



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2020년03월20일
(11) 등록번호 10-2091293
(24) 등록일자 2020년03월13일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/46 (2006.01) A61K 39/395 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2014-7010688
(22) 출원일자(국제) 2012년09월24일
심사청구일자 2017년09월22일
(85) 번역문제출일자 2014년04월22일
(65) 공개번호 10-2014-0082719
(43) 공개일자 2014년07월02일
(86) 국제출원번호 PCT/US2012/056886
(87) 국제공개번호 WO 2013/044215
국제공개일자 2013년03월28일
(30) 우선권주장
61/538,454 2011년09월23일 미국(US)
(뒷면에 계속)
(56) 선행기술조사문헌
US20110172398 A1
(뒷면에 계속)
전체 청구항 수 : 총 31 항

(73) 특허권자
온코메드 파마슈티칼스, 인크.
미국 94063 캘리포니아주 레드우드 시티 체사피크
드라이브 800
(72) 발명자
거니, 오스틴, 엘.
미국 94114 캘리포니아주 샌프란시스코 다이아몬드 스트리트 946
사토, 아론, 켄
미국 94010 캘리포니아주 벌링게임 알베마를 웨이 1636
본디, 크리스토퍼, 존
미국 94430 캘리포니아주 산마테오 씨티쓰 애비뉴 511
(74) 대리인
양영준, 김영

심사관 : 최승희

(54) 발명의 명칭 VEGF/DLL4 결합체 및 그의 용도

(57) 요약

본 발명은 VEGF-결합체, DLL4-결합체, VEGF/DLL4 이중특이적 결합체, 및 상기 결합체를 질환, 예컨대 암의 치료에 사용하는 방법에 관한 것이다. 본 발명은 인간 VEGF에 특이적으로 결합하는 항체, 인간 DLL4에 특이적으로 결합하는 항체, 및 인간 VEGF 및/또는 인간 DLL4에 특이적으로 결합하는 이중특이적 항체를 제공한다. 추가로, 본 발명은 상기 결합체를 사용하여 종양 성장을 억제하는 방법을 제공한다. 또한, 치료 유효량의 본 발명의 작용제 또는 항체를 종양 또는 암을 가진 환자에게 투여하는 것을 포함하는, 암의 치료 방법을 기술한다.

(56) 선행기술조사문헌

US20100076178 A1

WO2011100566 A2

WO2010129304 A2

US07750124 B2*

*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(30) 우선권주장

61/597,409 2012년02월10일 미국(US)

61/692,978 2012년08월24일 미국(US)

명세서

청구범위

청구항 1

- a) 인간 혈관 내피 성장 인자 (VEGF)에 특이적으로 결합하는 제1 항원-결합 부위, 및
- b) 인간 델타-유사 4 리간드 (DLL4)에 특이적으로 결합하는 제2 항원-결합 부위를 포함하고,

여기서 제1 항원-결합 부위는 NYWMH (서열:17)을 포함하는 중쇄 CDR1, DINPSNGRTSYKEKFKR (서열:18)을 포함하는 중쇄 CDR2 및 HYDDKYPLMDY (서열:19)를 포함하는 중쇄 CDR3을 포함하고;

제2 항원-결합 부위는 TAYYIH (서열:13)을 포함하는 중쇄 CDR1, YIANYNRATNYNQKFKG (서열:14), YISSYNGATNYNQKFKG (서열:15), YIAGYKDATNYNQKFKG (서열:59) 또는 YISNYNRATNYNQKFKG (서열:65)를 포함하는 중쇄 CDR2 및 RDYDYDVGMDY (서열:16)을 포함하는 중쇄 CDR3을 포함하며;

제1 및 제2 항원-결합 부위는 둘 다 RASESVDNYGISFMK (서열:20)을 포함하는 경쇄 CDR1, AASNQGS (서열:21)을 포함하는 경쇄 CDR2 및 QQSKEVPWTFGG (서열:22)를 포함하는 경쇄 CDR3을 포함하는 것인 이중특이적 항체.

청구항 2

제1항에 있어서,

- (a) 서열:11과 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 제1 중쇄 가변 영역;
 - (b) 서열:9, 서열:10, 서열:58 또는 서열:64와 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 제2 중쇄 가변 영역; 및
 - (c) 서열:12와 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 제1 및 제2 경쇄 가변 영역
- 을 포함하고, 여기서 아미노산 치환은 프레임워크 영역 (FR)에서만 일어나는 것인 이중특이적 항체.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 제1 CH3 도메인 및 제2 CH3 도메인을 포함하고, 이들 각각은 변형되어 이중다량체의 형성을 촉진하는 것인 이중특이적 항체.

청구항 4

제3항에 있어서, 제1 및 제2 CH3 도메인이 정전기 작용에 기초하여 변형된 것인 이중특이적 항체.

청구항 5

제1항 또는 제2항에 있어서, 모노클로날 항체, 재조합 항체, 키메라 항체, 인간화 항체, 인간 항체, IgG1 항체 또는 IgG2 항체인 이중특이적 항체.

청구항 6

제3항에 있어서, 서열:42의 위치 249 및 288에 상응하는 위치에서 아미노산 치환을 갖는 제1 인간 IgG2 불변 영역 (여기서, 아미노산은 글루탐레이트 또는 아스파르테이트로 대체됨), 및 서열:42의 위치 236 및 278에 상응하는 위치에서 아미노산 치환을 갖는 제2 인간 IgG2 불변 영역 (여기서, 아미노산은 리신으로 대체됨)을 포함하는 이중특이적 항체.

청구항 7

제1항 또는 제2항에 있어서,

- (i) VEGF와 하나 이상의 VEGF 수용체의 결합을 억제하고/거나;
- (ii) DLL4와 하나 이상의 노치(Notch) 수용체의 결합을 억제하고/거나;

- (iii) 노치 신호전달을 억제하고/거나;
- (iv) 혈관신생을 조절하는 이중특이적 항체.

청구항 8

- (a) 서열:7의 중쇄;
 - (b) 서열:5, 서열:6, 서열:56 또는 서열:62의 중쇄; 및
 - (c) 서열:8의 경쇄 2개
- 를 포함하는, 인간 VEGF 및 인간 DLL4에 특이적으로 결합하는 이중특이적 항체.

청구항 9

219R45-MB-21M18, 219R45-MB-21R79, 219R45-MB-21R75 및 219R45-MB-21R83으로 이루어진 군으로부터 선택되는 이중특이적 항체.

청구항 10

- (a) NYWMH (서열:17)을 포함하는 중쇄 CDR1, DINPSNGRTSYKEKFKR (서열:18)을 포함하는 중쇄 CDR2 및 HYDDKYYPPLMDY (서열:19)를 포함하는 중쇄 CDR3; 및
 - (b) RASESVDNYGISFMK (서열:20)을 포함하는 경쇄 CDR1, AASNQGS (서열:21)을 포함하는 경쇄 CDR2 및 QQSKEVPWTFGG (서열:22)를 포함하는 경쇄 CDR3
- 을 포함하는, 인간 VEGF에 특이적으로 결합하는 단리된 항체.

청구항 11

- 제10항에 있어서,
- (a) 서열:11과 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역; 및
 - (b) 서열:12와 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 영역
- 을 포함하고, 여기서 아미노산 치환은 프레임워크 영역 (FR)에서만 일어나는 것인 항체.

청구항 12

- 제10항에 있어서,
- (a) 서열:49 또는 서열:7을 포함하는 중쇄; 및
 - (b) 서열:8을 포함하는 경쇄
- 를 포함하는 항체.

청구항 13

제10항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, VEGF와 하나 이상의 VEGF 수용체의 결합을 억제하는 항체.

청구항 14

제10항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 항원-결합 부위를 포함하는 변형된 이뮤노글로불린 분자, 모노클로날 항체, 재조합 항체, 키메라 항체, 인간화 항체, 인간 항체, 이중특이적 항체, IgG1 항체, IgG2 항체, 또는 항원-결합 부위를 포함하는 항체 단편인 항체.

청구항 15

제1항, 제2항 및 제8항 내지 제12항 중 어느 한 항의 항체를 포함하거나 생산하는 세포.

청구항 16

제1항, 제2항 및 제8항 내지 제12항 중 어느 한 항의 항체를 코딩하는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 단리된 폴리뉴클레오티드 분자.

청구항 17

제16항의 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터.

청구항 18

제17항의 벡터를 포함하는 세포.

청구항 19

제1항, 제2항 및 제8항 내지 제12항 중 어느 한 항의 항체를 포함하는, 암의 치료를 위한 제약 조성물.

청구항 20

제19항에 있어서, 암이 결장직장암, 결장암, 난소암, 췌장암, 폐암, 간암, 유방암, 신장암, 전립선암, 위장암, 흑색종, 자궁경부암, 방광암, 교모세포종, 두경부암, 림프종 및 백혈병으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 제약 조성물.

청구항 21

제20항에 있어서, 암이 난소암인 제약 조성물.

청구항 22

제1항, 제2항 및 제8항 내지 제12항 중 어느 한 항의 항체를 포함하는, 종양의 성장의 억제를 위한 제약 조성물.

청구항 23

제22항에 있어서, 종양이 결장직장 종양, 결장 종양, 난소 종양, 췌장 종양, 폐 종양, 간 종양, 유방 종양, 신장 종양, 전립선 종양, 위장 종양, 흑색종, 자궁경부 종양, 방광 종양, 교모세포종 및 두경부 종양으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 제약 조성물.

청구항 24

제23항에 있어서, 종양이 난소 종양인 제약 조성물.

청구항 25

제19항에 있어서, 암의 치료가 하나 이상의 추가 치료제의 투여를 포함하는 것인 제약 조성물.

청구항 26

제22항에 있어서, 종양의 성장의 억제가 하나 이상의 추가 치료제의 투여를 포함하는 것인 제약 조성물.

청구항 27

세포에서 제16항의 하나 이상의 폴리뉴클레오티드를 발현시키는 것을 포함하는, 항체를 생산하는 시험관내 방법.

청구항 28

- (a) 서열:7의 중쇄;
- (b) 서열:5, 서열:6, 서열:56 또는 서열:62의 중쇄; 및
- (c) 신호 서열을 갖지 않는 서열:4의 서열을 각각 포함하는 경쇄 2개

를 포함하는, 인간 VEGF 및 인간 DLL4에 특이적으로 결합하는 이중특이적 항체.

청구항 29

- (a) 서열:7의 중쇄;
- (b) 서열:5, 서열:6, 서열:56 또는 서열:62의 중쇄; 및
- (c) 신호 서열을 갖지 않는 서열:34의 폴리뉴클레오티드에 의해 코딩된 폴리펩티드를 각각 포함하는 경쇄 2개를 포함하는, 인간 VEGF 및 인간 DLL4에 특이적으로 결합하는 이중특이적 항체.

청구항 30

- 제10항에 있어서,
- (a) 서열:49 또는 서열:7을 포함하는 중쇄; 및
 - (b) 신호 서열을 갖지 않는 서열:4의 서열을 포함하는 경쇄
- 를 포함하는 항체.

청구항 31

- 제10항에 있어서,
- (a) 서열:49 또는 서열:7을 포함하는 중쇄; 및
 - (b) 신호 서열을 갖지 않는 서열:34의 폴리뉴클레오티드에 의해 코딩된 폴리펩티드를 포함하는 경쇄
- 를 포함하는 항체.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 일반적으로 VEGF, DLL4, 또는 VEGF 및 DLL4 둘 다에 결합하는 항체 및 기타 작용제, 특히 항-VEGF/항-DLL4 이중특이적 항체, 및 또한 상기 항체 또는 기타 작용제를 질환, 예컨대 암의 치료에 사용하는 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 혈관신생은 고형 종양 및 전이를 포함한 다수의 장애의 발병기전에서 중요한 역할을 한다. 신규 혈관의 생성은 종양의 성장 및 확산을 위한 산소 및 영양분을 제공하는데 필수적이며, 따라서 혈관신생은 암 치료제의 양호한 표적이다.

[0003] 혈관신생은 혈관신생 활성화제, 예컨대 혈관 내피 성장 인자 (VEGF-A), VEGF-B, VEGF-C, VEGF-E, 및 이들 각각의 수용체 (VEGFR-1, VEGFR-2 및 VEGFR-3)로서 작용하는 단백질 패밀리를 포함한다. VEGF 또는 혈관 투과성 인자 (VPF)라고도 지칭되는 VEGF-A는 단일 VEGF 유전자의 mRNA의 선택적 스플라이싱으로 인해 몇몇 이소형으로 존재하며, VEGF₁₆₅가 가장 생물학적으로 관련성이 있는 이소형이다.

[0004] 항-VEGF 항체는 시험관내 및 생체내 종양 세포의 성장을 저해하는 것으로 밝혀진 바 있다. 인간화 항-VEGF 모노클로날 항체인 베바시주맙 (아바스틴(AVASTIN))은 암 치료제로서 미국에서 개발 및 승인되었다.

[0005] 노치(Notch) 신호전달 경로는 보편적으로 보존된 신호 전달 시스템이다. 이는 배아 패턴 형성 및 후-배아 조직 유지를 비롯하여 발생 동안의 세포 운명 결정에 관여한다. 또한, 노치 신호전달은 조혈 줄기 세포의 유지에서 중요한 요인으로 확인된 바 있다.

[0006] 노치 경로는 혈액 및 고형 종양 및 암 모두의 발병기전과 연관되어 있다. 세포 증식, 아폽토시스, 부착 및 혈관신생을 비롯하여 종양발생과 관련된 수많은 세포 기능 및 미세환경 신호가 노치 경로 신호전달에 의해 조절되는 것으로 밝혀진 바 있다 (문헌 [Leong et al., 2006, Blood, 107:2223-2233]). 또한, 노치 수용체 및/또는 노치 리간드는 급성 골수 백혈병, B 세포 만성 림프구성 백혈병, 호지킨 림프종, 다발성 골수종, T-세포 급성

림프모구성 백혈병, 뇌암, 유방암, 자궁경부암, 결장암, 폐암, 췌장암, 전립선암 및 피부암을 포함한 다수의 인간 암에서 잠재적 종양원성 역할을 하는 것으로 밝혀진 바 있다 (문헌 [Leong et al., 2006, Blood, 107:2223-2233]).

- [0007] 델타-유사 4 리간드 (DLL4)는 노치 경로의 중요 성분이며, 암 요법의 표적으로 확인된 바 있다. DLL4는 N-말단 도메인, 델타/서레이트(Serrate)/랙(Lag)-2 (DSL) 도메인 및 세포외 도메인 내의 탠덤(tandem) EGF-유사 반복 단위로 특징지어진 노치 리간드이다. DLL4는 VEGF에 의해 유도되고, DLL4는 혈관 증식의 음성 피드백 조절자로 작용할 수 있는 것으로 보고된 바 있다.
- [0008] 항-DLL4 항체는 혈관신생 축색발아(sprouting) 및 분지화를 증진시켜, 비-생산적 혈관신생 및 감소된 종양 성장을 유발하는 것으로 보고된 바 있다 (문헌 [Noguera-Troise et al., 2006, Nature, 444:1032-1037]). 또한, 항-DLL4 항체인 21M18은 이종이식 종양 모델에서 종양 성장을 억제하고, 암 줄기 세포의 빈도를 감소시키는 것으로 밝혀진 바 있다 (문헌 [Hoey et al., 2009, Cell Stem Cell, 5:168-177]; 미국 특허 제7,750,124호).
- [0009] 암 치료에 사용하기 위한 모노클로날 항체의 개발에서 상당한 발전이 있었지만, 추가 개선에 대한 잠재력은 여전히 크다. 증진된 효력 및/또는 감소된 부작용 (예를 들어, 독성)을 가질 가능성이 높은 항체 분자의 한 부류가 이중특이적 항체이다.
- [0010] 초기의 이중특이적 분자는 주로 2개의 항체를 화학적으로 가교-결합하여 생성되거나, 또는 혼종 하이브리도마 또는 "쿼드로마(quadroma)"였다. 쿼드로마 포맷에 대한 한 성공사례가 트리오맷(triomab)이며, 이는 우선적인 종-특이적 중쇄/경쇄 쌍형성을 입증하는 마우스/랫트 조합물이다. 보다 최근에, 항체 공학의 진보로 인해, 이들로 한정되지는 않지만, 탠덤 scFv (바이-scFv), 디아바디, 탠덤 디아바디 (테트라-바디), 단일 쇠 디아바디 및 이중 가변 도메인 항체를 포함한 다양한 신규 항체 포맷이 제공되었다.
- [0011] 본 발명의 목적 중 하나는 암 치료를 위해 개선된 분자, 특히 인간 VEGF 및 인간 DLL4에 특이적으로 결합하는 이중특이적 항체를 제공하는 것이다.

발명의 내용

- [0012] 본 발명은 VEGF, DLL4, 또는 VEGF 및 DLL4 둘 다 (VEGF/DLL4-결합제)에 결합하는 결합제, 예컨대 항체, 및 또한 상기 결합제를 포함하는 조성물, 예컨대 제약 조성물을 제공한다. VEGF 또는 DLL4, 및 또한 적어도 하나의 추가 항원 또는 표적에 결합하는 결합제, 및 상기 결합제의 제약 조성물도 또한 제공된다. 특정 실시양태에서, 결합제는 신규 폴리펩티드, 예컨대 항체, 항체 단편, 및 상기 항체와 관련된 다른 폴리펩티드이다. 특정 실시양태에서, 결합제는 인간 VEGF에 특이적으로 결합하는 항체이다. 일부 실시양태에서, 결합제는 인간 DLL4에 특이적으로 결합하는 항체이다. 일부 실시양태에서, 결합제는 인간 VEGF 및 인간 DLL4에 특이적으로 결합하는 항체이다. 추가로, 본 발명은 상기 결합제를 종양을 가진 대상체에게 투여하여 종양의 성장을 억제하는 방법을 제공한다. 추가로, 본 발명은 상기 결합제를 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하여 암을 치료하는 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 암을 치료하거나 종양 성장을 억제하는 방법은 암 줄기 세포를 상기 결합제로 표적화하는 것을 포함한다. 특정 실시양태에서, 본 방법은 종양에서 암 줄기 세포의 빈도를 감소시키고/거나, 종양에서 암 줄기 세포의 수를 감소시키고/거나, 종양의 종양발생성을 감소시키고/거나, 종양에서 암 줄기 세포의 수 또는 빈도를 감소시킴으로써 종양의 종양발생성을 감소시키는 것을 포함한다.
- [0013] 한 측면에서, 본 발명은 인간 VEGF에 특이적으로 결합하는 결합제, 예컨대 항체를 제공한다. 일부 실시양태에서, 결합제는 VEGF와 하나 이상의 VEGF 수용체의 결합을 억제한다. 일부 실시양태에서, 결합제는 VEGF와 VEGFR-1 및/또는 VEGFR-2의 결합을 억제한다. 일부 실시양태에서, 결합제는 혈관신생을 조절한다. 특정 실시양태에서, 항체 또는 다른 결합제는 또한 인간 VEGF 뿐만 아니라 인간 DLL4에 특이적으로 결합하고/거나 이를 억제한다.
- [0014] 일부 실시양태에서, 결합제는 NYWMH (서열:17)을 포함하는 중쇄 CDR1, DINPSNGRTSYKEKFKR (서열:18)을 포함하는 중쇄 CDR2 및 HYDDKYYP LMDY (서열:19)를 포함하는 중쇄 CDR3; 및 RASESVDNYGISFMK (서열:20)을 포함하는 경쇄 CDR1, AASNQGS (서열:21)을 포함하는 경쇄 CDR2 및 QQSKEVPWTFGG (서열:22)를 포함하는 경쇄 CDR3을 포함하는 항체이다.
- [0015] 특정 실시양태에서, 결합제는 서열:11과 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역; 및/또는 서열:12와 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체이다. 특정 실시양태에서, 결합제는 서열:11과 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역; 및/또는 서열:12와 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 경쇄

가변 영역을 포함한다. 특정 실시양태에서, 결합체는 서열:11과 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역; 및/또는 서열:12와 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 특정 실시양태에서, 결합체는 서열:11의 중쇄 가변 영역; 및/또는 서열:12의 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체이다.

- [0016] 일부 실시양태에서, 결합체는 항체 219R45, 219R45-MB-21M18, 219R45-MB-21R79, 219R45-MB-21R75 또는 219R45-MB-21R83이다.
- [0017] 또 다른 측면에서, 본 발명은 인간 DLL4에 특이적으로 결합하는 결합체, 예컨대 항체를 제공한다. 일부 실시양태에서, 결합체는 DLL4와 하나 이상의 노치 수용체의 결합을 억제한다. 일부 실시양태에서, 결합체는 DLL4와 노치1, 노치2, 노치3 및/또는 노치4의 결합을 억제한다. 일부 실시양태에서, 결합체는 노치 신호전달을 억제한다. 일부 실시양태에서, 결합체는 비생산적 혈관신생을 촉진한다. 특정 실시양태에서, 항체 또는 다른 결합체는 추가로 인간 DLL4 뿐만 아니라 인간 VEGF에 특이적으로 결합하고/거나 이를 억제한다.
- [0018] 일부 실시양태에서, 결합체는, 인간 DLL4에 결합하고, TAYYIH (서열:13) 또는 AYYIH (서열:79)를 포함하는 중쇄 CDR1, YIX₁X₂YX₃X₄ATNYNQKFKG (서열:80) (여기서, X₁은 세린 또는 알라닌이고, X₂는 세린, 아스파라긴 또는 글리신이고, X₃은 아스파라긴 또는 리신이며, X₄는 글리신, 아르기닌 또는 아스파르트산임)을 포함하는 중쇄 CDR2 및 RDYDYDVGMDY (서열:16)을 포함하는 중쇄 CDR3; 및 RASESDNYGISFMK (서열:20)을 포함하는 경쇄 CDR1, AASNQGS (서열:21)을 포함하는 경쇄 CDR2 및 QQSKEVPWTFGG (서열:22)를 포함하는 경쇄 CDR3을 포함하는 항체이다. 일부 실시양태에서, 항체는 TAYYIH (서열:13) 또는 AYYIH (서열:79)를 포함하는 중쇄 CDR1, YIANYNRATNYNQKFKG (서열:14)를 포함하는 중쇄 CDR2 및 RDYDYDVGMDY (서열:16)을 포함하는 중쇄 CDR3; 및 RASESDNYGISFMK (서열:20)을 포함하는 경쇄 CDR1, AASNQGS (서열:21)을 포함하는 경쇄 CDR2 및 QQSKEVPWTFGG (서열:22)를 포함하는 경쇄 CDR3을 포함한다.
- [0019] 특정 실시양태에서, 결합체는 서열:10과 적어도 90% 또는 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역; 및/또는 서열:12와 적어도 90% 또는 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체이다. 특정 실시양태에서, 결합체는 서열:10의 중쇄 가변 영역; 및 서열:12의 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체이다.
- [0020] 일부 실시양태에서, 결합체는 항체 21R79 또는 항체 219R45-MB-21R79이다.
- [0021] 일부 실시양태에서, 결합체는 TAYYIH (서열:13) 또는 AYYIH (서열:79)를 포함하는 중쇄 CDR1, YIAGYKDATNYNQKFKG (서열:59)를 포함하는 중쇄 CDR2 및 RDYDYDVGMDY (서열:16)을 포함하는 중쇄 CDR3; 및 RASESDNYGISFMK (서열:20)을 포함하는 경쇄 CDR1, AASNQGS (서열:21)을 포함하는 경쇄 CDR2 및 QQSKEVPWTFGG (서열:22)를 포함하는 경쇄 CDR3을 포함하는 항체이다.
- [0022] 특정 실시양태에서, 결합체는 서열:58과 적어도 90% 또는 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역; 및/또는 서열:12와 적어도 90% 또는 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체이다. 특정 실시양태에서, 결합체는 서열:58의 중쇄 가변 영역; 및 서열:12의 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체이다.
- [0023] 일부 실시양태에서, 결합체는 항체 21R75 또는 항체 219R45-MB-21R75이다.
- [0024] 일부 실시양태에서, 결합체는 TAYYIH (서열:13) 또는 AYYIH (서열:79)를 포함하는 중쇄 CDR1, YISNYNRATNYNQKFKG (서열:65)를 포함하는 중쇄 CDR2 및 RDYDYDVGMDY (서열:16)을 포함하는 중쇄 CDR3; 및 RASESDNYGISFMK (서열:20)을 포함하는 경쇄 CDR1, AASNQGS (서열:21)을 포함하는 경쇄 CDR2 및 QQSKEVPWTFGG (서열:22)를 포함하는 경쇄 CDR3을 포함하는 항체이다.
- [0025] 특정 실시양태에서, 결합체는 서열:64와 적어도 90% 또는 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역; 및/또는 서열:12와 적어도 90% 또는 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체이다. 특정 실시양태에서, 결합체는 서열:64의 중쇄 가변 영역; 및 서열:12의 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체이다.
- [0026] 일부 실시양태에서, 결합체는 항체 21R83 또는 항체 219R45-MB-21R83이다.
- [0027] 상술한 측면 또는 실시양태, 및 또한 본원 도처에 기재된 다른 측면 및/또는 실시양태 각각의 특정 실시양태에서, 결합체는 이중특이적 항체이다. 일부 실시양태에서, 이중특이적 항체는 인간 VEGF 및 제2 표적에 특이적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 이중특이적 항체는 인간 DLL4 및 제2 표적에 특이적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 이중특이적 항체는 인간 VEGF 및 인간 DLL4 둘 다에 특이적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 이중특이적 항체는 혈관신생을 조절한다. 특정 실시양태에서, 이중특이적 항체는 노치 신호전달을 억제한다. 일부 실시양태에서, 이중특이적 항체는 혈관신생을 조절하고, 노치 신호전달을 억제한다. 일부 실시양태에서, 이

중특이적 항체는 암 줄기 세포의 빈도 수를 감소시킨다. 특정 실시양태에서, 이중특이적 항체는 2개의 동일한 경쇄를 포함한다. 특정 실시양태에서, 이중특이적 항체는 IgG 항체 (예를 들어, IgG2)이다.

[0028] 일부 실시양태에서, 이중특이적 항체는 인간 VEGF에 특이적으로 결합하는 제1 항원-결합 부위를 포함하고, 여기서 제1 항원-결합 부위는 NYWMH (서열:17)을 포함하는 중쇄 CDR1, DINPSNGRTSYKEKFKR (서열:18)을 포함하는 중쇄 CDR2 및 HYDDKYPLMDY (서열:19)를 포함하는 중쇄 CDR3을 포함한다. 일부 실시양태에서, 이중특이적 항체는 추가로 RASESVDNYGISFMK (서열:20)을 포함하는 경쇄 CDR1, AASNQGS (서열:21)을 포함하는 경쇄 CDR2 및 QQSKEVPWTFGG (서열:22)를 포함하는 경쇄 CDR3을 포함한다. 일부 실시양태에서, 이중특이적 항체는 인간 VEGF에 특이적으로 결합하는 제1 항원-결합 부위를 포함하고, 여기서 제1 항원-결합 부위는 (a) NYWMH (서열:17)을 포함하는 중쇄 CDR1, DINPSNGRTSYKEKFKR (서열:18)을 포함하는 중쇄 CDR2 및 HYDDKYPLMDY (서열:19)를 포함하는 중쇄 CDR3, 및 (b) RASESVDNYGISFMK (서열:20)을 포함하는 경쇄 CDR1, AASNQGS (서열:21)을 포함하는 경쇄 CDR2 및 QQSKEVPWTFGG (서열:22)를 포함하는 경쇄 CDR3을 포함한다.

[0029] 특정 실시양태에서, 이중특이적 항체는 인간 DLL4에 특이적으로 결합하는 제1 항원-결합 부위를 포함하고, 여기서 제1 항원-결합 부위는 TAYYIH (서열:13) 또는 AYYIH (서열:79)를 포함하는 중쇄 CDR1, YIX₁X₂YX₃X₄ATNYNQKFKG (서열:80) (여기서, X₁은 세린 또는 알라닌이고, X₂는 세린, 아스파라긴 또는 글리신이고, X₃은 아스파라긴 또는 리신이며, X₄는 글리신, 아르기닌 또는 아스파르트산임)을 포함하는 중쇄 CDR2 및 RDYDYDVGMDY (서열:16)을 포함하는 중쇄 CDR3; 및 RASESVDNYGISFMK (서열:20)을 포함하는 경쇄 CDR1, AASNQGS (서열:21)을 포함하는 경쇄 CDR2 및 QQSKEVPWTFGG (서열:22)를 포함하는 경쇄 CDR3을 포함한다. 일부 실시양태에서, 이중특이적 항체는 인간 DLL4에 특이적으로 결합하는 제1 항원-결합 부위를 포함하고, 여기서 제1 항원-결합 부위는 TAYYIH (서열:13)을 포함하는 중쇄 CDR1, YIANYNRATNYNQKFKG (서열:14), YISSYNGATNYNQKFKG (서열:15), YIAGYKDATNYNQKFKG (서열:59) 또는 YISNYNRATNYNQKFKG (서열:65)를 포함하는 중쇄 CDR2 및 RDYDYDVGMDY (서열:16)을 포함하는 중쇄 CDR3을 포함한다. 일부 실시양태에서, 이중특이적 항체는 추가로 RASESVDNYGISFMK (서열:20)을 포함하는 경쇄 CDR1, AASNQGS (서열:21)을 포함하는 경쇄 CDR2 및 QQSKEVPWTFGG (서열:22)를 포함하는 경쇄 CDR3을 포함한다. 일부 실시양태에서, 이중특이적 항체는 인간 DLL4에 특이적으로 결합하는 제1 항원-결합 부위를 포함하고, 여기서 제1 항원-결합 부위는 (a) TAYYIH (서열:13)을 포함하는 중쇄 CDR1, YIANYNRATNYNQKFKG (서열:14), YISSYNGATNYNQKFKG (서열:15), YIAGYKDATNYNQKFKG (서열:59) 또는 YISNYNRATNYNQKFKG (서열:65)를 포함하는 중쇄 CDR2 및 RDYDYDVGMDY (서열:16)을 포함하는 중쇄 CDR3, 및 (b) RASESVDNYGISFMK (서열:20)을 포함하는 경쇄 CDR1, AASNQGS (서열:21)을 포함하는 경쇄 CDR2 및 QQSKEVPWTFGG (서열:22)를 포함하는 경쇄 CDR3을 포함한다.

[0030] 일부 실시양태에서, 이중특이적 항체는 a) 인간 VEGF에 특이적으로 결합하는 제1 항원-결합 부위 및 b) 인간 DLL4에 특이적으로 결합하는 제2 항원-결합 부위를 포함하고, 여기서 제1 항원-결합 부위는 NYWMH (서열:17)을 포함하는 중쇄 CDR1, DINPSNGRTSYKEKFKR (서열:18)을 포함하는 중쇄 CDR2 및 HYDDKYPLMDY (서열:19)를 포함하는 중쇄 CDR3을 포함하고; 제2 항원-결합 부위는 TAYYIH (서열:13) 또는 AYYIH (서열:79)를 포함하는 중쇄 CDR1, YIX₁X₂YX₃X₄ATNYNQKFKG (서열:80) (여기서, X₁은 세린 또는 알라닌이고, X₂는 세린, 아스파라긴 또는 글리신이고, X₃은 아스파라긴 또는 리신이며, X₄는 글리신, 아르기닌 또는 아스파르트산임)을 포함하는 중쇄 CDR2 및 RDYDYDVGMDY (서열:16)을 포함하는 중쇄 CDR3; 및 RASESVDNYGISFMK (서열:20)을 포함하는 경쇄 CDR1, AASNQGS (서열:21)을 포함하는 경쇄 CDR2 및 QQSKEVPWTFGG (서열:22)를 포함하는 경쇄 CDR3을 포함한다. 일부 실시양태에서, 이중특이적 항체는 a) 인간 VEGF에 특이적으로 결합하는 제1 항원-결합 부위 및 b) 인간 DLL4에 특이적으로 결합하는 제2 항원-결합 부위를 포함하고, 여기서 제1 항원-결합 부위는 NYWMH (서열:17)을 포함하는 중쇄 CDR1, DINPSNGRTSYKEKFKR (서열:18)을 포함하는 중쇄 CDR2 및 HYDDKYPLMDY (서열:19)를 포함하는 중쇄 CDR3을 포함하고; 제2 항원-결합 부위는 TAYYIH (서열:13)을 포함하는 중쇄 CDR1, YIANYNRATNYNQKFKG (서열:14)를 포함하는 중쇄 CDR2 및 RDYDYDVGMDY (서열:16)을 포함하는 중쇄 CDR3을 포함하고; 제1 및 제2 항원-결합 부위는 둘 다 RASESVDNYGISFMK (서열:20)을 포함하는 경쇄 CDR1, AASNQGS (서열:21)을 포함하는 경쇄 CDR2 및 QQSKEVPWTFGG (서열:22)를 포함하는 경쇄 CDR3을 포함한다. 일부 실시양태에서, 이중특이적 항체는 a) 인간 VEGF에 특이적으로 결합하는 제1 항원-결합 부위 및 b) 인간 DLL4에 특이적으로 결합하는 제2 항원-결합 부위를 포함하고, 여기서 제1 항원-결합 부위는 NYWMH (서열:17)을 포함하는 중쇄 CDR1, DINPSNGRTSYKEKFKR (서열:18)을 포함하는 중쇄 CDR2 및 HYDDKYPLMDY (서열:19)를 포함하는 중쇄 CDR3을 포함하고; 제2 항원-결합 부위는 TAYYIH (서열:13)을 포함하는 중쇄 CDR1, YISSYNGATNYNQKFKG (서열:15)를 포함하는 중쇄 CDR2 및 RDYDYDVGMDY (서열:16)을 포함하는 중쇄 CDR3을 포함하고; 제1 및 제2 항원-결합 부위는 둘 다 RASESVDNYGISFMK (서열:20)

을 포함하는 경쇄 CDR1, AASNQGS (서열:21)을 포함하는 경쇄 CDR2 및 QQSKEVPWTFGG (서열:22)를 포함하는 경쇄 CDR3을 포함한다. 일부 실시양태에서, 이중특이적 항체는 a) 인간 VEGF에 특이적으로 결합하는 제1 항원-결합 부위 및 b) 인간 DLL4에 특이적으로 결합하는 제2 항원-결합 부위를 포함하고, 여기서 제1 항원-결합 부위는 NYWMH (서열:17)을 포함하는 중쇄 CDR1, DINPSNGRTSYKEKFKR (서열:18)을 포함하는 중쇄 CDR2 및 HYDDKYPLMDY (서열:19)를 포함하는 중쇄 CDR3을 포함하고; 제2 항원-결합 부위는 TAYYIH (서열:13)을 포함하는 중쇄 CDR1, YIAGYKDATNYNQKFKG (서열:59)를 포함하는 중쇄 CDR2 및 RDYDYDVGMDY (서열:16)을 포함하는 중쇄 CDR3을 포함하고; 제1 및 제2 항원-결합 부위는 둘 다 RASESDNYGISFMK (서열:20)을 포함하는 경쇄 CDR1, AASNQGS (서열:21)을 포함하는 경쇄 CDR2 및 QQSKEVPWTFGG (서열:22)를 포함하는 경쇄 CDR3을 포함한다. 일부 실시양태에서, 이중특이적 항체는 a) 인간 VEGF에 특이적으로 결합하는 제1 항원-결합 부위 및 b) 인간 DLL4에 특이적으로 결합하는 제2 항원-결합 부위를 포함하고, 여기서 제1 항원-결합 부위는 NYWMH (서열:17)을 포함하는 중쇄 CDR1, DINPSNGRTSYKEKFKR (서열:18)을 포함하는 중쇄 CDR2 및 HYDDKYPLMDY (서열:19)를 포함하는 중쇄 CDR3을 포함하고; 제2 항원-결합 부위는 TAYYIH (서열:13)을 포함하는 중쇄 CDR1, YISNYRATNYNQKFKG (서열:65)를 포함하는 중쇄 CDR2 및 RDYDYDVGMDY (서열:16)을 포함하는 중쇄 CDR3을 포함하고; 제1 및 제2 항원-결합 부위는 둘 다 RASESDNYGISFMK (서열:20)을 포함하는 경쇄 CDR1, AASNQGS (서열:21)을 포함하는 경쇄 CDR2 및 QQSKEVPWTFGG (서열:22)를 포함하는 경쇄 CDR3을 포함한다.

- [0031] 일부 실시양태에서, 이중특이적 항체는 인간 VEGF에 특이적으로 결합하고, 서열:11과 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역 및/또는 서열:12와 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, 이중특이적 항체는 인간 VEGF에 특이적으로 결합하고, 서열:11과 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역 및/또는 서열:12와 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함한다.
- [0032] 일부 실시양태에서, 이중특이적 항체는 인간 DLL4에 특이적으로 결합하고, 서열:9, 서열:10, 서열:58 또는 서열:64와 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역; 및/또는 서열 12와 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, 이중특이적 항체는 인간 DLL4에 특이적으로 결합하고, 서열:9, 서열:10, 서열:58 또는 서열:64와 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역; 및/또는 서열 12와 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함한다.
- [0033] 일부 실시양태에서, 이중특이적 항체는 인간 VEGF 및 인간 DLL4에 특이적으로 결합하고, (a) 서열:11과 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 제1 중쇄 가변 영역; (b) 서열:9, 서열:10, 서열:58 또는 서열:64와 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 제2 중쇄 가변 영역; 및 (c) 서열:12와 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 제1 및 제2 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4 이중특이적 항체는 (a) 서열:11과 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 제1 중쇄 가변 영역; (b) 서열:9와 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 제2 중쇄 가변 영역; 및 (c) 서열 12와 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 제1 및 제2 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4 이중특이적 항체는 (a) 서열:11과 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 제1 중쇄 가변 영역; (b) 서열:10과 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 제2 중쇄 가변 영역; 및 (c) 서열:12와 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 제1 및 제2 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4 이중특이적 항체는 (a) 서열:11과 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 제1 중쇄 가변 영역; (b) 서열:58과 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 제2 중쇄 가변 영역; 및 (c) 서열:12와 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 제1 및 제2 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4 이중특이적 항체는 (a) 서열:11과 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 제1 중쇄 가변 영역; (b) 서열:64와 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 제2 중쇄 가변 영역; 및 (c) 서열:12와 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 제1 및 제2 경쇄 가변 영역을 포함한다.
- [0034] 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합제는 (a) 약 0.1 nM 내지 약 1.0 nM의 K_D 로 인간 VEGF에 결합하는 제1 항원-결합 부위 및 (b) 약 0.1 nM 내지 약 20 nM의 K_D 로 인간 DLL4에 결합하는 제2 항원-결합 부위를 포함하는 이중특이적 항체이다. 특정 실시양태에서, 이중특이적 항체는 2개의 동일한 경쇄를 포함한다.
- [0035] 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합제는 219R45-MB-21M18, 219R45-MB-21R79, 219R45-MB-21R75 및 219R45-MB-21R83으로 이루어진 군으로부터 선택되는 이중특이적 항체이다.
- [0036] 상술한 측면, 및 또한 본원 도처에 기재된 다른 측면 및/또는 실시양태 각각의 특정 실시양태에서, 결합제 또는 항체는 단리된다.
- [0037] 또 다른 측면에서, 본 발명은 서열:1, 서열:2, 서열:3, 서열:4, 서열:5, 서열:6, 서열:7, 서열:8, 서열:9, 서열:10, 서열:11, 서열:12, 서열:46, 서열:47, 서열:48, 서열:49, 서열:56, 서열:57, 서열:58, 서열:62,

서열:63 및 서열:64로 이루어진 군으로부터 선택되는 폴리펩티드를 제공한다. 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 단리된다. 특정 실시양태에서, 폴리펩티드는 실질적으로 순수하다. 특정 실시양태에서, 폴리펩티드는 항체 또는 항체의 일부, 예컨대 항체 단편이다.

[0038] 또 다른 측면에서, 본 발명은 상술한 측면, 및 또한 본원에 기재된 다른 측면 및/또는 실시양태 각각의 결합체 및/또는 폴리펩티드를 코딩하는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 단리된 폴리뉴클레오티드 분자를 제공한다. 일부 실시양태에서, 폴리뉴클레오티드는 서열:29, 서열:30, 서열:31, 서열:32, 서열:33, 서열:34, 서열:35, 서열:36, 서열:37, 서열:38, 서열:39, 서열:40, 서열:50, 서열:51, 서열:52, 서열:53, 서열:54, 서열:55, 서열:60, 서열:61, 서열:66, 서열:67, 서열:68, 서열:69, 서열:70, 서열:71, 서열:72, 서열:73 및 서열:74로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열을 포함한다. 본 발명은 추가로 폴리뉴클레오티드를 포함하는 발현 벡터, 및 또한 상기 발현 벡터 및/또는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 세포를 제공한다. 일부 실시양태에서, 세포는 원핵 세포 또는 진핵 세포이다.

[0039] 다른 측면에서, 본 발명은, 종양을, 본원에 기재된 각각의 항체 (또는 다른 결합체)를 포함한 VEGF, DLL4, 또는 VEGF 및 DLL4 둘 다에 결합하는 항체 (또는 다른 결합체)의 유효량과 접촉시키는 것을 포함하는, 종양의 성장을 억제하는 방법을 제공한다.

[0040] 또 다른 측면에서, 본 발명은, 대상체에게 본원에 기재된 각각의 항체 (또는 다른 결합체)를 포함한 VEGF, DLL4, 또는 VEGF 및 DLL4 둘 다에 결합하는 항체 (또는 다른 결합체)의 치료 유효량을 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 종양의 성장을 억제하는 방법을 제공한다.

[0041] 또 다른 측면에서, 본 발명은, 대상체에게 본원에 기재된 각각의 항체 (또는 다른 결합체)를 포함한 VEGF, DLL4, 또는 VEGF 및 DLL4 둘 다에 결합하는 항체 (또는 다른 결합체)의 치료 유효량을 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 혈관신생을 조절하는 방법을 제공한다.

[0042] 또 다른 측면에서, 본 발명은, 대상체에게 본원에 기재된 각각의 항체 (또는 다른 결합체)를 포함한 VEGF, DLL4, 또는 VEGF 및 DLL4 둘 다에 결합하는 항체 (또는 다른 결합체)의 치료 유효량을 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 종양의 종양발생성을 감소시키는 방법을 제공한다.

[0043] 또 다른 측면에서, 본 발명은, 대상체에게 본원에 기재된 각각의 항체 (또는 다른 결합체)를 포함한 VEGF, DLL4, 또는 VEGF 및 DLL4 둘 다에 결합하는 항체 (또는 다른 결합체)의 치료 유효량을 투여하는 것을 포함하는, 종양에서 암 줄기 세포의 빈도를 감소시켜 대상체에서 종양의 종양발생성을 감소시키는 방법을 제공한다.

[0044] 다른 측면에서, 본 발명은, 대상체에게 본원에 기재된 각각의 항체 (또는 다른 결합체)를 포함한 VEGF, DLL4, 또는 VEGF 및 DLL4 둘 다에 결합하는 항체 (또는 다른 결합체)의 치료 유효량을 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 암을 치료하는 방법을 제공한다.

[0045] 결합체를 발현하고/거나 생산하는 세포주와 함께, 본원에 기재된 결합체 (예를 들어, 항체) 및 제약상 허용되는 담체를 포함하는 제약 조성물이 추가로 제공된다. 또한, 대상체에게 결합체를 포함하는 조성물의 유효량을 투여하는 것을 포함하는, 대상체 (예를 들어, 인간)에서 암을 치료하고/거나 종양 성장을 억제하는 방법이 제공된다.

[0046] 본 발명의 측면 또는 실시양태는 마쿠쉬(Markush) 그룹 또는 다른 대안적 그룹의 형식으로 기재되며, 본 발명은 총괄하여 열거된 전체 그룹 뿐만 아니라, 그룹의 각 구성원 및 주요 그룹의 모든 가능한 하위 그룹, 및 또한 그룹 구성원 중 하나 이상이 없는 주요 그룹도 또한 포함한다. 또한, 본 발명은 청구된 발명에서 임의의 그룹 구성원 중 하나 이상의 명백한 배제를 고려한다.

도면의 간단한 설명

[0047] 도 1. 1a) 항-VEGF/항-DLL4 이중특이적 항체 219R45-MB-21M18, 219R45-MB-21M79, 219R45-MB-21M75 및 219R45-MB-21M83의 중쇄 및 경쇄 CDR; 1b) 중쇄 및 경쇄 가변 영역 서열; 1c) 중쇄 및 경쇄 서열.

도 2. 인간 VEGF 및 인간 DLL4에 대한 이중특이적 항체의 동시 결합에 대한 HTRF 검정. 결과는 상대 형광 단위 (RFU)로 보고되며, 이는 620 nm에서의 상대 형광 강도에 대한 665 nm에서의 상대 형광 강도의 비율을 나타낸다. 219R45-MB-21M18 (-●-); 219R45-MB-21R79 (-■-); 219R45 + 21M18 (-▲-); 219R45 + 21R79 (-□-); 219R45 (-▼-); 21M18 (-◇-); 21R79 (-○-); 대조 항체 LZ-1 (-△-).

도 3. 항-VEGF/항-DLL4 이중특이적 항체에 의한 VEGF-유도 HUVEC 증식의 억제. 530 nm의 여기 파장 및 590의

방출 파장을 사용하여 형광 강도를 관독한다. 219R45-MB-21M18 (-●-); 219R45-MB-21R79 (-▲-); 219R45 (-■-); VEGF 없는 배지 (-◇-).

도 4. 항-VEGF/항-DLL4 이중특이적 항체에 의한 DLL4-유도 노치 신호전달의 억제. 레닐라(Renilla) 루시페라제 활성에 대해 표준화된 반딧불이 루시페라제 활성과의 이중 루시페라제 검정 키트를 사용하여 루시페라제 활성을 측정하였다. 219R45-MB-21M18 (-●-); 219R45-MB-21R79 (-■-); 21M18 (-○-); 21R79 (-□-).

도 5. 항-VEGF/항-DLL4 이중특이적 항체에 의한 생체내 결장 종양 성장의 억제. OMP-C8 결장 종양 세포를 NOD/SCID 마우스 내의 인간 피부 이식편에 피하로 주사하였다. 마우스를 대조 항체 (-■-), 항-hDLL4 항체 21M18 (-▲-), 항-VEGF 항체 베바시주맙 (-○-) 또는 항-VEGF/항-DLL4 이중특이적 항체 219R45-MB-21M18 (-▼-)로 치료하였다. 데이터를 치료 후 일자에 대한 종양 부피 (photons/sec)로서 나타낸다. 항체를 1주 1회 25 mg/kg의 용량으로 복강내로 투여하였다.

도 6. 항-VEGF/항-DLL4 이중특이적 항체로의 치료 이후의 췌장 종양 세포의 종양발생. 켈시타빈을 병용하거나 병용하지 않고 대조 항체, 항-hDLL4 항체 21M18, 항-VEGF 항체 베바시주맙 또는 항-VEGF/항-DLL4 이중특이적 항체 219R45-MB-21M18 또는 219R45-MB-21R79로 치료된 마우스로부터의 OMP-PN8 종양 세포를 단세포 현탁액으로 가공하고, 마우스에 연속 이식하였다. 각 치료군으로부터의 90개 세포를 NOD/SCID 마우스에 피하로 주사하였다. 종양을 치료 없이 성장하도록 하였다. 데이터는 제55일째의 종양 부피 (mm³)로서 나타낸다. 종양 빈도는 각각의 군에서 주사된 마우스의 총 수에 대한 종양의 수로서 나타낸다.

도 7. 이중특이적 항체 ELISA. 이중특이적 항체 219R45-MB-21M18, 219R45-MB-21R79, 219R45-MB-21R75 및 219R45-MB-21R83을 2 µg/ml 비오틴-DLL4-hFc를 함유하는 차단 완충제 (1x PBS, 0.1% 젤라틴, 0.1% 폴리소르베이트-20, pH 7.4)에서 희석시켰다. 항체를 500 ng/ml로부터 0.008 ng/ml까지 3배 연속 희석시켰다. 항체 샘플을 비오틴-DLL4-hFc를 함유하는 차단 완충제에서 2시간 동안 인큐베이션하였다. 인큐베이션 이후에, 항체 샘플을 VEGF-코팅된 검정 플레이트 (100 µl/웰)로 전달하고, 2시간 동안 인큐베이션하였다. 스트렙타비딘-HRP를 각 웰에 첨가하고, 1시간 동안 인큐베이션하였다. TMB 기체가 10분 발색과 함께 웰에 첨가되며, 2 M 황산으로 반응을 중지시켰다. 흡광도를 450 내지 650 nm에서 관독하고, 데이터를 소프트맥스 프로(Softmax Pro) 분석 프로그램 내의 4-파라미터 피팅을 사용하여 분석하였다.

도 8. 항-VEGF/항-DLL4 이중특이적 항체의 이미지화된 모세관 등전 포커싱.

도 9. 종양 재발 모델에서의 항-VEGF/항-DLL4 이중특이적 항체에 의한 결장 종양 성장의 억제. OMP-C8 결장 종양 세포를 NOD/SCID 마우스에 피하로 주사하였다. 마우스를 대조 항체 (-■-), 항-hDLL4 항체 21M18 (-●-), 항-VEGF 항체 베바시주맙 (-▲-), 21M18 및 베바시주맙의 조합물 (-▼-), 항-VEGF/항-DLL4 이중특이적 항체 219R45-MB-21M18 (-◇-) 또는 항-VEGF/항-DLL4 이중특이적 항체 219R45-MB-21R79 (-○-)로 처리하였다 (모두 이리노테칸과 조합함). 항체 21M18 및 베바시주맙을 1주 1회 7.5 mg/kg의 용량으로 복강내로 투여하였고, 이중특이적 항체 219R45-MB-21M18 및 219R45-MB-21R79를 1주 1회 15 mg/kg의 용량으로 복강내로 투여하고, 이리노테칸을 최초 4주 동안 45 mg/kg의 용량으로 투여하였다. 데이터는 치료 후 일자에 대한 종양 부피 (mm³)로서 나타낸다.

도 10. 항-VEGF/항-DLL4 이중특이적 항체로의 치료 이후의 OMP-C3 결장 종양 세포의 종양발생. 이리노테칸을 병용하거나 병용하지 않고 대조 항체, 항-hDLL4 항체 21M18, 항-VEGF 항체 베바시주맙, 21M18 및 베바시주맙의 조합물, 또는 항-VEGF/항-DLL4 이중특이적 항체 219R45-MB-21M18 또는 219R45-MB-21R79로 치료된 마우스로부터의 종양을 단세포 현탁액으로 가공하고, 마우스에 연속 이식하였다. 각 치료군으로부터의 150개 세포를 NOD/SCID 마우스로 피하로 주사하였다. 종양을 치료하지 않고 성장하도록 하였다. 데이터는 제68일째의 종양 부피 (mm³)로서 나타낸다.

도 11. 항-VEGF/항-DLL4 이중특이적 항체에 의한 생체내 결장 종양 성장의 억제. OMP-C8 결장 종양 세포를 NOD/SCID 마우스에 피하로 주사하였다. 마우스를 대조 항체 (-■-), 항-VEGF 항체 베바시주맙 (-▲-), 또는 항-VEGF/항-DLL4 이중특이적 항체 219R45-MB-21M18 (-◇-), 219R45-MB-21R75 (-●-), 219R45-MB-21R79 (-○-) 또는 219R45-MB-21R83 (-▼-)으로 치료하였다. 마우스를 단일 작용제로서의 항체로 치료하거나 (도. 10A), 또는 이리노테칸과 조합하여 치료하였다 (도. 10B). 항체를 1주 1회 15 mg/kg의 용량으로, 및 이리노테칸을 1주 1회 7.5 mg/kg의 용량으로 복강내로 투여하였다. 데이터는 치료 후 일자에 대한 종양 부피 (mm³)로서 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0048] 본 발명은 VEGF 및/또는 DLL4와 결합하는 폴리펩티드, 예컨대 항체를 비제한적으로 비롯한 신규 결합체 (예를 들어, VEGF/DLL4 결합체)를 제공한다. 관련된 폴리펩티드 및 폴리뉴클레오티드, VEGF/DLL4-결합체를 포함하는 조성물, 및 VEGF/DLL4-결합체의 제조 방법 또한 제공된다. 추가적으로, 신규 VEGF/DLL4-결합체를 사용하는 방법, 예컨대 종양 성장의 억제 방법, 암의 치료 방법, 종양의 종양발생의 감소 방법, 종양에서의 암 줄기 세포의 빈도의 감소 방법, 및/또는 혈관신생의 조절 방법이 제공된다.
- [0049] 인간 VEGF에 특이적으로 결합하는 모노클로날 항체는 21R45로 식별되어 있다. 이 항체는 약 0.67 nM의 인간 VEGF에 대한 결합 친화도를 가지며, 약 23 nM의 마우스 VEGF에 대한 결합 친화도를 갖는다. 인간 DLL4에 특이적으로 결합하는 여러 모노클로날 항체는 21R79, 21R75 및 21R83으로 식별되어 있다. 항체 21R79는 0.1 nM 미만의 인간 DLL4에 대한 결합 친화도를 갖는다. 인간 VEGF 및 인간 DLL4에 특이적으로 결합하는 이중특이적 항체가 21R45-MB-21M18, 21R45-MB-21R79, 21R45-MB-21R75 및 21R45-MB-21R83 (도 1에서의 CDR 서열)로서 생성되었다. 본원에서 사용되는, 항체 명칭 내의 "MB"는 "1가/이중특이적"을 나타낸다. 이중특이적 항체 21R45-MB-21M18은 1.0 nM 미만의 인간 VEGF에 대한 결합 친화도를 가지며, 약 16 nM의 인간 DLL4에 대한 결합 친화도를 갖는다. 이중특이적 항체 21R45-MB-21R79는 1.0 nM 미만의 인간 VEGF에 대한 결합 친화도를 가지며, 1.0 nM 미만의 인간 DLL4에 대한 결합 친화도를 갖는다. 이중특이적 항체 21R45-MB-21R75는 약 5 nM의 인간 DLL4에 대한 결합 친화도를 갖지만, 이중특이적 항체 21R45-MB-21R83은 약 1 nM의 인간 DLL4에 대한 결합 친화도를 갖는다. 이중특이적 항체 21R45-MB-21M18 및 21R45-MB-21R79는 마우스 VEGF에 결합한다 (실시예 1, 표 3). 항-VEGF/항-DLL4 이중특이적 항체는 인간 VEGF 및 인간 DLL4에 동시에 결합한다 (실시예 2, 도 2). 항-VEGF/항-DLL4 이중특이적 항체는 HUVEC 세포의 VEGF-유도 증식을 억제한다 (실시예 3, 도 3). 항-VEGF/항-DLL4 이중특이적 항체는 DLL4-유도 노치 신호전달을 억제한다 (실시예 4, 도 4). 항-VEGF/항-DLL4 이중특이적 항체는 종양 성장을 억제한다 (실시예 5, 9, 11, 및 도 5, 9, 11). 항-VEGF/항-DLL4 이중특이적 항체는 종양발생 생성을 억제한다 (실시예 6 및 10, 및 도 6, 10). 항-VEGF/항-DLL4 이중특이적 항체는 이중특이적 ELISA에서 VEGF 및 DLL4 둘 다에 결합한다 (실시예 7, 도 7). 항-VEGF/항-DLL4 이중특이적 항체를 적어도 90%의 이중이량체 항체를 포함하는 생성물로 단리 및 정제시켰다 (실시예 8, 표 7).
- [0050] I. 정의
- [0051] 본 발명의 이해를 용이하게 하기 위해, 다수의 용어 및 구절이 하기에서 정의된다.
- [0052] 본원에서 사용되는 경우의 "항체"라는 용어는 이뮤노글로불린 분자의 가변 영역 내의 하나 이상의 항원 인식 부위를 통해 표적, 예컨대 단백질, 폴리펩티드, 펩티드, 탄수화물, 폴리뉴클레오티드, 지질, 또는 이들의 조합물을 인식하고 이에 특이적으로 결합하는 이뮤노글로불린 분자를 지칭한다. 본원에서 사용되는 경우, 이러한 용어는 무손상 폴리클로날 항체, 무손상 모노클로날 항체, 단일쇄 항체, 항체 단편 (예컨대, Fab, Fab', F(ab')₂ 및 Fv 단편), 단일쇄 Fv (scFv) 항체, 다중특이적 항체, 예컨대 이중특이적 항체, 단일특이적 항체, 1가 항체, 키메라 항체, 인간화 항체, 인간 항체, 항체의 항원-결합 부위를 포함하는 융합 단백질, 및 항체가 원하는 생물학적 활성을 나타내는 한 항원 인식 부위를 포함하는 임의의 기타 변형된 이뮤노글로불린 분자를 포함한다. 항체는 각각 알파, 델타, 엡실론, 감마 및 뮤로 지칭되는 이의 중쇄 불변 도메인의 신원을 기초로 다음의 5가지 주요 이뮤노글로불린 클래스 중 임의의 것일 수 있다: IgA, IgD, IgE, IgG, 및 IgM, 또는 이의 서브클래스 (이소형(isotype)) (예를 들어, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 및 IgA2). 상이한 클래스의 이뮤노글로불린은 상이하고 주지된 서브유닛 구조 및 3차원 형상을 지닌다. 항체는 네이키드(naked)일 수 있거나, 또는 독소 및 방사성 동위원소가 포함되지만 이에 한정되지 않는 다른 분자에 접합될 수 있다.
- [0053] "항체 단편"이라는 용어는 무손상 항체의 일부분을 지칭하고, 무손상 항체의 항원 결정 가변 영역을 지칭한다. 항체 단편의 예로는 Fab, Fab', F(ab')₂ 및 Fv 단편, 선형 항체, 단일쇄 항체, 및 항체 단편으로부터 형성된 다중특이적 항체가 포함되지만, 이에 한정되지는 않는다. 본원에서 사용되는 경우의 "항체 단편"은 항원-결합 부위 또는 에피토프 결합 부위를 포함한다.
- [0054] 항체의 "가변 영역"이라는 용어는 항체 경쇄의 가변 영역 또는 항체 중쇄의 가변 영역을 단독으로 또는 조합하여 지칭한다. 중쇄 및 경쇄의 가변 영역은 각각 "초가변 영역"으로 또한 공지된 3개의 상보성 결정 영역 (CDR)에 의해 연결된 4개의 프레임워크 영역 (FR)으로 이루어진다. 각각의 쇠 내의 CDR은 프레임워크 영역에 의해 근접하게 유지되고, 다른 쇠로부터의 CDR과 함께 항체의 항원-결합 부위의 형성에 기여한다. CDR을 결정하기 위한 2가지 이상의 기술이 있다: (1) 중-교차 서열 가변성을 기초로 하는 접근법 (즉, 문헌 [Kabat et al.,

1991, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Edition, National Institutes of Health, Bethesda MD)), 및 (2) 항원-항체 복합체의 결정학적 연구를 기초로 하는 접근법 (문헌 [Al-Lazikani et al., 1997, J. Mol. Biol., 273:927-948]). 또한, 이러한 2가지 접근법의 조합이 CDR을 결정하기 위해 때때로 업계에서 사용된다.

[0055] 본원에서 사용되는 경우의 "모노클로날 항체"라는 용어는 단일 항원 결정인자 또는 에피토프의 고도로 특이적인 인식 및 결합에 관여하는 균질한 항체 집단을 지칭한다. 이는 여러 상이한 항원 결정인자들에 대해 지향되는 상이한 항체들의 혼합물을 전형적으로 포함하는 폴리클로날 항체와 대조적이다. "모노클로날 항체"라는 용어는 무손상 및 전장 모노클로날 항체 둘 다, 뿐만 아니라 항체 단편 (예를 들어, Fab, Fab', F(ab')₂, Fv), 단일쇄 (scFv) 항체, 항체 부분을 포함하는 융합 단백질, 및 항원 인식 부위 (항원-결합 부위)를 포함하는 임의의 기타 변형된 이뮤노글로불린 분자를 포함한다. 또한, "모노클로날 항체"는 하이브리도마 생산, 파지 선별, 재조합 발현 및 트랜스제닉 동물을 포함하지만 이에 한정되지 않는 다수의 기술에 의해 제조된 이같은 항체를 지칭한다.

[0056] 본원에서 사용되는 경우의 "인간화 항체"라는 용어는 최소량의 비-인간 서열을 함유하는 특이적 이뮤노글로불린쇄, 키메라 이뮤노글로불린 또는 이의 단편인 비-인간 (예를 들어, 무린) 항체의 형태를 지칭한다. 전형적으로, 인간화 항체는 CDR의 잔기가 원하는 특이성, 친화도 및/또는 결합 능력을 지니는 비-인간 종 (예를 들어, 마우스, 래트, 토끼 또는 햄스터)의 CDR로부터의 잔기로 교체된 인간 이뮤노글로불린이다 (문헌 [Jones et al., 1986, Nature, 321:522-525]; [Riechmann et al., 1988, Nature, 332:323-327]; [Verhoeyen et al., 1988, Science, 239:1534-1536]). 일부 예에서, 인간 이뮤노글로불린의 Fv 프레임워크 영역 잔기가 원하는 특이성, 친화도 및/또는 결합 능력을 지니는 비-인간 종으로부터의 항체 내의 상응하는 잔기로 교체된다. 항체 특이성, 친화도 및/또는 결합 능력을 정련하고 최적화하기 위해 Fv 프레임워크 영역 내 및/또는 교체된 비-인간 잔기 내의 추가적인 잔기의 치환에 의해 인간화 항체가 추가로 변형될 수 있다. 일반적으로, 인간화 항체는 비-인간 이뮤노글로불린에 상응하는 모든 또는 실질적으로 모든 CDR을 함유하는 하나 이상, 전형적으로는 2개 또는 3개의 가변 도메인을 실질적으로 모두 포함할 것인 한편, 모든 또는 실질적으로 모든 프레임워크 영역은 인간 이뮤노글로불린 컨센서스(consensus) 서열의 것이다. 인간화 항체는 이뮤노글로불린 불변 영역 또는 도메인 (Fc)의 적어도 일부분, 전형적으로는 인간 이뮤노글로불린의 것을 또한 포함할 수 있다. 인간화 항체를 생성시키는 데 사용되는 방법의 예는 예를 들어 미국 특허 5,225,539에 기술되어 있다.

[0057] 본원에서 사용되는 경우의 "인간 항체"라는 용어는 인간에 의해 생산된 항체 또는 인간에 의해 생산된 항체에 상응하는 아미노산 서열을 갖는 항체를 지칭한다. 인간 항체는 업계에 공지된 기술 중 임의의 것을 사용하여 제조할 수 있다. 인간 항체의 이러한 정의는 비-인간 CDR을 포함하는 인간화 항체를 명확하게 제외한다.

[0058] 본원에서 사용되는 경우의 "키메라 항체"라는 용어는 이뮤노글로불린 분자의 아미노산 서열이 2가지 이상의 종으로부터 유래되는 항체를 지칭한다. 전형적으로, 경쇄 및 중쇄 둘 다의 가변 영역은 원하는 특이성, 친화도 및/또는 결합 능력이 있는 한가지 종의 포유동물 (예를 들어, 마우스, 래트, 토끼 등)로부터 유래된 항체의 가변 영역에 상응하는 한편, 불변 영역은 또 다른 종 (일반적으로 인간)으로부터 유래된 항체의 서열에 해당한다.

[0059] 본원에서 사용되는 경우의 "친화도-성숙 항체"라는 구절은 변경(들)을 보유하지 않는 모 항체와 비교하여 항원에 대한 항체의 친화도에서의 개선을 초래하는 하나 이상의 변경이 하나 이상의 CDR 내에 있는 항체를 지칭한다. 상기 정의는 또한 CDR 잔기에 대한 변경과 함께 만들어진 비-CDR 잔기에서의 변경을 포함한다. 바람직한 친화도-성숙 항체는 표적 항원에 대한 친화도가 나노몰 또는 심지어 피코몰일 것이다. 친화도-성숙 항체는 업계에 공지된 절차에 의해 생산된다. 예를 들어, 문헌 [Marks et al., 1992, Bio/Technology 10:779-783]은 VH 및 VL 도메인 셔플링(shuffling)에 의한 친화도-성숙을 기술하고 있다. CDR 및/또는 프레임워크 잔기의 무작위 돌연변이유발은 문헌 [Barbas et al., 1994, PNAS, 91:3809-3813]; [Schier et al., 1995, Gene, 169:147-155]; [Yelton et al., 1995, J. Immunol. 155:1994-2004]; [Jackson et al., 1995, J. Immunol., 154:3310-9]; 및 [Hawkins et al., 1992, J. Mol. Biol., 226:889-896]에 기술되어 있다. 부위-지정 돌연변이유발 또한 친화도-성숙 항체를 얻기 위해 사용될 수 있다.

[0060] "에피토프" 및 "항원 결정인자"라는 용어는 본원에서 상호교환가능하게 사용되고, 특정 항체에 의해 인식되고 특이적으로 결합될 수 있는 항원의 일부분을 지칭한다. 항원이 폴리펩티드인 경우, 에피토프는 인접한 아미노산들, 및 단백질의 3차 폴딩(folding)에 의해 병치된 인접하지 않은 아미노산들 둘 다로부터 형성될 수 있다. 인접한 아미노산들로부터 형성된 에피토프 (선형 에피토프로도 지칭됨)는 전형적으로 단백질 변성 시에 유지되는 반면, 3차 폴딩에 의해 형성된 에피토프 (형상 에피토프로도 지칭됨)는 전형적으로 단백질 변성 시

상실된다. 전형적으로, 에피토프는 독특한 공간 형상의 적어도 3개, 더욱 일반적으로는 적어도 5개 또는 8 내지 10개의 아미노산을 포함한다.

[0061] "이종다량체 분자" 또는 "이종다량체" 또는 "이종다량체 복합체" 또는 "이종다량체 폴리펩티드"라는 용어들은 본원에서 상호교환가능하게 사용되고, 적어도 제1 폴리펩티드 및 제2 폴리펩티드를 포함하는 분자를 지칭하며, 여기서 제2 폴리펩티드는 제1 폴리펩티드로부터의 아미노산 서열과 적어도 하나의 아미노산 잔기가 상이하다. 이종다량체 분자는 제1 및 제2 폴리펩티드에 의해 형성되는 "이종이량체"를 포함할 수 있거나, 또는 추가의 폴리펩티드가 존재하는 고차의 3차 구조를 형성할 수 있다.

[0062] 본원에서 사용되는 경우의 "길항제" 및 "길항성"이라는 용어는 표적 및/또는 신호전달 경로 (예를 들어, 노치 경로)의 생물학적 활성을 부분적으로 또는 완전히 차단하거나, 억제하거나, 감소시키거나 또는 중화시키는 임의의 분자를 지칭한다. "길항제"라는 용어는 단백질의 활성을 부분적으로 또는 완전히 차단하거나, 억제하거나, 감소시키거나 또는 중화시키는 임의의 분자를 포함하도록 본원에서 사용된다. 적절한 길항제 분자에는 특히 길항제 항체 또는 항체 단편이 포함되지만, 이에 한정되지는 않는다.

[0063] 본원에서 사용되는 경우의 "조절" 및 "조절하다"라는 용어는 생물학적 활성의 변화 또는 변경을 지칭한다. 조절에는 활성을 자극하거나 억제하는 것이 포함되지만, 이에 한정되지는 않는다. 조절은 활성의 증가 또는 감소 (예를 들어, 혈관신생의 감소 또는 혈관신생의 증가), 결합 특성의 변화, 또는 단백질의 활성, 경로 또는 기타 생물학적 관심점과 연관된 생물학적, 기능적 또는 면역학적 성질의 임의의 기타 변화일 수 있다.

[0064] "선택적으로 결합한다" 또는 "특이적으로 결합한다"는 결합제 또는 항체가 관련되지 않은 단백질이 포함되는 다른 물질보다 더욱 빈번하게, 더욱 신속하게, 더 긴 기간 동안, 더 큰 친화도로, 또는 상기의 것들의 일부 조합으로 에피토프, 단백질 또는 표적 분자와 반응하거나 회합된다는 것을 의미한다. 특정 실시양태에서, "특이적으로 결합한다"는, 예를 들어 항체가 단백질에 약 0.1 nM 이하, 더욱 일반적으로는 약 1 μM 미만의 K_D 로 결합한다는 것을 의미한다. 특정 실시양태에서, "특이적으로 결합한다"는 항체가 표적에 때로는 적어도 약 0.1 μM 이하, 때로는 적어도 약 0.01 μM 이하, 때로는 적어도 약 1 nM 이하의 K_D 로 결합한다는 것을 의미한다. 상이한 종에서의 상동성 단백질 간의 서열 동일성으로 인해, 특이적 결합은 1가지를 초과하는 종에서의 단백질 (예를 들어, 인간 VEGF 및 마우스 VEGF)을 인식하는 항체를 포함할 수 있다. 마찬가지로, 상이한 단백질들의 폴리펩티드 서열의 특정 영역에서의 상동성으로 인해, 특이적 결합은 1가지를 초과하는 단백질 (예를 들어, 인간 VEGF-A 및 인간 VEGF-B)을 인식하는 항체 (또는 기타 폴리펩티드 또는 결합제)를 포함할 수 있다. 특정 실시양태에서, 제1 표적에 특이적으로 결합하는 항체 또는 결합 모이어티(moiety)는 제2 표적에 특이적으로 결합할 수 있거나 또는 그렇지 않을 수 있는 것으로 이해된다. 그러므로, "특이적 결합"은 배타적인 결합, 즉 단일 표적에 대한 결합을 (포함할 수는 있지만) 필수적으로 요구하지 않는다. 따라서, 특정 실시양태에서, 항체는 1가지를 초과하는 표적에 특이적으로 결합할 수 있다. 특정 실시양태에서, 다중 표적에 항체 상의 동일한 항원-결합 부위가 결합할 수 있다. 예를 들어, 특정 실시양태에서, 항체는 2개의 동일한 항원-결합 부위를 포함할 수 있고, 이들 각각은 2개 이상의 단백질 상의 동일한 에피토프에 특이적으로 결합한다. 특정한 다른 실시양태에서, 항체는 다중특이적일 수 있고, 특이성이 상이한 2개 이상의 항원-결합 부위를 포함할 수 있다. 비제한적인 예로서, 이중특이적 항체는 1개의 단백질 (예를 들어, 인간 VEGF) 상의 에피토프를 인식하는 1개의 항원-결합 부위를 포함할 수 있고, 제2 단백질 (예를 들어, 인간 DLL4) 상의 상이한 에피토프를 인식하는 제2의 상이한 항원-결합 부위를 추가로 포함한다. 일반적으로, 필수적이지는 않지만, 결합에 대한 언급은 특이적 결합을 의미한다.

[0065] "폴리펩티드" 및 "펩티드" 및 "단백질"이라는 용어들은 본원에서 상호교환가능하게 사용되고, 임의의 길이의 아미노산의 중합체를 지칭한다. 이러한 중합체는 선형 또는 분지형일 수 있고, 변형된 아미노산을 포함할 수 있으며, 비-아미노산이 개재될 수 있다. 이러한 용어는 천연적으로 또는 개입, 예를 들어 디설피드 결합 형성, 당화, 지질화, 아세틸화, 인산화 또는 임의의 기타 조작 또는 변형, 예컨대 표지 성분과의 접합에 의해 변형된 아미노산 중합체를 또한 포함한다. 이러한 정의에는 예를 들어 하나 이상의 아미노산의 유사체 (예를 들어, 비천연 아미노산이 포함됨), 뿐만 아니라 업계에 공지된 기타 변형을 함유하는 폴리펩티드가 또한 포함된다. 본 발명의 폴리펩티드는 항체를 기초로 하기 때문에, 특정 실시양태에서 폴리펩티드가 단일쇄 또는 회합된 쇠로서 발생할 수 있는 것으로 이해된다.

[0066] "폴리뉴클레오티드" 및 "핵산"이라는 용어들은 본원에서 상호교환가능하게 사용되고, 임의의 길이의 뉴클레오티드의 중합체를 지칭하며, DNA 및 RNA를 포함한다. 뉴클레오티드는 데옥시리보뉴클레오티드, 리보뉴클레오티드, 변형된 뉴클레오티드 또는 염기, 및/또는 이들의 유사체, 또는 DNA 또는 RNA 폴리머라제에 의해 중합체 내로 혼

입될 수 있는 임의의 기질일 수 있다.

[0067] "고 엄격성 조건"은 (1) 세척용으로 낮은 이온 강도 및 높은 온도, 예를 들어 50°C에서 15 mM 염화나트륨/1.5 mM 시트르산나트륨/0.1% 소듐 도데실 술페이트를 사용하는 것; (2) 혼성화 동안 변성제, 예컨대 포름아미드, 예를 들어 50% (v/v) 포름아미드를 42°C에서 5× SSC (0.75 M NaCl, 75 mM 시트르산나트륨) 중 pH 6.5에서 0.1% 소 혈청 알부민/0.1% 피콜(Ficoll)/0.1% 폴리비닐피롤리돈/50 mM 인산나트륨 완충제와 함께 사용하는 것; 또는 (3) 혼성화 동안 50% 포름아미드를 42°C에서 5× SSC, 50 mM 인산나트륨 (pH 6.8), 0.1% 피로인산나트륨, 5× 덴하르트 용액, 초음파처리된 연어 정자 DNA (50 μg/ml), 0.1% SDS, 및 10% 텍스트란 술페이트 중에서 사용하고, 42°C에서 0.2× SSC 및 50% 포름아미드 중에서 세척한 후, 55°C에서 EDTA를 함유하는 0.1× SSC로 이루어진 고-엄격성 세척을 이용하는 것에 의해 확인될 수 있다.

[0068] 2개 이상의 핵산 또는 폴리펩티드의 문맥에서의 "동일한" 또는 "동일성" 백분율이라는 용어는 최대 상응성을 위해 비교 및 정렬되었을 때 (필요하다면 갭(gap)이 도입됨), 동일하거나 또는 상술된 백분율의 동일한 뉴클레오티드 또는 아미노산 잔기를 지니는 2개 이상의 서열 또는 하위 서열을 지칭하고, 이때 임의의 보존적 아미노산 치환은 서열 동일성의 일부로 간주되지 않는다. 서열 비교 소프트웨어 또는 알고리즘을 이용하여 또는 육안 검사로 동일성 백분율을 측정할 수 있다. 아미노산 또는 뉴클레오티드 서열의 정렬을 수득하는데 사용될 수 있는 다양한 알고리즘 및 소프트웨어가 업계에 공지되어 있다. 여기에는 BLAST, ALIGN, 메갈라인(Megalign), 베스트핏(BestFit), GCG 위스콘신 패키지(Wisconsin Package), 및 이의 변형이 포함되지만, 이에 한정되지는 않는다. 일부 실시양태에서, 2개의 본 발명의 핵산 또는 폴리펩티드가 실질적으로 동일하다는 것은 서열 비교 알고리즘을 사용하여 또는 육안 검사로 측정된 바와 같이 최대 상응성을 위해 비교 및 정렬되었을 때 이들이 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 일부 실시양태에서는 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99%의 뉴클레오티드 또는 아미노산 잔기 동일성이 있다는 것을 의미한다. 일부 실시양태에서, 길이가 적어도 약 10개, 적어도 약 20개, 적어도 약 40 내지 60개의 잔기, 적어도 약 60 내지 80개의 잔기 또는 이들 사이의 임의의 정수 값인 서열의 영역에 걸쳐 동일성이 존재한다. 일부 실시양태에서, 60 내지 80개의 잔기보다 긴 영역, 예컨대 적어도 약 80 내지 100개의 잔기에 걸쳐 동일성이 존재하고, 일부 실시양태에서, 비교되는 서열들의 전체 길이, 예컨대 뉴클레오티드 서열의 코딩 영역에 걸쳐 서열들이 실질적으로 동일하다.

[0069] "보존적 아미노산 치환"은 1개의 아미노산 잔기가 유사한 측쇄를 갖는 또 다른 아미노산 잔기로 교체되는 것이다. 염기성 측쇄 (예를 들어, 리신, 아르기닌, 히스티딘), 산성 측쇄 (예를 들어, 아스파르트산, 글루탐산), 비하전 극성 측쇄 (예를 들어, 글리신, 아스파라긴, 글루타민, 세린, 트레오닌, 티로신, 시스테인), 비극성 측쇄 (예를 들어, 알라닌, 발린, 류신, 이소류신, 프롤린, 페닐알라닌, 메티오닌, 트립토판), 베타-분지형 측쇄 (예를 들어, 트레오닌, 발린, 이소류신) 및 방향족 측쇄 (예를 들어, 티로신, 페닐알라닌, 트립토판, 히스티딘)가 포함되는 유사한 측쇄가 있는 아미노산 잔기들의 패밀리가 업계에 규정되어 있다. 예를 들어, 페닐알라닌이 티로신을 치환하는 것은 보존적 치환이다. 바람직하게는, 본 발명의 폴리펩티드 및 항체의 서열 내에서의 보존적 치환은 이러한 아미노산 서열을 함유하는 폴리펩티드 또는 항체가, 폴리펩티드 또는 항체가 결합하는 항원에 결합하는 것을 폐지하지 않는다. 항원 결합을 제거하지 않는 뉴클레오티드 및 아미노산 보존적 치환을 확인하는 방법이 업계에 주지되어 있다.

[0070] 본원에서 사용되는 경우의 "백터"라는 용어는 하나 이상의 관심 유전자(들) 또는 서열(들)을 숙주 세포 내에 전달할 수 있고, 일반적으로는 이를 발현할 수 있는 구축물을 의미한다. 백터의 예로는 바이러스 백터, 네이키드 DNA 또는 RNA 발현 백터, 플라스미드, 코스미드, 또는 파지 백터, 양이온성 축합제와 회합된 DNA 또는 RNA 발현 백터, 및 리포솜 내에 캡슐화된 DNA 또는 RNA 발현 백터가 포함되지만, 이에 한정되지는 않는다.

[0071] "단리된" 폴리펩티드, 항체, 폴리뉴클레오티드, 백터, 세포 또는 조성물은 천연에서 발견되지 않는 형태의 폴리펩티드, 항체, 폴리뉴클레오티드, 백터, 세포 또는 조성물이다. 단리된 폴리펩티드, 항체, 폴리뉴클레오티드, 백터, 세포 또는 조성물에는 더 이상 천연에서 발견되는 형태가 아닌 정도로 정제된 것들이 포함된다. 일부 실시양태에서, 단리된 폴리펩티드, 항체, 폴리뉴클레오티드, 백터, 세포 또는 조성물은 실질적으로 순수하다.

[0072] 본원에서 사용되는 경우의 "실질적으로 순수한"이라는 용어는 적어도 50% 순수하거나 (즉, 오염물질이 없음), 적어도 90% 순수하거나, 적어도 95% 순수하거나, 적어도 98% 순수하거나, 또는 적어도 99% 순수한 물질을 지칭한다.

[0073] 본원에서 사용되는 경우의 "암" 및 "암성"이라는 용어는 세포 집단이 조절되지 않은 세포 성장을 특징으로 하는 포유동물의 생리학적 상태를 지칭하거나 기술한다. 암의 예로는 암종, 모세포종, 육종, 및 혈액암, 예컨대 림프종 및 백혈병이 포함되지만, 이에 한정되지는 않는다.

- [0074] 본원에서 사용되는 경우의 "종양" 및 "신생물"이라는 용어는 과도한 세포 성장 또는 증식으로부터 초래되는, 전 암성 병변이 포함되는 악성 (암성) 또는 양성 (비-암성)의 임의의 조직 덩어리를 지칭한다.
- [0075] 본원에서 사용되는 경우의 "전이"라는 용어는 새로운 위치에서 유사한 암성 병변이 발달되면서 암이 원래 부위에서 신체의 다른 영역으로 확산되거나 이전되는 프로세스를 지칭한다. "전이성" 또는 "전이" 세포는 이웃 세포와의 접촉성 접촉을 상실하고 혈류 또는 림프를 통해 1차 질환 부위로부터 이동하여 이웃 신체 구조를 침습하는 것이다.
- [0076] "암 줄기 세포" 및 "CSC" 및 "종양 줄기 세포" 및 "종양 개시 세포"는 본원에서 상호교환가능하게 사용되고, (1) 광범위한 증식 능력이 있고; 2) 하나 이상의 유형의 분화된 세포 자손이 생성되도록 비대칭 세포 분열을 할 수 있고, 이때 분화된 세포는 증식 또는 발달 잠재력이 감소되며; (3) 자가-재생 또는 자가-유지를 위해 대칭적 세포 분열을 할 수 있는 암 또는 종양으로부터의 세포를 지칭한다. 이러한 성질들은 종양을 형성하는데 실패하는 대다수의 종양 세포와 비교하여 면역손상 숙주 (예를 들어, 마우스) 내로의 연속 이식 시 종양 또는 암을 형성하거나 확립하는 능력을 암 줄기 세포에 부여한다. 암 줄기 세포에서 무질서한 방식으로 자가-재생 대 분화가 진행되어, 돌연변이가 발생함에 따라 경시적으로 변화할 수 있는 비정상적인 세포 유형의 종양이 형성된다.
- [0077] "암 세포" 및 "종양 세포"라는 용어는 대부분의 암 세포 집단을 포함하는 비-종양발생 세포, 및 종양발생 줄기 세포 (암 줄기 세포) 둘 다를 포함하여, 암 또는 종양 또는 전암성 병변으로부터 유래된 전체 세포 집단을 지칭한다. 본원에서 사용되는 경우, 재생 및 분화 능력이 없는 세포만 지칭하여 이러한 종양 세포를 암 줄기 세포와 구별할 때 "비-종양발생"이라는 용어가 "암 세포" 또는 "종양 세포"라는 용어를 수식할 것이다.
- [0078] 본원에서 사용되는 경우의 "종양발생"이라는 용어는 자가-재생 (추가적인 종양발생 암 줄기 세포가 초래됨) 및 모든 다른 종양 세포가 생성되는 증식 (분화되고, 따라서 비-종양발생 종양 세포가 초래됨)의 성질이 포함되는 암 줄기 세포의 기능적인 특색을 지칭한다.
- [0079] 본원에서 사용되는 경우의 "종양발생성"이라는 용어는 면역손상 숙주 (예를 들어, 마우스) 내로의 연속 이식 시 촉진성 종양을 형성하는 종양으로부터의 세포의 무작위 샘플의 능력을 지칭한다. 이 정의는 또한 면역손상 숙주 (예를 들어, 마우스)로의 연속 이식 시에 촉진성 종양을 형성하는 암 줄기 세포의 풍부화 및/또는 단리된 집단을 포함한다.
- [0080] "대상체"라는 용어는 특정 치료의 수용자가 되는, 인간, 비-인간 영장류, 개과 동물, 고양이과 동물, 설치류 등을 포함하지만 이에 한정되지 않는 임의의 동물 (예를 들어, 포유동물)을 지칭한다. 전형적으로, "대상체" 및 "환자"라는 용어들은 인간 대상체와 관련하여 본원에서 상호교환가능하게 사용된다.
- [0081] "제약상 허용되는"이라는 용어는 인간이 포함되는 동물에서의 사용에 대해 연방 정부 또는 주 정부의 감독 기관에 의해 승인되었거나 (또는 승인가능하거나), 또는 미국 약전 또는 기타 일반적으로 인정되는 약전에 열거된 생성물 또는 화합물을 지칭한다.
- [0082] "제약상 허용되는 부형제, 담체 또는 아주반트" 또는 "허용되는 제약 담체"는 하나 이상의 본 개시내용의 결합제 (예를 들어, 항체)와 함께 대상체에게 투여될 수 있고 결합제의 활성을 파괴하지 않는 부형제, 담체 또는 아주반트를 지칭한다. 부형제, 담체 또는 아주반트는 결합제와 함께 치료 효과를 전달하는데 충분한 용량으로 투여되었을 때 비독성이어야 한다.
- [0083] "유효량" 또는 "치료 유효량" 또는 "치료 효과"라는 용어는 대상체 또는 포유동물에서 질환 또는 장애를 "치료"하는데 효과적인 결합제, 항체, 폴리펩티드, 폴리뉴클레오티드, 유기 소분자, 또는 기타 약물의 양을 지칭한다. 암의 경우, 치료 유효량의 약물 (예를 들어, 항체)은 치료 효과가 있고, 따라서 암 세포의 개수를 감소시킬 수 있거나; 종양발생성, 종양발생 빈도 또는 종양발생 능력을 감소시킬 수 있거나; 암 줄기 세포의 개수 또는 빈도를 감소시킬 수 있거나; 종양 크기를 감소시킬 수 있거나; 암 세포 집단을 감소시킬 수 있거나; 주변 기관 내로의 암 세포 침윤 (예를 들어, 연부 조직 및 골 내로의 암 확산이 포함됨)을 억제하고/거나 정지시킬 수 있거나; 종양 또는 암 세포 전이를 억제하고/거나 정지시킬 수 있거나; 종양 또는 암 세포 성장을 억제하고/거나 정지시킬 수 있거나; 암과 연관된 증상 중 하나 이상을 어느 정도로 완화시킬 수 있거나; 이환율 및 사망률을 감소시킬 수 있거나; 삶의 질을 개선시킬 수 있거나; 또는 이같은 효과들의 조합이 가능하다. 작용제, 예를 들어 항체가 기존의 암 세포의 성장을 방지하고/하거나 이를 사망시킨다는 점에서, 이는 세포증식억제성 및/또는 세포독성으로 지칭될 수 있다.
- [0084] "치료하는" 또는 "치료" 또는 "치료한다", 또는 "경감시키는" 또는 "경감시킨다"는 1) 진단된 병리학적 상태 또

는 장애를 치유하고/하거나, 늦추고/늦추거나, 이의 증상을 줄이고/줄이거나 이의 진행을 중단시키는 치료적 수단, 및 2) 표적화된 병리학적 상태 또는 장애의 발달을 방지하거나 느리게 하는 예방적 또는 방지적 수단 둘 다를 지칭한다. 따라서, 치료를 필요로 하는 이에는 이미 장애에 걸린 이; 장애에 걸리기 쉬운 이; 및 장애가 방지되어야 하는 이가 포함된다. 일부 실시양태에서, 환자가 하기의 것들 중 하나 이상을 나타내면 대상체가 본 발명의 방법에 따라 성공적으로 "치료"된다: 암 세포 개수의 감소 또는 암 세포의 완전한 부재; 종양 크기의 감소; 연부 조직 및 골 내로의 암 세포 확산이 포함되는 주변 기관 내로의 암 세포 침윤의 억제 또는 부재; 종양 또는 암 세포 전이의 억제 또는 부재; 암 성장의 억제 또는 부재; 특정 암과 연관된 하나 이상의 증상의 완화; 이환율 및 사망율 감소; 삶의 질의 개선; 종양발생성 감소; 암 줄기 세포의 개수 또는 빈도 감소; 또는 효과들의 일부 조합.

[0085] 본 개시내용 및 청구항에서 사용되는 경우, 단수 형태의 관사 ("a", "an" 및 "the")는 문맥적으로 명확하게 달리 지시되지 않는 한 복수 형태를 포함한다.

[0086] 실시양태가 본원에서 "포함하는"이라는 표현과 함께 기술되는 어떠한 경우에도, "~로 이루어진" 및/또는 "~로 필수적으로 이루어진"의 표현으로 기술된, 다른 면에서는 유사한 실시양태가 또한 제공되는 것으로 이해된다. 또한, 실시양태가 본원에서 "~로 필수적으로 이루어진"이라는 표현과 함께 기술되는 어떠한 경우에도, "~로 이루어진"의 표현으로 기술된, 다른 면에서는 유사한 실시양태가 또한 제공되는 것으로 이해된다.

[0087] 본원에서 "A 및/또는 B"와 같은 구절에서 사용되는 경우의 "및/또는"이라는 용어는 A 및 B 둘 다; A 또는 B; A (단독); 및 B (단독)을 포함하도록 의도된다. 마찬가지로, "A, B, 및/또는 C"와 같은 구절에서 사용되는 경우의 "및/또는"이라는 용어는 하기의 실시양태 각각을 포함하도록 의도된다: A, B, 및 C; A, B, 또는 C; A 또는 C; A 또는 B; B 또는 C; A 및 C; A 및 B; B 및 C; A (단독); B (단독); 및 C (단독).

[0088] II. 항체

[0089] 본 발명은 인간 VEGF 단백질 및/또는 인간 DLL4 단백질에 특이적으로 결합하는 작용제를 제공한다. 이들 작용제는 본원에서 "VEGF/DLL4-결합제"로도 지칭된다. 어구 "VEGF/DLL4-결합제"는 VEGF에만 결합하는 작용제, DLL4에만 결합하는 작용제, 및 VEGF 및 DLL4 둘 다에 결합하는 이중특이적 작용제를 포함한다. 특정 실시양태에서, VEGF 및/또는 DLL4에 특이적으로 결합하는 것 이외에, VEGF/DLL4-결합제는 추가적으로 적어도 하나의 추가의 표적 또는 항원에 특이적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합제는 항체이다. 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합제는 폴리펩티드이다. 특정 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합제는 인간 VEGF에 특이적으로 결합한다. 특정 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합제는 인간 DLL4에 특이적으로 결합한다. 특정 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합제는 이중특이적 항체이다. 특정 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합제는 인간 VEGF 및 인간 DLL4에 특이적으로 결합하는 이중특이적 항체이다. 인간 VEGF (VEGF-A) 및 인간 DLL4에 대한 전장 아미노산 (aa) 서열은 당업계에서 알려져 있으며, 서열:27 (VEGF) 및 서열:23 (DLL4)으로서 본원에서 제공된다.

[0090] 특정 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합제 또는 항체는 VEGF 및/또는 DLL4에 약 1 μM 이하, 약 100 nM 이하, 약 40 nM 이하, 약 20 nM 이하, 약 10 nM 이하, 약 1 nM 이하, 또는 약 0.1 nM 이하의 해리 상수 (K_D)로 결합한다. 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합제 또는 항체는 VEGF 및/또는 DLL4에 약 20 nM 이하의 K_D 로 결합한다. 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합제 또는 항체는 VEGF 및/또는 DLL4에 약 10 nM 이하의 K_D 로 결합한다. 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합제 또는 항체는 VEGF 및/또는 DLL4에 약 1 nM 이하의 K_D 로 결합한다. 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합제 또는 항체는 VEGF 및/또는 DLL4에 약 0.1 nM 이하의 K_D 로 결합한다. 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합제는 인간 VEGF 및 마우스 VEGF 둘 다에 약 100 nM 이하의 K_D 로 결합한다. 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합제는 인간 VEGF 및 마우스 VEGF 둘 다에 약 50 nM 이하의 K_D 로 결합한다. 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합제는 인간 DLL4 및 마우스 DLL4 둘 다에 약 100 nM 이하의 K_D 로 결합한다. 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합제는 인간 DLL4 및 마우스 DLL4 둘 다에 약 50 nM 이하의 K_D 로 결합한다. 일부 실시양태에서, VEGF에 대한 결합제 (예를 들어, 항체)의 해리 상수는 비아코어 칩 상에서 고정화된 VEGF의 적어도 일부분을 포함하는 VEGF 융합 단백질을 사용하여 측정된 해리 상수이다. 일부 실시양태에서, DLL4에 대한 결합제 (예를 들어, 항체)의 해리 상수는 비아코어 칩 상에서 고정화된 DLL4의 적어도 일부분을 포함하는 DLL4-융합 단백질을 사용하여 측정된 해리 상수이다.

[0091] 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합제는 VEGF에 특이적으로 결합하는 제1 항원-결합 부위 및 DLL4에 특이적으로

결합하는 제2 항원-결합 부위를 포함하는 이중특이적 항체이다. 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합제 또는 항체는 VEGF 및 DLL4 둘 다에 약 100 nM 이하의 K_D 로 결합한다. 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합제 또는 항체는 VEGF 및 DLL4 둘 다에 약 50 nM 이하의 K_D 로 결합한다. 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합제 또는 항체는 VEGF 및 DLL4 둘 다에 약 20 nM 이하의 K_D 로 결합한다. 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합제 또는 항체는 VEGF 및 DLL4 둘 다에 약 10 nM 이하의 K_D 로 결합한다. 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합제 또는 항체는 VEGF 및 DLL4 둘 다에 약 1 nM 이하의 K_D 로 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원-결합 부위 중 하나의 친화도는 다른 항원-결합 부위의 친화도에 비하여 약화될 수 있다. 예를 들어, 한 항원 결합 부위의 K_D 는 약 1 nM이며, 제2 항원-결합 부위의 K_D 는 약 10 nM일 수 있다. 일부 실시양태에서, 두 항원-결합 부위 사이의 친화도의 차이는 약 2배 이상, 약 3배 이상, 약 5배 이상, 약 8배 이상, 약 10배 이상, 약 15배 이상, 약 20배 이상, 약 30배 이상, 약 50배 이상, 또는 약 100배 이상일 수 있다. 두 항원-결합 부위의 친화도의 조절은 이중특이적 항체의 생물학적 활성에 영향을 줄 수 있다. 예를 들어, DLL4 또는 VEGF에 대한 항원-결합 부위의 친화도의 감소는 바람직한 효과, 예를 들어 결합제의 감소된 독성 또는 증가된 치료 지수를 가질 수 있다.

[0092] 비제한적인 예로서, 이중특이적 항체는 (a) 인간 VEGF에 약 0.1 nM 내지 약 1.0 nM의 K_D 로 결합하는 제1 항원-결합 부위, 및 (b) 인간 DLL4에 약 0.1 nM 내지 약 20 nM, 약 0.5 nM 내지 약 20 nM, 약 1.0 nM 내지 10 nM의 K_D 로 특이적으로 결합하는 제2 항원-결합 부위를 포함할 수 있다. 특정 실시양태에서, 이중특이적 항체는 2개의 동일한 경쇄를 포함한다.

[0093] 특정 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합제 (예를 들어, 항체)는 VEGF 및/또는 DLL4에 약 1 μ M 이하, 약 100 nM 이하, 약 40 nM 이하, 약 20 nM 이하, 약 10 nM 이하, 약 1 nM 이하, 또는 약 0.1 nM 이하의 절반 최대 유효 농도 (EC_{50})로 결합한다. 특정 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합제 (예를 들어, 항체)는 VEGF 및/또는 DLL4에 약 1 μ M 이하, 약 100 nM 이하, 약 40 nM 이하, 약 20 nM 이하, 약 10 nM 이하, 약 1 nM 이하, 또는 약 0.1 nM 이하의 절반 최대 유효 농도 (EC_{50})로 결합한다.

[0094] 특정 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합제는 항체이다. 일부 실시양태에서, 항체는 재조합 항체이다. 일부 실시양태에서, 항체는 모노클로날 항체이다. 일부 실시양태에서, 항체는 키메라 항체이다. 일부 실시양태에서, 항체는 인간화 항체이다. 일부 실시양태에서, 항체는 인간 항체이다. 특정 실시양태에서, 항체는 IgA, IgD, IgE, IgG 또는 IgM 항체이다. 특정 실시양태에서, 항체는 IgG1 항체이다. 특정 실시양태에서, 항체는 IgG2 항체이다. 특정 실시양태에서, 항체는 항원-결합 부위를 포함하는 항체 단편이다. 일부 실시양태에서, 항체는 이중특이적 항체이다. 일부 실시양태에서, 항체는 1가, 단일특이적, 2가 또는 다중특이적이다. 일부 실시양태에서, 항체는 세포독성 모이어티에 접합된다. 일부 실시양태에서, 항체는 단리된다. 일부 실시양태에서, 항체는 실질적으로 순수하다.

[0095] 본 발명의 VEGF/DLL4-결합제 (예를 들어, 항체)는 당업계에서 공지된 임의의 방법에 의해 특이적 결합에 대하여 검정할 수 있다. 사용될 수 있는 면역검정에는 비아코어 분석, FACS 분석, 면역형광, 면역세포화학, 웨스턴 블롯 분석, 방사성면역검정, ELISA, "샌드위치" 면역검정, 면역침전 검정, 침전 반응, 겔 확산 침강소 반응, 면역 확산 검정, 응집 검정, 보체-고정 검정, 면역방사능측정 검정, 형광 면역검정, 균질 시간-분해 형광 검정 (HTRF) 및 단백질 A 면역검정과 같은 기술을 사용하는 경쟁적 및 비-경쟁적 검정 시스템이 포함되지만, 이에 한정되지는 않는다. 이러한 검정은 일상적이며 당업계에 공지되어 있다 (예를 들어, 문헌 [Ausubel et al., Editors, 1994-present, Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, Inc., New York, NY] 참조).

[0096] 예를 들어, 인간 VEGF 및/또는 인간 DLL4에 대한 항체의 특이적 결합은 ELISA를 사용하여 측정할 수 있다. ELISA 검정은 항원을 제조하는 단계, 96 웰 마이크로타이터 플레이트의 웰을 항원으로 코팅하는 단계, 검출가능한 화합물, 예컨대 효소적 기체 (예를 들어, 양고추냉이 퍼옥시다제 또는 알칼리성 포스파타제)에 접합된 항체 또는 다른 결합제를 웰에 첨가하는 단계, 일정 기간 동안 인큐베이션하는 단계, 및 항원에 결합된 결합제의 존재를 검출하는 단계를 포함한다. 일부 실시양태에서, 결합제 또는 항체는 검출가능한 화합물에 접합되지 않지만, 대신에 결합제 또는 항체 (예를 들어, 항-Fc 항체)를 인식하고 검출가능한 화합물에 접합되는 2차 항체가 웰에 첨가된다. 일부 실시양태에서, 웰을 항원으로 코팅하는 대신에, 결합제 또는 항체가 웰에 코팅되고, 코팅된 웰에 항원의 첨가 이후에 검출가능한 화합물에 접합된 2차 항체를 첨가할 수 있다. 당업자는 검출되는 신호를 증가시키도록 변형될 수 있는 파라미터, 뿐만 아니라 업계에 공지된 ELISA의 기타 변동에 관하여 정통할

것이다.

[0097] 또 다른 예에서, 인간 VEGF 및/또는 인간 DLL4에의 항체의 특이적 결합은 FACS를 사용하여 측정할 수 있다. FACS 스크리닝 검정은 융합 단백질로서 항원을 발현하는 cDNA 구축물을 생성하는 단계, 구축물을 세포로 형질감염시키는 단계, 항원을 세포의 표면에 발현하는 단계, 결합제 또는 항원을 형질감염된 세포와 혼합하는 단계, 및 일정 기간 동안 인큐베이션하는 단계를 포함할 수 있다. 결합제 또는 항체에 의해 결합된 세포는 검출가능한 화합물 (예를 들어, PE-접합된 항-Fc 항체)에 접합된 2차 항체 및 유동 세포측정기를 사용하여 식별될 수 있다. 당업자는 검출되는 신호를 최적화하도록 변형될 수 있는 파라미터, 뿐만 아니라 스크리닝 (예를 들어, 차단 항체에 대한 스크리닝)을 강화할 수 있는 FACS의 기타 변동에 관하여 정통할 것이다.

[0098] 항원 (예를 들어, VEGF 또는 DLL4)에 대한 항체 또는 다른 결합-작용제의 결합 친화도, 및 항체-항원 상호작용의 오프(off)-속도는 경쟁적 결합 검정에 의해 측정할 수 있다. 경쟁적 결합 검정의 한 예는 표지된 항원 (예를 들어, ³H 또는 ¹²⁵I), 또는 이의 단편 또는 변이체를 증가되는 양의 미표지 항원의 존재 하에 관심 항체와 함께 인큐베이션한 후, 표지된 항원에 결합된 항체를 검출하는 것을 포함하는 방사성면역검정법이다. 항원에 대한 항체의 친화도 및 결합 오프-속도는 스캐차드(Scatchard) 플롯 분석에 의한 데이터로부터 측정할 수 있다. 일부 실시양태에서, 비아코어 동역학 분석을 사용하여 항원 (예를 들어, VEGF 또는 DLL4)에 결합하는 항체 또는 작용제의 결합 온(on) 및 오프 속도를 측정한다. 비아코어 동역학적 분석은 칩 표면 상에 항원 (예를 들어, VEGF 또는 DLL4)이 고정되어 있는 칩으로부터의 항체의 결합 및 해리를 분석하는 것을 포함한다.

[0099] 특정 실시양태에서, 본 발명은 인간 VEGF에 특이적으로 결합하는 VEGF-결합제 (예를 들어, 항체)를 제공하며, 여기서 VEGF-결합제 (예를 들어, 항체)는 항체 219R45의 CDR 중 1, 2, 3, 4, 5 및/또는 6개를 포함한다 (표 1 참조). 일부 실시양태에서, VEGF-결합제는 219R45의 CDR 중 1개 이상을 포함하거나, 219R45의 CDR 중 2개 이상을 포함하거나, 219R45의 CDR 중 3개 이상을 포함하거나, 219R45의 CDR 중 4개 이상을 포함하거나, 219R45의 CDR 중 5개 이상을 포함하거나, 또는 219R45의 CDR 6개 모두를 포함한다. 일부 실시양태에서, VEGF-결합제는 인간 VEGF 및 마우스 VEGF에 결합한다.

[0100] <표 1>

	219R45
HC CDR1	NYWMH (서열 :17)
HC CDR2	DINPSNGRTSYKEKFKR (서열 :18)
HC CDR3	HYDDKYYP LMDY (서열 :19)
LC CDR1	RASESVDNYGISFMK (서열 :20)
LC CDR2	AASNQGS (서열 :21)
LC CDR3	QQSKEVPWTFGG (서열 :22)

[0101]

[0102] 특정 실시양태에서, 본 발명은 인간 VEGF에 특이적으로 결합하는 VEGF-결합제 (예를 들어, 항체)를 제공하며, 여기서 VEGF-결합제는 NYWMH (서열:17)을 포함하는 중쇄 CDR1, DINPSNGRTSYKEKFKR (서열:18)을 포함하는 중쇄 CDR2 및 HYDDKYYP LMDY (서열:19)를 포함하는 중쇄 CDR3을 포함한다. 일부 실시양태에서, VEGF-결합제는 RASESVDNYGISFMK (서열:20)을 포함하는 경쇄 CDR1, AASNQGS (서열:21)을 포함하는 경쇄 CDR2 및 QQSKEVPWTFGG (서열:22)를 포함하는 경쇄 CDR3을 추가적으로 포함한다. 특정 실시양태에서, VEGF-결합제는 (a) NYWMH (서열:17)을 포함하는 중쇄 CDR1, DINPSNGRTSYKEKFKR (서열:18)을 포함하는 중쇄 CDR2 및 HYDDKYYP LMDY (서열:19)를 포함하는 중쇄 CDR3, 및 (b) RASESVDNYGISFMK (서열:20)을 포함하는 경쇄 CDR1, AASNQGS (서열:21)을 포함하는 경쇄 CDR2 및 QQSKEVPWTFGG (서열:22)를 포함하는 경쇄 CDR3을 포함한다.

[0103] 특정 실시양태에서, 본 발명은 인간 VEGF에 특이적으로 결합하는 VEGF-결합제 (예를 들어, 항체)를 제공하며,

여기서 VEGF-결합제는 (a) NYWMH (서열:17)을 포함하는 중쇄 CDR1, 또는 1, 2, 3 또는 4개의 아미노산 치환을 포함하는 그의 변이체; (b) DINPSNGRTSYKEKFKR (서열:18)을 포함하는 중쇄 CDR2, 또는 1, 2, 3 또는 4개의 아미노산 치환을 포함하는 그의 변이체; (c) HYDDKYYPLMDY (서열:19)를 포함하는 중쇄 CDR3, 또는 1, 2, 3 또는 4개의 아미노산 치환을 포함하는 그의 변이체; (d) RASESVDNYGISFMK (서열:20)을 포함하는 경쇄 CDR1, 또는 1, 2, 3 또는 4개의 아미노산 치환을 포함하는 그의 변이체; (e) AASNQGS (서열:21)을 포함하는 경쇄 CDR2, 또는 1, 2, 3 또는 4개의 아미노산 치환을 포함하는 그의 변이체; 및 (f) QQSKEVPWTFGG (서열:22)를 포함하는 경쇄 CDR3, 또는 1, 2, 3 또는 4개의 아미노산 치환을 포함하는 그의 변이체를 포함한다. 특정 실시양태에서, 아미노산 치환은 보존적 치환이다.

[0104] 특정 실시양태에서, 본 발명은 VEGF에 특이적으로 결합하는 VEGF-결합제 (예를 들어, 항체)를 제공하며, 여기서 VEGF-결합제는 서열:11과 적어도 약 80% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역, 및 서열:12와 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 특정 실시양태에서, VEGF-결합제는 서열:11과 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 97%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역을 포함한다. 특정 실시양태에서, VEGF-결합제는 서열:12와 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 97%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 특정 실시양태에서, VEGF-결합제는 서열:11과 적어도 약 95% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역, 및 서열:12와 적어도 약 95% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 특정 실시양태에서, VEGF-결합제는 서열:11을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및 서열:12를 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 특정 실시양태에서, VEGF-결합제는 서열:11로 필수적으로 이루어진 중쇄 가변 영역, 및 서열:12로 필수적으로 이루어진 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, VEGF-결합제는 서열:49를 포함하는 중쇄, 및 서열:8을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, VEGF-결합 항체 또는 기타 작용제는 서열:7을 포함하는 중쇄, 및 서열:8을 포함하는 경쇄를 포함한다.

[0105] 일부 실시양태에서, VEGF-결합제는 VEGF에 약 10 nM 이하의 K_D 로 결합한다. 일부 실시양태에서, VEGF-결합제는 VEGF에 약 1 nM 이하의 K_D 로 결합한다. 일부 실시양태에서, VEGF-결합제는 VEGF에 약 0.1 nM 이하의 K_D 로 결합한다. 일부 실시양태에서, VEGF-결합제는 VEGF에 약 0.01 nM 이하의 K_D 로 결합한다. 일부 실시양태에서, VEGF-결합제 중 적어도 하나의 CDR 내의 적어도 하나의 아미노산 잔기가 상이한 아미노산으로 치환되어, VEGF에 대한 VEGF-결합제의 친화도가 변경되도록 한다. 일부 실시양태에서, VEGF-결합제의 친화도는 증가된다. 일부 실시양태에서, VEGF-결합제의 친화도는 감소된다. 일부 실시양태에서, VEGF-결합제는 인간 VEGF에 결합한다. 일부 실시양태에서, VEGF-결합제는 인간 VEGF 및 마우스 VEGF에 결합한다.

[0106] 특정 실시양태에서, VEGF-결합제는 219R45 항체의 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함한다. 특정 실시양태에서, VEGF-결합제는 219R45 항체의 중쇄 및 경쇄를 포함한다 (리더(leader) 서열과 함께 또는 리더 서열 없이). 특정 실시양태에서, VEGF-결합제는 219R45 항체이다.

[0107] 특정 실시양태에서, VEGF-결합제는 항체 219R45를 포함하거나, 항체 219R45로 필수적으로 이루어져 있거나, 또는 항체 219R45로 이루어져 있다.

[0108] 특정 실시양태에서, VEGF-결합제 (예를 들어, 항체)는 VEGF 상에서 본 발명의 항체와 동일한 에피토프에, 또는 본질적으로 동일한 에피토프에 결합한다. 또 다른 실시양태에서, VEGF-결합제는 본 발명의 항체에 의해 결합되는 VEGF 상의 에피토프와 중첩되는 VEGF 상의 에피토프에 결합하는 항체이다. 특정 실시양태에서, VEGF-결합제 (예를 들어, 항체)는 VEGF 상에서 항체 219R45와 동일한 에피토프에, 또는 본질적으로 동일한 에피토프에 결합한다. 또 다른 실시양태에서, VEGF-결합제는 항체 219R45에 의해 결합되는 VEGF 상의 에피토프와 중첩되는 VEGF 상의 에피토프에 결합하는 항체이다.

[0109] 일부 실시양태에서, VEGF-결합제는 하나 이상의 VEGF 수용체에 대한 VEGF의 결합을 억제한다. 특정 실시양태에서, VEGF-결합제는 VEGFR-1 또는 VEGFR-2에 대한 인간 VEGF의 결합을 억제한다. 일부 실시양태에서, VEGF-결합제는 VEGF에 특이적으로 결합하여 혈관신생을 조절한다. 일부 실시양태에서, VEGF-결합제는 VEGF에 특이적으로 결합하여 혈관신생을 억제한다. 일부 실시양태에서, VEGF-결합제는 VEGF에 특이적으로 결합하여 종양 성장을 억제한다.

[0110] 특정 실시양태에서, 본 발명은 인간 DLL4에 특이적으로 결합하는 DLL4-결합제 (예를 들어, 항체)를 제공하며, 여기서 DLL4-결합제 (예를 들어, 항체)는 항체 21R79의 1, 2, 3, 4, 5, 및/또는 6개의 CDR을 포함한다 (표 2 참조). 일부 실시양태에서, DLL4-결합제는 21R79의 1개 이상의 CDR, 21R79의 2개 이상의 CDR, 21R79의 3개 이상의 CDR, 21R79의 4개 이상의 CDR, 21R79의 5개 이상의 CDR, 또는 21R79의 모든 6개의 CDR을 포함한다. 특정

실시양태에서, 본 발명은 인간 DLL4에 특이적으로 결합하는 DLL4-결합체 (예를 들어, 항체)를 제공하며, 여기서 DLL4-결합체 (예를 들어, 항체)는 항체 21R75의 1, 2, 3, 4, 5, 및/또는 6개의 CDR을 포함한다 (표 2 참조). 일부 실시양태에서, DLL4-결합체는 21R75의 1개 이상의 CDR, 21R75의 2개 이상의 CDR, 21R75의 3개 이상의 CDR, 21R75의 4개 이상의 CDR, 21R75의 5개 이상의 CDR, 또는 21R75의 모든 6개의 CDR을 포함한다. 특정 실시양태에서, 본 발명은 인간 DLL4에 특이적으로 결합하는 DLL4-결합체 (예를 들어, 항체)를 제공하며, 여기서 DLL4-결합체 (예를 들어, 항체)는 항체 21R83의 1, 2, 3, 4, 5, 및/또는 6개의 CDR을 포함한다 (표 2 참조). 일부 실시양태에서, DLL4-결합체는 21R83의 1개 이상의 CDR, 21R83의 2개 이상의 CDR, 21R83의 3개 이상의 CDR, 21R83의 4개 이상의 CDR, 21R83의 5개 이상의 CDR, 또는 21R83의 모든 6개의 CDR을 포함한다. 일부 실시양태에서, DLL4-결합체는 인간 DLL4 및 마우스 DLL4에 결합한다.

표 2

	21R79	21R75	21R83
HC CDR1	TAYYIH (서열:13)	TAYYIH (서열:13)	TAYYIH (서열:13)
HC CDR2	YIANYNRATNYNQKFKG (서열:14)	YIAGYKDATNYNQKFKG (서열: 59)	YISNYNRATNYNQKFKG (서열: 65)
HC CDR3	RDYDYDVGMDY (서열: 16)	RDYDYDVGMDY (서열:16)	RDYDYDVGMDY (서열:16)
LC CDR1	RASESVDNYGISFMK (서열: 20)	RASESVDNYGISFMK (서열:20)	RASESVDNYGISFMK (서열: 20)
LC CDR2	AASNQGS (서열:21)	AASNQGS (서열:21)	AASNQGS (서열:21)
LC CDR3	QQSKEVPWTFGG (서열:22)	QQSKEVPWTFGG (서열:22)	QQSKEVPWTFGG (서열: 22)

[0111]

특정 실시양태에서, DLL4-결합 항체의 중쇄 CDR1은 AYYIH (서열:79)를 포함하는 최소 HC CDR1이다.

[0112]

[0113]

일부 실시양태에서, 결합체는, 인간 DLL4에 결합하며 TAYYIH (서열:13) 또는 AYYIH (서열:79)를 포함하는 중쇄 CDR1, YIX₁X₂YX₃X₄ATNYNQKFKG (서열:80) (여기서 X₁은 세린 또는 알라닌이고, X₂는 세린, 아스파라긴 또는 글리신 이고, X₃은 아스파라긴 또는 리신이며, X₄는 글리신, 아르기닌 또는 아스파르트산임)을 포함하는 중쇄 CDR2 및 RDYDYDVGMDY (서열:16)을 포함하는 중쇄 CDR3; 및 RASESVDNYGISFMK (서열:20)을 포함하는 경쇄 CDR1, AASNQGS (서열:21)을 포함하는 경쇄 CDR2 및 QQSKEVPWTFGG (서열:22)를 포함하는 경쇄 CDR3을 포함하는 항체이다.

[0114]

특정 실시양태에서, 본 발명은 인간 DLL4에 특이적으로 결합하는 DLL4-결합체 (예를 들어, 항체)를 제공하고, 여기서 DLL4-결합체는 TAYYIH (서열:13)을 포함하는 중쇄 CDR1, YIANYNRATNYNQKFKG (서열:14)를 포함하는 중쇄 CDR2 및 RDYDYDVGMDY (서열:16)을 포함하는 중쇄 CDR3을 포함한다. 일부 실시양태에서, DLL4-결합체는 RASESVDNYGISFMK (서열:20)을 포함하는 경쇄 CDR1, AASNQGS (서열:21)을 포함하는 경쇄 CDR2 및 QQSKEVPWTFGG (서열:22)를 포함하는 경쇄 CDR3을 추가로 포함한다. 특정 실시양태에서, DLL4-결합체는 하기를 포함한다: (a) TAYYIH (서열:13)을 포함하는 중쇄 CDR1, YIANYNRATNYNQKFKG (서열:14)를 포함하는 중쇄 CDR2 및 RDYDYDVGMDY (서열:16)을 포함하는 중쇄 CDR3, 및 (b) RASESVDNYGISFMK (서열:20)을 포함하는 경쇄 CDR1, AASNQGS (서열:21)을 포함하는 경쇄 CDR2 및 QQSKEVPWTFGG (서열:22)를 포함하는 경쇄 CDR3.

[0115]

특정 실시양태에서, 본 발명은 인간 DLL4에 특이적으로 결합하는 DLL4-결합체 (예를 들어, 항체)를 제공하고, 여기서 DLL4-결합체는 하기를 포함한다: (a) TAYYIH (서열:13)을 포함하는 중쇄 CDR1, 또는 1, 2, 3 또는 4개의 아미노산 치환을 포함하는 그의 변이체; (b) YIANYNRATNYNQKFKG (서열:14)를 포함하는 중쇄 CDR2, 또는 1, 2, 3 또는 4개의 아미노산 치환을 포함하는 그의 변이체; (c) RDYDYDVGMDY (서열:16)을 포함하는 중쇄 CDR3, 또는 1, 2, 3 또는 4개의 아미노산 치환을 포함하는 그의 변이체; (d) RASESVDNYGISFMK (서열:20)을 포함하는 경쇄 CDR1, 또는 1, 2, 3 또는 4개의 아미노산 치환을 포함하는 그의 변이체; (e) AASNQGS (서열:21)을 포함하는 경쇄 CDR2, 또는 1, 2, 3 또는 4개의 아미노산 치환을 포함하는 그의 변이체; 및 (f) QQSKEVPWTFGG (서열:22)를 포함하는 경쇄 CDR3, 또는 1, 2, 3 또는 4개의 아미노산 치환을 포함하는 그의 변이체. 특정 실시양태에서, 아미노산 치환은 보존적 치환이다.

[0116] 특정 실시양태에서, 본 발명은 DLL4에 특이적으로 결합하는 DLL4-결합제 (예를 들어, 항체)를 제공하고, 여기서 DLL4-결합제는 서열:10과 적어도 약 80% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역, 및 서열:12와 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 특정 실시양태에서, DLL4-결합제는 서열:10과 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 97%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역을 포함한다. 특정 실시양태에서, DLL4-결합제는 서열:12와 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 97%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 특정 실시양태에서, DLL4-결합제는 서열:10과 적어도 약 95% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역 및 서열:12와 적어도 약 95% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 특정 실시양태에서, DLL4-결합제는 서열:10을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및 서열:12를 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 특정 실시양태에서, DLL4-결합제는 서열:10으로 필수적으로 이루어진 중쇄 가변 영역, 및 서열:12로 필수적으로 이루어진 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, DLL4-결합제는 서열:48을 포함하는 중쇄 및 서열:8을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, DLL4-결합 항체 또는 기타 작용제는 서열:6을 포함하는 중쇄, 및 서열:8을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 항체는 이중특이적 항체이다.

[0117] 특정 실시양태에서, 본 발명은 인간 DLL4에 특이적으로 결합하는 DLL4-결합제 (예를 들어, 항체)를 제공하고, 여기서 DLL4-결합제는 TAYYIH (서열:13)을 포함하는 중쇄 CDR1, YIAGYKDATNYNQKFKG (서열:59)를 포함하는 중쇄 CDR2 및 RDYDYDVGM DY (서열:16)을 포함하는 중쇄 CDR3을 포함한다. 일부 실시양태에서, DLL4-결합제는 RASESVDNYGISFMK (서열:20)을 포함하는 경쇄 CDR1, AASNQGS (서열:21)을 포함하는 경쇄 CDR2 및 QQSKEVPWTFGG (서열:22)를 포함하는 경쇄 CDR3을 추가로 포함한다. 특정 실시양태에서, DLL4-결합제는 하기를 포함한다: (a) TAYYIH (서열:13)을 포함하는 중쇄 CDR1, YIAGYKDATNYNQKFKG (서열:59)를 포함하는 중쇄 CDR2 및 RDYDYDVGM DY (서열:16)을 포함하는 중쇄 CDR3, 및 (b) RASESVDNYGISFMK (서열:20)을 포함하는 경쇄 CDR1, AASNQGS (서열:21)을 포함하는 경쇄 CDR2 및 QQSKEVPWTFGG (서열:22)를 포함하는 경쇄 CDR3.

[0118] 특정 실시양태에서, 본 발명은 인간 DLL4에 특이적으로 결합하는 DLL4-결합제 (예를 들어, 항체)를 제공하고, 여기서 DLL4-결합제는 하기를 포함한다: (a) TAYYIH (서열:13)을 포함하는 중쇄 CDR1, 또는 1, 2, 3 또는 4개의 아미노산 치환을 포함하는 그의 변이체; (b) YIAGYKDATNYNQKFKG (서열:59)를 포함하는 중쇄 CDR2, 또는 1, 2, 3 또는 4개의 아미노산 치환을 포함하는 그의 변이체; (c) RDYDYDVGM DY (서열:16)을 포함하는 중쇄 CDR3, 또는 1, 2, 3 또는 4개의 아미노산 치환을 포함하는 그의 변이체; (d) RASESVDNYGISFMK (서열:20)을 포함하는 경쇄 CDR1, 또는 1, 2, 3 또는 4개의 아미노산 치환을 포함하는 그의 변이체; (e) AASNQGS (서열:21)을 포함하는 경쇄 CDR2, 또는 1, 2, 3 또는 4개의 아미노산 치환을 포함하는 그의 변이체; 및 (f) QQSKEVPWTFGG (서열:22)를 포함하는 경쇄 CDR3, 또는 1, 2, 3 또는 4개의 아미노산 치환을 포함하는 그의 변이체. 특정 실시양태에서, 아미노산 치환은 보존적 치환이다.

[0119] 특정 실시양태에서, 본 발명은 DLL4에 특이적으로 결합하는 DLL4-결합제 (예를 들어, 항체)를 제공하고, 여기서 DLL4-결합제는 서열:58과 적어도 약 80% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역, 및 서열:12와 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 특정 실시양태에서, DLL4-결합제는 서열:58과 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 97%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역을 포함한다. 특정 실시양태에서, DLL4-결합제는 서열:12와 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 97%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 특정 실시양태에서, DLL4-결합제는 서열:58과 적어도 약 95% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역, 및 서열:12와 적어도 약 95% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 특정 실시양태에서, DLL4-결합제는 서열:58을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및 서열:12를 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 특정 실시양태에서, DLL4-결합제는 서열:58로 필수적으로 이루어진 중쇄 가변 영역, 및 서열:12로 필수적으로 이루어진 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, DLL4-결합제는 서열:56을 포함하는 중쇄, 및 서열:8을 포함하는 경쇄를 포함한다.

[0120] 특정 실시양태에서, 본 발명은 인간 DLL4에 특이적으로 결합하는 DLL4-결합제 (예를 들어, 항체)를 제공하고, 여기서 DLL4-결합제는 TAYYIH (서열:13)을 포함하는 중쇄 CDR1, YISNYNRATNYNQKFKG (서열:65)를 포함하는 중쇄 CDR2 및 RDYDYDVGM DY (서열:16)을 포함하는 중쇄 CDR3을 포함한다. 일부 실시양태에서, DLL4-결합제는 RASESVDNYGISFMK (서열:20)을 포함하는 경쇄 CDR1, AASNQGS (서열:21)을 포함하는 경쇄 CDR2 및 QQSKEVPWTFGG (서열:22)를 포함하는 경쇄 CDR3을 추가로 포함한다. 특정 실시양태에서, DLL4-결합제는 하기를 포함한다: (a) TAYYIH (서열:13)을 포함하는 중쇄 CDR1, YISNYNRATNYNQKFKG (서열:65)를 포함하는 중쇄 CDR2 및 RDYDYDVGM DY (서열:16)을 포함하는 중쇄 CDR3, 및 (b) RASESVDNYGISFMK (서열:20)을 포함하는 경쇄 CDR1, AASNQGS (서열:21)을 포함하는 경쇄 CDR2 및 QQSKEVPWTFGG (서열:22)를 포함하는 경쇄 CDR3.

- [0121] 특정 실시양태에서, 본 발명은 인간 DLL4에 특이적으로 결합하는 DLL4-결합제 (예를 들어, 항체)를 제공하고, 여기서 DLL4-결합제는 하기를 포함한다: (a) TAYYIH (서열:13)을 포함하는 중쇄 CDR1, 또는 1, 2, 3 또는 4개의 아미노산 치환을 포함하는 그의 변이체; (b) YISNYNRRATNYNQKFKG (서열:65)를 포함하는 중쇄 CDR2, 또는 1, 2, 3 또는 4개의 아미노산 치환을 포함하는 그의 변이체; (c) RDYDYDVGMDY (서열:16)을 포함하는 중쇄 CDR3, 또는 1, 2, 3 또는 4개의 아미노산 치환을 포함하는 그의 변이체; (d) RASESVDNYGISFMK (서열:20)을 포함하는 경쇄 CDR1, 또는 1, 2, 3 또는 4개의 아미노산 치환을 포함하는 그의 변이체; (e) AASNQGS (서열:21)을 포함하는 경쇄 CDR2, 또는 1, 2, 3 또는 4개의 아미노산 치환을 포함하는 그의 변이체; 및 (f) QQSKEVPWTFGG (서열:22)를 포함하는 경쇄 CDR3, 또는 1, 2, 3 또는 4개의 아미노산 치환을 포함하는 그의 변이체. 특정 실시양태에서, 아미노산 치환은 보존적 치환이다.
- [0122] 특정 실시양태에서, 본 발명은 DLL4에 특이적으로 결합하는 DLL4-결합제 (예를 들어, 항체)를 제공하고, 여기서 DLL4-결합제는 서열:64와 적어도 약 80% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역, 및 서열:12와 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 특정 실시양태에서, DLL4-결합제는 서열:64와 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 97%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역을 포함한다. 특정 실시양태에서, DLL4-결합제는 서열:12와 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 97%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 특정 실시양태에서, DLL4-결합제는 서열:64와 적어도 약 95% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역 및 서열:12와 적어도 약 95% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 특정 실시양태에서, DLL4-결합제는 서열:64를 포함하는 중쇄 가변 영역, 및 서열:12를 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 특정 실시양태에서, DLL4-결합제는 서열:64로 필수적으로 이루어진 중쇄 가변 영역, 및 서열:12로 필수적으로 이루어진 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, DLL4-결합제는 서열:62를 포함하는 중쇄, 및 서열:8을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 결합제는 이중특이적 항체이다.
- [0123] 일부 실시양태에서, DLL4-결합제는 서열:5를 포함하는 중쇄, 및 서열:8을 포함하는 경쇄를 포함하는 항체이다. 일부 실시양태에서, 항체는 이중특이적 항체이다.
- [0124] 일부 실시양태에서, DLL4-결합제는 25nM 이하의 K_D 로 DLL4에 결합한다. 일부 실시양태에서, DLL4-결합제는 10nM 이하의 K_D 로 DLL4에 결합한다. 일부 실시양태에서, DLL4-결합제는 약 1nM 이하의 K_D 로 DLL4에 결합한다. 일부 실시양태에서, DLL4-결합제는 약 0.1nM 이하의 K_D 로 DLL4에 결합한다. 일부 실시양태에서, DLL4-결합제는 약 0.01nM 이하의 K_D 로 DLL4에 결합한다. 일부 실시양태에서, DLL4-결합제의 하나 이상의 CDR 내의 하나 이상의 아미노산 잔기는 DLL4에 대한 DLL4-결합제의 친화도가 변경되도록 하는 상이한 아미노산으로 치환된다. 일부 실시양태에서, DLL4-결합제의 친화도는 증가한다. 일부 실시양태에서, DLL4-결합제의 친화도는 감소한다.
- [0125] 특정 실시양태에서, DLL4-결합제는 21R79 항체의 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함한다. 특정 실시양태에서, DLL4-결합제는 21R79 항체 (리더 서열을 갖거나 갖지 않음)의 중쇄 및 경쇄를 포함한다. 특정 실시양태에서, DLL4-결합제는 21R79 항체이다.
- [0126] 특정 실시양태에서, DLL4-결합제는 항체 21R79로 이루어지거나, 본질적으로 이 항체로 이루어지거나 또는 이 항체를 포함한다.
- [0127] 특정 실시양태에서, DLL4-결합제는 21R75 항체의 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함한다. 특정 실시양태에서, DLL4-결합제는 21R75 항체 (리더 서열을 갖거나 갖지 않음)의 중쇄 및 경쇄를 포함한다. 특정 실시양태에서, DLL4-결합제는 21R75 항체이다.
- [0128] 특정 실시양태에서, DLL4-결합제는 항체 21R75로 이루어지거나, 본질적으로 이 항체로 이루어지거나 또는 이 항체를 포함한다.
- [0129] 특정 실시양태에서, DLL4-결합제는 21R83 항체의 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함한다. 특정 실시양태에서, DLL4-결합제는 21R83 항체 (리더 서열을 갖거나 갖지 않음)의 중쇄 및 경쇄를 포함한다. 특정 실시양태에서, DLL4-결합제는 21R83 항체이다.
- [0130] 특정 실시양태에서, DLL4-결합제는 항체 21R83으로 이루어지거나, 본질적으로 이 항체로 이루어지거나 또는 이 항체를 포함한다.
- [0131] 일부 실시양태에서, DLL4-결합제는 인간 DLL4 (서열:24의 아미노산 1-191)의 N-말단 단편에 결합한다. 일부 실

시양태에서, DLL4-결합제는 서열:25의 아미노산 40-47을 포함하는 에피토프에 결합한다. 일부 실시양태에서, DLL4-결합제는 서열:25의 아미노산 113-120을 포함하는 에피토프에 결합한다. 일부 실시양태에서, DLL4-결합제는 서열:25의 아미노산 40-47 및 서열:25의 아미노산 113-120을 포함하는 에피토프에 결합한다.

[0132] 특정 실시양태에서, DLL4-결합제 (예를 들어, 항체)는 DLL4 상에 있는 본 발명의 항체와 동일한 에피토프, 또는 본질적으로 동일한 에피토프에 결합한다. 또 다른 실시양태에서, DLL4-결합제는 본 발명의 항체에 의해 결합된 DLL4 상의 에피토프와 중첩되는 DLL4 상의 에피토프에 결합하는 항체이다. 특정 실시양태에서, DLL4-결합제 (예를 들어, 항체)는 DLL4 상에 있는 항체 21R79와 동일한 에피토프, 또는 본질적으로 동일한 에피토프에 결합한다. 또 다른 실시양태에서, DLL4-결합제는 항체 21R79에 의해 결합된 DLL4 상의 에피토프와 중첩되는 DLL4 상의 에피토프에 결합하는 항체이다. 특정 실시양태에서, DLL4-결합제 (예를 들어, 항체)는 DLL4 상에 있는 항체 21R75와 동일한 에피토프, 또는 본질적으로 동일한 에피토프에 결합한다. 또 다른 실시양태에서, DLL4-결합제는 항체 21R75에 의해 결합된 DLL4 상의 에피토프와 중첩되는 DLL4 상의 에피토프에 결합하는 항체이다. 특정 실시양태에서, DLL4-결합제 (예를 들어, 항체)는 DLL4 상에 있는 항체 21R83과 동일한 에피토프, 또는 본질적으로 동일한 에피토프에 결합한다. 또 다른 실시양태에서, DLL4-결합제는 항체 21R83에 의해 결합된 DLL4 상의 에피토프와 중첩되는 DLL4 상의 에피토프에 결합하는 항체이다.

[0133] 일부 실시양태에서, DLL4-결합제는 하나 이상의 노치 수용체에 대한 DLL4의 결합을 억제한다. 특정 실시양태에서, 노치 수용체는 노치1, 노치2, 노치3, 또는 노치4이다. 일부 실시양태에서, DLL4-결합제는 DLL4에 특이적으로 결합하여 DLL4 활성을 억제한다. 일부 실시양태에서, DLL4-결합제는 DLL4에 특이적으로 결합하여 노치 신호 전달을 억제한다. 일부 실시양태에서, DLL4-결합제는 DLL4에 특이적으로 결합하여 혈관신생을 조절한다. 일부 실시양태에서, DLL4-결합제는 DLL4에 특이적으로 결합하여 종양 성장을 억제한다. 일부 실시양태에서, DLL4-결합제는 DLL4에 특이적으로 결합하여 종양발생성을 억제한다. 일부 실시양태에서, DLL4-결합제는 DLL4에 특이적으로 결합하여 종양 내의 CSC의 수 또는 빈도를 감소시킨다.

[0134] 특정 실시양태에서, 본 발명은 이중특이적 항체인 VEGF/DLL4-결합제를 제공한다. 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4 결합제는 인간 VEGF에 특이적으로 결합하는 제1 항원-결합 부위를 포함하는 이중특이적 항체이다. 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4 결합제는 인간 VEGF에 특이적으로 결합하는 제1 항원-결합 부위 및 종양-관련 표적에 결합하는 제2 항원-결합 부위를 포함하는 이중특이적 항체이다. 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합제는 하기를 포함하는 이중특이적 항체이다: 인간 VEGF에 특이적으로 결합하며, NYWMH (서열:17)을 포함하는 중쇄 CDR1, DINPSNGRTSYKEKFKR (서열:18)을 포함하는 중쇄 CDR2 및 HYDDKYPLMDY (서열:19)를 포함하는 중쇄 CDR3을 포함하는 제1 항원-결합 부위. 일부 실시양태에서, 이중특이적 항체는 하기를 추가로 포함한다: RASESVDNYGISFMK (서열:20)을 포함하는 경쇄 CDR1, AASNQGS (서열:21)을 포함하는 경쇄 CDR2 및 QQSKEVPWTFGG (서열:22)를 포함하는 경쇄 CDR3. 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합제는 하기를 포함하는 이중특이적 항체이다: 인간 VEGF에 특이적으로 결합하고, (a) NYWMH (서열:17)을 포함하는 중쇄 CDR1, DINPSNGRTSYKEKFKR (서열:18)을 포함하는 중쇄 CDR2 및 HYDDKYPLMDY (서열:19)를 포함하는 중쇄 CDR3, 및 (b) RASESVDNYGISFMK (서열:20)을 포함하는 경쇄 CDR1, AASNQGS (서열:21)을 포함하는 경쇄 CDR2 및 QQSKEVPWTFGG (서열:22)를 포함하는 경쇄 CDR3을 포함하는 제1 항원-결합 부위.

[0135] 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4 결합제는 서열:11과 적어도 약 80% 서열 동일성을 갖는 제1 중쇄 가변 영역을 포함하는 이중특이적 항체이다. 일부 실시양태에서, 이중특이적 항체는 서열:12와 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 영역을 추가로 포함한다. 특정 실시양태에서, 이중특이적 VEGF/DLL4-결합제는 서열:11과 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 97%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 제1 중쇄 가변 영역, 및 서열:12와 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 97%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함한다.

[0136] 특정 실시양태에서, 본 발명은 이중특이적 항체인 VEGF/DLL4-결합제를 제공한다. 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4 결합제는 인간 DLL4에 특이적으로 결합하는 제1 항원-결합 부위를 포함하는 이중특이적 항체이다. 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4 결합제는 인간 DLL4에 특이적으로 결합하는 제1 항원-결합 부위 및 종양-관련 표적에 결합하는 제2 항원-결합 부위를 포함하는 이중특이적 항체이다. 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합제는 하기를 포함하는 이중특이적 항체이다: 인간 DLL4에 특이적으로 결합하고, TAYYIH (서열:13) 또는 AYYIH (서열:79)를 포함하는 중쇄 CDR1, YIX₁X₂YX₃X₄ATNYNQKFKG (서열:80) (여기서 X₁은 세린 또는 알라닌이고, X₂는 세린, 아스파라긴 또는 글리신이고, X₃은 아스파라긴 또는 리신이며, X₄는 글리신, 아르기닌 또는 아스파르트산임)을 포함하는 중쇄 CDR2 및 RDYDYDVGMDY (서열:16)을 포함하는 중쇄 CDR3; 및 RASESVDNYGISFMK (서열:20)을 포함하

는 경쇄 CDR1, AASNQGS (서열:21)을 포함하는 경쇄 CDR2 및 QQSKEVPWTFGG (서열:22)를 포함하는 경쇄 CDR3을 포함하는 제1 항원-결합 부위. 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합체는 하기를 포함하는 이중특이적 항체이다: 인간 DLL4에 특이적으로 결합하고, TAYYIH (서열:13)을 포함하는 중쇄 CDR1, YIANYNRATNYNQKFKG (서열:14), YISSYNGATNYNQKFKG (서열:15), YIAGYKDATNYNQKFKG (서열:59), 또는 YISNYNRATNYNQKFKG (서열:65)를 포함하는 중쇄 CDR2 및 RDYDYDVGM DY (서열:16)을 포함하는 중쇄 CDR3을 포함하는 제1 항원-결합 부위. 일부 실시양태에서, 이중특이적 항체는 TAYYIH (서열:13)을 포함하는 중쇄 CDR1, YIANYNRATNYNQKFKG (서열:14)를 포함하는 중쇄 CDR2 및 RDYDYDVGM DY (서열:16)을 포함하는 중쇄 CDR3을 포함하는 제1 항원-결합 부위를 포함한다. 일부 실시양태에서, 이중특이적 항체는 TAYYIH (서열:13)을 포함하는 중쇄 CDR1, YISSYNGATNYNQKFKG (서열:15)를 포함하는 중쇄 CDR2 및 RDYDYDVGM DY (서열:16)을 포함하는 중쇄 CDR3을 포함하는 제1 항원-결합 부위를 포함한다. 일부 실시양태에서, 이중특이적 항체는 TAYYIH (서열:13)을 포함하는 중쇄 CDR1, YIAGYKDATNYNQKFKG (서열:59)를 포함하는 중쇄 CDR2 및 RDYDYDVGM DY (서열:16)을 포함하는 중쇄 CDR3을 포함하는 제1 항원-결합 부위를 포함한다. 일부 실시양태에서, 이중특이적 항체는 추가로 하기를 포함한다: RASESVDNYGISFMK (서열:20)을 포함하는 경쇄 CDR1, AASNQGS (서열:21)을 포함하는 경쇄 CDR2 및 QQSKEVPWTFGG (서열:22)를 포함하는 경쇄 CDR3. 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합체는 하기를 포함하는 이중특이적 항체이다: 인간 DLL4에 특이적으로 결합하고, (a) TAYYIH (서열:13)을 포함하는 중쇄 CDR1, YIANYNRATNYNQKFKG (서열:14), YISSYNGATNYNQKFKG (서열:15), YIAGYKDATNYNQKFKG (서열:59), 또는 YISNYNRATNYNQKFKG (서열:65)를 포함하는 중쇄 CDR2 및 RDYDYDVGM DY (서열:16)을 포함하는 중쇄 CDR3, 및 (b) RASESVDNYGISFMK (서열:20)을 포함하는 경쇄 CDR1, AASNQGS (서열:21)을 포함하는 경쇄 CDR2 및 QQSKEVPWTFGG (서열:22)를 포함하는 경쇄 CDR3을 포함하는 제1 항원-결합 부위.

[0137] 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4 결합체는 서열:9, 서열:10, 서열:58, 또는 서열:64와 적어도 약 80% 서열 동일성을 갖는 제1 중쇄 가변 영역을 포함하는 이중특이적 항체이다. 일부 실시양태에서, 이중특이적 항체는 서열:12와 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 영역을 추가로 포함한다. 특정 실시양태에서, 이중특이적 VEGF/DLL4-결합체는 서열:9, 서열:10, 서열:58, 또는 서열:64와 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 97%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 제1 중쇄 가변 영역; 및/또는 서열:12와 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 97%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함한다.

[0138] 특정 실시양태에서, 본 발명은 인간 VEGF 및 인간 DLL4에 특이적으로 결합하는 VEGF/DLL4-결합체 (예를 들어, 이중특이적 항체)를 제공한다. 일부 실시양태에서, 이중특이적 항체는 하기를 포함한다: a) 인간 VEGF에 특이적으로 결합하고, NYWMH (서열:17)을 포함하는 중쇄 CDR1, DINPSNGRTSYKEKFKR (서열:18)을 포함하는 중쇄 CDR2 및 HYDDKYPLMDY (서열:19)를 포함하는 중쇄 CDR3을 포함하는 제1 항원-결합 부위, 및 b) 인간 DLL4에 특이적으로 결합하고, TAYYIH (서열:13) 또는 AYYIH (서열:79)를 포함하는 중쇄 CDR1, YIX₁X₂YX₃X₄ATNYNQKFKG (서열:80) (여기서, X₁은 세린 또는 알라닌이고, X₂는 세린, 아스파라긴 또는 글리신이고, X₃은 아스파라긴 또는 리신이며, X₄는 글리신, 아르기닌 또는 아스파르트산임)을 포함하는 중쇄 CDR2 및 RDYDYDVGM DY (서열:16)을 포함하는 중쇄 CDR3; 및 RASESVDNYGISFMK (서열:20)을 포함하는 경쇄 CDR1, AASNQGS (서열:21)을 포함하는 경쇄 CDR2 및 QQSKEVPWTFGG (서열:22)를 포함하는 경쇄 CDR3을 포함하는 제2 항원-결합 부위. 일부 실시양태에서, 이중특이적 항체는 인간 VEGF에 특이적으로 결합하는 제1 항원-결합 부위, 및 인간 DLL4에 특이적으로 결합하는 제2 항원-결합 부위를 포함하고, 여기서 제1 항원-결합 부위는 NYWMH (서열:17)을 포함하는 중쇄 CDR1, DINPSNGRTSYKEKFKR (서열:18)을 포함하는 중쇄 CDR2 및 HYDDKYPLMDY (서열:19)를 포함하는 중쇄 CDR3을 포함하고, 제2 항원-결합 부위는 TAYYIH (서열:13)을 포함하는 중쇄 CDR1, YIANYNRATNYNQKFKG (서열:14), YISSYNGATNYNQKFKG (서열:15), YIAGYKDATNYNQKFKG (서열:59), 또는 YISNYNRATNYNQKFKG (서열:65)를 포함하는 중쇄 CDR2 및 RDYDYDVGM DY (서열:16)을 포함하는 중쇄 CDR3을 포함하고; 제1 및 제2 항원-결합 부위 둘 모두 RASESVDNYGISFMK (서열:20)을 포함하는 경쇄 CDR1, AASNQGS (서열:21)을 포함하는 경쇄 CDR2 및 QQSKEVPWTFGG (서열:22)를 포함하는 경쇄 CDR3을 포함한다.

[0139] 일부 실시양태에서, 이중특이적 항체는 인간 VEGF에 특이적으로 결합하는 제1 항원-결합 부위, 및 인간 DLL4에 특이적으로 결합하는 제2 항원-결합 부위를 포함하고, 여기서 제1 항원-결합 부위는 NYWMH (서열:17)을 포함하는 중쇄 CDR1, DINPSNGRTSYKEKFKR (서열:18)을 포함하는 중쇄 CDR2 및 HYDDKYPLMDY (서열:19)를 포함하는 중쇄 CDR3을 포함하고, 제2 항원-결합 부위는 TAYYIH (서열:13)을 포함하는 중쇄 CDR1, YIANYNRATNYNQKFKG

(서열:14)를 포함하는 중쇄 CDR2 및 RDYDYDVGM DY (서열:16)을 포함하는 중쇄 CDR3을 포함하고; 제1 및 제2 항원-결합 부위 둘 모두 RASESVDNYGISFMK (서열:20)을 포함하는 경쇄 CDR1, AASNQGS (서열:21)을 포함하는 경쇄 CDR2 및 QQSKEVPWTFGG (서열:22)를 포함하는 경쇄 CDR3을 포함한다. 일부 실시양태에서, 이중특이적 항체는 219R45-MB-21R79이다.

[0140] 일부 실시양태에서, 이중특이적 항체는 인간 VEGF에 특이적으로 결합하는 제1 항원-결합 부위, 및 인간 DLL4에 특이적으로 결합하는 제2 항원-결합 부위를 포함하고, 여기서 제1 항원-결합 부위는 NYWMH (서열:17)을 포함하는 중쇄 CDR1, DINPSNGRTSYKEKFKR (서열:18)을 포함하는 중쇄 CDR2 및 HYDDKYYPLMDY (서열:19)를 포함하는 중쇄 CDR3을 포함하고, 제2 항원-결합 부위는 TAYYIH (서열:13)을 포함하는 중쇄 CDR1, YISSYNGATNYNQKFKG (서열:15)를 포함하는 중쇄 CDR2 및 RDYDYDVGM DY (서열:16)을 포함하는 중쇄 CDR3을 포함하고; 제1 및 제2 항원-결합 부위 둘 모두 RASESVDNYGISFMK (서열:20)을 포함하는 경쇄 CDR1, AASNQGS (서열:21)을 포함하는 경쇄 CDR2 및 QQSKEVPWTFGG (서열:22)를 포함하는 경쇄 CDR3을 포함한다. 일부 실시양태에서, 이중특이적 항체는 219R45-MB-21M18이다.

[0141] 일부 실시양태에서, 이중특이적 항체는 인간 VEGF에 특이적으로 결합하는 제1 항원-결합 부위, 및 인간 DLL4에 특이적으로 결합하는 제2 항원-결합 부위를 포함하며, 여기서 제1 항원-결합 부위는 NYWMH (서열:17)을 포함하는 중쇄 CDR1, DINPSNGRTSYKEKFKR (서열:18)을 포함하는 중쇄 CDR2 및 HYDDKYYPLMDY (서열:19)를 포함하는 중쇄 CDR3을 포함하고, 제2 항원-결합 부위는 TAYYIH (서열:13)을 포함하는 중쇄 CDR1, YIAGYKDATNYNQKFKG (서열:59)를 포함하는 중쇄 CDR2 및 RDYDYDVGM DY (서열:16)을 포함하는 중쇄 CDR3을 포함하고; 제1 항원-결합 부위 및 제2 항원-결합 부위 양자 모두는 RASESVDNYGISFMK (서열:20)을 포함하는 경쇄 CDR1, AASNQGS (서열:21)을 포함하는 경쇄 CDR2 및 QQSKEVPWTFGG (서열:22)를 포함하는 경쇄 CDR3을 포함한다. 일부 실시양태에서, 이중특이적 항체는 219R45-MB-21R75이다.

[0142] 일부 실시양태에서, 이중특이적 항체는 인간 VEGF에 특이적으로 결합하는 제1 항원-결합 부위 및 인간 DLL4에 특이적으로 결합하는 제2 항원-결합 부위를 포함하고, 여기서, 제1 항원-결합 부위는 NYWMH (서열:17)을 포함하는 중쇄 CDR1, DINPSNGRTSYKEKFKR (서열:18)을 포함하는 중쇄 CDR2 및 HYDDKYYPLMDY (서열:19)를 포함하는 중쇄 CDR3을 포함하고, 제2 항원-결합 부위는 TAYYIH (서열:13)을 포함하는 중쇄 CDR1, YISNYNRATNYNQKFKG (서열:65)를 포함하는 중쇄 CDR2 및 RDYDYDVGM DY (서열:16)을 포함하는 중쇄 CDR3을 포함하고, 제1 항원-결합 부위 및 제2 항원-결합 부위 양자 모두는 RASESVDNYGISFMK (서열:20)을 포함하는 경쇄 CDR1, AASNQGS (서열:21)을 포함하는 경쇄 CDR2 및 QQSKEVPWTFGG (서열:22)를 포함하는 경쇄 CDR3을 포함한다. 일부 실시양태에서, 이중특이적 항체는 219R45-MB-21R83이다.

[0143] 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4 결합제 (예를 들어, 이중특이적 항체)는 서열:11과 적어도 약 80% 서열 동일성을 갖는 제1 중쇄 가변 영역, 서열:9, 서열:10, 서열:58 또는 서열:64와 적어도 약 80% 서열 동일성을 갖는 제2 중쇄 가변 영역, 및 서열:12와 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 제1 및 제2 경쇄 가변 영역을 포함한다. 특정 실시양태에서, 이중특이적 VEGF/DLL4-결합제는 서열:11과 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 97% 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 제1 중쇄 가변 영역; 서열:9, 서열:10, 서열:58 또는 서열:64와 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 97% 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 제2 중쇄 가변 영역; 및 서열:12와 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 97% 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 제1 및 제2 경쇄 가변 영역을 포함한다. 특정 실시양태에서, 이중특이적 VEGF/DLL4-결합제는 서열:11과 적어도 약 95% 서열 동일성을 갖는 제1 중쇄 가변 영역, 서열:9와 적어도 약 95% 서열 동일성을 갖는 제2 중쇄 가변 영역, 및 서열:12와 적어도 약 95% 서열 동일성을 갖는 제1 및 제2 경쇄 가변 영역을 포함한다. 특정 실시양태에서, 이중특이적 VEGF/DLL4-결합제는 서열:11과 적어도 약 95% 서열 동일성을 갖는 제1 중쇄 가변 영역, 서열:10과 적어도 약 95% 서열 동일성을 갖는 제2 중쇄 가변 영역, 및 서열:12와 적어도 약 95% 서열 동일성을 갖는 제1 및 제2 경쇄 가변 영역을 포함한다. 특정 실시양태에서, 이중특이적 VEGF/DLL4-결합제는 서열:11과 적어도 약 95% 서열 동일성을 갖는 제1 중쇄 가변 영역, 서열:58과 적어도 약 95% 서열 동일성을 갖는 제2 중쇄 가변 영역, 및 서열:12와 적어도 약 95% 서열 동일성을 갖는 제1 및 제2 경쇄 가변 영역을 포함한다. 특정 실시양태에서, 이중특이적 VEGF/DLL4-결합제는 서열:11을 포함하는 제1 중쇄 가변 영역, 서열:9를 포함하는 제2 중쇄 가변 영역, 및 서열:12를 포함하는 제1 및 제2 경쇄 가변 영역을 포함한다. 특정 실시양태에서, 이중특이적 VEGF/DLL4-결합제는 서열:11을 포함하는 제1 중쇄 가변 영역, 서열:10을 포함하는 제2 중쇄 가변 영역, 및

서열:12를 포함하는 제1 및 제2 경쇄 가변 영역을 포함한다. 특정 실시양태에서, 이중특이적 VEGF/DLL4-결합체는 서열:11을 포함하는 제1 중쇄 가변 영역, 서열:58을 포함하는 제2 중쇄 가변 영역, 및 서열:12를 포함하는 제1 및 제2 경쇄 가변 영역을 포함한다. 특정 실시양태에서, 이중특이적 VEGF/DLL4-결합체는 서열:11을 포함하는 제1 중쇄 가변 영역, 서열:64를 포함하는 제2 중쇄 가변 영역, 및 서열:12를 포함하는 제1 및 제2 경쇄 가변 영역을 포함한다. 특정 실시양태에서, 이중특이적 VEGF/DLL4-결합체는 서열:11로 필수적으로 이루어진 제1 중쇄 가변 영역, 서열:9로 필수적으로 이루어진 제2 중쇄 가변 영역, 및 서열:12로 필수적으로 이루어진 제1 및 제2 경쇄 가변 영역을 포함한다. 특정 실시양태에서, 이중특이적 VEGF/DLL4-결합체는 서열:11로 필수적으로 이루어진 제1 중쇄 가변 영역, 서열:58로 필수적으로 이루어진 제2 중쇄 가변 영역, 및 서열:12로 필수적으로 이루어진 제1 및 제2 경쇄 가변 영역을 포함한다. 특정 실시양태에서, 이중특이적 VEGF/DLL4-결합체는 서열:11로 필수적으로 이루어진 제1 중쇄 가변 영역, 서열:64로 필수적으로 이루어진 제2 중쇄 가변 영역, 및 서열:12로 필수적으로 이루어진 제1 및 제2 경쇄 가변 영역을 포함한다.

[0144] 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합체는 항-VEGF 항체 219R45로부터의 중쇄 가변 영역을 포함하는 이중특이적 항체이다. 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합체는 항-DLL4 항체 21M18로부터의 중쇄 가변 영역을 포함하는 이중특이적 항체이다. 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합체는 항-DLL4 항체 21R79로부터의 중쇄 가변 영역을 포함하는 이중특이적 항체이다. 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합체는 항-DLL4 항체 21R75로부터의 중쇄 가변 영역을 포함하는 이중특이적 항체이다. 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합체는 항-DLL4 항체 21R83으로부터의 중쇄 가변 영역을 포함하는 이중특이적 항체이다. 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합체는 항-VEGF 항체 219R45로부터의 중쇄 가변 영역, 항-DLL4 항체 21R79로부터의 중쇄 가변 영역 및 2개의 동일한 경쇄 가변 영역을 포함하는 이중특이적 항체이다. 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합체는 항-VEGF 항체 219R45로부터의 중쇄 가변 영역, 항-DLL4 항체 21M18로부터의 중쇄 가변 영역 및 2개의 동일한 경쇄 가변 영역을 포함하는 이중특이적 항체이다. 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합체는 항-VEGF 항체 219R45로부터의 중쇄 가변 영역, 항-DLL4 항체 21R75로부터의 중쇄 가변 영역 및 2개의 동일한 경쇄 가변 영역을 포함하는 이중특이적 항체이다. 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합체는 항-VEGF 항체 219R45로부터의 중쇄 가변 영역, 항-DLL4 항체 21R83으로부터의 중쇄 가변 영역 및 2개의 동일한 경쇄 가변 영역을 포함하는 이중특이적 항체이다.

[0145] 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합체는 제1 CH3 도메인 및 제2 CH3 도메인을 포함하고, 이들 각각은 변형되어 이종다량체의 형성을 촉진하는 것인 이중특이적 항체이다. 일부 실시양태에서, 제1 및 제2 CH3 도메인은 스피스-인투-홀즈(knobs-into-holes) 기술을 이용하여 변형된다. 일부 실시양태에서, 제1 및 제2 CH3 도메인은 변화된 정전기 상호작용을 초래하는 아미노산의 변화를 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 및 제2 CH3 도메인은 변화된 소수성/친수성 상호작용을 초래하는 아미노산의 변화를 포함한다.

[0146] 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합체는 (a) 위치 253 및 292에서 아미노산이 글루타메이트 또는 아스파르테이트로 치환된 제1 인간 IgG1 불변 영역, 및 위치 240 및 282에서 아미노산이 리신으로 치환된 제2 인간 IgG1 불변 영역; (b) 위치 249 및 288에서 아미노산이 글루타메이트 또는 아스파르테이트로 치환된 제1 인간 IgG2 불변 영역, 및 위치 236 및 278에서 아미노산이 리신으로 치환된 제2 인간 IgG2 불변 영역; (c) 위치 300 및 339에서 아미노산이 글루타메이트 또는 아스파르테이트로 치환된 제1 인간 IgG3 불변 영역, 및 위치 287 및 329에서 아미노산이 리신으로 치환된 제2 인간 IgG3 불변 영역; 및 (d) 위치 250 및 289에서 아미노산이 글루타메이트 또는 아스파르테이트로 치환된 제1 인간 IgG4 불변 영역, 및 위치 237 및 279에서 아미노산이 리신으로 치환된 제2 IgG4 불변 영역으로 이루어진 군으로부터 선택되는 중쇄 불변 영역을 포함하는 이중특이적 항체이다.

[0147] 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합체는 위치 253 및 292에서 아미노산 치환을 갖는 제1 인간 IgG1 불변 영역 (여기서, 아미노산은 글루타메이트 또는 아스파르테이트임) 및 위치 240 및 282에서 아미노산 치환을 갖는 제2 인간 IgG1 불변 영역 (여기서, 아미노산은 리신임)을 포함하는 이중특이적 항체이다. 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합체는 위치 249 및 288에서 아미노산 치환을 갖는 제1 인간 IgG2 불변 영역 (여기서, 아미노산은 글루타메이트 또는 아스파르테이트임) 및 위치 236 및 278에서 아미노산 치환을 갖는 제2 인간 IgG2 불변 영역 (여기서, 아미노산은 리신임)을 포함하는 이중특이적 항체이다. 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합체는 위치 300 및 339에서 아미노산 치환을 갖는 제1 인간 IgG3 불변 영역 (여기서, 아미노산은 글루타메이트 또는 아스파르테이트임) 및 위치 287 및 329에서 아미노산 치환을 갖는 제2 인간 IgG2 불변 영역 (여기서, 아미노산은 리신임)을 포함하는 이중특이적 항체이다. 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합체는 위치 250 및 289에서 아미노산 치환을 갖는 제1 인간 IgG4 불변 영역 (여기서, 아미노산은 글루타메이트 또는 아스파르테이트임) 및 위치 237

및 279에서 아미노산 치환을 갖는 제2 인간 IgG4 불변 영역 (여기서, 아미노산은 리신임)을 포함하는 이중특이적 항체이다.

[0148] 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합체는 위치 249 및 288에서 아미노산 치환을 갖는 제1 인간 IgG2 불변 영역 (여기서, 아미노산은 글루타메이트임) 및 위치 236 및 278에서 아미노산 치환을 갖는 제2 인간 IgG2 불변 영역 (여기서, 아미노산은 리신임)을 포함하는 이중특이적 항체이다. 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합체는 위치 249 및 288에서 아미노산 치환을 갖는 제1 인간 IgG2 불변 영역 (여기서, 아미노산은 아스파르트레이트임) 및 위치 236 및 278에서 아미노산 치환을 갖는 제2 인간 IgG2 불변 영역 (여기서, 아미노산은 리신임)을 포함하는 이중특이적 항체이다.

[0149] 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합체는 서열:7의 중쇄를 포함하는 이중특이적 항체이다. 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합체는 서열:5의 중쇄를 포함하는 이중특이적 항체이다. 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합체는 서열:56의 중쇄를 포함하는 이중특이적 항체이다. 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합체는 서열:62의 중쇄를 포함하는 이중특이적 항체이다. 일부 실시양태에서, 이중특이적 항체는 서열:12의 경쇄를 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합체는 서열:7의 중쇄, 서열:5의 중쇄 및 서열:8의 경쇄 2개를 포함하는 이중특이적 항체이다. 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합체는 서열:7의 중쇄, 서열:6의 중쇄 및 서열:8의 경쇄 2개를 포함하는 이중특이적 항체이다. 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합체는 서열:7의 중쇄, 서열:56의 중쇄 및 서열:8의 경쇄 2개를 포함하는 이중특이적 항체이다. 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합체는 서열:7의 중쇄, 서열:62의 중쇄 및 서열:8의 경쇄 2개를 포함하는 이중특이적 항체이다.

[0150] 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합체는 약 50nM 이하, 약 25nM 이하, 약 10nM 이하, 약 1nM 이하 또는 약 0.1nM 이하의 K_D 로 VEGF에 결합하는 이중특이적 항체이다. 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합체는 약 50nM 이하, 약 25nM 이하, 약 10nM 이하, 약 1nM 이하 또는 약 0.1nM 이하의 K_D 로 DLL4에 결합하는 이중특이적 항체이다. 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합체는 약 50nM 이하의 K_D 로 VEGF에 결합하고 약 50nM 이하의 K_D 로 DLL4에 결합하는 이중특이적 항체이다. 일부 실시양태에서, 이중특이적 항체는 약 25nM 이하의 K_D 로 VEGF에 결합하고 약 25nM 이하의 K_D 로 DLL4에 결합한다. 일부 실시양태에서, 이중특이적 항체는 약 10nM 이하의 K_D 로 VEGF에 결합하고 약 10nM 이하의 K_D 로 DLL4에 결합한다. 일부 실시양태에서, 이중특이적 항체는 약 1nM 이하의 K_D 로 VEGF에 결합하고 약 1nM 이하의 K_D 로 DLL4에 결합한다.

[0151] 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합체는 제2 항원-결합 부위의 결합 친화도보다 약한 결합 친화도를 갖는 하나의 항원-결합 부위를 포함하는 이중특이적 항체이다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 이중특이적 항체는 약 0.1nM 내지 1nM 범위의 K_D 로 VEGF에 결합할 수 있고, 약 1nM 내지 10nM 범위의 K_D 로 DLL4에 결합할 수 있다. 또는 이중특이적 항체는 약 1nM 내지 10nM 범위의 K_D 로 VEGF에 결합할 수 있고, 약 0.1nM 내지 1nM 범위의 K_D 로 DLL4에 결합할 수 있다. 일부 실시양태에서, 이중특이적 항체는 약 0.1nM 내지 1nM 범위의 K_D 로 DLL4에 결합할 수 있고, 약 1nM 내지 10nM 범위의 K_D 로 VEGF에 결합할 수 있다. 또는 이중특이적 항체는 약 1nM 내지 10nM 범위의 K_D 로 DLL4에 결합할 수 있고, 약 0.1nM 내지 1nM 범위의 K_D 로 VEGF에 결합할 수 있다. 일부 실시양태에서, 두 항원-결합 부위 간의 친화도 차이는 약 2배 이상, 약 3배 이상, 약 5배 이상, 약 8배 이상, 약 10배 이상, 약 15배 이상, 약 30배 이상, 약 50배 이상 또는 약 100배 이상일 수 있다. 일부 실시양태에서, VEGF에 대한 항원-결합 부위의 하나 이상의 CDR에서의 하나 이상의 아미노산 잔기는 상이한 아미노산으로 치환되어, VEGF-결합 부위의 친화도가 변화된다. 일부 실시양태에서, VEGF-결합 부위의 친화도는 증가된다. 일부 실시양태에서, VEGF-결합 부위의 친화도는 감소된다. 일부 실시양태에서, DLL4에 대한 항원-결합 부위의 하나 이상의 CDR에서의 하나 이상의 아미노산 잔기는 상이한 아미노산으로 치환되어, DLL4-결합 부위의 친화도가 변화된다. 일부 실시양태에서, DLL4-결합 부위의 친화도는 증가된다. 일부 실시양태에서, DLL4-결합 부위의 친화도는 감소된다. 일부 실시양태에서, VEGF 및 DLL4 항원-결합 부위 양자 모두의 친화도는 변화된다.

[0152] 본 발명은 VEGF 및/또는 DLL4에 특이적으로 결합하는, 항체를 포함하나 이에 제한되지 않는 폴리펩티드를 제공한다. 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 인간 VEGF에 결합한다. 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 인간 DLL4에 결합한다. 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 인간 VEGF 및 마우스 VEGF에 결합한다. 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 인간 DLL4 및 마우스 DLL4에 결합한다.

[0153] 일부 실시양태에서, VEGF-결합체는 서열:3, 서열:4, 서열:7, 서열:8, 서열:11, 서열:12, 서열:47 및 서열:49로

이루어진 군으로부터 선택되는 서열을 포함하는 폴리펩티드를 포함한다.

- [0154] 일부 실시양태에서, DLL4-결합체는 서열:1, 서열:2, 서열:4, 서열:5, 서열:6, 서열:8, 서열:9, 서열:10, 서열:12, 서열:46, 서열:48, 서열:56, 서열:57, 서열:58, 서열:62, 서열:63 및 서열:64로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열을 포함하는 폴리펩티드를 포함한다.
- [0155] 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합체는 서열:1, 서열:2, 서열:3, 서열:4, 서열:5, 서열:6, 서열:7, 서열:8, 서열:9, 서열:10, 서열:11, 서열:12, 서열:46, 서열:47, 서열:48, 서열:49, 서열:56, 서열:57, 서열:58, 서열:62, 서열:63 및 서열:64로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열을 포함하는 폴리펩티드를 포함한다.
- [0156] 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합체는 서열:1, 서열:2, 서열:5, 서열:6, 서열:9, 서열:10, 서열:46, 서열:48, 서열:56, 서열:57, 서열:58, 서열:62, 서열:63 및 서열:64로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열을 포함하는 폴리펩티드를 포함한다. 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4 결합체는 서열:3, 서열:7, 서열:11, 서열:47 및 서열:49로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열을 포함하는 폴리펩티드를 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4 결합체는 서열:4, 서열:8 및 서열:12로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열을 포함하는 폴리펩티드를 추가로 포함한다.
- [0157] 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합체는 서열:3, 서열:7, 서열:11, 서열:47 및 서열:49로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열을 포함하는 폴리펩티드를 포함한다. 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4 결합체는 서열:1, 서열:2, 서열:5, 서열:6, 서열:9, 서열:10, 서열:46, 서열:48, 서열:56, 서열:57, 서열:58, 서열:62, 서열:63 및 서열:64로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열을 포함하는 폴리펩티드를 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4 결합체는 서열:4, 서열:8 및 서열:12로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열을 포함하는 폴리펩티드를 추가로 포함한다.
- [0158] 특정 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합체 (예를 들어, 항체)는 서열:11을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열:12를 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체와 VEGF에 대한 특이적 결합에 대해 경쟁한다. 특정 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합체는 인간 VEGF에 대한 특이적 결합에 대해 항체 219R45와 경쟁한다. 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합체 또는 항체는 시험관내 경쟁적 결합 검정에서 VEGF에 대한 특이적 결합에 대해 경쟁한다. 일부 실시양태에서, VEGF는 인간 VEGF이다. 일부 실시양태에서, VEGF는 마우스 VEGF이다.
- [0159] 특정 실시양태에서, VEGF-DLL4-결합체 (예를 들어, 항체)는 본 발명의 항체와 VEGF 상의 동일한 에피토프 또는 본질적으로 동일한 에피토프에 결합한다. 또 다른 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합체는 본 발명의 항체에 의해 결합되는 VEGF 상의 에피토프와 중복되는 VEGF 상의 에피토프에 결합하는 항체이다. 특정 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합체 (예를 들어, 항체)는 항체 219R45와 VEGF 상의 동일한 에피토프 또는 본질적으로 동일한 에피토프에 결합한다. 또 다른 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합체는 항체 219R45에 의해 결합되는 VEGF 상의 에피토프와 중복되는 VEGF 상의 에피토프에 결합하는 항체이다.
- [0160] 특정 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합체는 항체 219R45와 VEGF에 대한 특이적 결합에 대해 경쟁하는 작용제이다 (예를 들어, 경쟁적 결합 검정에서).
- [0161] 특정 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합체 (예를 들어, 항체)는 서열:9 서열:10, 서열:58 또는 서열:64를 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열:12를 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체와 DLL4에 대한 특이적 결합에 대해 경쟁한다. 특정 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합체는 인간 DLL4에 대한 특이적 결합에 대해 항체 21R79와 경쟁한다. 특정 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합체는 인간 DLL4에 대한 특이적 결합에 대해 항체 21R75와 경쟁한다. 특정 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합체는 인간 DLL4에 대한 특이적 결합에 대해 항체 21R83과 경쟁한다. 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합체 또는 항체는 시험관내 경쟁적 결합 검정에서 DLL4에 대한 특이적 결합에 대해 경쟁한다. 일부 실시양태에서, DLL4는 인간 DLL4이다. 일부 실시양태에서, DLL4는 마우스 DLL4이다.
- [0162] 특정 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합체 (예를 들어, 항체)는 본 발명의 항체와 DLL4 상의 동일한 에피토프 또는 본질적으로 동일한 에피토프에 결합한다. 또 다른 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합체는 본 발명의 항체에 의해 결합되는 DLL4 상의 에피토프와 중복되는 DLL4 상의 에피토프에 결합하는 항체이다. 특정 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합체는 항체 21R79와 DLL4 상의 동일한 에피토프 또는 본질적으로 동일한 에피토프에 결합한다. 특정 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합체는 항체 21R75와 DLL4 상의 동일한 에피토프 또는 본질적으로 동일한 에피토프에 결합한다. 특정 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합체는 항체 21R83과 DLL4 상의 동일한 에피토프 또는 본질적으로 동일한 에피토프에 결합한다. 또 다른 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합체는 항체 21R79에 의해 결합되는 DLL4 상의 에피토프와 중복되는 DLL4 상의 에피토프에 결합하는 항체이다. 또 다른 실시양태에서, VEGF/DLL4-

결합체는 항체 21R75에 의해 결합되는 DLL4 상의 에피토프와 중복되는 DLL4 상의 에피토프에 결합하는 항체이다. 또 다른 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합체는 항체 21R83에 의해 결합되는 DLL4 상의 에피토프와 중복되는 DLL4 상의 에피토프에 결합하는 항체이다.

[0163] 특정 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합체는 항체 21R79와 DLL4에 대한 특이적 결합에 대해 경쟁하는 작용제이다 (예를 들어, 경쟁적 결합 검정에서). 특정 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합체는 항체 21R75와 DLL4에 대한 특이적 결합에 대해 경쟁하는 작용제이다 (예를 들어, 경쟁적 결합 검정에서). 특정 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합체는 항체 21R83과 DLL4에 대한 특이적 결합에 대해 경쟁하는 작용제이다 (예를 들어, 경쟁적 결합 검정에서). 특정 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합체는 항체 21M18과 DLL4에 대한 특이적 결합에 대해 경쟁하는 작용제이다 (예를 들어, 경쟁적 결합 검정에서).

[0164] 특정 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합체는 이중특이적 항체 21R45-MB-21M18과 VEGF 및/또는 DLL4에 대한 특이적 결합에 대해 경쟁하는 작용제이다 (예를 들어, 경쟁적 결합 검정에서). 특정 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합체는 이중특이적 항체 21R45-MB-21M79와 VEGF 및/또는 DLL4에 대한 특이적 결합에 대해 경쟁하는 작용제이다 (예를 들어, 경쟁적 결합 검정에서). 특정 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합체는 이중특이적 항체 21R45-MB-21M75와 VEGF 및/또는 DLL4에 대한 특이적 결합에 대해 경쟁하는 작용제이다 (예를 들어, 경쟁적 결합 검정에서). 특정 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합체는 이중특이적 항체 21R45-MB-21M83과 VEGF 및/또는 DLL4에 대한 특이적 결합에 대해 경쟁하는 작용제이다 (예를 들어, 경쟁적 결합 검정에서).

[0165] 특정 실시양태에서, 본원에 기재된 VEGF/DLL4-결합체 (예를 들어, 항체)는 VEGF에 결합하고, VEGF 활성을 조절한다. 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합체는 VEGF 길항제이고, VEGF 활성을 억제한다. 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합체는 VEGF 길항제이고, 혈관신생을 조절한다. 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합체는 VEGF 길항제이고, 혈관신생을 억제한다. 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합체는 VEGF 길항제이고, 종양 성장을 억제한다.

[0166] 특정 실시양태에서, 본원에 기재된 VEGF/DLL4-결합체 (예를 들어, 항체)는 인간 DLL4에 결합하고, DLL4 활성을 조절한다. 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합체는 DLL4 길항제이고, DLL4 활성을 억제한다. 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합체는 DLL4 길항제이고, 노치 활성을 억제한다. 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합체는 DLL4 길항제이고, 노치 신호전달을 억제한다. 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합체는 DLL4 길항제이고, 혈관신생을 조절한다. 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합체는 DLL4 길항제이고, 이상 혈관신생을 촉진한다. 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합체는 DLL4 길항제이고, 종양 성장을 억제한다.

[0167] 특정 실시양태에서, 본원에 기재된 VEGF/DLL4-결합체 (예를 들어, 항체)는 인간 VEGF에 결합하고 VEGF 활성을 조절하는 이중특이적 항체이다. 특정 실시양태에서, 본원에 기재된 VEGF/DLL4-결합체 (예를 들어, 항체)는 인간 DLL4에 결합하고 DLL4 활성을 조절하는 이중특이적 항체이다. 특정 실시양태에서, 본원에 기재된 VEGF/DLL4-결합체 (예를 들어, 항체)는 인간 VEGF 및 인간 DLL4에 결합하고 VEGF 활성 및 DLL4 활성 양자 모두를 조절하는 이중특이적 항체이다. 일부 실시양태에서, 이중특이적 항체는 VEGF 길항제 및 DLL4 길항제이고, VEGF 활성 및 DLL4 활성 양자 모두를 억제한다. 일부 실시양태에서, 이중특이적 항체는 VEGF 길항제 및 DLL4 길항제이고, VEGF 활성 및 노치 활성을 억제한다. 일부 실시양태에서, 이중특이적 항체는 VEGF 길항제 및 DLL4 길항제이고, VEGF 활성 및 노치 신호전달을 억제한다. 일부 실시양태에서, 이중특이적 항체는 VEGF 길항제 및 DLL4 길항제이고, 혈관신생을 조절한다. 일부 실시양태에서, 이중특이적 항체는 VEGF 길항제 및 DLL4 길항제이고, 이상 혈관신생을 촉진한다. 일부 실시양태에서, 이중특이적 항체는 VEGF 길항제 및 DLL4 길항제이고, 혈관신생을 억제한다. 일부 실시양태에서, 이중특이적 항체는 VEGF 길항제 및 DLL4 길항제이고, 종양 성장을 억제한다.

[0168] 특정 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합체 (예를 들어, 항체 또는 이중특이적 항체)는 VEGF 길항제이다. 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합체는 VEGF 길항제이고, VEGF 활성을 억제한다. 특정 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합체는 VEGF 활성을 적어도 약 10%, 적어도 약 20%, 적어도 약 30%, 적어도 약 50%, 적어도 약 75%, 적어도 약 90% 또는 약 100%만큼 억제한다. 특정 실시양태에서, 인간 VEGF 활성을 억제하는 VEGF/DLL4-결합체는 항체 21R45이다. 특정 실시양태에서, 인간 VEGF 활성을 억제하는 VEGF/DLL4-결합체는 21R45의 항원-결합 부위를 포함하는 이중특이적 항체이다. 특정 실시양태에서, 인간 VEGF 활성을 억제하는 VEGF/DLL4-결합체는 이중특이적 항체 21R45-MB-21M18이다. 특정 실시양태에서, 인간 VEGF 활성을 억제하는 VEGF/DLL4-결합체는 이중특이적 항체 21R45-MB-21R79이다. 특정 실시양태에서, 인간 VEGF 활성을 억제하는 VEGF/DLL4-결합체는 이중특이적 항체 21R45-MB-21R75이다. 특정 실시양태에서, 인간 VEGF 활성을 억제하는 VEGF/DLL4-결합체는 이중특이적 항체

219R45-MB-21R83이다.

[0169] 특정 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합제 (예를 들어, 항체)는 DLL4 길항제이다. 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합제는 DLL4 길항제이고, DLL4 활성을 억제한다. 특정 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합제는 DLL4 활성을 적어도 약 10%, 적어도 약 20%, 적어도 약 30%, 적어도 약 50%, 적어도 약 75%, 적어도 약 90% 또는 약 100% 만큼 억제한다. 특정 실시양태에서, 인간 DLL4 활성을 억제하는 VEGF/DLL4-결합제는 항체 21R79이다. 특정 실시양태에서, 인간 DLL4 활성을 억제하는 VEGF/DLL4-결합제는 항체 21R75이다. 특정 실시양태에서, 인간 DLL4 활성을 억제하는 VEGF/DLL4-결합제는 항체 21R83이다. 특정 실시양태에서, 인간 DLL4 활성을 억제하는 VEGF/DLL4-결합제는 21R79의 항원-결합 부위를 포함하는 이중특이적 항체이다. 특정 실시양태에서, 인간 DLL4 활성을 억제하는 VEGF/DLL4-결합제는 21R75의 항원-결합 부위를 포함하는 이중특이적 항체이다. 특정 실시양태에서, 인간 DLL4 활성을 억제하는 VEGF/DLL4-결합제는 21R83의 항원-결합 부위를 포함하는 이중특이적 항체이다. 특정 실시양태에서, 인간 DLL4 활성을 억제하는 VEGF/DLL4-결합제는 이중특이적 항체 219R45-MB-21M18이다. 특정 실시양태에서, 인간 DLL4 활성을 억제하는 VEGF/DLL4-결합제는 이중특이적 항체 219R45-MB-21R79이다. 특정 실시양태에서, 인간 DLL4 활성을 억제하는 VEGF/DLL4-결합제는 이중특이적 항체 219R45-MB-21R75이다. 특정 실시양태에서, 인간 DLL4 활성을 억제하는 VEGF/DLL4-결합제는 이중특이적 항체 219R45-MB-21R83이다.

[0170] 특정 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합제 (예를 들어, 항체)는 노치 신호전달의 길항제이다. 특정 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합제는 노치 신호전달을 적어도 약 10%, 적어도 약 20%, 적어도 약 30%, 적어도 약 50%, 적어도 약 75%, 적어도 약 90% 또는 약 100% 만큼 억제한다. 특정 실시양태에서, 노치 신호전달을 억제하는 VEGF/DLL4-결합제는 항체 21R79이다. 특정 실시양태에서, 노치 신호전달을 억제하는 VEGF/DLL4-결합제는 항체 21R75이다. 특정 실시양태에서, 노치 신호전달을 억제하는 VEGF/DLL4-결합제는 항체 21R83이다. 특정 실시양태에서, 노치 신호전달을 억제하는 VEGF/DLL4-결합제는 21R79의 항원-결합 부위를 포함하는 이중특이적 항체이다. 특정 실시양태에서, 노치 신호전달을 억제하는 VEGF/DLL4-결합제는 21R75의 항원-결합 부위를 포함하는 이중특이적 항체이다. 특정 실시양태에서, 노치 신호전달을 억제하는 VEGF/DLL4-결합제는 21R83의 항원-결합 부위를 포함하는 이중특이적 항체이다. 특정 실시양태에서, 노치 신호전달을 억제하는 VEGF/DLL4-결합제는 이중특이적 항체 219R45-MB-21M18이다. 특정 실시양태에서, 노치 신호전달을 억제하는 VEGF/DLL4-결합제는 이중특이적 항체 219R45-MB-21R79이다. 특정 실시양태에서, 노치 신호전달을 억제하는 VEGF/DLL4-결합제는 이중특이적 항체 219R45-MB-21R75이다. 특정 실시양태에서, 노치 신호전달을 억제하는 VEGF/DLL4-결합제는 이중특이적 항체 219R45-MB-21R83이다.

[0171] 특정 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합제 (예를 들어, 항체)는 VEGF와 하나 이상의 수용체의 결합을 억제한다. 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합제는 VEGF와 VEGFR-1 또는 VEGFR-2의 결합을 억제한다. 특정 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합제는 VEGF와 하나 이상의 VEGF 수용체의 결합을 적어도 약 10%, 적어도 약 25%, 적어도 약 50%, 적어도 약 75%, 적어도 약 90% 또는 적어도 약 95% 만큼 억제한다. 특정 실시양태에서, 인간 VEGF와 하나 이상의 VEGF 수용체의 결합을 억제하는 VEGF/DLL4-결합제는 항체 219R45이다. 특정 실시양태에서, 인간 VEGF와 하나 이상의 VEGF 수용체의 결합을 억제하는 VEGF/DLL4-결합제는 219R45의 항원-결합 부위를 포함하는 이중특이적 항체이다. 특정 실시양태에서, 인간 VEGF와 하나 이상의 VEGF 수용체의 결합을 억제하는 VEGF/DLL4-결합제는 이중특이적 항체 219R45-MB-21M18이다. 특정 실시양태에서, 인간 VEGF와 하나 이상의 VEGF 수용체의 결합을 억제하는 VEGF/DLL4-결합제는 이중특이적 항체 219R45-MB-21R79이다. 특정 실시양태에서, 인간 VEGF와 하나 이상의 VEGF 수용체의 결합을 억제하는 VEGF/DLL4-결합제는 이중특이적 항체 219R45-MB-21R75이다. 특정 실시양태에서, 인간 VEGF와 하나 이상의 VEGF 수용체의 결합을 억제하는 VEGF/DLL4-결합제는 이중특이적 항체 219R45-MB-21R83이다.

[0172] 특정 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합제 (예를 들어, 항체)는 DLL4 단백질과 하나 이상의 노치 수용체의 결합을 억제한다. 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합제는 DLL4와 노치1, 노치2, 노치3 및/또는 노치4의 결합을 억제한다. 특정 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합제는 DLL4와 하나 이상의 노치 수용체의 결합을 적어도 약 10%, 적어도 약 25%, 적어도 약 50%, 적어도 약 75%, 적어도 약 90% 또는 적어도 약 95% 만큼 억제한다. 특정 실시양태에서, 인간 DLL4와 하나 이상의 노치 수용체의 결합을 억제하는 VEGF/DLL4-결합제는 항체 21R79이다. 특정 실시양태에서, 인간 DLL4와 하나 이상의 노치 수용체의 결합을 억제하는 VEGF/DLL4-결합제는 항체 21R75이다. 특정 실시양태에서, 인간 DLL4와 하나 이상의 노치 수용체의 결합을 억제하는 VEGF/DLL4-결합제는 항체 21R83이다. 특정 실시양태에서, 인간 DLL4와 하나 이상의 노치 수용체의 결합을 억제하는 VEGF/DLL4-결합제는 21R79의 항원-결합 부위를 포함하는 이중특이적 항체이다. 특정 실시양태에서, 인간 DLL4와 하나 이상의

노치 수용체의 결합을 억제하는 VEGF/DLL4-결합제는 21R75의 항원-결합 부위를 포함하는 이중특이적 항체이다. 특정 실시양태에서, 인간 DLL4와 하나 이상의 노치 수용체의 결합을 억제하는 VEGF/DLL4-결합제는 21R83의 항원-결합 부위를 포함하는 이중특이적 항체이다. 특정 실시양태에서, 인간 DLL4와 하나 이상의 노치 수용체의 결합을 억제하는 VEGF/DLL4-결합제는 이중특이적 항체 21R45-MB-21M18이다. 특정 실시양태에서, 인간 DLL4와 하나 이상의 노치 수용체의 결합을 억제하는 VEGF/DLL4-결합제는 이중특이적 항체 21R45-MB-21R79이다. 특정 실시양태에서, 인간 DLL4와 하나 이상의 노치 수용체의 결합을 억제하는 VEGF/DLL4-결합제는 이중특이적 항체 21R45-MB-21R75이다. 특정 실시양태에서, 인간 DLL4와 하나 이상의 노치 수용체의 결합을 억제하는 VEGF/DLL4-결합제는 이중특이적 항체 21R45-MB-21R83이다.

[0173] VEGF/DLL4-결합제 (또는 후보 VEGF/DLL4-결합제)가 VEGF를 억제하거나 혈관신생에 영향을 미치는가를 결정하기 위한 생체내 및 시험관내 검정은 당업계에 공지되어 있다. 혈관신생의 시험관내 검정은 HUVEC 증식 검정, 내피 세포 튜브 형성 검정, 발아 (또는 발아체 형성) 검정, HUVEC 세포 이동 검정 및 침습 검정을 포함하나 이에 제한되지 않는다. 일부 실시양태에서, VEGF의 존재하 및 VEGF/DLL4-결합제의 존재하에서의 세포를, 존재하는 VEGF/DLL4-결합제의 부재하 및 VEGF의 존재하에서의 세포와 비교하고, 혈관신생에 대한 효과 (또는 혈관신생과 연관된 생물학적 효과)에 대해 평가한다. 혈관신생의 생체내 검정은 매트릭셀 플러그 검정, 각막 미세망 검정 및 닭 융모요막 (CAM) 검정을 포함하나 이에 제한되지 않는다.

[0174] VEGF/DLL4-결합제 (또는 후보 VEGF/DLL4-결합제)가 노치 활성화 또는 신호전달을 억제하는가를 결정하기 위한 생체내 및 시험관내 검정은 당업계에 공지되어 있다. 예를 들어, 반딧불이 루시페라제 리포터 유전자의 TCF-결합 도메인 상류의 다중 카피를 함유하는 TCF/Luc 리포터 벡터를 사용하는 세포-기반 루시페라제 리포터 검정이 노치 신호전달 수준을 시험관내에서 측정하기 위해 사용될 수 있다 (문헌 [Gazit et al., 1999, *Oncogene*, 18: 5959-66]; 탑플래쉬(TOPflash), 미국 매사추세츠주 빌러리카 소재의 밀리포어(Millipore)). 일부 실시양태에서, 반딧불이 루시페라제 리포터 유전자의 CBF-결합 도메인 상류의 다중 카피를 함유하는 CBF/Luc 리포터 벡터를 사용하는 세포-기반 루시페라제 리포터 검정이 사용될 수 있다. 하나 이상의 노치 리간드 (예를 들어, 형질감염된 세포 표면 상에 발현된 DLL4 또는 가용성 DLL4-Fc 용합 단백질)의 존재하 및 VEGF/DLL4-결합제의 존재하에서의 노치 신호전달 수준은 존재하는 VEGF/DLL4-결합제의 부재하에서의 노치 신호전달 수준과 비교된다.

[0175] 특정 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합제는 다음 효과 중 하나 이상을 갖는다: 종양 세포의 증식을 억제시키거나, 종양 성장을 억제시키거나, 종양의 종양발생성을 감소시키거나, 종양에서 암 줄기 세포의 빈도수를 감소시키거나, 종양 세포의 세포 사멸을 촉발시키거나, 종양 세포의 전이를 예방하거나, 종양 세포의 생존을 감소시키거나, 혈관신생을 조절하거나, 혈관신생을 억제하거나, 증식성 혈관신생을 억제하거나, 또는 이상 혈관신생을 촉진시킨다.

[0176] 특정 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합제는 종양 성장을 억제할 수 있다. 특정 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합제는 종양 성장을 생체내에서 억제할 수 있다 (예를 들어, 이종이식편 마우스 모델에서 및/또는 암을 갖는 인간에서). 특정 실시양태에서, 종양 성장은 비처리된 종양과 비교하여 적어도 약 2배, 약 3배, 약 5배, 약 10배, 약 50배, 약 100배 또는 약 1000배만큼 억제된다.

[0177] 특정 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합제는 종양의 종양발생성을 감소시킬 수 있다. 특정 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합제 또는 항체는 동물 모델, 예컨대 마우스 이종이식편 모델에서 암 줄기 세포를 포함하는 종양의 종양발생성을 감소시킬 수 있다. 특정 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합제 또는 항체는 종양에서 암 줄기 세포의 개수 또는 빈도수를 감소시킴으로써 종양의 종양발생성을 감소시킬 수 있다. 특정 실시양태에서, 종양에서 암 줄기 세포의 개수 또는 빈도수는 적어도 약 2배, 약 3배, 약 5배, 약 10배, 약 50배, 약 100배 또는 약 1000배만큼 감소된다. 특정 실시양태에서, 암 줄기 세포의 개수 또는 빈도수의 감소는 동물 모델을 사용하여 한계 회석 검정에 의해 결정된다. 종양에서 암 줄기 세포의 개수 또는 빈도수의 감소를 결정하기 위한 한계 회석 검정의 이용에 관한 추가 예 및 지침은 예를 들어 국제 공개 번호 제WO 2008/042236호; 미국 특허 공개 제 2008/0064049호; 및 미국 특허 공개 제2008/0178305호에서 찾을 수 있다.

[0178] 특정 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합제는 혈관신생을 조절할 수 있다. 특정 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합제는 혈관신생을 생체내에서 조절할 수 있다 (예를 들어, 이종이식편 마우스 모델에서 및/또는 암을 갖는 인간에서). 특정 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합제는 혈관신생을 억제할 수 있다. 특정 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합제는 이상 혈관신생을 촉진시킬 수 있다. 특정 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합제는 혈관신생을 억제하고/거나 이상 혈관신생을 촉진시킬 수 있으며, 비생산적 혈관화에 이르게 한다.

- [0179] 특정 실시양태에서, 본원에 기재된 VEGF/DLL4-결합체는 마우스, 시노물구스 원숭이 또는 인간에서 적어도 약 2 시간, 적어도 약 5시간, 적어도 약 10시간, 적어도 약 24시간, 적어도 약 3일, 적어도 약 1주 또는 적어도 약 2주의 순환 반감기를 갖는다. 특정 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합체는 마우스, 시노물구스 원숭이 또는 인간에서 적어도 약 2시간, 적어도 약 5시간, 적어도 약 10시간, 적어도 약 24시간, 적어도 약 3일, 적어도 약 1주 또는 적어도 약 2주의 순환 반감기를 갖는 IgG (예를 들어, IgG1 또는 IgG2) 항체이다. 작용제, 예컨대 폴리펩티드 및 항체의 반감기를 증가시키는 (또는 감소시키는) 방법은 당업계에 공지되어 있다. 예를 들어, IgG 항체의 순환 반감기를 증가시키는 공지된 방법은 pH 6.0에서 항체와 신생아 Fc 수용체 (FcRn)와의 pH-의존성 결합을 증가시키는 Fc 영역에서의 돌연변이의 도입을 포함한다 (예를 들어, 미국 특허 공개 제2005/0276799호, 제2007/0148164호 및 제2007/0122403호 참조). Fc 영역이 절편된 항체 단편의 순환 반감기를 증가시키는 공지된 방법은 PEG화와 같은 기술을 포함한다.
- [0180] 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합체는 항체이다. 폴리클로날 항체는 임의의 공지된 방법에 의해 제조될 수 있다. 일부 실시양태에서, 폴리클로날 항체는 다중 피하 또는 복강내 주사에 의해 관심 항원 (예를 들어, 정제된 펩티드 단편, 전장 재조합 단백질 또는 융합 단백질)으로 동물 (예를 들어, 토끼, 래트, 마우스, 염소, 당나귀)을 면역화함으로써 생성된다. 항원은 담체, 예컨대 키홀 림펫 헤모시아닌 (KLH) 또는 혈청 알부민에 임의로 접합될 수 있다. 항원 (운반 단백질 존재 또는 부재)을 멸균 염수에 희석하고, 통상적으로 아주반트 (예를 들어, 완전 또는 불완전 프로인트 아주반트)와 합하여 안정한 에멀전을 형성시킨다. 충분한 기간의 시간 후, 폴리클로날 항체를 면역화 동물로부터, 통상적으로 혈액 또는 복수로부터 회수한다. 친화성 크로마토그래피, 이온-교환 크로마토그래피, 겔 전기영동법 및 투석을 포함하나 이에 제한되지 않는 당업계의 표준 방법에 따라 폴리클로날 항체를 혈청 또는 복수로부터 정제할 수 있다.
- [0181] 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합체는 모노클로날 항체이다. 모노클로날 항체는 당업자에게 공지된 하이브리도마 방법을 이용하여 제조될 수 있다 (예를 들어, 문헌 [Kohler 및 Milstein, 1975, Nature, 256:495-497] 참조). 일부 실시양태에서, 상기 하이브리도마 방법을 이용하여, 마우스, 햄스터, 또는 다른 적절한 숙주 동물을 상기 기재된 바와 같이 면역화시켜, 림프구로부터 면역화 항원에 특이적으로 결합하는 항체의 생산을 유도한다. 일부 실시양태에서, 림프구는 시험관내에서 면역화될 수 있다. 일부 실시양태에서, 면역화 항원은 인간 단백질 또는 그의 일부분일 수 있다. 일부 실시양태에서, 면역화 항원은 마우스 단백질 또는 그의 일부분일 수 있다.
- [0182] 면역화 이후, 림프구를 단리하고, 예를 들어 폴리에틸렌 글리콜을 이용하여 적합한 골수종 세포주와 융합시킨다. 하이브리도마 세포는 당업계에 공지된 특수화된 배지를 이용하여 선별되고, 융합되지 않은 림프구 및 골수종 세포는 선별 과정에서 생존하지 않는다. 선택된 항원을 특이적으로 제시하는 모노클로날 항체를 생산하는 하이브리도마는 면역침전, 이뮤노블롯팅, 및 시험관내 결합 검정 (예를 들어, 유동 세포측정법, FACS, ELISA, 및 방사성면역검정)을 비롯하여 이로 제한되지 않는 다양한 방법에 의해 확인할 수 있다. 하이브리도마는 시험관내 배지에서 표준 방법을 이용하여 전파되거나 (문헌 [J.W. Goding, 1996, Monoclonal Antibodies: Principles and Practice, 3rd Edition, Academic Press, San Diego, CA]) 또는 생체내에서 동물의 복수 종양으로서 전파될 수 있다. 모노클로날 항체는 친화성 크로마토그래피, 이온-교환 크로마토그래피, 겔 전기영동, 및 투석을 비롯하여 이로 제한되지 않는 당업계의 표준 방법에 따라 배양 배지 또는 복수액으로부터 정제될 수 있다.
- [0183] 특정 실시양태에서, 모노클로날 항체는 당업자에게 공지된 바와 같이 재조합 DNA 기술을 이용하여 제조될 수 있다. 모노클로날 항체를 코딩하는 폴리뉴클레오티드는 성숙 B-세포 또는 하이브리도마 세포로부터, 예컨대 항체의 중쇄 및 경쇄를 코딩하는 유전자를 특이적으로 증폭시키는 올리고뉴클레오티드 프라이머를 이용하여 RT-PCR에 의해 단리되고, 그의 서열은 표준 기술을 이용하여 결정된다. 이어서, 중쇄 및 경쇄를 코딩하는 단리된 폴리뉴클레오티드를 숙주 세포, 예컨대 이. 콜라이(*E. coli*), 원숭이 COS 세포, 차이나이즈 햄스터 난소 (CHO) 세포, 또는 달리 이뮤노글로불린 단백질을 생성하지 않는 골수종 세포로 트랜스펙션시 모노클로날 항체를 생성하는 적합한 발현 벡터에 클로닝시킨다.
- [0184] 특정의 다른 실시양태에서, 재조합 모노클로날 항체 또는 그의 단편을 원하는 종의 가변 도메인 또는 CDR을 발현하는 파지 디스플레이 라이브러리로부터 단리시킬 수 있다 (예를 들어, 문헌 [McCafferty et al., 1990, Nature, 348:552-554; Clackson et al., 1991, Nature, 352:624-628]; 및 [Marks et al., 1991, J. Mol. Biol., 222:581-597] 참조).
- [0185] 모노클로날 항체를 코딩하는 폴리뉴클레오티드(들)은 예를 들어 재조합 DNA 기술을 이용하여 대안적인 항체를 생성하도록 변형될 수 있다. 일부 실시양태에서, 예를 들어 마우스 모노클로날 항체의 경쇄 및 중쇄의 불변 도

메인을 예를 들어 인간 항체의 이들 영역 대신에 대체시켜 키메라 항체를 생성하거나, 또는 비-이뮤노글로불린 폴리펩티드 대신에 대체시켜 융합 항체를 생성할 수 있다. 일부 실시양태에서, 불변 영역을 말단절단시키거나 제거하여, 모노클로날 항체의 원하는 항체 단편을 생성한다. 가변 영역의 부위-지정 또는 고밀도 돌연변이유발을 이용하여, 모노클로날 항체의 특이성, 친화도 등을 최적화시킬 수 있다.

[0186] 일부 실시양태에서, VEGF 및/또는 DLL4에 대한 모노클로날 항체는 인간화 항체이다. 전형적으로, 인간화 항체는, 당업자에게 공지된 방법을 이용하여 CDR로부터의 잔기가 원하는 특이성, 친화도 및/또는 결합 능력을 갖는 비-인간 종 (예를 들어, 마우스, 래트, 토끼, 햄스터 등)의 CDR로부터의 잔기로 교체된 인간 이뮤노글로불린이다. 일부 실시양태에서, 인간 이뮤노글로불린의 Fv 프레임워크 영역 잔기를 원하는 특이성, 친화도 및/또는 결합 능력을 갖는 비-인간 종으로부터의 항체에서의 상응하는 잔기로 교체한다. 일부 실시양태에서, 인간화 항체를 Fv 프레임워크 영역에서 및/또는 교체된 비-인간 잔기 내에서 추가 잔기의 치환에 의해 더 변형시켜, 항체 특이성, 친화도 및/또는 능력을 개선 및 최적화시킬 수 있다. 일반적으로, 인간화 항체는 비-인간 이뮤노글로불린에 상응하는 CDR을 모두 또는 실질적으로 모두 함유하는 적어도 1개, 전형적으로 2개 또는 3개의 가변 도메인 영역을 실질적으로 모두 포함할 것인 반면에, 모든 또는 실질적으로 모든 프레임워크 영역은 인간 이뮤노글로불린 컨센서스 서열의 것이다. 일부 실시양태에서, 인간화 항체는 또한 적어도 이뮤노글로불린 불변 영역 또는 도메인 (Fc)의 일부, 전형적으로 인간 이뮤노글로불린의 일부를 포함할 수 있다. 특정 실시양태에서, 이러한 인간화 항체는 인간 대상체에게 투여시 항원성 및 HAMA (인간 항-마우스 항체) 반응을 감소시킬 수 있기 때문에 치료적으로 사용된다. 당업자는 공지된 기술에 따라 면역원성이 감소된 기능적 인간화 항체를 수득할 수 있다 (예를 들어, 미국 특허 번호 5,225,539; 5,585,089; 5,693,761; 및 5,693,762 참조).

[0187] 특정 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합체는 인간 항체이다. 인간 항체는 다양한 당업계에 공지된 기술을 이용하여 직접 제조될 수 있다. 일부 실시양태에서, 인간 항체는 시험관내에서 면역화된 불멸성 인간 B 림프구로부터 또는 면역화된 개체로부터 단리된 림프구로부터 생성될 수 있다. 각각의 경우에, 표적 항원을 제시하는 항체를 생산하는 세포를 생성하고 단리할 수 있다 (예를 들어, 문헌 [Cole et al., 1985, Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, Alan R. Liss, p. 77]; [Boemer et al., 1991, J. Immunol., 147:86-95]; 및 미국 특허 번호 5,750,373; 5,567,610; 및 5,229,275 참조). 일부 실시양태에서, 인간 항체는 인간 항체를 발현하는 파지 라이브러리로부터 선택될 수 있다 (문헌 [Vaughan et al., 1996, Nature Biotechnology, 14:309-314]; [Sheets et al., 1998, PNAS, 95:6157-6162]; [Hoogenboom and Winter, 1991, J. Mol. Biol., 227:381]; [Marks et al., 1991, J. Mol. Biol., 222:581]). 대안적으로, 파지 디스플레이 기술을 이용하여 시험관내에서 면역화되지 않은 공여자로부터의 이뮤노글로불린 가변 도메인 유전자 레퍼토리로 부터 인간 항체 및 항체 단편을 생산할 수 있다. 항체 파지 라이브러리의 생성 및 사용에 대한 기술은 또한 미국 특허 번호 5,969,108; 6,172,197; 5,885,793; 6,521,404; 6,544,731; 6,555,313; 6,582,915; 6,593,081; 6,300,064; 6,653,068; 6,706,484; 및 7,264,963; 및 문헌 [Rothe et al., 2008, J. Mol. Bio., 376:1182-1200]에 기재되어 있다. 항체가 확인되면, 당업계에 공지된 친화도 성숙 전략, 예컨대 이로 제한되는 것은 아니지만 쇠 서플링 (문헌 [Marks et al., 1992, Bio/Technology, 10:779-783]) 및 부위-지정 돌연변이유발을 이용하여 고친화도 인간 항체를 생성할 수 있다.

[0188] 일부 실시양태에서, 인간 항체는 인간 이뮤노글로불린 유전자좌를 함유하는 트랜스제닉 마우스에서 제조될 수 있다. 면역화시에 이들 마우스는 내인성 이뮤노글로불린 제조 없이도 인간 항체의 전체 레퍼토리를 생산할 수 있다. 이러한 접근법은 미국 특허 번호 5,545,807; 5,545,806; 5,569,825; 5,625,126; 5,633,425; 및 5,661,016에 기재되어 있다.

[0189] 본 발명은 또한 이중특이적 항체를 포함한다. 이중특이적 항체는 적어도 2개의 상이한 항원 또는 에피토프를 특이적으로 인식하여 그에 결합할 수 있다. 상이한 에피토프는 동일한 분자 내에 (예를 들어, 단일 단백질 상의 2개의 에피토프) 또는 상이한 분자 상에 (예를 들어, 단백질 상에 한 에피토프 및 제2 단백질 상에 에피토프) 있을 수 있다. 일부 실시양태에서, 이중특이적 항체는 개별 항체에 비해 또는 1개 초과 항체의 조합에 비해 증강된 효력을 갖는다. 일부 실시양태에서, 이중특이적 항체는 개별 항체에 비해 또는 1개 초과 항체의 조합에 비해 감소된 독성을 갖는다. 임의의 결합체 (예를 들어, 항체)가 독특한 약동학 (PK) (예를 들어, 순환 반감기)을 가질 수 있음은 당업자에게 공지되어 있다. 일부 실시양태에서, 이중특이적 항체는 2종의 활성 결합체의 PK를 동시에 발생시키는 능력을 가지며, 여기서 두 가지 개별 결합체는 상이한 PK 프로파일을 갖는다. 일부 실시양태에서, 이중특이적 항체는 동일한 부위 (예를 들어, 종양 및/또는 종양 환경)에서 두 결합체 (예를 들어, 항체)의 작용을 농축시키는 능력을 갖는다. 일부 실시양태에서, 이중특이적 항체 동일한 표적 (예를 들어, 종양 또는 종양 세포)에 대해 두 결합체 (예를 들어, 항체)의 작용을 농축시키는 능력을 갖는다.

일부 실시양태에서, 이중특이적 항체는 한 가지가 넘는 생물학적 경로 또는 기능에 대해 두 결합체 (예를 들어, 항체)의 작용을 표적화시키는 능력을 갖는다.

- [0190] 특정 실시양태에서, 이중특이적 항체는 VEGF 및 제2 표적에 특이적으로 결합한다. 특정 실시양태에서, 이중특이적 항체는 DLL4 및 제2 표적에 특이적으로 결합한다. 특정 실시양태에서, 이중특이적 항체는 VEGF 및 DLL4에 특이적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 이중특이적 항체는 인간 VEGF 및 인간 DLL4에 특이적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 이중특이적 항체는 모노클로날 인간 또는 인간화 항체이다. 일부 실시양태에서, 이중특이적 항체는 혈관신생을 억제하고, 암 줄기 세포의 수 또는 빈도를 감소시킨다. 일부 실시양태에서, 이중특이적 항체는 혈관 성장을 억제하고, 혈관 성숙을 억제한다. 일부 실시양태에서, 이중특이적 항체는 내피 과다증식을 예방한다. 일부 실시양태에서, 이중특이적 항체는 감소된 독성 및/또는 부작용을 갖는다. 일부 실시양태에서, 이중특이적 항체는 두 개별 항체의 혼합물 또는 단일 작용제로서의 항체에 비해 감소된 독성 및/또는 부작용을 갖는다. 일부 실시양태에서, 이중특이적 항체는 증가된 치료 지수를 갖는다. 일부 실시양태에서, 이중특이적 항체는 두 개별 항체의 혼합물 또는 단일 작용제로서의 항체에 비해 증가된 치료 지수를 갖는다.
- [0191] 일부 실시양태에서, 이중특이적 항체는 제1 항원 표적 (예를 들어, DLL4) 뿐만 아니라, 제2 항원 표적, 예컨대 백혈구 상의 이펙터 분자 (예를 들어, CD2, CD3, CD28, 또는 B7) 또는 Fc 수용체 (예를 들어, CD64, CD32, 또는 CD16)를 특이적으로 인식하고 그에 결합하여, 제1 항원 표적을 발현하는 세포에 대해 세포 방어 메카니즘을 집중시킨다. 일부 실시양태에서, 이중특이적 항체를 이용하여, 세포독성제를 특정한 표적 항원을 발현하는 세포로 지향시킬 수 있다. 이들 항체는 항원-결합 부위 (예를 들어, 인간 DLL4에 대해), 및 세포독성제 또는 방사성핵종 킬레이터, 예컨대 EOTUBE, DPTA, DOTA, 또는 TETA에 결합하는 제2 부위를 갖는다.
- [0192] 이중특이적 항체를 제조하는 기술은 당업자에게 공지되어 있으며, 예를 들어 문헌 [Millstein et al., 1983, Nature, 305:537-539]; [Brennan et al., 1985, Science, 229:81]; [Suresh et al., 1986, Methods in Enzymol., 121:120]; [Traunecker et al., 1991, EMBO J., 10:3655-3659]; [Shalaby et al., 1992, J. Exp. Med., 175:217-225]; [Kostelny et al., 1992, J. Immunol., 148:1547-1553]; [Gruber et al., 1994, J. Immunol., 152:5368]; 미국 특허 번호 5,731,168; 국제 공개 번호 WO 2009/089004; 및 미국 특허 공보 번호 2011/0123532를 참조한다. 일부 실시양태에서, 이중특이적 항체는 2개의 중쇄 사이의 경계의 일부인 아미노산이 변형된 중쇄 불변 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, 이중특이적 항체는 "놉스-인트-홀즈(knobs-into-holes)" 전략을 이용하여 생성될 수 있다 (예를 들어, 미국 특허 번호 5,731,168; 문헌 [Ridgway et al., 1996, Prot. Engin., 9:617-621] 참조). 종종 용어 "놉스" 및 "홀즈"는 용어 "돌기" 및 "공동"으로 대체된다. 일부 실시양태에서, 이중특이적 항체는 중쇄들 사이에 디설피드 연결을 형성할 수 없는 변이체 힌지 영역을 포함할 수 있다 (예를 들어, WO 2006/028936 참조). 일부 실시양태에서, 상기 변형은 변경된 정전기 상호작용을 발생시키는 아미노산에서의 변화를 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 상기 변형은 변경된 소수성/친수성 상호작용을 발생시키는 아미노산에서의 변화를 포함할 수 있다.
- [0193] 이중특이적 항체는 항원-결합 부위를 포함하는 무손상 항체 또는 항체 단편일 수 있다. 2가 초과 의 원자가를 갖는 항체 또한 고려된다. 예를 들어, 삼중특이적 항체를 제조할 수 있다 (문헌 [Tutt et al., 1991, J. Immunol., 147:60]). 따라서, 특정 실시양태에서, VEGF 및/또는 DLL4에 대한 항체는 다중특이적이다.
- [0194] 특정 실시양태에서, 본원에 기재된 항체 (또는 다른 폴리펩티드)는 단일특이적일 수 있다. 특정 실시양태에서, 항체에 함유된 1개 이상의 항원-결합 부위 각각은 상이한 단백질 상의 상동성 에피토프에 결합할 수 있거나 또는 그에 결합한다.
- [0195] 특정 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합체는 항체 단편이다. 항체 단편은 무손상 항체와는 상이한 기능 또는 능력을 가질 수 있으며, 예를 들어 항체 단편은 증가된 종양 침투를 가질 수 있다. 항체 단편의 제조를 위한 다양한 기술, 예컨대 이로 제한되는 것은 아니지만 무손상 항체의 단백질분해적 소화가 공지되어 있다. 일부 실시양태에서, 항체 단편은 항체 분자의 펩신 소화에 의해 생성된 F(ab')₂ 단편을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항체 단편은 F(ab')₂ 단편의 디설피드 가교를 감소시킴으로써 생성된 Fab 단편을 포함한다. 다른 실시양태에서, 항체 단편은 항체 분자를 파파인 및 환원제로 처리함으로써 생성된 Fab 단편을 포함한다. 특정 실시양태에서, 항체 단편은 재조합적으로 생산된다. 일부 실시양태에서, 항체 단편은 Fv 또는 단일 쇄 Fv (scFv) 단편을 포함한다. Fab, Fv, 및 scFv 항체 단편은 이들 단편의 다량 제조를 가능하게 하는 이. 콜라이 또는 다른 숙주 세포에서 발현되고 그로부터 분리될 수 있다. 일부 실시양태에서, 항체 단편은 본원에서 논의되는 바와 같이 항체 파지 라이브러리로부터 단리된다. 예를 들어, Fab 발현 라이브러리의 제조를 위한 방법을 이용하여 (문헌 [Huse et al., 1989, Science, 246:1275-1281]), VEGF 및/또는 DLL4 또는 그의 유도체, 단편,

유사체 또는 상동체에 대해 원하는 특이성을 갖는 모노클로날 Fab 단편을 신속하고 효과적으로 확인할 수 있게 한다. 일부 실시양태에서, 항체 단편은 선형 항체 단편이다. 특정 실시양태에서, 항체 단편은 단일특이적 또는 이중특이적이다. 특정 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합체는 scFv이다. VEGF 또는 DLL4에 특이적인 단일-쇄 항체의 제조를 위해 다양한 기술을 이용할 수 있다 (예를 들어, 미국 특허 번호 4,946,778 참조).

[0196] 추가로, 항체 단편의 경우에는 특히 혈청 반감기를 변경시키도록 (예를 들어 증가 또는 감소) 항체를 변형시키는 것이 바람직할 수 있다. 예를 들어, 이는 항체 단편에서 적절한 영역의 돌연변이에 의해 구조(salvage) 수용체 결합 에피토프를 항체 단편에 도입시키거나, 또는 펩티드 태그를 에피토프에 도입한 다음 말단 또는 중간에서 항체 단편에 융합시킴으로써 (예를 들어, DNA 또는 펩티드 합성에 의해) 달성될 수 있다.

[0197] 이중접합체 항체 또한 본 발명의 범위 내에 있다. 이중접합체 항체는 2개의 공유 결합된 항체로 구성된다. 이러한 항체는 예를 들어 원치않는 세포에 대해 면역 세포를 표적화시키기 위해 제안되었다 (예를 들어, 미국 특허 번호 4,676,980 참조). 또한, 이중접합체 항체를 합성 단백질 화학에서 공지된 방법, 예컨대 이들 관련된 가교제를 이용하여 시험관 내에서 제조할 수 있는 것으로 고려된다. 예를 들어, 디설피드 교환 반응을 이용하거나 또는 티오에테르 결합을 형성함으로써 면역독소를 제작할 수 있다. 이에 적합한 시약의 예로는 이미노티올레이트 및 메틸-4-메르캅토부티르이미데이트가 있다.

[0198] 본 발명의 목적을 위해, 변형된 항체가 항체와 표적 (즉, 인간 VEGF 또는 인간 DLL4)의 회합을 제공하는 임의 유형의 가변 영역을 포함할 수 있음을 이해해야 한다. 이와 관련하여, 가변 영역은 원하는 항원에 대한 체액 반응을 증가시켜 이뮤노글로불린을 생성하도록 유도될 수 있는 임의 유형의 포유동물을 포함할 수 있거나 그로부터 유래될 수 있다. 따라서, 변형된 항체의 가변 영역은 예를 들어 인간, 무린, 비-인간 영장류 (예를 들어 시노몰구스 원숭이, 마카크 등) 또는 토끼 기원일 수 있다. 일부 실시양태에서, 변형된 이뮤노글로불린의 가변 및 불변 영역 둘다 인간 기원이다. 다른 실시양태에서, 적합성 항체의 가변 영역 (보통 비-인간 공급원으로부터 유래됨)은 분자의 결합 특성을 개선시키거나 면역원성을 감소시키도록 조직되거나 특이적으로 조정될 수 있다. 이러한 면에서, 본 발명에 유용한 가변 영역은 인간화되거나 또는 도입된 아미노산 서열의 포함을 통해 달리 변경될 수 있다.

[0199] 특정 실시양태에서, 중쇄 및 경쇄 둘 다에서의 가변 도메인은 1개 이상의 CDR의 적어도 부분적인 교체에 의해, 경우에 따라 부분 프레임워크 영역 교체 및 서열 변형 및/또는 변경에 의해 변경된다. CDR은 프레임워크 영역이 유래된 항체와 동일한 부류인 항체 또는 심지어 하위부류로부터 유래될 수 있지만, CDR이 상이한 부류의 항체로부터 및 종종 상이한 종의 항체로부터 유래될 수 있음이 예상된다. 한 가변 도메인의 항원 결합 능력을 다른 것으로 전달시키기 위해 모든 CDR을 공여자 가변 영역으로부터의 모든 CDR로 교체할 필요는 없을 수 있다. 오히려, 항원-결합 부위의 활성을 유지하기 위해 필요한 이들 잔기만을 전달하는 것이 필요할 수 있다.

[0200] 가변 영역의 변경에도 불구하고, 당업자는 본 발명의 변형된 항체가, 천연 또는 변경되지 않은 불변 영역을 포함하는 대략 동일한 면역원성을 갖는 항체와 비교할 때 원하는 생화학적 특성, 예컨대 증가된 중앙 국제화 또는 증가된 혈청 반감기를 제공하도록 적어도 1개 이상의 불변 영역 도메인의 분획이 결실되거나 달리 변경된 항체 (예를 들어, 전장 항체 또는 그의 면역반응성 단편)를 포함할 것임을 이해할 것이다. 일부 실시양태에서, 변형된 항체의 불변 영역은 인간 불변 영역을 포함할 것이다. 본 발명에 적합성인 불변 영역에 대한 변형은 1개 이상의 도메인에서 1개 이상의 아미노산의 추가, 결실 또는 치환을 포함한다. 본원에 개시된 변형된 항체는 3개의 중쇄 불변 도메인 (CH1, CH2 또는 CH3) 중 1개 이상에 대해 및/또는 경쇄 불변 도메인 (CL)에 대해 변경 또는 변형을 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 변형된 항체의 불변 영역으로부터 1개 이상의 도메인이 부분적으로 또는 전체적으로 결실된다. 일부 실시양태에서, 변형된 항체는 전체 CH2 도메인이 제거된 (Δ CH2 구축물) 도메인 결실된 구축물 또는 변이체를 포함할 것이다. 일부 실시양태에서, 누락된 불변 영역 도메인은 부재하는 불변 영역에 의해 전형적으로 부여되는 분자 가요성의 일부를 제공하는 짧은 아미노산 스페이서 (예를 들어, 10개의 아미노산 잔기)로 교체된다.

[0201] 일부 실시양태에서, 변형된 항체는 CH3 도메인이 항체의 힌지 영역에 직접 융합하도록 조작된다. 다른 실시양태에서, 펩티드 스페이서를 힌지 영역과 변형된 CH2 및/또는 CH3 도메인 사이에 삽입한다. 예를 들어, CH2 도메인이 결실되고 나머지 CH3 도메인 (변형되거나 변형되지 않은)이 5-20개의 아미노산 스페이서를 갖는 힌지 영역에 결합된 구축물이 발현될 수 있다. 이러한 스페이서를 첨가하여, 불변 도메인의 조절 요소가 유리되고 접근가능하게 유지되거나, 또는 힌지 영역이 가요성으로 유지되도록 보장할 수 있다. 그러나, 일부 경우에는 아미노산 스페이서가 면역원성이어서 구축물에 대해 원치않는 면역 반응을 유도할 수 있음을 주목해야 한다. 따라서, 특정 실시양태에서, 구축물에 첨가된 임의의 스페이서는 변형된 항체의 원하는 생물학적 질을 유지하도록

비교적 비-면역원성일 것이다.

- [0202] 일부 실시양태에서, 변형된 항체는 불변 도메인의 부분 치환만을 또는 수개의 또는 심지어 단일 아미노산의 치환만을 가질 수 있다. 예를 들어, CH2 도메인의 선택된 영역에서 단일 아미노산의 돌연변이는 Fc 결합을 실질적으로 감소시켜 암 세포 국제화 및/또는 종양 침투를 증가시키는데 충분할 수 있다. 유사하게, 조정하고자 하는 특이적 이펙터 기능 (예를 들어, 상보성 C1q 결합)을 조절하는 1개 이상의 불변 영역 도메인의 일부분을 단순히 결실시키는 것이 바람직할 수 있다. 불변 영역의 이러한 부분 결실은 항체의 선택된 특성 (혈청 반감기)을 개선시킬 수 있는 반면에, 대상체 불변 영역 도메인 무손상과 관련된 다른 바람직한 기능은 유지시킨다. 더욱이, 상기 언급한 바와 같이, 개시된 항체의 불변 영역은 생성된 구축물의 프로파일을 개선시키는 1개 이상의 아미노산의 돌연변이 또는 치환을 통해 변형될 수 있다. 이러한 면에서, 보존된 결합 부위 (예를 들어, Fc 결합)에 의해 제공되는 활성을 방해하는 반면에, 변형된 항체의 배위 및 면역원성 프로파일은 실질적으로 유지시키는 것이 가능할 수 있다. 특정 실시양태에서, 변형된 항체는 목적하는 특성, 예컨대 이펙터 기능의 감소 또는 증가를 개선시키거나 또는 더 많은 세포독소 또는 탄수화물 부착 부위를 제공하도록 불변 영역에 1개 이상의 아미노산의 추가를 포함한다.
- [0203] 불변 영역이 몇몇 이펙터 기능을 매개한다는 것이 당업계에 공지되어 있다. 예를 들어, IgG 또는 IgM 항체 (항원에 결합됨)의 Fc 영역에 상보적인 C1 성분의 결합은 보체계를 활성화시킨다. 상보체의 활성화는 세포 병원체의 옹소닌화 및 용해에 중요하다. 상보체의 활성화는 또한 염증 반응을 자극하고, 또한 자가면역 과민증과 관련이 있을 수 있다. 또한, 항체의 Fc 영역은 Fc 수용체 (FcR)를 발현하는 세포에 결합한다. 상이한 부류의 항체에 특이적인 수많은 Fc 수용체, 예컨대 IgG (감마 수용체), IgE (엡실론 수용체), IgA (알파 수용체) 및 IgM (뮤 수용체)이 있다. 항체와 세포 표면 상의 Fc 수용체의 결합은 수많은 중요하고 다양한 생물학적 반응, 예컨대 항체-코팅된 입자의 포식 및 파괴, 면역 복합체의 청소, 항체-코팅된 표적 세포의 킬러 세포 (항체-의존성 세포 세포독성 또는 ADCC로 지칭됨)에 의한 용해, 염증 매개물의 방출, 태반 전달, 및 이뮤노글로불린 제조의 조절을 촉발시킨다.
- [0204] 특정 실시양태에서, 변형된 항체는 투여된 항체의 생물학적 프로파일에 영향을 미치는 변경된 이펙터 기능을 제공한다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 불변 영역 도메인의 (점 돌연변이 또는 다른 수단을 통한) 결실 또는 불활성화는 순환 변형된 항체의 Fc 수용체 결합을 감소시켜, 암 세포 국제화 및/또는 종양 침투를 증가시킬 수 있다. 다른 실시양태에서, 불변 영역 변형은 항체의 혈청 반감기를 증가시킨다. 다른 실시양태에서, 불변 영역 변형은 항체의 혈청 반감기를 감소시킨다. 일부 실시양태에서, 디설피드 연결 또는 올리고사카라이드 모이 어티를 제거하도록 불변 영역을 변형시킨다. 본 발명에 따른 불변 영역의 변형은 당업자에게 널리 공지된 생화학적 또는 분자 조작 기술을 이용하여 용이하게 이루어질 수 있다.
- [0205] 특정 실시양태에서, 항체인 VEGF/DLL4-결합제는 1개 이상의 이펙터 기능을 갖지 않는다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 항체는 ADCC 활성을 갖지 않고/않거나, 상보체-의존성 세포독성 (CDC) 활성을 갖지 않는다. 특정 실시양태에서, 항체는 Fc 수용체 및/또는 보체 인자에 결합하지 않는다. 특정 실시양태에서, 항체는 이펙터 기능을 갖지 않는다.
- [0206] 본 발명은 추가로 본원에 설명된 키메라, 인간화, 및 인간 항체, 또는 항체 그의 단편과 실질적으로 상동성인 변이체 및 등가물을 포함한다. 이들은 예를 들어 보존적 치환 돌연변이, 즉 1개 이상의 아미노산의 유사한 아미노산으로의 치환을 함유할 수 있다. 예를 들어, 보존적 치환은 동일한 일반 부류 내에서의 아미노산의 또다른 아미노산으로의 치환, 예를 들어 1개의 산성 아미노산의 또다른 산성 아미노산으로의 치환, 1개의 염기성 아미노산의 또다른 염기성 아미노산으로의 치환, 또는 1개의 중성 아미노산의 또다른 중성 아미노산으로의 치환을 지칭한다. 보존적 아미노산 치환에 의해 의도되는 것은 당업계에 널리 공지되어 있으며 본원에 기재된다.
- [0207] 따라서, 본 발명은 VEGF 및/또는 DLL4에 결합하는 항체, 예컨대 VEGF 및 DLL4 둘 다에 특이적으로 결합하는 이중특이적 항체를 생산하는 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, VEGF 및/또는 DLL4에 결합하는 항체를 생산하는 방법은 하이브리도마 기술을 이용하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, VEGF 또는 DLL4에 결합하는 항체 또는 VEGF 및 DLL4에 결합하는 이중특이적 항체를 생산하는 방법은 인간 파지 라이브러리의 스크리닝을 포함한다. 추가로, 본 발명은 VEGF 및/또는 DLL4에 결합하는 항체를 확인하는 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 항체는 VEGF 또는 그의 일부분으로의 결합에 대한 FACS 스크리닝에 의해 확인된다. 일부 실시양태에서, 항체는 DLL4 또는 그의 일부분으로의 결합에 대한 FACS 스크리닝에 의해 확인된다. 일부 실시양태에서, 항체는 VEGF 및 DLL4 또는 그의 일부분 둘 다로의 결합에 대한 FACS 스크리닝에 의해 확인된다. 일부 실시양태에서, 항체는 VEGF로의 결합에 대한 ELISA를 이용한 스크리닝에 의해 확인된다. 일부 실시양태에서, 항체는 DLL4로의 결합에

대한 ELISA를 이용한 스크리닝에 의해 확인된다. 일부 실시양태에서, 항체는 VEGF 및 DLL4로의 결합에 대한 ELISA를 이용한 스크리닝에 의해 확인된다. 일부 실시양태에서, 항체는 인간 VEGF의 인간 VEGF 수용체로의 결합의 차단에 대한 FACS 스크리닝에 의해 확인된다. 일부 실시양태에서, 항체는 인간 DLL4의 인간 노치 수용체로의 결합의 차단에 대한 FACS 스크리닝에 의해 확인된다. 일부 실시양태에서, 항체는 노치 신호전달의 억제 또는 차단에 대한 스크리닝에 의해 확인된다. 일부 실시양태에서, 항체는 VEGF 활성 (예를 들어, HUVEC 증식의 유도)의 억제 또는 차단에 대한 스크리닝에 의해 확인된다. 일부 실시양태에서, 항체는 혈관생성의 조절에 대한 스크리닝에 의해 확인된다.

[0208] 일부 실시양태에서, 인간 VEGF에 대한 항체를 생산하는 방법은 포유동물을 인간 VEGF의 아미노산 27-232를 포함하는 폴리펩티드로면역화시키는 방법을 포함한다. 일부 실시양태에서, 인간 VEGF에 대한 항체를 생산하는 방법은 포유동물을 인간 VEGF의 아미노산 27-232의 적어도 일부분을 포함하는 폴리펩티드로면역화시키는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 상기 방법은 추가로 포유동물로부터 항체 또는 항체-생산 세포를 단리시키는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, VEGF에 결합하는 모노클로날 항체를 생산하는 방법은 포유동물을 인간 VEGF의 아미노산 27-232의 적어도 일부분을 포함하는 폴리펩티드로면역화시키고, 면역화된 포유동물로부터 항체-생산 세포를 단리하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 상기 방법은 추가로 항체-생산 세포를 골수종 세포주의 세포와 융합시켜 하이브리도마 세포를 형성하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 상기 방법은 추가로 VEGF에 결합하는 항체를 발현하는 하이브리도마 세포를 선별하는 것을 포함한다. 특정 실시양태에서, 포유동물은 마우스이다. 일부 실시양태에서, 항체는 인간 VEGF의 아미노산 27-232의 적어도 일부분을 포함하는 폴리펩티드를 이용하여 선별된다.

[0209] 일부 실시양태에서, 인간 DLL4에 대한 항체를 생산하는 방법은 포유동물을 인간 DLL4의 아미노산 27-529를 포함하는 폴리펩티드로면역화시키는 방법을 포함한다. 일부 실시양태에서, 인간 DLL4에 대한 항체를 생산하는 방법은 포유동물을 인간 DLL4의 아미노산 27-529의 적어도 일부분을 포함하는 폴리펩티드로면역화시키는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, DLL4에 결합하는 모노클로날 항체를 생산하는 방법은 포유동물을 인간 DLL4의 아미노산 27-529의 적어도 일부분을 포함하는 폴리펩티드로면역화시키고, 면역화된 포유동물로부터 항체-생산 세포를 단리하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 상기 방법은 추가로 항체-생산 세포를 골수종 세포주의 세포와 융합시켜 하이브리도마 세포를 형성하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 상기 방법은 추가로 DLL4에 결합하는 항체를 발현하는 하이브리도마 세포를 선별하는 것을 포함한다. 특정 실시양태에서, 포유동물은 마우스이다. 일부 실시양태에서, 항체는 인간 DLL4의 아미노산 27-529의 적어도 일부분을 포함하는 폴리펩티드를 이용하여 선별된다.

[0210] 일부 실시양태에서, 인간 VEGF에 대한 항체를 생산하는 방법은 인간 VEGF에 결합하는 항체에 대한 항체-발현 라이브러리를 스크리닝하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 인간 DLL4에 대한 항체를 생성하는 방법은 인간 DLL4에 결합하는 항체에 대한 항체-발현 라이브러리를 스크리닝하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 인간 VEGF 및/또는 인간 DLL4에 대한 항체를 생산하는 방법은 인간 VEGF 및 인간 DLL4에 결합하는 이중특이적 항체에 대한 항체-발현 라이브러리를 스크리닝하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항체-발현 라이브러리는 파지 라이브러리이다. 일부 실시양태에서, 스크리닝은 패닝을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항체-발현 라이브러리 (예를 들어, 파지 라이브러리)를 인간 VEGF의 아미노산 27-232의 적어도 일부분을 이용하여 스크리닝한다. 일부 실시양태에서, 제1 스크리닝으로 확인된 항체를 인간 DLL4의 아미노산 27-529의 적어도 일부분을 이용하여 다시 스크리닝하여, VEGF 및 DLL4에 결합하는 이중특이적 항체를 확인한다. 일부 실시양태에서, 항체-발현 라이브러리 (예를 들어, 파지 라이브러리)를 인간 DLL4의 아미노산 27-529의 적어도 일부분을 이용하여 스크리닝한다. 일부 실시양태에서, 제1 스크리닝으로 확인된 항체를 인간 VEGF의 아미노산 27-232의 적어도 일부분을 이용하여 다시 스크리닝하여, VEGF 및 DLL4에 결합하는 이중특이적 항체를 확인한다. 일부 실시양태에서, 스크리닝으로 확인된 항체는 VEGF 길항제이다. 일부 실시양태에서, 스크리닝으로 확인된 항체는 VEGF에 의해 유도된 생물학적 활성을 억제한다. 일부 실시양태에서, 스크리닝으로 확인된 항체는 DLL4 길항제이다. 일부 실시양태에서, 스크리닝으로 확인된 항체는 DLL4에 의해 유도된 노치 신호전달을 억제한다. 일부 실시양태에서, 스크리닝으로 확인된 항체는 인간 VEGF 및 마우스 VEGF 둘 다에 결합한다. 일부 실시양태에서, 스크리닝으로 확인된 항체는 인간 DLL4 및 마우스 DLL4 둘 다에 결합한다.

[0211] 특정 실시양태에서, 본원에 기재된 항체는 단리된다. 특정 실시양태에서, 본원에 기재된 항체는 실질적으로 순수하다.

[0212] 본 발명의 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합체는 폴리펩티드이다. 폴리펩티드는 VEGF 및/또는 DLL4에 결합하는 항체, 또는 그의 단편을 포함하는 재조합 폴리펩티드, 천연 폴리펩티드, 또는 합성 폴리펩티드일 수 있다.

본원에 기재된 결합체의 일부 아미노산 서열은 단백질의 구조 또는 기능에 대한 유의한 효과 없이 달라질 수 있다는 것이 당업계에 인정될 것이다. 따라서, 본 발명은 실질적인 활성을 나타내거나 또는 인간 VEGF 및/또는 DLL4에 대한 항체, 또는 그의 단편의 영역을 포함하는 폴리펩티드의 변형을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합 폴리펩티드의 아미노산 서열 변화는 결실, 삽입, 전위, 반복, 및/또는 다른 유형의 치환을 포함한다.

[0213] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 폴리펩티드는 단리된다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 폴리펩티드는 실질적으로 순수하다.

[0214] 폴리펩티드, 그의 유사체 및 변이체는 일반적으로 폴리펩티드의 일부가 아닌 추가의 화학적 모이어티를 함유하도록 추가로 변형될 수 있다. 유도체화 모이어티는 폴리펩티드의 용해도, 생물학적 반감기, 및/또는 흡수를 개선시키거나 또는 달리 변경시킬 수 있다. 모이어티는 또한 폴리펩티드 및 변이체의 바람직하지 않은 부작용을 감소시키거나 또는 제거시킬 수 있다. 화학적 모이어티의 개관은 문헌 [Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21st Edition, 2005, University of the Sciences, Philadelphia, PA]에서 찾아볼 수 있다.

[0215] 본원에 기재된 폴리펩티드는 당업계에 공지된 임의의 적합한 방법에 의해 생성될 수 있다. 이러한 방법은 직접 단백질 합성 방법 내지 폴리펩티드 서열을 코딩하는 DNA 서열의 구축 및 이들 서열을 적합한 숙주에서 발현시키는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, DNA 서열은 재조합 기술을 사용하여 관심의 야생형 단백질을 코딩하는 DNA 서열을 단리시키거나 또는 합성함으로써 구축된다. 임의로, 서열은 부위-특이적 돌연변이유발에 의해 돌연변이유발되어 그의 기능적 유사체를 제공할 수 있다. 예를 들면, 문헌 [Zoeller et al., 1984, PNAS, 81:5662-5066] 및 미국 특허 제4,588,585호를 참조한다.

[0216] 일부 실시양태에서, 관심 폴리펩티드를 코딩하는 DNA 서열은 올리고뉴클레오티드 합성기를 사용하여 화학적 합성에 의해 구축될 수 있다. 올리고뉴클레오티드는 원하는 폴리펩티드의 아미노산 서열을 기반으로, 그리고 재조합 관심 폴리펩티드가 생성될 숙주 세포에서 유리한 이들 코돈을 선택함으로써 설계될 수 있다. 표준 방법은 단리된 관심 폴리펩티드를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열을 합성하기 위해 적용될 수 있다. 예를 들어, 완전한 아미노산 서열이 역-번역 유전자를 구축하기 위해 사용될 수 있다. 추가로, 특정 단리된 폴리펩티드를 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 함유하는 DNA 올리고머가 합성될 수 있다. 예를 들어, 다수의 원하는 폴리펩티드의 일부를 코딩하는 작은 올리고뉴클레오티드가 합성되고, 이어서 라이게이션될 수 있다. 개별 올리고뉴클레오티드는 전형적으로 상보적 어셈블리에 대해 5' 또는 3' 오버행을 함유한다.

[0217] 조립된 후 (합성, 부위-지정 돌연변이유발, 또는 또다른 방법에 의함), 특정 관심 폴리펩티드를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열은 발현 벡터 내에 삽입되고, 원하는 숙주에서의 단백질의 발현을 위해 적절한 발현 제어 서열에 작동가능하게 연결될 수 있다. 제대로 된 어셈블리는 적합한 숙주에서의 생물학적 활성 폴리펩티드의 뉴클레오티드 서열분석, 제한 효소 맵핑, 및/또는 발현에 의해 확인될 수 있다. 당업계에 공지된 바와 같이, 숙주에서의 형질감염된 유전자의 높은 발현 수준을 수득하기 위해, 유전자는 선택된 발현 숙주에서 기능적인 전사 및 번역 발현 제어 서열에 작동가능하게 연결되어야 한다.

[0218] 특정 실시양태에서, 재조합 발현 벡터는 인간 VEGF 및/또는 DLL4에 대한 항체, 또는 그의 단편을 코딩하는 DNA를 증폭 및 발현시키기 위해 사용된다. 예를 들어, 재조합 발현 벡터는 포유동물, 미생물, 바이러스, 또는 곤충 유전자로부터 유도된 적합한 전사 및/또는 번역 조절 요소에 작동가능하게 연결된 VEGF/DLL4-결합체, 예컨대 항-VEGF 항체 또는 항-DLL4 항체, 또는 그의 단편의 폴리펩티드 쇄를 코딩하는 합성 또는 cDNA-유래된 DNA 단편을 갖는 복제가능한 DNA 구축물일 수 있다. 전사 단위는 일반적으로 (1) 유전적 요소 또는 유전자 발현에서 조절 역할을 갖는 요소, 예를 들어 전사 프로모터 또는 인핸서, (2) mRNA로 전사되고, 단백질로 번역되는 구조적 또는 코딩 서열, 및 (3) 적절한 전사 및 번역 개시 및 종결 서열의 어셈블리를 포함한다. 조절 요소는 전사를 조절하기 위한 오퍼레이터 서열을 포함할 수 있다. 대체로 복제 기점에 의해 부여되는 숙주에서 복제할 수 있는 능력 및 형질전환체의 인식을 촉진하기 위한 선택 유전자가 추가로 도입될 수 있다. DNA 영역은 이들이 서로 기능적으로 관련된 경우 "작동가능하게 연결"된다. 예를 들어, 신호 펩티드 (분비 리더)에 대한 DNA는 폴리펩티드의 분비에 참여하는 전구체로서 발현된 경우 폴리펩티드에 대해 DNA에 작동가능하게 연결되며; 프로모터는 서열의 전사를 조절하는 경우 코딩 서열에 작동가능하게 연결되거나; 또는 리보솜 결합 부위는 번역이 허용되도록 위치된 경우 코딩 서열에 작동가능하게 연결된다. 일부 실시양태에서, 효모 발현 시스템에서의 사용을 위해 의도된 구조적 요소는 숙주 세포에 의해 번역된 단백질의 세포외 분비를 가능하게 하는 리더 서열을 포함한다. 다른 실시양태에서, 재조합 단백질이 리더 또는 운반 서열 없이 발현된 경우, 이는 N-말단 메티오닌 잔기를 포함할 수 있다. 이 잔기는 임의로 후속적으로 최종 생성물을 제공하기 위해 발현된 재조합 단백질로부터

절단될 수 있다.

- [0219] 발현 제어 서열 및 발현 벡터의 선택은 숙주의 선택에 의존한다. 매우 다양한 발현 숙주/벡터 조합이 사용될 수 있다. 진핵 숙주에 대한 유용한 발현 벡터는 예를 들어, SV40, 소 유두종 바이러스, 아데노바이러스, 및 시토크롬 b 바이러스로부터의 발현 제어 서열을 포함하는 벡터를 포함한다. 박테리아 숙주에 대한 유용한 발현 벡터는 공지된 박테리아 플라스미드, 예컨대 pCR1, pBR322, pMB9를 비롯한 이. 콜라이로부터의 플라스미드, 및 그의 유도체, 및 더 넓은 숙주 범위 플라스미드, 예컨대 M13 및 다른 필라멘트형 단일-가닥 DNA 과자를 포함한다.
- [0220] 본 발명의 VEGF/DLL4-결합체 (예를 들어, 폴리펩티드)는 하나 이상의 벡터로부터 발현될 수 있다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 1개의 중쇄 폴리펩티드는 제1 벡터에 의해 발현되며, 제2 중쇄 폴리펩티드는 제2 벡터에 의해 발현되며, 경쇄 폴리펩티드는 제3 벡터에 의해 발현된다. 일부 실시양태에서, 제1 중쇄 폴리펩티드 및 경쇄 폴리펩티드는 제1 벡터에 의해 발현되며, 제2 중쇄 폴리펩티드는 제2 벡터에 의해 발현된다. 일부 실시양태에서, 2개의 중쇄 폴리펩티드는 제1 벡터에 의해 발현되며, 경쇄 폴리펩티드는 제2 벡터에 의해 발현된다. 일부 실시양태에서, 3개의 폴리펩티드는 제1 벡터로부터 발현된다. 따라서, 일부 실시양태에서, 제1 중쇄 폴리펩티드, 제2 중쇄 폴리펩티드, 및 경쇄 폴리펩티드는 단일 벡터에 의해 발현된다.
- [0221] VEGF/DLL4-결합 폴리펩티드 또는 항체 (또는 항원으로서 사용하기 위한 VEGF 또는 DLL4 단백질)의 발현을 위한 적합한 숙주 세포는 적절한 프로모터의 조절하의 원핵생물, 효모 세포, 곤충 세포, 또는 고등 진핵 세포를 포함한다. 원핵생물은 그람-음성 또는 그람-양성 유기체, 예를 들면 이. 콜라이 또는 바실러스(*Bacillus*)를 포함한다. 고등 진핵 세포는 하기 기재된 바와 같은 포유동물 기원의 확립된 세포주를 포함한다. 무 세포 번역 시스템이 또한 사용될 수 있다. 박테리아, 진균, 효모, 및 포유동물 세포 숙주로 사용하기 위한 적절한 클로닝 및 발현 벡터는 문헌 [Pouwels et al., 1985, Cloning Vectors: A Laboratory Manual, Elsevier, New York, NY] 에 기재되어 있다. 단백질 제조 방법에 대한 추가의 정보는 항체 제조를 포함하며, 예를 들면 미국 특허 공개 번호 2008/0187954; 미국 특허 번호 6,413,746; 6,660,501; 및 국제 특허 공개 번호 WO 04/009823에서 찾아볼 수 있다.
- [0222] 다양한 포유동물 또는 곤충 세포 배양 시스템이 재조합 폴리펩티드를 발현시키기 위해 사용될 수 있다. 포유동물 세포에서의 재조합 단백질의 발현은 이들 단백질은 일반적으로 정확하게 폴딩되어 있으며, 적절하게 변경되어 있으며, 생물학적으로 기능적이기 때문에 바람직할 수 있다. 적합한 포유동물 숙주 세포주의 예는 COS-7 (원숭이 신장-유래됨), L-929 (뮤린 섬유모세포-유래됨), C127 (뮤린 유선 종양-유래됨), 3T3 (뮤린 섬유모세포-유래됨), CHO (차이니스 햄스터 난소-유래됨), HeLa (인간 자궁경부암-유래됨), BHK (햄스터 신장 섬유모세포-유래됨), HEK-293 (인간 배아 신장-유래됨) 세포주 및 이들 세포주의 변이체를 포함하나, 이들로 한정되지는 않는다. 포유동물 발현 벡터는 비-전사 요소, 예컨대 복제 기점, 적합한 프로모터 및 발현될 유전자에 연결된 인핸서, 및 다른 5' 또는 3' 인접(flanking) 비-전사 서열, 및 5' 또는 3' 비-번역 서열, 예컨대 필수 리보솜 결합 부위, 폴리아데닐화 부위, 스플라이스 공여자 및 수용자 부위, 및 전사 종결 서열을 포함할 수 있다. 바칼로바이러스에서의 재조합 단백질의 발현은 또한 정확하게 폴딩되고, 생물학적으로 기능적 단백질의 확고한 생산 방법을 제공한다. 곤충 세포에서의 이종 단백질의 제조를 위한 바칼로바이러스 시스템은 당업자에게 공지되어 있다 (예를 들면, 문헌 [Luckow and Summers, 1988, Bio/Technology, 6:47]를 참조한다).
- [0223] 따라서, 본 발명은 본원에 기재된 VEGF/DLL4-결합체를 포함하는 세포를 제공한다. 일부 실시양태에서, 세포는 본원에 기재된 VEGF/DLL4-결합체를 생성한다. 특정 실시양태에서, 세포는 항체를 생성한다. 일부 실시양태에서, 세포는 VEGF-결합체, 예컨대 항-VEGF 항체를 생성한다. 일부 실시양태에서, 세포는 VEGF에 결합하는 이중 특이적 항체를 생성한다. 일부 실시양태에서, 세포는 DLL4-결합체, 예컨대 항-DLL4 항체를 생성한다. 일부 실시양태에서, 세포는 DLL4에 결합하는 이중특이적 항체를 생성한다. 특정 실시양태에서, 세포는 이중특이적 VEGF/DLL4-결합체, 예컨대 VEGF 및 DLL4에 결합하는 이중특이적 항체를 생성한다. 특정 실시양태에서, 세포는 항체 21R45를 생성한다. 특정 실시양태에서, 세포는 항체 21R79를 생성한다. 특정 실시양태에서, 세포는 항체 21R75를 생성한다. 특정 실시양태에서, 세포는 항체 21R83을 생성한다. 특정 실시양태에서, 세포는 항체 21R45로부터의 항원-결합 부위를 포함하는 이중특이적 항체를 생성한다. 특정 실시양태에서, 세포는 항체 21R79로부터의 항원-결합 부위를 포함하는 이중특이적 항체를 생성한다. 특정 실시양태에서, 세포는 항체 21R75로부터의 항원-결합 부위를 포함하는 이중특이적 항체를 생성한다. 특정 실시양태에서, 세포는 항체 21R83으로부터의 항원-결합 부위를 포함하는 이중특이적 항체를 생성한다. 특정 실시양태에서, 세포는 항체 21R45로부터의 항원-결합 부위 및 항체 21R79로부터의 항원-결합 부위를 포함하는 이중특이적 항체를 생성한다. 특정 실시양태에서, 세포는 항체 21R45로부터의 항원-결합 부위 및 항체 21M18로부터의 항원-결합 부위를 포함하는 이중특이적 항체를 생성한다. 특정 실시양태에서, 세포는 항체 21R45로부터의 항원-결합 부

위 및 항체 21R75로부터의 항원-결합 부위를 포함하는 이중특이적 항체를 생성한다. 특정 실시양태에서, 세포는 항체 21R45로부터의 항원-결합 부위 및 항체 21R83으로부터의 항원-결합 부위를 포함하는 이중특이적 항체를 생성한다. 특정 실시양태에서, 세포는 이중특이적 항체 21R45-MB-21M18을 생성한다. 특정 실시양태에서, 세포는 이중특이적 항체 21R45-MB-21R79를 생성한다. 특정 실시양태에서, 세포는 이중특이적 항체 21R45-MB-21R75를 생성한다. 특정 실시양태에서, 세포는 이중특이적 항체 21R45-MB-21R83을 생성한다.

[0224] 형질전환 숙주에 의해 생성된 단백질은 임의의 적합한 방법에 따라 정제될 수 있다. 표준 방법은 크로마토그래피 (예를 들어, 이온 교환, 친화도, 및 크기 칼럼 크로마토그래피), 원심분리, 감별 용해도, 또는 단백질 정제를 위한 임의의 다른 표준 기술에 의한 방법을 포함한다. 친화성 태그, 예컨대 핵사-히스티딘, 말토스 결합 도메인, 인플루엔자 코트(coat) 서열, 및 글루타티온-S-트랜스퍼라제는 단백질에 부착되어 적절한 친화도 칼럼 상의 통과에 의한 용이한 정제를 가능하게 할 수 있다. 이뮤노글로불린을 정제하기 위해 사용되는 친화성 크로마토그래피는 단백질 A, 단백질 G, 및 단백질 L 크로마토그래피를 포함할 수 있다. 단리된 단백질은 물리적으로 단백질분해, 크기 배제 크로마토그래피 (SEC), 질량 분광측정법 (MS), 핵 자기 공명 (NMR), 등전 포커싱 (IEF), 고성능 액체 크로마토그래피 (HPLC), 및 x-선 결정학을 비롯한 기술을 사용하여 특징지어질 수 있다. 단리된 단백질의 순도는 SDS-PAGE, SEC, 모세관 겔 전기영동법, IEF, 및 모세관 등전 포커싱 (cIEF)을 포함하나, 이들로 한정되지는 않는 당업자에게 공지된 기술을 사용하여 결정될 수 있다.

[0225] 일부 실시양태에서, 배양 배지 내에 재조합 단백질을 분비하는 발현 시스템으로부터의 상청액은 먼저 상업적으로 입수가능한 단백질 농축 필터, 예를 들어 아미콘(Amicon) 또는 밀리포어 펠리콘(Millipore Pellicon) 한외여과 유닛을 사용하여 농축될 수 있다. 농축 단계 후, 농축액은 적합한 정제 매트릭스에 적용될 수 있다. 일부 실시양태에서, 음이온 교환 수지, 예를 들어 펜던트(pendant) 디에틸아미노에틸 (DEAE) 기를 갖는 매트릭스 또는 기재가 사용될 수 있다. 매트릭스는 아크릴아미드, 아가로스, 텍스트란, 셀룰로스, 또는 단백질 정제에 흔히 사용되는 다른 유형일 수 있다. 일부 실시양태에서, 양이온 교환 단계가 사용될 수 있다. 적합한 양이온 교환기는 술포프로필 또는 카르복시메틸 기를 포함하는 다양한 불용성 매트릭스를 포함한다. 일부 실시양태에서, 세라믹 히드록시아파타이트 (CHT)를 포함하나, 이로 한정되지는 않는 히드록시아파타이트 배지가 사용될 수 있다. 특정 실시양태에서, 소수성 RP-HPLC 배지, 예를 들면 펜던트 메틸 또는 다른 지방족 기를 갖는 실리카 겔을 사용하는 하나 이상의 역상 HPLC 단계가 추가로 재조합 단백질 (예를 들어, VEGF/DLL4-결합체)을 정제하기 위해 사용될 수 있다. 상기 정제 단계의 일부 또는 모두가, 다양한 조합으로 균질 재조합 단백질을 제공하기 위해 사용될 수 있다.

[0226] 일부 실시양태에서, 이중이량체 단백질, 예컨대 이중특이적 항체는 본원에 기재된 임의의 방법에 따라 정제된다. 일부 실시양태에서, 항-VEGF/항-DLL4 이중특이적 항체는 단리되고/되거나 하나 이상의 크로마토그래피 단계를 사용하여 정제된다. 일부 실시양태에서, 하나 이상의 크로마토그래피 단계는 친화성 크로마토그래피를 포함한다. 일부 실시양태에서, 하나 이상의 크로마토그래피 단계는 추가로 음이온 교환 크로마토그래피를 포함한다. 일부 실시양태에서, 단리되고/되거나 정제된 항체 생성물은 90% 이상의 이중이량체 항체를 포함한다. 일부 실시양태에서, 단리되고/되거나 정제된 항체 생성물은 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 이상의 이중이량체 항체를 포함한다. 일부 실시양태에서, 단리되고/되거나 정제된 항체 생성물은 약 100% 이중이량체 항체를 포함한다.

[0227] 일부 실시양태에서, 박테리아 배양물에서 생성된 재조합 단백질은 예를 들어, 세포 펠릿으로부터의 초기 추출, 이어서 하나 이상의 농축, 염석(salting-out), 수성 이온 교환, 또는 크기 배제 크로마토그래피 단계에 의해 단리될 수 있다. HPLC는 최종 정제 단계를 위해 사용될 수 있다. 재조합 단백질의 발현에 사용된 미생물 세포는 동결-용해 주기, 음파처리, 기계적 파괴, 또는 세포 용균 작용제의 사용을 비롯한 임의의 편리한 방법에 의해 파괴될 수 있다.

[0228] 항체 및 다른 단백질을 정제하기 위한 당업계에 공지된 방법은 또한 예를 들어, 미국 특허 공개 번호 2008/0312425; 2008/0177048; 및 2009/0187005에 기재된 방법을 포함한다.

[0229] 특정 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합체는 항체가 아닌 폴리펩티드이다. 단백질 표적에 높은 친화도로 결합하는 비-항체 폴리펩티드의 식별 및 생성을 위한 다양한 방법은 당업계에 공지되어 있다. 예를 들면, 문헌 [Skerra, 2007, Curr. Opin. Biotechnol., 18:295-304]; [Hosse et al., 2006, Protein Science, 15:14-27]; [Gill et al., 2006, Curr. Opin. Biotechnol., 17:653-658]; [Nygren, 2008, FEBS J., 275:2668-76]; 및 [Skerra, 2008, FEBS J., 275:2677-83]을 참조한다. 특정 실시양태에서, 파지 또는 포유동물 세포 디스플레이 기술이 항체가 아닌 VEGF/DLL4-결합 폴리펩티드를 생성하고/하거나 식별하기 위해 사용될 수 있다. 특정 실시양태에서,

폴리펩티드는 단백질 A, 단백질 G, 리포칼린, 피브로넥틴 도메인, 안키린 컨센서스 반복 도메인, 및 티오레독신으로 이루어진 군으로부터 선택된 유형의 단백질 스캐폴드를 포함한다.

[0230] 특정 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합제 또는 항체는 다수의 접합 (즉, 면역접합체 또는 방사성접합체) 또는 비-접합 형태 중 임의의 하나에서 사용될 수 있다. 특정 실시양태에서, 항체는 악성 또는 암 세포를 제거하기 위한 보완-의존성 세포독성 및 항체-의존성 세포 독성을 포함하는 대상체의 천연 방어 메커니즘을 이용하기 위해 비-접합 형태로 사용될 수 있다.

[0231] 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합제 (예를 들어, 항체 또는 폴리펩티드)는 세포독성체에 접합된다. 일부 실시양태에서, 세포독성체는 메토티렉세이트, 아드리아미신, 독소루비신, 멜팔란, 미토마이신 C, 클로람부실, 다우노루비신 또는 다른 삽입제를 포함하나, 이들로 한정되지는 않는 화학요법제이다. 일부 실시양태에서, 세포독성제는 디프테리아 A 쇄, 디프테리아 독소의 비-결합 활성 단편, 외독소 A 쇄, 리신 A 쇄, 아브린 A 쇄, 모데신 A 쇄, 알파-사르신, 알레우라이트스 포르디이(Aleurites fordii) 단백질, 디안틴 단백질, 피토라카 아메리카나(Phytolaca americana) 단백질 (PAPI, PAPII, 및 PAP-S), 모모르디카 차란티아(Momordica charantia) 억제제, 쿠르신, 크로틴, 사파오나리아 오피시날리스(Sapaonararia officinalis) 억제제, 겔로닌, 미토겔린, 레스트릭토신, 페노마이신, 에노마이신, 및 트리코테센을 포함하나, 이들로 한정되지는 않는 박테리아, 진균, 식물, 또는 동물 기원, 또는 그의 단편의 효소 활성 독소이다. 일부 실시양태에서, 세포독성체는 방사성접합체 또는 방사성접합된 항체를 생성하기 위한 방사성동위원소이다. 다양한 방사성핵종이 ⁹⁰Y, ¹²⁵I, ¹³¹I, ¹²³I, ¹¹¹In, ¹³¹In, ¹⁰⁵Rh, ¹⁵³Sm, ⁶⁷Cu, ⁶⁷Ga, ¹⁶⁶Ho, ¹⁷⁷Lu, ¹⁸⁶Re, ¹⁸⁸Re 및 ²¹²Bi를 포함하나, 이들로 한정되지는 않는 방사성접합된 항체의 제조를 위해 이용가능하다. 항체의 접합체 및 하나 이상의 소분자 독소, 예컨대 칼리케아미신, 메이탄시노이드, 트리코테센, 및 CC1065, 및 독소 활성을 갖는 이들 독소의 유도체가 또한 사용될 수 있다. 항체 및 세포독성체의 접합체가 N-숙신이미달-3-(2-피리디이디티올) 프로피오네이트 (SPDP), 이미노티올란 (IT), 이미도에스테르의 이기능성 유도체 (예컨대, 디메틸 아디프이미데이트 HCl), 활성 에스테르 (예컨대, 디숙신이미달 수베레이트), 알데히드 (예컨대, 글루타르알데히드), 비스-아지도 화합물 (예컨대, 비스(p-아지도벤조일) 헥산디아민), 비스-디아조늄 유도체 (예컨대, 비스-(p-디아조늄벤조일)-에틸렌디아민), 디이소시아네이트 (예컨대, 톨루엔 2,6-디아소시아네이트), 및 비스-활성 플루오린 화합물 (예컨대, 1,5-디플루오로-2,4-디니트로벤젠)을 포함하나, 이들로 한정되지는 않는 다양한 이기능성 단백질-커플링제를 사용하여 제조될 수 있다.

[0232] III. 폴리뉴클레오티드

[0233] 특정 실시양태에서, 본 발명은 VEGF, DLL4, VEGF 및 DLL4 둘 다에 특이적으로 결합하는 폴리펩티드 (또는 폴리펩티드의 단편)를 코딩하는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 폴리뉴클레오티드를 포함한다. 용어 "폴리펩티드를 코딩하는 폴리뉴클레오티드"는 폴리펩티드, 및 추가의 코딩 및/또는 비-코딩 서열을 포함하는 폴리뉴클레오티드에 대한 코딩 서열만을 포함하는 폴리뉴클레오티드를 포함한다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 본 발명은 인간 VEGF에 대한 항체를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열 또는 이러한 항체의 단편 (예를 들어, 항원-결합 부위를 포함하는 단편)를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 폴리뉴클레오티드를 제공한다. 일부 실시양태에서, 본 발명은 인간 DLL4에 대한 항체를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열 또는 이러한 항체의 단편 (예를 들어, 항원-결합 부위를 포함하는 단편)를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 폴리뉴클레오티드를 제공한다. 본 발명의 폴리뉴클레오티드는 RNA의 형태 또는 DNA의 형태일 수 있다. DNA는 cDNA, 게놈 DNA, 및 합성 DNA를 포함하며; 이중-가닥 또는 단일-가닥일 수 있으며, 단일-가닥인 경우 코딩 가닥 또는 비-코딩 (안티센스) 가닥일 수 있다.

[0234] 특정 실시양태에서, 폴리뉴클레오티드는 서열:1, 서열:2, 서열:3, 서열:4, 서열:5, 서열:6, 서열:7, 서열:8, 서열:9, 서열:10, 서열:11, 서열:12, 서열:46, 서열:47, 서열:48, 서열:49, 서열:56, 서열:57, 서열:58, 서열:62, 서열:63, 및 서열:64로 이루어진 군으로부터 선택된 서열을 포함하는 폴리펩티드를 코딩하는 폴리뉴클레오티드를 포함한다. 특정 실시양태에서, 폴리뉴클레오티드는 서열:5, 서열:6, 서열:7, 서열:8, 서열:9, 서열:10, 서열:11, 서열:12, 서열:48, 서열:49, 서열:56, 서열:58, 서열:62 및 서열: 64로 이루어진 군으로부터 선택된 서열을 포함하는 폴리펩티드를 코딩하는 폴리뉴클레오티드를 포함한다. 일부 실시양태에서, 폴리뉴클레오티드는 서열:29, 서열:30, 서열:31, 서열:32, 서열:33, 서열:34, 서열:35, 서열:36, 서열:37, 서열:38, 서열:39, 서열:40, 서열:50, 서열:51, 서열:52, 서열:53, 서열:54, 서열:55, 서열:60, 서열:61, 서열:66, 서열:67, 서열:68, 서열:69, 서열:70, 서열:71, 서열:72, 서열:73, 서열:74, 서열:75, 서열:76, 서열:77, 및 서열:78로 이루어진 군으로부터 선택된 서열을 포함하는 폴리뉴클레오티드를 포함한다.

[0235] 특정 실시양태에서, 폴리뉴클레오티드는 적어도 약 80% 동일성, 적어도 약 85% 동일성, 적어도 약 90% 동일

성, 적어도 약 95% 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열, 및 일부 실시양태에서, 서열:29, 서열:30, 서열:31, 서열:32, 서열:33, 서열:34, 서열:52, 서열:53, 서열:55, 서열:60, 서열:61, 서열:66, 서열:67, 서열:68, 서열:69, 서열:70, 서열:71, 서열:72, 서열:73, 서열:74, 서열:75, 서열:76, 서열:77, 및 서열:78로 이루어진 군으로부터 선택된 서열을 포함하는 폴리뉴클레오티드에 적어도 약 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 갖는 폴리뉴클레오티드를 포함한다. 특정 실시양태에서, 폴리뉴클레오티드는 적어도 약 80% 동일성, 적어도 약 85% 동일성, 적어도 약 90% 동일성, 적어도 약 95% 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열, 및 일부 실시양태에서, 서열:35, 서열:36, 서열:37, 서열:38, 서열:39, 서열:40, 서열:50, 서열:51, 서열:54, 서열:68, 서열:69, 서열:70, 서열:71, 서열:72, 서열:73, 서열:74, 서열:75, 서열:76, 서열:77, 및 서열:78로 이루어진 군으로부터 선택된 서열을 포함하는 폴리뉴클레오티드에 적어도 약 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 갖는 폴리뉴클레오티드를 포함한다. 또한 서열:29, 서열:30, 서열:31, 서열:32, 서열:33, 서열:34, 서열:35, 서열:36, 서열:37, 서열:38, 서열:39, 서열:40, 서열:50, 서열:51, 서열:52, 서열:53, 서열:54, 서열:55, 서열:60, 서열:61, 서열:66, 서열:67, 서열:68, 서열:69, 서열:70, 서열:71, 서열:72, 서열:73, 서열:74, 서열:75, 서열:76, 서열:77, 및 서열:78에 혼성화하는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 폴리뉴클레오티드를 제공한다. 특정 실시양태에서, 혼성화는 고 스트린전시 조건하에 이루어진다.

[0236] 특정 실시양태에서, 폴리뉴클레오티드는 예를 들어, 숙주 세포로부터의 폴리펩티드의 발현 및 분비에 도움을 주는 폴리뉴클레오티드 (예를 들어, 세포로부터 폴리펩티드의 운반을 조절하기 위한 분비 서열로서 기능하는 리더 서열)에 동일한 리딩 프레임 내에 융합된 성숙 폴리펩티드에 대한 코딩 서열을 포함한다. 리더 서열을 갖는 폴리펩티드는 프리단백질(preprotein)이며, 폴리펩티드의 성숙된 형태를 형성하기 위한 숙주 세포에 의해 절단되는 리더 서열을 가질 수 있다. 폴리뉴클레오티드는 또한 성숙 단백질인 전구단백질 및 추가의 5' 아미노산 잔기를 코딩할 수 있다. 프로서열(prosequence)을 갖는 성숙 단백질은 전구단백질이며, 단백질의 불활성 형태이다. 프로서열이 절단된 후, 활성 성숙 단백질이 잔류한다.

[0237] 특정 실시양태에서, 폴리뉴클레오티드는 예를 들어, 코딩된 폴리펩티드의 정제를 가능하게 하는 마커 서열에의 동일한 리딩 프레임 내에 융합된 성숙 폴리펩티드에 대한 코딩 서열을 포함한다. 예를 들어, 마커 서열은 박테리아 숙주의 경우 마커에 융합된 성숙 폴리펩티드의 정제를 제공하기 위한 pQE-9 벡터에 의해 제공된 헥사-히스티딘 태그일 수 있거나, 또는 마커 서열은 포유동물 숙주 (예를 들어, COS-7 세포)가 사용된 경우 인플루엔자 헤마글루티닌 단백질로부터 유도된 헤마글루티닌 (HA) 태그일 수 있다. 일부 실시양태에서, 마커 서열은 다른 친화성 태그와 함께 사용될 수 있는 서열 DYKDDDDK (서열:45)의 펩티드인 FLAG-태그이다.

[0238] 본 발명은 추가로 상기 기재된 예를 들어, 단편, 유사체, 및/또는 유도체를 코딩하는 폴리뉴클레오티드의 변이체에 관한 것이다.

[0239] 특정 실시양태에서, 본 발명은 적어도 약 80% 동일성, 적어도 약 85% 동일성, 적어도 약 90% 동일성, 적어도 약 95% 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 갖는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 폴리뉴클레오티드를 제공하며, 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 VEGF/DLL4-결합체 (예를 들어, 항체), 또는 그의 단편을 포함하는 폴리펩티드를 코딩하는 폴리뉴클레오티드에 적어도 약 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 갖는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 폴리뉴클레오티드를 제공한다.

[0240] 본원에 사용된 바와 같이, 어구 적어도, 예를 들어 참조 뉴클레오티드 서열에 95% "동일성"을 갖는 뉴클레오티드 서열을 갖는 폴리뉴클레오티드는 폴리뉴클레오티드의 뉴클레오티드 서열이 폴리뉴클레오티드 서열이 참조 뉴클레오티드 서열의 각 100개 뉴클레오티드 당 5개 이하의 점 돌연변이를 포함할 수 있다는 것을 제외하고 참조 서열에 동일성을 갖는다는 의미를 가짐을 의도한다. 즉, 참조 뉴클레오티드 서열에 적어도 95% 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 갖는 폴리뉴클레오티드를 수득하기 위해, 참조 서열에서의 뉴클레오티드의 5% 이하가 결실되거나 또는 또다른 뉴클레오티드로 치환될 수 있거나, 또는 참조 서열에서의 총 뉴클레오티드의 5% 이하의 다수의 뉴클레오티드가 참조 서열 내에 삽입될 수 있다. 참조 서열의 이들 돌연변이는 참조 서열에서 뉴클레오티드 사이에 개별적으로 또는 참조 서열 내의 하나 이상의 인접한 군 중 하나에 배치되는, 참조 뉴클레오티드 서열의 5' 또는 3' 말단 위치 또는 이들 말단 위치 사이의 어느 부위에서 발생할 수 있다.

[0241] 폴리뉴클레오티드 변이체는 코딩 영역, 비-코딩 영역, 또는 둘 다에서의 변경을 함유할 수 있다. 일부 실시양태에서, 폴리뉴클레오티드 변이체는 침묵 치환, 부가, 또는 결실을 초래하지만 코딩된 폴리펩티드의 특성 또는 활성을 변경하지는 않는 변경을 함유한다. 일부 실시양태에서, 폴리뉴클레오티드 변이체는 폴리펩티드의 아미노산 서열에 변화를 일으키지 않는 침묵 치환을 포함한다 (유전자 코드의 동의성(degeneracy)에 기인함). 폴리뉴클레오티드 변이체는 다양한 이유로, 예를 들어, 특정한 숙주에 대한 코돈 발현을 최적화하기 위하여 (즉, 인

간 mRNA에서의 코돈을 박테리아 숙주, 예컨대 E. coli가 선호하는 것으로 바꾸기 위하여) 제조될 수 있다. 일부 실시양태에서, 폴리뉴클레오티드 변이체는 서열의 비-코딩 또는 코딩 영역에 하나 이상의 침묵 돌연변이를 포함한다.

[0242] 일부 실시양태에서, 폴리뉴클레오티드 변이체는 코딩된 폴리펩티드의 발현 (또는 발현 수준)을 조정하거나 변경하도록 제조된다. 일부 실시양태에서, 폴리뉴클레오티드 변이체는 코딩된 폴리펩티드의 발현을 증가시키도록 제조된다. 일부 실시양태에서, 폴리뉴클레오티드 변이체는 코딩된 폴리펩티드의 발현을 감소시키도록 제조된다. 일부 실시양태에서, 폴리뉴클레오티드 변이체는 부모(parental) 폴리뉴클레오티드 서열에 비해 코딩된 폴리펩티드의 증가된 발현을 갖는다. 일부 실시양태에서, 폴리뉴클레오티드 변이체는 부모 폴리뉴클레오티드 서열에 비해 코딩된 폴리펩티드의 감소된 발현을 갖는다.

[0243] 일부 실시양태에서, 하나 이상의 폴리뉴클레오티드 변이체가 (코딩된 폴리펩티드의 아미노산 서열을 바꾸지 않고) 이중다량체 분자의 생산을 증가시키도록 제조된다. 일부 실시양태에서, 하나 이상의 폴리뉴클레오티드 변이체가 (코딩된 폴리펩티드의 아미노산 서열을 바꾸지 않고) 이중특이적 항체의 생산을 증가시키도록 제조된다.

[0244] 특정 실시양태에서, 폴리뉴클레오티드는 단리된다. 특정 실시양태에서, 폴리뉴클레오티드는 실질적으로 순수하다.

[0245] 본원에 기재된 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터 및 세포가 또한 제공된다. 일부 실시양태에서, 발현 벡터는 폴리뉴클레오티드 분자를 포함한다. 일부 실시양태에서, 숙주 세포는 폴리뉴클레오티드 분자를 포함하는 발현 벡터를 포함한다. 일부 실시양태에서, 숙주 세포는 폴리뉴클레오티드 분자를 포함한다.

[0246] IV. 사용 방법 및 제약 조성물

[0247] VEGF 및/또는 DLL4에 결합하는 (예를 들어, 특이적으로 결합하는) 본 발명의 -결합제 (폴리펩티드 및 항체를 포함함)는 치유적 치료 방법, 예컨대 암의 치료를 포함하지만 그에 제한되지 않는 다양한 응용에서 유용하다. 특정 실시양태에서, 작용제는 VEGF 활성을 억제하고/거나, DLL4-유도된 노치 신호전달을 억제하고/거나, 종양 성장을 억제하고/거나, 종양 부피를 감소시키고/거나, 종양 내 암 줄기 세포의 빈도를 감소시키고/거나, 종양의 종양발생성을 감소시키고/거나, 혈관신생을 조정하고/거나, 혈관신생을 억제하는데 유용하다. 사용 방법은 시험관내, 생체의, 또는 생체내일 수 있다. 특정 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합제는 인간 VEGF의 길항제이다. 특정 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합제는 인간 DLL4의 길항제이다. 특정 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합제는 VEGF 및 DLL4 둘 다의 길항제이다.

[0248] 특정 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합제는 혈관신생, 즉, 증가된 혈관신생 및/또는 이상 혈관신생과 연관된 질환의 치료에 사용된다. 특정 실시양태에서, 질환은 혈관신생에 의존적인 질환이다. 특정 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합제는 줄기 세포 및/또는 전구 세포의 증가된 수준을 특징으로 하는 장애의 치료에 사용된다.

[0249] 본 발명은 본원에 기재된 VEGF/DLL4-결합제 또는 항체를 사용하는 종양의 성장을 억제하기 위한 방법을 제공한다. 특정 실시양태에서, 종양의 성장을 억제하는 방법은 종양 세포를 VEGF/DLL4-결합제 (예를 들어, 항체)와 시험관내 접촉시키는 것을 포함한다. 예를 들어, 불멸화 세포주 또는 암 세포주는 종양 세포 성장을 억제하기 위하여 항-VEGF 항체, 항-DLL4 항체, 또는 항-VEGF/항-DLL4 이중특이적 항체가 첨가된 배지에서 배양된다. 일부 실시양태에서, 종양 세포는 환자 샘플, 예를 들어, 조직 생검, 흉막 삼출, 또는 혈액 샘플로부터 단리되고, 종양 세포 성장을 억제하기 위하여 VEGF/DLL4-결합제가 첨가된 배지에서 배양된다.

[0250] 일부 실시양태에서, 종양의 성장을 억제하는 방법은 종양 또는 종양 세포를 VEGF/DLL4-결합제 (예를 들어, 항체)와 생체내 접촉시키는 것을 포함한다. 특정 실시양태에서, 종양 또는 종양 세포를 VEGF/DLL4-결합제와 접촉시키는 것은 동물 모델에서 착수된다. 예를 들어, 항-VEGF 항체, 항-DLL4 항체, 또는 항-VEGF/항-DLL4 이중특이적 항체는 종양 이종이식편을 갖는 면역손상 숙주 동물 (예를 들어, NOD/SCID 마우스)에 투여될 수 있다. 일부 실시양태에서, 종양 세포 및/또는 암 줄기 세포가 환자 샘플, 예를 들어, 조직 생검, 흉막 삼출, 또는 혈액 샘플로부터 단리되고, 면역손상 숙주 동물 (예를 들어, NOD/SCID 마우스) 내로 주사된 후, 종양 세포 성장을 억제하기 위하여 VEGF/DLL4-결합제가 투여된다. 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합제는 종양 성장을 예방하기 위하여 종양발생 세포를 동물 내로 도입하는 것과 동시에 또는 그 직후에 투여된다 ("예방 모델"). 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합제는 종양이 특정한 크기로 성장한 후에 치료제로서 투여된다 ("치료 모델"). 특정 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합제는 인간 VEGF 및 인간 DLL4에 특이적으로 결합하는 이중특이적 항체이다.

[0251] 특정 실시양태에서, 종양 성장을 억제하는 방법은 치료 유효량의 VEGF/DLL4-결합제를 대상체에게 투여하는 것을

포함한다. 특정 실시양태에서, 대상체는 인간이다. 특정 실시양태에서, 대상체는 종양을 갖거나 종양이 제거되었다. 특정 실시양태에서, 종양은 암 줄기 세포를 포함한다. 특정 실시양태에서, 종양 내 암 줄기 세포의 빈도는 VEGF/DLL4-결합제의 투여에 의해 감소된다. 본 발명은 또한 종양을 유효량의 VEGF/DLL4-결합제 (예를 들어, 항-VEGF/항-DLL4 이중특이적 항체)와 접촉시키는 것을 포함하는, 종양 내 암 줄기 세포의 빈도를 감소시키는 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 대상체에서 종양 내 암 줄기 세포의 빈도를 감소시키는 방법은, 대상체에게 치료 유효량의 VEGF/DLL4-결합제를 투여하는 것을 포함한다.

[0252] 일부 실시양태에서, 종양은 고형 종양이다. 특정 실시양태에서, 종양은 결장직장 종양, 결장 종양, 췌장 종양, 폐 종양, 난소 종양, 간 종양, 유방 종양, 신장 종양, 전립선 종양, 위장 종양, 흑색종, 자궁경부 종양, 방광 종양, 교모세포종, 및 두경부 종양으로 이루어진 군으로부터 선택된 종양이다. 특정 실시양태에서, 종양은 결장직장 종양 또는 결장 종양이다. 특정 실시양태에서, 종양은 난소 종양이다. 일부 실시양태에서, 종양은 폐 종양이다. 특정 실시양태에서, 종양은 췌장 종양이다. 특정 실시양태에서, 종양은 유방 종양이다.

[0253] 본 발명은 치료 유효량의 VEGF/DLL4-결합제를 대상체에게 투여하는 것을 포함하는 암의 치료 방법을 추가로 제공한다. 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합제는 VEGF에 결합하고, 암의 성장을 억제하거나 감소시킨다. 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합제는 DLL4에 결합하고, 암의 성장을 억제하거나 감소시킨다. 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합제는 VEGF 및 DLL4에 결합하는 이중특이적 항체이고, 암의 성장을 억제하거나 감소시킨다. 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합제는 VEGF에 결합하고, VEGF/VEGF 수용체 상호작용을 방해하고, 암의 성장을 억제하거나 감소시킨다. 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합제는 DLL4에 결합하고, DLL4/노치 상호작용을 방해하고, 암의 성장을 억제하거나 감소시킨다. 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합제는 VEGF 및 DLL4 둘 다에 결합하고, VEGF/VEGF 수용체 상호작용 및 DLL4/노치 상호작용을 방해하고, 암의 성장을 억제하거나 감소시킨다. 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합제는 DLL4에 결합하고, 암 내 암 줄기 세포의 빈도를 감소시킨다.

[0254] 본 발명은 치료 유효량의 VEGF/DLL4-결합제를 대상체 (예를 들어, 치료가 필요한 대상체)에게 투여하는 것을 포함하는 암을 치료하는 방법을 제공한다. 특정 실시양태에서, 대상체는 인간이다. 특정 실시양태에서, 대상체는 암성 종양을 갖는다. 특정 실시양태에서, 대상체는 종양이 제거되었다.

[0255] 대상체의 암/종양은, 일부 실시양태에서, 특정 치료(들)에 난치성일 수 있다. 비제한적 예로서, 대상체의 암 (또는 종양)은 화학요법에 난치성일 수 있다. 특정 실시양태에서, 대상체의 암은 항-VEGF 요법 또는 항-DLL4 요법, 또는 둘 다에 내성일 수 있다.

[0256] 특정 실시양태에서, 암은 결장직장암, 췌장암, 폐암, 난소암, 간암, 유방암, 신장암, 전립선암, 위장암, 흑색종, 자궁경부암, 방광암, 교모세포종, 및 두경부암으로 이루어진 군으로부터 선택된 암이다. 특정 실시양태에서, 암은 난소암이다. 특정 실시양태에서, 암은 결장직장암 또는 결장암이다. 특정 실시양태에서, 암은 췌장암이다. 특정 실시양태에서, 암은 유방암이다. 특정 실시양태에서, 암은 전립선암이다. 특정 실시양태에서, 암은 폐암이다. 일부 실시양태에서, 암은 혈액암, 예컨대 백혈병 또는 림프종이다. 일부 실시양태에서, 백혈병 또는 림프종은 B-세포 백혈병 또는 림프종이다. 일부 실시양태에서, 백혈병 또는 림프종은 T-세포 백혈병 또는 림프종이다. 일부 실시양태에서, 혈액암은 급성 골수 백혈병, 호지킨 림프종, 비-호지킨 림프종, 급성 림프구성 백혈병, 모발상 세포 백혈병, 만성 림프구성 백혈병, 다발성 골수종, 피부 T-세포 림프종, 또는 T-세포 급성 림프모구성 백혈병이다.

[0257] 본 발명은 또한 대상체에서 혈관신생과 연관된 질환 또는 장애를 치료하는 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 질환 또는 장애는 이상 혈관신생과 연관된다. 일부 실시양태에서, 질환 또는 장애는 증가된 혈관신생과 연관된다. 따라서, 본 발명은 대상체에게 본원에 기재된 임의의 VEGF/DLL4-결합제를 치료 유효량으로 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 혈관신생을 조정하기 위한 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합제는 인간 VEGF에 결합하는 항체이다. 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합제는 인간 DLL4에 결합하는 항체이다. 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합제는 인간 VEGF에 결합하는 이중특이적 항체이다. 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합제는 인간 DLL4에 결합하는 이중특이적 항체이다. 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합제는 인간 VEGF 및 인간 DLL4에 결합하는 이중특이적 항체이다.

[0258] 대상체에서 줄기 세포 및/또는 전구 세포의 증가된 수준을 특징으로 하는 질환 또는 장애를 치료하는 방법이 추가로 제공된다. 일부 실시양태에서, 치료 방법은 치료 유효량의 VEGF/DLL4-결합제, 폴리펩티드, 또는 항체를 대상체에게 투여하는 것을 포함한다.

[0259] 본원에 기재된 임의의 방법의 특정 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합제는 인간 VEGF 및 인간 DLL4에 특이적으로 결

합하는 이중특이적 항체이다. 일부 실시양태에서, 이중특이적 항체는 인간 VEGF에 특이적으로 결합하는 제1 항원-결합 부위 및 인간 DLL4에 특이적으로 결합하는 제2 항원-결합 부위를 포함하며, 여기서 제1 항원-결합 부위는 NYWMH (서열:17)을 포함하는 중쇄 CDR1, DINPSNGRTSYKEKFKR (서열:18)을 포함하는 중쇄 CDR2 및 HYDDKYYPLMDY (서열:19)를 포함하는 중쇄 CDR3을 포함하고, 제2 항원-결합 부위는 TAYYIH (서열:13)을 포함하는 중쇄 CDR1, YIANYNRATNYNQKFKG (서열:14), YISSYNGATNYNQKFKG (서열:15), YIAGYKDATNYNQKFKG (서열:59), 또는 YISNYNRATNYNQKFKG (서열:65)를 포함하는 중쇄 CDR2 및 RDYDYDVGMDY (서열:16)을 포함하는 중쇄 CDR3을 포함하며; 제1 및 제2 항원-결합 부위는 둘 다 RASESVDNYGISFMK (서열:20)을 포함하는 경쇄 CDR1, AASNQGS (서열:21)을 포함하는 경쇄 CDR2 및 QQSKEVPWTFGG (서열:22)를 포함하는 경쇄 CDR3을 포함한다. 일부 실시양태에서, 이중특이적 항체는 인간 VEGF에 특이적으로 결합하는 제1 항원-결합 부위 및 인간 DLL4에 특이적으로 결합하는 제2 항원-결합 부위를 포함하며, 여기서 제1 항원-결합 부위는 NYWMH (서열:17)을 포함하는 중쇄 CDR1, DINPSNGRTSYKEKFKR (서열:18)을 포함하는 중쇄 CDR2 및 HYDDKYYPLMDY (서열:19)를 포함하는 중쇄 CDR3을 포함하고, 제2 항원-결합 부위는 TAYYIH (서열:13)을 포함하는 중쇄 CDR1, YIANYNRATNYNQKFKG (서열:14)를 포함하는 중쇄 CDR2 및 RDYDYDVGMDY (서열:16)을 포함하는 중쇄 CDR3을 포함하며; 제1 및 제2 항원-결합 부위는 둘 다 RASESVDNYGISFMK (서열:20)을 포함하는 경쇄 CDR1, AASNQGS (서열:21)을 포함하는 경쇄 CDR2 및 QQSKEVPWTFGG (서열:22)를 포함하는 경쇄 CDR3을 포함한다. 일부 실시양태에서, 이중특이적 항체는 인간 VEGF에 특이적으로 결합하는 제1 항원-결합 부위 및 인간 DLL4에 특이적으로 결합하는 제2 항원-결합 부위를 포함하며, 여기서 제1 항원-결합 부위는 NYWMH (서열:17)을 포함하는 중쇄 CDR1, DINPSNGRTSYKEKFKR (서열:18)을 포함하는 중쇄 CDR2 및 HYDDKYYPLMDY (서열:19)를 포함하는 중쇄 CDR3을 포함하고, 제2 항원-결합 부위는 TAYYIH (서열:13)을 포함하는 중쇄 CDR1, YIAGYKDATNYNQKFKG (서열:59)를 포함하는 중쇄 CDR2 및 RDYDYDVGMDY (서열:16)을 포함하는 중쇄 CDR3을 포함하며; 제1 및 제2 항원-결합 부위는 둘 다 RASESVDNYGISFMK (서열:20)을 포함하는 경쇄 CDR1, AASNQGS (서열:21)을 포함하는 경쇄 CDR2 및 QQSKEVPWTFGG (서열:22)를 포함하는 경쇄 CDR3을 포함한다. 일부 실시양태에서, 이중특이적 항체는 인간 VEGF에 특이적으로 결합하는 제1 항원-결합 부위 및 인간 DLL4에 특이적으로 결합하는 제2 항원-결합 부위를 포함하며, 여기서 제1 항원-결합 부위는 NYWMH (서열:17)을 포함하는 중쇄 CDR1, DINPSNGRTSYKEKFKR (서열:18)을 포함하는 중쇄 CDR2 및 HYDDKYYPLMDY (서열:19)를 포함하는 중쇄 CDR3을 포함하고, 제2 항원-결합 부위는 TAYYIH (서열:13)을 포함하는 중쇄 CDR1, YISNYNRATNYNQKFKG (서열:65)를 포함하는 중쇄 CDR2 및 RDYDYDVGMDY (서열:16)을 포함하는 중쇄 CDR3을 포함하며; 제1 및 제2 항원-결합 부위는 둘 다 RASESVDNYGISFMK (서열:20)을 포함하는 경쇄 CDR1, AASNQGS (서열:21)을 포함하는 경쇄 CDR2 및 QQSKEVPWTFGG (서열:22)를 포함하는 경쇄 CDR3을 포함한다.

[0260] 본원에 기재된 임의의 방법의 특정 실시양태에서, VEGF/DLL4 이중특이적 항체는 서열:11과 적어도 약 80% 서열 동일성을 갖는 제1 중쇄 가변 영역, 서열:9, 서열:10, 서열:58, 또는 서열:64와 적어도 약 80% 서열 동일성을 갖는 제2 중쇄 가변 영역, 및 서열:12와 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 제1 및 제2 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4 이중특이적 항체는 서열:11과 적어도 약 80% 서열 동일성을 갖는 제1 중쇄 가변 영역, 서열:9와 적어도 약 80% 서열 동일성을 갖는 제2 중쇄 가변 영역, 및 서열:12와 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 제1 및 제2 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4 이중특이적 항체는 서열:11과 적어도 약 80% 서열 동일성을 갖는 제1 중쇄 가변 영역, 서열:10과 적어도 약 80% 서열 동일성을 갖는 제2 중쇄 가변 영역, 및 서열:12와 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 제1 및 제2 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4 이중특이적 항체는 서열:11과 적어도 약 80% 서열 동일성을 갖는 제1 중쇄 가변 영역, 서열:58과 적어도 약 80% 서열 동일성을 갖는 제2 중쇄 가변 영역, 및 서열:12와 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 제1 및 제2 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4 이중특이적 항체는 서열:11과 적어도 약 80% 서열 동일성을 갖는 제1 중쇄 가변 영역, 서열:64와 적어도 약 80% 서열 동일성을 갖는 제2 중쇄 가변 영역, 및 서열:12와 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 제1 및 제2 경쇄 가변 영역을 포함한다.

[0261] 본원에 기재된 임의의 방법의 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합제는 항체이다. 일부 실시양태에서,

VEGF/DLL4-결합체는 항-VEGF 항체이다. 일부 실시양태에서, 항-VEGF 항체는 항체 219R45이다. 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합체는 항-DLL4 항체이다. 일부 실시양태에서, 항-DLL4 항체는 항체 21R79이다. 일부 실시양태에서, 항-DLL4 항체는 항체 21R75이다. 일부 실시양태에서, 항-DLL4 항체는 항체 21R83이다. 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합체는 항체 219R45로부터의 항원-결합 부위를 포함하는 이중특이적 항체이다. 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합체는 항체 21R79로부터의 항원-결합 부위를 포함하는 이중특이적 항체이다. 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합체는 항체 21R75로부터의 항원-결합 부위를 포함하는 이중특이적 항체이다. 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합체는 항체 21R83으로부터의 항원-결합 부위를 포함하는 이중특이적 항체이다. 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합체는 항체 219R45로부터의 제1 항원-결합 부위 및 항체 21R79로부터의 제2 항원-결합 부위를 포함하는 이중특이적 항체이다. 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합체는 항체 219R45로부터의 제1 항원-결합 부위 및 항체 21M18로부터의 제2 항원-결합 부위를 포함하는 이중특이적 항체이다. 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합체는 항체 219R45로부터의 제1 항원-결합 부위 및 항체 21R75로부터의 제2 항원-결합 부위를 포함하는 이중특이적 항체이다. 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합체는 항체 219R45로부터의 제1 항원-결합 부위 및 항체 21R83으로부터의 제2 항원-결합 부위를 포함하는 이중특이적 항체이다. 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합체는 이중특이적 항체 219R45-MB-21M18이다. 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합체는 이중특이적 항체 219R45-MB-21R79이다. 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합체는 이중특이적 항체 219R45-MB-21R75이다. 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합체는 이중특이적 항체 219R45-MB-21R83이다.

[0262] 본 발명은 본원에 기재된 결합제를 포함하는 제약 조성물을 추가로 제공한다. 특정 실시양태에서, 제약 조성물은 제약상 허용되는 비히클을 추가로 포함한다. 이러한 제약 조성물은 대상체 (예를 들어, 인간 환자)에서 종양 성장을 억제하고/거나 암을 치료하는데 사용된다.

[0263] 특정 실시양태에서, 본 발명은 이중특이적 항체를 포함하는 제약 조성물을 제공하며, 여기서 조성물 내 항체의 약 90% 이상, 약 95% 이상, 약 98% 이상, 약 99% 이상은 이중특이적 항체 또는 이중이량체 항체이다. 특정 실시양태에서, 이중특이적 항체는 IgG (예를 들어, IgG2 또는 IgG1) 항체이다. 특정 실시양태에서, 조성물 내 총 항체의 약 10% 미만, 약 5% 미만, 약 2% 미만 또는 약 1% 미만은 단일특이적 항체 또는 동종이량체 항체이다. 특정 실시양태에서, 조성물 내 항체는 약 98% 이상 이중이량체이다.

[0264] 특정 실시양태에서, 제제는 본 발명의 정제된 항체 또는 작용제를 제약상 허용되는 비히클 (예를 들어, 담체 또는 부형제)과 조합함으로써 저장 및 사용을 위해 제조된다. 적합한 제약상 허용되는 비히클은 비-독성 완충제, 예컨대 포스페이트, 시트레이트, 및 다른 유기 산; 염, 예컨대 염화나트륨; 항산화제, 예컨대 아스코르브산 및 메티오닌; 보존제, 예컨대 옥타데실디메틸벤질 암모늄 클로라이드, 헥사메토늄 클로라이드, 벤즈알코늄 클로라이드, 벤제토늄 클로라이드, 페놀, 부틸 또는 벤질 알콜, 알킬 파라벤, 예컨대 메틸 또는 프로필 파라벤, 카테콜, 레조르시놀, 시클로헥산올, 3-펜탄올, 및 m-크레졸; 저분자량 폴리펩티드 (예를 들어, 약 10개 미만 아미노산 잔기); 단백질, 예컨대 혈청 알부민, 젤라틴, 또는 이뮤노글로불린; 친수성 중합체, 예컨대 폴리비닐피롤리돈; 아미노산, 예컨대 글리신, 글루타민, 아스파라긴, 히스티딘, 아르기닌, 또는 리신; 탄수화물, 예컨대 모노사카라이드, 디사카라이드, 글루코스, 만노스, 또는 텍스트린; 킬레이트화제, 예컨대 EDTA; 당, 예컨대 수크로스, 만니톨, 트레할로스 또는 소르비톨; 염-형성 반대-이온, 예컨대 나트륨; 금속 복합체, 예컨대 Zn-단백질 복합체; 및 비-이온성 계면활성제, 예컨대 트윈 또는 폴리에틸렌 글리콜 (PEG)을 포함하지만 그에 제한되지 않는다 (문헌 [Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21st Edition, 2005, University of the Sciences, Philadelphia, PA]).

[0265] 본 발명의 제약 조성물은 국부 또는 전신 치료에 대한 수많은 방식으로 투여될 수 있다. 투여는 표피 또는 경피 패치, 연고, 로션, 크림, 젤, 점적제, 좌제, 스프레이, 액체, 및 분말에 의한 국소 투여이거나; 분말 또는 에어로졸의 흡입 또는 취입에 의한, 예컨대 네블라이저에 의한, 폐 투여, 기관내, 및 비강내 투여이거나; 경구 투여이거나; 또는 비경구, 예컨대 정맥내, 동맥내, 종양내, 피하, 복강내, 근육내 (예를 들어, 주사 또는 주입), 또는 두개내 (예를 들어, 척수강내 또는 심실내) 투여될 수 있다.

[0266] 치료 제제는 단위 투여 형태일 수 있다. 이러한 제제는 정제, 환제, 캡슐, 분말, 과립, 물 또는 비-수성 매질 중의 용액 또는 현탁액, 또는 좌제를 포함한다. 고체 조성물, 예컨대 정제에서, 주요 활성 성분은 제약 담체와 혼합된다. 통상 정제화 성분은 옥수수 전분, 락토스, 수크로스, 소르비톨, 활석, 스테아르산, 스테아르산마그네슘, 인산이칼슘 또는 겐, 및 희석제 (예를 들어, 물)를 포함한다. 이들은 본 발명의 화합물의 균질 혼합물을 함유하는 고체 예비제제 조성물, 또는 비-독성인 그의 제약상 허용되는 염을 형성하는데 사용될 수 있다. 고체 예비제제 조성물은 그 후 상기 기재된 유형의 단위 투여 형태로 세분된다. 제제 또는 조성물의 정제, 환제 등은 코팅되거나 다르게는 복합되어 지속 작용의 이점을 제공하는 투여 형태를 제공할 수 있다. 예를 들어, 정제

또는 환제는 외부 성분으로 덮인 내부 조성물을 포함할 수 있다. 추가로, 상기 두 성분은 분해에 저항하는 역할을 하고 내부 성분이 위를 손상없이 지나가게 하거나 방출이 지연되도록 하는 장용 층에 의해 분리될 수 있다. 다양한 물질이 이러한 장용 층 또는 코팅에 사용될 수 있고, 이러한 물질은 다수의 중합체성 산 및 중합체성 산과 셀락, 세틸 알콜 및 셀룰로스 아세테이트와 같은 물질의 혼합물을 포함한다.

[0267] 본원에 기재된 VEGF/DLL4-결합체 또는 항체는 또한 마이크로캡슐에 포획될 수 있다. 이러한 마이크로캡슐, 예를 들어 각각 콜로이드성 약물 전달 시스템 (예를 들어, 리포솜, 알부민 마이크로구체, 마이크로에멀전, 나노입자 및 나노캡슐) 또는 마크로에멀전 내 히드록시메틸셀룰로스 또는 젤라틴-마이크로캡슐 및 폴리-(메틸메타크릴레이트) 마이크로캡슐은 예를 들어 문헌 [Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21st Edition, 2005, University of the Sciences in Philadelphia, PA]에 기재된 바와 같이 코아세르베이션(coacervation) 기술 또는 계면 중합에 의해 제조된다.

[0268] 특정 실시양태에서, 제약 제제는 리포솜과 복합된 본 발명의 VEGF/DLL4-결합체 (예를 들어, 항체)를 포함한다. 리포솜을 제조하는 방법은 당업자에게 공지되어 있다. 예를 들어, 일부 리포솜은 포스파티딜콜린, 콜레스테롤, 및 PEG-유도체화 포스파티딜에탄올아민 (PEG-PE)을 포함하는 지질 조성물을 이용한 역상 증발에 의해 생성될 수 있다. 리포솜은 규정된 기공 크기의 필터를 통해 압출되어 소정의 직경을 갖는 리포솜을 얻을 수 있다.

[0269] 특정 실시양태에서, 지속-방출 제제가 제조될 수 있다. 지속-방출 제제의 적합한 예는 VEGF/DLL4-결합체 (예를 들어, 항체)를 함유하는 고체 소수성 중합체의 반투과성 매트릭스를 포함하며, 여기서 매트릭스는 성형체 (예를 들어, 필름 또는 마이크로캡슐)의 형태이다. 지속-방출 매트릭스의 추가 예는 폴리에스테르, 히드로겔, 예컨대 폴리(2-히드록시에틸-메타크릴레이트) 또는 폴리(비닐 알콜), 폴리락티드, L-글루탐산 및 7 에틸-L-글루타메이트의 공중합체, 비-분해성 에틸렌-비닐 아세테이트, 분해성 락트산 산-글리콜산 공중합체, 예컨대 루프론 데포 (LUPRON DEPOT)TM (락트산-글리콜산 공중합체 및 류프롤리드 아세테이트로 구성된 주사가능한 마이크로구체), 수크로스 아세테이트 이소부티레이트, 및 폴리-D(-)-3-히드록시부티르산을 포함한다.

[0270] 특정 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합체 (예를 들어, 항체)를 투여하는 것에 추가로, 방법 또는 치료는 하나 이상의 추가 치료제를 투여하는 것을 추가로 포함한다. 추가 치료제는 VEGF/DLL4-결합체의 투여 이전에, 그와 동시에, 및/또는 그 후에 투여될 수 있다. VEGF/DLL4-결합체 및 추가 치료제(들)를 포함하는 제약 조성물이 또한 제공된다. 일부 실시양태에서, 상기 하나 이상의 추가 치료제는 하나, 둘, 셋 또는 그 초과에 추가 치료제를 포함한다.

[0271] 둘 이상의 치료제와의 조합 요법은, 필요하지 않더라도 흔히 상이한 작용 메커니즘에 의해 작동하는 작용제를 사용한다. 상이한 작용 메커니즘을 갖는 작용제를 사용하는 조합 요법은 상가적 또는 상승적 효과를 야기할 수 있다. 조합 요법은 각각의 작용제에 대해 단독요법에서 사용되는 것보다 더 적은 용량을 허용함으로써, 독성 부작용을 감소시키고/거나 적어도 하나의 작용제의 치료 지수를 증가시킬 수 있다. 조합 요법은 내성 암 세포가 발달할 가능성을 감소시킬 수 있다. 일부 실시양태에서, 조합 요법은 주로 비-종양발생 세포에 영향을 미치는 (예를 들어, 억제하거나 사멸시키는) 치료제 및 주로 종양발생 CSC에 영향을 미치는 (예를 들어, 억제하거나 사멸시키는) 치료제를 포함한다.

[0272] 유용한 치료제 부류는 예를 들어, 안티튜불린(antitubulin) 작용제, 아우리스타틴, DNA 작은 홈(minor groove) 결합제, DNA 복제 억제제, 알킬화제 (예를 들어, 백금 착물, 예컨대 시스플라틴, 모노(백금), 비스(백금) 및 삼핵 백금 착물, 및 카르보플라틴), 안트라시클린, 항생제, 항폴레이트제, 항대사물, 화학요법 증감제, 두오카르마이신, 에토포시드, 플루오린화 피리미딘, 이온 투과 담체(ionophores), 렉시트로핀(lexitropsins), 니트로소우레아, 플라티놀, 퓨린 항대사물, 퓨로마이신, 방사선 증감제, 스테로이드, 탁산, 토포이소머라제 억제제, 빈카 알칼로이드 등을 포함한다. 특정 실시양태에서, 제2 치료제는 알킬화제, 항대사물, 항유사분열, 토포이소머라제 억제제, 또는 혈관신생 억제제이다. 일부 실시양태에서, 제2 치료제는 백금 착물, 예컨대 카르보플라틴 또는 시스플라틴이다. 일부 실시양태에서, 추가 치료제는 탁산과 조합한 백금 착물이다.

[0273] VEGF/DLL4-결합체와의 조합으로 투여될 수 있는 치료제는 화학요법제를 포함한다. 따라서, 일부 실시양태에서, 방법 또는 치료는 본 발명의 항-VEGF-결합체 또는 항체를 화학요법제 또는 다수의 상이한 화학요법제 각테일과의 조합으로 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 방법 또는 치료는 본 발명의 항-DLL4-결합체 또는 항체를 화학요법제 또는 다수의 상이한 화학요법제 각테일과의 조합으로 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 방법 또는 치료는 VEGF 및 DLL4에 결합하는 본 발명의 이중특이적 항체를 화학요법제 또는 다수의 상이한 화학요법제 각테일과의 조합으로 투여하는 것을 포함한다.

[0274] 본 발명에서 유용한 화학요법제는 알킬화제, 예컨대 티오테과 및 시클로포스파미드 (시톡산); 알킬 술포네이트, 예컨대 부술포, 임프로술포 및 피포술포; 아지리딘, 예컨대 벤조도파, 카르보쿠온, 메투레도파, 및 우레도파; 에틸렌이민 및 메틸라멜라민, 예컨대 알트레타민, 트리에틸렌멜라민, 트리에틸렌포스포르아미드, 트리에틸렌티오포스포르아미드 및 트리에틸올로멜라민; 질소 머스타드, 예컨대 클로람부실, 클로르나파진, 콜로포스파미드, 에스트라무스틴, 이포스파미드, 메클로레타민, 메클로레타민 옥시드 히드로클로라이드, 멜팔란, 노뎀비킨, 페네스테린, 프레드니무스틴, 트로포스파미드, 우라실 머스타드; 니트로소우레아, 예컨대 카르무스틴, 클로로조토신, 포테무스틴, 로무스틴, 니무스틴, 라니무스틴; 항생제, 예컨대 아클라시노마이신, 악티노마이신, 아우트라마이신, 아자세린, 블레오마이신, 각티노마이신, 칼리케아미신, 카라비신, 카미노마이신, 카르지노필린, 크로모마이신, 닥티노마이신, 다우노루비신, 데토루비신, 6-디아조-5-옥소-L-노르류신, 독소루비신, 에피루비신, 예소루비신, 이다루비신, 마르셀로마이신, 미토마이신, 미코페놀산, 노갈라마이신, 올리보마이신, 페폴로마이신, 포트피로마이신, 퓨로마이신, 쿠엘라마이신, 로도루비신, 스트렙토니그린, 스트렙토조신, 투베르시딘, 우베니멕스, 지노스타틴, 조루비신; 항대사물, 예컨대 메토틱세이트 및 5-플루오로우라실 (5-FU); 폴산 유사체, 예컨대 데노프테린, 메토틱세이트, 프테로프테린, 트리메트렉세이트; 퓨린 유사체, 예컨대 플루다라빈, 6-메르캅토피린, 티아미프린, 티오구아닌; 피리미딘 유사체, 예컨대 안시타빈, 아자시티딘, 6-아자우리딘, 카르모푸르, 시토신 아라비노시드, 디데옥시우리딘, 독시플루리딘, 예노시타빈, 플록수리딘, 5-FU; 안드로겐, 예컨대 칼루스테론, 드로모스타놀론 프로피오네이트, 에피티오스타놀, 메피티오스탄, 테스토락톤; 항-부신, 예컨대 아미노글루테티미드, 미토탄, 트릴로스탄; 폴산 보충제, 예컨대 폴린산; 아세글라톤; 알도포스파미드 글리코시드; 아미노레블린산; 암사크린; 베스트라부실; 비산트렌; 에다트랙세이트; 데포파민; 데메콜신; 디아지쿠온; 엘포르미틴; 엘립티늄 아세테이트; 에토글루시드; 갈륨 니트레이트; 히드록시우레아; 렌티난; 로니다민; 미토구아존; 미톡산트론; 모피다몰; 니트라크린; 펜토스타틴; 페나메트; 피라루비신; 포도필린산; 2-에틸히드라지드; 프로카르바진; PSK; 라족산; 시조푸란; 스피로게르마늄; 테누아존산; 트리아지쿠온; 2,2',2''-트리클로로트리에틸아민; 우레탄; 빈데신; 다카르바진; 만노무스틴; 미토브로니톨; 미토락톨; 피포브로만; 가시토신; 아라비노시드 (아라-C); 탁소이드, 예컨대 파클리탁셀 (탁솔) 및 도세탁셀 (탁소테레); 클로람부실; 잼시타빈; 6-티오구아닌; 메르캅토피린; 백금 유사체, 예컨대 시스플라틴 및 카르보플라틴; 빈블라스틴; 백금; 에토포시드 (VP-16); 이포스파미드; 미토마이신 C; 미톡산트론; 빈크리스틴; 비노렐빈; 나벨빈; 노반트론; 테니포시드; 다우노마이신; 아미노프테린; 이반드로네이트; CPT11; 토포이소머라제 억제제 RFS 2000; 디플루오로메틸오르니틴 (DMFO); 레티노산; 에스페라미신; 카페시타빈 (젤로다); 및 임의의 상기 것들의 제약상 허용되는 염, 산 또는 유도체를 포함하지만 이에 제한되지는 않는다. 화학요법제는 또한 종양에 대한 호르몬 작용을 조절 또는 억제하는 작용을 하는 항호르몬제, 예컨대, 타목시펜, 랄록시펜, 아로마타제 억제 4(5)-이미다졸, 4-히드록시타목시펜, 트리옥시펜, 케옥시펜, LY117018, 오나프리스톤, 및 토레미펜 (파레스톤)을 포함하는 항에스트로겐; 및 항안드로겐, 예컨대 플루타미드, 닐루타미드, 비칼루타미드, 류프롤리드, 및 고세렐린; 및 임의의 상기 것들의 제약상 허용되는 염, 산 또는 유도체를 포함한다. 특정 실시양태에서, 제2 치료제는 시스플라틴이다. 특정 실시양태에서, 제2 치료제는 카르보플라틴이다. 특정 실시양태에서, 제2 치료제는 파클리탁셀이다.

[0275] 특정 실시양태에서, 화학요법제는 토포이소머라제 억제제이다. 토포이소머라제 억제제는 토포이소머라제 효소 (예를 들어, 토포이소머라제 I 또는 II)의 작용을 방해하는 화학요법제이다. 토포이소머라제 억제제는 독소루비신 HCl, 다우노루비신 시트레이트, 미톡산트론 HCl, 악티노마이신 D, 에토포시드, 토포테칸 HCl, 테니포시드 (VM-26), 및 이리노테칸 뿐만 아니라 임의의 이것들의 제약상 허용되는 염, 산, 또는 유도체를 포함하지만 이에 제한되지는 않는다. 특정 실시양태에서, 제2 치료제는 이리노테칸이다.

[0276] 특정 실시양태에서, 화학요법제는 항대사물이다. 항대사물은 정상적인 생화학적 반응을 위해 요구되는 대사물과 유사하지만, 세포의 하나 이상의 정상적인 기능, 예컨대 세포 분열을 방해할 만큼 충분히 상이한 구조를 갖는 화학물질이다. 항대사물은 잼시타빈, 플루오로우라실, 카페시타빈, 메토틱세이트 나트륨, 랄리트렉세드, 페메트렉세드, 테가푸르, 시토신 아라비노시드, 티오구아닌, 5-아자시티딘, 6-메르캅토피린, 아자티오프린, 6-티오구아닌, 펜토스타틴, 플루다라빈 포스페이트, 및 클라드리빈 뿐만 아니라 임의의 이것들의 제약상 허용되는 염, 산, 또는 유도체를 포함하지만 이에 제한되지는 않는다. 특정 실시양태에서, 제2 치료제는 잼시타빈이다.

[0277] 특정 실시양태에서, 화학요법제는 튜블린과 결합하는 작용제를 포함하지만 이에 제한되지는 않는 항유사분열제이다. 일부 실시양태에서, 작용제는 탁산이다. 특정 실시양태에서, 작용제는 파클리탁셀 또는 도세탁셀, 또는 파클리탁셀 또는 도세탁셀의 제약상 허용되는 염, 산, 또는 유도체이다. 특정 실시양태에서, 작용제는 파클리탁셀 (탁솔), 도세탁셀 (탁소테레), 알부민-결합 파클리탁셀 (아브락산), DHA-파클리탁셀, 또는 PG-파클리탁셀

이다. 다른 특정 실시양태에서, 항유사분열제는 빈카 알칼로이드, 예컨대 빈크리스틴, 빈블라스틴, 비노렐빈, 또는 빈데신, 또는 이들의 제약상 허용되는 염, 산, 또는 유도체를 포함한다. 일부 실시양태에서, 항유사분열제는 키네신 Eg5의 억제제 또는 유사분열 키나제, 예컨대 오로라 A 또는 Plk1의 억제제이다. 특정 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합제와의 조합으로 투여되는 화학요법제가 항유사분열제인 경우, 치료받을 암 또는 종양은 유방암 또는 유방 종양이다.

[0278] 일부 실시양태에서, 제2 치료제는 작용제, 예컨대 소분자를 포함한다. 예를 들어, 치료는 EGFR, ErbB2, HER2 및/또는 VEGF를 포함하지만 이에 제한되지는 않는 추가적인 종양-관련 단백질에 대한 억제제로서 작용하는 소분자와 본 발명의 VEGF/DLL4-결합제 (예를 들어 항체)의 조합 투여를 포함할 수 있다. 특정 실시양태에서, 제2 치료제는 암 줄기 세포 경로를 억제하는 소분자이다. 일부 실시양태에서, 제2 치료제는 노치 경로의 소분자 억제제이다. 일부 실시양태에서, 제2 치료제는 Wnt 경로의 소분자 억제제이다. 일부 실시양태에서, 제2 치료제는 BMP 경로의 소분자 억제제이다. 일부 실시양태에서, 제2 치료제는 β -카테닌 신호전달을 억제하는 소분자이다.

[0279] 일부 실시양태에서, 제2 치료제는 생물학적 분자, 예컨대 항체를 포함한다. 예를 들어, 치료는 EGFR, ErbB2, HER2 및/또는 VEGF에 결합하는 항체를 포함하지만 이에 제한되지는 않는, 추가적인 종양-관련 단백질에 대한 다른 항체와 본 발명의 VEGF/DLL4-결합제 (예를 들어 항체)의 조합 투여를 포함할 수 있다. 특정 실시양태에서, 제2 치료제는 항-암 줄기 세포 마커 항체인 항체이다. 일부 실시양태에서, 제2 치료제는 노치 경로의 성분과 결합하는 항체이다. 일부 실시양태에서, 제2 치료제는 Wnt 경로의 성분과 결합하는 항체이다. 특정 실시양태에서, 제2 치료제는 암 줄기 세포 경로를 억제하는 항체이다. 일부 실시양태에서, 제2 치료제는 노치 경로의 항체 억제제이다. 일부 실시양태에서, 제2 치료제는 Wnt 경로의 항체 억제제이다. 일부 실시양태에서, 제2 치료제는 BMP 경로의 항체 억제제이다. 일부 실시양태에서, 제2 치료제는 β -카테닌 신호전달을 억제하는 항체이다. 특정 실시양태에서, 제2 치료제는 혈관신생 억제제 또는 조절제인 항체 (예를 들어, 항-VEGF 또는 VEGF 수용체 항체)이다. 특정 실시양태에서, 제2 치료제는 베바시주맙 (아바스틴), 트라스투주맙 (헤르셉틴), 파니투무맙 (백티빅스), 또는 세투시맙 (에르비투스)이다. 조합 투여는 단일 제약 제제로 또는 개별 제제를 사용한 공-투여, 또는 순차적이지만 일반적으로 모든 활성제가 이들의 생물학적 활성을 동시에 발산할 수 있는 시간 기간 내의 연속 투여를 포함할 수 있다.

[0280] 또한, 본원에 기재된 VEGF/DLL4-결합제로의 치료는 다른 생물학적 분자, 예컨대 하나 이상의 시토카인 (예를 들어, 림포카인, 인터류킨, 종양 괴사 인자, 및/또는 성장 인자)과의 조합 치료를 포함할 수 있거나 또는 종양, 암세포의 외과적 제거, 또는 치료 의사에 의해 필요해 보이는 임의의 다른 요법을 동반할 수 있다.

[0281] 특정 실시양태에서, 치료는 본 발명의 VEGF/DLL4-결합제 (예를 들어 항체)를 방사선 요법과의 조합으로 투여하는 것을 포함한다. VEGF/DLL4-결합제로의 치료는 방사선 요법의 투여에 앞서, 투여와 함께, 또는 투여 후에 수행될 수 있다. 이러한 방사선 요법에 대한 투여 스케줄은 숙련된 의사에 의해 결정될 수 있다.

[0282] VEGF/DLL4-결합제와 추가의 치료제의 조합이 임의의 순서로 또는 함께 투여될 수 있음을 이해할 것이다. VEGF/DLL4-결합제 (예를 들어, 항체)로의 치료는 화학요법의 투여에 앞서, 투여와 함께, 또는 투여 후에 수행될 수 있다. 조합 투여는 단일 제약 제제로 또는 개별 제제를 사용한 공-투여, 또는 순차적이지만 일반적으로 모든 활성제가 그들의 생물학적 활성을 동시에 발산할 수 있는 시간 기간 내의 연속 투여를 포함할 수 있다. 이러한 화학요법에 대한 제조 및 투여 스케줄은 제조업체의 지시에 따라 또는 숙련된 진료의에 의해 경험적으로 결정되는 바와 같이 사용될 수 있다. 이러한 화학요법에 대한 제조 및 투여 스케줄은 또한 문헌 [The Chemotherapy Source Book, 4th Edition, 2008, M. C. Perry, Editor, Lippincott, Williams & Wilkins, Philadelphia, PA]에 기재된다.

[0283] 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합제는 이전에 제2 치료제로의 치료를 겪은 환자에게 투여될 것이다. 특정의 다른 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합제 및 제2 치료제는 실질적으로 동시에 또는 함께 투여될 것이다. 예를 들어, 대상체는 제2 치료제로의 치료 과정 (예를 들어, 화학요법)을 겪는 동안 VEGF/DLL4-결합제 (예를 들어, 항체)를 받을 수 있다. 특정 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합제는 제2 치료제로의 치료 후 1년 이내에 투여될 것이다. 다른 특정 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합제는 제2 치료제로의 임의의 치료 후 10, 8, 6, 4, 또는 2 개월 이내에 투여될 것이다. 특정의 다른 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합제는 제2 치료제로의 임의의 치료 후 4, 3, 2, 또는 1 주 이내에 투여될 것이다. 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합제는 제2 치료제로의 임의의 치료 후 5, 4, 3, 2, 또는 1 일 이내에 투여될 것이다. 또한 2개 (또는 이상)의 작용제 또는 치료가 대상체에게 몇 시간 또는 몇 분 이내에 (즉, 실질적으로 동시에) 투여될 수 있음을 이해할 것이다.

- [0284] 질환의 치료를 위해, 본 발명의 VEGF/DLL4-결합제 (예를 들어, 항체)의 적절한 투여량은 치료할 질환의 유형, 질환의 중증도 및 경과, 질환의 반응성, VEGF/DLL4-결합제 또는 항체가 치료 목적을 위해 투여되는지 또는 예방 목적을 위해 투여되는지, 선행 요법, 환자의 임상 병력 등에 따라 모두 치료 의사의 재량으로 달라진다. VEGF/DLL4-결합제 또는 항체는 1회 투여로서 또는 수일 내지 수개월에 걸친 일련의 치료로서, 또는 치유 효과를 가져오거나 또는 질환 상태의 감소가 성취 (예를 들어, 종양 크기의 축소)될 때까지 투여될 수 있다. 최적의 투여 스케줄은 환자의 신체 내 약물 축적의 측정으로부터 계산될 수 있고 개별적인 항체 또는 작용제의 상대적인 효력에 따라 다를 것이다. 투여 의사는 최적의 투여량, 투여 방법론, 및 반복수를 결정할 수 있다. 특정 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합제 또는 항체의 투여량은 약 0.01 $\mu\text{g}/\text{체중kg}$ 내지 약 100 $\text{mg}/\text{체중kg}$, 약 0.1 $\mu\text{g}/\text{체중kg}$ 내지 약 100 $\text{mg}/\text{체중kg}$, 약 1 $\mu\text{g}/\text{체중kg}$ 내지 약 100 $\text{mg}/\text{체중kg}$, 약 1 $\text{mg}/\text{체중kg}$ 내지 약 100 $\text{mg}/\text{체중kg}$, 약 1 $\text{mg}/\text{체중kg}$ 내지 약 80 $\text{mg}/\text{체중kg}$, 약 10 $\text{mg}/\text{체중kg}$ 내지 약 100 $\text{mg}/\text{체중kg}$, 약 10 $\text{mg}/\text{체중kg}$ 내지 약 75 $\text{mg}/\text{체중kg}$, 또는 약 10 $\text{mg}/\text{체중kg}$ 내지 약 50 $\text{mg}/\text{체중kg}$ 이다. 특정 실시양태에서, 항체 또는 다른 VEGF/DLL4-결합제의 투여량은 약 0.1 $\text{mg}/\text{체중kg}$ 내지 약 20 $\text{mg}/\text{체중kg}$ 이다. 특정 실시양태에서, 투여량은 일, 주, 월, 또는 연 1회 이상으로 주어질 수 있다. 특정 실시양태에서, 항체 또는 다른 VEGF/DLL4-결합제는 매주 1회, 매 2주 1회, 매 3주 1회, 또는 매월 1회로 주어진다.
- [0285] 일부 실시양태에서, VEGF/DLL4-결합제 (예를 들어, 항체)는 초기의 더 높은 "부하" 용량으로 투여된 후 하나 이상의 더 낮은 용량으로 투입될 수 있다. 일부 실시양태에서, 투여 빈도도 또한 변할 수 있다. 일부 실시양태에서, 투여 요법은 초기 용량을 투여한 후 추가적인 용량 (또는 "유지" 용량)을 매주 1회, 매 2주 1회, 매 3주 1회, 또는 매월 1회 투여하는 것을 포함할 수 있다. 예를 들어, 투여 요법은 초기 부하 용량을 투여한 후 예를 들어, 초기 용량의 이분의 일의 유지 용량을 매주 투여하는 것을 포함할 수 있다. 또는 투여 요법은 초기 부하 용량을 투여한 후, 예를 들어, 초기 용량의 이분의 일의 유지 용량을 격주로 투여하는 것을 포함할 수 있다. 또는 투여 요법은 3주 동안 3번의 초기 용량을 투여한 후, 예를 들어, 동일량의 유지 용량을 격주로 투여하는 것을 포함할 수 있다. 또는 투여 요법은 초기 용량을 투여한 후 추가적인 용량을 매 3주마다 또는 월 1회 투여하는 것을 포함할 수 있다. 치료 의사는 체액 또는 신체 조직 내 약물의 측정된 체류 시간 및 농도에 기반하여 투여량에 대한 반복수를 추정할 수 있다. 요법의 진전은 통상의 기술 및 검정에 의해 모니터링될 수 있다.
- [0286] 당업자에게 공지된 바와 같이, 임의의 치료제의 투여는 부작용 및/또는 유독성을 초래할 수 있다. 일부 경우에, 부작용 및/또는 유독성은 매우 심각하여 특정한 작용제를 치료 유효 용량으로 투여하는 것을 불가능하게 할 수 있다. 일부 경우에, 약물 요법은 중단되어야만 하고, 다른 작용제가 시도될 수 있다. 그러나, 동일한 치료적 분류 내의 많은 작용제는 때때로 유사한 부작용 및/또는 유독성을 나타내고, 이는 환자가 요법을 중단해야만 하거나, 또는 가능하다면, 치료제와 관련된 불쾌한 부작용을 겪어야만 함을 의미한다.
- [0287] 치료제로부터의 부작용은 두드러기, 피부 발진, 가려움증, 오심, 구토, 식욕 감퇴, 설사, 오한, 열, 피로, 근육 통증 및 동통, 두통, 저혈압, 고혈압, 저칼륨혈증, 저 혈구 수치, 출혈, 및 심장 문제를 포함할 수 있지만 이에 제한되지는 않는다.
- [0288] 따라서, 본 발명의 한 측면은 간헐적 투여 요법을 사용한 항-VEGF/항-DLL4 이중특이적 항체의 투여를 포함하는, 환자에서 암을 치료하는 방법에 관한 것이고, 이는 항-VEGF/항-DLL4 이중특이적 항체의 투여와 관련된 부작용 및/또는 유독성을 감소시킬 수 있다. 본원에서 사용된 바와 같이, "간헐적 투여"는 주 1회 초과 투여 간격, 예컨대 매 2주 1회, 매 3주 1회, 매 4주 1회 투여 등을 사용하는 투여 요법을 지칭한다. 일부 실시양태에서, 인간 환자에서 암을 치료하기 위한 방법은 환자에게 유효 용량의 항-VEGF/항-DLL4 이중특이적 항체를 간헐적 투여 요법에 따라 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 인간 환자에서 암을 치료하기 위한 방법은 환자에게 유효 용량의 항-VEGF/항-DLL4 이중특이적 항체를 간헐적 투여 요법에 따라 투여하는 것, 및 항-VEGF/항-DLL4 이중특이적 항체의 치료 지수를 증가시키는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 간헐적 투여 요법은 항-VEGF/항-DLL4 이중특이적 항체의 초기 용량을 환자에게 투여하는 것, 및 항-VEGF/항-DLL4 이중특이적 항체의 후속 용량을 대략 매 2주 1회 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 간헐적 투여 요법은 항-VEGF/항-DLL4 이중특이적 항체의 초기 용량을 환자에게 투여하는 것, 및 항-VEGF/항-DLL4 이중특이적 항체의 후속 용량을 대략 매 3주 1회 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 간헐적 투여 요법은 항-VEGF/항-DLL4 이중특이적 항체의 초기 용량을 환자에게 투여하는 것, 및 항-VEGF/항-DLL4 이중특이적 항체의 후속 용량을 대략 매 4주 1회 투여하는 것을 포함한다.
- [0289] 일부 실시양태에서, 간헐적 투여 요법에서의 후속 용량은 초기 용량의 거의 동일량 또는 미만이다. 다른 실시양태에서, 후속 용량은 초기 용량보다 초과량이다. 당업자에 의해 공지된 바와 같이, 사용된 용량은 성취하고자 하는 임상적 목표에 따라 다를 것이다. 일부 실시양태에서, 초기 용량은 약 0.25 mg/kg 내지 약 20 mg/kg 이

다. 일부 실시양태에서, 초기 용량은 약 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 또는 20 mg/kg이다. 특정 실시양태에서, 초기 용량은 약 0.5 mg/kg이다. 특정 실시양태에서, 초기 용량은 약 1 mg/kg이다. 특정 실시양태에서, 초기 용량은 약 2.5 mg/kg이다. 특정 실시양태에서, 초기 용량은 약 5 mg/kg이다. 특정 실시양태에서, 초기 용량은 약 7.5 mg/kg이다. 특정 실시양태에서, 초기 용량은 약 10 mg/kg이다. 특정 실시양태에서, 초기 용량은 약 12.5 mg/kg이다. 특정 실시양태에서, 초기 용량은 약 15 mg/kg이다. 특정 실시양태에서, 초기 용량은 약 20 mg/kg이다. 일부 실시양태에서, 후속 용량은 약 0.25 mg/kg 내지 약 15 mg/kg이다. 특정 실시양태에서, 후속 용량은 약 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 또는 15 mg/kg이다. 특정 실시양태에서, 후속 용량은 약 0.5 mg/kg이다. 특정 실시양태에서, 후속 용량은 약 1 mg/kg이다. 특정 실시양태에서, 후속 용량은 약 2.5 mg/kg이다. 특정 실시양태에서, 후속 용량은 약 5 mg/kg이다. 일부 실시양태에서, 후속 용량은 약 7.5 mg/kg이다. 일부 실시양태에서, 후속 용량은 약 10 mg/kg이다. 일부 실시양태에서, 후속 용량은 약 12.5 mg/kg이다.

[0290] 일부 실시양태에서, 간헐적 투여 요법은 (a) 환자에게 항-VEGF/항-DLL4 이중특이적 항체의 초기 용량 약 2.5 mg/kg을 투여하는 것 및 (b) 후속 용량 약 2.5 mg/kg을 매 2주 1회 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 간헐적 투여 요법은 (a) 환자에게 항-VEGF/항-DLL4 이중특이적 항체의 초기 용량 약 5 mg/kg을 투여하는 것 및 (b) 후속 용량 약 5 mg/kg을 매 2주 1회 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 간헐적 투여 요법은 (a) 환자에게 항-VEGF/항-DLL4 이중특이적 항체의 초기 용량 약 2.5 mg/kg을 투여하는 것 및 (b) 후속 용량 약 2.5 mg/kg을 매 3주 1회 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 간헐적 투여 요법은 (a) 환자에게 항-VEGF/항-DLL4 이중특이적 항체의 초기 용량 약 5 mg/kg을 투여하는 것 및 (b) 후속 용량 약 5 mg/kg을 매 3주 1회 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 간헐적 투여 요법은 (a) 환자에게 항-VEGF/항-DLL4 이중특이적 항체의 초기 용량 약 2.5 mg/kg을 투여하는 것 및 (b) 후속 용량 약 2.5 mg/kg을 매 4주 1회 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 간헐적 투여 요법은 (a) 환자에게 항-VEGF/항-DLL4 이중특이적 항체의 초기 용량 및 유지 용량은 상이하며, 예를 들어, 초기 용량은 약 5 mg/kg이고 후속 용량은 약 2.5 mg/kg이다. 특정 실시양태에서, 간헐적 투여 요법은 예를 들어, 초기 용량은 약 20 mg/kg이고 후속 용량은 매 2주 1회, 매 3주 1회, 또는 매 4주 1회 약 2.5 mg/kg 또는 약 5 mg/kg으로 투여되는 부하 용량을 포함할 수 있다.

[0291] 본 발명의 또 다른 측면은 인간 환자에게 간헐적 투여 요법을 사용하여 항-VEGF/항-DLL4 이중특이적 항체를 투여하는 것을 포함하는, 상기 환자에서 항-VEGF/항-DLL4 이중특이적 항체의 독성을 감소시키기 위한 방법에 관한 것이다. 본 발명의 또 다른 측면은 인간 환자에게 간헐적 투여 요법을 사용하여 항-VEGF/항-DLL4 이중특이적 항체를 투여하는 것을 포함하는, 상기 환자에서 항-VEGF/항-DLL4 이중특이적 항체의 부작용을 감소시키기 위한 방법에 관한 것이다. 본 발명의 또 다른 측면은 인간 환자에게 간헐적 투여 요법을 사용하여 항-VEGF/항-DLL4 이중특이적 항체를 투여하는 것을 포함하는, 상기 환자에서 항-VEGF/항-DLL4 이중특이적 항체의 치료 지수를 증가시키기 위한 방법에 관한 것이다.

[0292] 초기 및 후속 용량에 대한 전달 방법은 동물 또는 인간 환자가 체내로의 항-VEGF/항-DLL4 이중특이적 항체의 도입을 견디는 능력에 따라 선택된다. 따라서, 본원에 기재된 임의의 측면 및/또는 실시양태에서, 항-VEGF/항-DLL4 이중특이적 항체의 투여는 정맥내 주사에 의한 투여 또는 정맥내로의 투여일 수 있다. 일부 실시양태에서, 투여는 정맥내 주입에 의한 것이다. 본원에 기재된 임의의 측면 및/또는 실시양태에서, 항-VEGF/항-DLL4 이중특이적 항체의 투여는 비-정맥내 경로에 의한 것일 수 있다.

[0293] V. VEGF/DLL4-결합제를 포함하는 키트

[0294] 본 발명은 본원에 기재된 VEGF/DLL4-결합제 (예를 들어, 항체)를 포함하고 본원에 기재된 방법을 수행하는데 사용될 수 있는 키트를 제공한다. 특정 실시양태에서, 키트는 하나 이상의 용기에서의 VEGF 및/또는 DLL4에 대한 하나 이상의 정제된 항체를 포함한다. 일부 실시양태에서, 키트는 검출 검정을 수행하는데 필요하고/하거나 충분한 모든 성분, 예컨대 모든 통제 집단, 검정을 수행하기 위한 지시사항, 및 결과의 분석 및 제시에 필요한 임의의 소프트웨어를 함유한다. 당업자는 본 발명의 개시된 VEGF/DLL4-결합제가 당업계에 널리 공지된 기정 키트 포맷 중 하나에 용이하게 포함될 수 있음을 용이하게 인식할 것이다.

[0295] VEGF/DLL4-결합제 (예를 들어, 항-VEGF/항-DLL4 이중특이적 항체) 뿐만 아니라 하나 이상의 추가의 치료제를 포함하는 키트가 추가적으로 제공된다. 특정 실시양태에서, 제2 (또는 초과) 치료제는 화학요법제이다. 특정 실시양태에서, 제2 (또는 초과) 치료제는 혈관신생 억제제이다.

[0296] 본 개시내용의 실시양태는 본 개시내용의 특정 항체의 제조 및 본 개시내용의 항체를 사용하기 위한 방법을 구체적으로 기재하는 하기의 비제한적 실시예를 참고하여 추가적으로 정의될 수 있다. 물질 및 방법 둘 다에 대한 많은 변형이 본 개시내용의 범위를 벗어나지 않고 실행될 수 있음이 당업자에게 명백할 것이다.

[0297] 실시예

[0298] 실시예 1

[0299] 항-VEGF/항-DLL4 항체의 결합 친화도

[0300] 모 항체 항-VEGF 219R45 (IgG 포맷), 항-DLL4 21R79 (IgG 포맷), 항-DLL4 21M18 (IgG 포맷) 및 이중특이적 항체 219R45-MB-21M18 및 219R45-MB-21R79의 K_D 는 비아코어 라이프사이언시스 (지이 헬스케어(GE Healthcare))로부터의 비아코어 2000 시스템을 사용하여 결정되었다. 재조합 인간 DLL4-Fc 또는 마우스 DLL4-Fc 단백질은 표준 아민-기반 화학 (NHS/EDC)을 사용하여 CM5 카르복실 칩 상에 고정되고, 에탄올아민으로 차단되었다. 재조합 인간 VEGF₁₆₅ 또는 마우스 VEGF₁₆₅는 비오틴화되고 스트렙타비딘 칩 상에 고정되었다. 항체는 HBS-P (0.01 M HEPES pH7.4, 0.15 M NaCl, 0.005% v/v 폴리소르베이트 20)중 100 nM에서 0.78 nM으로 2배 연속 희석되었다. 각 항체에 대해, 모든 8개의 희석액이 특정한 칩 상으로 순차적으로 주사되었다. 동역학적 데이터를 시간에 따라 수집하고 이를 전반 적합 연립 방정식(simultaneous global fit equation)을 사용하여 피팅하여 각 이중특이적 항체에 대한 친화도 상수 (K_D 값)를 획득하였다.

표 3

항체	hVEGF (nM)	mVEGF(nM)	hDLL4 (nM)	mDLL4 (nM)
219R45	0.67	22.9	NB	NB
21M18	NB	NB	<0.1	NB
21R79	NB	NB	<0.1	NB
219R45-MB-21M18	0.36	25.5	16	NB
219R45-MB-21R79	0.68	12.5	0.53	NB

[0301]

[0302] 표 3에 나타난 바와 같이, 이중특이적 항체 219R45-MB-21M18은 인간 VEGF에 대해 0.36 nM의 친화도 상수 (K_D) 및 인간 DLL4에 대해 16 nM의 K_D 를 갖는다. 이중특이적 항체 219R45-MB-21R79는 인간 VEGF에 대해 0.68 nM의 K_D 및 인간 DLL4에 대해 0.53 nM의 K_D 를 갖는다. 이중특이적 항체 둘 다는 인간 VEGF에 비해 마우스 VEGF에 더 약한 결합을 입증하였으며, 어느 항체도 마우스 DLL4에 결합하지 않았다. 즉, 이중특이적 항체 둘 다는 인간 VEGF에 대해 유사한 결합 친화도를 입증하였고, 219R45-MB-21R79는 219R45-MB-21M18보다 인간 DLL4에 대해 대략 30배 더 강한 결합을 입증하였다. 더욱이, 이중특이적 항체 219R45-MB-21R79는 이중특이적 항체가 2가 모 항체에 비해 VEGF에 대해 1가라는 사실에도 불구하고 인간 VEGF에 대해 유사한 결합 친화도를 가졌다.

[0303] 몇몇 추가의 항-DLL4 항체는 21M18 및 21R79의 K_D 에 대해 중간의 결합 친화도를 갖는 것으로 확인되었다. 2가지 이들 항-DLL4 항체는 항-VEGF/항-DLL4 이중특이적 항체 219R45-MB-21R75 및 219R45-MB-21R83을 생성하는 데 사용되었다. 상기 기재된 바와 같은 비아코어 2000 시스템을 사용하여, 인간 DLL4에 대한 이중특이적 항체 219R45-MB-21R75 및 219R45-MB-21R83의 K_D 를 측정하였다. 이들 4가지 항-VEGF/항-DLL4 이중특이적 항체의 인간 DLL4에 대한 결합 친화도의 비교를 표 4에 나타낸다.

[0304] 항-VEGF/항-DLL4 이중특이적 항체 219R45-MB-21M18, 219R45-MB-21R79, 219R45-MB-21R75, 및 219R45-MB-21R83에 대한 CDR을 도 1a에 나타낸다. 중쇄 및 경쇄 가변 영역 서열을 도 1b에 나타내고, 중쇄 및 경쇄 서열 (신호 서열을 갖는 것 및 신호 서열이 없는 것)을 도 1c에 나타낸다.

[0305] 항-VEGF/항-DLL4 이중특이적 항체 219R45-MB-21M18은 (a) 미국 버지니아주 마나사스 유니버시티 볼러바드 10801에 소재하는 아메리칸 타입 컬처 콜렉션 (ATCC)에 부다페스트 조약의 조건 하에 2012년 9월 21일자로 기탁되고, 수탁 번호 PTA-13233을 할당받은 서열:75를 포함하는 DNA에 의해 코딩되는 중쇄, (b) ATCC에 부다페스트 조약의 조건 하에 2012년 9월 21일자로 기탁되고, 수탁 번호 PTA-13236을 할당받은 서열:33을 포함하는 DNA에 의해 코

당되는 중쇄, 및 (c) ATCC에 부다페스트 조약의 조건 하에 2012년 9월 21일자로 기탁되고, 수탁 번호 PTA-13235를 할당받은 서열:34를 포함하는 DNA에 의해 코딩되는 경쇄를 포함한다.

[0306] 항-VEGF/항-DLL4 이중특이적 항체 219R45-MB-21R79는 (a) ATCC에 부다페스트 조약의 조건 하에 2012년 9월 21일자로 기탁되고, 수탁 번호 PTA-13232를 할당받은 서열:31을 포함하는 DNA에 의해 코딩되는 중쇄, (b) ATCC에 부다페스트 조약의 조건 하에 2012년 9월 21일자로 기탁되고, 수탁 번호 PTA-13236을 할당받은 서열:33을 포함하는 DNA에 의해 코딩되는 중쇄, 및 (c) ATCC에 부다페스트 조약의 조건 하에 2012년 9월 21일자로 기탁되고, 수탁 번호 PTA-13235를 할당받은 서열:34를 포함하는 DNA에 의해 코딩되는 경쇄를 포함한다.

[0307] 항-VEGF/항-DLL4 이중특이적 항체 219R45-MB-21R83은 (a) ATCC에 부다페스트 조약의 조건 하에 2012년 10월 24일자로 기탁되고, 수탁 번호 PTA-13278을 할당받은 서열:72를 포함하는 DNA에 의해 코딩되는 중쇄, (b) ATCC에 부다페스트 조약의 조건 하에 2012년 9월 21일자로 기탁되고, 수탁 번호 PTA-13236을 할당받은 서열:33을 포함하는 DNA에 의해 코딩되는 중쇄, 및 (c) ATCC에 부다페스트 조약의 조건 하에 2012년 9월 21일자로 기탁되고, 수탁 번호 PTA-13235를 할당받은 서열:34를 포함하는 DNA에 의해 코딩되는 경쇄를 포함한다.

[0308] 항-VEGF/항-DLL4 이중특이적 항체 219R45-MB-21R75는 (a) ATCC에 부다페스트 조약의 조건 하에 2012년 9월 21일자로 기탁되고, 수탁 번호 PTA-13234를 할당받은 서열:74를 포함하는 DNA에 의해 코딩되는 중쇄, (b) ATCC에 부다페스트 조약의 조건 하에 2012년 9월 21일자로 기탁되고, 수탁 번호 PTA-13236을 할당받은 서열:33을 포함하는 DNA에 의해 코딩되는 중쇄, 및 (c) ATCC에 부다페스트 조약의 조건 하에 2012년 9월 21일자로 기탁되고, 수탁 번호 PTA-13235를 할당받은 서열:34를 포함하는 DNA에 의해 코딩되는 경쇄를 포함한다.

표 4

항체	중쇄 CDR2	hDLL4 (nM)
219R45-MB-21M18	YISSYNGATNYNQKFKG (서열:15)	16.00
219R45-MB-21R79	YIANYNRATNYNQKFKG (서열:14)	0.53
219R45-MB-21R75	YIAGYKDATNYNQKFKG (서열:59)	5.10
219R45-MB-21R83	YISNYNRATNYNQKFKG (서열:65)	1.30

[0309]

[0310] 실시예 2

[0311] 인간 VEGF 및 인간 DLL4에 대한 이중특이적 항체의 동시 결합에 대한 HTRF 검정

[0312] VEGF 및 DLL4 둘 다에 대한 특정 항체 및/또는 항체 혼합물의 결합 능력을 특성화하기 위해, 균일 시간 분해 형광 (HTRF) 검정을 수행하였다. 시험된 항체는 항-VEGF/항-DLL4 이중특이적 항체 219R45-MB-21M18 및 219R45-MB-21R79, 모 항체 219R45 (항-VEGF), 21M18 (항-DLL4), 21R79 (항-DLL4), 219R45 및 21M18의 조합, 또는 219R45 및 21R79의 조합이었다. 항체 또는 항체 혼합물을 결합 완충제 (1X PBS, 0.1% 젤라틴, 0.1% 폴리소르베이트 20, 400 mM 플루오린화칼륨) 중 3000 nM 내지 2.9 nM로 2배 연속적으로 희석하고, 백색 96-웰 플레이트에 정치시켰다. 4 µg/ml의 d2-표지된 hDLL4-Fc 및 21.4ng/ml의 유로폼 크리페이트-표지된 hVEGF₁₆₅를 함유하는 동등 부피의 용액을 각 웰에 100 µl의 최종 부피에 대해 첨가하였다 (수용자 및 공여자 형광단의 최종 농도는 각각 2 µg/ml 및 10.7 ng/ml임). 검정 플레이트를 2시간 동안 밤새 인큐베이션하고, 314 nm의 여기 파장에서 스펙트라맥스 M5e 마이크로플레이트 판독기 (몰레큘라 디바이시스(Molecular Devices), 미국 캘리포니아주 서니 베일 소재) 상에서 판독하였다.

[0313] 도 2에 나타난 바와 같이, 항-VEGF/항-DLL4 이중특이적 항체 219R45-MB-21M18 및 219R45-MB-21R79는 hVEGF 및 hDLL4 둘 다에 동시에 결합할 수 있었다. 중요하게, 모 항체의 조합 (즉, 219R45 및 21M18 또는 219R45 및 21R79) 어느 것도 VEGF 및 DLL4에 동시에 결합할 수 없었다. 이들 결과는 항-VEGF/항-DLL4 이중특이적 항체 219R45-MB-21M18 및 219R45-MB-21R79가 단지 2가지 개별 항체의 혼합물보다 상이하게 작용할 수 있음을 명백하게 입증한다.

[0314] 실시예 3

[0315] 항-VEGF/항-DLL4 이중특이적 항체에 의한 HUVEC 증식의 억제

- [0316] HUVEC 세포를 론자 (Lonza) (미국 매릴랜드주 워커스빌 소재)로부터 수득하고, 성장 배지 (M199, 10% 열-불활성화 FBS (HI-FBS), 50 µg/ml EGS, 1X 헤파린, 1 mM L-글루타민)에서 배양하였다. HUVEC 증식 검정을 위해, 96-웰 플레이트를 50 µl의 10 µg/ml 래트 꼬리 콜라겐 유형 I 용액 (0.02N 아세트산 중 콜라겐 I)으로 예비-코팅하고, 4°C에서 밤새 인큐베이션하였다. 인큐베이션 후, 플레이트를 철저히 흡기하여 비결합된 콜라겐 I 용액을 제거하고, 200 µl DPBS로 1회 세척하였다. HUVEC 세포를 내피 세포 서브클론 시약을 사용하여 성장 플라스크의 표면으로부터 제거하고, 4°C에서 1200 rpm에서 5분 동안 원심분리하였다. 세포를 결핍/검정 배지 (M199 및 2% HI-FBS, 1X 헤파린, 5U/ml 헤파린-글루타민)에 10^5 세포/ml의 밀도로 재현탁시켰다. 세포를 콜라겐-코팅된 검정 플레이트 내로 5000 세포/웰, 50µl/웰로 시딩하였다. 세포를 37°C에서 3시간 동안 인큐베이션하고, 1회 세척하고, 100µl 검정 배지로 재공급하고, 37°C에서 밤새 인큐베이션하였다. 다음 날, 이중특이적 항체 219R45-MB-21M18, 219R45-MB-21R79, 모 항체 219R45, 또는 대조군 항체 LZ1을 인간 VEGF (R&D 바이오시스템즈(R&D Biosystems), 미국 미네소타주 미네아폴리스 소재)와의 혼합물 중에서 제조하였다. 항체를 hVEGF (최종 농도 5ng/ml)와의 조합 중 검정 완충제 중에서 20 µM 내지 0.25 nM로 5배 연속적으로 희석하였다. 혼합물을 37°C에서 2시간 동안 예비-인큐베이션하였다. 배지를 검정 플레이트로부터 제거하고, 100 µl의 항체/hVEGF 혼합물을 각 웰에 첨가하였다. 3 내지 4일 인큐베이션 후, 배지를 제거하고, 항체/hVEGF 혼합물의 새로운 분취액을 각 웰에 첨가하고, 추가의 4일 동안 인큐베이션하였다. 제7일에, 20 µl의 알라마르 블루 시약 (인비트로젠(Invitrogen), 미국 캘리포니아주 칼스배드 소재)을 각 웰에 첨가하고, 37°C에서 5 내지 6시간 동안 인큐베이션하였다. 플레이트를 539nm의 여기 파장 및 590nm의 발광 파장을 사용하여 스펙트라맥스 M5e 마이크로플레이트 판독기 (몰레큘라 디바이시스, 미국 캘리포니아주 서니베일 소재)로 판독하였다.
- [0317] 도 3에 나타난 바와 같이, 항-VEGF/항-DLL4 이중특이적 항체 219R45-MB-21M18 및 219R45-MB-21R79, 및 모 항-VEGF 항체 219R45는 HUVEC 증식을 억제하였다. 이들 결과는 이중특이적 항체가 HUVEC 세포의 VEGF-유도된 증식을 억제할 수 있음을 입증하였다.
- [0318] 실시예 4
- [0319] 이중특이적 항체에 의한 DLL4-유도된 노치 신호전달의 억제
- [0320] 인간 PC3 세포를 노치 신호전달에 대해 반응성인 전장 인간 노치 2 수용체 및 반딧불이 루시페라제 리포터 벡터 (8xCBF-루시페라제 리포터)로 형질감염시켰다. 세포를 또한 형질감염 효율에 대한 내부 대조군으로서 레닐라 루시페라제 리포터 (프로메가(Promega), 미국 위스콘신주 매디슨 소재)로 형질감염시켰다. 정제된 인간 DLL4 단백질을 100ng/웰로 96-웰 플레이트 상으로 코팅하고, 노치 2-발현 PC3-luc 세포를 웰에 첨가하였다. 항-VEGF/항-DLL4 이중특이적 항체 219R45-MB-21M18, 219R45-MB-21R79, 모 항-DLL4 항체 21M18, 21R79 또는 대조군 항체 LZ1을 20ug/ml 내지 0.064ug/ml로 5배 연속적으로 희석하고, 적절한 웰에 첨가하고, 밤새 인큐베이션하였다. 루시페라제 활성을 레닐라 루시페라제 활성에 대해 표준화된 반딧불이 루시페라제 활성을 갖는 이중 루시페라제 검정 키트 (프로메가, 미국 위스콘신주 매디슨 소재)를 사용하여 측정하였다.
- [0321] 도 4에 나타난 바와 같이, 항-VEGF/항-DLL4 이중특이적 항체 219R45-MB-21R79 및 모 항-DLL4 항체 21M18 및 21R79는 DLL4-유도된 노치 신호전달을 억제하였다. 이중특이적 항체 219R45-MB-21M18은 DLL4-유도된 노치 신호전달을 높은 항체 농도에서만 억제하였다. 이들 결과는 이중특이적 항체 219R45-MB-21R79, 및 더 적은 정도로 이중특이적 항체 219R45-MB-21M18이 DLL4-유도된 노치 신호전달을 억제할 수 있음을 입증하였다. 즉, 실시예 3에 제시된 결과와 조합으로, 항-VEGF/항-DLL4 이중특이적 항체 219R45-MB-21R79 및 219R45-MB-21M18은 VEGF-유도된 및 DLL4-유도된 신호전달 및/또는 증식 작용 둘 다를 억제하는 능력이 입증되었다.
- [0322] 실시예 5
- [0323] 인간 피부 이식편 모델에서의 이중특이적 항체에 의한 생체내 종양 성장의 억제
- [0324] 인간 피부 이식편 모델은 인간 피부 이식편 및 인간 종양 세포를 포함하는 것으로 보고되었다. 인간 피부 이식편을 확립하고, 이어서 인간 종양 세포를 피부 이식편 내로 이식하여, 종양 세포가 인간 기질 및 혈관계를 갖는 환경에서 성장하도록 한다 (문헌 [Tahtis et al., 2003, Mol. Cancer Ther. 2:229-737]). 인간 피부 샘플을 신생아 포피 조직으로부터 수득하고, NOD-SCID 마우스의 측면 플랭크 상으로 이식하였다. 피부 이식편의 확립 후, 루시페라제-표지된 OMP-C8 결장 종양 세포 (20,000 세포)를 인간 피부 내로 피내로 주사하였다. 종양 성장을 IVIS 영상화 시스템 (캘리퍼 라이프 사이언시스(Caliper Life Sciences), 미국 캘리포니아주 마운틴 뷰 소재)을 사용하여 생물발광 영상화에 의해 모니터링하였다. 종양을 1.2×10^6 포톤/초에 도달할 때까지 성장시켰다. 종양-함유 마우스 (n = 6 마우스/군)를 랜덤화하고, 대조군 Ab, 항-hDLL4 항체 21M18, 항-VEGF 항체 베

바시주맵, 또는 항-VEGF/항-DLL4 이중특이적 항체 219R45-MB-21M18로 처리하였다. 동물을 1주에 1회 처리하고, 항체를 25 mg/kg의 용량으로 복강내로 투여하였다. 종양 성장을 지시된 날에 생물발광 영상화에 의해 모니터링 하였다.

[0325] 도 5에 나타난 바와 같이, 항-hDLL4 항체 21M18 및 항-VEGF 항체 베바시주맵 둘 다는 상기 인간 피부 이식편/인간 종양 모델에서 종양 성장을 억제하였다. 더욱이, 이중특이적 항-VEGF/항-DLL4 이중특이적 항체 219R45-MB-21M18은 항-DLL4 항체 또는 항-VEGF 항체 어느 것 단독보다 더 효과적이었다. 이들 데이터는 이중특이적 항체로 DLL4 및 VEGF를 동시에 표적화하는 것의 유용성을 입증한다.

[0326] 실시예 6

[0327] 항-VEGF/항-DLL4 이중특이적 항체로 처리한 후의 OMP-PN8 췌장 종양 세포의 종양발생성

[0328] OMP-PN8 췌장 종양을 갖는 마우스를 대조군 항체 (15 mg/kg), 항-hDLL4 항체 21M18 (15 mg/kg), 항-VEGF 항체 베바시주맵 (15 mg/kg), 또는 겐시타빈 (70 mg/kg)이 있거나 없는 항-VEGF/항-DLL4 이중특이적 항체 219R45-MB-21M18 또는 219R45-MB-21R79 (30 mg/kg)로 처리하였다. 처리 4주 후, 종양을 수확하고, 단세포 현탁액으로 가공하고, 인간 종양 세포를 무린 세포의 면역자기 고갈에 의해 정제하였다. 각 처리군으로부터의 90개의 인간 종양 세포를 마우스의 새로운 코호트 (n = 10 마우스/군)로 옮겼다. 종양을 임의의 처리 없이 55일 동안 성장시키고, 종양 부피를 전자 캘리퍼로 측정하였다.

[0329] 도 6은 각각의 군에서의 개별 마우스로부터의 종양 부피를 나타낸다. 항-hDLL4 항체 21M18로 처리된 마우스로부터 단리된 세포는 10마리의 마우스 중 9마리가 종양을 갖는 대조군 항체로 처리된 마우스로부터 단리된 세포에 비해, 10마리의 마우스 중 5마리가 종양을 갖는 크게 감소된 종양발생성을 가졌다. 종양 성장 빈도의 감소는 암 줄기 세포 빈도의 감소를 나타낸다. 반대로, 베바시주맵 처리는 10마리의 마우스 중 10마리가 종양을 가져서 종양 성장 빈도의 감소를 초래하지 않았다. 베바시주맵과 유사하게, 단일 작용제로서의 겐시타빈으로의 처리는 10마리의 마우스 중 10마리가 종양을 갖는 바와 같이 종양 성장에 효과를 갖지 않았다. 항-VEGF/항-DLL4 이중특이적 항체 219R45-MB-21M18 및 219R45-MB-21R79 둘 다는 종양 성장 빈도가 감소되었다 (각각 10마리의 마우스 중 5마리가 종양을 갖고, 10마리의 마우스 중 4마리가 종양을 가짐). 겐시타빈과의 조합 처리는 종양 성장 빈도에 효과를 갖지 않는 것으로 나타났다. 이들 데이터는 DLL4를 표적화하는 것은 암 줄기 세포 빈도를 감소시키는 반면, VEGF 단독을 표적화하는 것은 그렇지 않음을 나타낸다. 중요하게, 이들 데이터는 항-DLL4 항체의 항-CSC 활성이 이중특이적 항체에서 유지됨을 나타낸다.

[0330] 실시예 7

[0331] 이중특이적 항체 ELISA

[0332] VEGF (아트젠(ATGEN), 대한민국 소재)를 닌크 막시소르브 플레이트 상으로 2ug/ml (100 μ l/웰)로 코팅하고, 2 내지 8°C에서 밤새 인큐베이션하였다. 이중특이적 항체 219R45-MB-21M18, 219R45-MB-21R79, 219R45-MB-21R75, 및 219R45-MB-21R83을 2 μ g/ml 비오틴-DLL4-hFc를 함유하는 차단 완충제 (1x PBS, 0.1% 젤라틴, 0.1% 폴리소르베이트-20, pH 7.4) 중에서 희석하였다. 항체를 500ng/ml 내지 0.008ng/ml로 3배 연속적으로 희석하였다. 항체 샘플을 비오틴-DLL4-hFc를 함유하는 차단 완충제 중에서 2시간 동안 인큐베이션하였다. 인큐베이션 후, 항체 샘플을 VEGF-코팅된 검정 플레이트 (100 μ l/웰)로 옮기고, 2시간 동안 인큐베이션하였다. 스트렙타비딘-HRP (잭슨 이뮤노리서치(Jackson ImmunoResearch), 미국 펜실베이니아주 웨스트 그로브 소재)를 각 웰에 첨가하고, 1시간 동안 인큐베이션하였다. TMB 기제를 10분 색 현상을 갖는 웰에 첨가하고, 반응을 2 M 황산으로 중단시켰다. 흡광도를 450 내지 650nm에서 관독하고, 데이터를 소프트맥스 프로(Softmax Pro) 분석 프로그램 (몰레큘라 디바이시스, 미국 캘리포니아주 서니베일 소재) 내의 4-파라미터 피트를 사용하여 분석하였다.

[0333] 도 7은 참조 항-VEGF/항-DLL4 이중특이적 항체 (꼭 찬 원)에 비교한 이중특이적 항체 219R45-MB-21M18 (개방형 원), 219R45-MB-21R79 (개방형 정사각형), 219R45-MB-21R75 (개방형 삼각형), 및 219R45-MB-21R83 (개방형 다이아몬드)의 역가 곡선을 나타낸다. 참조 이중특이적 항체에 비교한 이중특이적 항체에 대한 상대 효능을 표 5에 나타낸다.

표 5

항체	상대 효능 (%)
219R45-MB-21M18	67
219R45-MB-21R79	501
219R45-MB-21R75	422
219R45-MB-21R83	222

[0334]

[0335]

[0336]

[0337]

[0338]

[0339]

[0340]

[0341]

[0342]

이중특이적 항체 219R45-MB-21R79는 219R45-MB-21M18보다 약 7배 더 큰 효능으로 가장 효능있었으며, 이는 21R79 항원-결합 부위의 보다 높은 친화도를 반영하였다.

실시예 8

이중특이적 항체 제조

이중특이적 항체를 GS-CHO 세포주를 사용하여 제조하였다. CHOK1SV 세포 (론자 바이올로지스)를 선택 마커로서 글루타민 신데타제 (GS)로 커플링된 관심의 유전자(들)로 전기천공을 통해 형질감염시켰다. 형질감염체 및 서브클론을 항체 생산성에 대해 스크리닝하고, 고 생산자를 스케일 업 제조를 위해 선택하였다. 세포를 유가식 공정 및 유가식 생물반응기를 사용하여 성장시켰다. 수확된 세포 배양액 (HCCF) 중에 축적된 항체를 단리하고, 크로마토그래피 기술을 사용하여 정제하였다.

이중특이적 항체 세포주 219R45-MB-21M18.010.017 및 219R45-MB-21R79.017.003을 5L 교반 탱크 생물반응기 중에서 14일 동안 배양하였다. 세포주 219R45-MB-21M18.010.017은 3.0g/L의 최종 항체 역가를 생성하였고, 세포주 219R45-MB-21R79.017.003은 0.8g/L의 최종 항체 역가를 생성하였다. 세포주 219R45-MB-21R75.101 및 219R45-MB-21R83.113을 25L 웨이브 (WAVE) 바이오리액터 시스템 (지이 헬스케어) 중에서 0.4g/L의 최종 항체 역가를 달성하는 유가식 공정을 사용하여 배양하였다. 이중특이적 항체 세포주 219R45-MB-21M18AG.138.007, 219R45-MB-21M18AG.038.009, 219R45-MB-21M18AG.142.002, 219R45-MB-21R79AG.072.014 및 219R45-MB-21R83AG.129.003을 5 L 교반 탱크 생물반응기 중에서 14 내지 15일 동안 배양하였다. 세포주 219R45-MB-21M18AG.138.007은 14일 후 1.0 g/L의 최종 항체 역가를 생성하였다. 세포주 219R45-MB-21M18AG.038.009는 14일 후 1.6 g/L의 최종 항체 역가를 생성하였다. 세포주 219R45-MB-21M18AG.142.002는 14일 후 2.6 g/L의 최종 항체 역가를 생성하였다. 세포주 219R45-MB-21R79AG.072.014는 15일 후 2.1 g/L의 최종 항체 역가를 생성하였다. 세포주 219R45-MB-21M18AG.038.009는 15일 후 2.4 g/L의 최종 항체 역가를 생성하였다. 배양액을 이들 4가지 세포주 각각으로부터 여과에 의해 수확하고, 단백질 A 친화성 크로마토그래피에 제공하였다. 단백질 A 칼럼을 일련의 완충제로 세척하고, 항체를 저 pH 용리 완충제를 사용하여 용리하였다. 이중특이적 항체의 순도의 초기 특성화를 크기 배제 크로마토그래피 (SEC-HPLC) 및 등전 포커싱 (IEF)을 사용하여 수행하였다.

크기 배제 크로마토그래피 (SEC)를 사용하여 항체 생성물의 순도를 측정하였다. SEC는 용액 중의 분자 (예를 들어, 항체)가 그들의 크기에 의해 분리되는 널리 공지된 크로마토그래피 방법이다. SEC는 응집체 및/또는 불순물로부터 항체 생성물을 구별하고, 총 혼합물에 비교한 항체 생성물의 백분율을 측정하는 데 사용될 수 있다. 본원에 사용된 SEC는 동중체 항체 및 이중이량체 이중특이적 항체 사이를 구별하지 않는다.

영상화 모세관 등전 포커싱 (icIEF)을 사용하여 이중특이적 항체 이중이량체의 동일성 및 순도를 측정하였다. icIEF를 사용하여, 항체의 전하 이소형을 그들의 pI에 따라 분리하며, 그 결과는 항체의 전하 분포의 "지문"이다. icIEF 방법은 또한 임의의 동중이량체 생성물 또는 불순물로부터 그들의 분명한 pI에 의해 이중특이적 항체 이중이량체를 분리함으로써 순도의 측정으로서 기능할 수 있다.

이중특이적 항체 샘플을 프로테인심플(ProteinSimple) ICE280 기기 (프로테인심플, 미국 캘리포니아주 산타 클라라 소재) 상에서 icIEF에 의해 분석하였다. 상기 분석을 위해, 단백질 혼합물을 모세관 내로 도입하고, 고 전압을 모세관을 통해 인가하였고, 양성전해질은 모세관의 길이를 따라 선형 pH 구배를 확립하였다. 전기장의 영향 하에, pI 마커 및 단백질 혼합물 둘 다는 pH 값이 순 전하가 0에 도달할 때까지 모세관의 길이를 이동하였다. 초점화되면, ICE280 기기는 280-nm UV 카메라로의 전체-칼럼 영상화 검출을 사용하여 모세관 내의 단백질 이소형의 패턴을 모니터링하였다. 얻어진 전기영동도를 초기 pI 마커를 사용하여 보정하고, 적분하여 단백질 혼합물의 상이한 하전된 이소형의 각각의 백분율 면적을 확립하였다. 몇몇 항-VEGF/항-DLL4 이중특이적 항체로부터의 전하 프로파일을 도 8에 나타낸다. 상기 실험을 위해, 단백질 A 용리액을 밀리큐(MilliQ) 수로 6.6

mg/ml의 농도로 희석하였다. 샘플의 총 18 μ l를 8 M 우레아 100 μ L, 0.5% 메틸셀룰로스 70 μ l, 3 내지 10 과말라이트(Pharmalyte) 8 μ L, 고 pI 마커 2 μ l 및 저 pI 마커 2 μ l와 최종 부피 200 μ l가 되도록 혼합하였다. 표 6은 SEC-HPLC에 의해 측정된 단백질 A 친화성 크로마토그래피 후의 세포주 219R45-MB-21M18.010.017, 219R45-MB-21R79.017.002, 219R45-MB-21R75.101, 219R45-MB-21R83.113, 219R45-MB-21M18.138.007, 219R45-MB-21M18AG.038.009, 219R45-MB-21M18AG.142.002, 219R45-MB-21R79AG.072.014, 및 219R45-MB-21R83AG.129.003로부터의 항체 생성물의 백분율을 나타낸다. 표 6은 또한 icIEF에 의해 분석된 단백질 A 친화성 크로마토그래피 후의 세포주 219R45-MB-21M18.010.017, 219R45-MB-21R79.017.002, 219R45-MB-21R75.101, 219R45-MB-21R83.113, 219R45-MB-21M18.138.007, 219R45-MB-21M18AG.038.009, 219R45-MB-21M18AG.142.002, 219R45-MB-21R79AG.072.014, 및 219R45-MB-21R83AG.129.003으로부터의 이중이량체 항체의 백분율을 나타낸다.

표 6

세포주	항체 역가 (g/L)	SEC에 의한 순도 (%)	IEF에 의한 순도 (%이중이량체)
219R45-MB-21M18.010.017	3.0	73.9	47.2
219R45-MB-21R79.017.002	0.8	79.3	72.5
219R45-MB-21R75.101	0.4	91.2	84.9
219R45-MB-21R83.113	0.4	91.8	91.4
219R45-MB-21M18.138.007	1.0	92.6	95.8
219R45-MB-21M18AG.038.009	1.6	89.6	89.0
219R45-MB-21M18AG.142.002	2.6	91.2	84.6
219R45-MB-21R79AG.072.014	2.1	87.8	84.9
219R45-MB-21R83AG.129.003	2.4	89.4	90.5

[0343]

[0344]

이중특이적 항체 생성물의 순도는 추가의 크로마토그래피 단계에 의해 더 증가될 수 있다. 단백질 A 친화성 크로마토그래피 후, 용리액 분획을 저 pH에서 60분 이상 동안 실온에서 바이러스 불활성화를 위해 유지하였다. 항체 용액 (단백질 A 칼럼 용리액, pH 조정됨)을 강 음이온-교환 칼럼 상으로 적하하였다. 음이온 교환 크로마토그래피 수지에 결합된 생성물- 및 공정-관련된 불순물 및 유동-통과 분획 (항체 생성물)을 수집하였다. 일부 경우에, 순도는 다중-모드 크로마토그래피 수지, 예컨대 세라믹 히드록시아파타이트의 사용에 의해 더 개선되었다. 일부 경우에, 항체 생성물의 완충제 교환은 부형제를 첨가한 후 한외여과 및 정용여과 기술을 사용하여 착수하였다. 제제화된 항체를 멸균 용기 내로 여과하고, 냉장 또는 동결 저장하였다. 이중특이적 항체의 순도를 SEC-HPLC 및 IEF를 사용하여 재평가하였다.

표 7

세포주	SEC에 의한 순도 (%)	IEF에 의한 순도 (%이중이량체)
219R45-MB-21M18.010.017	98.9	98.5
219R45-MB-21R79.017.002	95.1	99.3
219R45-MB-21R75.101	97.2	98.2
219R45-MB-21R83.113	95.3	91.4
219R45-MB-21M18.138.007	98.1	100
219R45-MB-21M18AG.142.002	99.6	100
219R45-MB-21R79AG.072.014	98.2	100
219R45-MB-21R83AG.129.003	99.6	100

[0345]

[0346]

표 7에 나타난 바와 같이, 단백질 A 후의 추가의 크로마토그래피 단계를 사용한 항-VEGF/항-DLL4 이중특이적 항체의 정제는 SEC에 의해 분석된 95% 내지 약 99% 순도인 항체 생성물의 단리를 초래하였다. IEF에 의한 분석은 세포주 219R45-MB-21M18.010.017로부터의 정제된 항-VEGF/항-DLL4 이중특이적 항체가 98.5% 이중이량체이고, 세포주 219R45-MB-21R79.017.002로부터의 항-VEGF/항-DLL4 이중특이적 항체가 99.3% 이중이량체이고, 세포주 219R45-MB-21R75.101로부터의 항-VEGF/항-DLL4 이중특이적 항체가 98.2% 이중이량체이고, 세포주

219R45-MB-21R83.113으로부터의 항-VEGF/항-DLL4 이중특이적 항체가 91.4% 이중이량체이고, 세포주 219R45-MB-21M18.138.007로부터의 항-VEGF/항-DLL4 이중특이적 항체가 100% 이중이량체이고, 세포주 219R45-MB-21M18AG.142.002로부터의 항-VEGF/항-DLL4 이중특이적 항체가 100% 이중이량체이고, 세포주 219R45-MB-21R79AG.072.014로부터의 항-VEGF/항-DLL4 이중특이적 항체가 100% 이중이량체이고, 세포주 219R45-MB-21R83AG.129.003으로부터의 항-VEGF/항-DLL4 이중특이적 항체가 100% 이중이량체였음을 결정하였다. 이들 결과는 음이온-교환 크로마토그래피 단계가 단백질 A 크로마토그래피 단독으로의 정제에 비해 이중이량체 항체의 백분율을 크게 증가시켰음을 입증하였다. 다중-모드 크로마토그래피 단계, 예컨대 세라믹 히드록시아파타이트의 추가는 또한 단량체 순도 (SEP-HPLC에 의해 측정된 바와 같음)를 개선시킬 수 있다.

[0347] 실시예 9

[0348] 생체내 종양 재발 모델의 OMP-C8 결장 종양 성장의 억제

[0349] OMP-C8 결장 종양 이중이식편 (20,000 세포)의 단세포 현탁액을 6 내지 8주령 NOD/SCID 마우스의 플랭크 내로 피하로 주사하였다. 종양을 240 mm³의 평균 부피에 도달할 때까지 33일 동안 성장시켰다. 마우스를 랜덤화하고 (n = 10/군), 모두 이리노테칸과 조합으로 항-hDLL4 항체 21M18, 항-VEGF 항체 베바시주맙, 항체 21M18 및 베바시주맙의 조합, 항-VEGF/항-DLL4 이중특이적 항체 219R45-MB-21M18, 항-VEGF/항-DLL4 이중특이적 항체 219R45-MB-21R79, 또는 대조군 항체로 처리하였다. 항체 및 이리노테칸을 주사에 의해 복강내 공동 내로 매주 투여하였다. 항체 21M18 및 베바시주맙은 7.5 mg/kg으로 투여하고, 이중특이적 항체 219R45-MB-21M18 및 219R45-MB-21R79는 15 mg/kg으로 투여하고, 이리노테칸은 45 mg/kg으로 투여하였다. 이리노테칸을 4주 동안 투여하고, 그 때, 이를 중단하고, 항체의 투여를 계속하였다. 종양 성장을 모니터링하고, 종양 부피를 지시된 시점에서 전자 캘리퍼로 측정하였다. 데이터를 평균 ± S.E.M.으로 표현하였다.

[0350] 도 9에 나타난 바와 같이, 항-hDLL4 항체 21M18은 이리노테칸으로의 처리를 중단한 후 계속 종양 성장을 억제하였다. 반대로, 항-VEGF 항체 베바시주맙은 이리노테칸이 중단된 후 종양의 재성장을 억제할 수 없었다. 항-DLL4 항체 21M18 및 항-VEGF 항체 베바시주맙의 조합은 어느 하나의 작용제 단독보다 종양 재성장의 보다 큰 억제를 초래하였다. 더욱이, 항-VEGF/항-DLL4 이중특이적 항체 219R45-MB-21M18은 2가지 항체의 혼합물보다 종양 재성장을 억제하는 데 보다 효과적이었다.

[0351] 실시예 10

[0352] OMP-C8 결장 종양의 종양발생의 감소

[0353] OMP-C8 결장 종양 이중이식편 (20,000 세포)의 단세포 현탁액을 6 내지 8주령 NOD/SCID 마우스의 플랭크 내로 피하로 주사하였다. 종양을 300 mm³의 평균 부피에 도달할 때까지 33일 동안 성장시켰다. 마우스를 랜덤화하고 (n = 5/군), 각각이리노테칸과 조합으로 또는 이리노테칸이 없는 항-DLL4 항체 21M18, 항-VEGF 항체 베바시주맙, 항체 21M18 및 베바시주맙의 조합, 항-VEGF/항-DLL4 이중특이적 항체 219R45-MB-21M18, 항-VEGF/항-DLL4 이중특이적 항체 219R45-MB-21R79, 또는 대조군 항체로 처리하였다. 항체 및 이리노테칸을 주사에 의해 복강내 공동 내로 매주 투여하였다. 항체 21M18 및 베바시주맙은 7.5 mg/kg으로 투여하고, 이중특이적 항체 219R45-MB-21M18 및 219R45-MB-21R79는 15 mg/kg으로 투여하고, 이리노테칸은 45 mg/kg으로 투여하였다. 종양을 4주 후에 수확하고, 단세포 현탁액 내로 가공하고, 인간 종양 세포를 단리하였다. 각 실험군으로부터의 150개의 종양 세포를 마우스의 새로운 코호트 (n = 10/군) 내로 피하로 주사하고, 종양을 처리 없이 성장시켰다. 종양 성장을 모니터링하고, 종양 부피를 전자 캘리퍼로 측정하였다.

[0354] 제68일에서의 개별 종양 부피를 도 10에 나타낸다. 항-DLL4 항체 21M18, 21M18과 항-VEGF 항체 베바시주맙의 조합, 이중특이적 항체 219R45-MB-21M18 및 219R45-MB-21R79, 및 이리노테칸은 모두 단일 작용제로서 종양 성장 빈도를 감소시켰다. 반대로, 단일 작용제로서의 항-VEGF 베바시주맙은 대조군 항체에 비해 종양 성장 빈도에 대한 효과를 갖지 않았다. 이리노테칸 및 항체의 조합으로 처리된 군에서, 이중특이적 항체 219R45-MB-21M18은 종양 성장 빈도를 감소시키는 데 가장 큰 효과를 가졌다.

[0355] 실시예 11

[0356] 생체내 OMP-C8 결장 종양 성장의 억제

[0357] OMP-C8 결장 종양 이중이식편 (50,000 세포)의 단세포 현탁액을 6 내지 8주령 NOD/SCID 마우스의 플랭크 내로 피하로 주사하였다. 종양을 80 mm³의 평균 부피에 도달할 때까지 21일 동안 성장시켰다. 마우스를 랜덤화하고

(n = 8/군), 각각 단독 또는 이리노테칸과 조합으로 항-DLL4 항체 21M18, 항-VEGF 항체 베바시주맙, 항-VEGF/항-DLL4 이중특이적 항체 219R45-MB-21M18, 219R45-MB-21R75, 219R45-MB-21R79, 219R45-MB-21R83, 또는 대조군 항체로 처리하였다. 항체 및 이리노테칸을 주사에 의해 복강내 공동 내로 매주 투여하였다. 베바시주맙 및 이중특이적 항체 219R45-MB-21M18, 219R45-MB-21R75, 219R45-MB-21R79, 및 219R45-MB-21R83은 15 mg/kg으로 투여하고, 이리노테칸은 7.5 mg/kg으로 투여하였다. 종양 성장을 모니터링하고, 종양 부피를 지시된 시점에서 전자 캘리퍼로 측정하였다. 데이터를 평균 ± S.E.M.으로서 표현하였다.

[0358] 단일 작용제로서, 모든 4가지 항-VEGF/항-DLL4 이중특이적 항체는 항-VEGF 항체 베바시주맙에 비해 향상된 항종양 활성을 나타내었다. 이리노테칸과의 조합으로, 항-VEGF/항-DLL4 이중특이적 항체 219R45-MB-21M18 및 219R45-MB-21R83으로의 처리는 종양 성장의 가장 큰 억제체를 초래하였다 (도 11).

[0359] 처리 상에 따라, 종양 섹션을 제조하고, 헤마톡실린 및 에오신 (H&E) 염색에 의해 분석하였다. 이리노테칸과 조합으로 219R45-MB-21M18 및 219R45-MB-21R83으로 처리된 종양은 광범위한 석회화의 증거를 제공하는 어두운 분홍색 염색 영역을 나타내었다. 이는 고도의 괴사성 종양 조직의 특징이다.

[0360] 실시예 12

[0361] 시노몰구스 원숭이에서의 이중특이적 항체의 비-GLP 독성 연구

[0362] 시노몰구스 원숭이에서의 비-GLP 독성 연구를 개시하여 일부의 이중특이적 항체의 독성 프로파일을 평가하고 비교하였다. 동물에게 0 mg/kg (대조군), 5 mg/kg (저용량), 또는 30 mg/kg (고용량)의 항-DLL4/항-VEGF 이중특이적 항체 (219R45-MB-21M18, 219R45-MB-21R83, 또는 219R45-MB-21R79)를 2주마다 IV 주입을 통해 투여하였다. 각각의 군에서 3마리의 수컷 및 3마리의 암컷에게 투여하였다. 15주 후, 219R45-MB-21R18 또는 219R45-MB-21R83 중 하나의 고용량을 받은 동물에서보다 219R45-MB-21R79의 고용량을 받은 동물에서 평균 체중이 더 낮았다. 또한, 219R45-MB-21R18 또는 219R45-MB-21R83 중 하나를 받은 동물에서보다 219R45-MB-21R79를 받은 동물에서 평균 혈청 알부민 수준이 더 낮았다. 사실상 예비적이지만, 이들 초기 데이터는 219R45-MB-21R18 및 219R45-MB-21R83이 219R45-MB-21R79에 비해 우수한 독성 프로파일을 가질 수 있음을 암시한다.

[0363] 본원에 기재된 실시예 및 실시양태는 단지 예시적 목적을 위한 것이며, 그에 비추어 다양한 변형 또는 변화가 당업자에게 시사될 것이고, 본원의 정신 및 범위 내에 포함되어야 함이 이해된다.

[0364] 본원에 인용된 모든 간행물, 특허, 특허 출원, 인터넷 사이트, 및 폴리뉴클레오티드 및 폴리펩티드 서열 둘 다를 포함하는 등록 번호/데이터베이스 서열은 각각의 개별 간행물, 특허, 특허 출원, 인터넷 사이트, 또는 등록 번호/데이터베이스 서열이 구체적으로 및 개별적으로 참조로 도입되는 것으로 나타난 것처럼 동일한 정도로 모든 목적을 위해 그의 전문이 본원에 참조로 인용된다.

서열

신호 서열 (미출)을 갖는 21M18 중쇄 (서열: 1)

MKHLWFFLLLVAAAPRWVLSQVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYSFTAYYIHWVKQAP
GQGLEWIGYISSYNGATNYNQKFKGRVTFITDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDYD
YDVGMIDYWGQGLTIVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN
SGALTSQVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVKRC
CVCPCPPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTIVVHQQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTI SSKTKGQP
REPQVYITLPPSREEMTKNQVSLTCLVEGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PMLDSDGS
FFLYSELTVDKSRWQQGNV FSCSVMEALHNHYTQKLSLSLSPGK

신호 서열 (미출)을 갖는 21R79 중쇄 (서열: 2)

MKHLWFFLLLVAAAPRWVLSQVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYSFTAYYIHWVKQAP
GQGLEWIGYIANYNRATNYNQKFKGRVTFITDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDYD
YDVGMIDYWGQGLTIVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN
SGALTSQVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVKRC
CVCPCPPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTIVVHQQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTI SSKTKGQP
REPQVYITLPPSREEMTKNQVSLTCLVEGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PMLDSDGS
FFLYSELTVDKSRWQQGNV FSCSVMEALHNHYTQKLSLSLSPGK

신호 서열 (미출)을 갖는 21R45 중쇄 (서열: 3)

MKHLWFFLLLVAAAPRWVLSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFNTYMMHWVRQAP
GQGLEWMDINPNSNGRTSYKEKFKRRVTL SVDKSSSTAYMELSSLRSED TAVYFCTIHYD
DKYYPLMDYWGQGLTIVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVS
WNSGALTSQVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVKRC
CVCPCPPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDG
VEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTIVVHQQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTI SSKTKG
QPREPQVYITLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFPDI AVEWESNGQPENNYKTT PMLKSD
GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMEALHNHYTQKLSLSLSPGK

신호 서열 (미출)을 갖는 경쇄 (서열: 4)

MVLQTQVFISLLLWISGAYGDI VMTQSPDSLAVSLGERATISCRASEVDNYGISFMKWF
QOKPGQPPKLLIYAASNQSGVDFRFSGSGSCTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQSKEVPW
TFGGGTKVEIKRTVAAPSVEIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNFFYPREAKVQWKVDNALQS
GNSQESVTEQDSKSTYSLSSTLTL SKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

예상 신호 서열이 없는 21M18 중쇄 (서열: 5)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYSFTAYYIHWVKQAPGQGLEWIGYISSYNGATNY
NQKFKGRVTFITDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDYDYDVGMIDYWGQGLTIVTVSSA
STKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSQVHTFPAVLQSSG
LYSLSSVTVPSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVKRCVCPCPPAPPVAGPSVFL
FPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRV
VSVLTIVVHQQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTI SSKTKGQPREPQVYITLPPSREEMTKNQ
VSLTCLVEGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PMLDSDGSFFLYSELTVDKSRWQQGNV
FSCSVMEALHNHYTQKLSLSLSPGK

예상 신호 서열이 없는 21R79 중쇄 (서열: 6)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYSFTAYYIHWVKQAPGQGLEWIGYIANYNRATNY
NQKFKGRVTFITDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDYDYDVGMIDYWGQGLTIVTVSSA
STKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSQVHTFPAVLQSSG
LYSLSSVTVPSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVKRCVCPCPPAPPVAGPSVFL
FPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRV

[0365]

VSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ
VSLTCLVEGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSEFFLYSELTVDKSRWQQGNV
FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

예상 신호 서열이 없는 219R45 중쇄 (서열: 7)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVCSKASGYTFTNYYMHWRQAPGQGLEWMGDINPSNGRTSY
KEKFKRRVTLISVDRSSSTAYMELSSLRSEDTAVYFCTIHYDDKYYPLMDYWGQGLVTVSS
SASTKGPSVFPFLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS
SGLYSLSVTVPSNFGTQTYTCNVDRKPSNTKVDKTKVERKCCVECPAPPVAGPSV
FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTF
RVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREKMTK
NQVSLTCLVKGFIYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLKSDGSEFFLYSKLTVDKSRWQQG
NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

예상 신호 서열이 없는 경쇄 (서열: 8)

DIVMTQSPDLSAVSLGERATISCRASESVDNYGISFMKWFQKPGQPPKLLIYAASNQGS
GVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQSKEVPWTFGGGTKVEIKRTVAAPSVF
IFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSTLSL
STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

21M18 중쇄 가변 영역 (서열: 9)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYSTAYYIHWVKQAPGQGLEWIGYISSYNGATNY
NQKFKGRVTFTTDTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDYDYDVGMDYWGQGLVTVSS

21R79 중쇄 가변 영역 (서열: 10)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYSTAYYIHWVKQAPGQGLEWIGYIANYNRATNY
NQKFKGRVTFTTDTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDYDYDVGMDYWGQGLVTVSS

219R45 중쇄 가변 영역 (서열: 11)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVCSKASGYTFTNYYMHWRQAPGQGLEWMGDINPSNGRTSY
KEKFKRRVTLISVDRSSSTAYMELSSLRSEDTAVYFCTIHYDDKYYPLMDYWGQGLVTVSS

경쇄 가변 영역 (서열: 12)

DIVMTQSPDLSAVSLGERATISCRASESVDNYGISFMKWFQKPGQPPKLLIYAASNQGS
GVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQSKEVPWTFGGGTKVEIK

21R75, 21R79, 21R83 및 21M18 중쇄 CDR1 (서열: 13)

TAYYIH

대안적 21R75, 21R79, 21R83 및 21M18 중쇄 CDR1 (서열: 79)

AYYIH

21R79 중쇄 CDR2 (서열: 14)

YIANYNRATNYNQKFKG

21M18 중쇄 CDR2 (서열: 15)

YISSYNGATNYNQKFKG

21R75, 21R79, 21R83 및 21M18 중쇄 CDR3 (서열: 16)

RDYDYDVGMDY

219R45 중쇄 CDR1 (서열: 17)

NYWMH

[0366]

219R45 중쇄 CDR2 (서열: 18)
DINPSNGR~~TSYKEKFKR~~

219R45 중쇄 CDR3 (서열: 19)
HYDDKYYPLMDY

경쇄 CDR1 (서열: 20)
RASESVDNYGISFMK

경쇄 CDR2 (서열: 21)
AASNQGS

경쇄 CDR3 (서열: 22)
QQSKEVPWTFGG

신호 서열 (밑줄)을 갖는 인간 DLL4 (서열: 23)
MAAASRSASGGWALLLLVALWQRAAGSGVFQQLQEFINERGVLASGRPCEPGCRTFFRV
CLKH~~FQAVVSPGPCTFGTVSTPVLGTNSFAVRDDSSGGGRNPLQLPFNFTWPGTFS~~LIIE
AWHAPGDDLRPEALPPDALISKIAIQGSLAVGQNWLLDEQTS~~TLTRLRYSYRVICS~~DNYY
GDNCSRLCKKRNDFGHYVCQPDGNLSCLPGWTGEYCQ~~QPICLSGCHEQNGYCSKPAECL~~
CRPGWQGR~~LCNECIPHNGCRHGTCSTPWQCTCDEGWGGLFCQDQDLNYCTHHS~~PCKNGATC
SNSGQRSY~~TCTCRPGYTGVDCELELSECDSNPCRNGGSCKDQEDGYHCLCPPGGYGLHCE~~
HSTLSCADSPCFNGGSCRE~~RNQGANYACECPNFTGSNCEKKVDRCTSNPCANGGQCLNR~~
GFSRMCRCRPGFTGT~~YCELVSDCARNPCAHGGTCHDLENGLMCTCPAGFSGRRCEVRTS~~
IDACASSPCFN~~RATCYTDLSTDTFVCNCPYGFVGSRCFFPVG~~

예상 신호 서열이 없는 인간 DLL4 (서열: 24)
SGVFQQLQEFINERGVLASGRPCEPGCRTFFRVCLKH~~FQAVVSPGPCTFGTVSTPVLGT~~
NSFAVRDDSSGGGRNPLQLPFNFTWPGTFS~~LIIEAWHAPGDDLRPEALPPDALISKIAIQ~~
GSLAVGQNWLLDEQTS~~TLTRLRYSYRVICS~~DNYYGDNCSRLCKKRNDFGHYVCQPDGNL
SCLPGWTGEYCQ~~QPICLSGCHEQNGYCSKPAECLCRPGWQGR~~LCNECIPHNGCRHGTCST
PWQCTCDEGWGGLFCQDQDLNYCTHHS~~PCKNGATCSNSGQRSY~~TCTCRPGYTGVDCELELS
ECDSNPCRNGGSCKDQEDGYHCLCPPGGYGLHCEHSTLSCADSPCFNGGSCRE~~RNQGANY~~
ACECPNFTGSNCEKKVDRCTSNPCANGGQCLNRGFSRMCRCRPGFTGT~~YCELVSDCAR~~
NPCAHGGTCHDLENGLMCTCPAGFSGRRCEVRTSIDACASSPCFN~~RATCYTDLSTDTFVC~~
NCPYGFVGSRCFFPVG

인간 DLL4 N-말단 영역 (서열: 25)
SGVFQQLQEFINERGVLASGRPCEPGCRTFFRVCLKH~~FQAVVSPGPCTFGTVSTPVLGT~~
NSFAVRDDSSGGGRNPLQLPFNFTWPGTFS~~LIIEAWHAPGDDLRPEALPPDALISKIAIQ~~
GSLAVGQN

인간 DLL4 DSL 도메인 (서열: 26)
WLLDEQTS~~TLTRLRYSYRVICS~~DNYYGDNCSRLCKKRNDFGHYVCQPDGNLSCLPGWTG
EYC

신호 서열 (밑줄)을 갖는 인간 VEGF-A (서열: 27)
MNFLLSWVHWSLALLLYLH~~HAKWSQAAPMAEGGGQNHHEVVK~~FMDVYQRSYCHPIETLVD
IFQEY~~PDEIEYIFK~~PSCVPLMRCGGCNDEGLECVPTESNITMQIMRIKPHQGHIGEM
SFLQH~~NKCECRPKDRARQE~~KKSVRGKGGKQKRRKRSRYKSWSVYVGARCCMPWSLPG
PHPCGPCSERRKHLFVQDPQTCKCCKNTDSRCKARQLELNERTCRCDKPRR

예상 신호 서열이 없는 인간 VEGF-A (서열: 28)

[0367]

AFMAEFGGQNHHEVVKFMDVYQRSYCHPIETLVDIFQEYDPDEIEYIFKPSVCVPLMRGGC
CNDEGLECVPTESNITMQIMRIKPHQGHIGEMSFLOHNKCECRPKKDRARQEKKSVRG
KKGKQKRKRKRSYKSWSVYVGARCCCLMPWLSLPGPHPCGPCSERRKHFLVQDPQTCKCSC
KNTDSRCKARQLELNERTCRCDKPRR

21M18 중쇄 뉴클레오타이드 서열 (13B 버전 1) (서열: 29)

ATGAAGCACCTGTGGTTCCTTCTGCTGCTGGTGGCCGCTCCCAGATGGGTGCTGTCCCAG
GTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCTGGCGCCTCCGTGAAGATCTCC
TGCAAGGCTCCGGCTACTCCTTCACCGCTTACTACATCCACTGGGTCAAGCAGGCCCT
GGCAGGGCCTGGAATGGATCGGCTACATCTCCTCCTACAACGGCGCCACCAACTACAAC
CAGAAATCAAGGGCCGCGTGACCTTCACCACCGACACCTCCACCTCCACCGCCTACATG
GAAC TGCGGTCCCTCGCGAGCGACGACACCGCGGTACTACTGCGCCAGAGACTACGAC
TACGACGTGGGCATGGACTACTGGGGCCAGGGCACCTGGTACCCGTGTCTCTGCCTCC
ACCAAGGGCCCATCCGTGTTCCCTCTGGCCCTTGCTCCCGGTCCACCTCTGAGTCTACC
GCCGCTCTGGGTGCTGTTGAGGACTACTTCCCTGAGCCTGTGACCGGTCTCTGGAAC
TCTGGCGCCCTGACCTCTGGCGTGCACACCTTCCCTGCCGTGCTGACGTCTCCGGCTG
TACTCCCTGTCTAGGGTGGTGACCGTGCCTTCCCTCAACTTCGGCACCCAGACCTACACC
TGTAACGTGGACCACAAGCCTTCCAACACCAAGGTGGACAAGACCGTGGAGCGGAAGTGC
TGCGTGGAGTGCCCTCTGTCTGCTCCTCCTGTGGCTGGCCCTTCTGTGTCTCTGTTC
CCTCCAAAGCCTAAGGACACCTGATGATCTCCGGACCCCTGAAGTGACCTGCGTGGTG
GTGGACGTGTCCACGAGGACCTGAGGTGCAGTTC AATTGGTACGTGGACGGCGTGGAG
GTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTCGGGAGGAACAGTTCAACTCCACCTTCCGGGTGGT
TCTGTGCTGACCGTGGTGACCAAGGACTGGCTGAACGGCAAGAATAACAAGTGCAAGGTG
TCCAACAAGGGCCTGCCTGCCCTATCGAAAAGACCATCAGCAAGACCAAGGGCCAGCCT
CGCGAGCCTCAGGTGTACACCTGCTCCTCCAGCCGGGAAGAAATGACCAAGAACAGGTG
TCCCTGACCTGTCTGGTGGAGGGCTTCTACCTTCCGATATCGCCGTGGAGTGGGAGTCT
AACGGCCAGCCTGAGAACAAC TACAAGACACCCCTCCTATGCTGGACTCCGACGGCTCC
TTCTTCTGTACTCCGAAC TACCGTGGACAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTC
TCCTGCTCCGTGATGCAGAGGCCCTGCACAACCCTACACCCAGAAGTCCCTGTCCCTG
TCTCCTGGCAAGTAG

21R79 중쇄 뉴클레오타이드 서열 (13B 버전 1) (서열: 90)

ATGAAGCACCTGTGGTTCCTTCTGCTGCTGGTGGCCGCTCCCAGATGGGTGCTGTCCCAG
GTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCTGGCGCCTCCGTGAAGATCTCC
TGCAAGGCTCCGGCTACTCCTTCACCGCTTACTACATCCACTGGGTGAACAGGCACCA
GGCCAGGGACTGGAATGGATCGGCTATATCGCCAAC TACAACCGGGCCACCAACTACAAC
CAGAAATCAAGGGCCGCGTGACCTTCACCACCGACACCTCCACCTCCACAGCCTACATG
GAAC TGCGGTCCCTCGCGAGCGACGACACCGCGGTACTACTGCGCCAGAGACTACGAC
TACGACGTGGGCATGGACTACTGGGGCCAGGGCACCTGGTGCAGTGTCTCTCCGCTCC
ACCAAGGGCCCTCCGTGTTCCCTCTGGCCCTTGCTCCCGGTCCACCTCTGAGTCTACC
GCCGCTCTGGGTGCTGGTGAAGGACTACTTCCCTGAGCCTGTGACCGTGTCTCTGGAAC
TCTGGCGCCCTGACCTCTGGCGTGCACACCTTCCCTGCCGTGCTGACGTCTCTCCGGCCTG
TACTCCCTGTCTAGCGTGGTGACCGTGCCTTCCCTCAACTTCGGCACCCAGACCTACACC
TGTAACGTGGACCACAAGCCTTCCAACACCAAGGTGGACAAGACCGTGGAGCGGAAGTGC
TGCGTGGAGTGCCCTCCTTGTCTGCTCCTCCTGTGGCTGGCCCTTCTGTGTCTCTGTTC
CCTCCAAAGCCTAAGGACACCTGATGATCTCCCGGACCCCTGAAGTGACCTGCGTGGTG
GTGGACGTGTCCACGAGGACCTGAGGTGCAGTTC AATTGGTACGTGGACGGCGTGGAG
GTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTCGGGAGGAACAGTTCAACTCCACCTTCCGGGTGGTG
TCTGTGCTGACCGTGGTGCACCAAGGACTGGCTGAACGGCAAGAATAACAAGTGCAAGGTG
TCCAACAAGGGCCTGCCTGCCCTATCGAAAAGACCATCAGCAAGACCAAGGGCCAGCCT
CGCGAGCCTCAGGTGTACACCTGCTCCTCCAGCCGGGAAGAAATGACCAAGAACAGGTG
TCCCTGACCTGTCTGGTGGAGGGCTTCTACCTTCCGATATCGCCGTGGAGTGGGAGTCT
AACGGCCAGCCTGAGAACAAC TACAAGACACCCCTCCTATGCTGGACTCCGACGGCTCC
TTCTTCTGTACTCCGAAC TACCGTGGACAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTC

[0368]

TCCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCCTACACCCAGAAGTCCCTGTCCCTG
TCTCCTGGCAAGTAG

21R79 중쇄 뉴클레오타이드 서열 (13B 버전 2) (서열: 31)

ATGAAGCACCTATGGTTCCTTCTATTATAGTGGCCGCTCCCGTGGGTGTTATCGCAG
GTTCAGCTAGTTAGTCTGGAGCGGAAGTTAAGAAACCTGGAGCATCCGTGAAAATAAGT
TGCAAGGCATCCGGTTACTCGTTCACCCGATACTATATCCACTGGGTAAACAGGCACCA
GGACAGGGACTTGAATGGATCGGATATATCGCTAATTATAATAGAGCTACAAACTATAAC
CAAAAATTCAAAGGACGCGTGACTTTCACAACCTGACACCTCAACCTCGACAGCATACATG
GAATTACGGTCCCTACGGTCTGACGACACTGCCGTTTACTATTGGCTAGAGATTATGAT
TATGATGTTGGAATGGACTATTGGGGCCAGGGAACACTGGTGACAGTGTCTTCTGCATCC
ACTAAGGGACCATCCGTGTTCCCTTTGGCCCTTGCTCTCGTTCGACCTCTGAATCGACT
GCCGCTCTGGGATGCCCTCGTGAAGATTACTTCCCTGAGCCTGTGACCGTTTCTTGGAAC
TCGGGGCCCTAACCTCTGGCGTGACACATTCCTGCCGTGCTACAGTCTTCTGGCCTA
TACTCTTTATCTTCCGTTGTACCGTACCTTCTTCTAACTTCGGAACCCAACTTACACC
TGTAACGTAGACACAAAGCCTTCGAAACCAAGGTGGACAAGACTGTTGAGCGAAAAGTGC
TGCGTTGAGTGCCTCCATGCTCCTGCACCTCCTGTGGCTGGCCCTTCTGTGTTCTGTTC
CCTCCAAAACCTAAGGACACTCTAATGATCTCTCGGACTCCTGAGGTGACTTGGTGGTT
GTGGACGTCTCCACAGGAGCCCTGAGGTGCAGTCAATTGGTACGTGGACGGAGTCGAG
GTGCACAAATGCAAGACCAAGCCCTCGGGAGGAACAGTTCACCTCCACCTTCCGGTGGTT
TCTGTGTTGACCGTTGTGCACCAAGACTGGCTGAACGGCAAAGAATACAAGTGAAGGTG
TCCAACAAGGGCCTGCCTGCCCTATCGAAAAGACCATCAGCAAGACCAAGGGCCAGCCT
CGCGAGCCTCAGGTGTACACCTGCCCTCCAGCCGGGAAGAAATGACCAAGAACCAGGTG
TCCCTGACCTGTCTGGTGGAGGGCTTCTACCTTCCGACATCGCCGTTGAGTGGGAGTCT
AACGGACAGCCGGAGAACAACTACAAGACTACGCCCTCCAATGCTGGACTCCGACGGCTCC
TTCTTCTGTACTCCGAACCTGACCGTGGACAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTC
TCATGCTCCGTAATGCACGAAGCCTTGACACAATCACTACACTCAAAGTCCCTATCCCTTA
TCTCCTGGCAAGTAG

219R45 중쇄 뉴클레오타이드 서열 (13A 버전 1) (서열: 32)

ATGAAGCATCTGTGGTTTTTCCTGTTGCTCGTGGCGGCACCCAGATGGGTGTTGTCCCAA
GTGCAGCTGGTCCAGAGCGGGCTGAGGTGAAGAACCAGGAGCAAGCGTAAAAGTATCG
TGTAAGGCCTCGGGGTACACGTTTACAACTACTGGATGCATTGGGTGCGGCAGGCTCCG
GGACAGGGGTGGAATGGAATGGGTGACATTAACCCCTCAAATGGCAGAACATCATATAAG
GAAAAGTTCAAACGCCCGCTCACACTCTCCGTGGACAAGTCAAGTCCGACTGCGTACATG
GAACCTTCGTCGCTGAGGTCCGAGGACACGGCAGTGTACTTTTGACCATCCATTATGAT
GACAAGTATTACCCTCTGATGGATTATTGGGGTACGGGTACGTTGGTACCCGCTCCAGC
GCGTCGACGAAAGGTCCTCGGTAFTTCCCTCGCCCTGCTCGAGGTGACATCCGAA
TCAACAGCTGCCCTCGGCTGCCCTGGTCAAAGACTACTTCCCAGAGCCGGTAAACGGTGTG
TGGAACCTCGGGAGCGCTTACGTCGGGAGTCCACACATTTCCGGCGGTACTGCAATCCTCG
GGACTGTATTCCGTTGTCGTGAGTGGTACTGTCCCGTCCCAATTTCCGGACTCAGACC
TATACGTGCAACGTGACCCACAACCCCTCAAACACCAAGGTGGATAAGACAGTGGAGCGC
AAGTGTGCGTGGAGTGTCCCCGTGTCCGGCACCCCTGTCCGGGACCCCTCAGTCTTT
TTGTTTCCGCGGAAGCCAAAGATACACTCATGATCTCAAGAACGCCCGAGGTAACATGC
GTGGTGGTGCATGTAAGCCACGAGSATCCAGAAGTACAATTCAAATGGTATGTAGACGGG
GTCGAGGTCCATTAACGCAAGACGAAACCGAGGGAAGAGCAGTTCAATTCGACTTTCCGG
GTGGTGTGCGGTGCTTACAGTCTGATCAGGACTGGTTGAACGGGAAGGAGTACAAGTGT
AAAGTATCGAATAAGGGCCCTCCAGCGCCGATTGAAAAGACCATCTCCAAGACCAAGGA
CAGCCACGAGAGCCGCAAGTCTATACGCTTCTCCAGCCGAGAAAAGATGACTAAAAC
CAGGTATCGCTTACGTGTCTCGTCAAGGGTTTCTACCCTTCGGACATCGCGGTGGAATGG
GAGAGCAATGGACAACCGGAAAACAACCTACAAGACGACACCCCTATGTTGAAAAGCGAT
GGATCGTTTTCTCTATTTCGAAACTCACGGTCGATAAGTCAAGGTGGCAGCAGGGGAAT
GTGTTCTCCTGTTAGTGTGACGAGGGCGCTCCACAATCACTATACCAGAAAAGCCTG
TCACTTTCCCGGAAAATGA

[0369]

219R45 중쇄 뉴클레오타이드 서열 (13A 버전 2) (서열: 33)

ATGAAGCACCTCTGGTTCCTCCTCGTGGCTGCTCCCTCGGTGGGTCCCTCCCAA
GTGCAGCTGGTCCAGAGCGGGCTGAGGTGAAGAAACCCGGAGCTCCCGTCAAAGTCTCC
TGTAAGGCTCCGGATACACCTTTACCAACTATTGGATGCACTGGGTGCGGCAGGCTCCT
GGACAAGGGCTGGAATGGATGGGAGACATCAATCCTTCCAATGGCAGAACCTCCTACAAG
GAAAAATTCAAACGGCGGGTCCACTCTCCGTGGACAAGTCTAGCTCCACAGCTTACATG
GAACCTCCTCCTCGGTCGCGTCCGAAGACACAGTGTCTACTTCTGCACCATCCACTACGAC
GACAAGTACTACCTCTGATGGACTACTGGGGCCAGGGAACCTGGTACCCTGTCCAGC
GCTTCCACAAAAGGACCTCCGTCTTCCCTCGCCCCCTGCTCCCGGTCCACATCCGAA
TCAACAGCTGCCCTCGGCTGCCTGGTCAAAGACTACTTCCAGAGCTGTCCACAGTGTCC
TGGAACCTCCGGAGCTCTCACATCCGGAGTCCACACATTTCCTGCTGTGCTCCAATCCTCC
GGACTGTATTCCCTCCTCCGTGGTGCAGTGCCTTCCCAATTCGGGACACAGACC
TATACATGCAACGTGGACCACAACCTCCAACCAAAAGTCGATAAGACAGTGGAGCGC
AAGTGTCTGCTGGAGTGTCCCTTGTCTGCTCCCTGTTGGCTGGACCTCCGTCTTT
CTGTTTCCCTCAAACCTAAAGACACCTCATGATCTCCCGACCCCGAGGTCCACATGC
GTGGTCCGTGATGTGAGCCACGAGGACCCGAAGTCCAATTTAATTGGTATGTGGACGGG
GTGGAGGTCCATAACGCTAAGACCAAACCTAGGGAAGAGCAGTTCATTTCCACTTTCCGG
GTGGTGTCCGTGCTGACCTCGTTCATCAGGACTGGCTCAACGGGAAGAATAACAATGC
AAAGTCTTAATAAGGGCTCCCTGCTCCTATTGAAAAACAATTTCCAAAACAAAAGGA
CAACCTCGGGAGCTTCAAGTCTACACACTGCCACCTTCCCGGAAAAAATGACAAAAAAT
CAAGTCTCCCTACATGTCTCGTCAAGGGATTCTACCCTTCCGACATTGTGTGGAATGG
GAATCCAATGGACAACCTGAAAACACTACAAGACAACCTCCTATGCTCAAAGCGAT
GGGTCCCTTTTCCCTTATTCCAACTCACAGTCGATAAGTCTCGGTGGCAGCAGGGGAAT
GTGTCTCCTGTCCGTGATGCACGAGGCTCTCCACAATCACTATACCCAGAAAAGCTG
TCCCTCTCCCTGGAAAAATGA

경쇄 뉴클레오타이드 서열 (서열: 34)

ATGGTGTGCAGACCCAGGTGTTTCATCTCCCTGCTGTGATCTCCGGCGCCTACGGC
GACATCGTGATGACCCAGTCCCCAGACTCCCTGGCTGTGTCTTGGGAGAGCGGGCCACC
ATCTCTTGCAAGCTCCGAGTCCGTGGACAACACGGCATCTCCTTCATGAAGTGGTTC
CAGCAGAAAGCCCGGGCAGCCCCAAAGTGTGATCTACGCCCTCCACCAGGGATCT
GGCGTGGCCGACCGGTCTCTGGATCCGGCTTGGCACCAGCTTTACCCTGACCATCAGC
TCCCTGCAGGCCGAGGACGTGGCCGTGTACTACTGCCAGCAGTCCAAAGAGGTGCCCTGG
ACCTTCGGGGAGGCCACCAAGGTGGAAATCAAGCGGACCGTGGCCGCTCCCTCCGTGTTC
ATCTTCCACCTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGAACCGCTCCGTGCTGTGCTGCTGCTG
AACAACTTCTACCCCGCGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAAGGTGGACAACCGCCTGCAGTCC
GGCAACTCCAGGAATCCGTACCCGAGCAGGACTCCAAGGACAGCACCTACTCCCTGTCC
TCCACCTGACCTGTCCAAAGGCCGACTACGAGAAGCAAGGTGTACGCCTGCCAAGTG
ACCCACCAGGGCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGTCTTCAACCGGGCGAGTGTAG

21M18 중쇄 가변 영역 뉴클레오타이드 서열 (서열: 35)

CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCTGGCGCCTCCGTGAAGATC
TCCTGCAAGGCTCCGGCTACTCCTTACCAGCTTACTACATCCACTGGGTCAAGCAGGCC
CCTGGGCAGGGCCTGGAATGGATCGGCTACATCTCCTCCTACAACGGCGCCACCAACTAC
AACCAGAAATTCAAAGGGCCGCGTGACCTTACCACCGACACCTCCACCTCCACCGCCTAC
ATGGAACCTGGCTCCCTGCGGAGCGACACCCGCTGTACTACTGCGCCAGAGACTAC
GACTACGACGTGGCATGGACTACTGGGGCCAGGGCACCTGGTCAACCGTGTCTCT

21R79 중쇄 가변 영역 뉴클레오타이드 서열 (13B) (서열: 36)

CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCTGGCGCCTCCGTGAAGATC
TCCTGCAAGGCTCCGGCTACTCCTTACCAGCTTACTACATCCACTGGGTGAAACAGGCA
CCAGGCCAGGGACTGGAATGGATCGGCTATATCGCCTTACAACCGGGCCACCAACTAC
AACCAGAAATTCAAAGGGCCGCGTGACCTTACCACCGACACCTCCACCTCCACAGCCTAC

[0370]

ATGGAAGTTCGGGTCCTGCGGAGCGACACCGCCGTACTACTGCGCCAGAGACTAC
GACTACGACGTGGGCATGGACTACTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTGACAGTGTCTCTCC

21R79 중쇄 가변 영역 뉴클레오타이드 서열 (13B 버전 2) (서열: 37)
CAGGTTCAAGCTAGTTAGTCTGGAGCGGAAGTTAAGAAACCTGGAGCATCCGTGAAAAATA
AGTTGCAAGGCATCCGGTACTCGTTACCAGCATACTATATCCACTGGGTAAACAGGCCA
CCAGGACAGGGACTTGAATGGATCGGATATATCGCTAATTATAATAGAGCTACAACTAT
AACC AAAAATTC AAAGGACGCGTGACTTTCACAACTGACACCTCAACCTCGACAGCATAAC
ATGGAATTCAGGTCCCTACGGTCTGACGACACTGCCGTTTACTATTTGCGCTAGAGATTAT
GATTATGATGTTGGAATGGACTATTGGGGCCAGGGAACACTGGTGACAGTGTCTTCT

21R45 중쇄 가변 영역 뉴클레오타이드 서열 (13A 버전 1) (서열: 38)
CAAGTGCAGCTGGTCCAGAGCGGGGCTGAGGTGAAGAAACCCGGAGCAAGCGTAAAAGTA
TCGTGTAAGGCCTCCGGGTACACGTTTACAACTACTGGATGCATTGGGTGCGGCAGGCT
CCGGACAGGGGTTGGAATGGATGGGTGACATTAACCCCTCAAATGCCAGAACATCATAT
AAGGAAAAGTTCAAACGCGCGCTCACACTCTCCGTGGACAAGTCAAGCTCGACTGCCGTAC
ATGGAACCTTCGTCCCTGAGGTCCGAGGACACGGCAGTGTACTTTGCACCATCCATTAT
GATGACAAGTATTACCCCTCTGATGGATTATTGGGGTCAGGTTACGTTGGTACCCTCTCC
AGC

21R45 중쇄 가변 영역 뉴클레오타이드 서열 (13A 버전 2) (서열: 39)
CAAGTGCAGCTGGTCCAGAGCGGGGCTGAGGTGAAGAAACCCGGAGCTTCCGTCAAAGTC
TCCTGTAAGGCCTCCGGGTACACGTTTACAACTACTGGATGCATTGGGTGCGGCAGGCT
CCTGGACAAGGGCTGGAATGGATGGGAGACATCAATCCTTCCAATGCCAGAACCTCTAC
AAGGAAAATTC AAACGCGCGGTACACTCTCCGTGGACAAGTCTAGCTCCACAGCTTAC
ATGGAACCTTCGTCCCTGCGGTCCGAGACACAGCTGTCTACTTCTGCACCATCCACTAC
GACGACAAGTACTACCCCTCTGATGGACTACTGGGGCCAGGGAACCCCTGGTACCCTGTCC
AGC

중쇄 가변 영역 뉴클레오타이드 서열 (서열: 40)
GACATCGTGATGACCCAGTCCCAGACTCCCTGGCTGTGTCTCTGGGAGAGCGGGCCACC
ATCTCTTGACAGCCTCCGAGTCCSTGGACAACACCGCATCTCCTTCATGAAGTGGTTC
CAGCAGAAGCCCGGCCAGCCCCAAAGCTGCTGATCTACGCCGCCTCCAACAGGGATCT
GGCGTGCCCGACCGGTCTCTGGATCCGGCTCTGGCACCAGCTTTACCCCTGACCATCAGC
TCCCTGCAGGCCGAGGACGTGGCCGTGTACTACTGCCAGCAGTCCAAAGAGGTGCCCTGG
ACCTTCGGCGGAGGCACCAAGGTGGAATCAAG

인간 IgG1 중쇄 불변 영역 (서열: 41)
ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS
GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG
PSVFLFPPKPKDTLMI SRTEPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN
STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSRDE
LTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW
QQGNVVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

인간 IgG2 중쇄 불변 영역 (서열: 42)
ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS
GLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYICNVDHKPSNTKVDKTVKRCCKVECPCCPAPPEVAGPSVF
LFPKPKDTLMI SRTEPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFR
VVSIVLVVHVDWLNKEYKCKVSNKGLPAPIEKTI SKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN
QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN
VVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0371]

인간 IgG3 중쇄 불변 영역 (서열: 43)

ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS
GLYSLSSVTVPSSSLGTQTYTCNVNHKPSNTKVDKRVELKTPLGDTHTCPRCPEPKSC
DTPPPCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT
LMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFKWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTFRVVSVLTVLH
QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SRTKGGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK
GFYPSDIAVEWESSGQPENNYNTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNI FSCSVMHE
ALHNRFTQKLSLSLSPGK

인간 IgG4 중쇄 불변 영역 (서열: 44)

ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS
GLYSLSSVTVPSSSLGTQTYTCNVNHHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSV
FLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTY
RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI SRTKGGQPREPQVYTLPPSQEEMTK
NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEG
NVFSCSVMHEALHNNHYTQKLSLSLSPGK

FLAG 펩티드 (서열: 45)

DYKDDDDK

밀줄전 비개질 채 신호 서열을 갖는 모 21R79 중쇄 (서열: 46)

MKHLWFFLLVAAPRWVLSQVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYSTAYYIHWVKQAP
GGGLEWIGYIANYNRRATNYNQKFKGRVFTFTDTSSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDYD
YDVGMDYWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN
SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSNFGTQTYTCNVNHHKPSNTKVDKTVRKC
CVCPCPPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTI SRTKGGQ
PREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGS
FFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNNHYTQKLSLSLSPGK

밀줄전 신호 서열을 갖는 모 21R45 (서열: 47)

MKHLWFFLLVAAPRWVLSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYFTTNYMMHWVRQAP
GGGLEWMDINPSNGRTSYKEKFKRRVTLSDKSSSTAYMELSSLRSEDTAVYFCTIHYD
DKYYPLMDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTV
WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSNFGTQTYTCNVNHHKPSNTKVDKTVR
KCCVPCPPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDG
VEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTI SRTKGG
QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSD
GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNNHYTQKLSLSLSPGK

예상 신호 서열이 없는 모 21R79 중쇄 (서열: 48)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYSTAYYIHWVKQAPGGGLEWIGYIANYNRRATNY
NQKFKGRVFTFTDTSSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDYD YDVGMDYWGQGLTVTVSSA
STKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG
LYSLSSVTVPSNFGTQTYTCNVNHHKPSNTKVDKTVRKCVCPCPPAPPVAGPSVFL
FPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRV
VSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTI SRTKGGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ
VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV
FSCSVMHEALHNNHYTQKLSLSLSPGK

신호 서열이 없는 모 21R45 중쇄 (서열: 49)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYFTTNYMMHWVRQAPGGGLEWMDINPSNGRTSY
KEKFKRRVTLSDKSSSTAYMELSSLRSEDTAVYFCTIHYDDKYYPLMDYWGQGLTVTVS
ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS

[0372]

SGLYSLSSVVTVPPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVRKCCEVPCPPAPPVAGPSV
FLFPKPKDLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTF
RVVSVLTVVHQDVLNGLKEYKCKVSNKGLPAPIEKTLISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNQPENNYKTPPMLDSGSSFFLYSKLTVDKSRWQQG
NVFSCSVMHEALHNHYTQKLSLSLSPGK

모 21R79 중쇄 가변 영역 뉴클레오타이드 서열 (서열: 50)

CAAGTGCAGCTCGTGCAGTCAGGGGCGGAGGTCAAGAAGCCGGGAGCATCGGTCAAAATC
TCGTGTAAGGCCTCGGGGTACTCCTTTACTGCGTATACATCCATTGGGTAAAGCAGGCG
CCAGGGCAGGGATTGGAGTGGATTGGGTATATCGCCAATTACAATCGCGCGACGAACTAT
AACCAGAAATCAAGGGAAGGGTGACCTTCACAACGGATACATCGACATCGACGGCCTAC
ATGGAACTTCGCAGCCTGCGATCAGATGACACGGCGGTATACATTTGCGCAAGAGATTAC
GACTATGATGTGGGAATGGACTATTGGGGTCAAGGTACTCTGGTCACAGTCTCCCTC

모 219R45 중쇄 가변 영역 뉴클레오타이드 서열 (서열: 51)

CAGGTACAGCTCGTGCAAATCGGGGCGAGGTCAAAAAGCCCGGTGCGTTCGGTAAAGGTC
AGCTGCAAAGCGTCAGGTATACATTCACGAATTACTGGATGCATTGGGTACAGACAGGCC
CCTGGACAAGGGCTTGAATGGATGGGAGATATCAATCCGTCGAACGGACGGACTAGCTAT
AAGGAGAAAGTTTAAAGGGCGGTAAACACTGTCGGTGGCAAAATCGTCTCAACGGCCTAC
ATGGAGTTGTCATCCCTGCGGTGGGAAGATACGGCGGTCTACTTCTGTACTATCCACTAT
GACGATAAGTACTACCCGCTTATGGACTACTGGGGTCAGGGAACATTGGTAACCGTGAGC
AGC

신호 서열을 갖는 모 21R79 중쇄 뉴클레오타이드 서열 (서열: 52)

ATGAAACACTTGGGTTTTTCCCTCTGCTCGTGGCAGCTCCTCGGTGGGTACTTTACAAA
GTGCAGCTCGTGCAGTCAGGGGCGGAGGTCAAGAAGCCGGGAGCATCGGTCAAATCTCG
TGTAAGGCCCTCGGGTACTCCTTTACTGCGTATTACATCCATTGGGTAAAGCAGGCGCCA
GGGCAGGGATTGGAGTGGATTGGGTATATCGCCAATACAATCGCGGACGAACTATAAC
CAGAAATTCAGGGAAGGGTGACCTTCACAACGGATACATCGACATCGACGGCCTACATG
GAACCTCGCAGCCTGCCATCAGATGACACGGCGGTATACTATTGCGCAAGAGATTACGAC
TATGATGTGGGAATGGACTATTGGGGTCAAGGTACTCTGGTTCACAGTCTCCTCCGCCAGC
ACCAAGGGCCCTAGCGTCTTCCCTCTGGCTCCTGCAGCAGGAGCACCAGCGAGAGCACA
GCCGCCCTGGGCTGCCGTGGTCAAGGACTACTTCCCGAACCGGTGACGGTCTCGTGGAAC
TCAGGGCCTCTGACCAGCGGCGTGACACCTTCCCAGCTGTCTACAGTCTCAGGACTC
TACTCCCTCAGCAGCGTGGTGAACCGTGCCCTCCAGCAACTTCGGCACCCAGACCTACACC
TGCAACGTAGATCACAAAGCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGACAGTTGACGCGAAATGT
TGTGTGAGTGCACCACCGTGCACAGCACCCTGTGGCAGGACCGTCAGTCTCCTCTTC
CCCCAAAACCAAGGACACCCCTCATGATCTCCCGACCCCTGAGGTACAGTGCCTGGTGGT
GTGGACGTGAGCCAGAGACCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAG
GTGCATAATGCCAAGACAAAGCCACGGGAGGAGCAGTTCAACAGCAGTTCCTGTGGT
AGCGTCTCACCCTGTGTCACCCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTC
TCCAACAAGGCCCTCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAACCAAGGGCAGCCC
CGAGAACCCAGGTGTACACCTGCCCCATCCCGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTC
AGCCTGACCTGCCTGGTCAAGGCTTCTACCCAGCGACATCGCGTGGAGTGGGAGAGC
AATGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACACTCCCATGCTGGACTCCGACGGCTCC
TTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGACGCTCTC
TCATGCTCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTG
TCTCCGGGTAAA

신호 서열을 갖는 모 219R45 중쇄 뉴클레오타이드 서열 (서열: 53)

ATGAAACACCTCTGGTCTTTTGGTCTGCTGGTGGCAGCTCCCGGATGGGTGCTTAGCCAG
GTACAGCTCGTGCAAATCGGGGCGAGGTTCAAAAAGCCCGGTGCGTTCGGTAAAGGTCAGC
TGCAAAGCGTCAGGTTATACATTCACGAATTACTGGATGCATTGGGTACAGACAGGCCCT
GGACAAGGGCTTGAATGGATGGGAGATATCAATCCGTCGAACGGACGGACTAGCTATAAG

[0373]

GAGAAGTTTAAAGAGCGCGTAACTGTCGGTGGACAAATCGTCCTCAACGGCCTACATG
GAGTTGTATCCCTGCGGTGCGAAGATACGGCGGTCTACTTCTGTACTATCCACTATGAC
GATAAGTACTACCCGCTTATGGACTACTGGGGTACAGGAACATTGGTAACCGTGAGCAGC
GCGTCCACAAGGGGCCCTAGCGTCTCCCTCTGGCTCCCTGCAGCAGGAGCACCAGCGAG
AGCACAGCCGCGCTGGGCTGCTGGTCAAGGACTACTTCCCGAACCGGTGACGGTGTCCG
TGGAACCTCAGGCGCTCTGACCAGCGGGCTGCACACCTTCCCAGCTGCTACAGTCTCA
GGACTTACTCCCTCAGCAGCGTGGTACCCTGCCCTCCAGCAACTTCGGCACCCAGACC
TACACCTGCAACGTAGATCACAAGCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGACAGTTGAGCGC
AAATGTTGTGTCGAGTGCACCAGTGCACCAGCACCTGTGGCAGGACCGTCACTCTTC
CTCTCCCCCAAAACCAAGGACACCTCATGATCTCCCGACCCCTGAGGTACAGTGC
GTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGACGGC
GTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAGCCACGGGAGGAGCAGTTCAACAGCACGTTCCGT
GTGGTCAGCGTCTCACCCTGTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGC
AAGGTCTCCAACAAGGGCTTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAACCAAGGG
CAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCTGCCCCATCCCGGAGGAGATGACCAAGAAC
CAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCAGCGCATCGCCGTGGAGTGG
GAGAGCAATGGGCAGCCGAGAAACAACACTACAAGACCACACTCCCATGCTGGACTCCGAC
GGCTCCTTCTCCTCTACAGCAAGCTCACCCTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAAC
GTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACACTACACGCAAGAGACCTC
TCCCTGTCTCCGGGTAAA

모 21R79 및 219R45 경쇄 가변 영역 뉴클레오타이드 서열 (서열: 54)
GACATCGTGATGACCCAGTCCCTGACTCCCTGGCTGTGTCCCTGGGCGAGAGGGCCACC
ATCTCCTGCAGAGCCAGCGAATCCGTGATAAATTATGGCATTTCCTTTATGAAGTGGTTC
CAGCAGAAACCAGGACAGCCTCCTAAGCTGCTCATTACGCTGCATCCAAACCAGGGTCC
GGGGTCCCTGACAGGTCTCCGGCAGCGGGTCCGGAAACAGATTTCACTCTCACCATCAGC
AGCCTGCAGGCTGAAGATGTGGCTGTCTATTACTGTACAGAAAGCAAGGAGGTGCCTTGG
ACATTCGGAGGAGGGACCAAGGTGGAATCAAA

모 21R79 및 219R45 경쇄 뉴클레오타이드 서열 (서열: 55)
ATGGTGTCTCCAGACCCAGGTCTTCATTTCCCTGTGCTCTGGATCAGCGGAGCCTACGGG
GACATCGTGATGACCCAGTCCCTGACTCCCTGGCTGTGTCCCTGGGCGAGAGGGCCACC
ATCTCCTGCAGAGCCAGCGAATCCGTGATAAATTATGGCATTTCCTTTATGAAGTGGTTC
CAGCAGAAACCAGGACAGCCTCCTAAGCTGCTCATTACGCTGCATCCAAACCAGGGTCC
GGGGTCCCTGACAGGTCTCCGGCAGCGGGTCCGGAAACAGATTTCACTCTCACCATCAGC
AGCCTGCAGGCTGAAGATGTGGCTGTCTATTACTGTACAGAAAGCAAGGAGGTGCCTTGG
ACATTCGGAGGAGGGACCAAGGTGGAATCAACGTACGGTGGCTGCCCCCTCCGTCTTC
ATCTTCCCCCAGCGATGAGCAGCTGAAAAGCGGCACTGCCAGCGTGGTGTGCCGTGCTG
AATAACTTCTATCCCCGGGAGGCCAAAGTGCAGTGGAAAGTGGATAACGCCCTCCAAAGC
GGCAACTCCAGGAGAGCGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGC
AGCACCCCTGACCCTGAGCAAGCCGACTACGAGAAACACAAGTCTACGCCTGCGAAGTC
ACCCATCAGGGCCTGAGCAGCCCGTCAAAAGAGCTTCAACAGGGGCAGTGTGA

예상 신호 서열이 없는 21R75 중쇄 (서열: 56)
QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYSTAYYIHWVKQAPGQGLEWIGYIAGYKDATNY
NQKFKGRVFTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDYDYDVGMQYWGQGLVTVSSA
STKGPSVPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG
LYSLSSVTVTPSSNFGTQYTCNVDPKPSNTKVDKTVKCCVECPFPAPPVAGPSVFL
FPPKPKDLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRV
VSVLTVVHQDNLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTI SKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ
VSLTCLVEGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPMLDSGSSFFLYSELTVDKSRWQQGNV
FSCVMHEALHNHYTQKLSLSLSPGK

예상 신호 서열 (밑줄)을 갖는 21R75 중쇄 (서열: 57)

[0374]

MKHLWFFLLVAAPRWLSQVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYSFTAYYIHWVKQAP
GQGLEWIGYIAGYKDATNYNQKFKGRVFTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDYD
YDVGMIDYWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN
SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSVTVVPSNFGTQTYTCNVDRKPSNTKVDKTKVERKC
CVECPCPPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQFNSTFRVVSFLT VVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTI SKTKGQP
REPOVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVEGFYPSDI AVEVESNGQPENNYKTT PMLDSDGS
FFLYSELTVDKSRWQQGNVFSVMSVHEALHNHYTQKSLSLSLSPGK

21R75 중쇄 가변 영역 (서열: 58)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYSFTAYYIHWVKQAPGQGLEWIGYIAGYKDATNY
NQKFKGRVFTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDYDYDVGMIDYWGQGLVTVSS

21R75 중쇄 CDR2 (서열: 59)

YIAGYKDATNYNQKFKG

신호 서열을 갖는 21R75 중쇄 뉴클레오타이드 서열 (13B 버전 1) (서열: 60)

ATGAAGCACCTGTGGTTCCTTCTGCTGCTGGTGGCCGCTCCCAGATGGGTGCTGTCCAG
GTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCTGGCGCCTCCGTGAAGATCTCC
TGCAAGGCCTCCGGCTACTCCTTCACCGCTACTACATCCACTGGTCAAGCAGGCCCT
GGACAGGGCCTGGAATGGATCGGCTATATCGCCGGCTACAAGGACGCCACCACTACAAC
CAGAAATTCAGGGCAGAGTGACCTTCACCACCGACACCTCCACCTTACCGCTACATG
GAAC TGGGTCCCTGCGGAGCGACGACACCGCGTGTACTACTGCGCCAGAGACTACGAC
TACGACGTGGGCATGGACTACTGGGGCCAGGGCACACTCGTGACCGTGTCTCTGCTTCC
ACCAAGGGCCCCCTCGGTGTTTCTCTGGCCCTTGCTCCAGATCCACCTCCGAGTCTACC
GCCGCTCTGGGCTGCCCTCGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACAGTGTCTTGAAC
TCTGGCGCCCTGACCTCCGGCTGCACACCTTCCAGCTGTGCTGCAGTCTCCGGCTG
TACTCCCTGTCTCCGTGCTGACTGTGCCCTCCCAACTTCGGCACCCAGACCTACACC
TGTAACGTGGACCCACAAGCCCTCCAACACCAAGGTGGACAAGACCGTGAAGCAGGAGTGC
TGCGTGAATGCCCCCTTGTCTGCCCTCCTGTGGCTGGCCCTAGCGTGTCTCTGTTCC
CCCCCAAAGCCCAAGGACACCTGATGATCTCCCGGACCCCCGAGTGAAGTGCCTCGTGGT
GTGGATGTGTCCCACGAGGACCCCGAGGTGCAGTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGGAA
GTGCACAACGCCAAGACCAAGCCAGAGAGGAACAGTCAACTCCACCTTCCGGGTGGTG
TCCGTGCTGACCGTGGTGCATCAGGACTGGCTGAACGGCAAGAGTACAAGTGAAGGTG
TCCAAACAAGGGCTGCCCTGCCCTCGAAAGACCATCTCTAAGACCAAGGACAGCC
CGCGAGCCCCAGGTGTACACACTGCCCTCCATCCCGGGAAGAGATGACCAAGAACAGGTG
TCCCTGACCTGTCTGGTGAAGGCTTCTACCCCTCCGATATCGCCGTGAAGTGGAGTCC
AAGGCCCAGCCGAGAACAACTACAAGACACCCCCCATGCTGGACTCCGACGGCTCA
TTCTTCTGTACAGCGAGCTGACAGTGGACAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTT
TCTGCTCCGTGATGCACAGGCCCTGCACAACCACTACACCAGAGTCCCTGTCCCTG
AGCCCCGGCAAG

신호 서열을 갖는 21R75 중쇄 뉴클레오타이드 서열 (13B 버전 1T) (서열: 77)

ATGAAGCACCTGTGGTTCCTTCTGCTGCTGGTGGCCGCTCCCAGATGGGTGCTGTCTCAG
GTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCTGGCGCCTCCGTGAAGATCTCC
TGCAAGGCCTCCGGCTACTCCTTCACCGCTACTACATCCACTGGGTCAAGCAGGCCCT
GGACAGGGCCTGGAATGGATCGGCTATATCGCCGGCTACAAGGACGCCACCACTACAAC
CAGAAATTCAGGGCAGAGTGACCTTCACCACCGACACCTCCACCTTACCGCTACATG
GAAC TGGGTCCCTGCGGAGCGACGACACCGCGTGTACTACTGCGCCAGAGACTACGAC
TACGACGTGGGCATGGACTACTGGGGCCAGGGCACACTCGTGACCGTGTCTCTGCTTCC
ACCAAGGGCCCCCTCGGTGTTTCTCTGGCCCTTGCTCCAGATCCACCTCCGAGTCTACC
GCCGCTCTGGGCTGCCCTCGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACAGTGTCTTGAAC
TCTGGCGCCCTGACCTCCGGCTGCACACCTTCCAGCTGTGCTGCAGTCTCCGGCTG
TACTCCCTGTCTCCGTGCTGACTGTGCCCTCCTCCAACTTCGGCACCCAGACCTACACC

[0375]

TGTAACGTGGACCACAAGCCCTCCAACACCAAGGTGGACAAGACCGTGGAACGGAAAGTGC
TGCGTGGAATGCCCCCTTGTCCTGCCCTCCTGTGGCTGGCCCTAGCGTGTTCCTGTTC
CCCCAAAGCCCAAGGACACCCCTGATGATCTCCCGGACCCCGAAGTGACCTGCGTGGTG
GTGGATGTGCCACGAGGACCCCGAGGTGCAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGGAA
GTGCACAAGCCCAAGACCAAGCCAGAGAGGAACAGTTCAACTCCACCTTCCGGGTGGTG
TCCGTGCTGACCGTGGTGCATCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTCAAGGTG
TCCAACAAGGGCTGCCTGCCCCATCGAAAAGACCATCTCTAAGACCAAGGGACAGCCC
CGCGAGCCCAAGGTGTACACACTGCGCTCCATCCCGGAAGAGATGACCAAGAACCAGGTG
TCCCTGACCTGTCTGGTGAAGGCTTCTACCCCTCCGATATCGCCGTGGAAATGGGAGTCC
AACGGCCAGCCGAGAACAACACTACAAGACCACCCCCCATGCTGGACTCCGACGGCTCA
TTCTTCTGTACAGCGAGCTGACAGTGGACAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTC
TCCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCCTACACCAGAGTCCCTGTCCCTG
AGCCCCGGCAAG

신호 서열을 갖는 21R75 중쇄 뉴클레오타이드 서열 (13B 버전 S1-2) (서열: 61)

ATGAAGCACCTGTGGTCTTCTTCTGCTGCTGGTGGCCGCTCCAGATGGGTGCTGTCCAG
GTTTCAGCTAGTTTCAGTCTGGAGCGGAAGTTAAGAAACCTGGAGCATCCCGTAAAAATAAGT
TGCAAGGCATCCGGTACTCGTTACCCGCATACTATATCCACTGGGTAAACAGGCACCA
GGACAGGGACTTGAATGGATCGGATATATCGCTGGATATAAAGATGCTACAAACTATAAC
CAAAAATTCAAAGGAGCGCTGACTTTCACAACCTGACACCTCAACCTCGACAGCATACATG
GAATTACGGTCCCTACGGTCTGACGACACTGCCGTTTACTATTTGCGCTAGAGATTATGAT
TATGATGTGGAAATGGACTATTGGGGCCAGGGAACACTGGTGACAGTGTCTTCTGCATCC
ACTAAGGGACCATCCGTGTTCCCTTTGGCCCTTGCTCTCGTTCGACCTCTGAATCGACT
GCCGCTCTGGGATGCCCTCGTGAAGATTACTTCCCTGAGCCGTGACCGTTTCTGGAAC
TCGGCGCCCTAACCTTGGCGTGACACATTCCTGCCGTGCTACAGTCTTCTGGCCTA
TACTCTTTATCTTCGGTTGTTACCGTACCTTCTTCTAACTTCGGAACCCAAACTTACACC
TGTAACGTAGACCACAAGCCTTCGAACACCAAGGTGGACAAGACTGTTGAGCGAAAAGTGC
TCCGTTGAGTGCCCTCCATGCTCCGACCTCCTGTGGCTGGCCCTPCTGTGTTCTCTGTTT
CCTCCAAAACCTAAGGACACTTAATGATCTCTCGGACTCCTGAGTGACTTGCCTGGTT
GTGGACGTGCCACGAGGACCCGAGGTGCAGTTCAATTGGTACGTGGACGGAGTCCGAG
GTGCACAATGCAAGACCAAGCCTCGGGAGGAACAGTTCAACTCCACCTTCCGGGTGGTT
TCTGTGTTGACCGTGTGCAACCAAGACTGGCTGAACGGCAAAGAATACAAGTCAAGGTG
TCCAACAAGGGCTGCCTGCCCTATCGAAAAGACCATCAGCAAGACCAAGGGCCAGCCT
CGCGAGCCTCAGGTGTACACCCCTGCCCTCCAGCCGGGAAGAATGACCAAGAACCAGGTG
TCCCTGACCTGTCTGGTGGAGGGCTTCTACCTTCCGACATCGCCGTTGAGTGGGAGTCT
AACGGACAGCCGAGAACAACTACAAGACTACGCTCCAATGCTGGACTCCGACGGCTCC
TTCTTCTGTACTCCGAACCTGACCGTGGACAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTC
TCATGCTCCGTATGCACGAAGCCTTGCACAATCACTACACTCAAAGTCCCTATCCTTA
TCTCCTGGCAAG

예상 신호 서열이 없는 21R83 중쇄 (서열: 62)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYSTAYYIHWVKQAPGQGLEWIGYISNYNRATNY
NQKPKGRVFTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDYD YDVGMDYWGQGLVTVSSA
STKGPSVFLPAPCSRSTSESTAALGLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSG
LYSLSSVTVPSNFGTQYTCNVDHKPSNTKVDKTVKCCVECPKPPAPPVAGPSVFL
FPPKPKDLMISRTPEVTQVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTPREEQFNSTFRV
VSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTI S KTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ
VSLTCLVEGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPMLDSDGSFFLYSELTVDKSRWQQGNV
FSCVMHEALHNHYTQKLSLSLPGK

예상 신호 서열 (일괄)을 갖는 21R83 중쇄 (서열: 63)

MKHLWFEFLLLVAAPRWVLSQVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYSTAYYIHWVKQAP
GQGLEWIGYISNYNRATNYNQKPKGRVFTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDYD
YDVGMDYWGQGLVTVSSASTKGPSVFLPAPCSRSTSESTAALGLVKDYFPEPVTVSWN

[0376]

SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVKDKTVERKC
CVECPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDNLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTI SKTKGQP
REFPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVEGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSGGS
FFLYSELTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKLSLSLSPGK

21R83 중쇄 가변 영역 (서열: 64)
QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYSFTAYYIHWVKQAPGQGLEWIGYISNYNRATNY
NQQKFKGRVTFRTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARYDYDVGMDYWGQGLVTVVSS

21R83 중쇄 CDR2 (서열: 65)
YISNYNRATNYNQQKFKG

밀접친 신호 서열을 갖는 21R83 중쇄 뉴클레오타이드 서열 (13B 버전 1) (서열: 66)
ATGAAGCACCTGTGGTTCCTTCTGCTGCTGGTGGCCGCTCCCAGATGGGTGCTGTCCCAG
GTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCTGGCGCCTCCGTGAAGATCTCC
TGCAAGGCTCCGGCTACTCCTTCACCGCCTACTACATCCACTGGGTCAAGCAGGCCCTT
GGACAGGGCCTGGAATGGATCGGCTACATCTCCAACATAACCGGCCACCAATTACAAC
CAGAAATTCAGGGCCCGCTGACCTTACCACCGACACCTCTACCTTACCCTACATG
GAACTGCGGTCCCTGCGGAGCGACGACACCGCCGTGACTACTGCGCCAGAGACTACGAC
TAGCACGTGGGCATGGACTACTGGGGCCAGGGCACACTCGTGACCGTGTCTAGCGCTTCC
ACCAAGGGCCCTCCGTGTTTCTTCTGGCCCTTGCTCCAGATCCACCTCCGAGTCTACC
GCCGCTCTGGGCTGCCCTGTAAGGACTACTTCCCGAGCCCGTGACAGTGTCTTGGAAC
TCTGGCGCTCTGACCTCCGGCTGCACACCTTTCACAGTGTGCTGCAGTCTCCGGCCTG
TACTCCCTGTCTCCGTGACTGTGCCCCCTCCAACCTCGGCACCCAGACCTACACC
TGTAACGTGGACACAAAGCCCTCCAACACCAAGGTGGACAAGACCGTGGAAACGGAAAGTGC
TGCGTGGAAATGCCCCCTTGTCCTGCCCCCTCTGTGGCTGGCCCTAGCGTGTCTGTTT
CCCCAAAGCCCAAGGACACCCCTGATGATCTCCCGGACCCCGAAGTGACCTGCGTGGTG
CTGGATGTGTCCACGAGGACCCCGAGGTGCAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGGAA
GTGCACAACGCCAAGACCAAGCCAGAGAGGAAACAGTCAACTCCACCTTCCGGGTGGTG
TCCGTGCTGACCGTGGTGCATCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGAAGGTG
TCCAACAAGGGCTGCCTGCCCCATCGAAAAGACCATCTCTAAGACCAAGGGACAGCCC
CGCGAGCCCGAGGTGTACACACTGCCTCCATCCCGGGAAGAGATGACCAAGAACCAGGTG
TCCCTGACCTGTCTGGTGGAAAGGCTTACCCCTCCGATATCGCCGTGGAAATGGGAGTCC
AACGGCCAGCCCGAGAACTACAAGACCAACCCCCCATGCTGGACTCCGACGGCTCA
TTCTTCTGTACAGCGAGCTGACAGTGGACAAAGTCCCGGTGGCAGGCAAGCTGTTC
TCTTCTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGTCCCTG
AGCCCCGGCAAG

밀접친 신호 서열을 갖는 21R83 중쇄 뉴클레오타이드 서열 (13B 버전 1T) (서열: 78)
ATGAAGCACCTGTGGTTCCTTCTGCTGCTGGTGGCCGCTCCCAGATGGGTGCTGTCTCAG
GTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCTGGCGCCTCCGTGAAGATCTCC
TGCAAGGCTCCGGCTACTCCTTCACCGCCTACTACATCCACTGGGTCAAGCAGGCCCTT
GGACAGGGCCTGGAATGGATCGGCTACATCTCCAACATAACCGGCCACCAATTACAAC
CAGAAATTCAGGGCCCGCTGACCTTACCACCGACACCTCTACCTTACCCTACATG
GAACTGCGGTCCCTGCGGAGCGACGACACCGCCGTGACTACTGCGCCAGAGACTACGAC
TAGCACGTGGGCATGGACTACTGGGGCCAGGGCACACTCGTGACCGTGTCTAGCGCTTCC
ACCAAGGGCCCTCCGTGTTTCTTCTGGCCCTTGCTCCAGATCCACCTCCGAGTCTACC
GCCGCTCTGGGCTGCCCTGTAAGGACTACTTCCCGAGCCCGTGACAGTGTCTTGGAAC
TCTGGCGCTCTGACCTCCGGCTGCACACCTTTCACAGTGTGCTGCAGTCTCCGGCCTG
TACTCCCTGTCTCCGTGACTGTGCCCCCTCCAACCTCGGCACCCAGACCTACACC
TGTAACGTGGACACAAAGCCCTCCAACACCAAGGTGGACAAGACCGTGGAAACGGAAAGTGC

[0377]

TGCGTGGAAATGCCCCCTTGTCCTGCCCTCCTGTGGCTGGCCCTAGCGTGTTCCTGTTC
CCCCAAAGCCCAAGGACACCCCTGATGATCTCCCGGACCCCGAAGTGACCTGCGTGGTG
GTGGATGTGTCCACGAGGACCCCGAGGTGCAGTTCAATGGTACGTGGACGGCGTGGAA
GTGCACAACGCCAAGCAAGCCAGAGAGGAACAGTTCAACTCCACCTCCGGGTGGTG
TCCGTGCTGACCGTGGTGCATCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGCAAGGTG
TCCAACAAGGGCTGCTGCCCCATCGAAAAGACCATCTCTAAGACCAAGGGACAGCCC
CGCGAGCCCCAGGTGTACACACTGCCTCCATCCCGGGAAGAGATGACCAAGAACCAGGTG
TCCCTGACCTGTCTGGTGGAGGGCTTCTACCCCTCCGATATCGCCGTGGAAATGGGAGTCC
AACGGCCAGCCCAGAAACAATAAGACCACCCCCCATGTGGACTCCGACGGCTCA
TTCTTCCTGTACAGCGAGCTGACAGTGGACAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTT
TCCCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCATAACCCAGAAGTCCCTGTCCCTG
AGCCCCGGCAAG

딥클진 신호 서열을 갖는 21R75 중쇄 뉴클레오타이드 서열 (13B 버전 S1-2) (서열: 67)

ATGAAGCACCTGTGGTCTTCTTCTGCTGTGGTGGCCGCTCCAGATGGGTGCTGTCCAG
GTTCAGCTAGTTTCAGTCTGGAGCGGAAGTTAAGAAACCTGGAGCATCCGTGAAAATAAGT
TGCAAGGCATCCGGTACTCGTTCACCCGATACTATATCCACTGGGTAAACAGGCACCA
GGACAGGGACTTGAATGGATCGGATATATCGCTGGATATAAAGATGCTACAAACTATAAC
CAAAAATTCAAAGGACCGGTGACTTTCACAACCTGACACCTCAACCTCGACAGCATACATG
GAATTACGGTCCCTACGGTCTGACGACACTGCCGTTTACTATTGGCTAGAGATTATGAT
TATGATGTTGGAAATGGACTATTGGGGCCAGGGAAACACTGGTGACAGTGTCTTCTGCATCC
ACTAAGGGACCATCCGTGTTCCCTTTGGCCCTTGCTCTCGTTCGACCTCGAATCGACT
GCCGCTCTGGGATGCCCTCGTGAAGATTACTTCCCTGAGCCTGTGACCGTTCCTGGAAAC
TCGGGGCCCTAACCTCTGGCGTGCACACATTCCTGCCGTGCTACAGTCTTCTGGCCTA
TACTCTTTATCTTCGGTGTACCGTACCTTCTTCTAACTTCGGAACCCAAACTACAC
TGTAACGTAGACCACAAGCCTTCGAACACCAAGGTGGACAAGACTGTTGAGCGAAAGTGC
TGCGTTGAGTGCCCTCCATGCTTCGACCTCCTGTGGCTGGCCCTTCTGTGTTCTCTGTT
CCTCCAAAACCTAAGGACACTCTAATGATCTCTCGGACTCCTGAGGTGACTTGCCTGGTT
GTGGACGTGTCCACAGGAGACCCCTGAGGTGCAGTTCAATTGGTACGTGGACGGAGTCCAG
GTGCACAAATGCAAGACCAAGCCTCGGGAGGAAACAGTTCAACTCCACCTCCGGGTGGTT
TCTGTGTTGACCGTGTGTGCCAAGACTGGCTGAACGGCAAAGAATACAAGTGAAGGTG
TCCAACAAGGGCTGCTGCCCCATCGAAAAGACCATCAGCAAGACCAAGGGCCAGCCT
CGCGAGCCTCAGGTGTACACCTGCCCTCCAGCCGGGAAGAAATGACCAAGAACCAGGTG
TCCCTGACCTGICTGGTGGAGGGCTTCTACCCTCCGACATCGCCGTTGAGTGGGAGTCT
AACGGACAGCCGAGAAACAATAACAAGACTACGCCCTCCAATGCTGGACTCCGACGGCTCC
TTCTTCCTGTACTCCGAACCTGACCGTGGACAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTT
TCATGCTCCGTAATGCACGAAGCCTTGACAAATCACTACACTCAAAGTCCCTATCCTTA
TCTCCTGGCAAG

21R75 중쇄 가변 영역 뉴클레오타이드 서열 (13B 버전 1) (서열: 68)

CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCTGGCGCCTCCGTGAAGATC
TCCTGCAAGGCCTCCGGCTACTCCTTACCAGCCTACTACATCCACTGGGTCAAGCAGGCC
CCTGGACAGGGCCTGGAAATGGATCGGATATATCGCCGCTACAAGGACGCCCAACTAC
AACCAGAAATTCAGGGCAGAGTGACCTTACCACCAGACCTCCACCTTACCAGCCTAC
ATGGAACCTCGGTCCCTGCGGAGCGACACCCGCGTACTACTGCGCCAGAGACTAC
GACTACGACGTGGGCATGGACTACTGGGGCCAGGGCACACTCGTGACCGTGTCTCT

21R75 중쇄 가변 영역 뉴클레오타이드 서열 (13B 버전 2) (서열: 69)

CAGGTTCAGCTAGTTCAGTCTGGAGCGGAAGTTAAGAAACCTGGAGCATCCGTGAAAATA
AGTTGCAAGGCATCCGGTACTCGTTCACCGCATACTATCCACTGGGTAAACAGGCA
CCAGGACAGGGACTTGAATGGATCGGATATATCGCTGGATATAAAGATGCTACAACTAT
AACCAAAATTCAGGACCGGTGACTTTCACAACCTGACACCTCAACCTCGACAGCATAC
ATGGAATTACGGTCCCTACGGTCTGACGACACTGCCGTTTACTATTGCGCTAGAGATTAT

[0378]

GATTATGATGTTGGAATGGACTATTGGGGCCAGGGAACACTGGTGACAGTGTCTTCT

21R83 중쇄 가변 영역 뉴클레오타이드 서열 (13B 버전 1) (서열: 70)
 CAGGTGCAGCTGTCAGTCTGGGCGCGAAGTGAAGAAACCTGGGCGCTCCGTGAAAGATC
 TCCTGCAAGGCCTCCGGCTACTCCTTACCAGCCTACTACATCCACTGGGTCAAGCAGGCC
 CCTGGACAGGGCCTGGAATGGATCGGCTACATCTCCAACACAAACCGGGCCACCAATTAC
 AACAGAAATTCAGGGCCCGTACCTTACCACCGACACCTTACTCTACCAGCCTAC
 ATGGAACCTCGGTCCTCGGGAGCGACGACACCGCCGTGACTACTGCGCCAGAGACTAC
 GACTACGACGTGGGCATGGACTACTGGGGCCAGGGCACACTCGTGACCGTGTCTTAGC

21R75 중쇄 가변 영역 뉴클레오타이드 서열 (13B 버전 2) (서열: 71)
 CAGGTTCAGCTAGTTCAGTCTGGAGCGGAAGTGAAGAAACCTGGAGCATCCGTGAAAAATA
 AGTTGCAAGGCATCCGGTACTCGTTCACCGCATACTATATCCACTGGGTAAACAGGGCA
 CCAGGACAGGGACTTGAATGGATCGGATATATCGCTGGATATAAAGATGCTACAAACTAT
 AACCAAAATTCAGAGGACCGGTGACTTTCACAACCTGACACCTCAACCTCGACAGCATAC
 ATGGAATTACGGTCCCTACGGTCTGACGACACTGCCGTTTACTATTGCGCTAGAGATTAT
 GATTATGATGTTGGAATGGACTATTGGGGCCAGGGAACACTGGTGACAGTGTCTTCT

밀접친 신호 서열을 갖는 21R83 중쇄 뉴클레오타이드 서열 (13B 버전 2) (서열: 72)
 ATGAAGCACCTATGGTCTCTTCTATTATTAGTGGCCGCTCCCGTTGGGTGTTATCGCAG
 GTTCAGCTAGTTCAGTCTGGAGCGGAAGTGAAGAAACCTGGAGCATCCGTGAAAAATAAGT
 TGCAAGGCATCCGGTACTCGTTCACCGCATACTATATCCACTGGGTAAACAGGGCACCA
 GGACAGGGACTTGAATGGATCGGATATATCTCCAATTATAATAGAGCTACAACTATAAC
 CAAAAATTCAGAGGACCGGTGACTTTCACAACCTGACACCTCAACCTCGACAGCATACATG
 GAATTACGGTCCCTACGGTCTGACGACACTGCCGTTTACTATTGCGCTAGAGATTATGAT
 TATGATGTTGGAATGGACTATTGGGGCCAGGGAACACTGGTGACAGTGTCTTCTGCAATCC
 ACTAAGGGACCATCCGTGTTCCCTTTGGCCCTTGCTCTCGTTCGACCTCTGAATCGACT
 GCCGCTCTGGGATGCCCTCGTGAAGATTACTTCCCTGAGCCTGTGACCGTTTCTTGGAAC
 TCGGGCGCCCTAACCTCTGGCGTGACACATTCCTGCCGTGCTACAGTCTTCTGGCCTA
 TACTCTTTATCTTCGGTGTACCGTACCTTCTTCTAACTTCGGAACCCAAACTTACACC
 TGTAACGTAGACCACAAGCCTTCGAACACCAAGGTGGACAAGACTGTTGAGCGAAAGTGC
 TGCGTTGAGTGCCCTCCATGTCCTGCACCTCCTGTGGCTGGCCCTTCTGTGTTCTGTTC
 CCTCCAAAACCTAAGGACACTCTAATGATCTCTCGGACTCCTGAGGTGACTTGCCTGGTT
 GTGGACGTGCCACGAGGACCTGAGGTGACGTTCAATTGGTACGTGGACGGAGTCGAG
 GTGCACAATGCAAGACCAAGCCTCGGGAGGAACAGTTCAACTCCACCTTCCGGGTGGTT
 TCTGTGTTGACCGTTGTGCACCAAGACTGGCTGAACGGCAAAGAATACAAGTGAAGGTG
 TCCAACAAGGGCCTGCCCTGCCCTATCGAAAAGACCATCAGCAAGACCAAGGGCCAGCCT
 CGCGAGCCTCAGGTGTACACCTGCCCTCCAGCCGGGAAGAAATGACCAAGAACCAGGTG
 TCCCTGACCTGTCTGGTGGAGGGCTTCTACCTTCCGACATCGCGGTGAGTGGGAGTCT
 AACGGACAGCCGGAGAACAACACTACAAGACTACGCTCCAATGCTGGACTCCGACGGCTCC
 TTCTTCTGTACTCCGAACTGACCGTGGACAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCT
 TCATGCTCCGTAATGCACGAAGCCTTGACACAATCACTACACTCAAAGTCCCTATCCTTA
 TCTCCTGGCAAGTAG

21R83 중쇄 가변 영역 뉴클레오타이드 서열 (13B 버전 2) (서열: 73)
 CAGGTTCAGCTAGTTCAGTCTGGAGCGGAAGTGAAGAAACCTGGAGCATCCGTGAAAAATA
 AGTTGCAAGGCATCCGGTACTCGTTCACCGCATACTATATCCACTGGGTAAACAGGGCA
 CCAGGACAGGGACTTGAATGGATCGGATATATCTCCAATTATAATAGAGCTACAACTAT
 AACCAAAATTCAGAGGACCGGTGACTTTCACAACCTGACACCTCAACCTCGACAGCATAC
 ATGGAATTACGGTCCCTACGGTCTGACGACACTGCCGTTTACTATTGCGCTAGAGATTAT
 GATTATGATGTTGGAATGGACTATTGGGGCCAGGGAACACTGGTGACAGTGTCTTCT

[0379]

발출된 신호 서열을 갖는 21R75 중쇄 뉴클레오타이드 서열 (13B 버전 2) (서열: 74)

ATGAAGCACCTATGGTCTCTTCTATTATTAGTGGCCGCTCCCCGTTGGGTGTTATCGCAG
 GTTCAGCTAGTTTCACTGGAGCGGAAGTTAAGAAACCTGGAGCATCCGTGAAAATAAGT
 TGCAAGGCATCCGGTACTCGTTACCCGCATACTATATCCACTGGGTTAAACAGGCACCA
 GGACAGGGACTTGAATGGATCGGATATATCGCTGGATAAAAAGATGTACAAACTATAAC
 CAAAAATTCAAAGGACGCGTGACTTTCACAACTGACACCTCAACCTCGACAGCATACATG
 GAATTACGGTCCCTACGGTCTGACGACACTGCCGTTTACTATTGCCGTAGAGATTATGAT
 TATGATGTTGGAATGGACTATTGGGGCCAGGGAACACTGGTGACAGTGTCTTCTGCATCC
 ACTAAGGGACCATCCGTGTTCCCTTGGCCCTTGTCTCGTTCGACCTCTGAATCGACT
 GCCGCTCTGGGATGCCCTCGTGAAGATTACTTCCCTGAGCCTGTGACCGTTTCTTGGAAC
 TCGGGCCGCTAACCTCTGGCGTGACACATTCCTGCGGTGCTACAGTCTTCTGGCCTA
 TACTCTTTATCTTCGGTGTACCGTACCTTCTTCTAACTTCGGAACCCAAACTTACACC
 TGTAACTGACACCAAGCCTTCGAACACCAAGGTGGACAAGACTGTTGAGCGAAAAGTGC
 TGCGTTGAGTGCCTCCATGTCTGACCTCCTGTGGCTGGCCCTTCTGTGTTCTCTGTTT
 CCTCCAAAACCTAAGGACACTCTAATGATCTCTCGGACTCCTGAGGTGACTTGCCTGGTT
 GTGGACGTGTCCACGAGGACCTGAGGTGACGTTCAATTGGTACGTGGACGGAGTGCAG
 GTGCACAAATGCAAGACCAAGCCTCGGGAGGAACAGTTCAACTCCACCTCCCGGTGGTT
 TCTGTGTTGACCGTGTGACCAAGACTTGGCTGAACGGCAAAGAAATACAAGTGCAGGTG
 TCCAAACAAGGGCTGCCTGCCCTATCGAAAAGACCATCAGCAAGACCAAGGGCCAGCCT
 CGCGAGCCTCAGGTGTACACCTGCCTCCAGCCGGGAAGAATGACCAAGAACCAGGTG
 TCCCTGACCTGTGTGGTGGAGGGCTTCTACCTTCCGACATCGCGTTGAGTGGGAGTCT
 AACGGACAGCCGAGAACTACAAGACTACGCTCCAATGCTGGACTCCGACGGCTCC
 TTCTTCTGTACTCCGAACTGACCGTGGACAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTT
 TCATGCTCCGTAATGCACGAAGCCTTGCACAATCACTACACTCAAAGTCCCTATCCCTTA
 TCTCTGGCAAGTAG

21M18 중쇄 뉴클레오타이드 서열 (버전 2) (서열: 75)

ATGAAGCACCTATGGTCTCTTCTATTATTAGTGGCCGCTCCCCGTTGGGTGTTATCGCAG
 GTTCAGCTAGTTTCACTGGAGCGGAAGTTAAGAAACCTGGAGCATCCGTGAAAATAAGT
 TGCAAGGCATCCGGTACTCGTTACCCGCATACTATATCCACTGGGTTAAACAGGCACCA
 GGACAGGGACTTGAATGGATCGGATATATCTCTCTTATAATGGAGCTACAAACTATAAC
 CAAAAATTCAAAGGACGCGTGACTTTCACAACTGACACCTCAACCTCGACAGCATACATG
 GAATTACGGTCCCTACGGTCTGACGACACTGCCGTTTACTATTGCCGTAGAGATTATGAT
 TATGATGTTGGAATGGACTATTGGGGCCAGGGAACACTGGTGACAGTGTCTTCTGCATCC
 ACTAAGGGACCATCCGTGTTCCCTTGGCCCTTGTCTCGTTCGACCTCTGAATCGACT
 GCCGCTCTGGGATGCCCTCGTGAAGATTACTTCCCTGAGCCTGTGACCGTTTCTTGGAAC
 TCGGGCCGCTAACCTCTGGCGTGACACATTCCTGCGGTGCTACAGTCTTCTGGCCTA
 TACTCTTTATCTTCGGTGTACCGTACCTTCTTCTAACTTCGGAACCCAAACTTACACC
 TGTAACTGACACCAAGCCTTCGAACACCAAGGTGGACAAGACTGTTGAGCGAAAAGTGC
 TGCGTTGAGTGCCTCCATGTCTGACCTCCTGTGGCTGGCCCTTCTGTGTTCTCTGTTT
 CCTCCAAAACCTAAGGACACTCTAATGATCTCTCGGACTCCTGAGGTGACTTGCCTGGTT
 GTGGACGTGTCCACGAGGACCTGAGGTGACGTTCAATTGGTACGTGGACGGAGTGCAG
 GTGCACAAATGCAAGACCAAGCCTCGGGAGGAACAGTTCAACTCCACCTCCCGGTGGTT
 TCTGTGTTGACCGTGTGACCAAGACTGGCTGAACGGCAAAGAAATACAAGTGCAGGTG
 TCCAAACAAGGGCTGCCTGCCCTATCGAAAAGACCATCAGCAAGACCAAGGGCCAGCCT
 CGCGAGCCTCAGGTGTACACCTGCCTCCAGCCGGGAAGAATGACCAAGAACCAGGTG
 TCCCTGACCTGTGTGGTGGAGGGCTTCTACCTTCCGACATCGCGTTGAGTGGGAGTCT
 AACGGACAGCCGAGAACTACAAGACTACGCTCCAATGCTGGACTCCGACGGCTCC
 TTCTTCTGTACTCCGAACTGACCGTGGACAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTT
 TCATGCTCCGTAATGCACGAAGCCTTGCACAATCACTACACTCAAAGTCCCTATCCCTTA
 TCTCTGGCAAGTAG

21M18 중쇄 가변 영역 (버전 2) (서열: 76)

CAGCTAGTTCAGTCTGGAGCGGAAGTTAAGAAACCTGGAGCATCCGTGAAAATAAGTTGC
 AAGGCATCCGGTACTCGTTACCCGCATACTATATCCACTGGGTTAAACAGGCACCCAGGA
 CAGGGACTTGAATGGATCGGATATATCTCTCTTATAATGGAGCTACAAACTATAACCAA
 AAATTCAAAGGACGCGTGACTTTCACAACTGACACCTCAACCTCGACAGCATACATGGAA
 TTACGGTCCCTACGGTCTGACGACACTGCCGTTTACTATTGCCGTAGAGATTATGATTAT
 GATGTTGGAATGGACTATTGGGGCCAGGGAACACTGGTGACAGTGTCTTCT

[0380]

[0381]

[0382] 항-DLL4 중쇄 CDR2 컨센서스 서열 (서열:80):

[0383] YIX₁X₂YX₃X₄ATNYNQFKG, 여기서 X₁은 세린 또는 알라닌이고, X₂는 세린, 아스파라긴, 또는 글리신이고, X₃은 아스파라긴 또는 리신이고, X₄는 글리신, 아르기닌, 또는 아스파르트산이다.

수탁번호

[0384]

기탁기관명 : ATCC

수탁번호 : PTA-13232

수탁일자 : 20120921

기탁기관명 : ATCC

수탁번호 : PTA-13233

수탁일자 : 20120921

기탁기관명 : ATCC

수탁번호 : PTA-13234

수탁일자 : 20120921

기탁기관명 : ATCC

수탁번호 : PTA-13235

수탁일자 : 20120921

기탁기관명 : ATCC

수탁번호 : PTA-13236

수탁일자 : 20120921

기탁기관명 : ATCC

수탁번호 : PTA-13278

수탁일자 : 20121024

도면

도면1a

이중특이적 항체	항-VEGF 결합 영역			항-DLL4 결합 영역		
	중쇄					
	CDR1	CDR2	CDR3	CDR1	CDR2	CDR3
219R45-MB-21M18	NYWMH (서열 :17)	DINPSNGRTSYKEKFKR (서열 :18)	HYDDKYYPLMDY (서열 :19)	TAYYIH (서열 :13)	YISSYNGATNYNQKFKG (서열 :15)	RDYDYDVGM DY (서열 :16)
219R45-MB-21R79	NYWMH (서열 :17)	DINPSNGRTSYKEKFKR (서열 :18)	HYDDKYYPLMDY (서열 :19)	TAYYIH (서열 :13)	YIANYNRATNYNQKFKG (서열 :14)	RDYDYDVGM DY (서열 :16)
219R45-MB-21R75	NYWMH (서열 :17)	DINPSNGRTSYKEKFKR (서열 :18)	HYDDKYYPLMDY (서열 :19)	TAYYIH (서열 :13)	YIAGYKDATNYNQKFKG (서열 :59)	RDYDYDVGM DY (서열 :16)
219R45-MB-21R83	NYWMH (서열 :17)	DINPSNGRTSYKEKFKR (서열 :18)	HYDDKYYPLMDY (서열 :19)	TAYYIH (서열 :13)	YISNYNRATNYNQKFKG (서열 :65)	RDYDYDVGM DY (서열 :16)

이중특이적 항체	항-VEGF 및 항-DLL4 결합 영역		
	중쇄		
	CDR1	CDR2	CDR3
219R45-MB-21M18	RASESDNYGISFMK (서열 :20)	AASNQGS (서열 :21)	QQSKEVPWTFGG (서열 :22)
219R45-MB-21R79	RASESDNYGISFMK (서열 :20)	AASNQGS (서열 :21)	QQSKEVPWTFGG (서열 :22)
219R45-MB-21R75	RASESDNYGISFMK (서열 :20)	AASNQGS (서열 :21)	QQSKEVPWTFGG (서열 :22)
219R45-MB-21R83	RASESDNYGISFMK (서열 :20)	AASNQGS (서열 :21)	QQSKEVPWTFGG (서열 :22)

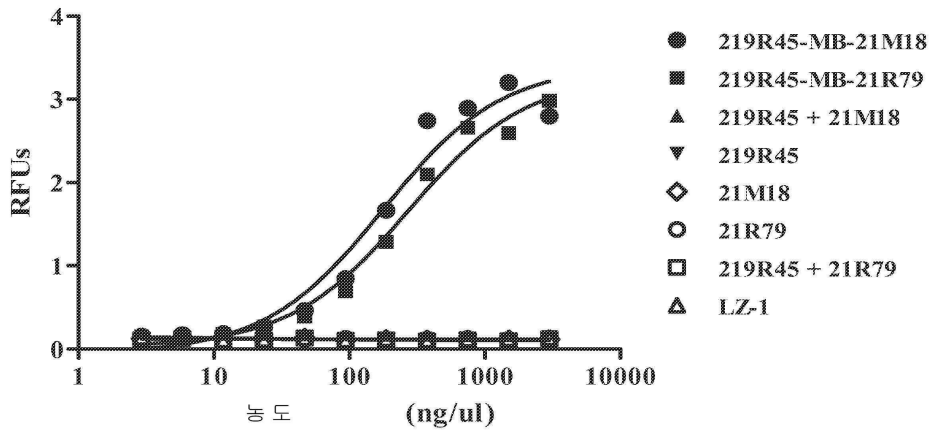
도면1b

이종특이적 항체	항-VEGF 결합 영역		항-DLL4 결합 영역	
	중쇄 가변 영역	경쇄 가변 영역	중쇄 가변 영역	경쇄 가변 영역
	219R45-MB-21M18	서열 :11	서열 :12	서열 :9
219R45-MB-21R79	서열 :11	서열 :12	서열 :10	서열 :12
219R45-MB-21R75	서열 :11	서열 :12	서열 :58	서열 :12
219R45-MB-21R83	서열 :11	서열 :12	서열 :64	서열 :12

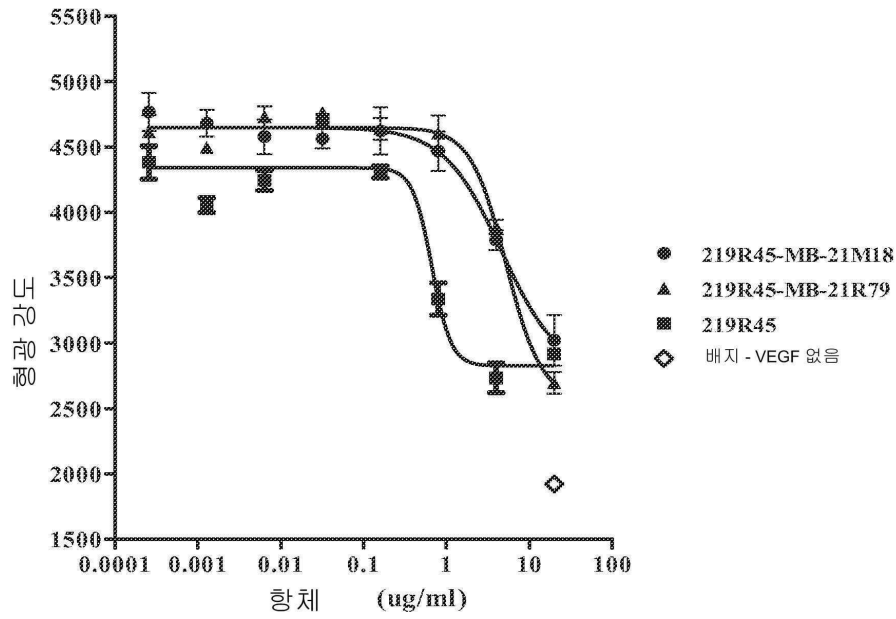
도면1c

이종특이적 항체	항-VEGF 결합 영역		항-DLL4 결합 영역	
	중쇄	경쇄	중쇄	경쇄
	219R45-MB-21M18	서열 :3 서열 :7	서열 :4 서열 :8	서열 :1 서열 :5
219R45-MB-21R79	서열 :3 서열 :7	서열 :4 서열 :8	서열 :2 서열 :6	서열 :4 서열 :8
219R45-MB-21R75	서열 :3 서열 :7	서열 :4 서열 :8	서열 :57 서열 :56	서열 :4 서열 :8
219R45-MB-21R83	서열 :3 서열 :7	서열 :4 서열 :8	서열 :63 서열 :62	서열 :4 서열 :8

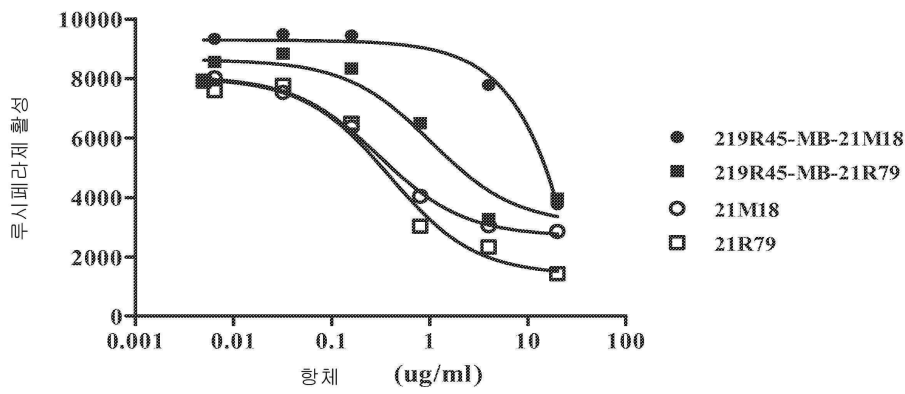
도면2



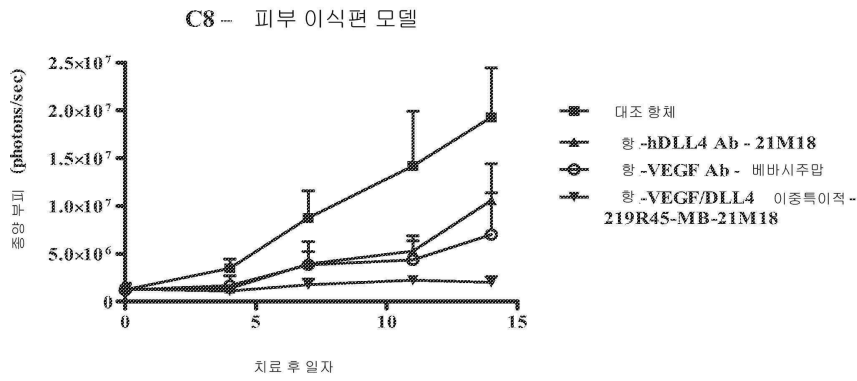
도면3



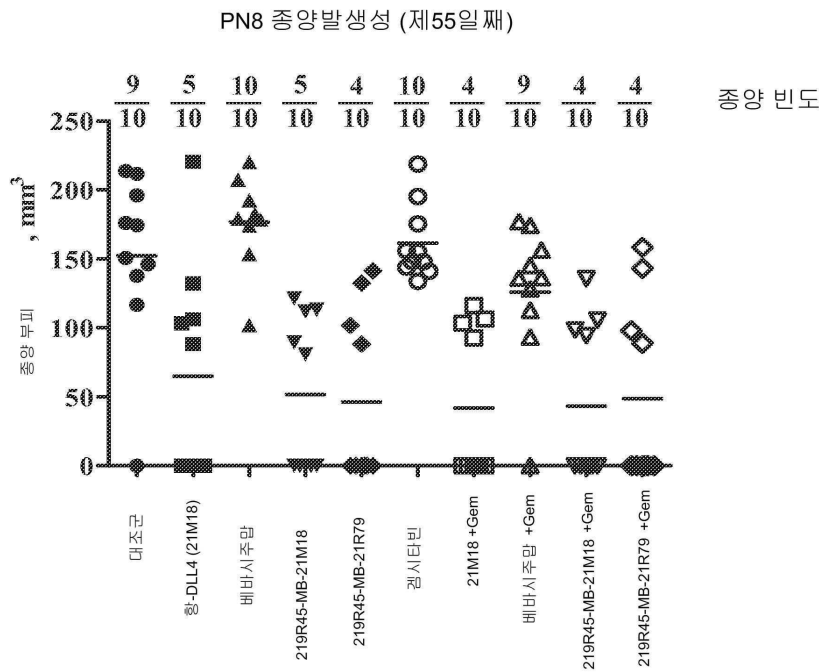
도면4



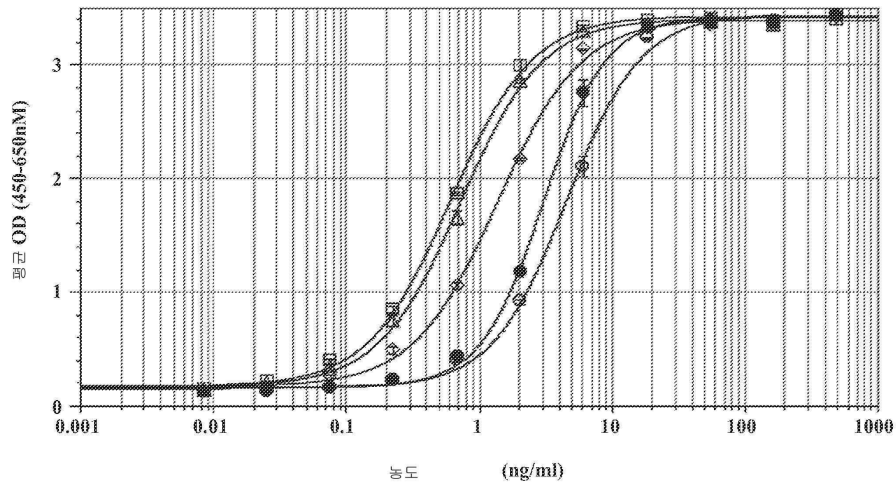
도면5



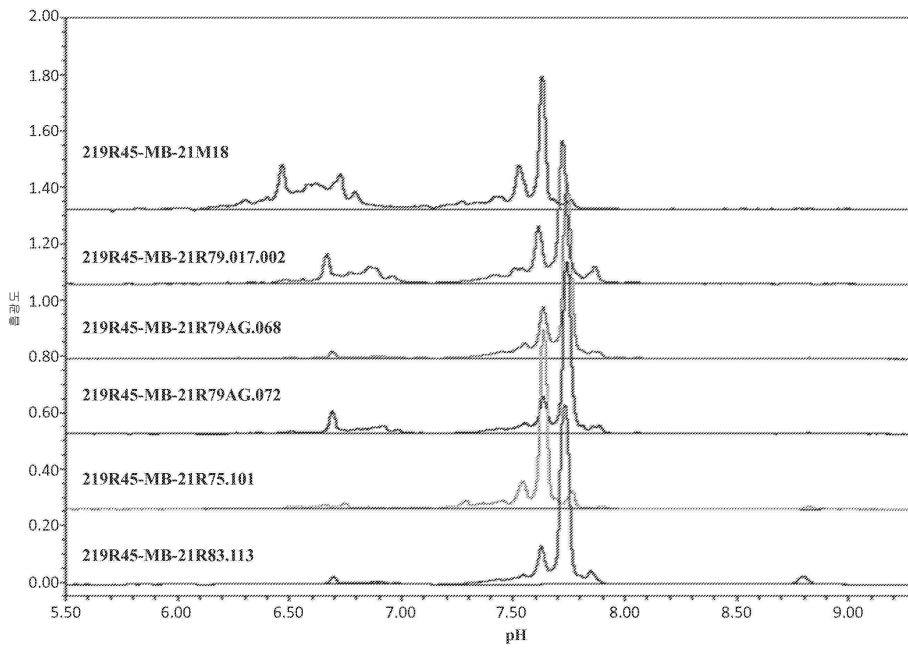
도면6



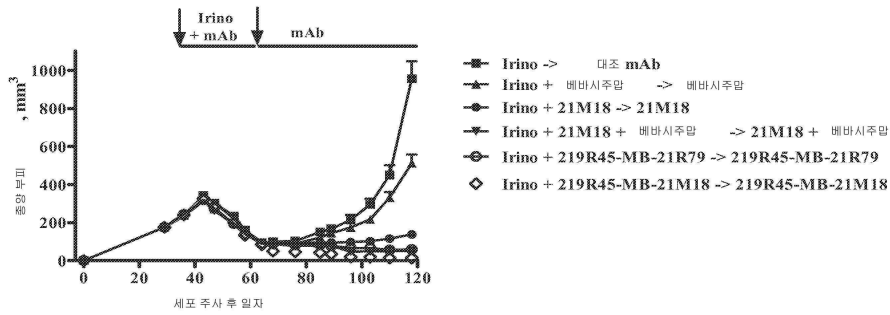
도면7



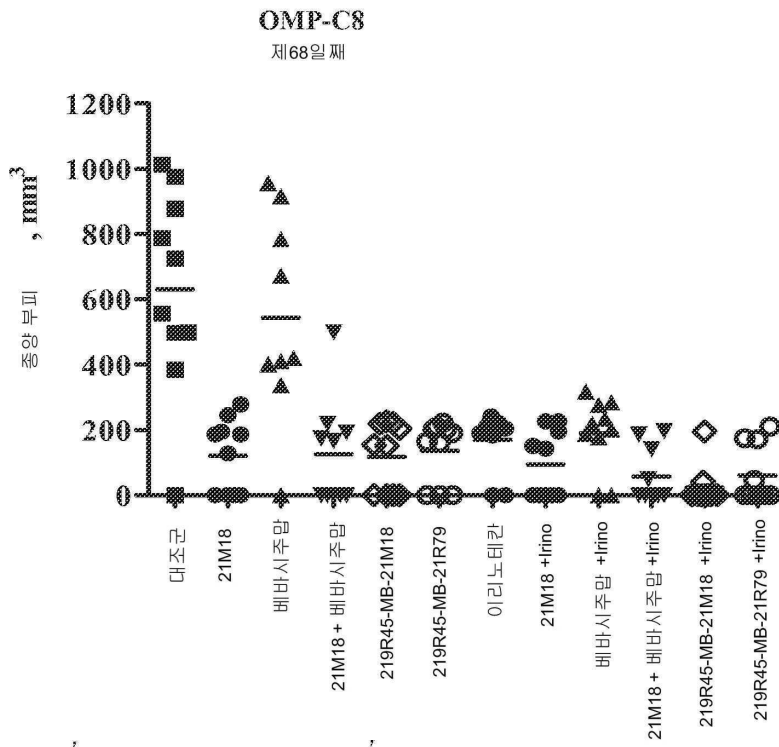
도면8



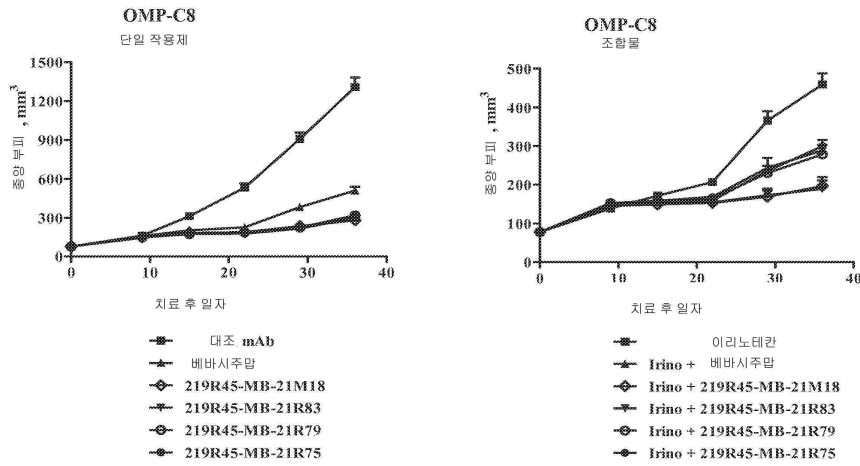
도면9



도면10



도면11



서열 목록

SEQUENCE LISTING

- <110> OncoMed Pharmaceuticals, Inc.
- <120> VEGF/DLL4 Binding Agents and Uses Thereof
- <130> 2293.084PC03
- <140> PCT/US2012/056886
- <141> 2012-09-24
- <150> US 61/692,978
- <151> 2012-08-24
- <150> US 61/597,409
- <151> 2012-02-10
- <150> US 61/538,454
- <151> 2011-09-23
- <160> 80
- <170> PatentIn version 3.5
- <210> 1
- <211> 464
- <212> PRT
- <213> Artificial sequence
- <220><223> 21M18 Heavy chain with signal sequence
- <400>

1

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
 1 5 10 15

Val Leu Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
 20 25 30

Pro Gly Ala Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe
 35 40 45

Thr Ala Tyr Tyr Ile His Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu
 50 55 60

Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Ser Ser Tyr Asn Gly Ala Thr Asn Tyr Asn
 65 70 75 80

Gln Lys Phe Lys Gly Arg Val Thr Phe Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser
 85 90 95

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val
 100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Tyr Asp Tyr Asp Val Gly Met Asp Tyr Trp
 115 120 125

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

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr
 145 150 155 160

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
 165 170 175

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
 180 185 190

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
 195 200 205

Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp
 210 215 220

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys
 225 230 235 240

Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser

<220><223> 21R79 Heavy chain with signal sequence

<400> 2

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp

1 5 10 15

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

 20 25 30

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

 35 40 45

Thr Ala Tyr Tyr Ile His Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu

 50 55 60

Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Ala Asn Tyr Asn Arg Ala Thr Asn Tyr Asn

65 70 75 80

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

 85 90 95

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

 100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Tyr Asp Tyr Asp Val Gly Met Asp Tyr Trp

 115 120 125

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

 130 135 140

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

145 150 155 160

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

 165 170 175

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

 180 185 190

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

 195 200 205

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

 210 215 220

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys

225 230 235 240
 Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser
 245 250 255
 Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
 260 265 270
 Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
 275 280 285

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

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

 Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Glu Leu Thr Val Asp Lys Ser
 420 425 430
 Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
 435 440 445
 Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 450 455 460

<210> 3

<211> 466

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> 219R45 Heavy chain with signal sequence

<400> 3

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Thr Asn Tyr Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu

50 55 60

Glu Trp Met Gly Asp Ile Asn Pro Ser Asn Gly Arg Thr Ser Tyr Lys

65 70 75 80

Glu Lys Phe Lys Arg Arg Val Thr Leu Ser Val Asp Lys Ser Ser Ser

85 90 95

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

100 105 110

Tyr Phe Cys Thr Ile His Tyr Asp Asp Lys Tyr Tyr Pro Leu Met Asp

115 120 125

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn

210 215 220

Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg
 225 230 235 240
 Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly
 245 250 255

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

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

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

 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 450 455 460
 Gly Lys

465

<210> 4

<211> 238

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Light chain with signal sequence

<400> 4

Met Val Leu Gln Thr Gln Val Phe Ile Ser Leu Leu Leu Trp Ile Ser

1 5 10 15

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

 20 25 30

Val Ser Leu Gly Glu Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Glu Ser

 35 40 45

Val Asp Asn Tyr Gly Ile Ser Phe Met Lys Trp Phe Gln Gln Lys Pro

 50 55 60

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

65 70 75 80

Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr

 85 90 95

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

 100 105 110

Gln Gln Ser Lys Glu Val Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val

 115 120 125

Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro

 130 135 140

Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu

145 150 155 160

Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn

 165 170 175

Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser

 180 185 190

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

195 200 205
 Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly
 210 215 220

Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 225 230 235

<210> 5

<211> 445

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> 21M18 Heavy chain without predicted signal sequence

<400> 5

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

Tyr Ile His Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

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

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

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

Ala Arg Asp Tyr Asp Tyr Asp Val Gly Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

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

Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu
 130 135 140

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

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

 Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu
 225 230 235 240
 Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
 245 250 255
 Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln
 260 265 270
 Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
 275 280 285

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

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

405 410 415

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn

420 425 430

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

435 440 445

<210> 6

<211> 445

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> 21R79 Heavy chain without predicted signal sequence

<400> 6

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Ile His Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Asp Tyr Asp Tyr Asp Val Gly Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

 Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu
 210 215 220
 Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu
 225 230 235 240
 Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
 245 250 255
 Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln
 260 265 270

 Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
 275 280 285
 Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu
 290 295 300
 Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
 305 310 315 320
 Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
 325 330 335

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

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

405 410 415
 Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn

420 425 430
 His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 435 440 445

<210> 7

<211> 447

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> 21R79 Heavy chain without predicted signal sequence

<400> 7

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

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

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

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

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

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

Thr Ile His Tyr Asp Asp Lys Tyr Tyr Pro Leu Met Asp Tyr Trp Gly
 100 105 110

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

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

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
 145 150 155 160

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

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

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

<210> 8

<211> 217

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Light chain without predicted signal sequence

<400> 8

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Gly Ile Ser Phe Met Lys Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro

35 40 45

Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Asn Gln Gly Ser Gly Val Pro Asp

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

<213> Artificial sequence

<220><223> 21R79 Heavy chain variable region

<400

> 10

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

1 5 10 15

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

 20 25 30

Tyr Ile His Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile

 35 40 45

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

 50 55 60

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

65 70 75 80

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

 85 90 95

Ala Arg Asp Tyr Asp Tyr Asp Val Gly Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

 100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

 115

<210> 11

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> 21R79 Heavy chain variable region

<400> 11

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

1 5 10 15

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

 20 25 30

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

 35 40 45

Gly Asp Ile Asn Pro Ser Asn Gly Arg Thr Ser Tyr Lys Glu Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Ile His Tyr Asp Asp Lys Tyr Tyr Pro Leu Met Asp Tyr Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 12

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Light chain variable region

<400> 12

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Gly Ile Ser Phe Met Lys Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro

35 40 45

Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Asn Gln Gly Ser Gly Val Pro Asp

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

<210> 13

<211> 6
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence
 <220><223> 21R75, 21R79, 21R83, and 21M18 Heavy chain CDR1
 <400> 13
 Thr Ala Tyr Tyr Ile His
 1 5
 <210> 14
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence
 <220><223> 21R79 Heavy chain CDR2
 <400> 14
 Tyr Ile Ala Asn Tyr Asn Arg Ala Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
 1 5 10 15
 Gly

 <210> 15
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence

 <220><223> 21M18 Heavy chain CDR2
 <400> 15
 Tyr Ile Ser Ser Tyr Asn Gly Ala Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
 1 5 10 15
 Gly

 <210> 16
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence
 <220><223> 21R75, 21R79, 21R83, and 21M18 Heavy chain CDR3
 <400> 16
 Arg Asp Tyr Asp Tyr Asp Val Gly Met Asp Tyr

1 5 10

<210> 17

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> 219R45 Heavy chain CDR1

<400> 17

Asn Tyr Trp Met His

1 5

<210> 18

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> 219R45 Heavy chain CDR2

<400> 18

Asp Ile Asn Pro Ser Asn Gly Arg Thr Ser Tyr Lys Glu Lys Phe Lys

1 5 10 15

Arg

<210> 19

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> 219R45 Heavy chain CDR3

<400> 19

His Tyr Asp Asp Lys Tyr Tyr Pro Leu Met Asp Tyr

1 5 10

<210> 20

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Light chain CDR1

<400> 20

Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Asn Tyr Gly Ile Ser Phe Met Lys

1 5 10 15

<210> 21

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Light chain CDR2

<400> 21

Ala Ala Ser Asn Gln Gly Ser

1 5

<210> 22

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Light chain CDR3

<400> 22

Gln Gln Ser Lys Glu Val Pro Trp Thr Phe Gly Gly

1 5 10

<210> 23

<211> 522

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 23

Met Ala Ala Ala Ser Arg Ser Ala Ser Gly Trp Ala Leu Leu Leu Leu

1 5 10 15

Val Ala Leu Trp Gln Gln Arg Ala Ala Gly Ser Gly Val Phe Gln Leu

20 25 30

Gln Leu Gln Glu Phe Ile Asn Glu Arg Gly Val Leu Ala Ser Gly Arg

35 40 45

Pro Cys Glu Pro Gly Cys Arg Thr Phe Phe Arg Val Cys Leu Lys His

50 55 60

Phe Gln Ala Val Val Ser Pro Gly Pro Cys Thr Phe Gly Thr Val Ser

65 70 75 80

Thr Pro Val Leu Gly Thr Asn Ser Phe Ala Val Arg Asp Asp Ser Ser
 85 90 95
 Gly Gly Gly Arg Asn Pro Leu Gln Leu Pro Phe Asn Phe Thr Trp Pro
 100 105 110

 Gly Thr Phe Ser Leu Ile Ile Glu Ala Trp His Ala Pro Gly Asp Asp
 115 120 125
 Leu Arg Pro Glu Ala Leu Pro Pro Asp Ala Leu Ile Ser Lys Ile Ala
 130 135 140
 Ile Gln Gly Ser Leu Ala Val Gly Gln Asn Trp Leu Leu Asp Glu Gln
 145 150 155 160
 Thr Ser Thr Leu Thr Arg Leu Arg Tyr Ser Tyr Arg Val Ile Cys Ser
 165 170 175

 Asp Asn Tyr Tyr Gly Asp Asn Cys Ser Arg Leu Cys Lys Lys Arg Asn
 180 185 190
 Asp His Phe Gly His Tyr Val Cys Gln Pro Asp Gly Asn Leu Ser Cys
 195 200 205
 Leu Pro Gly Trp Thr Gly Glu Tyr Cys Gln Gln Pro Ile Cys Leu Ser
 210 215 220
 Gly Cys His Glu Gln Asn Gly Tyr Cys Ser Lys Pro Ala Glu Cys Leu
 225 230 235 240

 Cys Arg Pro Gly Trp Gln Gly Arg Leu Cys Asn Glu Cys Ile Pro His
 245 250 255
 Asn Gly Cys Arg His Gly Thr Cys Ser Thr Pro Trp Gln Cys Thr Cys
 260 265 270
 Asp Glu Gly Trp Gly Gly Leu Phe Cys Asp Gln Asp Leu Asn Tyr Cys
 275 280 285
 Thr His His Ser Pro Cys Lys Asn Gly Ala Thr Cys Ser Asn Ser Gly
 290 295 300

 Gln Arg Ser Tyr Thr Cys Thr Cys Arg Pro Gly Tyr Thr Gly Val Asp
 305 310 315 320
 Cys Glu Leu Glu Leu Ser Glu Cys Asp Ser Asn Pro Cys Arg Asn Gly

Val Leu Ala Ser Gly Arg Pro Cys Glu Pro Gly Cys Arg Thr Phe Phe
 20 25 30

Arg Val Cys Leu Lys His Phe Gln Ala Val Val Ser Pro Gly Pro Cys
 35 40 45

Thr Phe Gly Thr Val Ser Thr Pro Val Leu Gly Thr Asn Ser Phe Ala
 50 55 60

Val Arg Asp Asp Ser Ser Gly Gly Gly Arg Asn Pro Leu Gln Leu Pro
 65 70 75 80

Phe Asn Phe Thr Trp Pro Gly Thr Phe Ser Leu Ile Ile Glu Ala Trp
 85 90 95

His Ala Pro Gly Asp Asp Leu Arg Pro Glu Ala Leu Pro Pro Asp Ala
 100 105 110

Leu Ile Ser Lys Ile Ala Ile Gln Gly Ser Leu Ala Val Gly Gln Asn
 115 120 125

Trp Leu Leu Asp Glu Gln Thr Ser Thr Leu Thr Arg Leu Arg Tyr Ser
 130 135 140

Tyr Arg Val Ile Cys Ser Asp Asn Tyr Tyr Gly Asp Asn Cys Ser Arg
 145 150 155 160

Leu Cys Lys Lys Arg Asn Asp His Phe Gly His Tyr Val Cys Gln Pro
 165 170 175

Asp Gly Asn Leu Ser Cys Leu Pro Gly Trp Thr Gly Glu Tyr Cys Gln
 180 185 190

Gln Pro Ile Cys Leu Ser Gly Cys His Glu Gln Asn Gly Tyr Cys Ser
 195 200 205

Lys Pro Ala Glu Cys Leu Cys Arg Pro Gly Trp Gln Gly Arg Leu Cys
 210 215 220

Asn Glu Cys Ile Pro His Asn Gly Cys Arg His Gly Thr Cys Ser Thr
 225 230 235 240

Pro Trp Gln Cys Thr Cys Asp Glu Gly Trp Gly Gly Leu Phe Cys Asp
 245 250 255

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

260 265 270
 Thr Cys Ser Asn Ser Gly Gln Arg Ser Tyr Thr Cys Thr Cys Arg Pro
 275 280 285

Gly Tyr Thr Gly Val Asp Cys Glu Leu Glu Leu Ser Glu Cys Asp Ser
 290 295 300

Asn Pro Cys Arg Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln Glu Asp Gly Tyr
 305 310 315 320

His Cys Leu Cys Pro Pro Gly Tyr Tyr Gly Leu His Cys Glu His Ser
 325 330 335

Thr Leu Ser Cys Ala Asp Ser Pro Cys Phe Asn Gly Gly Ser Cys Arg
 340 345 350

Glu Arg Asn Gln Gly Ala Asn Tyr Ala Cys Glu Cys Pro Pro Asn Phe
 355 360 365

Thr Gly Ser Asn Cys Glu Lys Lys Val Asp Arg Cys Thr Ser Asn Pro
 370 375 380

Cys Ala Asn Gly Gly Gln Cys Leu Asn Arg Gly Pro Ser Arg Met Cys
 385 390 395 400

Arg Cys Arg Pro Gly Phe Thr Gly Thr Tyr Cys Glu Leu His Val Ser
 405 410 415

Asp Cys Ala Arg Asn Pro Cys Ala His Gly Gly Thr Cys His Asp Leu
 420 425 430

Glu Asn Gly Leu Met Cys Thr Cys Pro Ala Gly Phe Ser Gly Arg Arg
 435 440 445

Cys Glu Val Arg Thr Ser Ile Asp Ala Cys Ala Ser Ser Pro Cys Phe
 450 455 460

Asn Arg Ala Thr Cys Tyr Thr Asp Leu Ser Thr Asp Thr Phe Val Cys
 465 470 475 480

Asn Cys Pro Tyr Gly Phe Val Gly Ser Arg Cys Glu Phe Pro Val Gly
 485 490 495

<210> 25

<211> 128

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 25

Ser Gly Val Phe Gln Leu Gln Leu Gln Glu Phe Ile Asn Glu Arg Gly

1 5 10 15

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

 20 25 30

Arg Val Cys Leu Lys His Phe Gln Ala Val Val Ser Pro Gly Pro Cys

 35 40 45

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

 50 55 60

Val Arg Asp Asp Ser Ser Gly Gly Gly Arg Asn Pro Leu Gln Leu Pro

65 70 75 80

Phe Asn Phe Thr Trp Pro Gly Thr Phe Ser Leu Ile Ile Glu Ala Trp

 85 90 95

His Ala Pro Gly Asp Asp Leu Arg Pro Glu Ala Leu Pro Pro Asp Ala

 100 105 110

Leu Ile Ser Lys Ile Ala Ile Gln Gly Ser Leu Ala Val Gly Gln Asn

 115 120 125

<210> 26

<211> 63

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 26

Trp Leu Leu Asp Glu Gln Thr Ser Thr Leu Thr Arg Leu Arg Tyr Ser

1 5 10 15

Tyr Arg Val Ile Cys Ser Asp Asn Tyr Tyr Gly Asp Asn Cys Ser Arg

 20 25 30

Leu Cys Lys Lys Arg Asn Asp His Phe Gly His Tyr Val Cys Gln Pro

 35 40 45

Asp Gly Asn Leu Ser Cys Leu Pro Gly Trp Thr Gly Glu Tyr Cys

 50 55 60

<210> 27

<211> 232

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 27

Met Asn Phe Leu Leu Ser Trp Val His Trp Ser Leu Ala Leu Leu Leu

1 5 10 15

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

20 25 30

Gly Gly Gln Asn His His Glu Val Val Lys Phe Met Asp Val Tyr Gln

35 40 45

Arg Ser Tyr Cys His Pro Ile Glu Thr Leu Val Asp Ile Phe Gln Glu

50 55 60

Tyr Pro Asp Glu Ile Glu Tyr Ile Phe Lys Pro Ser Cys Val Pro Leu

65 70 75 80

Met Arg Cys Gly Gly Cys Cys Asn Asp Glu Gly Leu Glu Cys Val Pro

85 90 95

Thr Glu Glu Ser Asn Ile Thr Met Gln Ile Met Arg Ile Lys Pro His

100 105 110

Gln Gly Gln His Ile Gly Glu Met Ser Phe Leu Gln His Asn Lys Cys

115 120 125

Glu Cys Arg Pro Lys Lys Asp Arg Ala Arg Gln Glu Lys Lys Ser Val

130 135 140

Arg Gly Lys Gly Lys Gly Gln Lys Arg Lys Arg Lys Lys Ser Arg Tyr

145 150 155 160

Lys Ser Trp Ser Val Tyr Val Gly Ala Arg Cys Cys Leu Met Pro Trp

165 170 175

Ser Leu Pro Gly Pro His Pro Cys Gly Pro Cys Ser Glu Arg Arg Lys

180 185 190

His Leu Phe Val Gln Asp Pro Gln Thr Cys Lys Cys Ser Cys Lys Asn

195 200 205

Thr Asp Ser Arg Cys Lys Ala Arg Gln Leu Glu Leu Asn Glu Arg Thr

210 215 220

Cys Arg Cys Asp Lys Pro Arg Arg

225 230

<210> 28

<211> 206

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 28

Ala Pro Met Ala Glu Gly Gly Gly Gln Asn His His Glu Val Val Lys

1 5 10 15

Phe Met Asp Val Tyr Gln Arg Ser Tyr Cys His Pro Ile Glu Thr Leu

20 25 30

Val Asp Ile Phe Gln Glu Tyr Pro Asp Glu Ile Glu Tyr Ile Phe Lys

35 40 45

Pro Ser Cys Val Pro Leu Met Arg Cys Gly Gly Cys Cys Asn Asp Glu

50 55 60

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

65 70 75 80

Met Arg Ile Lys Pro His Gln Gly Gln His Ile Gly Glu Met Ser Phe

85 90 95

Leu Gln His Asn Lys Cys Glu Cys Arg Pro Lys Lys Asp Arg Ala Arg

100 105 110

Gln Glu Lys Lys Ser Val Arg Gly Lys Gly Lys Gly Gln Lys Arg Lys

115 120 125

Arg Lys Lys Ser Arg Tyr Lys Ser Trp Ser Val Tyr Val Gly Ala Arg

130 135 140

Cys Cys Leu Met Pro Trp Ser Leu Pro Gly Pro His Pro Cys Gly Pro

145 150 155 160

Cys Ser Glu Arg Arg Lys His Leu Phe Val Gln Asp Pro Gln Thr Cys

165 170 175

Lys Cys Ser Cys Lys Asn Thr Asp Ser Arg Cys Lys Ala Arg Gln Leu

180 185 190

Glu Leu Asn Glu Arg Thr Cys Arg Cys Asp Lys Pro Arg Arg

195 200 205

<210> 29

<211> 1395

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> 21M18 Heavy chain nucleotide sequence (13B Version 1)

<400> 29

atgaagcacc tgtggttctt tctgtctgtg gtggccgctc ccagatgggt gctgtcccag 60

gtgcagctgg tgcagtctgg cgccgaagtg aagaaacctg gcgctccgt gaagatctcc 120

tgcaaggcct cggctactc cttcaccgct tactacatcc actgggtcaa gcaggccct 180

gggcagggcc tggaatggat cggtacatc tctctctaca acggcgccac caactacaac 240

cagaaattca agggccgctg gaccttcacc accgacacct ccacctccac cgcctacatg 300

gaactgcggt cctgcggag cgacgacacc gccgtgtact actgcgccag agactacgac 360

tacgacgtgg gcatggacta ctggggccag ggcacctgg tcacctgtc ctctgcctcc 420

accaagggcc catccgtgtt ccctctggcc ccttgctccc ggtccacctc tgagtctacc 480

gccgctctgg gctgcctggt gaaggactac ttccctgagc ctgtgacctg gtccctggaac 540

tctggcgccc tgacctctgg cgtgcacacc ttccctgccg tgctgcagtc ctccggcctg 600

tactcctgt ctagcgtggt gaccgtgctt tctccaact tcggcaccca gacctacacc 660

tgtaacgtgg accacaagcc ttccaacacc aaggtggaca agaccgtgga gcggaagtgc 720

tgcggtgagt gcctccttg tctgtctcct cctgtggctg gcccttctgt gttcctgttc 780

cctccaaagc ctaaggacac cctgatgatc tcccggacc ctgaagtac ctgcgtggtg 840

gtggacgtgt cccacgagga ccctgaggtg cagttcaatt ggtacgtgga cggcgtggag 900

gtgcacaacg ccaagaccaa gcctcgggag gaacagtca actccacctt ccgggtggtg 960

tctgtctgta ccgtggtgca ccaggactgg ctgaacggca aagaatacaa gtgcaaggtg 1020

tccaacaagg gcctgcctgc ccctatcgaa aagaccatca gcaagaccaa gggccagcct 1080

cgcgagcctc aggtgtacac cctgcctccc agccgggaag aatgaccaa gaaccaggtg 1140

tcctgacct gtctggtgga gggcttctac ctttccgata tcgccgtgga gtgggagtct 1200

aacggccagc ctgagaacaa ctacaagacc acccctccta tgctggactc cgacggctcc 1260

ttcttctgt actccgaact gaccgtggac aagtcccggg ggcagcaggg caacgtgttc 1320

tctgtctccg tgatgcacga ggccctgcac aaccactaca cccagaagtc cctgtccctg 1380

tctcctggca agtag 1395

<210> 30

<211> 1395

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> 21R79 Heavy chain nucleotide sequence (13B Version 1)

<400> 30

atgaagcacc tgggttctt tctgtctgtg gtggccgctc ccagatgggt gctgtcccag 60

gtgcagctgg tgcagtctgg gcgccgaagtg aagaaacctg ggcctccgt gaagatctcc 120

tgcaaggcct ccggctactc cttcaccgcc tactacatcc actgggtgaa acaggcacca 180

ggccagggac tggaatggat cggtatatac gccaactaca accgggccac caactacaac 240

cagaaattca agggcgcgt gacctcacc accgacacct ccacctccac agcctacatg 300

gaactcgggt ccctgcggag cgacgacacc gccgtgtact actgcgccag agactacgac 360

tacgacgtgg gcatggacta ctggggccag ggcacctgg tgacagtgtc ctccgcctcc 420

accaagggcc cctccgtgtt ccctctggcc ccttctccc ggtccacctc tgagtctacc 480

gccgctctgg gctgcctggt gaaggactac ttcctgagc ctgtgacctg gtcttggaa 540

tctggcgccc tgacctctgg cgtgcacacc ttcctgccc tgctgcagtc ctccggcctg 600

tactcctgt ctagcgtggt gaccgtgcct tctccaact tcggcaccca gacctacacc 660

tgtaactggt accacaagcc ttccaacacc aaggtggaca agaccgtgga gcggaagtgc 720

tgcggtggagt gcctccttg tctgtctct cctgtggctg gcccttctgt gttcctgttc 780

cctccaaagc ctaaggacac cctgatgac tcccgaccc ctgaagtgac ctgcgtggtg 840

gtggacgtgt cccacgagga ccctgaggtg cagttcaatt ggtacgtgga cggcgtggag 900

gtgcacaacg ccaagaccaa gcctcgggag gaacagtca actccacctt ccgggtggtg 960

tctgtgctga ccgtggtgca ccaggactgg ctgaacggca aagaatacaa gtgcaaggtg 1020

tccaacaagg gctgcctgc ccctatcgaa aagaccatca gcaagaccaa gggccagcct 1080

cgcgagcctc aggtgtacac cctgcctccc agccgggaag aaatgaccaa gaaccaggtg 1140

tcctgacct gtctggtgga gggcttctac ctttccgata tcgccgtgga gtgggagtct 1200

aacggccage ctgagaacaa ctacaagacc acccctecta tgctggactc cgacggctcc 1260

ttcttctgt actccgaact gaccgtggac aagtcccggg ggcagcaggg caacgtgttc 1320

tctgtctccg tgatgcacga ggccctgcac aaccactaca cccagaagtc cctgtccctg 1380
tctcctggca agtag 1395

<210> 31
<211> 1395
<212> DNA
<213> Artificial sequence
<220><223> 21R79 Heavy chain nucleotide sequence (13B Version 2)
<400> 31

atgaagcacc taigtgtctt tctattatta gtggccgctc cccgttgggt gttatcgag 60
gttcagctag ttcagtctgg agcgggaagt aagaaacctg gagcatccgt gaaaataagt 120
tgcaaggcat ccggttactc gttcacgcga tactatatcc actgggttaa acaggcacca 180
ggacagggac ttgaatggat cggatatac gctaattata atagagctac aaactataac 240
caaaaattca aaggacgcgt gactttcaca actgacacct caacctcgac agcatacatg 300

gaattacggt cctacggtc tgacgacact gccgtttact attgcgctag agattatgat 360
tatgatgttg gaatggacta ttggggccag ggaacctggt tgacagtgtc tctgcatcc 420
actaaggac catccgtgtt ccccttggcc ccttgcctc gttcgacctc tgaatcgact 480
gccgctctgg gatgcctcgt gaaagattac ttcctgagc ctgtgaccgt ttcctggaac 540
tcgggcgccc taacctctgg cgtgcacaca ttcctgccg tgctacagtc tctggccta 600
tactctttat cttcggttgt taccgtacct tcttctaact tcggaacca aacttacacc 660
tgtaacgtag accacaagcc ttcgaacacc aaggtggaca agactgttga gcgaaagtgc 720

tgcggtgagt gccctccatg tctgcacct cctgtggtg gcccttctgt gttcctgttc 780
cctccaaaac ctaaggacac tctaagatc tctcggactc ctgaggtgac ttgcgtggtt 840
gtggacgtgt cccacgagga ccctgaggtg cagttcaatt ggtacgtgga cggagtcgag 900
gtgcacaatg caaagaccaa gcctcgggag gaacagtca actccacctt ccgggtggtt 960
tctgtgttga ccgttgtgca ccaagactgg ctgaacggca aagaatacaa gtgcaaggtg 1020
tccaacaagg gcctgcctgc ccctatcga aagaccatca gcaagaccaa gggccagcct 1080
cgcgagcctc aggtgtacac cctgcctccc agccgggaag aatgaccaa gaaccaggtg 1140

tcctgacct gtctgggtga gggcttctac ccttccgaca tcgccgttga gtgggagtct 1200
aacggacagc cggagaacaa ctacaagact acgctccaa tgctggactc cgacggctcc 1260
ttcttctgt actccgaact gaccgtggac aagtcccgtt ggcagcaggg caacgtgttc 1320
tcatgctccg taatgcacga agccttgcac aactactaca ctcaaagtc cctatcctta 1380

tctcctggca agtag 1395

<210> 32

<211> 1401

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> 219R45 Heavy chain nucleotide sequence (13A Version 1)

<400> 32

atgaagcadc tgtggttttt cctgttgctc gtggcggcac ccagatgggt gttgtcccaa 60

gtgcagctgg tccagagcgg ggctgaggtg aagaaaccg gagcaagcgt aaaagtatcg 120

tgtaaggcct cggggtacac gtttacaac tactggatgc attgggtgcg gcaggctccg 180

ggacaggggt tggaatggat gggtgacatt aaccctcaa atggcagaac atcatataag 240

gaaaagtta aacgcccgct cacactctcc gtggacaagt caagctcgac tgcgtacatg 300

gaactttcgt cgctgaggtc ggaggacacg gcagtgtact tttgacccat ccattatgat 360

gacaagtatt accctctgat ggattattgg ggtcagggta cgttggtcac cgtctccagc 420

gcgtcgacga aagtcacctc ggtatttccc ctgccccct gctcaggtc gacatccgaa 480

tcaacagctg cctcggctg cctggtcaaa gactacttcc cagagccggt aacggtgtcg 540

tggaactcgg gacgcgttac gtccggagtc cacacattc cggcgggtact gcaatctcgc 600

ggactgtatt cgttgtcgtc agtgggtgact gtcccgtcct ccaatttcgg gactcagacc 660

tatacgtgca acgtcgacca caaacctca aacaccaagg tggataagac agtggagcgc 720

aagtgtcgcg tggagtgtcc cccgtgtccg gcacccccctg tcgcccggacc ctcagctttt 780

ttgtttccgc cgaagcccaa agatacactc atgatctcaa gaaccccga ggtaacatgc 840

gtggtggtcg atgtaagcca cgaggatcca gaagtacaat tcaattggtg tntagacggg 900

gtcaggttcc ataacgcaaa gacgaaaccg agggaagagc agttcaattc gactttccgg 960

gtggtgtcgg tgcttacagt cgtacatcag gactggttga acgggaagga gtacaagtgt 1020

aaagtatcga ataagggcct tccagcgcgg attgaaaaga ccatctcaa gaccaaagga 1080

cagccacgag agccgcaagt ctatacgctt cctcccagcc gagaaaagat gactaaaaac 1140

caggtatcgc ttacgtgtct cgtcaagggt ttctaccctt cggacatcgc ggtggaatgg 1200

gagagcaatg gacaaccgga aaacaactac aagacgacac cgcctatggt gaaaagcgt 1260

ggatcgtttt tcctctattc gaaactcag gtcgataagt cacggtggca gcaggggaat 1320

gtgttctcct gttcagtgat gcacgaggcg ctccacaatc actataacca gaaaagcctg 1380

tcactttccc cgggaaatg a 1401

<210> 33

<211> 1401

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> 219R45 Heavy chain nucleotide sequence (13A Version 2)

<400> 33

atgaagcacc tctggttctt cctgctctc gtggctgctc ctcggagggt cctctcccaa 60
gtgcagctgg tccagagcgg ggctgagggt aagaaaccg gagcttcctc caaagtctcc 120

tgtaaggctt ccgatacac ctttaccac tattggatgc actgggtgcg gcaggetcct 180
ggacaagggc tggaatggat gggagacatc aatcctcca atggcagaac ctctacaag 240
gaaaaattca aacggcgggt cacactctcc gtggacaagt ctagtccac agcttacatg 300
gaactctcct ccctgcggtc cgaagacaca gctgtctact tctgacat ccaactacgac 360
gacaagtact accctctgat ggactactgg ggccaggaa ccctggtcac cgtgtccagc 420
gcttccaca aaggacctc cgtcttccc ctcgccccct gctccccgtc cacatccgaa 480
tcaacagctg ccctcggtg cctggtaaaa gactacttcc cagagcctgt cacagtgtcc 540

tggaactccg gagctctcac atccggagtc cacacattc ctgctgtgct ccaatcctcc 600
ggactgtatt cctctctc cgtggtgaca gtgccttctt ccaatttcgg gacacagacc 660
tatacatgca acgtggacca caaacctcc aacaccaaag tcgataagac agtggagcgc 720
aagtgtcgcg tggagtgtcc ccctgtctc gctccccctg tggctggacc ttccgtcttt 780
ctgtttcctc ctaaacctaa agacacctc atgatctccc ggacccccga ggtcacatgc 840
gtggtcgtcg atgtgagcca cgaggacct gaagtccaat ttaattgta tgtggacggg 900
gtggaggtcc ataacgctaa gaccaaacct agggaagagc agttcaatc cactttccgg 960

gtgggtcctg tgctgacctg cgttcatcag gactggctca acgggaaaga atacaaatgc 1020
aaagtctcta ataaggcct cctgctcct attgaaaaa caatttcaa aacaaaagga 1080
caacctcggg agcctcaagt ctacacactg ccacctccc gggaaaaaat gacaaaaat 1140
caagtctccc tcacatgtct cgtcaaggga ttctacctt ccgacattgc tgtggaatgg 1200
gaatccaatg gacaacctga aaacaactac aagacaacac ctctatgct caaaagcgt 1260
gggtcctttt tctctatct caaaactaca gtcgataagt ctcggtgga gcaggggaat 1320
gtgttctcct gttccgtgat gcacaggct ctccacaatc actatacca gaaaagcctg 1380

tcctctccc ctggaaaatg a 1401

<210> 34

<211> 717

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Light chain nucleotide sequence

<400> 34

```

atggtgctgc agaccaggt gttcatctcc ctgctgctgt ggatctccgg cgcctacggc      60
gacatcgtga tgaccagtc cccagactcc ctggctgtgt ctctgggaga gcgggccacc      120
atctcttgca gagcctccga gtccgtggac aactacggca tctccttcat gaagtggttc      180
cagcagaagc cgggccagcc cccaaagctg ctgatctacg ccgctccaa ccagggatct      240
ggcgtgcccc accggttctc tggatccggc tctggcaccg actttaccct gaccatcagc      300

tcctgcagg cagaggactg ggccgtgtac tactgccagc agtccaaaga ggtgccctgg      360
accttcggcg gaggcaccaa ggtggaaatc aagcggaccg tggccgctcc ctccgtgttc      420
atcttccac cctccgacga gcagctgaag tccggaaccg cctccgtcgt gtgcctgctg      480
aacaacttct acccccgcga ggccaaggtg cagtggaagg tggacaacgc cctgcagtcc      540
ggcaactccc aggaatcctg caccgagcag gactccaagg acagcaccta ctccctgtcc      600
tccacctga cctgtccaa ggccgactac gagaagcaca aggtgtacgc ctgcgaagtg      660
accaccagc gctgtccag ccccgtgacc aagtcttca accggggcga gtgttag      717

```

<210> 35

<211> 357

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> 21M18 Heavy chain variable region nucleotide sequence

<400> 35

```

caggtgcagc tgggtcagtc tggcggcga gtgaagaac ctggcgcctc cgtgaagatc      60
tctgcaagg cctccggcta ctcttcacc gttactaca tccactgggt caagcaggcc      120
cctgggcagg gcctggaatg gatcggctac atctcctct acaacggcgc caccaactac      180
aaccagaaat tcaagggccg cgtgacctc accaccgaca cctccacctc caccgcctac      240
atggaactgc ggtccctcgg gagcgacgac accgccgtgt actactgcgc cagagactac      300

gactacgacg tgggcatgga ctactggggc cagggcacc tggtcaccgt gtctctct      357

```

<210> 36

<211> 357

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> 21R79 Heavy chain variable region nucleotide sequence (13B)

<400> 36

caggtgcagc tggcgcagtc tggcgcgaa gtaagaaac ctggcgcctc cgtgaagatc 60
 tcctgcaagg cctccggcta ctcttcacc gcctactaca tccactgggt gaaacaggca 120
 ccaggccagg gactggaatg gatcggctat atcgccaact acaaccgggc caccaactac 180
 aaccagaaat tcaagggccg cgtgacctic accaccgaca cctccacctc cacagcctac 240

atggaactgc ggtccctgcg gagcgacgac accgccgtgt actactgcmc cagagactac 300
 gactacgacg tgggcatgga ctactggggc cagggcaccc tggtagacgt gtcctcc 357

<210> 37

<211> 357

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> 21R79 Heavy chain variable region nucleotide sequence (13B Version 2)

<400> 37

caggttcagc tagttcagtc tggagcggaa gtaagaaac ctggagcatc cgtgaaaata 60
 agttgcaagg catccggta ctcttcacc gcatactata tccactgggt taaacaggca 120
 ccaggacagg gacttgaatg gatcggatat atcgctaatt ataatagac taaaactat 180

aacaaaaat tcaaaggacg cgtgactttc acaactgaca cctcaacctc gacagcatac 240
 atggaattac ggtccctacg gtctgacgac actgccgttt actattgcmc tagagattat 300
 gattatgatg ttggaatgga ctattggggc cagggaacac tggtagacgt gtccttc 357

<210> 38

<211> 363

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> 219R45 Heavy chain variable region nucleotide sequence (13A version 1)

<400> 38

caagtgcagc tggcgcagag cggggctgag gtaagaaac ccggagcaag cgtaaaagta 60
 tcgtgtaagg cctcgggta cacgtttaca aactactgga tgcatgggt gcggcaggct 120

ccgggacagg ggttggaaatg gatgggtgac attaaccctc caaatggcag aacatcatat 180
 aaggaaaagt tcaaaccgcg cgtcacactic tccgtggaca agtcaagctc gactgcgtac 240
 atggaacttt cgtcgtgag gtcggaggac acggcagtgt actttgcac catccattat 300

gatgacaagt attaccctct gatggattat tggggtcagg gtacgttggt caccgtctcc 360
 agc 363

<210> 39
 <211> 363
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> 219R45 Heavy chain variable region nucleotide sequence (13A Version 2)

<400> 39
 caagtgcagc tgggccagag cggggctgag gtgaagaaac cgggagcttc cgtcaaagtc 60
 tcctgtaagg ctccggata cacctttacc aactattgga tgcactgggt gcggcaggct 120
 cctggacaag ggctggaatg gatgggagac atcaatcctt ccaatggcag aacctctac 180
 aaggaaaaat tcaaacggcg ggtcacactc tccgtggaca agtctagctc cacagcttac 240
 atggaactct cctccctcgc gtccgaagac acagctgtct acttctgcac catccactac 300
 gacgacaagt actaccctct gatggactac tggggccagg gaaccctggt caccgtgtcc 360
 agc 363

<210> 40
 <211> 333
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Light chain variable region nucleotide sequence

<400> 40
 gacatcgtga tgaccagtc cccagactcc ctggctgtgt ctctgggaga gggggccacc 60
 atctcttgca gagcctccga gtccgtggac aactacggca tctccttcat gaagtggttc 120
 cagcagaagc cgggccagcc cccaaagctg ctgatctacg ccgctccaa ccagggatct 180
 ggcggtcccc accggttctc tggatccgce tctggcaccg actttaccct gaccatcagc 240
 tcctgcagg ccgaggactg ggccgtgtac tactgccagc agtccaaaga ggtgccctgg 300

accttcggcg gaggaccaa ggtggaatc aag 333

<210> 41
 <211> 330
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 41

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

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

 Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
 115 120 125
 Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
 130 135 140
 Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
 145 150 155 160
 Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
 165 170 175

 Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
 180 185 190
 His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
 195 200 205
 Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
 210 215 220
 Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
 225 230 235 240

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

245 250 255
 Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
 260 265 270
 Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
 275 280 285
 Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
 290 295 300

 Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
 305 310 315 320
 Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 325 330

 <210> 42
 <211> 326
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 42
 Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
 1 5 10 15
 Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
 20 25 30

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

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

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
 130 135 140

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
 145 150 155 160

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn
 165 170 175

Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp
 180 185 190

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro
 195 200 205

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu
 210 215 220

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
 225 230 235 240

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
 245 250 255

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
 260 265 270

Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
 275 280 285

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
 290 295 300

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
 305 310 315 320

Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 325

<210> 43

<211> 377

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 43

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg

1 5 10 15

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

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

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

 Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 210 215 220
 Gln Tyr Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 225 230 235 240
 Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 245 250 255

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln
 260 265 270

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
 275 280 285

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 290 295 300

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Ser Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 305 310 315 320

Tyr Asn Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 325 330 335

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Ile
 340 345 350

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn Arg Phe Thr Gln
 355 360 365

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 370 375

<210> 44

<211> 327

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 44

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

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

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr
 65 70 75 80

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

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

 Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
 210 215 220
 Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys
 225 230 235 240
 Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
 245 250 255
 Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
 260 265 270

 Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
 275 280 285
 Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser
 290 295 300
 Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
 305 310 315 320
 Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
 325

<210> 45

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> FLAG peptide

<400> 45

Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys

1 5

<210> 46

<211> 464

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Parental 21R79 Heavy chain

<400> 46

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Thr Ala Tyr Tyr Ile His Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu

50 55 60

Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Ala Asn Tyr Asn Arg Ala Thr Asn Tyr Asn

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Tyr Asp Tyr Asp Val Gly Met Asp Tyr Trp

115 120 125

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

130 135 140

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr
 145 150 155 160
 Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr

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

 225 230 235 240
 Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser
 245 250 255
 Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
 260 265 270
 Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
 275 280 285
 Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala

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

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

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

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

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

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

 450 455 460
 <210> 47

<211> 466

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Parental 219R45 Heavy chain

<400> 47

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp

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

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

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

 50 55 60
 Glu Trp Met Gly Asp Ile Asn Pro Ser Asn Gly Arg Thr Ser Tyr Lys

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

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

 100 105 110
 Tyr Phe Cys Thr Ile His Tyr Asp Asp Lys Tyr Tyr Pro Leu Met Asp

 115 120 125

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
 130 135 140
 Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu
 145 150 155 160
 Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
 165 170 175
 Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
 180 185 190
 Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
 195 200 205
 Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn
 210 215 220
 Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg
 225 230 235 240
 Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly
 245 250 255
 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 260 265 270
 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 275 280 285
 Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 290 295 300
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg
 305 310 315 320
 Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 325 330 335
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 340 345 350
 Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 355 360 365
 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu

370 375 380
 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp

385 390 395 400
 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met

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

420 425 430
 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His

435 440 445
 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro

450 455 460
 Gly Lys

465
 <210> 48
 <211> 445
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Parental 21R79 Heavy chain without predicted signal sequence
 <400> 48

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

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

Ala Arg Asp Tyr Asp Tyr Asp Val Gly Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
 115 120 125
 Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu
 130 135 140
 Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
 145 150 155 160
 Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
 165 170 175
 Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
 180 185 190
 Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro
 195 200 205
 Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu
 210 215 220
 Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu
 225 230 235 240
 Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
 245 250 255
 Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln
 260 265 270
 Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
 275 280 285
 Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu
 290 295 300
 Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
 305 310 315 320
 Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
 325 330 335
 Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser

340 345 350
 Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys

355 360 365
 Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln

370 375 380
 Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly

385 390 395 400
 Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln

405 410 415
 Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn

420 425 430
 His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

435 440 445

<210> 49

<211> 447

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Parental 219R45 Heavy chain without signal sequence

<400> 49

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

1 5 10 15

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

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

35 40 45

Gly Asp Ile Asn Pro Ser Asn Gly Arg Thr Ser Tyr Lys Glu Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Ile His Tyr Asp Asp Lys Tyr Tyr Pro Leu Met Asp Tyr Trp Gly
 100 105 110
 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
 115 120 125
 Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala
 130 135 140
 Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
 145 150 155 160
 Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
 165 170 175
 Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
 180 185 190
 Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His
 195 200 205
 Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys
 210 215 220
 Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val
 225 230 235 240
 Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
 245 250 255
 Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
 260 265 270
 Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
 275 280 285
 Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser
 290 295 300
 Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
 305 310 315 320
 Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
 325 330 335
 Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro

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

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

<210> 50

<211> 357

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Parental 21R79 Heavy chain variable region

<400> 50

caagtgcagc tcgtgcagtc aggggaggag gtcaagaagc cgggagcatc ggtcaaaatc 60

tcgtgtaagg cctcgggta ctctttact gcgtattaca tcattgggt aaagcaggcg 120

ccagggcagg gattggagtg gattgggtat atcgccaatt acaatcgcgc gacgaactat 180

aaccagaaat tcaaggaag ggtgacctic acaacggata catcgacatc gacggcctac 240

atggaactic gcagcctcg atcatgatc acggcggtat actattgcgc aagagattac 300

gactatgatg tgggaatgga ctattgggt caaggtactc tggtcacagt ctctcc 357

<210> 51

<211> 363

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Parental 219R45 Heavy chain variable region

<400> 51

caggtacagc tcgtgcaatc gggggcagag gtcaaaaagc cgggtgcgtc ggtaaaggtc 60

agctgcaaag cgtcaggtta tacattcacg aattactgga tgcattgggt cagacaggcc 120
 cctggacaag ggcttgaatg gatgggagat atcaatccgt cgaacggacg gactagctat 180
 aaggagaagt ttaagaggcg cgtaaacactg tccgtggaca aatcgtcctc aacggcctac 240
 atggagtgtg catccctgcg gtcggaagat acggcggctc acttctgtac tatccactat 300
 gacgataagt actaccgct tatggactac tggggtcagg gaacattggt aaccgtgagc 360
 agc 363

<210> 52

<211> 1392

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Parental 21R79 Heavy chain with signal sequence

<400> 52

atgaaacact tgtggttttt cctcttgctc gtggcagctc ctcggtgggt actttcacia 60
 gtgcagctcg tgcagtcagg ggcggaggtc aagaagccgg gagcatcggg caaaatctcg 120
 tgtaaggcct cggggtactc ctttactgcg tattacatcc attgggtaaa gcaggcgcca 180
 gggcagggat tggagtggat tgggtatatc gccaaattaca atcgcgcgac gaactataac 240
 cagaaattca agggaagggt gaccttcaca acggatacat cgacatcgac ggcctacatg 300

 gaacttcgca gcctgcgac agatgacacg gcggtatact attgcgcaag agattacgac 360
 tatgatgtgg gaatggacta ttgggggtcaa ggtactctgg tcacagtctc ctccgccagc 420
 accaagggcc cttagctctt ccctctggct ccttcgacga ggagcaccag cgagagcaca 480
 gccgccttgg gctgcctggt caaggactac ttccccgaac cggtagcggg gtcgtggaac 540
 tcaggcgctc tgaccagcgg cgtgcacacc ttcccagctg tectacagtc ctccaggactc 600
 tactccctca gcagcgtggt gaccgtgcc tccagcaact tcggcaccca gacctacacc 660
 tgcaacgtag atcacaagc cagcaacacc aaggtggaca agacagttga gcgcaaatgt 720

 tgtgtcgagt gccaccctg cccagcacca cctgtggcag gaccgtcagt ctccctcttc 780
 cccccaaaac ccaaggacac cctcatgatc tcccggacct ctgaggtcac gtgcgtggtg 840
 gtggactgta gccacgaaga ccccagggtc cagttcaact ggtacgtgga cggcgtggag 900
 gtgcataatg ccaagacaaa gccacgggag gagcagttca acagcacgtt ccgtgtggtc 960
 agcgtcctca ccgttgtgca ccaggactgg ctgaacggca aggagtacaa gtgcaaggtc 1020
 tccaacaaga gcctcccagc ccccatcgag aaaaccatct ccaaaaccaa agggcagccc 1080
 cgagaaccac aggtgtacac cctgccccca tcccgggagg agatgaccaa gaaccaggtc 1140

agcctgacct gcctggtcaa aggcttctac cccagcgaca tgcctgtgga gtgggagagc 1200
aatgggcagc cggagaacaa ctacaagacc acacctcca tgctggactc cgacggctcc 1260
ttcttcctct acagcaagct caccgtggac aagagcaggt ggcagcaggg gaacgtcttc 1320
tcatgtctcg tgatgcatga ggctctgcac aacctactaca cgcagaagag cctctccctg 1380
tctccgggta aa 1392

<210> 53

<211> 1398

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Parental 219R45 Heavy chain with signal sequence

<400> 53

atgaaacacc tctggttctt ttgctcctg gtggcagctc cccgatgggt gcttagccag 60
gtacagctcg tgcaatcggg ggcagaggtc aaaaagcccg gtgcgtcggt aaaggtcagc 120
tgcaaagcgt caggttatac attcacgaat tactggatgc attgggtcag acaggcccct 180
ggacaagggc ttgaatggat gggagatatac aatccgtcga acggacggac tagctataag 240
gagaagttta agaggcgcgt aacctgtcgt gtggacaaat cgtcctcaac ggctacatg 300
gagttgtcat cctcgcggtc ggaagatacg gcggtctact tctgtactat ccactatgac 360
gataagtact acccgcttat ggactactgg ggtcagggaa cattggtaac cgtgagcagc 420

gcgtccacaa agggccctag cgtcttcct ctggctcct gcagcaggag caccagcgag 480
agcacagccg ccctgggctg cctggtcaag gactacttcc ccgaaccggt gacggtgtcg 540
tggaaactcag gcctctgac cagcggcgtg cacaccttcc cagctgtcct acagtctca 600
ggactctact cctcagcag cgtggtgacc gtgccctcca gcaacttcgg caccagacc 660
tacacctgca acgtagatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagac agttgagcgc 720
aaatgttgtg tcgagtgcc accgtgcca gcaccactg tggcaggacc gtcagtcttc 780
ctcttcccc caaaaccaa ggacacctc atgatctcc ggacctga ggtcacgtgc 840

gtggtggtgg acgtgagcca cgaagacccc gaggtccagt tcaactggta cgtggacggc 900
gtggagggtg ataatgcaa gacaaagcca cgggaggagc agttcaacag cacgttccgt 960
gtggtcagcg tctcaccgt tgtgcaccag gactggctga acggcaagga gtacaagtgc 1020
aaggtctcca acaaaggcct cccagcccc atcgagaaa ccatctcaa aaccaaggg 1080
cagccccgag aaccacaggt gtacacctg cccccatccc gggaggagat gaccaagaac 1140
caggtcagcc tgacctgect ggtcaaaggc ttctacceca gcgacatcgc cgtggagtgg 1200

gagagcaatg ggcagccgga gaacaactac aagaccacac ctcccatgct ggactccgac 1260

ggctccttct tctctacag caagtcacc gtggacaaga gcaggtggca gcaggggaac 1320

gtcttctcat gtcctgat gcatgagct ctgcacaacc actacacgca gaagagcctc 1380

tccctgtctc cgggtaaa 1398

<210> 54

<211> 333

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Parental 21R79 and 219R45 light chain variable region

<400> 54

gacatcgtga tgaccagtc cctgactcc ctggctgtgt ccctgggcga gagggccacc 60

atctcctgca gagccagcga atccgtgat aattatggca tttcctttat gaagtggttc 120

cagcagaaac caggacagcc tctaagctg ctcatctacg ctgcatcaa ccaaggtcc 180

ggggtccctg acaggttctc cggcagcggg tccggaacag atttactct caccatcagc 240

agcctgcagg ctgaagatgt ggctgtctat tactgtcagc aaagcaagga ggtgccttgg 300

acattcggag gagggaccaa ggtggaatc aaa 333

<210> 55

<211> 717

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Parental 21R79 and 219R45 light chain

<400> 55

atggtgctcc agaccaggt cttcatttcc ctgctgctct ggatcagcgg agcctacggg 60

gacatcgtga tgaccagtc cctgactcc ctggctgtgt ccctgggcga gagggccacc 120

atctcctgca gagccagcga atccgtgat aattatggca tttcctttat gaagtggttc 180

cagcagaaac caggacagcc tctaagctg ctcatctacg ctgcatcaa ccaaggtcc 240

ggggtccctg acaggttctc cggcagcggg tccggaacag atttactct caccatcagc 300

agcctgcagg ctgaagatgt ggctgtctat tactgtcagc aaagcaagga ggtgccttgg 360

acattcggag gagggaccaa ggtggaatc aaacgtacgg tggctgcccc ctccgtcttc 420

atcttcccc ccagcgatga gcagctgaaa agcggcactg ccagcgtggt gtgctgctg 480

aataacttct atccccgga ggccaaagtg cagtggaagg tggataacgc cctccaaagc 540

ggcaactccc aggagagcgt cacagagcag gacagcaagg acagcaccta cagcctcagc 600
 agcacctga ccctgagcaa agccgactac gagaaacaca aagtctacgc ctgcgaagtc 660
 acccatcagg gcctgagcag ccccgtcaca aagagcttca acaggggcga gtgttga 717

<210> 56

<211> 445

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> 21R75 Heavy chain without predicted signal sequence

<400> 56

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Ile His Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Asp Tyr Asp Tyr Asp Val Gly Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 435 440 445
 <210> 57
 <211> 464
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence
 <220><
 223> 21R75 Heavy chain with predicted signal sequence
 <400> 57
 Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
 1 5 10 15
 Val Leu Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
 20 25 30
 Pro Gly Ala Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe
 35 40 45
 Thr Ala Tyr Tyr Ile His Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu
 50 55 60
 Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Ala Gly Tyr Lys Asp Ala Thr Asn Tyr Asn
 65 70 75 80
 Gln Lys Phe Lys Gly Arg Val Thr Phe Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser
 85 90 95
 Thr Ala Tyr Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val
 100 105 110
 Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Tyr Asp Tyr Asp Val Gly Met Asp Tyr Trp
 115 120 125
 Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
 130 135 140
 Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr
 145 150 155 160
 Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
 165 170 175
 Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro

180 185 190
 Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
 195 200 205
 Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp
 210 215 220
 His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys
 225 230 235 240
 Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser

 245 250 255
 Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
 260 265 270
 Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
 275 280 285
 Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
 290 295 300
 Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val

 305 310 315 320
 Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
 325 330 335
 Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
 340 345 350
 Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
 355 360 365
 Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys

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

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala

435 440 445

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

450 455 460

<210> 58

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> 21R75 Heavy chain variable region

<400> 58

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Ile His Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Asp Tyr Asp Tyr Asp Val Gly Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 59

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> 21R75 Heavy chain CDR2

<400> 59

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

1 5 10 15

Gly

<210> 60

<211> 1392

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> 21R75 Heavy chain with signal sequence (13B Version 1)

<400> 60

```

atgaagcacc tgtggttctt tctgtctgtg gtggccgctc ccagatgggt gctgtcccag      60
gtgcagctgg tgcagtctgg cgccaagtg aagaaacctg ggcctccgt gaagatctcc      120
tgcaaggcct cggctactc cttcaccgcc tactacatcc actgggtcaa gcaggccct      180
ggacagggcc tggaatggat cggtatatac gccggctaca aggacgccac caactacaac      240
cagaaattca agggcagagt gacctcacc accgacacct ccaccttac cgctacatg      300

gaactcgggt cctgcggag cgacgacacc gccgtgtact actgcgccag agactacgac      360
tacgacgtgg geatggacta ctggggccag ggcacactcg tgaccgtgtc ctctgcttc      420
accaagggcc cctccgtgtt tctctggcc ccttgtcca gatccacctc cgagtctacc      480
gccgctctgg gctgcctcgt gaaggactac ttccccgagc ccgtgacagt gtcttggaac      540
tctggcgccc tgacctcgg cgtgcacacc tttccagctg tgctgcagtc ctccggcctg      600
tactcctgt cctccgtcgt gactgtgcc tctccaact tcggcaccca gacctacacc      660
tgtaacgtgg accacaagcc ctccaacacc aaggtggaca agaccgtgga acggaagtgc      720

tgcgtggaat gcccccttg tctgcccct cctgtggctg gccctagcgt gttcctgttc      780
ccccaaage ccaaggacac cctgatgac tcccggacc ccgaagtgac ctgcgtggtg      840
gtggatgtgt cccacgagga ccccagggtg cagttcaatt ggtacgtgga cggcgtgga      900
gtgcacaacg ccaagaccaa gccagagag gaacagtca actccacctt ccgggtggtg      960
tccgtctga ccgtggtgca tcaggactgg ctgaacggca aagagtacaa gtgcaagggtg      1020
tccaacaagg gcctgcctgc ccccatcga aagaccatct ctaagaccaa gggacagccc      1080
cgcgagcccc aggtgtacac actgcctcca tcccgggaag agatgaccaa gaaccaggtg      1140

tccctgacct gtctggtgga aggtttctac cctccgata tcgccgtgga atgggagtec      1200
aacggccagc ccgagaacaa ctacaagacc accccccca tgctggactc cgacggctca      1260

```

ttcttctgt acagcgagct gacagtggac aagtcccgtt ggcagcaggg caacgtgttc 1320
 tcctgtctcg tgatgcacga ggcctgcac aacctaca cccagaagtc cctgtcctg 1380
 agccccgca ag 1392
 <210> 61
 <211> 1392
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> 21R75 Heavy chain with signal sequence (13B Version S1-2)

 <400> 61
 atgaagcacc tgggttctt tctgtctgt gtggccgtc ccagatgggt gctgtcccag 60
 gttcagctag ttcagtctgg agcggaagt aagaaacctg gagcatccgt gaaaataagt 120
 tgcaaggcat ccggttactc gttcaccgca tactatatcc actgggttaa acaggcacca 180
 ggacagggac ttgaatggat cggatatac gctggatata aagatgctac aactataac 240
 caaaaattca aaggacgctg gactttcaca actgacacct caacctcgac agcatacatg 300
 gaattacggt ccctacgctc tgacgacact gccgtttact attgcgctag agattatgat 360
 tatgatgttg gaatggacta ttggggccag ggaacactgg tgacagtgtc tctgcatcc 420

 actaagggac catccgtgtt cctttggcc ccttgctctc gttcgacctc tgaatcgact 480
 gccgctctgg gatgcctcgt gaaagattac ttcctgagc ctgtgaccgt ttctggaac 540
 tcgggcgccc taacctctgg cgtgcacaca ttcctgccc tgctacagtc tctgacctc 600
 tactctttat cticggttgt taccgtacct tcttctaact tcggaacca aacttacacc 660
 tgtaacgtag accacaagcc ttcgaacacc aaggtggaca agactgttga gcgaaagtgc 720
 tgcgttgagt gccctccatg tctgcacct cctgtggctg gcccttctgt gttcctgttc 780
 cctccaaaac ctaaggacac tctaagatc tctcggactc ctgaggtgac ttgcgtggtt 840

 gtggacgtgt cccacgagga cctgaggtg cagttcaatt ggtacgtgga cggagtcgag 900
 gtgcacaatg caaagaccaa gcctcgggag gaacagtca actccacctt ccgggtggtt 960
 tctgtgttga ccgttgtgca ccaagactgg ctgaacggca aagaatacaa gtgcaaggtg 1020
 tccaacaagg gcctgcctgc ccctatcgaa aagaccatca gcaagaccaa gggccagcct 1080
 cgcgacctc aggtgtacac cctgcctccc agccggaag aaatgaccaa gaaccaggtg 1140
 tcctgacct gtctggtgga gggcttctac ccttccgaca tcgccgttga gtgggagctc 1200
 aacggacagc cggagaacaa ctacaagact acgcctcaa tgctggactc cgacggctcc 1260

 ttcttctgt actccgaact gaccgtggac aagtcccgtt ggcagcaggg caacgtgttc 1320

tcatgctccg taatgcacga agccttgac aactactaca ctcaaaagtc cctatcctta 1380
tctcctggca ag 1392

<210> 62
<211> 445
<212> PRT
<213> Artificial sequence
<220><223> 21R83 Heavy chain without predicted signal sequence
<400> 62

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ala Tyr
20 25 30
Tyr Ile His Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Tyr Ile Ser Asn Tyr Asn Arg Ala Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Arg Val Thr Phe Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Asp Tyr Asp Tyr Asp Val Gly Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125
Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu
130 135 140
Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160
Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175
Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro
 195 200 205

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

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu
 225 230 235 240

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

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

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

Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu
 290 295 300

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

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

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

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

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

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

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Glu Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
 405 410 415

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

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

435 440 445

<210> 63

<211> 464

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> 21R83 Heavy chain with predicted signal sequence

<400> 63

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Thr Ala Tyr Tyr Ile His Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu

50 55 60

Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Ser Asn Tyr Asn Arg Ala Thr Asn Tyr Asn

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Tyr Asp Tyr Asp Val Gly Met Asp Tyr Trp

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
 195 200 205
 Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp
 210 215 220
 His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys
 225 230 235 240
 Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser
 245 250 255
 Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
 260 265 270
 Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
 275 280 285
 Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
 290 295 300
 Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val
 305 310 315 320
 Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
 325 330 335
 Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
 340 345 350
 Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
 355 360 365
 Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
 370 375 380
 Leu Val Glu Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
 385 390 395 400
 Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp
 405 410 415
 Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Glu Leu Thr Val Asp Lys Ser
 420 425 430
 Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala

1 5 10 15

Gly

<210> 66

<211> 1392

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> 21R83 Heavy chain with signal sequence (13B Version 1)

<400> 66

```

atgaagcacc tgggttctt tctgctgctg gtggccgctc ccagatgggt gctgtcccag      60
gtgcagctgg tgcagtctgg cgccaagtg aagaaacctg ggcctccgt gaagatctcc      120
tgcaaggcct ccgctactc cttaccgcc tactacatcc actgggtcaa gcaggccct      180
ggacagggcc tggatggat cggtacatc tccaactaca accgggccac caattacaac      240
cagaaattca agggccgctg gacctcacc accgacacct ctacctctac cgcctacatg      300
gaactgcggt ccctgcggag cgacgacacc gccgtgiact actgcgccag agactacgac      360
tacgactggt gcatggacta ctggggccag ggcacactcg tgaccgtgtc tagcgcttcc      420

accaagggcc cctccgtgtt tctctggcc ccttgcctca gatccacctc cgagtctacc      480
gccgctctgg gctgcctcgt gaaggactac ttccccgagc ccgtgacagt gtcttgaac      540
tctggcgctc tgacctcgg cgtgcacacc ttccagctg tgctgcagtc ctccggcctg      600
tactcctgt cctccgtcgt gactgtgcc tctccaact tcggcaccca gacctacacc      660
tgtaactggt accacaagg ctccaacacc aaggtggaca agaccgtgga acggaagtgc      720
tgctggaat gcccccttg tctgccct cctgtggctg gccctagcgt gttcctgttc      780
ccccaaagc ccaaggacac cctgatgatc tcccggaccc ccgaagtgac ctgcgtggtg      840

gtggatgtgt cccacgagga ccccgagggt cagttcaatt ggtacgtgga cggcgtggaa      900
gtgcacaacg ccaagaccaa gcccagagag gaacagtca actccacctt ccgggtggtg      960
tccgtgctga ccgtggtgca tcaggactgg ctgaacggca aagagtaca gtgcaaggtg     1020
tccaacaagg gcctgcctgc ccccatcgaa aagaccatct ctaagaccaa gggacagccc     1080
cgcgagcccc aggtgtacac actgcctcca tcccgggaag agatgaccaa gaaccaggtg     1140
tcctgacct gtctggtgga aggttctac ccctccgata tcgccgtgga atgggagtcc     1200
aacggccagc ccgagaacaa ctacaagacc acccccccca tgctggactc cgacggctca     1260

ttcttctgt acagcgagct gacagtggac aagtcccgtt ggcagcaggg caacgtgttc     1320

```

tctgtctccg tgatgcacga ggccctgcac aaccactaca cccagaagtc cctgtccctg 1380
agccccggca ag 1392
<210> 67
<211> 1392
<212> DNA
<213> Artificial sequence
<220><223> 21R75 Heavy chain with signal sequence (13B Version S1-2)
<400> 67
atgaagcacc tgtggttctt tctgtctgtg gtggccgctc ccagatgggt gctgtcccag 60
gttcagctag ttcagtctgg agcggaagtt aagaaacctg gagcatccgt gaaaataagt 120

tgcaaggcat ccggttactc gttcacgcga tactatatcc actgggtaa acaggcacca 180
ggacagggac ttgaatggat cggatatac gctggatata aagatgctac aaactataac 240
caaaaattca aaggacgctg gactttcaca actgacacct caacctcgac agcatacatg 300
gaattacggt ccctacggtc tgacgacact gccgtttact attgcgctag agattatgat 360
tatgatgttg gaatggacta ttggggccag ggaacctgg tgacagtgtc tctgcatcc 420
actaaggac catccgtgtt ccctttggcc ccttgctctc gttcgacctc tgaatcgact 480
gccgctctgg gatgcctcgt gaaagattac ttcctgagc ctgtgaccgt ttcctggaac 540

tcgggcgccc taacctctgg cgtgcacaca ttcctgccc tgctacagtc tctggccta 600
tactctttat cttcggttgt taccgtacct tcttctaact tcggaacca aacttacacc 660
tgtaacgtag accacaagcc ttcgaacacc aaggtggaca agactgttga gcgaaagtgc 720
tgcgttgagt gccctccatg tctgcacct cctgtggctg gcccttctgt gttcctgttc 780
cctccaaaac ctaaggacac tctaagatc tctcggactc ctgaggtgac ttgcgtggtt 840
gtggacgtgt cccacgagga ccctgagggt cagttcaatt ggtacgtgga cggagtcgag 900
gtgcacaatg caaagaccaa gcctcgggag gaacagtca actccacctt ccgggtggtt 960

tctgtgttga ccgttgtgca ccaagactgg ctgaacggca aagaatacaa gtgcaaggtg 1020
tccaacaagg gcctgcctgc ccctatcga aagaccatca gcaagaccaa gggccagcct 1080
cgcgagcctc aggtgtacac cctgectccc agccgggaag aatgaccaa gaaccaggtg 1140
tcctgacct gtctggtgga gggcttctac ccttccgaca tcgccgttga gtgggagtct 1200
aacggacagc cggagaacaa ctacaagact acgctccaa tgctggactc cgacggctcc 1260
ttcttctgt actccgaact gaccgtggac aagtcccggg ggcagcaggg caacgtgttc 1320
tcatgtccg taatgcacga agccttgac aactactaca ctcaaaagtc cctatcctta 1380

tctcctggca ag 1392

<210> 68

<211> 357

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> 21R75 Heavy chain variable region (13B Version 1)

<400> 68

caggtgcagc tggcgcagtc tggcgcgaa gtgaagaac ctggcgcctc cgtgaagatc 60

tcttgcaagg cctccggcta ctcttcacc gcctactaca tccactgggt caagcaggcc 120

cctggacagg gcctggaatg gatcggctat atcgccggct acaaggacgc caccaactac 180

aaccagaaat tcaagggcag agtgaccttc accaccgaca cctccacctc taccgcctac 240

atggaactgc ggtccctcgc gagcgacgac accgccgtgt actactgcgc cagagactac 300

gactacgacg tgggcatgga ctactggggc cagggcacac tcgtgaccgt gtctctct 357

<210> 69

<211> 357

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> 21R75 Heavy chain variable region (13B Version 2)

<400> 69

caggttcagc tagttcagtc tggagcggaa gttaagaac ctggagcatc cgtgaaaata 60

agttgcaagg catccggtta ctcgttcacc gcatactata tccactgggt taaacaggca 120

ccaggacagg gacttgaatg gatcggatat atcgctggat ataaagatgc taaaaactat 180

aacaaaaat tcaaaggacg cgtgactttc acaactgaca cctcaacctc gacagcatac 240

atggaattac ggtccctacg gtctgacgac actgccgttt actattgcgc tagagattat 300

gattatgatg ttggaatgga ctattggggc cagggaaacac tggtgacagt gtcttct 357

<210> 70

<211> 357

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> 21R83 Heavy chain variable region (13B Version 1)

<400> 70

caggtgcagc tggcgcagtc tggcgcgaa gtgaagaac ctggcgcctc cgtgaagatc 60

tcttgcaagg cctccggcta ctcttcacc gcctactaca tccactgggt caagcaggcc 120

cctggacagg gcctggaatg gatcggctac atctccaact acaaccgggc caccaattac 180

aaccagaaat tcaagggccg cgtgaccttc accaccgaca cctctacctc taccgcctac 240

atggaactgc ggtccctgcg gagcgacgac accgccgtgt actactgcgc cagagactac 300

gactacgacg tgggcatgga ctactggggc cagggcacac tcgtgaccgt gtctagc 357

<210> 71

<211> 357

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> 21R75 Heavy chain variable region (13B Version 2)

<400> 71

caggttcagc tagttcagtc tggagcggaa gttaagaaac ctggagcatc cgtgaaaata 60

agttgcaagg catccggtta ctggttcacc gcatactata tccactgggt taaacaggca 120

ccaggacagg gacttgaatg gatcggatat atcgctggat ataaagatgc tacaaactat 180

aacccaaaat tcaaggacg cgtgactttc acaactgaca cctcaacctc gacagcatac 240

atggaattac ggtccctacg gtctgacgac actgccgttt actattgcgc tagagattat 300

gattatgatg ttggaatgga ctattggggc cagggaaacac tggtgacagt gtctttct 357

<210> 72

<211> 1395

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> 21R83 Heavy chain with signal sequence (13B Version 2)

<400> 72

atgaagcacc tatggttctt tctattatta gtggccgctc cccgttgggt gttatcgag 60

gttcagctag ttcagtctgg agcgggaagt aagaaacctg gagcatccgt gaaaataagt 120

tgcaaggcat ccggttactc gttcaccgca tactatatcc actgggttaa acaggcacca 180

ggacagggac ttgaatggat cggatatatc tccaattata atagagctac aaactataac 240

caaaaattca aaggacgcgt gactttcaca actgacacct caacctcgac agcatacatg 300

gaattacggt ccctacggtc tgacgacact gccgtttact attgcgctag agattatgat 360

tatgatgttg gaatggacta ttggggccag ggaacactgg tgacagtgtc ttctgcatcc 420

actaagggac catccgtgtt cccittggcc ccttgctctc gttcgacctc tgaatcgact 480

gccgctctgg gatgcctcgt gaaagattac ttcctgagc ctgtgaccgt ttcctggaac 540
 tcgggcgccc taacctctgg cgtgcacaca ttcctgccc tgctacagtc tctggccta 600
 tactctttat cttcggttgt taccgtacct tcttctaact tcggaacca aacttacacc 660
 tgtaacgtag accacaagcc ttcgaacacc aagggtggaca agactgttga gcgaaagtgc 720
 tcggttgagt gccctccatg tctcgcacct cctgtggctg gcccttctgt gttcctgttc 780
 cctccaaaac ctaaggacac tetaatgatc tctcggactc ctgaggtgac ttgcgtggtt 840

 gtggacgtgt cccacgagga ccctgaggtg cagtccaatt ggtacgtgga cggagtcgag 900
 gtgcacaatg caaagaccaa gcctcgggag gaacagtca actccacctt cggggtggtt 960
 tctgtgttga ccgttgtgca ccaagactgg ctgaacggca aagaatacaa gtgcaaggtg 1020
 tccaacaagg gcctgcctgc ccctatcga aagaccatca gcaagaccaa ggccagcct 1080
 cgcgagcctc aggtgtacac cctgcctccc agccgggaag aatgaccaa gaaccaggtg 1140
 tccctgacct gtctgggtga gggcttctac ccttccgaca tcgccgttga gtgggagtct 1200
 aacggacagc cggagaacaa ctacaagact acgcctcaa tgctggactc cgacggctcc 1260

 ttcttctgt actccgaact gaccgtggac aagtcccggg ggcagcaggg caacgtgttc 1320
 tcatgctccg taatgcacga agccttgac aactactaca ctcaaagtc cctatcctta 1380
 tctcctggca agtag 1395

 <210> 73
 <211> 357
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> 21R83 Heavy chain variable region (13B Version 2)
 <400> 73
 caggttcagc tagttcagtc tggagcggaa gttaagaaac ctggagcadc cgtgaaaata 60
 agttgcaagg catccggtta ctcttcacc gcatactata tccactgggt taacaggca 120

 ccaggacagg gacttgaatg gatcggatat atctccaatt ataatagagc taaaaactat 180
 aacaaaaat tcaaaggacg cgtgactttc acaactgaca cctcaacctc gacagcatac 240
 atggaattac ggtccctacg gtctgacgac actgccgttt actattgcgc tagagattat 300
 gattatgatg ttggaatgga ctattggggc cagggaaacac tgggtacagt gtctttct 357

 <210> 74
 <211> 1395
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence

<220><223> 21R75 Heavy chain with signal sequence (13B Version 2)

<400> 74

atgaagcacc tatggttctt tctattatta gtggccgctc cccgttgggt gttatcgag 60

gttcagctag ttcagtctgg agcgggaagt aagaaacctg gagcatccgt gaaaataagt 120

tgcaaggcat ccggttactc gttcaccgca tactatatcc actgggtaa acaggcacca 180

ggacagggac ttgaatggat cggatatac gctggatata aagatgctac aaactataac 240

caaaaattca aaggacgctg gactttcaca actgacacct caacctcgac agcatacatg 300

gaattacggt ccctacggtc tgacgacact gccgtttact attgcgctag agattatgat 360

tatgatgttg gaatggacta ttggggccag ggaacctgg tgacagtgtc tctgcatcc 420

actaagggac catccgtgtt ccctttggcc ccttgctctc gttcgacctc tgaatcgact 480

gccgctctgg gatgcctcgt gaaagattac ttccttgagc ctgtgaccgt ttcctggaac 540

tcgggcgccc taacctctgg cgtgcacaca ttcctgccg tgctacagtc tctggccta 600

tactctttat cttcggttgt taccgtacct tcttctaact tcggaacca aacttacacc 660

tgtaacgtag accacaagcc ttcgaacacc aaggtggaca agactgttga gcgaaagtgc 720

tcggttgagt gccctccatg tectgcacct cctgtggctg gcccttctgt gttcctgttc 780

cctccaaaac ctaaggacac tctaagatc tctcggactc ctgaggtgac ttgcgtggtt 840

gtggacgtgt ccacagagga ccctgagggt cagttcaatt ggtacgtgga cggagtcgag 900

gtgcacaatg caaagaccaa gcctcgggag gaacagtca actccacctt ccgggtggtt 960

tctgtgttga ccgttgtgca ccaagactgg ctgaacggca aagaatacaa gtgcaaggtg 1020

tccaacaagg gcctgcctgc ccctatcga aagaccatca gcaagaccaa gggccagcct 1080

cgcgagcctc aggtgtacac cctgcctccc agccgggaag aatgaccaa gaaccaggtg 1140

tcctgacct gtctggtgga gggcttctac ccttccgaca tcgccgttga gtgggagtct 1200

aacggacagc cggagaacaa ctacaagact acgcctcaa tgctggactc cgacggctcc 1260

ttcttctgt actccgaact gaccgtggac aagtcccggg ggcagcaggg caacgtgttc 1320

tcatgctccg taatgcacga agccttgac aatcactaca ctcaaaagtc cctatcctta 1380

tctcctggca agtag 1395

<210> 75

<211> 1395

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> 21M18 Heavy chain (version 2)

<400> 75

atgaagcacc tatggttctt tctattatta gtggccgctc cccgttgggt gttatcgag 60
 gttcagctag ttcagtctgg agcggaagtt aagaaacctg gagcatccgt gaaaataagt 120
 tgcaaggcat ccggttactc gttcaccgca tactatatcc actgggtaa acaggcacca 180
 ggacagggac ttgaatggat cggatatac tcctcttata atggagctac aaactataac 240

 caaaaattca aaggacgcgt gactttcaca actgacacct caacctcgac agcatacatg 300
 gaattacggt ccctacggtc tgacgacct gccgtttact attgcgctag agattatgat 360
 tatgatgttg gaatggacta ttggggccag ggaacactgg tgacagtgtc tctcgcaccc 420
 actaagggac catccgtgtt ccttttggcc ccttgctctc gttcgacctc tgaatcgact 480
 gccgctctgg gatgcctcgt gaaagattac ttccttgagc ctgtgaccgt ttcttggaac 540
 tcgggcgccc taacctctgg cgtgcacaca ttcctgccc tgctacagtc tcttggccta 600
 tactctttat cticggttgt taccgtacct tcttctaact tcggaacca aacttacacc 660

 tgtaacgtag accacaagcc ttcgaacacc aaggtggaca agactgttga gcgaaagtgc 720
 tgcgttgagt gccctecatg tctcgcacct cctgtggctg gcccttctgt gttcctgttc 780
 cctccaaaac ctaaggacac tctaataatc tctcggactc ctgaggtgac ttgcgtggtt 840
 gtggacgtgt cccacgagga cctgaggtg cagttcaatt ggtacgtgga cggagtcgag 900
 gtgcacaatg caaagaccaa gcctcgggag gaacagtca actccacctt ccgggtggtt 960
 tctgtgttga ccgttgtgca ccaagactgg ctgaacggca aagaatacaa gtgcaaggtg 1020
 tccaacaagg gcctgcctgc ccctatcgaa aagaccatca gcaagaccaa gggccagcct 1080

 cgcgagcctc aggtgtacac cctgcctccc agccgggaag aaatgaccaa gaaccaggtg 1140
 tcctgacct gtctggtgga gggcttctac ccttccgaca tcgccgttga gtgggagtct 1200
 aacggacagc cggagaacaa ctacaagact acgcctccaa tgctggactc cgacggctec 1260
 ttcttctgt actccgaact gaccgtggac aagtcccgtt ggcagcaggg caacgtgttc 1320
 tcatgctccg taatgcacga agccttgcaac aatcaactaca ctcaaaagtc cctatcctta 1380
 tctcctggca agtag 1395

<210> 76

<211> 351

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> 21M18 Heavy chain variable region (version 2)

<400> 76

cagctagttc agtctggagc ggaagttaag aaacctggag catccgtgaa aataagttgc 60
aagggatccg gttactcgtt caccgcatac tatatccact gggtaaaaca ggcaccagga 120
cagggacttg aatggatcgg atatatctcc tcttataatg gagctacaaa ctataaccaa 180
aaattcaaag gacgcgtgac tttcacaact gacacctcaa cctcgacagc atacatggaa 240
ttacggctcc tacggctcga cgacactgcc gtttactatt gcgctagaga ttatgattat 300
gatgttggaa tggactatg gggccagggga aactgtgtga cagtgtcttc t 351

<210> 77

<211> 1392

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> 21R75 Heavy chain with signal sequence (13B Version 1T)

<400> 77

atgaagcacc tgtggttctt tctgctgctg gtggccgctc ccagatgggt gctgtctcag 60
gtgcagctgg tgcagctcgg cgccgaagtg aagaaacctg gcgcctccgt gaagatctcc 120
tgcaaggcct ccggtactc cttcaccgcc tactacatcc actgggtcaa gcaggccctt 180
ggacagggcc tggaatggat cggctatatc gccggctaca aggacgccac caactacaac 240
cagaaattca agggcagagt gaccttcacc accgacacct ccacctctac cgcctacatg 300

gaactgcggt ccctgcggag cgacgacacc gccgtgtact actgcgccag agactacgac 360
tacgacgtgg gcatggacta ctggggccag ggcacactcg tgaccgtgtc ctctgcttcc 420
accaagggcc cctccgtgtt tctcttggcc ccttgtctca gatccacctc cgagtctacc 480
gccgctctgg gctgcctcgt gaaggactac ttccccgagc ccgtgacagt gtcttggaac 540
tctggcgccc tgacctcgg cgtgcacacc tttccagctg tgctgcagtc ctccggcctg 600
tactccctgt cctccgtcgt gactgtgccc tctccaact tcggcaccca gacctacacc 660
tgtaactggt accacaagcc ctccaacacc aaggtggaca agaccgtgga acggaagtgc 720

tgcgtggaat gcccccttg tctgccccct cctgtggctg gccctagcgt gttcctgttc 780
ccccaaagc ccaaggacac cctgatgatc tcccggacc cgaagtgac ctgcgtggtg 840
gtggatgtgt cccacgagga ccccagggtg cagttcaatt ggtacgtgga cggcgtggaa 900
gtgcacaacg ccaagaccaa gcccagagag gaacagtca actccacctt ccgggtggtg 960
tccgtgctga ccgtggtgca tcaggactgg ctgaacggca aagagtaca gtgcaaggtg 1020
tccaacaagg gcctgcctgc ccccatcgaa aagaccatct ctaagaccaa gggacagccc 1080
cgcgagcccc aggtgtacac actgcctcca tcccgggaag agatgaccaa gaaccaggtg 1140

tccctgacct gtctggtgga aggttcttac ccctccgata tcgccgtgga atgggagtcc 1200
aacggccagc ccgagaacaa ctacaagacc acccccccca tgctggactc cgacggctca 1260
ttcttctgt acagcgagct gacagtggac aagtcccggg ggcagcaggg caacgtgttc 1320
tctgtctccg tgatgcacga ggccctgcac aacctactaca cccagaagtc cctgtccctg 1380
agccccggca ag 1392

<210> 78

<211> 1392

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> 21R83 Heavy chain with signal sequence (13B Version 1T)

<400> 78

atgaagcacc tgggttctt tctgtctgtg gtggccgctc ccagatgggt gctgtctcag 60
gtgcagctgg tgcagtctgg cgccgaagtg aagaaacctg ggcctccgt gaagatctcc 120
tgcaaggcct ccgctactc ctaccgcc tactacatcc actgggtcaa gcaggccct 180
ggacagggcc tggaatgat cggtacatc tccaactaca accgggccac caattacaac 240
cagaaattca agggccgctg gacctcacc accgacacct ctacctctac cgctacatg 300
gaactcgggt cctgcggag cgacgacacc gccgtgtact actgcgccag agactacgac 360
tacgacgtgg gcatggacta ctggggccag ggcacactcg tgaccgtgtc tagcgcttcc 420

accaagggcc cctccgtgtt tctctggcc ctttctcca gatccacctc cgagtctacc 480
gccgctctgg gctgcctcgt gaaggactac ttccccgagc ccgtgacagt gtcctggaac 540
tctggcctc tgacctcgg cgtgcacacc tttccagctg tgctgcagtc ctccggcctg 600
tactccctgt cctccgtcgt gactgtgcc tctccaact tcggcaccca gacctacacc 660
tgtaactgg accacaagcc ctccaacacc aaggtggaca agaccgtgga acggaagtgc 720
tgctggaat gcccccttg tctgccct cctgtggctg gcctagcgt gttcctgttc 780
ccccaaagc ccaaggacac cctgatgatc tcccggacce ccgaagtgac ctgcgtggtg 840

gtgatgtgt cccacgagga ccccagggtg cagtccaatt ggtacgtgga cggcgtgga 900
gtgcacaacg ccaagaccaa gccagagag gaacagtca actccacctt cgggtggtg 960
tccgtgctga ccgtggtgca tcaggactgg ctgaacggca aagagtacaa gtgcaaggtg 1020
tccaacaagg gcctgcctgc ccccatcga aagaccatct ctaagaccaa gggacagccc 1080
cgcgagcccc aggtgtacac actgctcca tcccgggaag agatgaccaa gaaccaggtg 1140
tccctgacct gtctggtgga aggttcttac ccctccgata tcgccgtgga atgggagtcc 1200

aacggccagc ccgagaacaa ctacaagacc acccccccca tgctggactc cgacggctca 1260

ttcttctgt acagcgagct gacagtggac aagtcccgtt ggcagcaggg caacgtgttc 1320

tcctgetccg tgatgcacga ggccctgcac aaccactaca cccagaagtc cctgtccctg 1380

agccccggca ag 1392

<210> 79

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Alternative 21R75, 21R79, 21R83, and 21M18 Heavy chain CDR1

<400> 79

Ala Tyr Tyr Ile His

1 5

<210> 80

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Anti-DLL4 heavy chain CDR2 consensus sequence

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (3)..(3)

<223> Xaa is serine or alanine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (4)..(4)

<223> Xaa is serine, asparagine, or glycine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (6)..(6)

<223> Xaa is asparagine or lysine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (7)..(7)

<223> Xaa is glycine, arginine, or aspartic acid

<400> 80

Tyr Ile Xaa Xaa Tyr Xaa Xaa Ala Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe Lys

1 5 10 15

Gly

