해 이용될 수도 있다. 예를 들어, 미국 특허 6,019,968호, 5,985,320호,

5,985,309호, 5,934,272호, 5,874,064호, 5,855,913호, 5,290,540호 및 4,880,078호; 및 PCT 공개 WO 92/19244호, WO 97/32572호, WO 97/44013호, WO 98/31346호 및 WO 99/66903호(이들 각각은 전체가 본원에 참조로 포함됨)를 참조한다.

[0993] 제2 치료제, 예를 들어 사이토카인, 스테로이드, 화학요법제, 항생제 또는 방사선(예컨대, 전신 방사선 조사(TBI))을 사용한 공동 투여 또는 치료 방법은 당해 분야에 공지되어 있다(예를 들어, 문헌[Hardman et al., (eds.) (2001) Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 10.sup.th ed., McGraw-Hill, New York, N.Y.; Poole and Peterson (eds.) (2001) Pharmacotherapeutics for Advanced Practice:A Practical Approach, Lippincott, Williams & Wilkins, Phila., Pa.; Chabner and Longo (eds.) (2001) Cancer Chemotherapy and Biotherapy, Lippincott, Williams & Wilkins, Phila., Pa.] 참조). 유효량의 치료제는 증상을 적어도 10%; 적어도 20%; 적어도 약 30%; 적어도 40% 또는 적어도 50%만큼 감소시킬 수 있다.

[0994] 본 발명의 항체 접합체와 조합되어 투여될 수 있는 추가의 치료제는 본 발명의 항체 접합체와 5분 미만의 간격, 30분 미만의 간격, 1시간 간격, 약 1시간 간격, 약 1 내지 약 2시간 간격, 약 2시간 내지 약 3시간 간격, 약 3시간 내지 약 4시간 간격, 약 4시간 내지 약 5시간 간격, 약 5시간 내지 약 6시간 간격, 약 6시간 내지 약 7시간 간격, 약 7시간 내지 약 8시간 간격, 약 8시간 내지 약 9시간 간격, 약 9시간 내지 약 10시간 간격, 약 10시간 내지 약 11시간 간격, 약 11시간 내지 약 12시간 간격, 약 12시간 내지 18시간 간격, 18시간 내지 24시간 간격, 24시간 내지 36시간 간격, 36시간 내지 48시간 간격, 48시간 내지 52시간 간격, 52시간 내지 60시간 간격, 60시간 내지 72시간 간격, 72시간 내지 84시간 간격, 84시간 내지 96시간 간격, 또는 96시간 내지 120시간 간격으로 투여될 수 있다. 하나의 동일한 환자 방문 내에서 둘 이상의 치료제가 투여될 수 있다.

[0995] 본 발명은 본 발명의 항체 접합체를 포함하는 약제학적 조성물을 단독으로 또는 다른 요법과 조합하여 이를 필요로 하는 대상에게 투여하기 위한 프로토콜을 제공한다. 본 발명의 병용 요법의 치료제는 대상체에 동시적으로 또는 순차적으로 투여될 수 있다. 본 발명의 병용 요법의 치료제는 또한 주기적으로 투여될 수 있다. 주기 요법은 치료제(예를 들어, 제제) 중 1종에 대한 내성 발생 감소, 치료제(예를 들어, 제제) 중 1종의 부작용 회피 또는 감소, 및/또는 치료제의 효능 개선을 위하여, 일정 기간 동안 제1 치료의 투여에 이은 일정 기간 동안 제2 치료의 투여, 및 이러한 순차적인 투여, 즉 주기의 반복을 포함한다.

[0996] 본 발명의 병용 요법의 치료제는 대상체에 병행하여 투여될 수 있다.

[0997] 용어 "병행하여"는 정확히 동시에 요법을 투여하는 것으로 제한되는 것이 아니라, 오히려 본 발명의 항체 또는 항체 접합체가 다른 치료제(들)와 함께 작용하여 이들이 달리 투여되는 경우보다 증가된 이익을 제공할 수 있도록 하는 순서 및 시간 간격 내에 본 발명의 항체 또는 이의 단편을 포함하는 약제학적 조성물이 대상체에 투여되는 것을 의미한다. 예를 들어, 각각의 치료제는 동시에 또는 상이한 시점에 임의의 순서로 순차적으로 대상체에 투여될 수 있지만; 동시에 투여되지 않는 경우, 이들은 원하는 치료 효과를 제공하도록 충분히 가까운 시간 내에 투여되어야 한다. 각각의 치료제는 대상체에 임의의 적절한 형태로 및 임의의 적합한 경로에 의해 개별적으로 투여될 수 있다. 다양한 구현예에서, 치료제는 5분 미만의 간격, 15분 미만의 간격, 30분 미만의 간격, 1시간 미만의 간격, 약 1시간 간격, 약 1시간 내지 약 2시간 간격, 약 2시간 내지 약 3시간 간격, 약 3시간 내지 약 4시간 간격, 약 4시간 내지 약 5시간 간격, 약 5시간 내지 약 6시간 간격, 약 6시간 내지 약 7시간 간격, 약 7시간 내지 약 8시간 간격, 약 8시간 내지 약 9시간 간격, 약 9시간 내지 약 10시간 간격, 약 10시간 내지 약 11시간 간격, 약 11시간 내지 약 12시간 간격, 24시간 간격, 48시간 간격, 72시간 간격, 또는 1주 간격으로 대상체에 투여된다. 다른 구현예에서, 2종 이상의 치료제는 동일한 환자 방문 내에서 투여된다.

[0998] 병용 요법은 대상체에 동일한 약제학적 조성물로 투여될 수 있다. 대안적으로, 병용 요법의 치료제는 대상체에 별도의 약제학적 조성물로 병행하여 투여될 수 있다. 치료제는 동일한 또는 상이한 투여 경로에 의해 대상체에 투여될 수 있다.

[0999] 본원에 기재된 실시예 및 구현예가 오직 예시적인 목적을 위한 것이고, 이의 견지에서 다양한 변형 또는 변경이 당업자에게 제안될 것이고, 본원의 정신 및 범위 및 첨부된 청구범위의 범주 내에 포함된다고 이해된다.

[1000] **실시예**

[1001] 실시예 1: 항-cKIT ADC의 생성

[1002] 위치 특이적 시스테인 돌연변이가 있거나 없는 항-cKit 항체 및 항체 단편의 제조

[1003] 이전에 WO2014150937호 및 WO2016020791호에 기재된 바와 같이 인간 항-cKIT 항체 및 항체 단편을 생성하였다.

- [1004] 항-cKit 항체의 중쇄 및 경쇄의 가변 영역을 암호화하는 DNA를 파지 디스플레이 기반 스크린에서 단리한 벡터로부터 증폭시키고, 인간 IgG1 중쇄 및 인간 카파 경쇄 또는 람다 경쇄의 불변 영역을 함유하는 포유동물 발현 벡터 내로 클로닝하였다. 벡터는 CMV 프로모터 및 신호 펩타이드(중쇄용 MPLLLLLPLWAGALA(서열 번호 149) 및 경쇄용 MSVLTVLALLLWLTGTRC(서열 번호 150)), 그리고 박테리아 숙주, 예를 들어 이. 콜라이 DH5알파 세포에서의 DNA의 증폭, 포유동물 세포, 예를 들어 HEK293 세포에서의 일시적 발현, 또는 포유동물 세포, 예를 들어 CHO 세포 내로의 안정적인 형질주입을 위한 적합한 신호 및 선별 서열을 함유한다. Cys 돌연변이를 도입하기 위하여, 중쇄 또는 경쇄 암호화 서열의 불변 영역에서의 특정 위치에서 단일 Cys 잔기들을 치환하도록 설계된 올리고를 이용하여 위치 특이적 돌연변이 유발 PCR을 수행하였다. Cys 치환 돌연변이의 예는 중쇄의 E152C 또는 S375C; 카파 경쇄의 E165C 또는 S114C; 또는 람다 경쇄의 A143C(모두 EU 넘버링)이다. 일부 경우, 2개 이상의 Cys 돌연변이가 조합되어 다수의 Cys 치환을 가진 항체, 예를 들어 HC-E152C-S375C, 람다 LC-A143C-HC-E152C, 카파 LC-E165C-HC-E152C 또는 카파 LC-S114C-HC-E152C(모두 EU 넘버링)를 제조하였다. 항체 단편을 암호화하는 플라스미드를 생성하기 위하여, 중쇄 불변 영역의 일부를 제거하거나 변형하도록 설계된 올리고를 사용하여 돌연변이 유발 PCR을 수행하였다. 예를 들어, Fab 단편을 위한 발현 작제물 제조를 위하여 221번 잔기(EU 넘버) 바로 다음에 정지 코돈이 암호화되도록 PCR을 수행하여 중쇄 불변 영역의 222번 내지 447번 잔기(EU 넘버링)를 제거하였다. 예를 들어, IgG1 힌지의 2개의 Cys 잔기를 포함하는 Fab' 단편을 위한 발현 작제물 제조를 위하여 232번 잔기(EU 넘버) 바로 다음에 정지 코돈이 암호화되도록 PCR을 수행하여 중쇄 불변 영역의 233번 내지 447번 잔기(EU 넘버링)를 제거하였다.
- [1005] 이전에 기술된 바와 같이 일시적 형질주입 방법을 이용하여 중쇄 및 경쇄 플라스미드를 공동 형질주입하여 항-cKit 항체, 항체 단편, 및 Cys 돌연변이 항체 또는 항체 단편을 293 Freestyle™ 세포에서 발현시켰다 (Meissner, *et al.*, *Biotechnol Bioeng.* 75:197-203 (2001)). 단백질 A, 단백질 G, Capto-L 또는 LambdaFabSelect 수지와 같은 적당한 수지를 사용하여 표준 친화도 크로마토그래피 방법에 의해 발현된 항체를 세포 상청액으로부터 정제하였다. 대안적으로, 중쇄 벡터 및 경쇄 벡터를 CHO 세포 내로 공동 형질주입하여 항-cKit 항체, 항체 단편, 및 Cys 돌연변이 항체 또는 항체 단편을 CHO에서 발현시켰다. 세포 선별을 거친 다음, 안정적으로 형질주입된 세포를 항체 생산에 최적화된 조건 하에 배양하였다. 위에 기술된 바와 같이 세포 상청액으로부터 항체를 정제하였다.
- [1006] **항-cKit 항체 및 항체 단편의 환원, 재산화 및 독소에 대한 접합**
- [1007] 항체 또는 항체 단편 상의 티올기(Cys 측쇄)에 대한 반응을 위한 반응성 모이어티, 예를 들어 말레이미드기, 기재된 바와 같은 링커, 및 기능성 모이어티, 예컨대 아우리스타틴 또는 기타 독소로 구성된 화합물을 이전에 기술된 (예컨대, W02014124316호, W02015138615호, 문헌[Junutula JR, *et al.*, *Nature Biotechnology* 26:925-932 (2008)]에서의) 방법을 이용하여 자연적 Cys 잔기 또는 항체 내로 조작된 Cys 잔기에 접합시켰다.
- [1008] 포유동물 세포에서 발현된 항체 내의 조작된 Cys 잔기는 생합성 동안에 부가물(이황화물), 예컨대 글루타티온(GSH) 및/또는 시스테인에 의해 변형되기 때문에(Chen *et al.* 2009), 처음에 발현된 변형된 Cys는 티올 반응성 시약, 예컨대 말레이미도 또는 브로모-아세트아미드 또는 요오도-아세트아미드기에 대해 비반응성이다. 조작된 Cys 잔기를 접합시키기 위하여, 글루타티온 또는 시스테인 부가물은 이황화물을 환원시켜 제거될 필요가 있으며, 이는 일반적으로 발현된 항체 내의 모든 이황화물을 환원시키는 것을 수반한다. 항체 및 항체 단편 내의 자연적 Cys 잔기는 일반적으로 항체 또는 항체 단편 내의 다른 Cys 잔기에 대해 이황화 결합을 형성하므로, 이들은 또한 이황화물이 환원될 때까지 티올 반응성 시약에 대해 비반응성이다. 이황화물의 환원은 먼저 항체를 환원제, 예컨대 디티오트레이톨(DTT), 시스테인 또는 트리스(2-카복시에틸)포스핀 하이드로클로라이드(TCEP-HCl)에 노출시킴으로써 달성될 수 있다. 선택적으로, 이 환원제는 제거되어 항체 또는 항체 단편의 모든 자연적 이황화 결합의 재산화를 가능하게 하여 기능적 항체 구조를 복구 및/또는 안정화할 수 있다.
- [1009] 항체 또는 항체 단편이 조작된 Cys 잔기에서만 접합된 경우, 자연적 이황화 결합 및 조작된 Cys 잔기(들)의 시스테인 또는 GSH 부가물 사이의 이황화 결합을 환원시키기 위하여, 정제된 Cys 돌연변이 항체에 새로 제조된 DTT를 10 mM 또는 20 mM의 최종 농도까지 첨가하였다. 37°C에서 1시간 동안 DTT와 함께 항체를 항온처리한 후, 매일 완충액을 교환하면서 혼합물을 3일 동안 PBS에 대해 투석하여 DTT를 제거하고 천연 이황화 결합을 재산화시켰다. 개별 중쇄 및 경쇄 분자로부터 항체 사량체를 분리할 수 있는 역상 HPLC로 재산화 과정을 모니터링하였다. 반응을 80°C까지 가열된 PRLP-S 4000A 컬럼(50 mm x 2.1 mm, Agilent)에서 분석하고, 0.1%의 TFA를 함유하는 물 중의 30% 내지 60%의 아세트니트릴의 선형 구배에 의해 1.5 ml/분의 유량으로 컬럼 용리를 수행하였다. 컬럼으로부터의 단백질의 용리를 280 nm에서 모니터링하였다. 재산화가 완료될 때까지 투석을 계속하였다. 재산화는 사슬내 이황화물 및 사슬간 이황화물을 복구시키는 한편, 투석은 새로 도입된 Cys 잔기(들)에 연결된 시스

테인 및 글루타티온을 투석 제거되도록 한다. 재산화 후에, 말레이미드를 함유하는 화합물을 조작된 Cys에 대해 전형적으로 1.5:1, 2:1, 또는 5:1의 비율로 PBS 완충액(pH 7.2) 중의 재산화된 항체 또는 항체 단편에 첨가하고, 항온처리를 1시간 동안 수행하였다. 전형적으로, 과량의 유리 화합물을 표준 방법에 의한 단백질 A 또는 기타 적절한 수지 상에서의 정제에 이은 PBS로의 완충액 교환에 의해 제거하였다.

[1010] 대안적으로, 조작된 Cys 부위를 가진 항체 또는 항체 단편을 환원시키고, 수지상 방법을 이용하여 재산화시켰다. 단백질 A 세파로스 비드(10 mg의 항체당 1 ml)를 PBS(칼슘염 또는 마그네슘염 무함유)에서 평형화시킨 후, 항체 샘플에 회분식으로 첨가하였다. pH 8.0의 0.5 M 인산나트륨 250 ml에 3.4 g의 NaOH를 첨가하여 제조된 용액 10 ml에 850 mg의 시스테인 HCl을 용해시켜 0.5 M 시스테인 원액을 제조한 후, 항체/비드 슬러리에 20 mM 시스테인을 첨가하고, 실온에서 30분 내지 60분 동안 천천히 혼합하였다. 비드를 중력 컬럼에 로딩하고, 30분 미만 내에 50 층 부피의 PBS로 세척하였다. 이후, 컬럼을 1 층 부피의 PBS 중에 재현탁된 비드로 캡핑하였다. 재산화의 속도를 조정하기 위하여, 50 nM 내지 1 μM의 염화구리를 선택적으로 첨가하였다. 소량의 수지 시험 샘플을 제거하고, IgG 용리 완충액(Thermo)에서 용리시키고, 전술한 바와 같이 RP-HPLC에 의해 분석하여 재산화 진행을 모니터링하였다. 원하는 정도로 재산화가 완료되면, 조작된 시스테인에 대한 2몰 내지 3몰 과량의 화합물 첨가에 의해 접합이 즉시 개시될 수 있었고, 혼합물을 실온에서 5분 내지 10분 동안 반응시킨 후, 컬럼을 적어도 20 컬럼 부피의 PBS로 세척하였다. 항체 접합체를 IgG 용리 완충액으로 용리시키고, pH 8.0의 0.5 M 인산나트륨 0.1 부피로 중화시키고, PBS로 완충액 교환을 하였다. 일부 경우, 수지 상의 항체와의 접합을 개시하는 대신에, 컬럼을 적어도 20 컬럼 부피의 PBS로 세척하고, 항체를 IgG 용리 완충액으로 용리시키고, 완충액 pH 8.0으로 중화시켰다. 이후, 항체를 접합 반응에 사용하거나 추가의 사용을 위해 급속 동결시켰다.

[1011] 일부 경우에, 자연적 Cys 잔기, 예컨대, 보통 중쇄 대 경쇄 사슬간 이황화 결합을 형성하는 자연적 Cys 잔기 및 조작된 Cys 잔기의 부재 하에 보통 중쇄 대 중쇄 사슬간 이황화 결합을 형성하는 항체의 힌지 영역 내의 Cys 잔기에 접합시키는 것이 바람직하고, 또는 동시에 접합은 조작된 Cys 잔기들도 대상으로 하였다. 이러한 경우, 5 배 과량의 TCEP를 이황화 결합에 첨가하여 항체 또는 항체 단편을 환원시키고, 샘플을 37° C에서 1시간 동안 항온처리하였다. 이후, 샘플을 즉시 접합시키거나 항후 접합을 위해 -60° C 미만에서 동결시켰다. 말레이미드를 함유하는 화합물을 접합에 사용된 Cys 잔기에 대해 전형적으로 2:1의 비율로 PBS 완충액(pH 7.2) 중의 항체 또는 항체 단편에 첨가하고, 항온처리를 1시간 동안 수행하였다. 일반적으로, 컬럼을 탈염시킨 후, PBS로 더욱 광범위하게 완충액을 교환하여 과량의 유리 화합물을 제거하였다.

[1012] **전장 항체로부터 항체 단편의 생성**

[1013] 일부 경우에, 발현 산물이 항체 단편이 되도록 위에 기술된 바와 같이 항체 중쇄 암호화 서열의 유전자 조작에 의해 항체 단편을 생성하였다. 다른 경우에, 전장 항체의 효소적 소화에 의해 항체를 생성하였다.

[1014] 출발 항체의 1번 내지 222번 잔기(EU 넘버링)를 포함하는 Fab 단편을 생성하기 위하여, 제조사의 프로토콜에 따라 부동화된 파파인 수지(ThermoFisher Scientific)로 전체 항체를 처리하였다. 간략하게는, pH 7.0까지 조정된 새롭게 용해된 20 mM 시스테인-HCl의 소화 완충액 중에 평형화시켜 부동화된 파파인 수지를 제조한다. 항체를 대략 10 mg/ml까지 조정하고, 소화 완충액으로 완충액 교환하고, 수지 ml당 4 mg IgG의 비율로 수지에 첨가하고, 37° C에서 5 내지 7시간 동안 항온처리하였다. 이후, 수지를 제거하고, 항체 단편은 적당한 친화도 수지로 정제되고, 예를 들어 온전한 IgG 및 Fc 단편은 단백질 A 수지에 대한 결합에 의해 Fab 단편으로부터 분리되거나, 크기 배제 크로마토그래피에 의해 분리가 수행되었다.

[1015] 출발 항체의 1번 내지 236번 잔기(EU 넘버링)를 포함하는 F(ab')<sub>2</sub> 단편을 생성하기 위하여, 전체 항체를 단백질 분해 효소로 처리하였다. 간략하게는, 항체를 대략 10 mg/ml로 PBS에 제조한다. 효소를 1:100 중량/중량 비로 첨가하고, 37° C에서 2시간 동안 항온처리하였다. 항체 단편은 적당한 친화도 수지로 정제, 예를 들어 온전한 IgG 및 Fc 단편은 단백질 A 수지에 대한 결합에 의해 Fab 단편으로부터 분리되거나, 크기 배제 크로마토그래피에 의해 분리가 수행되었다.

[1016] **항-cKit-독소 항체 및 항체 단편 접합체의 성질**

[1017] 접합 정도를 결정하기 위하여 항체 및 항체 단편 접합체를 분석하였다. 환원된 및 (적당한 경우) 탈글리코실화된 샘플에 대해 LC-MS 데이터로부터 화합물 대 항체 비율을 외삽하였다. LC/MS는 접합체 샘플 내의 항체에 부착된 링커-페이로드(화합물)의 평균 분자 수의 정량화를 가능하게 한다. 고압 액체 크로마토그래피(HPLC)는 항체를 경쇄 및 중쇄로 분리하고, 환원 조건 하에서 사슬당 링커-페이로드 기의 수에 따라 중쇄(HC) 및 경쇄(LC)로 분리한다. 질량 스펙트럼 데이터는 혼합물의 성분 중, 예를 들어 LC, LC+1, LC+2, HC, HC+1, HC+2 등의 확인을

가능하게 한다. LC 및 HC 쇄 상의 평균 로딩으로부터, 항체 접합체에 대한 화합물 대 항체의 평균 비를 계산할 수 있다. 주어진 접합체 샘플에 대한 화합물 대 항체 비는 2개의 경쇄 및 2개의 중쇄를 함유하는 사합체 항체에 부착된 화합물(링커-전달체) 분자의 평균 수를 나타낸다.

[1018] 접합체를 분석용 크기 배제 크로마토그래피(AnSEC)를 사용하여 Superdex 200 10/300 GL(GE Healthcare) 및/또는 단백질 KW-803 5 μm 300 x 8 mm (Shodex) 컬럼 상에 프로파일링하고; 응집을 분석용 크기 배제 크로마토그래피에 기초하여 분석하였다.

[1019] **예시적인 항-cKIT Fab'-독소 접합체의 제조**

[1020] 항-cKIT Fab'-독소 DAR4 접합체 또는 항-Her2 Fab'-독소 DAR4 대조군 접합체를 생성하기 위하여, 50 mg 전체 IgG(WT, 도입된 시스테인 없음)를 단백질분해 효소로 소화시켰다. F(ab')<sub>2</sub> 단편을 Superdex-S200(GE Healthcare) 컬럼 상에서 SEC로 정제하였다. 대안적으로, 항-HER2 대조군 접합체 또는 항-cKit Fab'-독소 DAR4 접합체를 생성하기 위하여, Fab' HC를 암호화하는 벡터를 Fab' LC를 암호화하는 벡터와 함께 CHO에 공동 형질주입하였다. 발현된 Fab'를 단백질 G 수지 상에서의 포획에 의해 정제하였다. TCEP(사슬간 이황화물에 대해 5x 과량)를 첨가하여 F(ab')<sub>2</sub> 또는 Fab'를 환원시키고, 즉시 본 발명의 화합물(유리 Cys 잔기에 대해 2.5x 과량)과 반응시켰다. 반응을 RP-HPLC로 모니터링하고, 반응이 완료될 때까지 추가 1x 당량의 화합물을 첨가하였다. PD10 탈염 컬럼(GE Healthcare)으로 유리 화합물을 제거하였다. DAR은 실험적으로 3.9 이상인 것으로 확인되었다. 제공된 실시예에서 추가로 연구된 구체적인 접합체는 표 2에 열거되어 있다.

[1021] 항-cKIT Fab'-독소 DAR2 접합체를 생성하기 위하여, 도입된 Cys 잔기가 있는 Fab HC(E152C가 있는 HC 1 내지 221, EU 넘버링에 의함)를 암호화하는 벡터를 도입된 Cys 잔기가 있는 Fab LC(카파 LC K107C, 카파 LC S114C, 또는 카파 LC E165C, EU 넘버링에 의함)를 암호화하는 벡터와 함께 HEK293에 공동 형질주입하였다. 항-Her2 Fab'-독소 DAR2 접합체를 생성하기 위하여, 도입된 Cys 잔기가 있는 Fab HC(EU 넘버링에 의한, E152C가 있는 HC 1 내지 222, 및 C 말단 His<sub>6</sub> 태그(서열 번호 151))를 암호화하는 벡터를, 도입된 Cys 잔기가 있는 Fab LC(카파 LC K107C, 카파 LC S114C, 또는 카파 LC E165C, EU 넘버링에 의함)를 암호화하는 벡터와 함께 HEK293에 공동 형질주입하였다. 발현된 Fab를 Capto-L 수지(GE Healthcare) 상에서의 포획 및 표준 IgG 용리 완충액(Thermo)으로의 용리에 의해 정제하였다. Amicon 울트라 장치를 사용하여 Fab를 PBS로 완충액 교환하였다. Fab를 DTT로 환원시키고, 실온에서 재산화되게 하였다. 사슬간 이황화 결합 재형성 후, Fab를 화합물 6(유리 Cys 잔기에 대해 3x 과량)에 접합시켰다. 실온에서 30분 동안 반응이 진행되도록 하고, 310 nm에서의 검출과 함께 RP-HPLC로 모니터링하였다. 접합된 Fab를 단백질 A(항-her2) 또는 capto-L(항-cKit) 수지 상에서 정제하고, PBS + 1% Triton X-100으로 세척하고, 과량의 PBS로 세척한 후, IgG 용리 완충액 중에서 용리시켰다. 이후, Amicon 울트라 장치를 사용하여 Fab를 PBS로 완충액 교환하였다. 제공된 실시예에서 추가로 연구된 구체적인 접합체는 실험에 의해 결정된 DAR 값과 함께 아래 표 2에 열거되어 있다.

[1022] 항-cKIT F(ab')<sub>2</sub>-독소 DAR2 접합체를 생성하기 위하여, 도입된 Cys 잔기(EU 넘버링에 의한 E152C 및 S375C)가 있는 HC를 암호화하는 벡터를 Fab LC를 암호화하는 벡터와 함께 CHO에 공동 형질주입하였다. 항-Her2 F(ab')<sub>2</sub>-독소 DAR2 대조군 접합체를 생성하기 위하여, 도입된 Cys 잔기(EU 넘버링에 의한 E152C 및 S375C)가 있는 HC를 암호화하는 벡터를 Fab LC를 암호화하는 벡터와 함께 HEK293에 공동 형질주입하였다. 발현된 IgG를 단백질 A 또는 mabselectsure 수지(GE Healthcare) 상에서의 포획 및 표준 IgG 용리 완충액(Thermo)으로의 용리에 의해 정제하였다. 전체 IgG를 실온에서 DTT로 환원시키고, RP-HPLC에 의해 모니터링한 바와 같이 DTT를 제거한 후 재산화시켰다. 이후, 재산화된 IgG를 단백질분해 효소로 소화시켜 F(ab')<sub>2</sub> 단편을 생성하였다. 항-cKIT 단편의 경우, Amicon 울트라 장치를 사용하여 F(ab')<sub>2</sub>를 PBS로 완충액 교환하였다. 항-HER2 단편의 경우, F(ab')<sub>2</sub> 분획을 분취용 HIC에 의해 농후화한 다음, Amicon 울트라 장치를 사용하여 PBS로 완충액 교환하였다. F(ab')<sub>2</sub>를 화합물 (LP1) 또는 화합물 (LP2)(유리 Cys 잔기에 대해 4x 과량)에 접합시켰다. 실온에서 30분 동안 반응이 진행되도록 하고, 310 nm에서의 검출과 함께 RP-HPLC로 모니터링하였다. 접합된 F(ab')<sub>2</sub>를 capto-L(항-cKit Ab3) 수지 상에서 정제하고, PBS + 1% Triton X-100으로 세척하고, 과량의 PBS로 세척한 후, IgG 용리 완충액 중에서 용리시키거나 분취용 SEC로 용리시켰다(항-her2 및 항-cKIT Ab4). 이후, F(ab')<sub>2</sub>를 농축하고, Amicon 울트라 장치를 사용하여 PBS로 완충액 교환하였다. 제공된 실시예에서 추가로 연구된 구체적인 접합체는 실험에 의해 결정된 DAR 값과 함께 아래 표 2에 열거되어 있다.

표 2

예시적인 항-cKIT 또는 대조군 접합체

접합체 번호	항체 단편	접합 방법	항체 단편 HC 서열	항체 단편 LC 서열	링커-페이로드	DAR
J1	항-cKIT Fab'5	자연적 시스템인 접합	서열 번호 99	서열 번호 110	LP2	4.0
J2	항-cKIT Fab'5	자연적 시스템인 접합	서열 번호 99	서열 번호 110	LP1	4.0
J3	항-cKIT Fab'5	자연적 시스템인 접합	서열 번호 99	서열 번호 110	LP1	3.9
J4	항-cKIT Fab'1	자연적 시스템인 접합	서열 번호 120	서열 번호 25	LP1	3.8
J5	항-cKIT Fab'1	자연적 시스템인 접합	서열 번호 120	서열 번호 25	LP2	3.9
J6	항-cKIT Fab3	HC-E152C 및 LC-E165C (EU)에서 조작된 시스템인	서열 번호 130	서열 번호 134	LP1	1.7
J7	항-cKIT Fab3	HC-E152C 및 LC-E165C (EU)에서 조작된 시스템인	서열 번호 130	서열 번호 134	LP2	1.7
J8	항-cKIT Fab'1	자연적 시스템인 접합	서열 번호 14	서열 번호 25	LP1	3.8
J9	항-cKIT Fab'1	자연적 시스템인 접합	서열 번호 14	서열 번호 25	LP2	3.8

[1023]

J10	항-cKIT Fab'2	자연적 시스테인 접합	서열 번호 40	서열 번호 49	LP1	3.6
J11	항-cKIT Fab'2	자연적 시스테인 접합	서열 번호 40	서열 번호 49	LP2	3.8
J12	항-cKIT Fab'2	자연적 시스테인 접합	서열 번호 126	서열 번호 49	LP1	3.9
J13	항-cKIT Fab'3	자연적 시스테인 접합	서열 번호 132	서열 번호 25	LP1	3.9
J14	항-cKIT Fab'5	자연적 시스테인 접합	서열 번호 143	서열 번호 110	LP1	3.8
J15	항-cKIT Fab'1	자연적 시스테인 접합	서열 번호 120	서열 번호 25	LP1	3.9
J16	항-cKIT Fab'1	자연적 시스테인 접합	서열 번호 120	서열 번호 25	LP2	3.9
J17	항-cKIT Fab'2	자연적 시스테인 접합	서열 번호 126	서열 번호 49	LP1	3.9
J18	항-cKIT Fab'2	자연적 시스테인 접합	서열 번호 126	서열 번호 49	LP2	3.9
J19	항-HER2 Fab'	자연적 시스테인 접합	EVQLVESGGGLV QPGGSLRLSCAA SGFNIKDTYIHWV RQAPGKGLEWV ARIYPTNGYTRY ADSVKGRFTISA DTSKNTAYLQMN SLRAEDTAVYYC SRWGGDGFYAM DYWGQGTLLTV SSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGT	DIQMTQSPSSLS ASVGDRTITCR ASQDVNTAVAW YQQKPGKAPKLLI YSASFLYSGVPS RFSGSRSGTDFT LTISSLQPEDFAT YYCQQHYTTPPT FGQGTKVEIKRT VAAPSVFIFPPSD EQLKSGTASVVC LLNNFYPRKAV	LP1	3.9

[1024]

			AALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVD KKVEPKSCDKTH TCPPCPAP(서열 번호 146)	QWKVDNALQSG NSQESVTEQDSK DSTYLSSTLTLS KADYEKHKV/YAC EVTHQGLSSPVT KSFNRGEC (서열 번호 147)		
J20	항-HER2 Fab'	자연적 시스템인 접합	서열 번호 146	서열 번호 147	LP2	3.8
J21	항-cKIT Fab'1	자연적 시스템인 접합	서열 번호 120	서열 번호 25	LP1	3.9
J22	항-cKIT Fab'1	자연적 시스템인 접합	서열 번호 120	서열 번호 25	LP2	3.8
J23	항-cKIT Fab'3	자연적 시스템인 접합	서열 번호 132	서열 번호 25	LP1	3.9
J24	항-cKIT Fab'3	자연적 시스템인 접합	서열 번호 132	서열 번호 25	LP2	3.8
J25	항-cKIT Fab'1	자연적 시스템인 접합	서열 번호 120	서열 번호 25	LP2	4.0
J26	항-cKIT Fab'2	자연적 시스템인 접합	서열 번호 126	서열 번호 49	LP2	4.0
J27	항-HER2 Fab'	자연적 시스템인 접합	서열 번호 146	서열 번호 147	LP2	4.0
J28	항-HER2 Fab'	자연적 시스템인 접합	서열 번호 146	서열 번호 147	LP2	4.0
J29	항-cKIT Fab'3	자연적 시스템인 접합	서열 번호 132	서열 번호 25	LP2	4.0

[1025]

J30	항-cKIT Fab'1	자연적 시스템인 접합	서열 번호 120	서열 번호 25	LP2	4.0
J31	항-HER2 Fab'	자연적 시스템인 접합	서열 번호 146	서열 번호 147	LP2	4.0

[1026]

[1027] **실시예 2: 결합 분석을 위한 인간, 시아노물거스, 마우스 및 래트 cKIT 세포의 도메인 단백질 및 cKIT 하위도메인 1-3 및 4-5의 생성**

[1028]

인간, 마우스 및 래트 cKIT 세포의 도메인(ECD)을 GenBank 또는 Uniprot 데이터베이스로부터의 아미노산을 기초로 하여 유전자 합성하였다(하기 표 3 참조). 시아노물거스 cKIT 및 1 ECD cDNA 주형을 다양한 시아노물거스 조직으로부터의 mRNA를 사용하여 생성된 아미노산 서열 정보를 기초로 하여 유전자 합성하였다(예를 들어, Zyagen Laboratories; 하기 표 4). 모든 합성된 DNA 단편을 정제를 허용하는 C 말단 태그와 함께 적절한 발현 벡터, 예를 들어 hEF1-HTLV 기반 벡터(pFUSE-mIgG2A-Fc2)로 클로닝하였다.

표 3

인간, 마우스, 래트 cKIT 작제물의 서열

명칭	설명	수탁번호	서열 번호
인간 cKIT D1-5(세포 외 도메인)	인간 cKIT tr. 변이체 2, 잔기 26-520-TAG QPSVSPGEPSPPSIHPGKSDLIVRVGDEIRLLC TDPGFVKWTFEILDETENENKQNEWITEKAEAT NTGKYTCTNKHGLSNSIYVFVRDPAKLFLVDR SLYGKEDNDTLVRCPLTDPEVTNYSKGCQG KPLPKDLRFIPDPKAGIMIKSVKRAYHRLCLHC SVDQEGKSVLSEKFIKVRPAFKAVPVVSVSK ASYLLREGEEFTVTCTIKDVSSSVYSTWKREN SQTKLQEKYNSWHHGDFNYERQATLTISSAR VNDSGVFMCYANNTFGSANVTTTLEVVDKGF NIFPMINTTVFVNDGENVDLIVEYEAFPKPEHQ QWIYMNRTFTDKWEDYPKSENESENIRYVSELH LTRLKGTGGTYTFLVNSDVNAIAFNVYVNT KPEILTYDRLVNGMLQCVAAGFPEPTIDWYFC PGTEQRCSASVLPVDVQTLNSSGPPFGKLVV QSSIDSSAFKHNGTVECKAYNDVGKTSAYFNF AFKEIQHPHTLFTPRSHHHHHH	NM_001093772	112
인간 cKIT D1-3	인간 cKIT tr. 변이체 1, 잔기 26-311-TAG QPSVSPGEPSPPSIHPGKSDLIVRVGDEIRLLC TDPGFVKWTFEILDETENENKQNEWITEKAEAT NTGKYTCTNKHGLSNSIYVFVR <b>DPAKL</b> FLVDR SLYGKEDNDTLVRCPLTDPEVTNYSKGCQG KPLPKDLRFIPDPKAGIMIKSVKRAYHRLCLHC SVD <b>QEGKSVLSE</b> KFIKVRPAFKAVPVVSVSK ASYLLREGEEFTVTCTIKDVSSSVYSTWKREN SQTKLQEKYNSWHHGDFNYERQATLTISSAR VNDSGVFMCYANNTFGSANVTTTLEVVDKGR SHHHHHH	NM_000222	113
인간 cKIT D4-5	인간 cKIT tr. 변이체 1, 잔기 311-524-TAG GFINIFPMINTTVFVNDGENVDLIVEYEAFPKPE HQQWIYMNRTFTDKWEDYPKSENESENIRYVS ELHLTRLKGTGGTYTFLVNSDVNAIAFNVY VNTKPEILTYDRLVNGMLQCVAAGFPEPTIDW YFCPGTEQRCSASVLPVDVQTLNSSGPPFGK LVVQSSIDSSAFKHNGTVECKAYNDVGKTSAY FNFAFKGNKEQHPHTLFTPRSHHHHHH	NM_000222	114
마우스 cKIT D1-5	마우스 cKIT tr. 변이체 1, 잔기 26-527-TAG SQPSASPGEPSPPSIHPAQSELIVEAGDTLSLT CIDPDFVRWTFKTYFNEMVENKKNWIEKAE	NM_001122733	115

[1029]

	<p>ATRTGTYTCSNSNGLTSSIIYVFVRDPAKLFLVG                  LPLFGKEDSDALVRCPLTDPQVSNYSLIECDG                  KSLPTDLTFVNPVKAGITIKNVKRAYHRLCVRC                  AAQRDGTWLHSDKFTLVRAAIIKAI PVVSV PET                  SHLLKKGDTFTVCTIKDVSTSVNSMWLKMNP                  QPQHIAQVKHNSWHRGDFNYERQETLISSA                  RVDDSGVFCYANNTFGSANVTTTLKVVEKG                  FINISPVKNTTVFVTDGENVDLVEYEAYPKPE                  HQQWIYMNRTSANKGKDYVKS DNKSNIRYVN                  QLRLTRLKGTEGGTYTFLVSNSDASASVTFNV                  YVNTKPEILTYDRLINGMLQCVAEGFPEPTIDW                  YFCTGAEQRCTTPVSPVDVQVQNVSVSPFGK                  LVVQSSIDSSVFRHNGTVECKASNDVGKSSAF                  FNFAFKEQIQAHFTLPLEVLFQGPRSPRGPTI                  KPCPPCKCPAPNLLGGPSVFIFPPKIKDVL MIS                  LSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHT                  AQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQH QDWMSGK                  EFKCKVNNKDL PAPIERTISKPKGSVRAPQVYV                  LPPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWT                  NNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSKLRVE                  KKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRT                  PGK</p>		
[1030]	<p>래트 cKIT                  D1-5</p> <p><u>래트 cKIT, 잔기 25-526-TAG</u>                  SQPSASPGEPSPPSIQPAQSELIVEAGDTIRLT                  CTDPAFVKWTFEILDVRIENKQSEWIREKAEAT                  HTGKYTCVSGSGLRSSIIYVFVRDPAVLFLVGL                  PLFGKEDNDALVRCPLTDPQVSNYSLIECDGK                  SLPTDLKFVNPVKAGITIKNVKRAYHRLCIRCA                  AQREGKWMRS DKFTLVRAAIIKAI PVVSV PET                  SHLLKEGDTFTVICTIKDVSTSVDSMWIKLNPQ                  PQSKAQVKRNSWHQGDFNYERQETLISSAR                  VNDSGVFCYANNTFGSANVTTTLKVVEKGF I                  NIFPVKNTTVFVTDGENVDLVEFEAYPKPEH                  QQWIYMNRTPTNRGEDYVKS DNQSNIRYVNE                  LRLTRLKGTEGGTYTFLVSNSDVSASVTFDVY                  VNTKPEILTYDRLMNGRLQCVAAGFPEPTIDW                  YFCTGAEQRCTVPVPPVDVQIQNASVSPFGKL                  VVQSSIDSSVFRHNGTVECKASNAVGKSSAFF                  NF AFGNSKEQIQPHTLFTPRSLEVLFQGPGS                  PPLKECPPCAAPDLLGGPSVFIFPPKIKDVL MIS                  LSPMVT CVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVH                  TAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQH QDWMSG                  KEFKCKVNNRALPSPIEKTISKPRGPVRAPQVY</p>	NM_022264	116
[1031]	<p>VLPPPAEEMTKKEFSLTCMITGFLPAEIAVDWT                  SNGRTEQNYKNATVLDSDGSYFMYSKLRVQ                  KSTWERGSLFACSVVHEGLHNHLTTKTISRSL                  GK</p>		

표 4

시아노몰구스 cKIT 단백질의 서열

작제물	한 글자 코드로 된 아미노산 서열, 신호 펩티드는 밑줄. 시아노몰구스 원숭이 cKIT, 잔기 25-520-TAG	서열 번호
시아노몰구 스 원숭이 cKIT D1-5	<u>MYRMQLLS</u> CIALS <u>SLALVTNS</u> QPSVSPGEPSPPSIHPAKSELI VRVGNEIRLLCIDPGFVKWTFEILDETENENKQNEWITEKAEA TNTGKYTCTNKHGLSSSIYVFVRDPAKLFVDRSLYGKEDN DTLVRCP <sup>L</sup> TDPEVTSYSLKGCQGKPLPKDLRFVDPKAGITI KSVKRAYHRLCLHCSADQEGKSVLSDKFILKVRPAFKAVPV VSVSKASYLLREGEEFTVTCTIKDVSSSVYSTWKRENSQTK LQEKYNSWHHGFNYERQATLTISSARVNDSGVFMCYANN TFGSANVTTTLEVVDKGFINIFPMINTTVFVNDGENVDLIVEY EAFPKPEHQWYIMNRTFTDKWEDYPKSENESNIRYVSEL HLTRLKGTGGTYTFLVNSD <sup>V</sup> NASIAFN <sup>V</sup> YVNTKPEILTYD RLVNGMLQCVAAGFPEPTIDWYFCPGTEQRCSASVLPVDV QTLNASGPPFGKLVQSSIDSSAFKHNGTVECKAYNDVGKT SAYFNFAFKGNNKEQIHPHTLFTPRSHHHHHH	117

[1032]

[1033]

재조합 cKIT ECD 단백질의 발현

[1034]

이전에 현탁 배양에 대해 개조되었고 무혈청 배지 FreeStyle-293(Gibco, 카탈로그 # 12338018)에서 성장시킨 HEK293 유래 세포주(293FS)에서 원하는 cKIT 재조합 단백질을 발현시켰다. 소규모 및 대규모 단백질 생산 둘 다 는 일시적인 형질주입을 통해서 하였고, 293fectin®(Life Technologies, 카탈로그 # 12347019)을 플라스미드 운반체로 하여 각각 1 ℓ 까지 다중 진탕 플라스크(Nalgene)에서 수행하였다. 전체 DNA 및 293fectin은 1:1.5(w:v)의 비율로 사용되었다. DNA 대 배양물 비율은 1 mg/ℓ 였다. 세포 배양 상청액을 형질주입 3일 내지 4 일 후에 수확하고, 원심분리하고, 무균 여과한 후 정제하였다.

[1035]

태그화된 ECD 단백질 정제

[1036]

재조합 Fc 태그화된 cKIT 세포의 도메인 단백질(예를 들어, 인간 cKIT ECD-Fc, 인간 cKIT(ECD 하위도메인 1 내지 3, 4 내지 5)-Fc, 시아노 cKIT-mFc, 래트 cKIT-mFc, 마우스 cKIT-mFc)을 세포 배양 상청액으로부터 정제하였다. 청정된 상청액을 PBS로 평형화시킨 Protein A Sepharose® 컬럼 위로 통과시켰다. 기준선으로 세척한 후, 결합된 물질을 Pierce Immunopure® 저 pH 용리 완충액, 또는 100 mM 글리신(pH 2.7)으로 용리시키고, 1 M Tris pH 9.0의 용리 부피의 8분의 1로 바로 중화시켰다. 필요한 경우, 공칭 분자량 차단값이 10 kD 또는 30 kD 인 Amicon® Ultra 15 ml 원심분리 농축기를 사용하여 풀링된 단백질을 농축하였다. 이후, Superdex® 200 26/60 컬럼을 사용하여 풀을 SEC에 의해 정제하여 응집물을 제거하였다. 이후, 정제된 단백질을 SDS-PAGE 및 SEC-MALLS(다중각도 레이저 광 산란)로 규명하였다. Vector NTI에 의해 서열로부터 계산된 이론적인 흡수 계수를 사용하여, 280 nm에서의 흡광도에 의해 농도를 결정하였다.

[1037]

실시예 3: cKIT ECD 하위도메인에 대한 cKIT Fab의 결합

[1038]

cKIT Ab의 결합 부위를 규정하는 것을 돕기 위해, 인간 cKIT ECD를 하위도메인 1 내지 3(리간드 결합 도메인) 및 하위도메인 4 내지 5(이합체화 도메인)로 나누었다. 어떤 하위도메인이 결합되는지를 결정하기 위하여, 샌드위치 ELISA 검정을 이용하였다. cKIT 하위도메인 1 내지 3, 하위도메인 4 내지 5 또는 전장 cKIT ECD에 상응하는 1× 인산염 완충 식염수에 희석된 1 µg/ml의 ECD를 96웰 Immulon® 4-HBX 플레이트(Thermo Scientific 카탈로그 # 3855, 미국 일리노이주 록포드 소재)에 코팅하고, 4°C에서 밤새 항온처리하였다. 플레이트를 세척 완충액(1× 인산염 완충 식염수(PBS) + 0.01% Tween-20(Bio-Rad 101-0781))으로 3회 세척하였다. 플레이트를 실온에서 2시간 동안 1×PBS에 희석된 3% 소 혈청 알부민 280 µl/웰로 차단하였다. 플레이트를 세척 완충액으로 3회 세척하였다. 항체를 8개의 지점에 대해 5배 희석으로 세척 완충액에서 2 µg/ml로 제조하고, ELISA 플레이트에 100 µl/웰로 3회 반복하여 첨가하였다. 플레이트를 실온에서 1시간 동안 200 rpm으로 진탕시키면서 오비탈 진탕 기에서 항온처리하였다. 검정 플레이트를 세척 완충액으로 3회 세척하였다. 2차 항체 F(ab')<sub>2</sub> 단편 염소 항-인간 IgG(H+L)(Jackson Immunoresearch 카탈로그 # 109-036-088, 미국 펜실베이니아주 웨스트 그로브 소재)를 세척 완충액에서 1:10,000으로 제조하고, ELISA 플레이트에 100 µl/웰로 첨가하였다. 플레이트를 실온에서 1시간

동안 200 rpm으로 진탕시키면서 오비탈 진탕기에서 2차 항체와 항온처리하였다. 검정 플레이트를 세척 완충액으로 3회 세척하였다. ELISA 신호를 전개시키기 위해, 100  $\mu$ l/웰의 Sure blue  $\text{\textcircled{R}}$  TMB 기질(KPL 카탈로그 # 52-00-03, 미국 메릴랜드주 게이더스버그 소재)을 플레이트에 첨가하고, 실온에서 10분 동안 항온처리되게 하였다. 반응을 정지시키기 위해, 50  $\mu$ l의 1 N 염산을 각각의 웰에 첨가하였다. Molecular Devices SpectraMax $\text{\textcircled{R}}$  M5 플레이트 판독기를 사용하여 450 nm에서 흡광도를 측정하였다. 각각의 항체의 결합 반응을 결정하기 위하여, 광학 밀도 측정치를 평균화하고, 표준 편차 값을 생성시키고, 엑셀을 이용하여 그래프화하였다. cKIT에 대한 개별적인 항-cKIT 항체의 결합 특성은 표 6에서 찾아볼 수 있다.

[1039] 실시예 4: cKIT 항체의 친화도 측정

[1040] cKIT 중 오르토로그(orthologue)에 대한, 그리고 또한 인간 cKIT에 대한 항체의 친화도를 Biacore $\text{\textcircled{R}}$  2000 기기 (GE Healthcare, 미국 펜실베이니아주 피츠버그 소재) 및 CM5 센서 칩을 사용하여 SPR 기술을 이용하여 결정하였다.

[1041] 간략하게는, 2% Odyssey $\text{\textcircled{R}}$  차단 완충액(Li-Cor Biosciences, 미국 네브라스카주 링컨 소재)가 보충된 HBS-P(0.01 M HEPES, pH 7.4, 0.15 M NaCl, 0.005% 계면활성제 P20)은 모든 실험에 실행 완충액으로 사용되었다. 부동화 수준 및 분석물 상호작용은 반응 단위(RU)에 의해 측정되었다. 항-인간 Fc 항체(카탈로그 번호 BR100839, GE Healthcare, 미국 펜실베이니아주 피츠버그 소재)의 부동화 및 시험 항체의 포획의 실행 가능성을 시험하고 확인하도록 파일럿 실험이 수행되었다.

[1042] 동역학 측정을 위해, 부동화된 항-인간 Fc 항체를 통해 항체가 센서 칩 표면에 포획되는 실험을 수행하였고, 유리 용액에서 결합하는 cKIT 단백질의 능력을 결정하였다. 간략하게는, 25  $\mu$ g/ml의 pH 5의 항-인간 Fc 항체를 유동 셀 둘 다에서 5  $\mu$ l/분의 유속으로 아민 커플링을 통해 CM5 센서 칩에 부동화시켜 10,500 RU에 도달하였다. 이후, 0.1 내지 1  $\mu$ g/ml의 시험 항체를 1분 동안 10  $\mu$ l/분으로 주입하였다. 항체의 포획된 수준은 일반적으로 200 RU 미만으로 유지되었다. 후속하여, 3.125 내지 50 nM의 cKIT 수용체 세포의 도메인(ECD)을 2배 시리즈로 희석하였고, 기준 유동 셀 및 시험 유동 셀 둘 다에 대해 40  $\mu$ l/분의 유속으로 3분 동안 주입하였다. 시험된 ECD의 표는 아래에 열거되어 있다(표 5). ECD 결합의 해리는 10분 동안 이어졌다. 각각의 주입 사이클 후, 칩 표면을 30초 동안 10  $\mu$ l/분의 3 M MgCl<sub>2</sub>로 재생시켰다. 모든 실험을 25 $^{\circ}$ C에서 수행하였고, (Scrubber 2 $\text{\textcircled{R}}$  소프트웨어 버전 2.0b(BioLogic Software)를 사용하여) 반응 데이터를 단순 1:1 상호작용 모델로 전체적으로 적합화시켜, 결합 속도(k<sub>a</sub>), 해리 속도(k<sub>d</sub>) 및 친화도(K<sub>D</sub>)의 추정치를 얻었다. 표 6은 선택된 항-cKIT 항체의 도메인 결합 및 친화도를 열거한다.

**표 5**

cKIT ECD 이소형 및 출처

ECD 이소형	태그	출처
인간	C 말단 6x His(서열 번호 151)	Novartis 작제물
시아노물구스	C 말단 6x His(서열 번호 151)	Novartis 작제물
마우스	C 말단 6x His(서열 번호 151)	Sino Biological Inc (카탈로그 번호 50530-M08H)
랫트	C 말단 mFc	Novartis 작제물

[1043]

표 6

항체 친화도 및 교차 반응성

Ab	cKIT 도메인 결합	SET에서 인간 cKIT ECD에 대한 KD(pM)	SET에서 시아노몰구스 cKIT ECD에 대한 KD(pM)	마우스 cKIT에 대한 반응성	랫트 cKIT에 대한 반응성
항-cKIT Ab1	D1-3	94	170	반응성 없음	반응성 없음
항-cKIT Ab2	D1-3	7	10	반응성 없음	반응성 없음
항-cKIT Ab3	D1-3	160	52	반응성 없음	반응성 없음
항-cKIT Ab4	D4-5	2400	140	있음	있음
항-cKIT Ab5	D1-3	110	180	있음	있음

[1044]

[1045]

*실시예 5 cKIT ADC에 의한 시험관내 인간 HSC 세포 사멸 검정*

[1046]

**시험관내 HSC 생존능력 검증**

[1047]

인간 동원된 말초 혈액 조혈 줄기 세포(HSC)를 HemaCare(카탈로그 번호 M001F-GCSF-3)로부터 얻었다. 약 100만 개 세포의 각각의 바이알을 해동시키고, 10 ml의 1X HBSS에 희석시키고, 1200 rpm에서 7분 동안 원심분리하였다. 세포 펠릿을, 3종의 성장 인자(아미노산(Gibco, 카탈로그 번호 10378-016)이 보충된, TPO(R&D Systems, 카탈로그 번호 288-TP), Flt3 리간드(Life Technologies, 카탈로그 번호 PHC9413) 및 IL-6(Life Technologies, 카탈로그 번호 PHC0063) 각각을 50 ng/ml 갖는 StemSpan SFEM)를 함유하는 성장 배지 18 ml에 재현탁시켰다.

[1048]

시험 재제를 10 µg/ml에서 시작하여 1:3 시리즈 희석으로 384웰 검은색 검정 플레이트에 최종 부피 5 µl로 2회 반복하여 희석하였다. 상기로부터의 세포를 각각의 웰에 최종 부피 45 µl로 첨가하였다. 세포를 37° C 및 5% 산소에서 7일 동안 항온처리하였다. 배양 종료 시, 검정 플레이트를 1200 rpm에서 4분 동안 원심분리함으로써 염색을 위한 세포를 수확하였다. 이후, 상청액을 흡인하고, 세포를 세척하고, 다른 384웰 플레이트(Greiner Bio-One TC 처리된, 검은색 투명 평판, 카탈로그 번호 781092)로 옮겼다.

[1049]

인간 세포 분석을 위하여, 각각의 웰을 항-CD34-PerCP(Becton Dickinson, 카탈로그 번호 340666) 및 항-CD90-APC(Becton Dickinson, 카탈로그 번호 559869)로 염색하고, 세척하고, FACS 완충액에 최종 부피 50 µl까지 재현탁시켰다. 이후, 세포를 Becton Dickinson Fortessa 유세포 분석기에서 분석하였고, 분석을 위하여 정량화하였다.

[1050]

cKIT를 인식하는 항체 및 항체 단편의 독소 접합체는 이 검정에서 결정된 바와 같이 HSC를 사멸시켰다. FACS에 의한 세포의 정량화는 PBS로 처리된, 또는 항체 또는 항체 단편의 이소형 대조군 독소 접합체로 처리된 대조군 웰에서보다 항-cKIT-독소 접합체로 처리된 웰에서 더 적은 수의 살아 있는 세포를 보여주었다. 데이터는 도 1에 도시되어 있고, 표 7에 요약되어 있다. 본원에 사용된 명명 규칙은 J#이며, 표 2에 기술된 구체적인 접합체 번호에 상응한다.

표 7

항-cKIT Fab-독소 접합체의 처리 후 세포 생존능력

접합체 번호	세포 집단	EC50 (ng/ml)
J4	인간 전체 유핵 세포	16
	인간 CD34+ 세포	25
	인간 CD90+ 세포	37
J5	인간 전체 유핵 세포	8.8
	인간 CD34+ 세포	13
	인간 CD90+ 세포	39
J8	인간 전체 유핵 세포	10
	인간 CD34+ 세포	16
	인간 CD90+ 세포	31
J9	인간 전체 유핵 세포	1.8
	인간 CD34+ 세포	3.6
	인간 CD90+ 세포	12
J10	인간 전체 유핵 세포	35
	인간 CD34+ 세포	57
	인간 CD90+ 세포	59
J11	인간 전체 유핵 세포	16
	인간 CD34+ 세포	27
	인간 CD90+ 세포	41
J15	인간 전체 유핵 세포	115
	인간 CD34+ 세포	151
	인간 CD90+ 세포	229
J16	인간 전체 유핵 세포	29
	인간 CD34+ 세포	43
	인간 CD90+ 세포	89

[1051]

[1052]

실시예 6 인간 비만 세포 탈과립의 시험관내 분석

[1053]

동원된 말초 혈액으로부터 CD34+ 전구세포를 사용하여 성숙한 비만 세포를 생성하였다. CD34+ 세포를 재조합 인간 줄기 세포 인자(rhSCF, 50 ng/ml, Gibco), 재조합 인간 인터류킨 6(rhIL-6, 50 ng/ml, Gibco), 재조합 인간 IL-3(30 ng/ml, Peprotech), GlutaMAX(2 nM, Gibco), 페니실린(100 U/ml, Hyclone) 및 스트렙토마이신(100 µg/ml, Hyclone)이 보충된 StemSpan SFEM(StemCell Technologies)에서 배양하였다. 재조합 hIL-3을 배양 첫 주 동안 첨가하였다. 세 번째 주 이후, 배지의 절반을 매주 rhIL-6(50 ng/ml) 및 rhSCF(50 ng/ml)를 함유하는 새로운 배지로 교체하였다. 고친화도 IgE 수용체(FCεRI, eBioscience) 및 CD117(BD)의 표면 염색에 의해 성숙한 비만 세포의 순도를 평가하였다. 배양 8주 내지 12주의 세포를 사용하였다.

[1054]

유래된 비만 세포를 1회 세척하여 SCF를 제거하고, 필요한 양의 세포를 rhSCF(50 ng/ml)와 함께 또는 이것 없이 rhIL-6(50 ng/ml)을 함유하는 비만 세포 배지에서 밤새 항온처리하였다. 비만 세포 탈과립의 양성 대조군으로, 세포 일부를 인간 골수중 IgE(100 ng/ml, EMD Millipore)로 감작시켰다. 다음날, 항-cKIT 항체 또는 항체 단편 또는 이의 독소 접합체, 마우스 단클론 항-인간 IgG1(Fab 특이적, Sigma), 염소 항-인간 IgE(Abcam) 및 화합물 48/80(Sigma) 희석물을 0.04% 소 혈청 알부민(BSA, Sigma)이 보충된 HEPES 탈과립 완충액(10 mM HEPES, 137 mM NaCl, 2.7 mM KCl, 0.4 mM 제2인산나트륨, 5.6 mM 글루코오스, 7.4로 pH 조정되고 1.8 mM 염화칼슘 및 1.3 mM 황산마그네슘과 혼합됨)에서 제조하였다. V-바닥 384웰 검정 플레이트에 시험 제제 및 항-IgG1를 함께 혼합하는 한편, 항-IgE 및 화합물 48/80은 단독으로 시험하였다. 검정 플레이트를 37° C에서 30분 항온처리하였다. 항온 처리 동안, 세포를 HEPES 탈과립 완충액 + 0.04% BSA로 3회 세척하여 배지 및 비결합된 IgE를 제거하였다. 세포

를 HEPES 탈과립 완충액 + 0.04% BSA에 재현탁시키고, 최종 반응 부피 50  $\mu$ l를 위하여 검정 플레이트의 웰당 3000개 세포로 시딩하였다. IgE로 감작시킨 세포는 탈과립에 대한 양성 대조군으로서 오로지 항-IgE와 함께 사용되었다. 검정 플레이트를 37° C에서 30분 항온처리하여 탈과립이 일어나게 하였다. 이 항온처리 동안, 시트르산염 완충액(40 mM 시트르산, 20 mM 제2인산나트륨, pH 4.5)에 3.5 mg/ml의 pNAG를 음과처리하여 *p*-니트로-*N*-아세틸- $\beta$ -D-글루코사민(pNAG, Sigma) 완충액을 제조하였다. 평판 384웰 플레이트에 20  $\mu$ l의 세포 상청액을 40  $\mu$ l의 pNAG 용액과 혼합하여  $\beta$ -핵소스아미니다아제 방출을 측정하였다. 이 플레이트를 37° C에서 1.5시간 동안 항온처리하고, 40  $\mu$ l의 정지 용액(400 mM 글리신, pH 10.7)을 첨가하여 반응을 정지시켰다.  $\lambda$  = 620 nm의 기준 필터와 함께  $\lambda$  = 405 nm에서 플레이트 판독기를 사용하여 흡광도를 판독하였다.

[1055] 비만 세포 탈과립 검정에 사용된 전장 IgG 대조군을 표 8에 기술하였다.

표 8

비만 세포 탈과립 검정에 사용된 전장 IgG 대조군

명칭	HC 서열	LC 서열
항-cKIT Ab1	서열 번호 12	서열 번호 25
항-cKIT Ab2	서열 번호 38	서열 번호 49
항-cKIT Ab3	서열 번호 56	서열 번호 25
항-cKIT Ab4	서열 번호 71	서열 번호 84
항-Her2	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIDQYIH WVRQAPGKLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFT ISADTSKNTAYLQMNSLRRAEDTAVYYCSRWGGDG FYAMDYWGQGLTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPELGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFNCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (서열 번호 148)	서열 번호 147

[1056]

[1057] 실시예 7 전장 항-cKIT 항체 및 이의 F(ab')<sub>2</sub> 및 Fab 단편에 의한 인간 비만 세포 탈과립의 시험관내 분석

[1058] 성숙한 비만 세포를 생성하고, 실시예 6에 기술된 바와 같이 항-cKIT 항체 및 F(ab')<sub>2</sub> 및 Fab 단편으로 시험하였다.

[1059] 도 2의 A-2의 C에 도시된 바와 같이, 전장 항-cKIT Ab4 및 F(ab')<sub>4</sub> 단편은 가교되었을 때 비만 세포 탈과립을 유발하였으나, 모든 시험된 농도에서 Fab4(HC-E152C) 단편에 의해서는 비만 세포 탈과립이 전혀 촉발되지 않았다. 도 2의 D-2의 F는 전장 항-cKIT Ab1 및 F(ab')<sub>1</sub> 단편이 가교되었을 때 비만 세포 탈과립을 유발하였으나, 모든 시험된 농도에서 Fab1(HC-E152C) 단편에 의해서는 비만 세포 탈과립이 전혀 촉발되지 않았음을 보여준다. 도 2의 G-2의 I는 전장 항-cKIT Ab2 및 F(ab')<sub>2</sub> 단편이 가교되었을 때 비만 세포 탈과립을 유발하였으나, 모든 시험된 농도에서 Fab2(HC-E152C) 단편에 의해서는 비만 세포 탈과립이 전혀 촉발되지 않았음을 보여준다. 도 2의 J-2의 L은 전장 항-cKIT Ab3 및 F(ab')<sub>3</sub> 단편은 가교되었을 때 비만 세포 탈과립을 유발하였으나, 모든 시험된 농도에서 Fab3(HC-E152C) 단편에 의해서는 비만 세포 탈과립이 전혀 촉발되지 않았음을 보여준다. 이는 환자가 Fab 단편을 인식하는 항-약물 항체를 발달시켰거나 기존의 이 항-약물 항체를 가지고 있을 경우 관찰될 수 있는 바와 같이 결합되고 더 큰 복합체로 다량체화될 때에도 Fab 단편이 비만 세포 탈과립을 초래하지 않음을

제시한다. 한편, F(ab')<sub>2</sub> 단편은 결합되고 더 큰 복합체로 다합체화될 때 전장 항-cKIT 항체와 비슷한 수준으로 비만 세포 탈과립을 유발한다.

[1060] 실시예 8 마우스 숙주로부터 인간 HSC의 생체내 절제

[1061] 인간 HSC에 대한 생체내 효능에 대해 시험 제제를 평가하기 위해, 인간 CD34+ 세포로 인간화된 심각하게 면역 손상된 NOD.Cg-Prkdc<sup>scid</sup> IL2rg<sup>tm1Wjl</sup>/SzJ 마우스를 Jackson Laboratory로부터 구입하였다. 인간 키메리즘 퍼센트는 혈액 샘플의 유세포분석에 의해 결정되었다. 이를 위하여, 혈액을 다음의 항체로 염색하였다: 항-인간 CD45-e450(eBioscience, 카탈로그 # 48-0459-42), 항-마우스 CD45-APC(Becton Dickinson, 카탈로그 # 559864), 항-인간 항-인간 CD33-PE(Becton Dickinson, 카탈로그 # 347787), 항-인간 CD19-FITC(Becton Dickinson, 카탈로그 # 555422) 및 항-인간 CD3-PeCy7(Becton Dickinson, 카탈로그 # 557851). 일단 인간 키메리즘이 확인되면, 인간화된 NSG 마우스에 시험 제제를 b.i.d. 복강 내로 투여하였다. 투여 후 인간 키메리즘 정도를 재평가하였다. 인간 HSC의 존재 또는 부재를 평가하기 위하여, 마우스를 안락사시키고, 골수를 분리하고 다음의 항체로 염색하였다: 항-인간 CD45-e450(eBioscience, 카탈로그 # 48-0459-42), 항-마우스 CD45-APC(Becton Dickinson, 카탈로그 # 559864), 항-인간 CD34-PE(Becton Dickinson, 카탈로그 # 348057), 항-인간 CD38-FITC(Becton Dickinson, 카탈로그 # 340926), 항-인간 CD11b-PE(Becton Dickinson, 카탈로그 # 555388), 항-인간 CD33-PeCy7(Becton Dickinson, 카탈로그 # 333946), 항-인간 CD19-FITC(Becton Dickinson, 카탈로그 # 555412) 및 항-인간 CD3-PeCy7(Becton Dickinson, 카탈로그 # 557851). 유세포분석을 통해 세포 집단을 평가하고, FlowJo로 분석하였다.

[1062] 하나의 특정 실험에서, 마우스에 10 mg/kg의 항-cKIT 접합체 J26, J29, 또는 J30, 또는 이소형 대조군 접합체 J31을 2일 동안 매일 2회 투여하였다. 21일에 마우스를 안락사시키고, 이들의 골수를 분석하였다. 도 3에 도시된 바와 같이, 항-cKIT 접합체 J26, J29, 또는 J30으로 처리된 마우스는 감소된 인간 HSC(인간 CD45+, 인간 CD34+, 인간 CD38-)를 보여주었으나, 이소형 대조군 접합체 J31로 처리된 마우스는 가변적인 키메리즘을 보여주었다.

[1063] 이 실험은 항-cKit Fab'-독소 접합체가 골수로부터 HSC를 고갈시킬 수 있다는 것을 보여준다. 항-cKIT Fab'-아우리스타틴 접합체(예를 들어, J26, J29, J30)는 생체내 인간 HSC를 절제할 수 있었다.

[1064] 다르게 정의되지 않는 한, 본원에 사용된 기술적 및 과학적 용어는 본 발명이 속한 분야에 친숙한 전문가가 통상적으로 이해하는 것과 동일한 의미를 가진다.

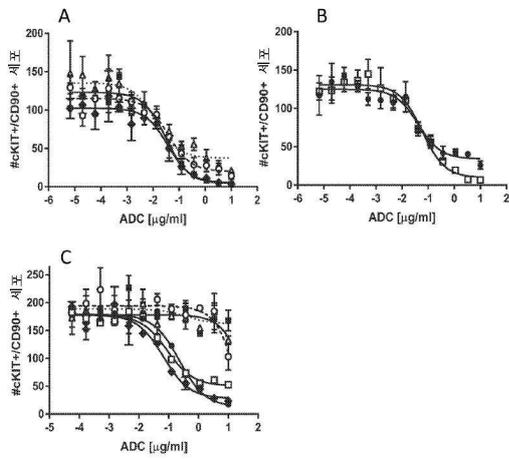
[1065] 달리 나타내지 않는 한, 상세히 구체적으로 기재되지 않은 모든 방법, 단계, 기법 및 조작이 수행될 수 있고, 당업자에게 명확할 바와 같이 그 자체로 공지된 방식으로 수행될 수 있고 수행되어 왔다. 예를 들어 표준 핸드북 및 본원에 언급된 일반적인 배경기술, 및 그에 인용된 추가의 참고문헌을 또한 참조한다. 달리 나타내지 않는 한, 본원에 인용된 참고문헌은 각각 그 전문이 참조로 포함된다.

[1066] 본 발명의 청구범위는 비제한적이고 하기에 제공된다.

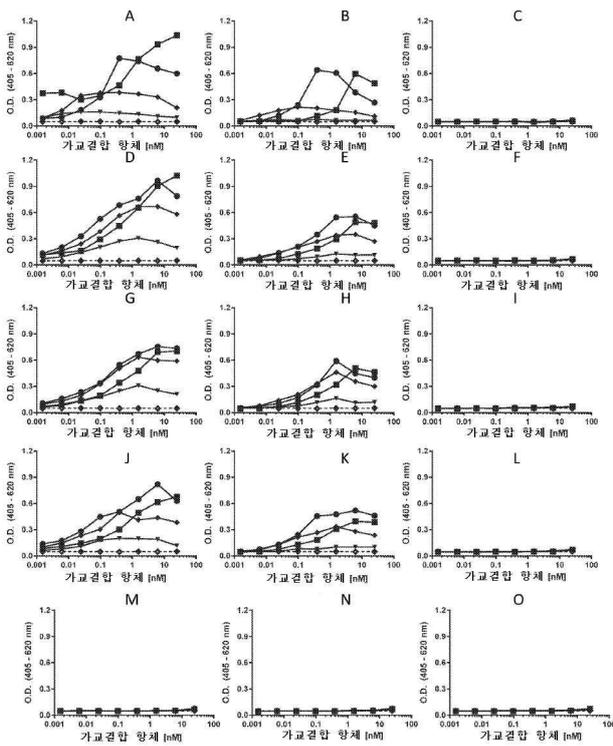
[1067] 특정 양태 및 청구범위가 본원에서 상세히 개시되어 있긴 하지만, 이는 예시만을 목적으로 예로서 주어진 것이고, 첨부된 청구항의 범위, 또는 임의의 상응하는 향후 출원의 청구범위의 주제 대상의 범위에 관해 제한하려는 것이 아니다. 특히, 본 발명자들은 청구범위에 의해 정의된 바와 같은 본 발명의 취지 및 범위를 벗어나지 않으면서, 본 발명에 다양한 치환, 변경 및 변형이 이루어질 수 있음을 고려한다. 핵산 출발 물질, 관심 클론, 또는 라이브러리 유형의 선택은 본원에서 기재된 양태의 지식을 가진 당업자에게는 통상적인 사항인 것으로 여겨진다. 다른 양태, 이점 및 변형이 하기 청구범위의 범위 내에 있는 것으로 간주된다. 당업자는 통상적인 범위를 넘지 않는 실험을 사용하여 본원에서 기재된 발명의 구체적 양태의 다수의 균등물을 인식하거나 확인할 수 있을 것이다. 이러한 균등물은 하기 청구범위에 포괄된다. 다양한 국가의 특허법에 의한 제한으로 인하여 이후 출원되는 상응하는 출원의 청구범위가 고쳐질 수 있으며, 이것을 청구범위의 주제 대상을 포기하는 것으로 해석해서는 안 된다.

도면

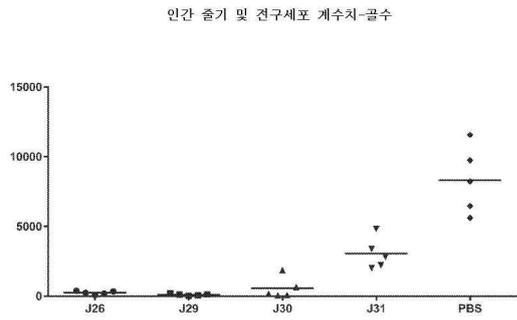
도면1



도면2



도면3



서열목록

SEQUENCE LISTING

<110> NOVARTIS AG

<120> ANTIBODY DRUG CONJUGATES FOR ABLATING HEMATOPOIETIC STEM CELLS

<130> PAT058157-WO-PCT

<140><141><150> 62/687,382

<151> 2018-06-20

<160> 151

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 1

Ser Tyr Ala Ile Ser

1 5

<210> 2

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221>

> source

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

peptide"  
 <400> 2  
 Val Ile Phe Pro Ala Glu Gly Ala Pro Gly Tyr Ala Gln Lys Phe Gln  
 1                    5                    10                    15  
 Gly

<210> 3  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><221> source  
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic  
 peptide"

<400> 3  
 Gly Gly Tyr Ile Ser Asp Phe Asp Val  
 1                    5

<210> 4  
 <211> 7  
 <212>  
 > PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><221> source  
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic  
 peptide"

<400> 4  
 Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr  
 1                    5

<210> 5  
 <211> 6  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><221> source  
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic  
 peptide"

<400> 5

Phe Pro Ala Glu Gly Ala

1 5

<210> 6

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 6

Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Ile Ser

1 5 10

<210> 7

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 7

Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr Ala

1 5

<210> 8

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 8

Ile Phe Pro Ala Glu Gly Ala Pro

1 5

<210> 9

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

<400> 9  
 Ala Arg Gly Gly Tyr Ile Ser Asp Phe Asp Val  
 1                    5                    10

<210> 10

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 10

Gln 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 Gly Thr Phe Ser Ser Tyr

                  20                    25                    30  
 Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

                  35                    40                    45  
 Gly Val Ile Phe Pro Ala Glu Gly Ala Pro Gly Tyr Ala Gln Lys Phe

                  50                    55                    60  
 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

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

                  85                    90                    95  
 Ala Arg Gly Gly Tyr Ile Ser Asp Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr

                  100                    105                    110  
 Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 11  
 <211> 354  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><221> source  
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide"

<400> 11  
 caggtgcaat tggatgagag cgggtccgaa gtgaaaaaac cgggcagcag cgtgaaagt 60  
 agctgcaaag catccggagg gacgtttagc agctatgca ttagctgggt gcgccaggcc 120  
 ccgggccagg gcctcgagt gatgggcgtt atcttcccgg ctgaagcgc tccgggttac 180  
 gccagaaat ttcagggccg ggtgaccatt accgccgatg aaagcaccag caccgcctat 240  
 atggaactga gcagcctgag cagcgaagat acggccgtgt attattgagc gcgtgggtgt 300  
 tacatctctg acttcgatgt ttggggccaa ggcaccctgg tgactgttag ctca 354

<210> 12

<211>

448

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 12

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr



tacagcctga gcagcgtggt gacagtgcc tccagctctc tgggaacca gacctatc 600

tgcaacgtga accacaagcc cagcaacacc aaggtggaca agagagtgga gccaagagc 660

tgcgacaaga cccacacctg cccccctgc ccagctecag aactgctggg agggccttc 720

gtgttctgt tcccccaa gcccaaggac acctgatga tcagcaggac ccccagggtg 780

acctgcgtgg tgggtggact gtcccacgag gaccagagg tgaagttaa ctggtacgtg 840

gacggcgtgg aggtgcaca cgccaagacc aagcccagag aggagcagta caacagcacc 900

tacaggtgg tgtccgtgt gaccgtgtg caccaggact ggctgaacgg caagaatac 960

aagtgcгааг tctccaaca ggccctgcc gcccaatcg aaaagacaat cagcaaggcc 1020

aagggccagc cacgggagcc ccaggtgtac acctgcccc ccagccggga ggagatgacc 1080

aagaaccagg tgtccctgac ctgtctggtg aagggttct acccagcga tatgccctg 1140

gagtgggaga gcaacggcca gcccgagaac aactacaaga ccaccccc agtgctggac 1200

agcgacggca gcttcttct gtacagcaag ctgaccgtgg acaagtccag gtggcagcag 1260

ggcaactgt tcagctgcag cgtgatgcac gaggccctgc acaaccacta cacccagaag 1320

tccctgagcc tgagccccgg caag 1344

<210> 14

<211> 237

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 14

Gln 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 Gly Thr Phe Ser Ser Tyr  
                   20                    25                    30

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

Gly Val Ile Phe Pro Ala Glu Gly Ala Pro Gly Tyr Ala Gln Lys Phe  
                   50                    55                    60

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



gcccagaaat ttcagggcgc ggtgaccatt accgccgatg aaagcaccag caccgcctat 240  
atggaactga gcagcctgcg cagcgaagat acggccgtgt attattgcgc gcgtggtggt 300  
tacatctctg acttcgatgt ttggggccaa ggcaccctgg tgactgttag ctcagctagc 360

accaagggcc ccagcgtggt ccccctggcc ccagcagca agtctacttc cggcggaaact 420  
gctgcccctgg gttgctggt gaaggactac ttccccgagc ccgtgacagt gtcttggaac 480  
tctggggctc tgacttcggc cgtgcacacc ttccccgccg tgctgcagag cagcggcctg 540  
tacagcctga gcagcgtggt gacagtgcc tccagctctc tgggaacca gacctatc 600  
tgcaactga accacaagcc cagcaacacc aaggtggaca agagagtgga gcccaagagc 660  
tgcgacaaga cccacactg cccccctgc ccagctccag aactgctggg a 711

<210> 16

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 16

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Asn Tyr Leu Ala

1                    5                    10

<210> 17

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 17

Asp Ala Ser Ser Leu Gln Ser

1                    5

<210> 18

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 18

Gln Gln Tyr Tyr Tyr Glu Ser Ile Thr

1 5

<210> 19

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 19

Ser Gln Ser Ile Ser Asn Tyr

1 5

<210> 20

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 20

Asp Ala Ser

1

<210> 21

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 21

Tyr Tyr Tyr Glu Ser Ile

1                    5

<210> 22

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 22

Gln Ser Ile Ser Asn Tyr

1                    5

<210> 23

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 23

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 Ser Ile Ser Asn Tyr

20                    25                    30

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

35                    40                    45

Tyr Asp Ala Ser Ser Leu 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 Tyr Tyr Glu Ser Ile

85                    90                    95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 24

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 24

gatatccaga tgaccagag cccgagcagc ctgagcgcca gcgtgggcga tgcggtgacc 60  
 attacctgca gagccagcca gtctatttct aactacctgg cttggtacca gcagaaaccg 120  
 ggcaaagcgc cgaactatt aatctacgac gcttcttctc tgcaaagcgg cgtgccgagc 180  
 cgctttagcg gcagcggatc cggcaccgat ttcacctga ccattagctc tctgcaaccg 240  
 gaagactttg cgacctatta ttgccagcag tactactacg aatctatcac ctttgccag 300

ggcacgaaag ttgaaattaa a 321

<210> 25

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 25

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 Ser Ile Ser Asn Tyr  
 20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile  
 35 40 45  
 Tyr Asp Ala Ser Ser Leu 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 Tyr Tyr Glu Ser Ile  
                                   85                                90                                95

Thr Phe Gly Gln 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> 26

<211> 642

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 26

gatatccaga tgaccagag cccgagcagc ctgagcgcca gcgtgggcca tcgcgtgacc        60  
 attacctgca gagccagcca gtctatttct aactacctgg cttggtacca gcagaaaccg        120  
 ggcaaagcgc cgaactatt aatctacgac gcttcttctc tgcaaagcgg cgtgccgagc        180  
 cgctttagcg gcagcggatc cggcaccgat ttaccctga ccattagctc tctgcaaccg        240

gaagactttg cgacctatta ttgccagcag tactactacg aatctatcac ctttgccag 300  
 ggcacgaaag ttgaaattaa acgtacggtg gccgctccca gcgtgttcat cttcccccc 360

agcgacgagc agctgaagag tggcaccgcc agcgtggtgt gcctgctgaa caacttctac 420  
 ccccgggagg ccaaggtgca gtggaagggtg gacaacgccc tgcagagcgg caacagccag 480  
 gagagcgtca ccgagcagga cagcaaggac tccacctaca gcctgagcag caccctgacc 540  
 ctgagcaagg ccgactacga gaagcataag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc 600  
 ctgtccagcc ccgtgaccaa gagcttcaac aggggcgagt gc 642

<210> 27

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 27

Ser His Ala Leu Ser

1 5

<210> 28

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 28

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

1 5 10 15

Gly

<210> 29

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source  
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic  
peptide"  
<400> 29  
Gly Leu Tyr Asp Phe Asp Tyr  
1 5  
<210> 30  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> Artificial Sequence  
<220><221> source  
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic  
peptide"  
<400> 30  
Gly Gly Thr Phe Ser Ser His  
1 5  
<210> 31  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> Artificial Sequence  
<220><221> source  
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic  
peptide"  
<400> 31  
Ile Pro Ser Phe Gly Thr  
1 5  
<210> 32  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Artificial Sequence  
<220><221> source  
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic  
peptide"

<400> 32

Gly Gly Thr Phe Ser Ser His Ala Leu Ser

1                    5                    10

<210> 33

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 33

Gly Gly Thr Phe Ser Ser His Ala

1                    5

<210> 34

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 34

Ile Ile Pro Ser Phe Gly Thr Ala

1                    5

<210> 35

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 35

Ala Arg Gly Leu Tyr Asp Phe Asp Tyr

1                    5

<210> 36

<211> 116

<212

> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 36

Gln 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 Gly Thr Phe Ser Ser His

                  20                    25                    30

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

                  35                    40                    45

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

                  50                    55                    60

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

65                    70                    75                    80

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

                  85                    90                    95

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

                  100                    105                    110

Thr Val Ser Ser

                  115

<210> 37

<211> 348

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 37

caggtgcaat tgggtgcagag cggtgccgaa gtgaaaaaac cgggcagcag cgtgaaagt

60

agctgcaaag catccggagg gacgttttct tctcatgctc tgtcttgggt gcgccaggcc 120  
 ccgggccagg gcctcgagtg gatgggagg atcatcccgt ctttcggcac tgcggactac 180  
 gccagaaat ttcagggccg ggtgaccatt accgccgatg aaagcaccag caccgcctat 240

atggaactga gcagcctgcg cagcgaagat acggccgtgt attattgcbc gcgtggtctg 300  
 tagcacttcg actactgggg ccaaggcacc ctggtgactg ttagctca 348

<210> 38

<211> 446

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 38

Gln 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 Gly Thr Phe Ser Ser His  
 20 25 30

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

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

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

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

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

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

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

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly

145                      150                      155                      160

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

                                 165                      170                      175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu

                                 180                      185                      190

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr

                                 195                      200                      205

Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr

210                      215                      220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe

225                      230                      235                      240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro

                                 245                      250                      255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val

                                 260                      265                      270

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr

275                      280                      285

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

290                      295                      300

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys

305                      310                      315                      320

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser

                                 325                      330                      335

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

340                      345                      350

Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val

355                      360                      365

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

370                      375                      380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp

385                                      390                                      395                                      400  
 Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp  
  
    405                                      410                                      415  
 Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His  
    420                                      425                                      430  
 Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
    435                                      440                                      445  
 <210> 39  
 <211> 1338  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><221> source  
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic  
    polynucleotide"  
 <400> 39  
 caggtgcaat tggatgcagag cggatgccgaa gtgaaaaaac cgggcagcag cgtgaaagt                      60  
  
 agctgcaaag catccggagg gacgttttct tctcatgctc tgtcttgggt gcgccaggcc                      120  
 ccgggccagg gcctcgagtg gatggcggt atcatccctt ctttcggcac tgcggactac                      180  
 gcccagaaat ttcagggccg ggtgaccatt accgccgatg aaagcaccag caccgcctat                      240  
 atggaactga gcagcctgcg cagcgaagat acggccgtgt attattgctc gcgtggtctg                      300  
 tacgacttcg actactgggg ccaaggcacc ctggtgactg ttagctcagc tagcaccaag                      360  
 ggccccagcg tgttccccct ggccccagc agcaagtcta cttccggcgg aactgctgcc                      420  
 ctgggttgcc tggatgaagga ctacttccc gagcccgtga cagtgtcctg gaactctggg                      480  
  
 gctctgactt ccggcgtgca caccttccc gccgtgctgc agagcagcgg cctgtacagc                      540  
 ctgagcagcg tggatgacagt gccctccagc tctctgggaa cccagaccta tatctgcaac                      600  
 gtgaaccaca agcccagcaa caccaagggtg gacaagagag tggagcccaa gagctgagc                      660  
 aagaccaca cctgccccct ctgccagct ccagaactgc tgggagggcc ttcctgttc                      720  
 ctgttcccc ccaagcccaa ggacacctg atgatcagca ggacccccga ggtgactg                      780  
 gtggtggtgg acgtgtcca cgaggacca gaggtgaagt tcaactgta cgtggacggc                      840  
 gtggaggtgc acaacgcaa gaccaagccc agagaggagc agtacaacag cacctacagg                      900  
  
 gtggtgtccg tgctgacctg gctgcaccag gactggctga acggcaaaga atacaagtgc                      960

aaagtctcca acaaggccct gccagcccca atcgaaaaga caatcagcaa ggccaagggc 1020  
 cagccacggg agccccaggt gtacacctg cccccagcc gggaggagat gaccaagaac 1080  
 caggtgtccc tgacctgtct ggtgaagggc ttctaccca gcgatatcgc cgtggagtgg 1140  
 gagagcaacg gccagccca gaacaactac aagaccaccc cccagtgct ggacagcgac 1200  
 ggcagcttct tctgtacag caagctgacc gtggacaagt ccaggtggca gcagggcaac 1260  
 gtgttcagct gcagcgtgat gcacgaggcc ctgcacaacc actacacca gaagtcctg 1320

agcctgagcc cggcaag 1338

<210> 40

<211> 235

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 40

Gln 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 Gly Thr Phe Ser Ser His

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu

130 135 140  
 Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly  
 145 150 155 160

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

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

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

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

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly  
 225 230 235

<210> 41

<211> 705

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 41

caggtgcaat tggatgcagag cgggtccgaa gtgaaaaaac cgggcagcag cgtgaaagt 60  
 agctgcaaag catccggagg gacgttttct tctcatgctc tgtcttgggt gcgccaggcc 120  
 ccgggccagg gcctcgagtg gatgggcggt atcatcccg ctttcggcac tgcggactac 180  
 gccagaaat ttcagggccg ggtgaccatt accgccgatg aaagcaccag caccgcctat 240  
  
 atggaactga gcagcctgcg cagcgaagat acggccgtgt attattgcbc gcgtggtctg 300  
 tagacttcg actactgggg ccaaggcacc ctggtgactg ttagctcagc tagcaccaag 360  
 ggccccagcg tgitccccct ggccccagc agcaagtcta cttccggcgg aactgctgcc 420  
 ctgggttgcc tggatgaagga ctactcccc gagcccgtga cagtgtcctg gaactctggg 480  
 gctctgactt ccggcgtgca caccttcccc gccgtgctgc agagcagcgg cctgtacagc 540  
 ctgagcagcg tggatgacagt gccctccagc tctctgggaa cccagaccta tatctgcaac 600

gtgaaccaca agccagcaa caccaagggtg gacaagagag tggagcccaa gagctgcgac 660

aagaccaca cctgccccct ctgcccagct ccagaactgc tggga 705

<210> 42

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 42

Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Gln Asp Leu Ala

1                    5                    10

<210> 43

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 43

Gln Gln Tyr Tyr Tyr Leu Pro Ser Thr

1                    5

<210> 44

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 44

Ser Gln Asp Ile Ser Gln Asp

1                    5

<210> 45

<211> 6  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><221> source  
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 45  
 Tyr Tyr Tyr Leu Pro Ser  
 1 5

<210> 46  
 <211> 6

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

<400> 46  
 Gln Asp Ile Ser Gln Asp  
 1 5

<210> 47  
 <211> 107

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

<400> 47  
 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 Gln Asp

20 25 30  
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile  
 35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Ser Leu 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 Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Tyr Tyr Leu Pro Ser

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 48

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 48

gatatccaga tgaccagag cccgagcagc ctgagcgcca gcgtgggcca tcgctgacc 60  
 attacctgca gagccagcca ggacatttct caggacctgg cttggtacca gcagaaaccg 120  
 ggcaaagcgc cgaactatt aatctacgac gcttcttctc tgcaaagcgg cgtgccgagc 180

cgctttagcg gcagcggatc cggcaccgat ttcacctga ccattagctc tctgcaaccg 240  
 gaagactttg cggtgtatta ttgccagcag tactactacc tgccgtctac ctttgccag 300  
 ggcacgaaag ttgaaattaa a 321

<210> 49

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 49

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 Gln Asp  
 20 25 30  
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile  
 35 40 45  
 Tyr Asp Ala Ser Ser Leu 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 Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Tyr Tyr Leu Pro Ser  
 85 90 95  
 Thr Phe Gly Gln 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> 50

<211> 642

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polynucleotide"

<400> 50

```

gatatccaga tgaccagag cccgagcagc ctgagcgcca gcgtgggcga tcgctgacc    60
attacctgca gagccagcca ggacatttct caggacctgg cttggtacca gcagaaaccg    120
ggcaaagcgc cgaactatt aatctacgac gcttcttctc tgcaaagcgg cgtgccgagc    180
cgctttagcg gcagcggatc cggcaccgat ttcacctga ccattagctc tctgcaaccg    240

gaagactttg cggtgtatta ttgccagcag tactactacc tgccgtctac ctttgccag    300
ggcacgaaag ttgaaattaa acgtacgggtg gccgctccca gcgtgttcat cttcccccc    360
agcgacgagc agctgaagag tggcaccgcc agcgtggtgt gcctgctgaa caacttctac    420
ccccgggagg ccaaggtgca gtggaagggtg gacaacgccc tgcaagcgg caacagccag    480
gagagcgtca ccgagcagga cagcaaggac tccacctaca gcctgagcag caccctgacc    540
ctgagcaagg ccgactacga gaagcataag gtgtacgctt gcgaggtgac ccaccagggc    600
ctgtccagcc ccgtgaccaa gagcttcaac aggggcgagt gc                        642

```

<210> 51

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 51

Thr Ile Gly Pro Phe Glu Gly Gln Pro Arg Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

1                    5                    10                    15

Gly

<210> 52

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 52

Gly Pro Phe Glu Gly Gln

1 5

<210> 53

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 53

Ile Gly Pro Phe Glu Gly Gln Pro

1 5

<210> 54

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 54

Gln 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 Gly Thr Phe Ser Ser Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Gly Thr Ile Gly Pro Phe Glu Gly Gln Pro Arg Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115

<210> 55

<211> 354

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 55

caggtgcaat tggatgcagag cggatgccga gtgaaaaaac cgggcagcag cgtgaaagt 60

agctgcaaag catccggagg gacgttttagc agctatgcga ttagctgggt gcccaggcc 120

ccgggccagg gcctcgagt gatgggact atcggatccgt tcgaaggcca gccgcgttac 180

gcccagaaat ttcagggccg ggtgaccatt accgccgatg aaagcaccag caccgcctat 240

atggaactga gcagcctgcg cagcgaagat acggccgtgt attattgcgc gcgtggtggt 300

tacatctctg acttcgatgt ttggggccaa ggcaccctgg tgactgtag ctca 354

<210> 56

<211> 448

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 56

Gln 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 Gly Thr Phe Ser Ser Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Gly Thr Ile Gly Pro Phe Glu Gly Gln Pro Arg Tyr Ala Gln Lys Phe



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

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

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

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

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

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

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

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

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

<210> 57

<211> 1344

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 57

caggtgcaat tgggtcagag cgggtccgaa gtgaaaaaac cgggcagcag cgtgaaagt 60  
 agctgcaaag catccggagg gacgtttagc agctatgcca ttagctgggt gcccaggcc 120  
 ccgggccagg gcctcgagtg gatgggcact atcggtcctg tcgaaggcca gccgcgttac 180  
 gccagaaat ttcagggccg ggtgaccatt accgccgatg aaagcaccag caccgcctat 240  
 atggaactga gcagcctgcg cagcgaagat acggccgtgt attattgcmc gcgtggtggt 300

tacatctctg acttcgatgt ttggggccaa ggcacctgg tgactgttag ctacagctagc 360  
 accaagggcc caagtgtgtt tcccctggcc cccagcagca agtctacttc cggcggaact 420  
 gctgccctgg gttgcctggt gaaggactac ttccccgagc ccgtgacagt gtctctggaac 480  
 tctggggctc tgacttccgg cgtgcacacc ttccccgccg tgctgcagag cagcggcctg 540  
 tacagcctga gcagcgtggt gacagtgcc tccagctctc tgggaacca gacctatc 600  
 tgcaacgtga accacaagcc cagcaacacc aaggtggaca agagagtgga gcccaagagc 660  
 tgcgacaaga cccacacctg cccccctgc ccagctccag aactgctggg agggccttcc 720

gtgttctgt tccccccaa gcccaaggac acctgatga tcagcaggac ccccaggtg 780  
 acctgcgtgg tgggtgacgt gtcccacgag gaccagagg tgaagttaa ctggtacgtg 840  
 gacggcgtgg aggtgcacaa cgccaagacc aagcccagag aggagcagta caacagcacc 900  
 tacagggtgg tgtccgtgct gaccgtgctg caccaggact ggctgaacgg caaagaatac 960  
 aagtcaaaag tctccaacaa ggccctgcc gcccacatcg aaaagacaat cagcaaggcc 1020  
 aaggccagc cacgggagcc ccaggtgtac acctgcccc ccagccgga ggagatgacc 1080  
 aagaaccagg tgcctctgac ctgtctggtg aaggcttct accccagcga tatcgcctg 1140

gagtgggaga gcaacggcca gcccgagaac aactacaaga ccaccccc agtgctggac 1200  
 agcgacggca gcttcttct gtacagcaag ctgaccgtgg acaagtccag gtggcagcag 1260  
 ggcaacgtgt teagctcag cgtgatgcac gaggccctgc acaaccacta cacceagaag 1320  
 tcctgagcc tgagccccgg caag 1344

<210> 58

<211> 237

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 58

Gln 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 Gly Thr Phe Ser Ser Tyr			
	20	25	30
Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met			
	35	40	45

Gly Thr Ile Gly Pro Phe Glu Gly Gln Pro Arg Tyr Ala Gln Lys Phe  
 50 55 60  
 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr  
 65 70 75 80  
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Ala Arg Gly Gly Tyr Ile Ser Asp Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr  
 100 105 110  
 Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro  
 115 120 125  
 Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly  
 130 135 140  
 Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn  
 145 150 155 160  
 Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln  
 165 170 175  
 Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser  
 180 185 190  
 Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser  
 195 200 205  
 Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr  
 210 215 220  
 His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly  
 225 230 235  
 <210> 59  
 <211> 711  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><221> source  
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic  
 polynucleotide"  
 <400> 59

caggtgcaat tggatgagag cggatgccgaa gtgaaaaaac cgggcagcag cgtgaaagt 60

agctgcaaag catccggagg gacgttttagc agctatgcga ttagctgggt gcgccaggcc 120

ccgggccagg gcctcgagtg gatgggcaact atcggatccgt tcgaaggcca gccgcgttac 180

gcccaaaaat ttcagggccg ggtgaccatt accgccgatg aaagcaccag caccgcctat 240

atggaactga gcagcctgcg cagcgaagat acggccgtgt attattgcgc gcgtggtggt 300

tacatctctg acttcgatgt ttggggccaa ggcaccctgg tgactgttag ctgagctagc 360

accaagggcc caagtgtgtt tcccctggcc cccagcagca agtctacttc cggcggaaact 420

gctgccctgg gttgctggt gaaggactac tccccgagc ccgtgacagt gtcttggaaac 480

tctggggctc tgacttccgg cgtgcacacc tccccgccg tgctgcagag cagcggcctg 540

tacagcctga gcagcgtggt gacagtgcc tccagctctc tgggaacca gacctatc 600

tgcaactga accacaagc cagcaacacc aagggtgaca agagagtgga gcccaagagc 660

tgcgacaaga cccacacctg cccccctgc ccagctccag aactgctggg a 711

<210> 60

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 60

Thr Asn Ser Ala Ala Trp Asn

1 5

<210> 61

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 61

Arg Ile Tyr Tyr Arg Ser Gln Trp Leu Asn Asp Tyr Ala Val Ser Val

1 5 10 15

Lys Ser

<210> 62

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 62

Gln Leu Thr Tyr Pro Tyr Thr Val Tyr His Lys Ala Leu Asp Val

1                    5                    10                    15

<210> 63

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 63

Gly Asp Ser Val Ser Thr Asn Ser Ala

1                    5

<210> 64

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 64

Tyr Tyr Arg Ser Gln Trp Leu

1                    5

<210> 65

<211> 12  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><221> source  
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 65  
 Gly Asp Ser Val Ser Thr Asn Ser Ala Ala Trp Asn  
 1                    5                    10

<210> 66  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><221> source  
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 66  
 Gly Asp Ser Val Ser Thr Asn Ser Ala Ala  
 1                    5                    10

<210> 67  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><221> source  
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 67  
 Ile Tyr Tyr Arg Ser Gln Trp Leu Asn  
 1                    5

<210> 68  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><221> source

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

<400> 68

Ala Arg Gln Leu Thr Tyr Pro Tyr Thr Val Tyr His Lys Ala Leu Asp  
 1                    5                    10                    15

Val

<210> 69

<211> 127

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 69

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Ile Ser Gly Asp Ser Val Ser Thr Asn  
                   20                    25                    30

Ser Ala Ala Trp Asn Trp Ile Arg Gln Ser Pro Ser Arg Gly Leu Glu

35                    40                    45

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

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

Gln Phe Ser Leu Gln Leu Asn Ser Val Thr Pro Glu Asp Thr Ala Val  
                   85                    90                    95

Tyr Tyr Cys Ala Arg Gln Leu Thr Tyr Pro Tyr Thr Val Tyr His Lys

100                    105                    110

Ala Leu Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
                   115                    120                    125

<210> 70

<211> 381

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 70

```

caggtgcaat tgcagcagag cggctccggc ctggtgaaac cgagccagac cctgagcctg      60
acctgcgcga tttccggaga tagcgtgagc actaactctg ctgcttggaa ctggattcgt      120

cagagcccga gccgtggcct cgagtggctg ggccgtatct actaccgtag ccagtggctg      180
aacgactatg ccgtgagcgt gaaaagccgc attaccatta acccggatac ttcgaaaaac      240
cagtttagcc tgcaactgaa cagcgtgacc ccggaagata cggccgtgta ttattgcgcg      300
cgtcagctga cttaccgta cactgtttac cataaagctc tggatgtttg ggtcaagga      360
acctggtea ccgtctctc g                                                    381
    
```

<210> 71

<211> 457

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 71

```

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

Val Ser Val Lys Ser Arg Ile Thr Ile Asn Pro Asp Thr Ser Lys Asn
65           70           75           80
    
```

Gln Phe Ser Leu Gln Leu Asn Ser Val Thr Pro Glu Asp Thr Ala Val  
85 90 95

Tyr Tyr Cys Ala Arg Gln Leu Thr Tyr Pro Tyr Thr Val Tyr His Lys  
100 105 110

Ala Leu Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala  
115 120 125

Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser  
130 135 140

Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe  
145 150 155 160

Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly  
165 170 175

Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu  
180 185 190

Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr  
195 200 205

Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg  
210 215 220

Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro  
225 230 235 240

Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys  
245 250 255

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

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

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu  
290 295 300

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

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys

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

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

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 450 455

<210> 72

<211> 1371

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 72

caggtgcaat tgcagcagag cgggtccgggc ctggtgaaac cgagccagac cctgagcctg 60  
 acctgcgca tttccggaga tagcgtgagc actaactctg ctgcttgaa ctggattcgt 120  
 cagagcccga gccgtggcct cgagtggctg ggccgtatct actaccgtag ccagtggctg 180  
 aacgactatg ccgtgagcgt gaaaagccgc attaccatta acccggatac ttcgaaaaac 240  
  
 cagtttagcc tgcaactgaa cagcgtgacc ccggaagata cggccgtgta ttattgcgcg 300  
 cgtcagctga cttaccgta cactgtttac cataaagctc tggatgtttg ggtcaagga 360  
 accctggtca ccgtctctc ggctagcacc aagggcccca gcgtgttccc cctggccccc 420

agcagcaagt ctacttccgg cggaactgct gccctgggtt gcctggtgaa ggactacttc 480  
 cccgagcccc tgacagtgtc ctggaactct ggggctctga cttccggcgt gcacaccttc 540  
 cccgccgtgc tgcagagcag cggcctgtac agcctgagca gcgtggtgac agtgcctcc 600  
 agctctctgg gaacccagac ctatatctgc aacgtgaacc acaagcccag caacaccaag 660

gtggacaaga gaggaggacc caagagctgc gacaagacc acacctgccc cccctgccc 720  
 gctccagaac tgetgggagg gccttccgtg ttctgttcc ccccaagcc caaggacacc 780  
 ctgatgatca gcaggacccc cgaggtgacc tgcgtggtgg tggacgtgtc ccacaggac 840  
 ccagagtgga agttcaactg gtacgtggac ggcgtggagg tgcacaacgc caagaccaag 900  
 cccagagagg agcagtacaa cagcacctac aggggtggtg ccgtgctgac cgtgctgac 960  
 caggactggc tgaacggcaa agaatacaag tgcaaagtct ccaacaaggc cctgccagcc 1020  
 ccaatcgaaa agacaatcag caaggccaag ggccagccac gggagcccca ggtgtacacc 1080

ctgccccca gccgggagga gatgaccaag aaccaggtgt ccctgacctg tctggtgaag 1140  
 ggcttctacc ccagcgatat cgccgtggag tgggagagca acggccagcc cgagaacaac 1200  
 tacaagacca cccccaggt gctggacagc gacggcagct tcttctgta cagcaagctg 1260  
 accgtggaca agtccaggtg gcagcagggc aacgtgttca gctgcagcgt gatgcacgag 1320  
 gccctgcaca accactacac ccagaagtcc ctgagcctga gccccgcaa g 1371

<210> 73

<211> 246

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 73

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



polynucleotide"

<400> 74

caggtgcaat tgcagcagag cggtcgggc ctggtgaaac cgagccagac cctgagcctg 60  
 acctgcgcga tticcggaga tagcgtgagc actaactctg ctgcttgaa ctggattcgt 120  
 cagagccga gccgtggcct cgagtggctg ggcgtatct actaccctag ccagtggctg 180  
 aacgactatg ccgtgagcgt gaaaagccgc attaccatta acccgatac ttcgaaaaac 240  
 cagtttagcc tgcaactgaa cagcgtgacc ccggaagata cggccgtgta ttattgcgcg 300  
 cgtcagctga cttaccgta cactgtttac cataaagctc tggatgtttg gggtaagga 360

accctggtea ccgtctctc ggctagcacc aagggcccca gcgtgttccc cctggcccc 420  
 agcagcaagt ctacttccgg cggaactgct gcctgggtt gcctggtgaa ggactacttc 480  
 cccgagccc tgacagtgc ctggaactct ggggctctga cttccggcgt gcacaccttc 540  
 cccgccgtgc tgcagagcag cggcctgtac agcctgagca gcgtgggtac agtgcctcc 600  
 agctctctgg gaaccagac ctatatctgc aacgtgaacc acaagcccag caacaccaag 660  
 gtggacaaga gagtggagcc caagagctgc gacaagaccc acacctgccc cccctgcca 720  
 gctccagaac tgctggga 738

<210> 75

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 75

Ser Gly Asp Asn Leu Gly Asp Gln Tyr Val Ser

1 5 10

<210> 76

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 76

Asp Asp Thr Asp Arg Pro Ser

1 5

<210> 77

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 77

Gln Ser Thr Asp Ser Lys Ser Val Val

1 5

<210> 78

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 78

Asp Asn Leu Gly Asp Gln Tyr

1 5

<210> 79

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 79

Asp Asp Thr

1

<210> 80

<211> 6  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><221> source  
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 80  
 Thr Asp Ser Lys Ser Val  
 1                    5

<210> 81  
 <211> 6  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><221> source  
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 81  
 Asn Leu Gly Asp Gln Tyr  
 1                    5

<210> 82  
 <211> 106  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><221> source  
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 82  
 Asp Ile Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ser Pro Gly Gln  
 1                    5                    10                    15  
 Thr Ala Ser Ile Thr Cys Ser Gly Asp Asn Leu Gly Asp Gln Tyr Val  
                   20                    25                    30  
 Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr  
                   35                    40                    45

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

<210> 83

<211> 318

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 83

gatatcgaac tgaccagcc gccgagcgtg agcgtgagcc cgggccagac cgcgagcatt 60  
 acctgtagcg gcgataacct gggtgaccaa tacgtttcctt ggtaccagca gaaaccgggc 120  
 caggcggcgg tgctggtgat ctacgacgac actgaccgtc cgagcggcat cccggaacgt 180  
 ttttagcggat ccaacagcgg caacaccgcg acctgacca ttagcggcac ccaggcggaa 240  
 gacgaagcgg attattactg ccagtctact gactctaaat ctgttgtgtt tggcggcggc 300  
  
 acgaagttaa ccgtccta 318

<210> 84

<211> 212

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 84

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



polynucleotide"

<400> 85

gatatacgaac tgaccagcc gccgagcgtg agcgtgagcc cgggccagac cgcgagcatt 60  
 acctgtagcg gcgataacct ggggtgaccaa tacgtttctt ggtaccagca gaaaccgggc 120  
 caggcggcgg tgctggtgat ctacgacgac actgaccgtc cgagcggcat cccggaacgt 180  
 tttagcggat ccaacagcgg caacaccgag acctgacca ttagcggcac ccaggcggaa 240  
 gacgaagcgg attattactg ccagtctact gactctaaat ctgttgtgtt tggcggcggc 300  
 acgaagttaa ccgctctagg ccagcctaag gccgctcct cctgaccct gttcccccc 360

agctccgagg aactgcagcg caacaaggcc accctggtgt gcctgatcag cgacttctac 420  
 cctggcgccg tgaccgtggc ctggaaggcc gacagcagcc ccgtgaaggc cggcgtggag 480  
 acaaccacc ccagcaagca gagcaacaac aagtacgccg ccagcagcta cctgagcctg 540  
 acccccgagc agtgggaagag ccacagaagc tacagctgcc aggtcaccca cgagggcagc 600  
 accgtggaga aaaccgtggc ccccaccgag tgcagc 636

<210> 86

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 86

Asn Tyr Trp Ile Ala

1 5

<210> 87

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 87

Ile Ile Tyr Pro Ser Asn Ser Tyr Thr Leu Tyr Ser Pro Ser Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 88

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 88

Val Pro Pro Gly Gly Ser Ile Ser Tyr Pro Ala Phe Asp His

1                    5                    10

<210> 89

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 89

Gly Tyr Ser Phe Thr Asn Tyr

1                    5

<210> 90

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 90

Tyr Pro Ser Asn Ser Tyr

1                    5

<210> 91

<211> 10  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><221> source  
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"  
 <400> 91  
 Gly Tyr Ser Phe Thr Asn Tyr Trp Ile Ala  
 1                    5                    10  
 <210> 92  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><221> source  
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"  
 <400> 92  
 Gly Tyr Ser Phe Thr Asn Tyr Trp  
  
 1                    5  
 <210> 93  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><221> source  
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"  
 <400> 93  
 Ile Tyr Pro Ser Asn Ser Tyr Thr  
 1                    5  
 <210> 94  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><221> source

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

<400> 94

Ala Arg Val Pro Pro Gly Gly Ser Ile Ser Tyr Pro Ala Phe Asp His  
 1                    5                    10                    15

<210> 95

<211> 123

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 95

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

Gly Ile Ile Tyr Pro Ser Asn Ser Tyr Thr Leu Tyr Ser Pro Ser Phe  
                   50                    55                    60

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

Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys  
                   85                    90                    95

Ala Arg Val Pro Pro Gly Gly Ser Ile Ser Tyr Pro Ala Phe Asp His  
                   100                    105                    110

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

<210> 96

<211> 369

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 96

```

caggtgcaat tggtagcagag cggtagcggaa gtgaaaaaac cgggtagaaag cctgaaaatt      60
agctgcaaag gtagcggata tagcttact aactactgga tagcttaggt gcgtagatg          120
ccgggcaaag gttagcagtg gatgggcatc atctaccgt ctaacagcta caccctgtat        180
agcccgagct tttagggcca gtagaccatt agtagcggata aaagcatcag caccctgtat        240

ctgcaatgga gcagcctgaa agtagcagat accgtagatg attattgagc gtaggttccg        300
ccggtaggtt ctattcttta cccgctttc gatcattggg gcaaggcac ctaggtgact          360
gtagctca                                         369
    
```

<210> 97

<211> 453

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 97

```

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

Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Asn Tyr
           20           25           30

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

Gly Ile Ile Tyr Pro Ser Asn Ser Tyr Thr Leu Tyr Ser Pro Ser Phe
           50           55           60

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

Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
           85           90           95
    
```

Ala Arg Val Pro Pro Gly Gly Ser Ile Ser Tyr Pro Ala Phe Asp His  
 100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly  
 115 120 125

Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly  
 130 135 140

Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val  
 145 150 155 160

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe  
 165 170 175

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

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

Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys  
 210 215 220

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

Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr  
 245 250 255

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

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

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

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

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

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

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

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

<210> 98

<211> 1359

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<221> source

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

<400> 98

caggtgcaat tggatgcagag cggatgcgaa gtgaaaaaac cgggcaaaag cctgaaaatt 60  
 agctgcaaag gctccggata tagcttcaact aactactgga tcgcttgggt gcgccagatg 120  
 ccgggcaaag gtctcgagtg gatgggcatc atctaccctg ctaacagcta caccctgtat 180  
 agcccagact ttcagggccca ggtgaccatt agcgcggata aaagcatcag caccgcgtat 240  
 ctgcaatgga gcagcctgaa agcgagcgat accgcgatgt attattgcgc gcgtgttccg 300  
 ccgggtgggt ctatctctta cccggctttc gatcattggg gccaaaggcac cctggtgact 360  
  
 gttagctcag ctagacacaa gggccccagc gtgttcccc tggccccag cagcaagtct 420  
 acttccggcg gaactgctgc cctgggttgc ctggtgaagg actacttccc cgagcccgtg 480  
 acagtgtcct ggaactctgg ggctctgact tccggcgtgc acaccttccc cgccgtgctg 540

cagagcagcg gcctgtacag cctgagcagc gtggtgacag tgcctccag ctctctggga 600  
 acccagacct atatctgcaa cgtgaaccac aagcccagca acaccaaggt ggacaagaga 660  
 gtggagccca agagctgcga caagaccac acctgcccc cctgcccagc tccagaactg 720  
 ctgggagggc cticcgtgtt cctgttcccc cccaagccca aggacaccct gatgatcagc 780

aggaccccc aggtgacctg cgtggtggtg gacgtgtccc acgaggacc agaggtgaag 840  
 ttcaactggt acgtggacgg cgtggagggtg cacaacgcca agaccaagcc cagagaggag 900  
 cagtacaaca gcacctacag ggtggtgtcc gtgctgaccg tgctgcacca ggactggctg 960  
 aacggcaaag aatacaagtg caaagtctcc aacaaggccc tgccagcccc aatcgaaaag 1020  
 acaatcagca aggccaaggg ccagccacgg gagccccagg tgtacaccct gccccccagc 1080  
 cgggaggaga tgaccaagaa ccaggtgtcc ctgacctgtc tggatgaagg cttctacccc 1140  
 agcgatatcg ccgtggagtg ggagagcaac ggccagcccc agaacaacta caagaccacc 1200

ccccagtgct tggacagcga cggcagcttc ttctgtaca gcaagctgac cgtggacaag 1260  
 tccaggtggc agcagggcaa cgtgttcagc tgcagcgtga tgcacgagc cctgcacaac 1320  
 cactacacce agaagtcctt gagcctgagc cccggcaag 1359

<210> 99

<211> 242

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 99

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

1 5 10 15

Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Asn Tyr

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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



caggtgcaat tggcgcagag cggtgcggaa gtgaaaaaac cgggcgaaag cctgaaaatt 60

agctgcaaag gctccgata tagcttact aactactgga tcgcttgggt gcgccagatg 120

ccgggcaaag gtctcgagt gatgggcatc atctaccctg ctaacagcta caccctgtat 180

agccccagct ttcagggcca ggtgaccatt agcgcggata aaagcatcag caccgcgtat 240

ctgcaatgga gcagcctgaa agcgagcgt accgcgatgt attattgcgc gcgtgttccg 300

ccgggtgggt ctatcttta cccggctttc gatcattggg gccaaaggcac cctggtgact 360

gttagctcag ctagcaccaa gggccccagc gtgttcccc tggccccag cagcaagtct 420

acttccggcg gaactgctgc cctgggttgc ctggtgaagg actacttccc cgagcccgtg 480

acagtgtcct ggaactctgg ggctctgact tccggcgtgc acaccttccc cgccgtgctg 540

cagagcagcg gcctgtacag cctgagcagc gtggtgacag tgcctccag ctctctggga 600

accagacct atatctgcaa cgtgaaccac aagcccagca acaccaaggt ggacaagaga 660

gtggagccca agagctgcga caagaccac acctgcccc cctgcccagc tccagaactg 720

ctggga 726

<210> 101

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 101

Ser Gly Asp Asn Ile Gly Ser Ile Tyr Ala Ser

1                    5                    10

<210> 102

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 102

Arg Asp Asn Lys Arg Pro Ser

1                    5  
<210> 103  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Artificial Sequence  
<220><221> source  
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic  
          peptide"

<400> 103  
Ser Val Thr Asp Met Glu Gln His Ser Val  
1                    5                    10  
<210> 104  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> Artificial Sequence  
<220><221> source  
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic  
          peptide"

<400> 104  
Asp Asn Ile Gly Ser Ile Tyr  
1                    5  
<210> 105  
<211> 3  
<212> PRT  
<213> Artificial Sequence  
<220><221> source  
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic  
          peptide"

<400> 105  
Arg Asp Asn

1  
<210> 106  
<211> 7

<212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><221> source  
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"  
 <400> 106  
 Thr Asp Met Glu Gln His Ser  
 1                    5  
 <210> 107  
 <211> 6  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><221> source  
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"  
 <400> 107  
 Asn Ile Gly Ser Ile Tyr  
 1                    5  
 <210> 108  
 <211> 107  
 <212> PRT  
 <213>  
 > Artificial Sequence  
 <220><221> source  
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"  
 <400> 108  
 Asp Ile Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ser Pro Gly Gln  
 1                    5                    10                    15  
 Thr Ala Ser Ile Thr Cys Ser Gly Asp Asn Ile Gly Ser Ile Tyr Ala  
                    20                    25                    30  
 Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr  
                    35                    40                    45  
 Arg Asp Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser





polynucleotide"

<400> 111

gatatacgaac tgaccagcc gccgagcgtg agcgtgagcc cgggccagac cgcgagcatt 60  
 acctgtagcg gcgataacat cggttctatc tacgcttctt ggtaccagca gaaaccgggc 120  
 caggcgccgg tgctggtgat ctacctgac aacaaacgtc cgagcggcat cccggaacgt 180  
 tttagcggat ccaacagcgg caacaccgcg acctgacca ttagcggcac ccaggcggaa 240  
 gacgaagcgg attattactg ctccgttact gacatggaac agcattctgt gtttgcggcg 300  
 ggcacgaagt taacctctt aggccagcct aaggccgctc cctccgtgac cctgttcccc 360

cccagctccg aggaactgca ggccaacaag gccaccctgg tgtgcctgat cagcgacttc 420  
 taccttggcg ccgtgaccgt ggcttgaag gccgacagca gcccctgaa ggccggcgtg 480  
 gagacaacca cccccagcaa gcagagcaac aacaagtacg ccgccagcag ctacctgagc 540  
 ctgacccccg agcagtggaa gagccacaga agctacagct gccaggtcac ccacgagggc 600  
 agcaccgtgg agaaaaccgt ggccccacc gactgcagc 639

<210> 112

<211> 503

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 112

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



Tyr Pro Lys Ser Glu Asn Glu Ser Asn Ile Arg Tyr Val Ser Glu Leu  
 340 345 350  
 His Leu Thr Arg Leu Lys Gly Thr Glu Gly Gly Thr Tyr Thr Phe Leu  
 355 360 365  
 Val Ser Asn Ser Asp Val Asn Ala Ala Ile Ala Phe Asn Val Tyr Val  
 370 375 380

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

Val Gln Ser Ser Ile Asp Ser Ser Ala Phe Lys His Asn Gly Thr Val  
 450 455 460  
 Glu Cys Lys Ala Tyr Asn Asp Val Gly Lys Thr Ser Ala Tyr Phe Asn  
 465 470 475 480  
 Phe Ala Phe Lys Glu Gln Ile His Pro His Thr Leu Phe Thr Pro Arg  
 485 490 495  
 Ser His His His His His His  
 500

<210> 113

<211> 294

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 113

Gln Pro Ser Val Ser Pro Gly Glu Pro Ser Pro Pro Ser Ile His Pro  
 1 5 10 15

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



145                    150                    155                    160  
 Lys Leu Val Val Gln Ser Ser Ile Asp Ser Ser Ala Phe Lys His Asn  
                          165                    170                    175

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

<210> 115

<211> 741

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 115

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

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

Cys Pro Leu Thr Asp Pro Gln Val Ser Asn Tyr Ser Leu Ile Glu Cys



Tyr Thr Phe Leu Val Ser Asn Ser Asp Ala Ser Ala Ser Val Thr Phe  
 370 375 380  
  
 Asn Val Tyr Val Asn Thr Lys Pro Glu Ile Leu Thr Tyr Asp Arg Leu  
 385 390 395 400  
 Ile Asn Gly Met Leu Gln Cys Val Ala Glu Gly Phe Pro Glu Pro Thr  
 405 410 415  
 Ile Asp Trp Tyr Phe Cys Thr Gly Ala Glu Gln Arg Cys Thr Thr Pro  
 420 425 430  
 Val Ser Pro Val Asp Val Gln Val Gln Asn Val Ser Val Ser Pro Phe  
 435 440 445  
  
 Gly Lys Leu Val Val Gln Ser Ser Ile Asp Ser Ser Val Phe Arg His  
 450 455 460  
 Asn Gly Thr Val Glu Cys Lys Ala Ser Asn Asp Val Gly Lys Ser Ser  
 465 470 475 480  
 Ala Phe Phe Asn Phe Ala Phe Lys Glu Gln Ile Gln Ala His Thr Leu  
 485 490 495  
 Phe Thr Pro Leu Glu Val Leu Phe Gln Gly Pro Arg Ser Pro Arg Gly  
 500 505 510  
  
 Pro Thr Ile Lys Pro Cys Pro Pro Cys Lys Cys Pro Ala Pro Asn Leu  
 515 520 525  
 Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Ile Lys Asp Val  
 530 535 540  
 Leu Met Ile Ser Leu Ser Pro Ile Val Thr Cys Val Val Val Asp Val  
 545 550 555 560  
 Ser Glu Asp Asp Pro Asp Val Gln Ile Ser Trp Phe Val Asn Asn Val  
 565 570 575  
  
 Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln Thr His Arg Glu Asp Tyr Asn Ser  
 580 585 590  
 Thr Leu Arg Val Val Ser Ala Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met  
 595 600 605  
 Ser Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu Pro Ala





Asp Gly Glu Asn Val Asp Leu Val Val Glu Phe Glu Ala Tyr Pro Lys  
 305                    310                    315                    320  
 Pro Glu His Gln Gln Trp Ile Tyr Met Asn Arg Thr Pro Thr Asn Arg  
  
                          325                    330                    335  
 Gly Glu Asp Tyr Val Lys Ser Asp Asn Gln Ser Asn Ile Arg Tyr Val  
                          340                    345                    350  
 Asn Glu Leu Arg Leu Thr Arg Leu Lys Gly Thr Glu Gly Gly Thr Tyr  
                          355                    360                    365  
 Thr Phe Leu Val Ser Asn Ser Asp Val Ser Ala Ser Val Thr Phe Asp  
                          370                    375                    380  
 Val Tyr Val Asn Thr Lys Pro Glu Ile Leu Thr Tyr Asp Arg Leu Met  
  
 385                    390                    395                    400  
 Asn Gly Arg Leu Gln Cys Val Ala Ala Gly Phe Pro Glu Pro Thr Ile  
                          405                    410                    415  
 Asp Trp Tyr Phe Cys Thr Gly Ala Glu Gln Arg Cys Thr Val Pro Val  
                          420                    425                    430  
 Pro Pro Val Asp Val Gln Ile Gln Asn Ala Ser Val Ser Pro Phe Gly  
                          435                    440                    445  
 Lys Leu Val Val Gln Ser Ser Ile Asp Ser Ser Val Phe Arg His Asn  
  
                          450                    455                    460  
 Gly Thr Val Glu Cys Lys Ala Ser Asn Ala Val Gly Lys Ser Ser Ala  
 465                    470                    475                    480  
 Phe Phe Asn Phe Ala Phe Lys Gly Asn Ser Lys Glu Gln Ile Gln Pro  
                          485                    490                    495  
 His Thr Leu Phe Thr Pro Arg Ser Leu Glu Val Leu Phe Gln Gly Pro  
                          500                    505                    510  
 Gly Ser Pro Pro Leu Lys Glu Cys Pro Pro Cys Ala Ala Pro Asp Leu  
  
                          515                    520                    525  
 Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Ile Lys Asp Val  
                          530                    535                    540  
 Leu Met Ile Ser Leu Ser Pro Met Val Thr Cys Val Val Val Asp Val

545                    550                    555                    560  
 Ser Glu Asp Asp Pro Asp Val Gln Ile Ser Trp Phe Val Asn Asn Val  
                           565                    570                    575  
 Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln Thr His Arg Glu Asp Tyr Asn Ser  
  
                           580                    585                    590  
 Thr Leu Arg Val Val Ser Ala Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met  
                           595                    600                    605  
 Ser Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn Arg Ala Leu Pro Ser  
                           610                    615                    620  
 Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Pro Arg Gly Pro Val Arg Ala Pro  
 625                    630                    635                    640  
 Gln Val Tyr Val Leu Pro Pro Pro Ala Glu Glu Met Thr Lys Lys Glu  
  
                           645                    650                    655  
 Phe Ser Leu Thr Cys Met Ile Thr Gly Phe Leu Pro Ala Glu Ile Ala  
                           660                    665                    670  
 Val Asp Trp Thr Ser Asn Gly Arg Thr Glu Gln Asn Tyr Lys Asn Thr  
                           675                    680                    685  
 Ala Thr Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Tyr Phe Met Tyr Ser Lys Leu  
                           690                    695                    700  
 Arg Val Gln Lys Ser Thr Trp Glu Arg Gly Ser Leu Phe Ala Cys Ser  
  
 705                    710                    715                    720  
 Val Val His Glu Gly Leu His Asn His Leu Thr Thr Lys Thr Ile Ser  
                           725                    730                    735  
 Arg Ser Leu Gly Lys  
                           740  
 <210> 117  
 <211> 527  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><221> source  
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic  
                           polypeptide"

<400> 117

Met Tyr Arg Met Gln Leu Leu Ser Cys Ile Ala Leu Ser Leu Ala Leu  
 1                    5                    10                    15

Val Thr Asn Ser Gln Pro Ser Val Ser Pro Gly Glu Pro Ser Pro Pro  
                   20                    25                    30

Ser Ile His Pro Ala Lys Ser Glu Leu Ile Val Arg Val Gly Asn Glu  
                   35                    40                    45

Ile Arg Leu Leu Cys Ile Asp Pro Gly Phe Val Lys Trp Thr Phe Glu  
                   50                    55                    60

Ile Leu Asp Glu Thr Asn Glu Asn Lys Gln Asn Glu Trp Ile Thr Glu  
 65                    70                    75                    80

Lys Ala Glu Ala Thr Asn Thr Gly Lys Tyr Thr Cys Thr Asn Lys His  
                   85                    90                    95

Gly Leu Ser Ser Ser Ile Tyr Val Phe Val Arg Asp Pro Ala Lys Leu  
                   100                    105                    110

Phe Leu Val Asp Arg Ser Leu Tyr Gly Lys Glu Asp Asn Asp Thr Leu  
                   115                    120                    125

Val Arg Cys Pro Leu Thr Asp Pro Glu Val Thr Ser Tyr Ser Leu Lys  
                   130                    135                    140

Gly Cys Gln Gly Lys Pro Leu Pro Lys Asp Leu Arg Phe Val Pro Asp  
 145                    150                    155                    160

Pro Lys Ala Gly Ile Thr Ile Lys Ser Val Lys Arg Ala Tyr His Arg  
                   165                    170                    175

Leu Cys Leu His Cys Ser Ala Asp Gln Glu Gly Lys Ser Val Leu Ser  
                   180                    185                    190

Asp Lys Phe Ile Leu Lys Val Arg Pro Ala Phe Lys Ala Val Pro Val  
                   195                    200                    205

Val Ser Val Ser Lys Ala Ser Tyr Leu Leu Arg Glu Gly Glu Glu Phe  
                   210                    215                    220

Thr Val Thr Cys Thr Ile Lys Asp Val Ser Ser Ser Val Tyr Ser Thr  
 225                    230                    235                    240

Trp Lys Arg Glu Asn Ser Gln Thr Lys Leu Gln Glu Lys Tyr Asn Ser  
 245 250 255  
 Trp His His Gly Asp Phe Asn Tyr Glu Arg Gln Ala Thr Leu Thr Ile  
 260 265 270  
  
 Ser Ser Ala Arg Val Asn Asp Ser Gly Val Phe Met Cys Tyr Ala Asn  
 275 280 285  
 Asn Thr Phe Gly Ser Ala Asn Val Thr Thr Thr Leu Glu Val Val Asp  
 290 295 300  
 Lys Gly Phe Ile Asn Ile Phe Pro Met Ile Asn Thr Thr Val Phe Val  
 305 310 315 320  
 Asn Asp Gly Glu Asn Val Asp Leu Ile Val Glu Tyr Glu Ala Phe Pro  
 325 330 335  
  
 Lys Pro Glu His Gln Gln Trp Ile Tyr Met Asn Arg Thr Phe Thr Asp  
 340 345 350  
 Lys Trp Glu Asp Tyr Pro Lys Ser Glu Asn Glu Ser Asn Ile Arg Tyr  
 355 360 365  
 Val Ser Glu Leu His Leu Thr Arg Leu Lys Gly Thr Glu Gly Gly Thr  
 370 375 380  
 Tyr Thr Phe Leu Val Ser Asn Ser Asp Val Asn Ala Ser Ile Ala Phe  
 385 390 395 400  
  
 Asn Val Tyr Val Asn Thr Lys Pro Glu Ile Leu Thr Tyr Asp Arg Leu  
 405 410 415  
 Val Asn Gly Met Leu Gln Cys Val Ala Ala Gly Phe Pro Glu Pro Thr  
 420 425 430  
 Ile Asp Trp Tyr Phe Cys Pro Gly Thr Glu Gln Arg Cys Ser Ala Ser  
 435 440 445  
 Val Leu Pro Val Asp Val Gln Thr Leu Asn Ala Ser Gly Pro Pro Phe  
 450 455 460  
  
 Gly Lys Leu Val Val Gln Ser Ser Ile Asp Ser Ser Ala Phe Lys His  
 465 470 475 480  
 Asn Gly Thr Val Glu Cys Lys Ala Tyr Asn Asp Val Gly Lys Thr Ser

485 490 495  
 Ala Tyr Phe Asn Phe Ala Phe Lys Gly Asn Asn Lys Glu Gln Ile His  
 500 505 510  
 Pro His Thr Leu Phe Thr Pro Arg Ser His His His His His His  
 515 520 525

<210> 118

<211> 222

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 118

Gln 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 Gly Thr Phe Ser Ser Tyr  
 20 25 30  
 Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met  
 35 40 45

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

Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro  
 115 120 125  
 Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly  
 130 135 140  
 Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Cys Pro Val Thr Val Ser Trp Asn

145                    150                    155                    160  
 Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln  
                          165                    170                    175

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

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

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

<210> 119

<211> 231

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 119

Gln 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 Gly Thr Phe Ser Ser Tyr

                         20                    25                    30

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

                         35                    40                    45

Gly Val Ile Phe Pro Ala Glu Gly Ala Pro Gly Tyr Ala Gln Lys Phe

                         50                    55                    60

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

65                    70                    75                    80

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

                         85                    90                    95

Ala Arg Gly Gly Tyr Ile Ser Asp Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr

                         100                    105                    110

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





1                    5                    10                    15  
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr  
                   20                    25                    30  
 Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met  
                   35                    40                    45  
 Gly Val Ile Phe Pro Ala Glu Gly Ala Pro Gly Tyr Ala Gln Lys Phe  
                   50                    55                    60  
 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr  
  
 65                    70                    75                    80  
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
                   85                    90                    95  
 Ala Arg Gly Gly Tyr Ile Ser Asp Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr  
                   100                    105                    110  
 Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro  
                   115                    120                    125  
 Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly  
  
                   130                    135                    140  
 Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn  
 145                    150                    155                    160  
 Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln  
                   165                    170                    175  
 Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser  
                   180                    185                    190  
 Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser  
  
                   195                    200                    205  
 Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr  
                   210                    215                    220  
 His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Pro  
 225                    230                    235  
 <210> 122  
 <211> 214  
 <212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 122

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 Ser Ile Ser Asn Tyr

                  20                    25                    30  
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

                  35                    40                    45  
Tyr Asp Ala Ser Ser Leu 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 Tyr Tyr Glu Ser Ile

                  85                    90                    95  
Thr Phe Gly Gln 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 Cys 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> 123

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 123

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 Ser Ile Ser Asn Tyr

20                    25                    30

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

35                    40                    45

Tyr Asp Ala Ser Ser Leu 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 Tyr Tyr Glu Ser Ile

85                    90                    95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala

100                    105                    110

Pro Cys 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> 124  
 <211> 220  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence

<220><221> source  
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic  
 polypeptide"  
 <400> 124

Gln 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 Gly Thr Phe Ser Ser His  
 20 25 30

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

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

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

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

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

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

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

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Cys Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly  
 145                      150                      155                      160

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

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

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

Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp  
                                  210                      215                      220

<210> 125

<211> 229

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 125

Gln 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 Gly Thr Phe Ser Ser His  
                                  20                      25                      30

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Cys Pro Pro Cys Pro  
 225

<210> 126

<211> 231

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 126

Gln 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 Gly Thr Phe Ser Ser His

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60



1                    5                    10                    15  
  
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser His  
                           20                    25                    30  
 Ala Leu Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met  
                           35                    40                    45  
 Gly Gly Ile Ile Pro Ser Phe Gly Thr Ala Asp Tyr Ala Gln Lys Phe  
                           50                    55                    60  
 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr  
 65                    70                    75                    80  
  
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
                           85                    90                    95  
 Ala Arg Gly Leu Tyr Asp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val  
                           100                    105                    110  
 Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala  
                           115                    120                    125  
 Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu  
                           130                    135                    140  
  
 Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly  
 145                    150                    155                    160  
 Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser  
                           165                    170                    175  
 Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu  
                           180                    185                    190  
 Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr  
                           195                    200                    205  
  
 Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr  
                           210                    215                    220  
 Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Pro  
 225                    230                    235  
 <210> 128  
 <211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 128

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 Gln Asp  
                   20                    25                    30

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

Tyr Asp Ala Ser Ser Leu 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 Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Tyr Tyr Leu Pro Ser  
                   85                    90                    95

Thr Phe Gly Gln 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 Cys 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



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> 130  
 <211> 222  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><221> source  
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic  
 polypeptide"  
 <400> 130  
 Gln 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 Gly Thr Phe Ser Ser Tyr  
 20 25 30  
 Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met  
 35 40 45  
 Gly Thr Ile Gly Pro Phe Glu Gly Gln Pro Arg Tyr Ala Gln Lys Phe  
 50 55 60  
 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr  
 65 70 75 80  
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Ala Arg Gly Gly Tyr Ile Ser Asp Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr  
 100 105 110  
 Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro



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

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

Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr  
 210 215 220  
 His Thr Cys Pro Pro Cys Pro  
 225 230

<210> 132

<211> 233

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 132

Gln 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 Gly Thr Phe Ser Ser Tyr  
 20 25 30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met  
 35 40 45  
 Gly Thr Ile Gly Pro Phe Glu Gly Gln Pro Arg Tyr Ala Gln Lys Phe  
 50 55 60  
 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr  
 65 70 75 80  
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Ala Arg Gly Gly Tyr Ile Ser Asp Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr  
 100 105 110  
 Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro  
 115 120 125  
 Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly  
 130 135 140  
 Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn  
 145 150 155 160  
 Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln  
 165 170 175  
 Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser  
 180 185 190  
 Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser  
 195 200 205  
 Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr  
 210 215 220  
 His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro  
 225 230  
 <210> 133  
 <211> 238  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><221> source  
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide"

<400> 133

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



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> 135

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 135

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 Ser Ile Ser Asn Tyr  
 20 25 30  
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile  
 35 40 45

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

Pro Cys 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> 136

<211> 231

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 136

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

1                    5                    10                    15  
 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Ile Ser Gly Asp Ser Val Ser Thr Asn  
                          20                    25                    30

Ser Ala Ala Trp Asn Trp Ile Arg Gln Ser Pro Ser Arg Gly Leu Glu  
                          35                    40                    45

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

Val Ser Val Lys Ser Arg Ile Thr Ile Asn Pro Asp Thr Ser Lys Asn

65                    70                    75                    80  
 Gln Phe Ser Leu Gln Leu Asn Ser Val Thr Pro Glu Asp Thr Ala Val  
                          85                    90                    95

Tyr Tyr Cys Ala Arg Gln Leu Thr Tyr Pro Tyr Thr Val Tyr His Lys  
                          100                    105                    110

Ala Leu Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala

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

130 135 140  
 Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe  
 145 150 155 160

Pro Cys Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly  
 165 170 175

Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu  
 180 185 190

Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr

195 200 205  
 Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg

210 215 220  
 Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp

225 230  
 <210> 137

<211> 240  
 <212> PRT

<213> Artificial Sequence  
 <220><221> source

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

<400> 137  
 Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Ile Ser Gly Asp Ser Val Ser Thr Asn  
 20 25 30

Ser Ala Ala Trp Asn Trp Ile Arg Gln Ser Pro Ser Arg Gly Leu Glu  
 35 40 45

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

Val Ser Val Lys Ser Arg Ile Thr Ile Asn Pro Asp Thr Ser Lys Asn



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

<210> 139

<211> 247

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 139

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

1                    5                    10                    15  
 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Ile Ser Gly Asp Ser Val Ser Thr Asn

                  20                    25                    30  
 Ser Ala Ala Trp Asn Trp Ile Arg Gln Ser Pro Ser Arg Gly Leu Glu

                  35                    40                    45  
 Trp Leu Gly Arg Ile Tyr Tyr Arg Ser Gln Trp Leu Asn Asp Tyr Ala

                  50                    55                    60  
 Val Ser Val Lys Ser Arg Ile Thr Ile Asn Pro Asp Thr Ser Lys Asn

65                    70                    75                    80  
 Gln Phe Ser Leu Gln Leu Asn Ser Val Thr Pro Glu Asp Thr Ala Val

                  85                    90                    95  
 Tyr Tyr Cys Ala Arg Gln Leu Thr Tyr Pro Tyr Thr Val Tyr His Lys

                  100                    105                    110  
 Ala Leu Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala

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

                  130                    135                    140  
 Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe

145                    150                    155                    160  
 Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly

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

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



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

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

Thr Glu Cys Ser

210

<210> 141

<211> 227

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 141

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Val Pro Pro Gly Gly Ser Ile Ser Tyr Pro Ala Phe Asp His





1                    5                    10                    15  
 Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Asn Tyr  
                          20                    25                    30  
  
 Trp Ile Ala Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met  
                          35                    40                    45  
 Gly Ile Ile Tyr Pro Ser Asn Ser Tyr Thr Leu Tyr Ser Pro Ser Phe  
                          50                    55                    60  
 Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr  
 65                    70                    75                    80  
 Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys  
                          85                    90                    95  
  
 Ala Arg Val Pro Pro Gly Gly Ser Ile Ser Tyr Pro Ala Phe Asp His  
                          100                    105                    110  
 Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly  
                          115                    120                    125  
 Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly  
                          130                    135                    140  
 Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val  
 145                    150                    155                    160  
  
 Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe  
                          165                    170                    175  
 Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val  
                          180                    185                    190  
 Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val  
                          195                    200                    205  
 Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys  
                          210                    215                    220  
  
 Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro  
 225                    230                    235  
 <210> 144  
 <211> 243

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 144

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

1                    5                    10                    15

Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Asn Tyr

                  20                    25                    30

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

                  35                    40                    45

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

                  50                    55                    60

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

65                    70                    75                    80

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

                  85                    90                    95

Ala Arg Val Pro Pro Gly Gly Ser Ile Ser Tyr Pro Ala Phe Asp His

                  100                    105                    110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly

                  115                    120                    125

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

                  130                    135                    140

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

145                    150                    155                    160

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

                  165                    170                    175

Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val

                  180                    185                    190

Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val

                  195                    200                    205



Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly Val

145                    150                    155                    160

Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala Ser

                         165                    170                    175

Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser Tyr

                         180                    185                    190

Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr Val Ala

                         195                    200                    205

Pro Thr Glu Cys Ser

                         210

<210

> 146

<211> 239

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 146

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 Asn Ile Lys Asp Thr

                         20                    25                    30

Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

                         35                    40                    45

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

                         50                    55                    60

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

65                    70                    75                    80

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

                         85                    90                    95

Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln

100 105 110  
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val  
 115 120 125  
 Phe Pro Leu Ala Pro 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  
 225 230 235

<210> 147

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 147

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 Val Asn 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 Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60  
 Ser Arg 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 His Tyr Thr Thr Pro Pro  
 85 90 95  
 Thr Phe Gly Gln 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> 148

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 148

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 Asn Ile Lys Asp Thr  
 20 25 30  
 Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45  
 Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val  
 50 55 60  
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr  
 65 70 75 80  
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln  
 100 105 110  
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val  
 115 120 125  
 Phe Pro Leu Ala Pro 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



<210> 150  
<211> 20  
<212> PRT  
<213> Artificial Sequence  
<220><221> source  
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic  
peptide"  
<400> 150  
Met Ser Val Leu Thr Gln Val Leu Ala Leu Leu Leu Trp Leu Thr  
1                    5                    10                    15  
Gly Thr Arg Cys  
                  20

<210> 151  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> Artificial Sequence  
<220><221> source  
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic  
6xHis tag"  
<400> 151  
His His His His His His  
1                    5