



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2023년11월16일

(11) 등록번호 10-2602640

(24) 등록일자 2023년11월10일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/28 (2006.01) A61K 39/00 (2006.01)
A61P 37/00 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
C07K 16/2896 (2013.01)
A61P 37/00 (2018.01)
- (21) 출원번호 10-2022-7034240(분할)
- (22) 출원일자(국제) 2011년12월30일
심사청구일자 2022년10월28일
- (85) 번역문제출일자 2022년09월30일
- (65) 공개번호 10-2022-0139441
- (43) 공개일자 2022년10월14일
- (62) 원출원 특허 10-2021-7026369
원출원일자(국제) 2011년12월30일
심사청구일자 2021년09월15일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2011/068235
- (87) 국제공개번호 WO 2012/092612
국제공개일자 2012년07월05일
- (30) 우선권주장
61/428,699 2010년12월30일 미국(US)
(뒷면에 계속)
- (56) 선행기술조사문헌
W02006099875 A1*
W02006125640 A2*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

- (73) 특허권자
다케다 야쿠힌 교교 가부시키키가이샤
일본 오사카시 주오구 도쇼마찌 4-1-1
- (72) 발명자
엘리아스, 캐슬린 앤
미국 캘리포니아 94080 사우쓰 샌프란시스코 이스
트 그랜드 애비뉴 285 다케다 샌프란시스코 인코
포레이티드 내
랜디스, 그레고리
미국 캘리포니아 94080 사우쓰 샌프란시스코 이스
트 그랜드 애비뉴 285 다케다 샌프란시스코 인코
포레이티드 내
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인
박장원

전체 청구항 수 : 총 11 항

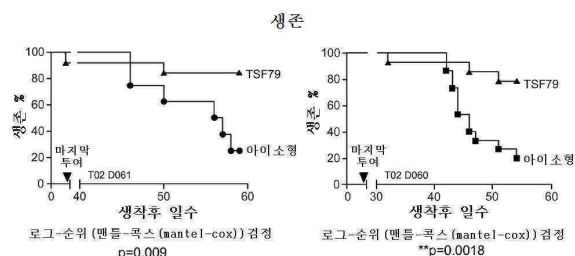
심사관 : 한정선

(54) 발명의 명칭 항-CD38 항체

(57) 요약

인간 CD38 및 사이노몰구스 CD38에 결합하는 단리된 항체가 개시된다. 또한, 개시된 항체를 포함하는 억제학적 조성물, 및 개시된 항체를 사용하는 치료 및 진단 방법이 개시된다.

대표도 - 도11



(52) CPC특허분류

A61K 2039/505 (2013.01)
C07K 2317/33 (2013.01)
C07K 2317/77 (2013.01)
C07K 2317/92 (2013.01)

(30) 우선권주장

61/470,406	2011년03월31일	미국(US)
61/470,382	2011년03월31일	미국(US)
61/485,104	2011년05월11일	미국(US)

(72) 발명자

싱, 쉬웨타

미국 캘리포니아 94080 사우쓰 샌프란시스코 이스
트 그랜드 애비뉴 285 다케다 샌프란시스코 인코포
레이티드 내

코버, 워우터

미국 캘리포니아 94080 사우쓰 샌프란시스코 이스
트 그랜드 애비뉴 285 다케다 샌프란시스코 인코포
레이티드 내

드레이크, 앤드류 윌링

미국 캘리포니아 94080 사우쓰 샌프란시스코 이스
트 그랜드 애비뉴 285 다케다 샌프란시스코 인코포
레이티드 내

하크-프렌드쇼, 매리

미국 캘리포니아 94080 사우쓰 샌프란시스코 이스
트 그랜드 애비뉴 285 다케다 샌프란시스코 인코포
레이티드 내

스넬, 죠지 펠

미국 캘리포니아 94080 사우쓰 샌프란시스코 이스
트 그랜드 애비뉴 285 다케다 샌프란시스코 인코포
레이티드 내

바스카, 비네이

미국 캘리포니아 94080 사우쓰 샌프란시스코 이스
트 그랜드 애비뉴 285 다케다 샌프란시스코 인코포
레이티드 내

명세서

청구범위

청구항 1

환자에서 다발성 골수종, 만성 림프모구성 백혈병, 만성 림프성 백혈병, 형질 세포 백혈병, 급성 골수성 백혈병, 만성 골수성 백혈병, B-세포 림프종 및 버킷 림프종으로 이루어진 군으로부터 선택되는 혈액암을 치료하기 위한, 단리된 항체 또는 그의 항원 결합 단편을 포함하는 약제학적 조성물로서, 상기 단리된 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 인간 CD38 및 사이노몰구스(cynomolgus) CD38에 특이적으로 결합하고,

- a) i) 서열 번호 3으로 이루어진 제1 CDR;
- ii) 서열 번호 4로 이루어진 제2 CDR;
- iii) 서열 번호 5로 이루어진 제3 CDR

을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및

- b) i) 서열 번호 6으로 이루어진 제1 CDR;
- ii) 서열 번호 7로 이루어진 제2 CDR;
- iii) 서열 번호 8로 이루어진 제3 CDR

을 포함하는 경쇄 가변 영역

을 포함하고,

여기서 상기 단리된 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 Fc 도메인을 포함하는 것인, 약제학적 조성물.

청구항 2

환자에서 류마티스 관절염, 전신 홍반성 루푸스, 염증성 장 질환, 궤양성 대장염 및 이식편대숙주병으로 이루어진 군으로부터 선택되는 자가면역 질환을 치료하기 위한, 단리된 항체 또는 그의 항원 결합 단편을 포함하는 약제학적 조성물로서, 상기 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 인간 CD38 및 사이노몰구스 CD38에 특이적으로 결합하고,

- a) i) 서열 번호 3으로 이루어진 제1 CDR;
- ii) 서열 번호 4로 이루어진 제2 CDR;
- iii) 서열 번호 5로 이루어진 제3 CDR

을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및

- b) i) 서열 번호 6으로 이루어진 제1 CDR;
- ii) 서열 번호 7로 이루어진 제2 CDR;
- iii) 서열 번호 8로 이루어진 제3 CDR

을 포함하는 경쇄 가변 영역

을 포함하는 것인, 약제학적 조성물.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 중쇄 가변 영역은 서열 번호 9의 아미노산 서열로 이루어지고/이루어지거나 경쇄 가변 영역은 서열 번호 10의 아미노산 서열로 이루어진 것인, 약제학적 조성물.

청구항 4

삭제

청구항 5

삭제

청구항 6

삭제

청구항 7

제3항에 있어서, 중쇄는 서열 번호 21로 이루어지고 경쇄는 서열 번호 22로 이루어진 것인, 약제학적 조성물.

청구항 8

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 KD 값 10^{-8} M 또는 그 이상의 친화성으로 인간 CD38에 결합하고, 상기 친화성은 표준 비아코어(Biacore) 검정법으로 측정되는 것인, 약제학적 조성물.

청구항 9

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 서열 번호 1의 적어도 K121, F135, Q139, D141, E239, W241, C275, K276, F284, P291 및 E292와 상호작용하는 것인, 약제학적 조성물.

청구항 10

제2항에 있어서, 상기 단리된 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 Fc 도메인을 포함하고, 상기 Fc 도메인은 인간 Fc 도메인인 것인, 약제학적 조성물.

청구항 11

제1항에 있어서, 상기 Fc 도메인은 인간 Fc 도메인인 것인, 약제학적 조성물.

청구항 12

제10항에 있어서, 상기 단리된 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 인간 IgG 항체인 것인, 약제학적 조성물.

청구항 13

제12항에 있어서, 상기 단리된 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 인간 IgG1 항체인 것인, 약제학적 조성물.

청구항 14

제1항 또는 제2항에 있어서, 적어도 하나의 약제학적으로 허용되는 담체, 부형제 또는 안정화제를 더 포함하는 것인, 약제학적 조성물.

청구항 15

삭제

청구항 16

삭제

청구항 17

삭제

청구항 18

삭제

청구항 19

삭제

청구항 20

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 출원은 USSN 61/428,699(출원일: 2010년 12월 30일); USSN 61/470,382(출원일: 2011년 3월 31일); USSN 61/470,406(출원일: 2011년 3월 31일); 및 USSN 61/485,104(출원일: 2011년 5월 11일)에 대하여 35 U.S.C. § 119(e)에 따른 우선권을 주장하고, 이들 모두는 전문이 참고로 포함된다.

배경 기술

[0002] 사이클릭 ADP 리보스 하이드롤라제로도 공지되어 있는 CD38은 긴 C-말단 세포외 도메인 및 짧은 N-말단 세포질 도메인을 갖는 II형 막관통 당단백질이다. CD38은 CD157 및 아플리시아(*Aplysia*) ADPR 사이클라제(cyclase)를 포함하는 관련 막 결합 또는 용해성 효소의 그룹의 구성원이다. 이러한 패밀리의 효소는 NAD를 사이클릭 ADP 리보스 또는 니코틴산-아데닌 다이뉴클레오타이드 포스페이트로 전환시키는 독특한 능력을 갖는다.

[0003] 또한, CD38은 포스포리파제 C γ , ZAP-70, syk 및 c-cbl을 포함하는 수많은 신호전달 분자의 티로신 인산화를 통한 신호 전달 및 Ca²⁺ 동원에 수반되는 것으로 보고되었다. 이들 관찰에 기초하여, CD38은 림프구의 정상의 발생 동안 림프구의 성숙 및 활성화에서의 중요한 신호전달 분자인 것으로 제안되었다.

[0004] 조혈 세포 가운데, 림프구 증식, 사이토카인 분비, B 세포 및 골수 세포 발생 및 생존의 조절, 및 수지상 세포 성숙의 유도를 비롯한 기능적 효과의 모음은 CD38 매개의 신호전달의 결과로 간주된다.

[0005] 신호 전달 및 조혈작용에서의 CD38의 정확한 역할이 아직 불확실하게 남아 있는데, 이는 대부분의 신호 전달 연구가 CD38 및 비-생리학적 리간드인 항-CD38 모노클로날 항체를 이소적으로 과발현하는 세포주를 사용하기 때문이다.

[0006] CD38의 추정되는 천연 리간드는 CD31(PECAM-1; 혈소판 내피 세포 부착 분자-1)이다. CD31은 순환하는 혈소판, 호중구, 단핵구 및 나이브(naive) B-림프구의 표면 상에서 발현되는 면역글로불린 슈퍼패밀리의 130kD 구성원이다. CD31은 기능적으로 부착 분자로 작용하는 것으로 여겨진다. CD38과 CD31의 상호작용이 백혈병 세포의 생존을 증진시키는데 작용할 수 있는 것이 제안되었다.

[0007] 단일의 분자에 대한 결핍이 있는 동물 모델은 많은 예에서 동물에서의 분자의 생물학적 역할을 이해하는데 필수적인 도구였다. 근본적인 가정은 단백질이 비-중복 기능을 발휘한다면, 그의 완전한 결여가 그 기능의 완전한 소실을 야기할 것이라는 가정이다.

[0008] CD38 녹아웃 마우스를 생성하였다. 이들 동물은 조직 연관 NADase 활성의 거의 완전한 소실을 보인다. 이들 동물은 아직 생존가능하여, CD38 및 그의 활성이 삶에 필수적이지 않다는 결론으로 이어진다. 그러나, 이들 마우스는 그들의 선천 면역의 결함 및 감소된 T-세포 의존적 체액성 반응을 나타낸다.

[0009] 마우스에서의 결과와 대조적으로, 인간에서는 CD38의 부재가 삶과 양립하지 않는다는 강력한 정황적인 증거가 존재한다. 신생아로부터의 5,000개 초과 혈액 시료의 분석에 의해, 단일의 CD38⁻ 개체를 동정하지 못하였으며; 이는 마우스와 달리 CD38이 생존에 필수적임을 시사한다. 따라서, CD38 기능에 대하여 마우스에서 이루어진 관찰을 인간에 접목시킬 수 있는 것이 명확하지 않다.

[0010] CD38은 비호지킨 림프종(NHL), 버킷 림프종(BL), 다발성 골수종(MM), B 만성 림프성 백혈병(B-CLL), B 및 T 급성 림프성 백혈병(ALL), T 세포 림프종(TCL), 급성 골수성 백혈병(AML), 모발상 세포 백혈병(HCL), 호지킨 림프종(HL) 및 만성 골수성 백혈병(CML)을 비롯한 많은 악성 조혈 증양, 및 많은 악성 조혈 증양 유래의 세포주에서 상향조절된다. 반면, 조혈계의 가장 원시의 만능(pluripotent) 줄기 세포는 CD38⁻이다(도 1).

[0011] 항암제의 발견 및 개발에서의 최근의 진전에도 불구하고, CD38-발현 증양을 포함하는 많은 형태의 암이 여전히 불량한 예후를 갖는다. 따라서, 이러한 형태의 암을 치료하기 위한 향상된 방법이 필요하다.

발명의 내용

해결하려는 과제

과제의 해결 수단

- [0012] CD38로의 결합을 위한 시약 및 결합 방법, 및 CD38에 대하여 특이적인 항체를 포함하는 CD38-특이적 결합제를 사용하는 CD38 관련 질환의 치료 방법 및 CD38의 검출 방법이 본 명세서에 제공된다.
- [0013] 따라서, 일부 실시형태에서, 인간 CD38(서열 번호 1) 및 사이노몰구스(cynomolgus) CD38(서열 번호 2)에 대해 특이적인 단리된 항체가 기재된다. 이러한 항체는 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역으로 이루어지며, 중쇄 가변 영역은 3개의 상보성 결정 영역(CDR), HCDR1, HCDR2 및 HCDR3으로 구성되며, 경쇄 가변 영역도 또한 3개의 CDR, LCDR1, LCDR2 및 LCDR3으로 이루어진다. CDR의 서열은 HCDR1(서열 번호 3), HCDR2(서열 번호 4), HCDR3(서열 번호 5), LCDR1(서열 번호 6), LCDR2(서열 번호 7) 및 LCDR3(서열 번호 8)으로 표현된다.
- [0014] 다른 실시형태에서, 단리된 항체는 중쇄 가변 영역으로 이루어지며, 여기서 중쇄 가변 영역의 서열에는 서열 번호 9가 포함된다. 다른 실시형태에서, 단리된 항체는 경쇄 가변 영역으로 이루어지며, 여기서, 경쇄 가변 영역의 서열에는 서열 번호 10이 포함된다.
- [0015] 일부 실시형태에서, 단리된 항체는 중쇄 가변 영역으로 이루어지며, 여기서, 중쇄 가변 영역의 서열에는 서열 번호 9가 포함된다. 다른 실시형태에서, 단리된 항체는 경쇄 가변 영역으로 이루어지며, 여기서, 경쇄 가변 영역의 서열에는 서열 번호 10이 포함된다. 이러한 중쇄 가변 영역과 경쇄 가변 영역의 조합물은 Ab79로 지칭된다.
- [0016] 일부 실시형태에서, 단리된 항체는 중쇄 및 경쇄로 이루어지며, 중쇄 서열에는 서열 번호 11가 포함되며, 경쇄에는 서열 번호 12가 포함된다.
- [0017] 일부 실시형태에서, 단리된 항체는 Fc 도메인을 포함한다. 다른 실시형태에서, Fc 도메인은 인간 Fc 도메인이다. 또 다른 실시형태에서, Fc 도메인은 변이체 Fc 도메인이다.
- [0018] 일부 실시형태에서, 서열 번호 11의 중쇄를 암호화하는 단리된 핵산이 제공된다. 다른 실시형태에서, 서열 번호 12의 경쇄를 암호화하는 단리된 핵산이 제공된다.
- [0019] 일부 실시형태에서, 숙주 세포가 제공되며, 숙주 세포는 서열 번호 11의 중쇄를 암호화하는 단리된 핵산 및 서열 번호 12의 경쇄를 암호화하는 단리된 핵산을 함유한다.
- [0020] 일부 실시형태에서, 본 발명의 항체의 생성 방법이 제공된다. 상기 방법은 서열 번호 11의 중쇄를 암호화하는 단리된 핵산 및 서열 번호 12의 경쇄를 암호화하는 단리된 핵산을 함유하는 숙주 세포를 단리된 핵산(들)이 발현되고 항체가 생성되는 조건 하에서 배양하는 단계를 포함한다.
- [0021] 일부 실시형태에서, 인간 CD38(서열 번호 1) 및 사이노몰구스 CD38(서열 번호 2)에 대해 특이적인 단리된 항체가 기재된다. 이러한 항체는 6개의 CDR로 이루어지며, 이러한 항체의 각 CDR은 0, 1 또는 2개 아미노산 치환에 의해 서열 번호 3, 서열 번호 4, 서열 번호 5, 서열 번호 6, 서열 번호 7 및 서열 번호 8과 상이할 수 있다.
- [0022] 일부 실시형태에서, 인간 CD38(서열 번호 1) 및 사이노몰구스 CD38(서열 번호 2)에 특이적인 단리된 항체가 기재된다. 이러한 항체는 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역으로 이루어지며, 여기서, 중쇄 가변 영역은 3개의 상보성 결정 영역(CDR), HCDR1, HCDR2 및 HCDR3으로 이루어지며, 경쇄 가변 영역은 또한 3개의 CDR, LCDR1, LCDR2 및 LCDR3으로 이루어진다. CDR의 서열은 하기에 의해 표현된다: HCDR1(서열 번호 13), HCDR2(서열 번호 14), HCDR3(서열 번호 15), LCDR1(서열 번호 16), LCDR2(서열 번호 17) 및 LCDR3(서열 번호 18).
- [0023] 다른 실시형태에서, 단리된 항체는 중쇄 가변 영역으로 이루어지며, 중쇄 가변 영역의 서열에는 서열 번호 19가 포함된다. 다른 실시형태에서, 단리된 항체는 경쇄 가변 영역으로 이루어지며, 경쇄 가변 영역의 서열에는 서열 번호 20이 포함된다.
- [0024] 일부 실시형태에서, 단리된 항체는 중쇄 가변 영역으로 이루어지며, 여기서, 중쇄 가변 영역의 서열에는 서열 번호 19가 포함된다. 일부 실시형태에서, 단리된 항체는 경쇄 가변 영역으로 이루어지며, 여기서, 경쇄 가변 영역의 서열에는 서열 번호 20이 포함된다. 이러한 중쇄 가변 영역과 경쇄 가변 영역의 조합물은 Ab19로

지칭된다.

- [0025] 일부 실시형태에서, 단리된 항체는 중쇄 및 경쇄로 이루어지며, 여기서, 중쇄 서열에는 서열 번호 21이 포함되며, 경쇄에는 서열 번호 22가 포함된다.
- [0026] 일부 실시형태에서, 서열 번호 21의 중쇄를 암호화하는 단리된 핵산이 제공된다. 일부 실시형태에서, 서열 번호 22의 경쇄를 암호화하는 단리된 핵산이 제공된다.
- [0027] 일부 실시형태에서, 숙주 세포가 제공되며, 숙주 세포는 서열 번호 21의 중쇄를 암호화하는 단리된 핵산 및 서열 번호 22의 경쇄를 암호화하는 단리된 핵산을 포함한다.
- [0028] 일부 실시형태에서, 본 발명의 항체의 생성 방법이 제공된다. 상기 방법은 서열 번호 21의 중쇄를 암호화하는 단리된 핵산 및 서열 번호 22의 경쇄를 암호화하는 단리된 핵산을 함유하는 숙주 세포를 단리된 핵산(들)이 발현되고 항체가 생성되는 조건 하에서 배양하는 단계를 포함한다.
- [0029] 일부 실시형태에서, 인간 CD38(서열 번호 1) 및 사이노몰구스 CD38(서열 번호 2)에 대해 특이적인 단리된 항체가 기재된다. 이러한 항체는 6개의 CDR로 이루어지며, 이러한 항체의 각 CDR은 0, 1 또는 2개 아미노산 치환에 의해 서열 번호 13, 서열 번호 14, 서열 번호 15, 서열 번호 16, 서열 번호 17 및 서열 번호 18과 상이할 수 있다.
- [0030] 일부 실시형태에서, 인간 CD38(서열 번호 1) 및 사이노몰구스 CD38(서열 번호 2)에 특이적으로 결합하는 단리된 항-CD38 항체가 제공되며, 상기 항체는 약 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-9} 또는 그 이상의 KD로 인간 CD38에 결합하며, 약 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-9} 또는 그 이상의 KD로 사이노몰구스 CD38에 결합한다.
- [0031] 일부 실시형태에서, 인간 CD38 및/또는 사이노몰구스 CD38에 대한 결합을 위해 Ab79 및/또는 Ab19와 경쟁하는 항체가 제공된다.
- [0032] 이들 및 다른 실시형태, 특징 및 잠재적인 이점이 하기의 설명 및 도면을 참조하여 명백해질 것이다.

도면의 간단한 설명

- [0033] 도 1은 CD38 고발현을 별표로 나타낸, 림프 계통 세포에 대한 CD38 발현 프로파일을 도시한 것이다. CD38 발현은 프로(pro)-B 세포($CD34^{+}CD19^{+}CD20^{-}$), 활성화 B 세포($CD19^{+}CD20^{+}$), 형질 세포($CD138^{+}CD19^{-}CD20^{-}$), 활성화 $CD4^{+}$ 및 $CD8^{+}$ T 세포, NKT 세포($CD3^{+}CD56^{+}$) 및 NK 세포($CD56^{+}CD16^{+}$) 상에서 확인되었다. 또한, CD38 발현은 림프계 전구 세포($CD34^{+}CD45RA^{+}CD10^{+}CD19^{-}$)에서 관찰되었으나, 림프계 줄기 세포에서는 그렇지 않았다. 또한, 증가된 CD38 발현이 성숙 DC 및 활성화 단핵구에서 관찰된다.
- 도 2는 Ab79 및 Ab19의 중쇄 및 경쇄 서열을 보여준다.
- 도 3은 인간 및 사이노몰구스 CD38의 서열을 도시한 것이다.
- 도 4는 항체, 벤치마크(Benchmark) 1 및 2, Ab19 및 Ab79의 각각에 결합되는 인간 CD38의 에피토프를 보여준다.
- 도 5는 상업적으로 입수할 수 있는 인간 CD38 항체를 사용하는 SLE 환자로부터의 PMBC에서의 CD38 발현의 증가를 도시한 것이다.
- 도 6은 투여 24시간 후에 사이노몰구스 원숭이에서의 세포 개수의 변화 백분율을 도시한 것이다.
- 도 7은 Ab79의 단일의 투여 후의 고갈의 회복을 보여준다.
- 도 8은 Ab79의 단일의 투여 후의 모든 Ig 아이소형의 상당한 감소에 관한 단일의 HuSCID 마우스로부터의 결과를 보여준다.
- 도 9는 실시예에 기재된 바와 같은 HuSCID 마우스에서의 Ab79 고갈 활성화에 대한 것으로 도 8과 유사하다.
- 도 10은 Ab79 처리 시의 HuSCID 모델에서의 항-과상종 반응의 유의미한 감소를 도시한 것이다.
- 도 11은 다시, 본질적으로 이식편대숙주 모델의 한 유형인 HuSCID 모델에서, Ab79 처리 시의 생존의 유의미한 증가를 보여준다.
- 도 12는 각각에 대한 상용의 항체를 사용하여 인간 및 마우스 PBMC에서의 CD38 항원의 발현의 차이를 도시한 것

이다.

도 13은 대리 마우스 항-CD38 항체가 말초 혈액으로부터 면역 세포를 고갈시키는 것을 보여줌에 있어서, 염증 환경에서의 치료 효과를 보여준다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0034] 개요
- [0035] CD38의 세포외 도메인은 ADP-리보실 사이클라제뿐 아니라 ADP-리보실 하이드롤라제 활성 둘 모두를 갖는 2작용성 효소 활성을 갖는 것으로 나타났다. 따라서, CD38은 NAD^+ 로부터 cADPR로의 전환을 촉매작용시킬 수 있으며 (사이클라제), 이를 추가로 ADP-리보스로 가수분해시킬 수 있다(하이드롤라제). cADPR은 세포내 저장량으로부터의 칼슘의 동원에 수반되며, 이는 세포 증식, 분화 및 아포토시스(apoptosis)에 중요한 2차 메신저(messenger) 활성이다.
- [0036] CD38 발현의 증가는 다양한 조혈 기원의 질환에서 입증되었으며, 만성 림프모구성(lymphoblastic) 백혈병에서의 음성 예후 마커로 기재되어 있다. 이러한 질환은 다발성 골수종(문헌[Jackson *et al.* (1988)]), 만성 림프모구성 백혈병(문헌[Moribito *et al.* (2001)], 문헌[Jelinek *et al.* (2001)], 문헌[Chevalier *et al.* (2002)], 문헌[Duerig *et al.* (2002)]), B-세포 만성 림프구성 백혈병, B-세포 급성 림프구성 백혈병을 포함하는 급성 림프모구성 백혈병(문헌[Keyhani *et al.* (2000)]), 발덴스트롬 마크로글로불린혈증(Waldenstrom macroglobulinemia), 원발성 전신 아밀로이드증, 외투층 세포 림프종(mantle-cell lymphoma), 전-림프구성/골수구성 백혈병, 급성 골수성 백혈병(문헌[Keyhani *et al.* (1993)]), 만성 골수성 백혈병(문헌[Marinov *et al.* (1993)]), 여포성 림프종, NK-세포 백혈병 및 형질-세포 백혈병을 포함하나 이에 한정되지 않는다. 이와 같이, CD38은 조혈계 질환의 치료에 유용한 표적을 제공한다.
- [0037] 몇몇 항-CD38 항체는 CD38-관련 암의 치료를 위한 임상 시험 중에 있다. 따라서, 치료적 효과 및/또는 진단 응용을 갖는 CD38에 대한 항체가 유용하다. 본 발명은 CD38의 상이한 에피토프에 결합하며, 인간 및 사이노몰구스의 CD38 형태 둘 모두에 결합하는 CDR의 2가지 상이한 항-CD38 세트 및 이들 CDR을 함유하는 항체를 제공한다.
- [0038] 또한, 본 발명은 항-CD38 항체가 구체적으로 자가면역 질환을 포함하는 활성화 림프구와 연관된 염증 및/또는 면역 장애의 진단 및/또는 치료에서 이용될 수 있음을 보여준다. 본 명세서에 나타난 바와 같이, CD38은 미성숙 조혈 세포에서 발현되고 성숙 세포에서 하향 조절되고, 활성화 림프구 및 형질 세포에서 높은 수준으로 다시 발현된다. 예를 들어, 높은 CD38 발현은 활성화 B 세포, 형질 세포, 활성화 CD4+ T 세포, 활성화 CD8+ T 세포, NK 세포, NKT 세포, 성숙 수지상 세포(DC) 및 활성화 단핵구에서 관찰된다.
- [0039] CD38에 대한 자가항체의 존재가 당뇨병, 만성 자가면역 갑상선염 및 그레이브스병과 관련이 있다는 점에서 본 명세서에서의 관찰은 놀라운 것이다(모두 참고로 포함되는 문헌[Antonelli *et al.*, Clin. Exp. Immunol. 2001 126:426-431]; 문헌[Mallone *et al.*, Diabetes 50:752 (2001)] 및 문헌[Antonelli *et al.*, J. Endocrinol. Invest. 27:695-707 (2004)] 참조).
- [0040] 따라서, 본 발명의 항체는 전신 홍반성 루푸스(SLE), 류마티스 관절염(RA), 염증성 장 질환(IBD) 및 궤양성 대장염을 포함하나 이에 한정되지 않는 후술되는 자가면역 질환을 포함하나 이에 한정되지 않는 수많은 질환의 진단 및/또는 치료에서 사용된다.
- [0041] 따라서, 예를 들어, 형질 세포 함량이 높은 환자, 예를 들어, 높은 형질 세포를 나타내는 SLE 환자뿐 아니라, CD20 기반의 치료법에 비반응적인 것으로 보이는 RA 환자가 선택될 수 있다.
- [0042] 본 발명의 치료적 항-CD38 항체는 CD38 양성 세포에 결합하여, 본 명세서에 약술된 바와 같은 CDC, ADCC 및 아포토시스 경로를 포함하나 이에 한정되지 않는 다수의 작용 메커니즘을 통하여 이들 세포, 예를 들어, 활성화 림프구의 고갈을 야기하여, 자가면역 질환의 치료 및/또는 개선을 야기한다.
- [0043] 종양학 임상 시험에서 항-CD38 항체의 일부에서 관찰되지 않는 하나의 이점은 사이노몰구스 CD38에 결합하는 능력인데, 이는 이들 영양류가 사전임상 시험에서 사용되기 때문이며, 이에 따라, 용량, 독성, 효능 등의 조기의 평가로 이어질 수 있다.
- [0044] CD38 단백질
- [0045] 따라서, 본 발명은 인간 CD38 단백질에 특이적으로 결합하는(그리고, 후술되는 바와 같이, 추가로, 그리고 바람

직하게는 영장류 CD38 단백질에 특이적으로 결합하는) 단리된 항-CD38 항체를 제공한다. 해당 분야에 알려져 있는 바와 같이, CD38 단백질은 수많은 종에서 관찰된다. 특히, 인간 및 영장류, 특히 임상 시험에서 사용되는 영장류, 예를 들어, 사이노물구스(마카카 파시쿨라리스(*Macaca fascicularis*), 게잡이원숭이(Crab eating macaque), 본 명세서에서 때때로 "사이노"로 지칭) 원숭이 CD38 단백질 둘 모두에 결합하는 항체가 본 발명에서 사용된다. "인간 CD38" 또는 "인간 CD38 항원"은 본 명세서에서 정의된 바와 같이 서열 번호 1의 단백질 또는 작용 단편, 예를 들어, 에피토프를 지칭한다. 일반적으로, CD38은 짧은 세포질내 테일(tail), 막관통 도메인 및 세포외 도메인을 가지며, 특정 실시형태에서, 본 발명의 항체는 CD38 단백질의 세포외 부분에 결합한다. 본 명세서에서 "사이노물구스 CD38"은 인간 CD38과 92% 동일한 서열 번호 2를 의미한다.

[0046] CD38의 유의어는 ADP 리보실 사이클라제 1, cADPr 하이드롤라제 1, Cd38-rs1, 사이클릭 ADP-리보스 하이드롤라제 1, 1-19 및 NIM-R5 항원을 포함한다.

[0047] 일부 실시형태에서, 본 발명의 항-CD38 Ab79 항체는 K121, F135, Q139, D141, M142, D202, V203, H205, Q236, E239, W241, S274, C275, K276, F284, C287, V288, K289, N290, P291, E292, D293을 포함하는 수많은 아미노산 잔기에서 CD38과 상호작용한다. 또한, 본 명세서에 약속된 바와 같이, 이들 잔기와 상호작용하는 다른 항체가 치료 및 진단 응용에서 사용된다.

[0048] 일부 실시형태에서, 본 발명의 항-CD38 항체는 임의로(그리고, 일부 경우에는 바람직하게) CD38 패밀리의 다른 구성원, 예를 들어, CD157에 결합하지 않는다. 예를 들어, 본 발명의 바람직한 실시형태는 서열 번호 23의 인간 CD157(진뱅크 수탁 번호 NP_004325)에 결합하지 않는다.

[0049] 항체

[0050] 본 발명은 항-CD38 항체, 일반적으로 본 명세서에 기재된 바와 같은 치료 및/또는 진단 항체를 제공한다. 본 발명에 사용되는 항체는 후술되는 통상의 항체뿐 아니라 항체 유도체, 단편 및 모방체(mimetic)를 비롯한 본 명세서에 기재된 바와 같은 수많은 형식을 취할 수 있다. 본질적으로, 본 발명은 본 명세서에 정의된 바와 같은(후술되는 바와 같은 적은 수의 아미노산 변화를 포함하는) 6개 CDR의 세트를 포함하는 항체 구조를 제공한다.

[0051] 통상의 항체 구조 유닛은 전형적으로 테트라머를 포함한다. 각 테트라머는 전형적으로 2개의 동일한 쌍의 폴리펩타이드 쇄로 이루어지며, 각 쌍은 하나의 "경"(전형적으로, 분자량이 약 25 kDa인) 및 하나의 "중"(전형적으로, 분자량이 약 50 내지 70 kDa인) 쇄를 갖는다. 인간 경쇄는 카파 및 람다 경쇄로 분류된다. 중쇄는 뮤, 델타, 감마, 알파 또는 엡실론으로 분류되며, 항체의 아이소형(isotype)이 각각 IgM, IgD, IgG, IgA 및 IgE로 정의된다. IgG는 IgG1, IgG2, IgG3 및 IgG4를 포함하나 이에 한정되지 않는 몇몇 하위분류를 갖는다. IgM은 IgM1 및 IgM2를 포함하나 이에 한정되지 않는 하위분류를 갖는다. 따라서, 본 명세서에서 사용되는 "아이소형"은 그들의 불변 영역의 화학적 특징과 항원 특징에 의해 정의되는 면역글로불린의 임의의 하위분류를 의미한다. 공지되어 있는 인간 면역글로불린 아이소형은 IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1, IgA2, IgM1, IgM2, IgD 및 IgE이다. 치료적 항체가 또한 아이소형 및/또는 하위분류의 하이브리드를 포함할 수 있음이 이해되어야 한다.

[0052] 각 쇄의 아미노-말단 부분은 주로 항원 인식의 원인이 되는 약 100 내지 110개 또는 그 이상의 아미노산의 가변 영역을 포함한다. 가변 영역에서, 3개의 루프가 중쇄 및 경쇄의 각 V 도메인을 위해 모여, 항원-결합 부위를 형성한다. 각 루프는 상보성-결정 영역(이하에서는 "CDR"로 지칭됨)으로 지칭되며, 여기서, 아미노산 서열의 변이가 가장 유의미하다. "가변"은 가변 영역의 특정 세그먼트의 서열이 항체 간에 광범위하게 상이한 점을 말한다. 가변 영역 내의 가변성은 균일하게 분포되지 않는다. 대신에, V 영역은 각각 9 내지 15개 아미노산 길이어거나 그보다 더욱 긴 "초가변 영역"으로 지칭되는 극도의 가변성의 더 짧은 영역에 의해 분리되는 15 내지 30개 아미노산의 프레임워크 영역(FR)으로 지칭되는 상대적 불변의 스트레치(stretch)로 이루어진다.

[0053] 각 VH 및 VL은 하기의 순서로 아미노-말단으로부터 카복시-말단으로 배치된, 3개의 초가변 영역("상보성 결정 영역", "CDR") 및 4개의 FR로 이루어진다: FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4.

[0054] 초가변 영역은 일반적으로 경쇄 가변 영역 내의 아미노산 잔기 약 24 내지 34(LCDR1; "L"은 경쇄를 표시한다), 50 내지 56(LCDR2) 및 89 내지 97(LCDR3)로부터의 아미노산 잔기 및 중쇄 가변 영역 내의 약 31 내지 35B(HCDR1; "H"는 중쇄를 표시한다), 50 내지 65(HCDR2) 및 95 내지 102(HCDR3)(문헌[Kabat et al., SEQUENCES OF PROTEINS OF IMMUNOLOGICAL INTEREST, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991)]) 및/또는 초가변 루프를 형성하는 잔기(예를 들어, 경쇄 가변 영역 내의 잔기 26 내지 32(LCDR1), 50 내지 52(LCDR2) 및 91 내지 96(LCDR3) 및 중쇄 가변 영역 내의 26 내지 32(HCDR1), 53 내지 55(HCDR2) 및 96 내지 101(HCDR3))(문헌[Chothia and Lesk (1987) J. Mol. Biol. 196:901-917])을 포함한다.

본 발명의 구체적인 CDR이 후술된다.

- [0055] 본 명세서의 도처에서, 가변 도메인 내의 한 잔기(대략, 경쇄 가변 영역의 잔기 1 내지 107 및 중쇄 가변 영역의 잔기 1 내지 113)를 지칭할 때 카바트(Kabat) 넘버링 시스템이 일반적으로 사용되며(예를 들어, 상기 문헌 [Kabat *et al.*, (1991)]), Fc 영역을 위해서는 EU 넘버링 시스템이 사용된다.
- [0056] CDR은 항원-결합 또는 더욱 구체적으로, 항체의 에피토프 결합 부위의 형성에 기여한다. "에피토프"는 파라토프로 알려져 있는 항체 분자의 가변 영역 내의 특정 항원 결합 부위와 상호작용하는 결정기(determinant)를 지칭한다. 에피토프는 분자, 예를 들어, 아미노산 또는 당 측쇄의 그룹화이며, 통상 특정 구조적 특징뿐 아니라 특정 전하 특징을 갖는다. 단일의 항원은 1개 초과에 에피토프를 가질 수 있다. 예를 들어, 본 명세서에 도시된 바와 같이, 본 명세서에서 "Ab19" 및 "Ab79"로 지칭되는 2개의 상이한 항체는 CD38 분자 상의 상이한 에피토프에 결합한다.
- [0057] 에피토프는 결합에 직접 수반되는 아미노산 잔기(또한, 에피토프의 면역우성 성분으로 지칭) 및 결합에 직접 수반되지 않는 기타 아미노산 잔기, 예를 들어, 구체적으로 항원 결합 펩타이드에 의해 효율적으로 차단되는 아미노산 잔기를 포함할 수 있으며; 다시 말하면, 아미노산 잔기는 구체적으로 항원 결합 펩타이드의 풋프린트(footprint) 내에 존재한다.
- [0058] 에피토프는 입체형태 또는 선형 중 어느 하나일 수 있다. 입체형태 에피토프는 선형 폴리펩타이드 쇄의 상이한 세그먼트로부터의 공간적으로 병치된 아미노산에 의해 생성된다. 선형 에피토프는 폴리펩타이드 쇄 내의 인접 아미노산 잔기에 의해 생성되는 것이다. 입체형태 및 비입체형태 에피토프는 전자에 대한 결합이 변성 용매의 존재 하에서 소실되나 후자에서는 그렇지 않다는 점에서 구별될 수 있다.
- [0059] 에피토프는 전형적으로, 독특한 공간 입체형태에서 적어도 3개, 더욱 통상적으로 적어도 5개 또는 8 내지 10개 아미노산을 포함한다. 동일한 에피토프를 인식하는 항체는 표적 항원에 대한 다른 항체의 결합을 차단하는 하나의 항체의 능력을 보여주는 간단한 면역검정법, 예를 들어, 실시예에 약속된 바와 같은 "비닝(binning)"에서 확인될 수 있다. 실시예에 나타난 바와 같은 X선 결정학 연구에 의해, 도 4에 도시된 바와 같이 본 발명의 둘 모두의 항체(Ab19 및 Ab79 포함) 및 종래 기술의 항체(벤치마크 1 및 벤치마크 2)에 결합하는 아미노산 잔기를 동정하였다.
- [0060] 본 발명에서, 실시예에 약속된 바와 같은 Ab79는 K121, F135, Q139, D141, M142, E239, W241, S274, C275, K276, F284, V288, K289, N290, P291, E292 및 D293을 비롯한 CD38의 수많은 아미노산 잔기와 상호작용한다. 이들 잔기가 인간 및 사이노 원숭이 둘 모두에서 동일하며, S274가 실제로 사이노에서는 F274인 예외가 있음을 주목해야 한다. 이들 잔기는 구체적으로 항원 결합 펩타이드의 풋프린트 내의 면역우성 에피토프 및/또는 잔기를 나타낼 수 있다.
- [0061] 본 발명에서, Ab19는 G91, E103, E1034, D105, Q107, M110, K111, T114, Q115, T148, V192, R194, R195, F196, A199, H228, N229, Q231, E233 및 K234를 비롯한 상이한 에피토프에 결합한다. 이들 잔기가 인간 및 사이노 원숭이 둘 모두에서 동일하며, M110이 사이노에서 V110이고, A199가 사이노에서 T199인 예외가 존재한다는 것을 주목해야 한다.
- [0062] 따라서, 일부 실시형태에서, 이들 에피토프 중 어느 하나에서의 결합에 의하여 AB79 및 Ab19와 경쟁하는 항체를 사용하여 자가면역 질환을 치료할 수 있다. Ab79 및 BM1이 일부 중첩을 가지며; 이에 따라, Ab79와 경쟁하며 BM1과는 경쟁하지 않는 항체가 본 발명에서 사용되는 것을 주목해야 한다.
- [0063] 따라서, 본 발명은 인간 및 사이노 CD38 둘 모두에 결합하며, 이들 잔기의 적어도 80%, 90%, 95% 또는 98%와 상호작용하는 항체를 제공한다. 상이하게 기재하면, 상호작용 구역의 표면 영역은 이들 잔기의 영역 이하이다.
- [0064] 각 쇄의 카복시-말단 부분은 주로 이펙터 기능의 원인이 되는 불변 영역을 정한다. 카바트 등은 중쇄 및 경쇄의 가변 영역의 수많은 일차 서열을 수집하였다. 서열의 보존도에 기초하여, 그들은 개별 일차 서열을 CDR 및 프레임워크로 분류하고, 그의 목록을 만들었다(본 명세서에 전문이 참고로 포함되는 문헌[SEQUENCES OF IMMUNOLOGICAL INTEREST, 5th edition, NIH publication, No. 91-3242, E.A. Kabat *et al.*] 참조).
- [0065] 면역글로불린의 IgG 하위분류에서, 중쇄 내에는 몇몇 면역글로불린 도메인이 존재한다. 본 명세서에서 "면역글로불린(Ig) 도메인"은 분명한 3차 구조를 갖는 면역글로불린의 영역을 의미한다. 불변 중쇄(CH) 도메인 및 힌지(hinge) 도메인을 포함하는 중쇄 도메인이 본 발명에서 특히 흥미롭다. IgG 항체와 관련하여, IgG 아이소형은 각각 3개의 CH 영역을 갖는다. 따라서, IgG와 관련하여 "CH" 도메인은 하기와 같다: "CH1"은 카바트에서와 같은

EU 인덱스(index)에 따라 위치 118 내지 220을 지칭한다. "CH2"는 카바트에서와 같은 EU 인덱스에 따라 위치 237 내지 340을 지칭한다. "CH3"은 카바트에서와 같은 EU 인덱스에 따라 위치 341 내지 447을 지칭한다.

[0066] 중쇄의 Ig 도메인의 다른 유형은 힌지 영역이다. 본 명세서에서 "힌지" 또는 "힌지 영역" 또는 "항체 힌지 영역" 또는 "면역글로불린 힌지 영역"은 항체의 제1 및 제2 불변 도메인 사이에 아미노산을 포함하는 가요성 폴리펩타이드를 의미한다. 구조적으로, IgG CH1 도메인은 EU 위치 220에서 종결되며, IgG CH2 도메인은 잔기 EU 위치 237에서 시작된다. 따라서, IgG에 대하여, 항체 힌지는 본 명세서에서 위치 221(IgG1에서 D221) 내지 236(IgG1에서 G236)을 포함하는 것으로 정의되며, 여기서, 넘버링은 카바트에서와 같은 EU 인덱스에 따른다. 일부 실시형태에서, 예를 들어, Fc 영역과 관련하여, 하위(lower) 힌지가 포함되며, "하위 힌지"는 일반적으로 위치 226 또는 230을 지칭한다.

[0067] Fc 영역이 본 발명에서 특히 흥미롭다. 본 명세서에 사용되는 "Fc" 또는 "Fc 영역" 또는 "Fc 도메인"은 제1 불변 영역 면역글로불린 도메인 및 일부의 경우에는 힌지의 부분을 배제한 항체의 불변 영역을 포함하는 폴리펩타이드를 의미한다. 따라서, Fc는 IgA, IgD 및 IgG의 마지막 2개의 불변 영역 면역글로불린 도메인, IgE 및 IgM의 마지막 3개의 불변 영역 면역글로불린 도메인 및 이들 도메인에 대한 가요성 힌지 N-말단을 지칭한다. IgA 및 IgM에 대하여, Fc는 J 쇄를 포함할 수 있다. IgG에 대하여, Fc 도메인은 면역글로불린 도메인 C γ 2 및 C γ 3(C γ 2 및 C γ 3) 및 C γ 1(C γ 1)과 C γ 2(C γ 2)사이의 하위 힌지 영역을 포함한다. 비록 Fc 영역의 경계가 달라질 수 있지만, 인간 IgG 중쇄 Fc 영역은 통상 그의 카복실-말단에 잔기 C226 또는 P230을 포함하는 것으로 정의되며, 여기서, 넘버링은 카바트에서와 같은 EU 인덱스에 따른다. 일부 실시형태에서, 하기에 더욱 완전히 기재되는 바와 같이, Fc 영역에 대하여 아미노산 변형을 이루어, 예를 들어, 하나 이상의 Fc γ R 수용체 또는 FcRn 수용체에 대한 결합을 변경시킨다.

[0068] 일부 실시형태에서, 항체는 전장이다. 본 명세서에서 "전장 항체"는 본 명세서에서 약술된 바와 같은 하나 이상의 변형을 포함하는, 가변 및 불변 영역을 포함하는 항체의 천연 생물학적 형태를 구성하는 구조를 의미한다.

[0069] 대안적으로, 항체는 각각 항체 단편, 모노클로날 항체, 이중특이적 항체, 미니바디(minibody), 도메인 항체, 합성 항체(때때로 본 명세서에서 "항체 모방체"로 지칭), 키메라 항체, 인간화 항체, 항체 융합(때때로, "항체 컨쥬게이트(conjugate)"로 지칭) 및 각각의 단편을 포함하나 이에 한정되지 않는 다양한 구조일 수 있다. 구조는 여전히 의존한다.

[0070] 일 실시형태에서, 항체는 항체 단편이다. 특이적 항체 단편은 (i) VL, VH, CL 및 CH1 도메인으로 이루어진 Fab 단편, (ii) VH 및 CH1 도메인으로 이루어진 Fd 단편, (iii) 단일 항체의 VL 및 VH 도메인으로 이루어진 Fv 단편; (iv) 단일 가변으로 이루어진 dAb 단편(본 명세서에 전문이 참고로 포함되는 문헌[Ward *et al.*, 1989, Nature 341:544-546]), (v) 단리된 CDR 영역, (vi) F(ab')₂ 단편, 2개의 결합된 Fab 단편을 포함하는 2가 단편, (vii) 단쇄 Fv 분자(scFv)를 포함하나 이에 한정되지 않으며, 여기서, VH 도메인 및 VL 도메인은 펩타이드 링커에 의해 결합되며, 이는 2개의 도메인이 회합되어 항원 결합 부위를 형성하게 한다(본 명세서에 전문이 참고로 포함되는 문헌[Bird *et al.*, 1988, Science 242:423-426], 문헌[Huston *et al.*, 1988, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 85:5879-5883]), (viii) 이중특이적 단쇄 Fv(본 명세서에 참고로 포함되는 WO 03/11161호) 및 (ix) 유전자 융합에 의해 구축되는 "다이아바디(diabody)" 또는 "트라이아바디(triabody)", 다가 또는 다중 특이적 단편(문헌[Tomlinson *et al.*, 2000, Methods Enzymol. 326:461-479]; WO94/13804호; 문헌[Holliger *et al.*, 1993, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 90:6444-6448](모든 전문이 본 명세서에 참고로 포함됨))을 포함하나 이에 한정되지 않는다.

[0071] 키메라 및 인간화 항체

[0072] 일부 실시형태에서, 항체는 상이한 종, 예를 들어, 키메라 항체 및/또는 인간화 항체로부터의 혼합물일 수 있다. 다시 말하면, 본 발명에서, CDR 세트는 본 명세서의 서열에 의해 구체적으로 기재되는 것들 이외의 프레임워크 및 불변 영역과 함께 사용될 수 있다.

[0073] 일반적으로, "키메라 항체" 및 "인간화 항체" 둘 모두는 1종 초과로부터의 영역을 조합한 항체를 지칭한다. 예를 들어, "키메라 항체"는 통상적으로 마우스(또는 일부 경우에는 랫트(rat))로부터의 가변 영역(들) 및 인간으로부터의 불변 영역(들)을 포함한다. "인간화 항체"는 일반적으로 가변-도메인 프레임워크 영역이 인간 항체에서 발견되는 서열로 교환된 비-인간 항체를 지칭한다. 일반적으로, 인간화 항체에서, CDR을 제외한 전체 항체는 인간 기원의 폴리뉴클레오타이드에 의해 암호화되거나, 그의 CDR 내를 제외하고는 상기 항체와 동일하다. 그의 일부 또는 전부가 비-인간 유기체에서 유래하는 핵산에 의해 암호화되는 CDR은 항체를 생성하기 위해 인간 항체

가변 영역의 베타-시트 프레임워크 내에 그래프트되고, 그 특이성은 그래프트되는 CDR에 의해 결정된다. 이러한 항체의 생성은 예를 들어, WO 92/11018호, 문헌[Jones, 1986, Nature 321:522-525], 문헌[Verhoeyen et al., 1988, Science 239:1534-1536](모든 전문이 참고로 포함됨)에 기재되어 있다. 선택된 수용 프레임워크 잔기의 해당하는 공여 잔기로의 "복귀 돌연변이(backmutation)"는 종종 초기의 그래프트된 구축물에서 소실된 친화성을 다시 얻는데 필요하다(미국 특허 제US 5530101호; 제US 5585089호; 제US 5693761호; 제US 5693762호; 제US 6180370호; 제US 5859205호; 제US 5821337호; 제US 6054297호; 제US 6407213호(모든 전문이 참고로 포함됨)). 또한, 인간화 항체는 면역글로불린 불변 영역의 적어도 일부분, 전형적으로 인간 면역글로불린의 것을 최적으로 포함할 것이며, 이에 따라, 전형적으로 인간 Fc 영역을 포함할 것이다. 인간화 항체는 또한 유전적으로 엔지니어링된 면역계가 존재하는 마우스를 사용하여 생성될 수 있다. 문헌[Roque et al., 2004, Biotechnol. Prog. 20:639-654]의 전문이 참고로 포함된다. 비-인간 항체를 인간화하고 재성형하기 위한 다양한 기술 및 방법이 당 업계에 널리 공지되어 있다(문헌[Tsurushita & Vasquez, 2004, Humanization of Monoclonal Antibodies, Molecular Biology of B Cells, 533-545, Elsevier Science (USA)] 및 상기 문헌에 제시된 참조문헌 참조(모두의 전문이 참고로 포함됨)). 인간화 방법은 문헌[Jones et al., 1986, Nature 321:522-525]; 문헌[Riechmann et al., 1988, Nature 332:323-329]; 문헌[Verhoeyen et al., 1988, Science, 239:1534-1536]; 문헌[Queen et al., 1989, Proc Natl Acad Sci, USA 86:10029-33]; 문헌[He et al., 1998, J. Immunol. 160: 1029-1035]; 문헌[Carter et al., 1992, Proc Natl Acad Sci USA 89:4285-9], 문헌[Presta et al., 1997, Cancer Res. 57(20):4593-9]; 문헌[Gorman et al., 1991, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:4181-4185]; 문헌[O'Connor et al., 1998, Protein Eng 11:321-8]에 기재된 방법을 포함하나 이에 한정되지 않으며, 모두는 전문이 참고로 포함된다. 비인간 항체 가변 영역의 면역원성을 줄이는 인간화 또는 기타 방법은 예를 들어, 전문이 참고로 포함되는 문헌[Roguska et al., 1994, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91:969-973]에 기재된 바와 같은 리서페이싱(resurfacing) 방법을 포함할 수 있다. 일 실시형태에서, 모 항체는 당업계에 공지된 바와 같이 친화성이 성숙된다. 예를 들어, USSN 11/004,590에 기재된 바와 같이 인간화 및 친화성 성숙을 위해 구조-기반의 방법을 사용할 수 있다. 문헌[Wu et al., 1999, J. Mol. Biol. 294:151-162]; 문헌[Baca et al., 1997, J. Biol. Chem. 272(16):10678-10684]; 문헌[Rosok et al., 1996, J. Biol. Chem. 271(37): 22611-22618]; 문헌[Rader et al., 1998, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95: 8910-8915]; 문헌[Krauss et al., 2003, Protein Engineering 16(10):753-759](모두가 전문이 참고로 포함됨)에 기재된 방법을 포함하나 이에 한정되지 않는 선택 기반의 방법을 사용하여 항체 가변 영역을 인간화시키고/거나 친화성 성숙시킬 수 있다. USSN 09/810,510; 문헌[Tan et al., 2002, J. Immunol. 169:1119-1125]; 문헌[De Pascalis et al., 2002, J. Immunol. 169:3076-3084](모두가 전문이 참고로 포함됨)을 포함하나 이에 한정되지 않는 다른 인간화 방법은 CDR의 오직 일부의 그래프트를 수반할 수 있다.

[0074] 일 실시형태에서, 본 발명의 항체는 다중특이적 항체, 및 특히, 때때로 "다이하바디"로도 지칭되는 이중특이적 항체일 수 있다. 이들은 2개(또는 그 이상의) 상이한 항원 또는 동일한 항원 상의 상이한 에피토프에 결합하는 항체이다. 다이하바디는 당업계에 공지된 다양한 방법으로 제작될 수 있으며(전문이 참고로 포함되는 문헌[Holliger and Winter, 1993, Current Opinion Biotechnol. 4:446-449]), 예를 들어, 화학적으로 또는 하이브리드 하이브리도마로부터 제조될 수 있다.

[0075] 일 실시형태에서, 항체는 미니바디이다. 미니바디는 CH3 도메인에 결합된 scFv를 포함하는 최소화된 항체-유사 단백질이다. 문헌[Hu et al., 1996, Cancer Res. 56:3055-3061]은 전문이 참고로 포함된다. 일부 경우에, scFv는 Fc 영역에 결합될 수 있으며, 일부 또는 전체 힌지 영역을 포함할 수 있다.

[0076] 본 발명의 항체는 일반적으로 단리되거나 재조합될 수 있다. 본 명세서에 개시된 다양한 폴리펩타이드를 기재하는데 사용되는 경우 "단리된"은 폴리펩타이드가 발현되는 세포 또는 세포 배양물로부터 동정하여, 단리하고/거나 회수한 폴리펩타이드를 의미한다. 대개, 단리된 폴리펩타이드는 적어도 하나의 정제 단계에 의해 제조될 것이다. "단리된 항체"는 상이한 항원 특이성을 갖는 다른 항체가 실질적으로 없는 항체를 지칭한다. 예를 들어, CD38에 특이적으로 결합하는 단리된 항체는 CD38 이외의 항원에 특이적으로 결합하는 항체가 실질적으로 없다.

[0077] 그러나, 인간 CD38 또는 사이노몰구스 CD38의 에피토프, 아이소폼(isoform) 또는 변이체에 특이적으로 결합하는 단리된 항체는 예를 들어, CD38 중 상동체와 같이 다른 종으로부터의 기타 관련 항원에 대하여 교차 반응성을 가질 수 있다. 더욱이, 단리된 항체는 기타 세포 물질 및/또는 화합물이 실질적으로 없을 수 있다.

[0078] 상이한 특이성을 갖는 단리된 모노클로날 항체는 잘 정의되어 있는 조성물에서 조합될 수 있다. 따라서, 예를 들어, Ab79 및 Ab19는 필요에 따라 단일의 제형에서 조합될 수 있다.

- [0079] 본 발명의 항-CD38 항체는 CD38 리간드(예를 들어, 서열 번호 1 및 2의 인간 및 사이노몰구스 CD38 단백질)에 특이적으로 결합한다. "특이적인 결합" 또는 특정 항원 또는 에피토프에 "특이적으로 결합한다" 또는 특정 항원 또는 에피토프에 대해 "특이적인"은 비-특이적인 상호작용과 측정가능하게 상이한 결합을 의미한다. 특이적인 결합은 예를 들어, 일반적으로 결합 활성을 갖지 않는 유사 구조의 분자인 대조군 분자의 결합에 비한 분자의 결합의 결정에 의해 측정될 수 있다. 예를 들어, 특이적인 결합은 표적과 유사한 대조군 분자와의 경쟁에 의해 결정될 수 있다.
- [0080] 특정 항원 또는 에피토프에 대한 특이적인 결합은 예를 들어, 항원 또는 에피토프에 대한 KD가 적어도 약 10^{-4} M, 적어도 약 10^{-5} M, 적어도 약 10^{-6} M, 적어도 약 10^{-7} M, 적어도 약 10^{-8} M, 적어도 약 10^{-9} M, 대안적으로 적어도 약 10^{-10} M, 적어도 약 10^{-11} M, 적어도 약 10^{-12} M 또는 그 이상인 항체에 의해 나타날 수 있으며, 여기서, KD는 특정 항체-항원 상호작용의 해리 속도를 지칭한다. 전형적으로, 항원에 특이적으로 결합하는 항체는 항원 또는 에피토프에 대한 대조군 분자에 비하여 KD가 20배, 50배, 100배, 500배, 1000배, 5,000배, 10,000배 또는 그 이상 더 클 것이다.
- [0081] 또한, 특정 항원 또는 에피토프에 대한 특이적인 결합은 항원 또는 에피토프에 대한 KA 또는 Ka가 대조군에 비해 에피토프에 대하여 적어도 20배, 50배, 100배, 500배, 1000배, 5,000배, 10,000배 또는 그 이상 더 큰 항체에 의해 나타날 수 있으며, 여기서, KA 또는 Ka는 특정 항체-항원 상호작용의 회합 속도를 지칭한다.
- [0082] 항체 변형
- [0083] 본 발명은 추가로 변이체 항체를 제공한다. 다시 말하면, CDR에서의 아미노산 변형(친화성 성숙), Fc 영역에서의 아미노산 변형, 글라이코실화 변이체, 다른 유형의 공유적 변형 등을 포함하나 이에 한정되지 않는 본 발명의 항체에 행해질 수 있는 수많은 변형이 존재한다.
- [0084] 본 명세서에서 "변이체"는 적어도 하나의 아미노산 변형 때문에, 모 폴리펩타이드의 서열과 상이한 폴리펩타이드 서열을 의미한다. 아미노산 변형은 치환, 삽입 및 결실을 포함할 수 있으며, 전자가 많은 경우에 바람직하다.
- [0085] 일반적으로, 변이체는 본 명세서에 기재된 바와 같이, 단백질의 기능이 여전히 존재하는 한, 임의의 개수의 변형을 포함할 수 있다. 다시 말하면, 예를 들어, Ab79 또는 Ab19 중 어느 하나의 CDR로 생성된 아미노산 변이체의 경우에, 항체는 여전히 인간 및 사이노몰구스 CD38에 특이적으로 결합해야 한다. 유사하게, 예를 들어, 아미노산 변이체가 Fc 영역으로 생성된다면, 변이체 항체는 항체의 표시 또는 특정 응용에 필요한 수용체 결합 기능을 유지해야 한다.
- [0086] 그러나, 일반적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개 아미노산 치환이 일반적으로 사용되는데, 이는 종종 최소의 수의 변형으로 기능을 변경시키는 것이목적이기 때문이다. 일부 경우에, 1 내지 5개의 변형이 존재하며, 1 및 2개, 1 내지 3개 및 1 내지 4개도 또한 많은 실시형태에서 사용된다.
- [0087] 많은 아미노산 변형이 기능 도메인 내에 존재할 수 있음을 주목해야 한다: 예를 들어, 야생형 또는 엔지니어링된 단백질의 Fc 영역 내의 1 내지 5개의 변형뿐 아니라 Fv 영역 내의 1 내지 5개의 변형을 갖는 것이 바람직할 수 있다. 변이체 폴리펩타이드 서열은 바람직하게는 모 서열(예를 들어, Ab79 및/또는 Ab19에 대한 가변 영역, 불변 영역 및/또는 중쇄 및 경쇄 서열)에 대하여 적어도 약 80%, 85%, 90%, 95% 또는 최대 98 또는 99%의 동일성을 가질 것이다. 동일성 백분율이 서열의 크기에 따라 아미노산의 개수에 좌우될 것임을 주목하여야 한다.
- [0088] 본 명세서에서 "아미노산 치환" 또는 "치환"은 모 폴리펩타이드 서열 내의 특정 위치의 아미노산의 다른 아미노산으로의 대체를 의미한다. 예를 들어, 치환 S100A는 위치 100의 세린이 알라닌으로 대체된 변이체 폴리펩타이드를 지칭한다. 본 명세서에 사용되는 "아미노산 삽입" 또는 "삽입"은 모 폴리펩타이드 서열 내의 특정 위치에서의 아미노산의 부가를 의미한다. 본 명세서에 사용되는 "아미노산 결실" 또는 "결실"은 모 폴리펩타이드 서열 내의 특정 위치에서의 아미노산의 제거를 의미한다.
- [0089] 본 명세서에서 사용되는 "모 폴리펩타이드", "모 단백질", "전구체 폴리펩타이드" 또는 "전구체 단백질"은 이후에 변형되어 변이체를 생성하는 미변형된 폴리펩타이드를 의미한다. 일반적으로, 본 명세서에서 모 폴리펩타이드는 Ab79 및 Ab19이다. 모 폴리펩타이드는 폴리펩타이드 그 자체, 모 폴리펩타이드를 포함하는 조성물 또는 그를 암호화하는 아미노산 서열을 지칭할 수 있다. 따라서, 본 명세서에서 사용되는 "모 Fc 폴리펩타이드"는 변이체를 생성하도록 변형되는 Fc 폴리펩타이드를 의미하며, 본 명세서에서 사용되는 "모 항체"는 변형되어 변이체

항체를 생성하는 항체를 의미한다.

- [0090] 본 명세서에서 "야생형" 또는 "WT" 또는 "천연"은 대립형질 변이(allelic variation)를 포함하여, 자연에서 관찰되는 아미노산 서열 또는 뉴클레오타이드 서열을 의미한다. WT 단백질, 폴리펩타이드, 항체, 면역글로불린, IgG 등은 의도적으로 변형되지 않은 아미노산 서열 또는 뉴클레오타이드 서열을 갖는다.
- [0091] 본 명세서에서 "변이체 Fc 영역"은 적어도 하나의 아미노산 변형 때문에 야생형 Fc 서열의 것과 상이한 Fc 서열을 의미한다. Fc 변이체는 Fc 폴리펩타이드 그 자체, Fc 변이체 폴리펩타이드를 포함하는 조성물 또는 아미노산 서열을 지칭할 수 있다.
- [0092] 일부 실시형태에서, 하나 이상의 아미노산 변형은 항체의 하나 이상의 CDR에서 이루어진다(Ab79 또는 Ab19 중 어느 하나). 일반적으로, 임의의 단일의 CDR에서 오직 1 또는 2 또는 3개의 아미노산만이 치환되며, 일반적으로, 일련의 CDR에서 4, 5, 6, 7, 8 9 또는 10개 이하의 변이가 이루어진다. 그러나, 임의의 CDR에서의 비치환, 1, 2 또는 3개의 치환의 임의의 조합이 독립적으로, 그리고 임의로, 임의의 다른 치환과 조합될 수 있음이 인식되어야 한다.
- [0093] 일부 경우에, CDR 내의 아미노산 변형이 "친화성 성숙"으로 지칭된다. "친화성 성숙된" 항체는 하나 이상의 CDR 내의 하나 이상의 변경(들)을 가지며, 이는 하나 이상의 변경(들)을 갖지 않는 모 항체에 비하여, 항원에 대한 항체의 친화성의 향상을 야기한다. 일부 경우에, 드물지만, 항원에 대한 항체의 친화성을 감소시키는 것이 바람직할 수 있지만, 이는 일반적으로 바람직하지 않다.
- [0094] 친화성 성숙은 항원에 대한 항체의 결합 친화성을 "모" 항체에 비하여 적어도 약 10% 내지 50 내지 100 내지 150% 이상, 또는 1 내지 5배 증가시키기 위해 행해질 수 있다. 바람직한 친화성 성숙된 항체는 표적 항원에 대한 나노몰 또는 심지어는 피코몰의 친화성을 가질 것이다. 친화성 성숙된 항체는 공지되어 있는 절차에 의해 생성된다. 예를 들어, 가변 중쇄(VH) 및 가변 경쇄(VL) 도메인 셔플링(shuffling)에 의한 친화성 성숙을 기재하는 문헌[Marks et al., 1992, Biotechnology 10:779-783]을 참조한다. CDR 및/또는 프레임워크 잔기의 무작위 돌연변이유발은 예를 들어, 문헌[Barbas, et al. 1994, Proc. Nat. Acad. Sci, USA 91:3809-3813]; 문헌[Shier et al., 1995, Gene 169:147-155]; 문헌[Yelton et al., 1995, J. Immunol. 155:1994-2004]; 문헌[Jackson et al., 1995, J. Immunol. 154(7):3310-9]; 및 문헌[Hawkins et al, 1992, J. Mol. Biol. 226:889-896]에 기재되어 있다.
- [0095] 대안적으로, "침묵", 예를 들어, 항원에 대한 항체의 친화성을 유의미하게 변경시키지 않는, 본 발명의 항체의 하나 이상의 CDR에서 아미노산 변형이 이루어질 수 있다. 이들은 발현의 최적화를 비롯한 수많은 이유로 이루어질 수 있다(본 발명의 항체를 암호화하는 핵산에 대하여 행해질 수 있는 바와 같이).
- [0096] 따라서, 본 발명의 CDR 및 항체의 정의 내에는 변이체 CDR 및 항체가 포함되며; 다시 말하면, 본 발명의 항체는 Ab79 및 Ab19의 하나 이상의 CDR에서의 아미노산 변형을 포함할 수 있다. 또한, 하기에 약술되는 바와 같이, 아미노산 변형은 독립적으로 그리고 임의로, 프레임워크 및 불변 영역을 포함하는 CDR 외측의 임의의 영역에서도 이루어질 수 있다.
- [0097] 일부 실시형태에서, 인간 CD38(서열 번호 1) 및 사이노몰구스 CD38(서열 번호 2)에 대하여 특이적인 Ab79 및 Ab19의 변이체 항체가 기재된다. 이러한 항체는 6개의 CDR로 이루어지며, 여기서, 이러한 항체의 각 CDR은 0, 1 또는 2개의 아미노산 치환에 의해 서열 번호 3, 서열 번호 4, 서열 번호 5, 서열 번호 6, 서열 번호 7 및 서열 번호 8과 상이할 수 있다. 다른 실시형태에서, 변이체 항-CD38 항체는 6개의 CDR로 이루어지며, 여기서, 이러한 항체의 각 CDR은 0, 1 또는 2개의 아미노산 치환에 의해 서열 번호 13, 서열 번호 14, 서열 번호 15, 서열 번호 16, 서열 번호 17 및 서열 번호 18과 상이할 수 있다.
- [0098] 일부 실시형태에서, 본 발명의 항-CD38 항체는 변이체 Fc 도메인으로 이루어진다. 당업계에 공지된 바와 같이, 항체의 Fc 영역은 다수의 Fc 수용체 및 리간드와 상호작용하여, 이펙터 기능으로서 지칭되는 다수의 중요한 기능적 능력을 부여한다. 이들 Fc 수용체는 (인간에서) 아이소폼 Fc γ RIa, Fc γ RIb 및 Fc γ RIc를 포함하는 Fc γ RI(CD64); 아이소폼 Fc γ RIIa(동종형 H131 및 R131 포함), Fc γ RIIb(Fc γ RIIb-1 및 Fc γ RIIb-2 포함) 및 Fc γ RIIc를 포함하는 Fc γ RII(CD32); 및 아이소폼 Fc γ RIIIa(항체-의존성 세포 독성(ADCC)과 상호관련된 동종형 V158 및 F158 포함) 및 Fc γ RIIIb(동종형 Fc γ RIIIb-NA1 및 Fc γ RIIIb-NA2 포함), FcRn(신생아 수용체), C1q(보체 의존성 세포독성(CDC)에 수반되는 보체 단백질) 및 FcRn(혈청 반감기에 관여하는 신생아 수용체)을 포함하는 Fc γ RIII(CD16)를 포함하나 이에 한정되지 않는다. 적절한 변형은 특히, Fc 수용체로의 결합을 증가시키는 특정 아미노산 치환에 대하여, 예를 들어, 미국 특허 출원 제US 11/841,654호 및 거기에 기재된 참고문헌,

미국 특허 출원 공개 제US 2004/013210호, 미국 특허 출원 공개 제US 2005/0054832호, 미국 특허 출원 공개 제US 2006/0024298호, 미국 특허 출원 공개 제US 2006/0121032호, 미국 특허 출원 공개 제US 2006/0235208호, 미국 특허 출원 공개 제US 2007/0148170호, USSN 12/341,769, 미국 특허 제US 6,737,056호, 미국 특허 제US 7,670,600호, 미국 특허 제US 6,086,875호(모두는 그들 전문이 명시적으로 참고로 포함됨)에서 일반적으로 약속된 바와 같이 하나 이상의 위치에서 이루어질 수 있다.

[0099] 상기 약속된 변형에 더하여, 다른 변형이 이루어질 수 있다. 예를 들어, 분자는 VH 및 VL 도메인을 결합시키는 이황화물 가교의 혼입에 의해 안정화될 수 있다(전문이 참고로 포함되는 문헌[Reiter et al., 1996, Nature Biotech. 14:1239-1245]). 또한, 하기에 약속된 바와 같이 이루어질 수 있는 항체의 다양한 공유 변형이 존재한다.

[0100] 항체의 공유 변형은 본 발명의 범주 내에 포함되며, 번역 후 행해지는 것이 일반적이나 항상 그러한 것은 아니다. 예를 들어, 항체의 몇몇 유형의 공유 변형은 항체의 특정 아미노산 잔기를, 선택된 측쇄 또는 N- 또는 C-말단 잔기와 반응할 수 있는 유기 유도체화제(organic derivatizing agent)와 반응시킴으로써 분자 내로 도입된다.

[0101] 시스테이닐 잔기는 가장 통상적으로 α -할로아세테이트 (및 상응하는 아민), 예를 들어 클로로아세트산 또는 클로로아세트아미드와 반응하여 카복시메틸 또는 카복시아미도메틸 유도체를 생성한다. 또한, 시스테이닐 잔기는 브로모트라이플루오로아세톤, α -브로모- β -(5-이미도조일)프로피온산, 클로로아세틸 포스페이트, N-알킬말레이미드, 3-나이트로-2-피리딜 다이설피드, 메틸 2-피리딜 다이설피드, p-클로로머큐리벤조에이트, 2-클로로머큐리-4-나이트로페놀, 또는 클로로-7-나이트로벤조-2-옥사-1,3-다이아졸 등과의 반응에 의해 유도체화될 수 있다.

[0102] 히스티딜 잔기는 pH 5.5 내지 7.0에서 다이에틸피로카보네이트와의 반응에 의해 유도체화되는데, 그 이유는 이러한 물질이 히스티딜 측쇄에 대해 비교적 특이적이기 때문이다. 파라-브로모펜아실 브로마이드도 유용하고; 반응은 바람직하게는 pH 6.0에서 0.1 M 카코닐산나트륨 내에서 수행된다.

[0103] 라이시닐 및 아미노 말단 잔기는 석신산 또는 다른 카복실산 무수물과 반응한다. 이들 물질을 사용한 유도체화는 라이시닐 잔기의 전하를 역전시키는 효과를 갖는다. 알파-아미노 함유 잔기의 유도체화에 적합한 다른 시약은 이미도에스터, 예를 들어 메틸 피콜린이미데이트; 피리독살 포스페이트; 피리독살; 클로로보로하이드라이드; 트라이나이트로벤젠설포산; 0-메틸이소우레아; 2,4-펜탄다이온; 및 글라이옥실레이트를 사용한 트랜스아미나제-촉매작용된 반응을 포함한다.

[0104] 아르기닐 잔기는 하나 또는 몇몇의 통상적인 시약, 그들 중 특히, 페닐글라이옥살, 2,3-부탄다이온, 1,2-사이클로헥산다이온, 및 닐하이드린과의 반응에 의해 변형된다. 아르기닌 잔기의 유도체화는 구아니딘 작용기의 높은 pKa 때문에 반응이 알칼리성 조건에서 수행될 것을 필요로 한다. 또한, 이들 시약은 라이신의 기 및 아르기닌 앵실론-아미노기와 반응할 수 있다.

[0105] 티로실 잔기의 특이적인 변형이 이루어질 수 있고, 특히 방향족 다이아조늄 화합물 또는 테트라나이트로메탄과의 반응에 의해 분광 표지를 티로실 잔기 내로 도입하는 것이 특히 흥미롭다. 가장 일반적으로, N-아세틸이미디졸 및 테트라나이트로메탄은 각각 O-아세틸 티로실 화학종 및 3-나이트로 유도체를 형성하기 위해 사용된다. 티로실 잔기는 방사성 면역검정에 사용하기 위한 표지된 단백질을 제조하기 위해 ¹²⁵I 또는 ¹³¹I를 사용하여 요오드화되고, 상기한 클로라민 T 방법이 적합하다.

[0106] 카복실 측쇄기(아스파르트릴 또는 글루타미닐)는 카보다이어미드(R'-N=C=N-R')(여기서, R 및 R'는 임의로 상이한 알킬기임), 예를 들어 1-사이클로헥실-3-(2-모르폴리닐-4-에틸) 카보다이어미드 또는 1-에틸-3-(4-아조니아-4,4-다이메틸펜틸) 카보다이어미드와의 반응에 의해 선택적으로 변형된다. 또한, 아스파르트릴 및 글루타미닐 잔기는 암모늄 이온과의 반응에 의해 아스파라기닐 및 글루타미닐 잔기로 전환된다.

[0107] 항체를 하기에 기재된 방법에 더하여 다양한 방법에 사용하기 위해 수불용성 지지체 매트릭스 또는 표면에 가교 결합시키기 위해 2작용성 물질을 사용하는 유도체화가 유용하다. 일반적으로 사용되는 가교결합제는 예를 들어 1,1-비스(다이아조아세틸)-2-페닐에탄, 글루타르알데히드, N-하이드록시석신이미드 에스터, 예를 들어 4-아지도살리실산과의 에스터, 동종2작용성 이미도에스터, 예를 들어 다이석신이미딜 에스터, 예를 들어 3,3'-다이티오비스(석신이미딜프로피오네이트), 및 2작용성 말레이미드, 예를 들어 비스-N-말레이미도-1,8-옥탄을 포함한다. 유도체화제, 예를 들어 메틸-3-[(p-아지도페닐)다이티오]프로피오이미데이트는 광의 존재 하에 가교결합을 형성할 수 있는 광활성화가능한 중간체를 생성한다. 대안적으로, 반응성 수불용성 매트릭스, 예를 들어 브롬화시안-

활성화 탄수화물 및 미국 특허 제3,969,287호; 제3,691,016호; 제4,195,128호; 제4,247,642호; 제4,229,537호; 및 제4,330,440호에 기재된 반응성 기질이 단백질 고정화를 위해 사용된다.

[0108] 글루타미닐 및 아스파라기닐 잔기는 종종 각각 대응하는 글루타미닐 및 아스파르틸 잔기로 탈아미드화된다. 대안적으로, 이들 잔기는 약산성 조건 하에 탈아미드화된다. 이들 잔기의 어느 하나의 형태는 본 발명의 범위 내에 속한다.

[0109] 다른 변형은 프롤린 및 라이신의 하이드록실화, 세틸 또는 트레오닐 잔기의 하이드록실기의 인산화, 라이신, 아르기닌, 및 히스티딘 측쇄의 α -아미노기의 메틸화(전문이 참고로 포함되는 문헌[T. E. Creighton, Proteins: Structure and Molecular Properties, W. H. Freeman & Co., San Francisco, pp. 79-86 (1983)]), N-말단 아민의 아세틸화, 및 임의의 C-말단 카복실기의 아미드화를 포함한다.

[0110] 또한, 당업자에 의해 인식될 바와 같이, 표지(형광, 효소, 자성, 방사성 등을 포함)는 모두 항체(뿐 아니라 본 발명의 다른 조성물)에 첨가될 수 있다.

[0111] 글라이코실화

[0112] 다른 유형의 공유 변형은 글라이코실화의 변경이다. 다른 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 항체는 하나 이상의 엔지니어링된 글라이코폼(glycoform)을 포함하도록 변형될 수 있다. 본 명세서에 사용되는 "엔지니어링된 글라이코폼"은 항체에 공유적으로 부착된 탄수화물 조성물을 의미하며, 상기 탄수화물 조성물은 모 항체와는 화학적으로 상이하다. 엔지니어링된 글라이코폼은 이펙터 기능을 증진 또는 감소시키는 것을 포함하나 이에 한정되지 않는 다양한 목적에 유용할 수 있다. 바람직한 엔지니어링된 글라이코폼의 형태는 무푸코실화(afucosylation)이며, 이는 아마도 Fc γ RIIIa 수용체로의 단단한 결합을 통하여 ADCC 기능의 증가와 관련이 있는 것으로 보인다. 이와 관련하여, "무푸코실화"는 숙주 세포에서 생성되는 대다수의 항체에 푸코스가 실질적으로 없는, 예를 들어, 생성되는 항체의 90-95-98%가 (일반적으로 Fc 영역 내의 N297에 부착된) 항체의 탄수화물 부분의 한 성분으로서 측정할 수 있는 푸코스를 갖지 않는 것을 의미한다. 기능적으로 정의하면, 무푸코실화 항체는 일반적으로 Fc γ RIIIa 수용체에 대하여 적어도 50% 또는 그 이상 더 높은 친화성을 나타낸다.

[0113] 엔지니어링된 글라이코폼은 해당 분야에 공지되어 있는 다양한 방법에 의해 생성될 수 있다(문헌[Umana et al., 1999, Nat Biotechnol 17:176-180]; 문헌[Davies et al., 2001, Biotechnol Bioeng 74:288-294]; 문헌[Shields et al., 2002, J Biol Chem 277:26733-26740]; 문헌[Shinkawa et al., 2003, J Biol Chem 278:3466-3473]; 미국 특허 제 US6,602,684호; USSN 10/277,370; USSN 10/113,929; PCT WO 00/61739A1호; PCT WO 01/29246A1호; PCT WO 02/31140A1호; PCT WO 02/30954A1호(모두의 전문이 참고로 포함됨); 포텔리젠트(Potelligent)(등록 상표) 기술[미국 뉴저지주 프린세톤 소재의 바이오와, 인코포레이티드(Biowa, Inc.)]; 글라이코맵(GlycoMAb)(등록 상표) 글라이코실화 엔지니어링 기술[스위스 취리히 소재의 글라이카트 바이오테크놀로지 아게(GLYCART biotechnology AG)]). 이들 많은 기술은 예를 들어 다양한 유기체 또는 세포주(조작되거나 달리 처리됨) (예를 들어, Lec-13 CHO 세포 또는 랫트 하이브리도마 YB2/O 세포)에서 IgG를 발현하거나, 글라이코실화 경로에 수반되는 효소(예를 들어, FUT8[α 1,6-푸코실트랜스퍼라제] 및/또는 β 1-4-N-아세틸글루코사미닐트랜스퍼라제 III[GnTIII])를 조절하거나, IgG가 발현된 후 탄수화물(들)을 변형시킴에 의한, Fc 영역에 공유 부착되는 푸코실화 및/또는 양분성(bisecting) 올리고당류의 수준의 조절에 기초한다. 예를 들어, "당 엔지니어링된 항체" 또는 시애틀 지네틱스(Seattle Genetics)의 "SEA 기술"은 생성 동안 푸코실화를 억제하는 변형된 당류를 첨가함으로써 기능하며; 예를 들어, 본 명세서에 전문이 참고로 포함되는 제20090317869호를 참조한다. 엔지니어링된 글라이코폼은 전형적으로 상이한 탄수화물 또는 올리고당을 지칭하며; 이에 따라 항체는 엔지니어링된 글라이코폼을 포함할 수 있다.

[0114] 대안적으로, 엔지니어링된 글라이코폼은 상이한 탄수화물 또는 올리고당을 포함하는 IgG 변이체를 지칭할 수 있다. 당업계에 공지되어 있는 바와 같이, 글라이코실화 패턴은 단백질의 서열(예를 들어, 후술되는 바와 같은 특정 글라이코실화 아미노산 잔기의 존재 또는 부재) 또는 단백질이 생성되는 숙주 세포 또는 유기체 둘 모두에 좌우될 수 있다. 특정 발현 시스템이 후술된다.

[0115] 폴리펩타이드의 글라이코실화는 전형적으로 N-결합 또는 O-결합된다. N-결합은 아스파라긴 잔기의 측쇄로의 탄수화물 부분의 부착을 말한다. 트라이-펩타이드 서열 아스파라긴-X-세린 및 아스파라긴-X-트레오닌(여기서, X는 프롤린을 제외한 임의의 아미노산임)은 탄수화물 부분의 아스파라긴 측쇄로의 효소에 의한 부착을 위한 인식 서열이다. 따라서, 폴리펩타이드 내의 이들 트라이-펩타이드 서열 중 어느 하나의 존재에 의해, 유력한 글라이코실화 부위가 생성된다. O-결합된 글라이코실화는 당 N-아세틸갈락토사민, 갈락토스 및 자일로스 중의 하나의 하

이드록시아미노산, 가장 통상적으로는 세린 또는 트레오닌으로의 부착을 말하지만, 5-하이드록시프롤린 또는 5-하이드록시라이신도 사용될 수 있다.

[0116] 항체로의 글라이코실화 부위의 부가는 하나 이상의 상술된 트라이-펩타이드 서열을 함유하도록 아미노산 서열을 변경시킴으로써 편리하게 달성된다(N-결합된 글라이코실화 부위의 경우). 또한, 변경은 출발 서열로서의 하나 이상의 세린 또는 트레오닌 잔기의 부가 또는 이에 의한 치환에 의해 이루어질 수 있다(O-결합된 글라이코실화 부위의 경우). 용이성을 위해, 항체 아미노산 서열은 바람직하게는 DNA 수준에서의 변경을 통해, 특히 목적하는 아미노산으로 번역되는 코돈이 생성되도록 사전선택된 염기에서 표적 폴리펩타이드를 암호화하는 DNA를 돌연변이시킴으로써 변경된다.

[0117] 항체 상의 탄수화물 부분의 수를 증가시키는 다른 수단은 글라이코사이드의 단백질로의 화학적 또는 효소에 의한 커플링에 의한 것이다. 이들 절차는 N- 및 O-결합된 글라이코실화를 위해 글라이코실화 능력을 갖는 숙주 세포에서 단백질의 생성을 필요로 하지 않는다는 점에서 유리하다. 사용되는 커플링 방식에 따라, 당(들)은 (a) 아르기닌 및 히스티딘, (b) 유리 카복실기, (c) 유리 설프하이드릴기, 예를 들어 시스테인의 것, (d) 유리 하이드록실기, 예를 들어 세린, 트레오닌, 또는 하이드록시프롤린의 것, (e) 방향족 잔기, 예를 들어 페닐알라닌, 티로신, 또는 트립토판의 것, 또는 (f) 글루탐인의 아미드기에 부착될 수 있다. 이들 방법은 WO 87/05330호 및 문헌[Aplin and Wriston, 1981, CRC Crit. Rev. Biochem., pp. 259-306](둘 모두는 전문이 참고로 포함됨)에 기재되어 있다.

[0118] 출발 항체 상에 존재하는 탄수화물 부분의 제거(예를 들어, 번역후)는 화학적으로 또는 효소에 의해 달성될 수 있다. 화학적 탈글라이코실화는 화합물 트라이플루오로메탄설폰산, 또는 동등한 화합물에 대한 단백질의 노출을 필요로 한다. 이러한 처리는 폴리펩타이드를 무손상 상태로 유지하면서, 결합 당(N-아세틸글루코사민 또는 N-아세틸갈락토사민)을 제외한 대부분의 또는 모든 당의 절단을 야기한다. 화학적 탈글라이코실화는 문헌[Hakimuddin et al., 1987, Arch. Biochem. Biophys. 259:52] 및 문헌[Edge et al., 1981, Anal. Biochem. 118:131](둘 모두는 전문이 참고로 포함됨)에 기재되어 있다. 폴리펩타이드 상의 탄수화물 부분의 효소에 의한 절단은 문헌[Thotakura et al., 1987, Meth. Enzymol. 138:350](전문이 참고로 포함됨)에 기재된 바와 같이 다양한 엔도- 및 엑소-글라이코시다제의 사용에 의해 달성될 수 있다. 유력한 글라이코실화 부위에서의 글라이코실화는 문헌[Duskin et al., 1982, J. Biol. Chem. 257:3105](전문이 참고로 포함됨)에 기재된 바와 같이 화합물 투니카마이신의 사용에 의해 방지될 수 있다. 투니카마이신은 단백질-N-글라이코사이드 결합의 형성을 차단한다.

[0119] 항체의 다른 종류의 공유 변형은 예를 들어, 넥타르 테라퓨틱스(Nektar Therapeutics)로부터의 2005-2006 PEG 카탈로그(넥타르 웹사이트에서 이용가능함), 미국 특허 제4,640,835호; 제4,496,689호; 제4,301,144호; 제4,670,417호; 제4,791,192호 또는 제4,179,337호(모두는 전문이 참고로 포함됨)에 기재된 방식으로, 다양한 폴리올, 예를 들어 폴리에틸렌 글라이콜, 폴리프로필렌 글라이콜 또는 폴리옥시알킬렌을 포함하나 이에 한정되지 않는 다양한 비단백질성 폴리머에 항체를 결합시키는 것을 포함한다. 추가로, 당업계에 공지된 바와 같이, 아미노산 치환은 폴리머, 예를 들어 PEG의 부가를 용이하게 하기 위해 항체 내의 다양한 위치에서 이루어질 수 있다. 예를 들어, 미국 특허 출원 공개 제2005/0114037A1호(전문이 참고로 포함됨)를 참조한다.

[0120] 특정 CDR 및 가변 영역 실시형태

[0121] 본 발명은 각각 특정 세트의 CDR(상기 약술된 바와 같이, 일부 아미노산 치환을 포함하는)을 갖는 수많은 항체를 제공한다. 상기 약술된 바와 같이, 항체는 6개 CDR의 세트에 의해, 가변 영역에 의해, 또는 불변 영역을 포함하는 전장 중쇄 및 경쇄에 의해 정의될 수 있다. 또한, 상기 약술된 바와 같이, 아미노산 치환이 또한 이루어질 수 있다. 일반적으로, CDR 내의 변화에 관하여, 상대적으로 짧은 길이의 CDR 때문에, 아미노산 변형은 일반적으로, 이루어질 수 있는 아미노산 변형의 개수에 관하여 기재된다. 또한, 이것이 변화의 개수에 더하여, 가변, 불변 또는 전장 서열에 도입될 수 있는 아미노산 변형의 개수의 논의에도 적용가능하지만, "동일성%"에 관하여 이들 변화를 정의하는 것도 또한 적절하다. 따라서, 본 명세서에 기재된 바와 같이, 본 발명 내에 포함되는 항체는 본 명세서에 열거된 서열 번호와 80, 85, 90, 95, 98 또는 99% 동일하다.

[0122] Ab79 항체에 관하여, CDR의 세트는 하기와 같다: 중쇄의 3개의 CDR은 HCDR1 서열 번호 3(HCDR1), 서열 번호 4(HCDR2) 및 서열 번호 5(HCDR3)를 포함하며, 경쇄의 3개의 CDR은 서열 번호 6(LCDR1), 서열 번호 7(LCDR2) 및 서열 번호 8(LCDR3)을 포함한다.

[0123] Ab19에 관하여, CDR의 세트는 하기와 같다: HCDR1(서열 번호 13), HCDR2(서열 번호 14) 및 HCDR3(서열 번호

15), 및 LCDR1(서열 번호 16), LCDR2(서열 번호 17) 및 LCDR3(서열 번호 18).

- [0124] 구체적으로, 서열 번호 24 및 25(벤치마크 1의 중쇄 및 경쇄) 및 서열 번호 26 및 27(벤치마크 2의 중쇄 및 경쇄)의 항체가 본 발명으로부터 배제된다. 이들 항체가 후술되는 사이노몰구스 CD38과 교차 반응성이 아님을 주목해야 한다.
- [0125] 본 발명의 항체는 인간 및 사이노몰구스 CD38과 교차 반응성이며, 이에 따라 중 교차 반응성 항체이다. "중 교차 반응성 항체"는 제1 포유류 종으로부터의 항원에 대한 결합 친화성이 제2 포유류 종으로부터의 항원의 상동체에 대한 결합 친화성과 거의 동일한 항체이다. 중 교차-반응성은 예를 들어, 제2 포유류 종으로부터의 항원의 상동체에 대한 동일한 항체의 KD에 대한 제1 포유류 종의 항원에 대한 항체의 KD의 비로 표현될 수 있으며, 상기 비는 1.1, 1.2, 1.3, 1.4, 1.5, 2, 5, 10, 15, 최대 20이다. 대안적으로 또는 부가적으로, 항체가 제2 종에 투여되는 경우 치료 또는 진단 효능을 보일 때 "중 교차 반응성"이다. 따라서, 현재의 경우에, 본 발명의 항체는 사이노몰구스 CD38과 교차 반응성이며, 사이노몰구스 영양류에 투여되는 경우 사전임상 효능을 보이고, 이에 따라, 교차 반응성으로 고려된다.
- [0126] 일부 실시형태에서, 인간 CD38 및/또는 사이노몰구스 CD38로의 결합을 위하여 본 발명의 항체(예를 들어, Ab79 및/또는 Ab19)와 경쟁하는 항체가 제공되나, BM1 또는 BM2 중 어느 것도 포함되지 않는다. 둘 이상의 항-CD38 항체에 의한 CD38 또는 CD38의 일부분으로의 결합에 대한 경쟁은 당업계에 공지된 바와 같이, 임의의 적절한 기술에 의해 결정될 수 있다.
- [0127] 본 발명의 맥락에서 경쟁은 시험 화합물의 존재 하에서 본 발명의 항체(예를 들어, Ab79 또는 Ab19)가 항체의 특정 결합 파트너, 예를 들어, CD38에 결합하는 경향의 임의의 검출가능한 유의미한 감소를 말한다. 전형적으로, 경쟁은 표준 기술, 예를 들어, ELISA 또는 비아코어(Biacore)(등록 상표) 검정법으로 측정시, 경쟁자의 존재 하에 본 발명의 항체의 CD38로의 결합의 적어도 약 10 내지 100% 감소를 의미한다. 따라서, 예를 들어, 경쟁에 대한 기준을 설정하는 것이 가능하며, 여기서, 항체를 충분히 경쟁적인 것으로 고려하기 전에, 적어도 약 10%의 상대적 억제(예를 들어, 적어도 약 15%의 상대적 억제가 검출되거나; 적어도 약 20%의 상대적 억제가 검출된다. 에피토프가 항원에서 접근하여 위치되는 경쟁 항체에 속하는 경우에, 경쟁은 CD38 결합의 약 40% 초과(예를 들어, 적어도 약 45%의 억제, 예를 들어, 적어도 약 50%의 억제, 예를 들어, 적어도 약 55%의 억제, 예를 들어, 적어도 약 60%의 억제, 예를 들어, 적어도 약 65%의 억제, 예를 들어, 적어도 약 70%의 억제, 예를 들어, 적어도 약 75%의 억제, 예를 들어, 적어도 약 80%의 억제, 예를 들어, 적어도 약 85%의 억제, 예를 들어, 적어도 약 90%의 억제, 예를 들어, 적어도 약 95%의 억제, 또는 더 높은 수준의 상대적 억제)에 의해 표시될 수 있다.
- [0128] 일부 경우에, 진단 응용에 관하여 하기에 논의되는 바와 같이, 경쟁적 결합 검정법의 하나 이상의 성분을 표지한다.
- [0129] 또한, 이는 예를 들어, 충분히 큰 CD38 단편뿐 아니라 CD38에 제시되는 입체형태적 에피토프 또는 다양한 시험된 단편에 위치하는 충분히 제시된 선형 에피토프의 경우에서와 같이, CD38의 특정 영역의 항체-결합 특성이 그의 단편에 보유되는 상황에서, CD38 에피토프 및/또는 CD38의 일부분 중 1개 초과에 대하여 항-CD38 항체 간에 경쟁이 존재할 수 있는 경우일 수 있다.
- [0130] 경쟁의 평가는 전형적으로 본 발명의 항체, CD38(인간 또는 사이노몰구스 중 어느 하나 또는 둘 모두) 및 시험 분자를 사용하는 상대적 억제 결합의 평가를 수반한다. 시험 분자는 다른 항체, 소분자, 펩타이드 등을 포함하는 임의의 분자를 포함할 수 있다. 화합물은 본 발명의 다른 분자에 관한 문제에서 분자의 선택성 및/또는 특이성에 관한 정보를 부여하는 비교를 행하는데 충분한 양으로 혼합된다.
- [0131] 시험 화합물, CD38 및 본 발명의 항체의 양이 달라질 수 있다. 예를 들어, ELISA 평가에 대하여, 경쟁이 존재하는지 여부를 평가하기 위하여 약 5 내지 50 μ g(예를 들어, 약 10 내지 50 μ g, 약 20 내지 50 μ g, 약 5 내지 20 μ g, 약 10 내지 20 μ g 등)의 항-CD38 항체 및/또는 CD38 표적이 필요하다. 조건도 또한 결합에 적절해야 한다. 전형적으로, 생리학적 또는 근사-생리학적 조건(예를 들어, 약 20 내지 40°C의 온도, 약 pH 7 내지 8 등)이 항-CD38:CD38 결합에 적절하다.
- [0132] 경쟁은 종종 ELISA 및/또는 FACS 분석에 의해 결정시, 약 5%보다 유의미하게 더 큰 상대적 억제에 의해 표시된다. 특정 맥락에서(예를 들어, 경쟁 분석을 사용하여 CD38로의 다른 펩타이드의 결합 또는 분자(예를 들어, CD38의 천연 결합 파트너, 예를 들어, CD31 항원으로도 지칭되는 CD31, EndoCAM, GPIIA, PECAM-1, 혈소판/내피 세포 부착 분자 또는 천연 발생 항-CD38 항체) 결합을 차단하는 의도된 기능이 있게 고안된 신규한 항체를 선택

하거나 스크리닝하는 경우), 무엇이 적절한 경쟁 수준인지의 기준/결정인자로서 더 큰 역치의 상대적 억제를 설정하는 것이 바람직할 수 있다.

- [0133] 일부 실시형태에서, 본 발명의 항-CD38 항체는 CD38 내의 하나 이상의 잔기 또는 영역에 특이적으로 결합하나, CD38에 대하여 상동성을 갖는 다른 단백질, 예를 들어, BST-1(골수 기질 세포 항원-1) 및 CD157로도 지칭되는 Mo5와 교차 반응하지 않는다.
- [0134] 전형적으로, 교차-반응성의 결여는 적절한 검정 조건 하에서 충분한 양의 분자를 사용하여 ELISA 및/또는 FACS 분석으로 평가시 분자 간의 약 5% 미만의 상대적 경쟁의 억제를 의미한다.
- [0135] CD38 활성화의 억제
- [0136] 개시된 항체는 리간드-수용체 상호작용을 차단하거나 수용체 성분 상호작용을 억제하는데 사용될 수 있다. 본 발명의 항-CD38 항체는 "차단" 또는 "중화"될 수 있다. "중화 항체"는 CD38로의 결합이 CD38의 생물학적 활성, 예를 들어, 리간드와 상호작용하는 그의 능력, 효소적 활성, 신호전달능 및 특히 활성화 림프구를 야기하는 그의 능력의 억제를 야기하는 항체를 지칭하고자 한다. CD38의 생물학적 활성의 억제는 당업계에서 공지되어 있는 시험관 내 또는 생체 내 검정법에서 하나 이상의 몇몇 표준물에 의해 평가할 수 있다(하기 실시예 참조).
- [0137] "결합의 억제" 또는 "결합의 차단"(예를 들어, CD38 결합 파트너의 CD38로의 결합의 억제/차단을 지칭하는 경우)은 부분 및 완전 억제/차단 둘 모두를 포함한다. CD38 결합 파트너의 CD38로의 결합의 억제/차단은 CD38 결합 파트너가 억제 또는 차단 없이 CD38에 결합하는 경우 발생하는 정상 수준 또는 유형의 세포 신호전달을 감소시키거나 변경시킬 수 있다. 또한, 억제 및 차단은 항-CD38 항체와 접촉하는 경우, 항-CD38 항체와 접촉하지 않는 리간드에 비한, CD38 결합 파트너의 CD38로의 결합 친화성의 임의의 측정가능한 감소, 예를 들어, CD38 결합 파트너의 CD38로의 결합의 적어도 약 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 99% 또는 100%의 차단을 포함하고자 한다.
- [0138] 또한, 개시된 항-CD38 항체는 세포 성장을 억제할 수 있다. "성장의 억제"는 항-CD38 항체와 접촉하는 경우, 항-CD38 항체와 접촉하지 않는 동일한 세포의 성장에 비한, 세포 성장의 임의의 측정가능한 감소, 예를 들어, 세포 배양물의 성장의 적어도 약 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 99% 또는 100%의 억제를 포함한다.
- [0139] 일부 실시형태에서, 개시된 항-CD38 항체는 활성화 림프구 및 형질 세포를 고갈시킬 수 있다. 이러한 문맥에서 "고갈"은 미처리 동물에 비한 활성화 림프구 및/또는 형질 세포의 혈청 수준(예를 들어, 사이노몰구스 원숭이에서 시험된 바와 같은)의 측정가능한 감소를 의미한다. 일반적으로, 적어도 약 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 99% 또는 100%의 고갈이 관찰된다. 또한, 실시예에서 후술되는 바와 같이, 본 발명의 항체가 나타내는 하나의 특정 이점은 투여 후의 이들 세포의 회수가능성이며; 다시 말하면, 일부 처리(예를 들어, 항-cd20 항체로의)에 대하여 공지된 바와 같이, 세포 고갈은 더 긴 기간 동안 지속되어, 원치않는 부작용을 야기할 수 있다. 본 명세서에 나타낸 바와 같이, 활성화 림프구 및/또는 형질 세포에 대한 영향은 만회할 수 있다.
- [0140] 본 발명의 항체의 생성 방법
- [0141] 본 발명은 개시된 항-CD38 항체의 생성 방법을 추가로 제공한다. 이들 방법은 본 발명의 항체를 암호화하는 단리된 핵산(들)을 함유하는 숙주 세포를 배양하는 단계를 포함한다. 당업자에게 인식될 것처럼, 이는 항체의 성질에 따라 다양한 방식으로 행해질 수 있다. 일부 실시형태에서, 본 발명의 항체가 통상의 전장 항체인 경우에, 예를 들어, 항체가 생성되고 단리될 수 있는 조건 하의 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역이다.
- [0142] 일반적으로, 본 발명의 항체를 암호화하는 핵산이 제공된다. 이러한 폴리뉴클레오타이드는 각 중쇄 및 경쇄의 가변 및 불변 영역 둘 모두를 암호화하지만, 본 명세서에 기재된 구성에 따른 다른 조합물도 또한 본 발명에 고려된다. 또한, 본 발명은 개시된 폴리뉴클레오타이드 및 이들 폴리뉴클레오타이드에 상보적인 핵산 서열 유래의 올리고뉴클레오타이드 단편을 고려한다.
- [0143] 폴리뉴클레오타이드는 RNA 또는 DNA의 형태일 수 있다. DNA, cDNA, 게놈 DNA, 핵산 유사체 및 합성 DNA의 형태의 폴리뉴클레오타이드는 본 발명의 범위 내에 있다. DNA는 이중-가닥 또는 단일-가닥일 수 있으며, 단일 가닥이라면, 암호화(센스) 가닥 또는 비암호화(안티-센스) 가닥일 수 있다. 폴리펩타이드를 암호화하는 암호화 서열은 본 명세서에 제공되는 암호화 서열과 동일하거나, 또는 유전 코드의 중복 또는 축퇴성의 결과로서 서열이 본 명세서에 제공되는 DNA와 동일한 폴리펩타이드를 암호화하는 상이한 암호화 서열일 수 있다.
- [0144] 일부 실시형태에서, 본 발명의 항체를 암호화하는 핵산(들)이 발현 벡터 내로 혼입되며, 이는 염색체외이거나,

그것이 도입되는 숙주 세포의 게놈 내로 통합되도록 설계될 수 있다. 발현 벡터는 임의의 수의 적절한 조절 서열(전사 및 번역 조절 서열, 프로모터, 리보솜 결합 부위, 인핸서, 복제 원점 등을 포함하나 이에 한정되지 않는) 또는 기타 성분(선택 유전자 등)을 포함할 수 있으며, 이들 모두는 당업계에 널리 공지된 바와 같이 작동가능하게 결합된다. 일부 경우에, 2가지 핵산을 사용하고 각각을 상이한 발현 벡터(제1 발현 벡터에는 중쇄, 제2 발현 벡터에는 경쇄) 내에 두거나, 또는 대안적으로, 이들을 동일한 발현 벡터에 둘 수 있다. 조절 서열의 선택을 포함하는 발현 벡터(들)의 설계가 숙주 세포의 선택, 원하는 단백질의 발현의 수준 등의 선택과 같은 인자에 좌우될 수 있음이 당업자에 의해 인식될 것이다.

[0145] 일반적으로, 핵산 분자(들)가 하나 이상의 발현 조절 요소에 작동가능하게 결합되도록(예를 들어, 벡터 내에서, 세포 내의 과정에 의해 생성되며 숙주 세포 게놈으로 통합되는 구축물 내에서), 선택된 숙주 세포에 적절한 임의의 방법(예를 들어, 형질전환, 트랜스펙션(transfection), 전기천공법, 감염)을 사용하여, 핵산 및/또는 발현을 적절한 숙주 세포 내로 도입하여, 재조합 숙주 세포를 생성할 수 있다. 생성된 재조합 숙주 세포는 발현에 적절한 조건 하에 유지될 수 있으며(예를 들어, 유도제의 존재 하에, 적절한 비인간 동물에서, 적절한 염, 성장 인자, 항생제, 영양 보충제 등이 보충된 적절한 배양 배지에서), 이에 의해 암호화된 폴리펩타이드(들)가 생성된다. 일부 경우에, 중쇄가 하나의 세포에서 생성되며, 경쇄가 다른 세포에서 생성된다.

[0146] 발현을 위한 숙주로 이용가능한 포유류 세포주는 당업계에 공지되어 있으며, 중국 햄스터 난소(CHO) 세포, HEK 293 세포, NSO 세포, HeLa 세포, 햄스터 새끼 신장(BHK) 세포, 원숭이 신장 세포(COS), 인간 간세포 암종 세포(예를 들어, Hep G2) 및 수많은 기타 세포주를 포함하나 이에 한정되지 않는 미국 버지니아주 머내서스 소재의 ATCC(American Type Culture Collection)로부터 입수할 수 있는 많은 무한증식(immortalized) 세포주를 포함한다. 또한, 박테리아, 효모, 곤충 및 식물을 포함하나 이에 한정되지 않는 비포유류 세포를 사용하여 재조합 항체를 발현할 수 있다. 일부 실시형태에서, 항체는 트랜스제닉 동물, 예를 들어, 소 또는 닭에서 생성될 수 있다.

[0147] 항체 분자 생물학, 발현, 정제 및 스크리닝을 위한 일반적인 방법이 예를 들어, 문헌[Antibody Engineering, edited by Kontermann & Dubel, Springer, Heidelberg, 2001 and 2010 Hayhurst & Georgiou, 2001, Curr Opin Chem Biol 5:683-689]; 문헌[Maynard & Georgiou, 2000, Annu Rev Biomed Eng 2:339-76]; 및 문헌[Morrison, S. (1985) Science 229:1202]에 기재되어 있다.

[0148] 응용 및 지시

[0149] 본 발명의 항체는 일단 제조되면, CD38-관련 질환의 진단 및 그의 치료를 비롯한 다양한 응용에서 사용된다.

[0150] CD38 관련 증상

[0151] 일 태양에서, 본 발명은 염증 및 면역 질환, 특히 활성화 림프구 관련 질환과 관련된 증상의 진단 및 치료 방법을 제공한다. 본 명세서에 나타난 바와 같이, CD38은 미성숙 조혈 세포에서 발현되며, 성숙 세포에서 하향 조절되고, 활성화 림프구 및 형질 세포에서 높은 수준으로 다시 발현된다. 예를 들어, 높은 CD38 발현은 활성화 B 세포, 형질 세포, 활성화 CD4+ T 세포, 활성화 CD8+ T 세포, NK 세포, NKT 세포, 성숙 수지상 세포(DC) 및 활성화 단핵구에서 관찰된다.

[0152] 본 발명의 치료적 항-CD38 항체는 CD38 양성 세포에 결합하여, CDC 및 ADCC 경로 둘 모두를 포함하는 다수의 작용 메커니즘을 통하여 이들 세포, 예를 들어, 활성화 림프구의 고갈이 야기된다.

[0153] 따라서, 질환의 한 요소로서 CD38의 발현 증가 또는 C38 발현 세포의 개수 증가 중 어느 하나를 나타내는 임의의 자가면역 질환은 본 발명의 항체를 사용하여 치료할 수 있다. 이들에는 동종이형 섬세포 이식 거부(allogenic islet graft rejection), 원형 탈모증, 강직성 척추염, 항인지질증후군, 자가면역 에디슨 질환, 항호중구 세포질 자가항체(ANCA), 부신의 자가면역 질환, 자가면역 용혈성 빈혈, 자가면역 간염, 자가면역 심근염, 자가면역 백혈구 감소증, 자가면역 난소염 및 고환염, 자가면역 혈소판 감소증, 자가면역 두드러기, 베체트병, 수포성 유천포창, 심근병증, 캐슬먼 증후군, 복강 스프루스-피부염, 만성피로 면역 장애 증후군, 만성염증 탈수초성 다발성 신경병증, 추르그-스트라우스 증후군, 반흔성 유천포창, 크레스트(CREST) 증후군, 한랭응집질환, 크론병, 피부근염, 원판상루푸스, 본태성 혼합 한냉-글로불린증, 제8인자 결핍증, 섬유근육통-섬유근염(fibromyalgia-fibromyositis), 사구체신염, 그레이브스병, 길랭-바레, 구드패스슈어 증후군, 이식편대숙주병(GVHD), 하시모토 갑상선염, A형 혈우병, 특발성 폐섬유증, 특발성 혈소판 감소 자반병(ITP), IgA 신경병증, IgM 다발신경병증, 면역 매개 혈소판 감소증, 연소성 관절염, 카와사키병, 편평태선, 홍반성 루푸스, 메니에르병, 혼합 결합 조직병, 다발성 경화증, 1형 당뇨병, 중증 근무력증, 보통 천포창, 악성 빈혈, 결절성 다발동맥

염, 다발연골염, 다분비선 증후군, 류마티스성 다발성 근육통, 다발성 근염 및 피부근염, 원발성 무감마글로불린혈증, 원발성 담즙성 간경변, 건선, 건선성 관절염, 레이널드 현상, 라이터 증후군, 류마티스 관절염, 우육종증, 경피증, 쇼그렌 증후군, 고형 장기 이식 거부, 강직 증후군, 전신 홍반성 루푸스, 타카야스 동맥염, 관자동맥염/거대세포 동맥염, 혈전성 혈소판 감소 자반병, 궤양성 대장염, 포도막염, 포진 피부염 맥관염(dermatitis herpetiformis vasculitis)와 같은 맥관염, 백반증 및 베게너 육아종증이 포함되나 이에 한정되지 않는다.

[0154] 일부 실시형태에서, 전신 홍반성 루푸스(SLE), 류마티스 관절염(RA), 염증성 장 질환(IBD), 궤양성 대장염 및 이식편대숙주병을 포함하나 이에 한정되지 않는 자가면역 질환을 포함하나 이에 한정되지 않는 수많은 질환의 진단 및/또는 치료에 사용하기 위한 본 발명의 항체의 이용이 특히 유용하다.

[0155] 따라서, 예를 들어, 형질 세포 함량이 높은 환자, 예를 들어, 높은 형질 세포를 나타내는 SLE 환자뿐 아니라, CD20 기반의 치료법에 비반응성인 것으로 나타난 RA 환자가 선택될 수 있다.

[0156] 일 태양에서, 본 발명은 약제학적 유효량의 개시된 항체를 환자에게 투여하는 단계를 포함하는 CD38을 발현하는 세포의 증식과 관련된 증상의 치료 방법을 제공한다. 특정 실시형태에서, 증상은 암이며, 특정 실시형태에서, 암은 혈액암이다. 다른 특정 실시형태에서, 증상은 다발성 골수종, 만성 림프모구성 백혈병, 만성 림프구성 백혈병, 형질 세포 백혈병, 급성 골수성 백혈병, 만성 골수성 백혈병, B-세포 림프종 또는 버킷 림프종이다.

[0157] 특정 증상이 CD38을 발현하는 세포와 관련이 있으며, 특정 증상이 세포의 표면 상의 CD38의 과발현, 고밀도 발현 또는 상향조절된 발현과 관련이 있음이 해당 분야에 공지되어 있다. 세포 집단이 CD38을 발현하는지 아닌지는 당업계에 공지되어 있는 방법, 예를 들어, 진단 응용에 대하여 일반적으로 후술되는 바와 같이, CD38에 특이적으로 결합하는 항체에 의해 표지된 주어진 집단 내의 세포의 백분율의 유세포분석에 의한 측정 또는 면역조직화학 검정법에 의해 결정될 수 있다. 예를 들어, CD38 발현이 세포의 약 10 내지 30%에서 검출되는 세포의 집단은 CD38에 대하여 약한 양성을 갖는 것으로 간주될 수 있으며; 약 30% 초과와 세포에서 CD38 발현이 검출되는 세포의 집단은 CD38에 대한 분명한 양성으로 간주될 수 있지만(문헌[Jackson *et al.* (1988), *Clin. Exp. Immunol.* 72: 351-356]에서와 같이), 다른 기준을 사용하여 세포의 집단이 CD38을 발현하는 지를 결정할 수 있다. 세포의 표면 상의 발현의 밀도는 당업계에 공지되어 있는 방법, 예를 들어, CD38에 특이적으로 결합하는 항체를 사용하여 형광 표지된 세포의 평균 형광 세기의 유세포분석에 의한 측정을 사용하여 결정할 수 있다.

[0158] 일부 실시형태에서, 본 발명의 조성물 및 방법을 암, 예를 들어, 혈액-형성 조직의 악성 신생물을 지칭하며 백혈병, 림프종 및 다발성 골수종을 포함하는 용어인 "혈액암"에 적용된다. CD38 발현과 관련이 있는 증상의 비제한적인 예에는 당업자에게 널리 공지되어 있는 형태학적, 조직화학적 및 면역학적 기술에 의하여 정의된 이들 백혈병의 모구성 및 모든 하위유형에서 다발성 골수종(문헌[Jackson *et al.* (1988), *Clin. Exp. Immunol.* 72: 351-356]), B-세포 만성 림프구성 백혈병(B-CLL)(문헌[Duerig *et al.* (2002), *Leukemia* 16: 30-5]; 문헌[Morabito *et al.* (2001), *Leukemia Research* 25: 927-32]; 문헌[Marinov *et al.* (1993), *Neoplasma* 40(6): 355-8]; 및 문헌[Jelinek *et al.* (2001), *Br. J. Haematol.* 115: 854-61]), 급성 림프모구성 백혈병(문헌[Keyhani *et al.* (1999), *Leukemia Research* 24: 153-9]; 및 문헌[Marinov *et al.* (1993), *Neoplasma* 40(6): 355-8]), 만성 골수성 백혈병(문헌[Marinov *et al.* (1993), *Neoplasma* 40(6): 355-8]), 급성 골수성 백혈병(문헌[Keyhani *et al.* (1999), *Leukemia Research* 24: 153-9]), 만성 림프구성 백혈병(CLL), 만성 골수성 백혈병 또는 만성 골수백혈병(CML), 급성 골수성 백혈병 또는 급성 골수백혈병(AML), 급성 림프구성 백혈병(ALL), 모발상 세포 백혈병(HCL), 골수형이상증후군(MDS) 또는 만성 골수성 백혈병(CML-BP)이 포함되나 이에 한정되지 않는다.

[0159] "신생물" 또는 "신생물 증상"은 조절되지 않은 성장, 분화의 결여, 국소 조직 침습 및 전이를 포함하는 하나 이상의 징후를 야기하는 정상적인 조절의 소실을 특징으로 하는 세포의 증식과 관련된 증상을 말한다.

[0160] 본 발명의 일부 실시형태에서, 혈액암은 만성 림프구성 백혈병(CLL), 만성 골수성 백혈병(CML), 급성 골수성 백혈병(AML) 및 급성 림프구성 백혈병(ALL)의 군으로부터 선택된다.

[0161] 추가로, CD38 발현이 예를 들어 B-세포 만성 림프구성 백혈병(문헌[Duerig *et al.* (2002), *Leukemia* 16: 30-5]; 및 문헌[Morabito *et al.* (2001), *Leukemia Research* 25: 927-32]) 및 급성 골수성 백혈병(문헌[Keyhani *et al.* (1999), *Leukemia Research* 24: 153-9])과 같은 증상이 있는 환자에 대한 예후 지표인 것이 당업계에 공지되어 있다.

[0162] CLL은 서부에서 가장 통상적인 성인 백혈병이다. CLL은 림프절 및 다른 림프계 조직을 포함하는 성숙-발생(mature-appearing) 림프구의 클론 증식과 함께, 골수의 점진적 침투 및 말초 혈액에서의 존재를 수반한다. B-

세포 형태(B-CLL)가 거의 모든 경우를 나타낸다.

[0163] **B-CLL**

[0164] B-CLL은 수년에 걸쳐 연장된 방식으로 골수 및 말초 혈액에 축적되는 무력성 모노클로날 B 계통 세포의 진행성 증가를 특징으로 하는 불치병이다. CD38의 발현은 B-CLL에 대한 독립적인 불량한 예후 인자로 간주된다(문헌 [Hamblin et al., Blood 99:1023-9 (2002)]).

[0165] 오늘날의 B-CLL의 표준 치료법은 완화요법이며, 주로 세포증식억제제 클로람부실 또는 플루다라빈으로 수행된다. 재발이 발생하는 경우, 리툽시맵(CD20에 대한 모노클로날 항체) 또는 캠페스(campath)(CD52에 대한 모노클로날 항체)와 병용하여 플루다라빈, 사이클로포스파미드를 사용하는 병용 요법이 종종 개시된다. 따라서, B-CLL의 치료를 위한 중요한 충족되지 않은 의학적 요구가 존재한다. 일부 실시형태에서, 개시된 항-CD38 항체를 사용하는 B-CLL의 치료 방법이 제공된다(그리고, 하기에 약술되는 바와 같이, 이는 임의로 그리고 독립적으로 상기 약물 중 임의의 것을 포함하는 병용 요법을 사용하여 행할 수 있다).

[0166] B-CLL은 2가지 아형, 무활동성(indolent) 및 공격성을 특징으로 한다. 이들 임상적 표현형은 면역글로불린 중쇄 가변 영역(IgVH) 유전자의 체세포 돌연변이의 존재 또는 부재와 상호관련이 있다. 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 무활동성 B-CLL은 돌연변이된 IgVH 유전자를 갖고/거나 무활동성 B-CLL과 관련된 하나 이상의 임상적 표현형이 제시되는 대상체에서의 장애를 지칭한다. 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 어구 공격성 B-CLL은 돌연변이되지 않은 IgVH를 갖고/거나 공격성 B-CLL과 관련된 하나 이상의 임상적 표현형을 제시하는 대상체에서의 장애를 지칭한다.

[0167] **다발성 골수종**

[0168] 다발성 골수종은 골수 중의 형질 세포의 신생물 증식을 특징으로 하는 B 세포 계통의 악성 장애이다. 현재의 치료법은 중등의 반응 속도를 나타낸다. 그러나, 전체 생존에서의 오직 미미한 변화만이 관찰되며, 생존 중앙값은 대략 3년이다. 따라서, 다발성 골수종의 치료에 대한 중요한 충족되지 않은 의학적 요구가 존재한다. 일부 실시형태에서, 개시된 항체를 사용하는 다발성 골수종의 치료 방법이 제공된다.

[0169] CD38은 말단 분화된 B 세포인 형질 세포 상에서 고도로 발현된다.

[0170] 골수종 세포의 증식은 골 내의 용해 병변(lytic lesion)(홀(hole)), 적혈구 개수 감소, 비정상 단백질(신장, 신경 및 기타 장기)에 대한 수반되는 손상이 있는)의 생성, 면역계 기능의 감소 및 혈액 칼슘 수준의 증가(고칼슘혈증)를 비롯한 다양한 효과를 야기한다.

[0171] 현재 치료 옵션은 바람직하게는 자가 모세포 이식(ASCT)이 가능한 경우 관련된 화학요법을 포함한다.

[0172] **미확정(undetermined significance) 모노클로날 감마글로불린혈증 및 아급성(smoldering) 다발성 골수종**

[0173] 일부 실시형태에서, 개시된 항체를 사용한 모노클로날 감마글로불린혈증의 치료 방법이 제공된다. 다른 실시형태에서, 개시된 항체를 사용한 아급성 다발성 골수종의 치료 방법이 제공된다.

[0174] 미확정 모노클로날 감마글로불린혈증(MGUS) 및 아급성 다발성 골수종(SMM)은 골수에서의 모노클로날 형질 세포 증식 및 말초 기관 손상의 부재를 특징으로 하는 무증상의 전암성 장애이다.

[0175] 아급성 다발성 골수종(SMM)은 징후 또는 활성 다발성 골수종으로의 진행 위험이 큰 형질 세포의 무증상 증식 장애이다(문헌[N. Engl. J. Med. 356(25): 2582-2590 (2007)]).

[0176] SMM을 규정하는 국제 진단 기준이 2003년에 채택되었으며, 환자가 30g/ℓ 초과 M-단백질 수준 및/또는 10% 초과 골수 클론 형질 세포를 갖는 것을 필요로 한다(문헌[Br. J. Haematol. 121: 749-57 (2003)]). 환자는 골 병변 또는 징후를 포함하는 장기 또는 관련 조직 손상을 갖지 않아야 한다(문헌[Br. J. Haematol. 121: 749-57 (2003)]).

[0177] 최근의 연구에 의해, 하기의 2가지 하위세트의 SMM이 동정되었다: i) 전개 질환(evolutionary disease)이 있는 환자 및 ii) 비-전개 질환이 있는 환자(문헌[Br. J. Haematol. 121: 631-636 (2003)]). MGUS를 규정하는 국제 진단 기준은 환자가 30g/ℓ 미만의 M-단백질 수준 및/또는 10% 미만의 골수 형질 세포를 가지며, 골 병변 또는 징후를 포함하는 장기 또는 관련 조직 손상이 부재인 것을 필요로 한다(문헌[Br. J. Haematol. 121: 749-57 (2003)]).

[0178] SMM은 말초 기관 손상이 부재임에 따라, 미확정 모노클로날 감마글로불린혈증(MGUS)과 비슷하다(문헌[N. Engl.

J. Med. 356(25): 2582-2590 (2007)]). 그러나, 임상적으로, SMM은 20년에 훨씬 더 많이 활성형 다발성 골수종 또는 아밀로이드증으로 진행될 것 같다(SMM에 대한 78% 확률 대 MGUS에 대한 21%)(문헌[N. Engl. J. Med. 356(25): 2582-2590 (2007)]).

[0179] **생체 내 투여를 위한 항체 조성물**

[0180] 본 발명에 따라 사용되는 항체의 제형은 원하는 정도의 순도를 갖는 항체를 임의의 약제학적으로 허용되는 담체, 부형제 또는 안정화제와 혼합하여 동결건조된 제형 또는 수용액의 형태로 보관용으로 제조한다(문헌 [Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980)]). 허용되는 담체, 부형제 또는 안정화제는 사용되는 투여량 및 농도에서 수용자에게 비독성이고, 완충제, 예컨대 포스페이트, 시트레이트 및 기타 유기산; 항산화제, 예를 들어 아스코르브산 및 메티오닌; 보존제(예컨대 옥타데실다이메틸벤질 암모늄 클로라이드; 헥사메토늄 클로라이드; 벤즈알코늄 클로라이드, 벤즈에토늄 클로라이드; 페놀, 부틸 또는 벤질 알코올; 알킬 파라벤, 예컨대 메틸 또는 프로필 파라벤; 카테콜; 레조르시놀; 사이클로헥산올; 3-펜탄올; 및 m-크레졸); 저분자량(약 10개 잔기 미만) 폴리펩타이드; 단백질, 예를 들어 혈청 알부민, 젤라틴 또는 면역글로불린; 친수성 폴리머, 예컨대 폴리비닐피롤리돈; 아미노산, 예컨대 글라이신, 글루타민, 아스파라긴, 히스티딘, 아르기닌 또는 라이신; 당류, 이당류 및 기타 탄수화물, 예를 들어 글루코스, 만노스 또는 텍스트린; 킬레이트화제, 예컨대 EDTA; 당, 예컨대 수크로스, 만니톨, 트레할로스 또는 소르비톨; 염-형성 반대이온, 예컨대 나트륨; 금속 복합체(예를 들어, Zn-단백질 복합체); 및/또는 비-이온성 계면활성제, 예컨대 트윈(TWEEN)(상표명), 플루로닉스(PLURONICS)(상표명) 또는 폴리에틸렌 글라이콜(PEG)을 포함한다.

[0181] 또한, 본 명세서에서의 제형은 치료될 특정 증후에 필요한 1가지 초과 활성 화합물, 바람직하게는 서로에게 역효과를 일으키지 않는 보완적인 활성이 있는 것들을 함유할 수 있다. 예를 들어, 다른 특이성을 갖는 항체를 제공하는 것이 바람직할 수 있다. 대안적으로, 또는 추가로, 조성물은 세포독성제, 사이토카인, 성장 억제제 및/또는 소분자 길항제를 포함할 수 있다. 이러한 분자는 적절하게는 의도된 목적에 효과적인 양으로 조합하여 존재한다.

[0182] 또한, 활성 성분은 예를 들어 코아세르베이션(coacervation) 기술에 의해 또는 계면 중합에 의해 제조된 마이크로캡슐, 예를 들어, 각각 하이드록시메틸셀룰로스 또는 젤라틴-마이크로캡슐 및 폴리-(메틸메타크릴레이트) 마이크로캡슐 내에, 콜로이드성 약물 전달 시스템(예를 들어, 리포솜, 알부민 미소구체, 마이크로에멀전, 나노입자 및 나노 캡슐) 내에, 또는 마크로에멀전 내에 포획될 수 있다. 이러한 기술은 문헌[Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980)]에 개시되어 있다.

[0183] 생체 내 투여에 사용될 제형은 무균이거나 거의 무균이어야 한다. 이는 멸균 여과 막을 통한 여과에 의해 용이하게 달성된다.

[0184] 서방성 제제를 제조할 수 있다. 서방성 제제의 적합한 예로는 항체를 함유하는 고체 소수성 폴리머의 반투과성 매트릭스가 포함되고, 이 매트릭스는 성형품, 예를 들어, 필름 또는 마이크로캡슐의 형태이다. 서방성 매트릭스의 예는 폴리에스터, 하이드로겔(예를 들어, 폴리(2-하이드록시에틸-메타크릴레이트) 또는 폴리(비닐알코올)), 폴리락타이드(미국 특허 번호 제3,773,919호), L-글루탐산 및 γ 에틸-L-글루타메이트의 코폴리머, 비-분해성 에틸렌-비닐 아세테이트, 분해성 락트산-글라이콜산 코폴리머, 예컨대 루프론 데포(LUPRON DEPOT)(상표명)(락트산-글라이콜산 코폴리머 및 류프롤리드 아세테이트로 이루어진 주사가능한 미소구체), 및 폴리-D-(-)-3-하이드록시부티르산을 포함한다. 에틸렌-비닐 아세테이트 및 락트산-글라이콜산과 같은 폴리머는 100일을 초과하여 분자를 방출할 수 있는 반면, 특정 하이드로겔은 단백질을 더 짧은 기간 동안 방출한다.

[0185] 캡슐화된 항체가 신체 내에서 장기간 동안 유지되는 경우, 37°C에서 습기에 노출된 결과로 항체가 변성되거나 응집되어, 생물학적 활성의 손실 및 면역원성의 가능한 변화가 초래될 수 있다. 수반된 메커니즘에 따라 안정화를 위한 합리적인 전략이 고안된다. 예를 들어, 응집 메커니즘이 티오-다이설피드 상호교환을 통한 분자간 S-S 결합 형성인 것으로 발견되면, 안정화는 설파하이드릴 잔기의 변형, 산성 용액으로부터의 동결건조, 수분 함량의 제어, 적절한 첨가제의 사용 및 특정 폴리머 매트릭스 조성물의 개발에 의해 달성될 수 있다.

[0186] **투여 양식**

[0187] 본 발명의 항체 및 화학치료제는 공지되어 있는 방법에 따라, 예를 들어, 볼루스로서의 정맥내 투여 또는 소정의 기간에 걸친 연속 주입에 의해, 근육내, 복강내, 뇌척수내, 피하, 관절내, 활액막내, 경막내, 경구, 국소, 또는 흡입 경로에 의해 대상체에게 투여된다. 항체의 정맥내 또는 피하 투여가 바람직하다.

- [0188] **치료 양식**
- [0189] 본 발명의 방법에서, 치료법을 사용하여 질환 또는 증상에 대한 양성 치료 반응을 제공한다. "양성 치료 반응"은 질환 또는 증상의 개선 및/또는 질환 또는 증상과 관련된 징후의 개선을 의미한다. 예를 들어, 양성 치료 반응은 질환에 있어서 하기 개선 중 하나 이상을 의미할 것이다: (1) 신생 세포의 개수의 감소; (2) 신생 세포 사멸의 증가; (3) 신생 세포 생존의 억제; (5) 종양 성장의 억제(즉, 일정 범위 감소, 바람직하게는 중단); (6) 증가된 환자 생존률; 및 (7) 질환 또는 증상과 관련된 하나 이상의 징후로부터의 일부 경감.
- [0190] 임의의 주어진 질환 또는 증상에서 양성 치료 반응은 질환 또는 증상에 특이적인 표준화된 반응 기준에 의하여 측정될 수 있다. 종양 반응은 스크리닝 기법, 예컨대, 자기 공명 영상화 (MRI) 스캔, x-방사선 영상화, 컴퓨터 단층(CT) 스캔, 뼈 스캔 영상화, 내시경 검사 및 골수 흡인(BMA) 및 순환시 종양 세포의 계수를 포함하는 종양 생검 시료추출을 사용하여 종양 형태학적 변화(즉, 전체 종양 부하, 종양 크기 등)를 평가할 수 있다.
- [0191] 이러한 양성 치료 반응에 더하여, 치료법을 수행한 대상체는 질환 관련 징후의 개선에 유리한 효과를 경험할 수 있다.
- [0192] 따라서 B 세포 종양에 있어서, 대상체는 소위 B 징후, 즉, 도한, 발열, 체중 감소, 및/또는 두드러기의 감소를 경험할 수 있다. 전암 상태에 있어서, 항-CD38 치료제에 의한 치료법은 관련 악성 증상의 발생, 예를 들면, 미확정 단일클론 감마글로불린(MGUS)을 앓고 있는 대상체에서 다발성 골수종의 발병 전 시간을 연장시키고/거나 이를 차단할 수 있다.
- [0193] 질환의 개선은 완전한 반응을 특징으로 할 수 있다. "완전한 반응"은 골수종의 경우 임의의 이전의 비정상 방사선 연구, 골수, 및 뇌척수액 (CSF) 또는 비정상 모노클로날 단백질의 정상화를 갖는 임상적으로 검출가능한 질환의 부재를 의미하고자 한다.
- [0194] 이러한 반응은 본 발명의 방법에 의한 치료 후 적어도 4 내지 8주, 또는 때로는 6 내지 8주간 지속될 수 있다. 대안적으로, 질환의 개선은 부분 반응으로서 분류될 수 있다. "부분 반응"은 새로운 병변 부재 하에 모든 측정 가능한 종양 부하(즉, 대상체 내에 존재하는 악성 세포의 개수, 또는 종양 덩어리의 측정된 부피 또는 비정상 모노클로날 단백질의 양)의 적어도 약 50% 감소를 의미하며, 이것은 4 내지 8주 또는 6 내지 8주 동안 지속될 수 있다.
- [0195] 본 발명에 따른 치료는 "치료적 유효량"의 사용되는 약제를 포함한다. "치료적 유효량"은 원하는 치료 결과를 달성하는데 필요한 기간 동안 그리고 용량에서의 유효량을 말한다.
- [0196] 치료적 유효량은 병태, 연령, 성별 및 개체의 체중 및 개체에서 원하는 반응을 유도하는 약제의 능력과 같은 인자에 따라 달라질 수 있다. 또한, 치료적 유효량은 항체 또는 항체 부분의 임의의 독성 또는 유해 효과보다 치료적으로 유익한 효과가 더 큰 양이다.
- [0197] 또한, 종양 치료법에 대한 "치료적 유효량"은 질환의 진행을 안정화시키는 그의 능력에 의해 측정될 수 있다. 화합물이 암을 억제하는 능력은 인간 종양에서의 효능을 예측하는 동물 모델계에서 평가할 수 있다.
- [0198] 대안적으로, 조성물의 이러한 특성은 숙련자에게 공지되어 있는 시험관 내 검정법에 의해 세포 성장을 억제하거나 아포토시스를 유도하는 화합물의 능력을 검사함으로써 평가할 수 있다. 치료 화합물의 치료적 유효량은 종양 크기를 감소시키거나 그렇지 않으면 대상체에서 징후를 개선시킬 수 있다. 당업자는 대상체의 크기, 대상체의 징후의 중증도, 및 선택된 특정 조성물 또는 투여 경로와 같은 인자에 기초하여 그러한 양을 결정할 수 있을 것이다.
- [0199] 투여 요법은 최적의 원하는 반응(예를 들어, 치료 반응)을 제공하도록 조정된다. 예를 들어, 1회 볼투스를 투여하거나, 몇몇 분할 용량을 경시적으로 투여하거나, 치료 상황의 위급성에 따라 비례하여 용량을 감소 또는 증가시킬 수도 있다. 특히, 투여 용이성과 용량의 균일성을 위해 비경구 조성물을 단위 투여형으로 제형화할 수 있다. 단위 투여형은 치료받을 대상체에 대하여 일회 투여에 적절한 물리적으로 분리된 단위를 의미하며; 각 단위는 필요한 약제학적 담체와 관련하여 원하는 치료 효과를 생성하도록 계산된 소정량의 활성 화합물을 포함한다.
- [0200] 본 발명의 단위 투여형에 대한 세부사항은 (a) 활성 화합물의 독특한 특징 및 달성하고자 하는 특정 치료학적 효과 및 (b) 대상체의 민감한 치료로 인해 활성 화합물의 배합에 관한 기술 고유의 제약에 의해 결정되고 직접적으로 좌우된다.
- [0201] 본 발명에 사용되는 항-CD38 항체에 대한 효율적인 용량 및 투여법은 치료될 질환 또는 증상에 따라 좌우되며,

당업자에 의해 결정될 수 있다.

- [0202] 본 발명에 사용되는 치료적 유효량의 항-CD38 항체에 대한 예시적인 비제한적 범위는 약 0.1 내지 100mg/kg, 예를 들어, 약 0.1 내지 50mg/kg, 예를 들어, 약 0.1 내지 20mg/kg, 예를 들어, 약 0.1 내지 10mg/kg, 예를 들어, 약 0.5, 약 0.3, 약 1 또는 약 3mg/kg이다. 다른 실시형태에서, 항체는 1mg/kg 이상, 예를 들어, 1 내지 20mg/kg, 예를 들어, 5 내지 20mg/kg의 용량, 예를 들어, 8mg/kg의 용량으로 투여된다.
- [0203] 해당 분야의 기술을 갖는 전문 의료진은 필요한 약제학적 조성물의 유효량을 용이하게 결정하고 규정할 수 있다. 예를 들어, 내과의 또는 수의사는 약제학적 조성물에 사용되는 약제의 용량을 원하는 치료 효과를 달성하는데 필요한 것보다 더 낮은 수준으로 시작하고, 원하는 효과가 달성될 때까지 용량을 점차 증가시킬 수 있다.
- [0204] 일 실시형태에서, 항-CD38 항체는 10 내지 500mg/kg, 예를 들어, 200 내지 400mg/kg의 주마다의 용량의 주입에 의해 투여된다. 이러한 투여는 예를 들어, 1 내지 8회, 예를 들어, 3 내지 5회 반복할 수 있다. 투여는 2 내지 24시간의 기간, 예를 들어, 2 내지 12시간에 걸친 연속 주입에 의해 수행될 수 있다.
- [0205] 일 실시형태에서, 항-CD38 항체는 독성을 비롯한 부작용을 감소시키는 것이 필요하다면, 긴 기간에 걸쳐, 예를 들어, 24시간 넘게 저속 연속 주입에 의해 투여된다.
- [0206] 일 실시형태에서, 항-CD38 항체는 최대 8회, 예를 들어, 4 내지 6회 동안 250mg 내지 2000mg, 예를 들어, 300mg, 500mg, 700mg, 1000mg, 1500mg 또는 2000mg의 주마다의 용량으로 투여된다. 투여는 2 내지 24시간, 예를 들어, 2 내지 12시간의 기간에 걸쳐 연속 주입에 의해 수행될 수 있다. 이러한 요법은 예를 들어, 6개월 또는 12개월 후에, 필요에 따라 1회 이상 반복할 수 있다. 용량은 예를 들어, 생물학적 시료를 취함으로써 투여에 따른 혈액 중의 본 발명의 화합물의 양을 측정하고, 항-CD38 항체의 항원 결합 영역을 표적으로 하는 항-이디오타 입 항체를 사용함으로써, 결정하거나 조정할 수 있다.
- [0207] 추가의 실시형태에서, 항-CD38 항체는 2 내지 12주 동안, 예를 들어, 3 내지 10주 동안, 예를 들어, 4 내지 8주 동안 주 1회 투여된다.
- [0208] 일 실시형태에서, 항-CD38 항체는 유지 요법에 의해, 예를 들어, 6개월 이상의 기간 동안 주 1회 투여된다.
- [0209] 일 실시형태에서, 항-CD38 항체는 항-CD38 항체의 주입에 이은 방사성 동위원소에 결합된 항-CD38 항체의 주입을 포함하는 요법에 의해 투여된다. 상기 요법은 예를 들어, 7 내지 9일 후에 반복될 수 있다.
- [0210] 비제한적인 예로서, 본 발명에 따른 치료는 매 24, 12, 8, 6, 4 또는 2시간마다 단일 용량 또는 분할 용량, 또는 이들의 임의의 조합을 사용하여, 치료의 개시 후 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39 또는 40일 중 적어도 하나에, 또는 대안적으로, 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20주 중 적어도 하나에, 또는 이들의 임의의 조합으로, 1일당 약 0.1 내지 100mg/kg, 예를 들어, 0.5, 0.9, 1.0, 1.1, 1.5, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 40, 45, 50, 60, 70, 80, 90 또는 100mg/kg의 양의 항체의 1일 용량으로 제공될 수 있다.
- [0211] 일부 실시형태에서, 그의 항-CD38 항체 분자는 하나 이상의 추가의 치료제, 예를 들어, 화학치료제와 병용하여 사용된다. DNA 손상 화학요법제의 비제한적 예에는 토포아이스오머라제(topoisomerase) I 억제제(예를 들면, 이리노테칸(irinotecan), 토포테칸(topotecan), 캄포테신(camptothecin) 및 그의 유사체 또는 대사물질, 및 독소루비신(doxorubicin)); 토포아이스오머라제 II 억제제(예를 들면, 에토포사이드(etoposide), 테니포사이드(teniposide) 및 다우노루비신(daunorubicin)); 알킬화제(예를 들면, 멜팔란(melphalan), 클로람부실(chlorambucil), 부설판(busulfan), 티오테파(thiotepa), 아이포스아미드(ifosfamide), 카르무스틴(carmustine), 로무스틴(lomustine), 세무스틴(semustine), 스트렙토조신(streptozocin), 데카르바진(decarbazine), 메토틱렉세이트(methotrexate), 미토마이신(mitomycin) C 및 사이클로포스파미드(cyclophosphamide)); DNA 인터칼레이터(intercalator)(예를 들면, 시스플라틴(cisplatin), 옥살리플라틴(oxaliplatin) 및 카보플라틴(carboplatin)); DNA 인터칼레이터 및 자유 라디칼 발생제, 예컨대, 블레오마이신(bleomycin); 및 뉴클레오시드 모방체(예를 들면, 5-플루오로우라실, 카페시틴(capecitabine), 겐시타빈(gemcitabine), 플루다라빈(fludarabine), 사이타라빈(cytarabine), 머캅토피린(mercaptopurine), 티오구아닌(thioguanine), 펜토스타틴(pentostatin) 및 하이드록시우레아(hydroxyurea))가 포함된다.
- [0212] 세포 복제를 방해하는 화학요법제에는 파클리탁셀(paclitaxel), 독세탁셀(docetaxel) 및 관련 유사체; 빈크리스

틴(vincristine), 빈블라스틴(vinblastin) 및 관련 유사체; 탈리도마이드(thalidomide), 레날리도미드(lenalidomide) 및 관련 유사체(예를 들면, CC-5013 및 CC-4047); 단백질 티로신 키나제 억제제(예를 들면, 이마티니브 메실레이트(imatinib mesylate) 및 제피티니브(gefitinib)); 프로테아솜(proteasome) 억제제(예를 들면, 보르테조미브(bortezomib)); I κ B 키나제의 억제제를 포함하는 NF- κ B 억제제; 암에서 과발현된 단백질에 결합하여 세포 복제를 하향조절하는 항체(예를 들면, 트라스투주맙(trastuzumab), 리툭시맙(rituximab), 세특시맙(cetuximab) 및 베바시주맙(bevacizumab)); 및 암에서 상향조절되거나, 과다발현되거나 또는 활성화되는 것으로 공지된 다른 단백질 또는 효소(이의 억제는 세포 복제를 하향조절함)의 억제제가 포함된다.

[0213] 일부 실시형태에서, 본 발명의 항체는 벨카데(Velcade)(등록 상표)(보르테조미브)로의 처리 전에, 그와 동시에, 그 후에 사용될 수 있다.

[0214] 진단 용도

[0215] 또한, 제공되는 항-CD38 항체는 CD38과 관련된 자가면역 병태 또는 종양의 시험관 내 또는 생체 내 영상화에 사용된다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 항체는 진단 및 치료 둘 모두를 위해, 단독의 진단을 위해 사용된다. 항-CD38 항체가 진단 및 치료 둘 모두를 위해 사용되는 경우, 일부 실험은 2가지 상이한 에피토프에 대한 2가지 상이한 항-CD38 항체에 의존하여, 진단 항체가 결합을 위하여 치료적 항체와 경쟁하지 않게 하지만, 일부 경우에는 동일한 항체가 둘 모두를 위해 사용될 수 있다. 예를 들어, 일부 예에서, Ab19 항체가 진단에 의해(일반적으로 후술되는 바와 같이 표지) 사용되는 한편, Ab79가 치료에 의해 사용되거나, 그 역도 그러하다. 따라서, 진단 항체 및 치료 항체를 포함하는 조성물이 본 발명에 포함되며, 일부 실시형태에서, 진단 항체는 본 명세서에 기재된 바와 같이 표지된다. 또한, 치료 및 진단 항체의 조성물은 본 명세서에 약술된 바와 같은 다른 약물과 공동-투여될 수도 있다.

[0216] 많은 실시형태에서, 진단 항체가 표지된다. 본 명세서에서 "표지된"은 본 명세서에 개시된 항체가 스크린 또는 진단 절차에서 검출을 가능하게 하도록 부착된 하나 이상의 요소, 동위원소 또는 화학적 화합물을 갖는 것을 의미한다. 일반적으로, 표지는 다음의 몇몇 분류에 속한다: a) 항체에 의해서 인식되는 융합 파트너로서 혼입되는 에피토프일 수 있는 면역 표지, b) 방사성 또는 중동위원소일 수 있는 동위원소 표지, c) 형광성 및 비색성 염료, 예를 들어, 다른 표지화 방법을 가능하게 하는 비오틴을 포함할 수 있는 소분자 표지 및 d) 신체 영상화를 가능하게 하는 표지, 예를 들어, 입자(초음파 표지를 위한 버블(bubble) 포함) 또는 상자성 표지. 표지는 당업계에 공지된 바와 같이, 임의의 위치에서 항체 내로 혼입될 수 있으며, 단백질 발현 중에 시험관 내 또는 생체 내로 혼입될 수 있다.

[0217] 진단은 시험관 내에서 환자로부터 제거되는 시료 상에서, 또는 생체 내에서 후술되는 바와 같이 전신 영상화를 가능하게 하는 진단 항체의 투여에 의해 행해질 수 있다. 이러한 문맥에서 "시료"는 체액(혈액, 소변, 혈청, 림프, 타액, 향문 및 질 분비물, 땀 및 정액을 포함하나 이에 한정되지 않음)뿐 아니라 조직 시료, 예를 들어, 관련 조직의 생검으로부터의 결과물을 포함하나 이에 한정되지 않는 임의의 수의 것을 포함한다.

[0218] 일부 실시형태에서, 초음파, CT 스캔, X-선, MRI 및 PET 스캔뿐 아니라 광학적 기술, 예를 들어, 체표면 근처의 종양에 대한 광학적 표지를 사용하는 것을 포함하나 이에 한정되지 않는 생체 내 영상화가 행해진다.

[0219] CD38과 관련된 질환의 생체 내 영상화는 임의의 적절한 기술에 의해 수행할 수 있다. 예를 들어, ⁹⁹Tc-표지 또는 다른 β 선 방출 동위원소를 사용한 표지를 사용하여, 항-CD38 항체를 표지할 수 있다. 이러한 기술에 대한 변이형은 자기 공명 영상화(MRI)의 사용을 포함하여, 감마 카메라 기술에 비해 영상화를 향상시킬 수 있다. 유사 이뮤노신티그래피(immunoscintigraphy) 방법 및 원리는 예를 들어, 문헌[Srivastava (ed.), Radiolabeled Monoclonal Antibodies For Imaging And Therapy (Plenum Press 1988)], 문헌[Chase, "Medical Applications of Radioisotopes," in Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Edition, Gennaro et al., (eds.), pp. 624-652 (Mack Publishing Co., 1990)] 및 문헌[Brown, "Clinical Use of Monoclonal Antibodies," in Biotechnology And Pharmacy 227-49, Pezzuto *et al.*, (eds.) (Chapman & Hall 1993)]에 기재되어 있다.

[0220] 일 실시형태에서, 본 발명은 생체 내 영상화 방법을 제공하고, 여기서 항-CD38 항체를 검출-촉진제(detection-promoting agent)에 컨쥬게이트시키고, 컨쥬게이트된 항체를 예를 들어 혈류 내로 주사에 의해 숙주에 투여하고, 숙주 내의 표지된 항체의 존재 및 위치를 분석한다. 상기 기술 및 본 명세서에서 제공되는 임의의 다른 진단 방법을 통해, 본 발명은 인간 환자 또는 인간 환자로부터 취한 생물학적 시료 내에서 질환-관련 세포의 존재를 스크리닝하는 방법을 제공한다.

[0221] 진단 영상화를 위해, 방사성 동위원소는 직접적으로 또는 중재 작용기를 사용함으로써 간접적으로 항-CD38 항체

에 결합될 수 있다. 유용한 중재 작용기는 킬레이터, 예를 들어 에틸렌다이아민테트라아세트산 및 다이에틸렌트라이아민 펜타아세트산을 포함한다(예를 들어 미국 특허 제5,057,313호 참조). 방사성 동위원소-컨쥬게이트된 항-CD38 항체를 수반하는 이러한 진단 검정법에서, 환자에게 투여되는 컨쥬게이트된 항-CD38 항체의 용량은 전형적으로 검출 및 정확한 측정을 허용할, 최소 반감기, 최소 신체 잔류 및 최소 동위원소량의 최적의 조합을 위한 동위원소의 선택을 통해 가능한 한 낮은 수준으로 유지된다.

[0222] 방사성 동위원소 및 방사선 비투과제에 더하여, 염료(예컨대, 비오틴-스트렙타비딘 복합체), 조영제, 형광 화합물 또는 분자 및 자기 공명 영상화(MRI)용 증강제(예를 들어 상자성 이온)에 컨쥬게이트된 항-CD38 항체를 사용하여 진단 방법이 수행될 수 있다(예를 들어, MRI 기술 및 MRI 증강제에 컨쥬게이트된 항체의 제조가 기술된 미국 특허 제6,331,175호 참조). 이같은 진단/검출제는 자기 공명 영상화에서 사용하기 위한 물질, 및 형광 화합물로부터 선택될 수 있다.

[0223] 항-CD38 항체에 방사성 금속 또는 상자성 이온을 로딩하기 위해, 이를 이온 결합을 위한 다수의 킬레이트화기가 부착된 긴 꼬리가 있는 시약과 반응시키는 것이 필요할 수 있다. 이같은 꼬리는 폴리머, 예컨대 폴리라이신, 다당류, 또는 포르피린, 폴리아민, 크라운 에테르, 비스티오세미카르바존, 폴리옥심, 및 이러한 목적에 유용한 것으로 공지된 유사한 기와 같은 킬레이트화기가 결합될 수 있는 펜던트기가 있는, 기타 유도체화된 또는 유도체화가능한 사슬일 수 있다.

[0224] 표준 화학을 사용하여 킬레이트가 항-CD38 항체에 커플링될 수 있다. 일반적으로 킬레이트는 면역반응성을 최소한도로 손실시키고 응집 및/또는 내부 가교를 최소화시키면서 분자에 대한 결합을 형성할 수 있는 기에 의해 항-CD38 항체에 연결된다.

[0225] 가능한 유용한 금속-킬레이트 조합의 예로는 방사선-이미지화를 위한 60 내지 4,000 keV의 일반적인 에너지 범위 내의 진단용 동위원소, 예컨대 ^{125}I , ^{123}I , ^{124}I , ^{62}Cu , ^{64}Cu , ^{18}F , ^{111}In , ^{67}Ga , ^{99}Tc , ^{94}Tc , ^{11}C , ^{13}N , ^5O , 및 ^{76}Br 과 함께 사용되는, 2-벤질-DTPA 및 이의 모노메틸 및 사이클로헥실 유사체가 포함된다.

[0226] 표지는 바람직하게는 방사성핵종, 방사성 조영제, 상자성 이온, 금속, 형광 라벨, 화학발광 라벨, 초음파 조영제 및 광활성제로 이루어진 군으로부터 선택된다. 이러한 진단제는 잘 알려져 있으며, 임의의 이러한 알려진 진단제가 사용될 수 있다. 진단제의 비제한적인 예에는 ^{110}In , ^{111}In , ^{177}Lu , ^{18}F , ^{52}Fe , ^{62}Cu , ^{64}Cu , ^{67}Cu , ^{67}Ga , ^{68}Ga , ^{86}Y , ^{90}Y , ^{89}Zr , ^{94}mTc , ^{94}Tc , ^{99}mTc , ^{120}I , ^{123}I , ^{124}I , ^{125}I , ^{131}I , $^{154-158}\text{Gd}$, ^{32}P , ^{11}C , ^{13}N , ^{15}O , ^{186}Re , ^{188}Re , ^{51}Mn , ^{52}mMn , ^{55}Co , ^{72}As , ^{75}Br , ^{76}Br , ^{82}mRb , ^{83}Sr , 또는 다른 γ -, β -, 또는 양전자-방출체와 같은 방사성핵종이 포함될 수 있다.

[0227] 사용되는 상자성 이온은 크롬(III), 망간(II), 철(III), 철(II), 코발트(II), 니켈(II), 구리(II), 네오디뮴(III), 사마륨(III), 이테르븀(III), 가돌리늄(III), 바나뮴(II), 테르븀(III), 디스프로슘(III), 홀뮴(III) 또는 에르븀(III)을 포함할 수 있다. 금속 조영제는 란탄(III), 금(III), 납(II) 또는 비스무스(III)를 포함할 수 있다.

[0228] 초음파 조영제는 가스 충전 리포솜과 같은 리포솜을 포함할 수 있다. 방사선불투과성(radiopaque) 진단제는 바륨 화합물, 갈륨 화합물 및 탈륨 화합물로부터 선택될 수 있다.

[0229] 이들 킬레이트 및 유사 킬레이트는 망간, 철 및 가돌리늄과 같은 비-방사성 금속과 복합체를 형성할 때 항-CD38 항체와 연결된 MRI 진단 방법에도 유용하다. NOTA, DOTA 및 TETA와 같은 매크로사이클릭 킬레이트는 다양한 금속 및 방사성금속, 가장 특별하게는 각각 갈륨, 이트륨 및 구리의 방사성핵종과 함께 사용된다. 이러한 금속-킬레이트 복합체는 고리의 크기를 관심있는 금속에 맞춤으로써 매우 안정하게 만들어질 수 있다. 진단 방법에 적절할 수 있는 ^{223}Ra 과 같은 안정하게 결합하는 핵종용으로 관심있는 매크로사이클릭 폴리에테르와 같은 다른 고리형 킬레이트도 포함된다.

[0230] 따라서, 본 발명은 진단적 항-CD38 항체 컨쥬게이트를 제공하며, 여기서, 항-CD38 항체 컨쥬게이트는 조영제(예를 들어, 자기 공명 영상화를 위하여, 컴퓨터 단층 촬영 또는 초음파 조영-증강제) 또는 예를 들어, γ -, β - 또는 α -, 오제 전자(Auger electron)-, 또는 양전자-방출 동위원소일 수 있는 방사성핵종에 컨쥬게이트된다.

[0231] 또한, 항-CD38 항체는 예를 들어, 특정 세포, 조직 또는 혈청에서 대상 항원의 발현의 검출에 유용할 수 있다. 진단 응용을 위하여, 항체는 전형적으로 시험관 내 검정법에서 검출가능한 부분으로 표지될 것이다. 당업자에 의해 인식될 것처럼, 시험관 내 시험에서 이용하기 위한 매우 다양한 적절한 표지가 존재한다. 본 발명의 이러한 태양에서 사용하기에 적절한 염료에는 형광 란타니드 복합체, 예를 들어, 유토폴(europium), 테르븀

(terbium), 플루레신(fluorescein), 로다민(rhodamine), 테트라메틸로다민(tetramethylrhodamine), 에오신(eosin), 에리트로신(erythrosin), 코우마린(coumarin), 메틸-코우마린(methyl-coumarin), 양자점(quantum dot)("나노결정"으로도 지칭; 본 명세서에 참고로 포함되는 미국 출원 제09/315,584호 참조), 피렌(pyrene), 말라카이트 그린(malachite green), 스틸벤(stilbene), 루시퍼 옐로우(Lucifer Yellow), 캐스케이드 블루(Cascade Blue)(상표명), 텍사스 레드(Texas Red), Cy 염료(Cy3, Cy5 등), 알렉사 염료(alexa dye), 예를 들어, 알렉사, 피코에리틴(phycoerythrin), 보디피(bodipy) 및 본 명세서에 참고로 포함되는 문헌[Molecular Probes Handbook(Richard P. Haugland)]의 6판에 기술된 염료가 포함되지만 이들에 한정되지 않는다.

[0232] 이어서, 염색된 조직은 종양 내의 CD38-관련 펩타이드의 양의 지표로서, 방사능 계산을 위해 평가할 수 있다. 예를 들어, 침습성 암 세포의 존재에 대한 바이오마커로서 CD38을 사용하는 맥락에서, 이러한 기술의 사용에 의해 수득되는 영상을 사용하여 환자, 포유류 또는 조직 내의 CD38의 생체분포를 평가할 수 있다.

[0233] **제조 물품**

[0234] 다른 실시형태에서, 상술된 장애의 치료에 유용한 물질을 함유하는 제조 물품이 제공된다. 상기 제조 물품은 용기 및 라벨을 포함한다. 적합한 용기는 예를 들어 병, 바이알(vial), 주사기 및 시험 튜브를 포함한다. 용기는 다양한 물질, 예컨대 유리 또는 플라스틱으로 형성될 수 있다. 용기는 증상을 치료하는데 효과적인 조성물을 보유하고 멸균 접근 포트를 가질 수 있다 (예를 들어, 용기는 피하 주사 바늘로 뚫을 수 있는 마개를 갖는 정맥주사액 백 또는 바이알일 수 있음). 조성물 내 활성제는 항체이다. 용기 상의 또는 용기에 붙은 라벨은 조성물이 선택된 증상을 치료하는데 사용된다는 것을 나타낸다. 제조 물품은 약제학적으로 허용되는 완충제, 예컨대 인산염-완충 염수, 링거액 및 텍스트로스 용액을 포함하는 제2 용기를 추가로 포함할 수 있다. 이는 추가로 다른 완충액, 희석제, 필터, 주사바늘, 주사기 및 사용을 위한 지침이 있는 포장 삽입물을 비롯한 상업적 및 사용자 견지에서 바람직한 다른 물질을 포함할 수 있다.

[0235] **실시예**

[0236] 하기의 실시예는 본 발명을 예시하기 위해 제공되나, 본 발명을 제한하지 않는다.

[0237] **실시예 1:** 인간, 사이노몰구스 원숭이 및 마우스 CD38을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 발현 벡터의 구축

[0238] 인간 CD38(huCD38)을 발현하는 벡터를 구축하기 위하여, huCD38을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 오리진 테크놀로지스 트루클론(Origene Technologies Trueclone)(등록 상표) 인간으로부터 수득한 cDNA로부터 단리하였다. 단리된 huCD38을 G418(게네티신)-저항성 트랜스펙턴트(transfectant)의 선택을 가능하게 하는 네오마이신 저항성(neo^R) 유전자를 함유하는 안정한 발현 벡터(엑소마, 인코포레이티드(XOMA, Inc.)) 내로 클로닝하였다. 선택된 트랜스펙턴트에 존재하는 huCD38 유전자를 시퀀싱하여, 임의의 서열 오류를 확인하였다. 진뱅크 수탁 번호 NM_001775 유래의 서열 내의 오류는 PCR 위치-지정 돌연변이유발에 의해 보정하였다. 최종 벡터 DNA를 5' 시퀀싱에 의해 확인하였다.

[0239] 사이노몰구스 원숭이 CD38(cyCD38)을 발현하는 벡터를 구축하기 위하여, cyCD38을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 바이오체인 인스티튜트(Biochain Institute)의 cDNA-원숭이(사이노몰구스)-정상 비장 조직으로부터 수득된 DNA로부터 단리하였다. 단리된 cyCD38을 G418(게네티신)-저항성 트랜스펙턴트의 선택을 가능하게 하는 neo^R 유전자를 함유하는 안정한 발현 벡터(엑소마, 인코포레이티드) 내로 클로닝하였다. 선택된 트랜스펙턴트에 존재하는 cyCD38 유전자를 시퀀싱하여, 임의의 서열 오류를 확인하였다. 진뱅크 수탁 번호 AY555148 유래의 서열 내의 오류는 PCR 위치-지정 돌연변이유발에 의해 보정하였다. 최종 벡터 DNA를 시퀀싱에 의해 확인하였다.

[0240] 마우스 CD38(muCD38)을 발현하는 벡터를 구축하기 위하여, muCD38을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 오리진의 TrueORF 집합으로부터 수득된 DNA로부터 단리하였다. 단리된 muCD38을 G418(게네티신)-저항성 트랜스펙턴트의 선택을 가능하게 하는 neo^R 유전자를 함유하는 안정한 발현 벡터(엑소마, 인코포레이티드) 내로 클로닝하였다. 선택된 트랜스펙턴트에 존재하는 muCD38 유전자를 시퀀싱하여, 임의의 서열 오류를 확인하였다. 진뱅크 수탁 번호 NM_007646 유래의 서열 내의 오류는 PCR 위치-지정 돌연변이유발에 의해 보정하였다. 최종 벡터 DNA를 시퀀싱에 의해 확인하였다.

[0241] **실시예 2:** CD38을 발현하는 중국 햄스터 난소(CHO) 세포의 개발

[0242] huCD38, muCD38 및 cyCD38을 발현하는 CHO 세포의 개발을 위하여, CHO 세포를 선형화된 DNA로

트랜스펙션시켰다. 1주 후에, 선택된 세포를 유세포분석기에 의해 분류하고, huCD38, muCD38 또는 cyCD38을 가장 많이 발현하는 세포(상위 15%)를 96-웰 플레이트에 플레이팅하여, 단일의 콜로니를 생성하였다. 또한, 선택된 나머지 세포를 플레이팅하여, 백업(backup) 콜로니를 생성하였다. 플레이팅 후 대략 12 내지 14일에, 단일의 콜로니를 확인하고, 96-딥(deep)-웰 플레이트로 옮겼다. 클론을 2차 계대 후에 FACS 분석에 의해 스크리닝하였다. 상위 생성 클론을 계대하고, 셰이크 플라스크(shake flask)로 증식시켰다. 상위 2개의 클론을 동결시키고/거나 마이코플라즈마 AVA 시험 및 대량화를 위해 배양하였다.

[0243] 산재성(disseminated) 이종이식 모델에 대한 루시페라제(luciferase) 리포터를 구축하기 위하여, CMV 프로모터/루시페라제 유전자/네오마이신 선택가능한 마커(미국 위스콘신주 매디슨 소재의 프로메가(Promega))를 함유하는 상용의 벡터를 사용하여 Daudi 버킷(Daudi Burkitt) 림프종 세포에서 안정한 트랜스펙턴트 라인을 생성하였다.

[0244] **실시예 3:** 파지 디스플레이 라이브러리 및 CD38에 결합하는 물질의 스크리닝

[0245] 파지 디스플레이 라이브러리로부터의 특이적인 표적 항체의 선택을 문헌[Marks et al. (2004, Methods Mol. Biol. 248:161-76)]에 기재된 방법에 따라 수행하였다. 약술하면, 파지 디스플레이 라이브러리를 실온에서 1시간 동안 100 pmol의 비오틴화 CD38과 함께 인큐베이션시킨 다음, 형성된 복합체를 100 μ l의 스트렙타비딘 비드 현탁액(다이나비즈(DYNABEADS)(등록 상표) M-280 스트렙타비딘, 인비트로젠)을 사용하여 포획하였다. 비드를 세정 완충액(PBS 중의 5% 밀크)으로 세정함으로써 비-특이적인 파지를 제거하였다. 결합 파지를 0.5ml의 100nM 트라이에틸아민(TEA)으로 용리시키고, 동부퍼의 1M TRIS-Cl, pH 7.4의 첨가에 의해 즉시 중화시켰다. 용리된 파지 풀(pool)을 사용하여, 대수기로 성장하는 TG1 이 콜라이(E coli) 세포를 감염시키고, 파지미드를 상기 문헌[Marks et al.]에 기재된 바와 같이 구하였다. 총 3 라운드에 대하여 선택을 반복하였다.

[0246] 대안적으로, 파지 디스플레이 라이브러리를 고정된 CD38(알앤디 시스템즈(R&D systems))에 대하여 패닝하여, CD38에 결합하는 능력을 갖는 항체 단편의 패널을 확인하였다. 표준 프로토콜(예를 들어, 문헌[Methods in Molecular Biology, vol. 178: Antibody Phage Display: Methods and Protocols Edited by: P.M. O'Brien and R. Aitken, Humana Press; "Panning of Antibody Phage-Display Libraries," Coomber, D.W.J., pp. 133-145] 및 문헌["Selection of Antibodies Against Biotinylated Antigens," Chames et al., pp. 147-157] 참조)을 사용하여 패닝을 수행하였다. 약술하면, 넌크(NUNC)(등록 상표) 맥시소르프(MAXISORP) 플레이트의 3개의 웰을 PBS 중의 10 μ g/ml의 농도에서 50 μ l의 재조합 CD38(알앤디 시스템즈)로 코팅하였다. 4℃에서의 하룻밤 인큐베이션 후에, 자유 결합 부위를 실온에서 1시간 동안 PBS 중의 5% 밀크로 블로킹하였다. 이어서, 5% 밀크/PBS 중의 대략 200 μ l의 파지 라이브러리를 블로킹된 웰에 첨가하고 대략 1 내지 2시간 동안 실온에서 인큐베이션시켰다. 웰을 세정하고, 결합 파지를 표준 방법(예를 들어, 문헌[Sam brook and Russell, Molecule Cloning: A Laboratory Manual, 3rd Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2001] 참조)을 사용하여 용리시켰다. 용리된 파지를 대수 성장기에 있는 이 콜라이 TG 1 숙주 세포를 감염시킴으로써 증폭시켰다. 감염된 TG 1 세포를 5분 동안 2,500 RPM에서의 원심분리에 의해 회수하고, 15cm 2YT-앰피실린-2% 글루코스 아가 플레이트에 플레이팅하고, 30℃에서 하룻밤 인큐베이션시켰다. 이어서, 증폭된 파지를 사용하여 패닝 과정을 반복하였다. 패닝, 용리 및 증폭의 사이클을 3 라운드 동안 반복하였다.

[0247] 패닝 완료 후에, 플레이팅된 TG1 세포로부터의 단일의 콜로니를 사용하여, 96-웰 플레이트 내의 배지를 접종하였다. 미량배양물을 0.6의 OD600에서 성장시키고, 이 때, 용해성 scFv의 발현을 1mM IPTG의 첨가 및 30℃에서 셰이커에서의 하룻밤 인큐베이션에 의해 유도하였다. 박테리아를 원심분리에 의해 펠렛화시키고, 표준 ELISA 검정법 및 FACS-결합 검정법을 사용하여, 주변세포질 추출물을 이용해 고정된 CD38에 대한 scFv 결합을 시험하였다.

[0248] FACS 결합 스크린을 위하여, CD38을 안정적으로 발현하는 CHO 세포를 사용하여 천연의 막 결합 CD38에 결합하는 그들의 능력에 대하여 주변세포질 추출물(PPE) 내의 scFvs를 스크리닝하였다. 모 및 CHO 트랜스펙턴트(인간 CD38 또는 사이노 CD38 또는 마우스 CD38-발현 세포주)를 PBS(라이프 테크놀로지스(Life Technologies)), 0.5% BSA(시그마-알드리치(Sigma-Aldrich) 및 0.1% Na₂S₂O₃(시그마-알드리치)(FACS 완충액) 중에 2 \times 10⁶개 세포/ml로 따로 재현탁화시켰다. CD38을 발현하지 않는 모 CHO 세포를 음성 대조군으로 사용하였다. 세포의 25 μ l의 분취물을 V-바닥 96-웰 플레이트(코스타(Costar) 카탈로그 번호 3897)에 플레이팅하고, myc-태깅된(tagged) scFv 항체 단편을 함유하는 25 μ l의 주변세포질 추출물을 세포에 첨가한 다음, 혼합물을 4℃에서 30분 동안 인큐베이션시켰다. 이어서, 세포를 2회 세정한 후에, 펠렛을 25 μ l의 마우스 항 c-myc(FACS 완충액 중에 1/1000)(로슈(Roche))에 재현탁화시키고, 4℃에서 30분 동안 다시 인큐베이션시켰다. 이어서, 세포를 2회 세정하고, FACS 완충액

(잭슨 랩스(Jackson labs)) 중의 1/200 희석 항-마우스 IgG-PE 25 μ l 중에 재현탁화시키고, 4℃에서 30분 동안 다시 인큐베이션시켰다. 이어서, 세포를 2회 세정하여, 과잉의 미결합 항체를 제거하고, 70 μ l의 FACS 완충액에 재현탁화시키고, BD FACScan(등록 상표)에서 분석하였다. 플로우조(FlowJo) 소프트웨어(트리스타, 인코포레이티드(TreeStar, Inc.))를 사용하여 수집된 데이터를 평가하였다. CD38 트랜스펙션된 CHO 세포의 형광 세기 중앙값을 모 CHO 세포주(CD38⁻)의 형광 세기 중앙값과 비교함으로써, 양성 시료를 확인하였다.

[0249] 인간 CD38에 결합된 항체 클론을 시퀀싱하여, 독특한 클론을 확인하였다. 이어서, 독특한 scFV 클론을 비아코어(Biacore)(등록 상표) 분석에 의해 결정된 오프-속도(off-rate)에 기초하여 순위를 매겼다. 200RU 내지 500RU의 인간 재조합 CD38(알앤디 시스템즈 카탈로그 번호 2404-AC 또는 동등물)을 표준 아민 커플링 화학(비아코어(등록 상표))에 의해 CM5 또는 동등한 칩에 고정시켰다. 또한, 참조 스폿(reference spot)을 준비하고, 이를 활성화화시킨 다음, 단백질의 고정 없이 블로킹하였다. 이는 항원을 아세테이트 완충액, pH 5.0 중에 1-3 μ g/ml로 희석하고, 필요한 수준으로 고정되될 때까지(3 내지 5분), 활성화화 표면 상에 주입함으로써 행하였다. 이어서, 표면을 에탄올아민으로 블로킹하였다. 주변세포질 추출물을 pH 7.4에서 2mg/ml BSA(소혈청알부민)와 함께 검정법 런닝(running) 완충액 10 mM HEPES, 150 mM NaCl, 3 mM EDTA(에틸렌다이아민테트라아세트산) 및 0.05% 폴리소르베이트 20으로 1 대 1 희석하였다. 희석된 주변세포질 추출물을 30분에 300초 동안 표면 플라스몬 공명(SPR) 표면 상에 주입하였으며, 추가 900초의 해리 시간이 모니터링되었다. 100mM HCl의 단일의 8초 주입을 사용하여 재생시켰다. 참조 스폿으로부터의 데이터를 활성화 표면으로부터의 데이터로부터 제한 다음, 해리 곡선을 비아코어(등록 상표) T100 소프트웨어에서 1:1 해리 모델을 사용하여 핏팅시켰다.

[0250] 상위-순위의 scFV 클론을 IgG1 항체로 전환시켰다. FACS 결합 스크린을 모 CHO 세포 및 인간, 뮤린 및 사이노볼구스 CD38을 발현하는 CHO 세포를 사용하여, IgG1 재포맷(reformatted) 클론에 대하여 반복하여, 결합 특성이 유지되는 것을 보장하고, 종 교차-반응성을 평가하였다. IgG-재포맷 클론의 FACS 특성화를 상술된 바와 같이 행하였으나, 항-c-myc 항체 및 항-마우스 IgG-PE의 첨가로 이루어진 단계를 전장 인간 IgG의 결합을 피코에리트린 컨주게이트된 항-인간 IgG(잭슨 랩스)의 첨가에 의해 검출하였던 단일의 단계로 대체하였다.

[0251] **실시예 4:** IgG-재포맷 클론의 시험관 내 세포 기반의 검정법

[0252] 약 150개의 클론을 인간 IgG1 항체로 재포맷팅시키고, 5개의 클론(Ab19, Ab43, Ab72, Ab79 및 Ab110)을 후술되는 바와 같이 검정법의 패널을 사용하여 전부 평가하였다. 시험관 내 및 생체 내 검정법 둘 모두에서의 IgG-재포맷팅된 클론의 성능을 2개의 항체, BMTK4-1(벤치마크-1, BM-1 또는 BMTK-1로도 지칭)(서열 번호 24 및 25; 중쇄 및 경쇄 가변 영역) 및 BMTK4-2(벤치마크-2, BM-2 또는 BMTK-2로도 지칭)(서열 번호 26 및 27; 중쇄 및 경쇄 가변 영역)와 비교하였으며, 그의 아미노산 서열은 각각 공지되어 있는 항-CD38 항체 테라투무맙(HuMax-CD38로도 지칭, 국제 특허 출원 공개 WO 06/099875호에 개시) 및 SAR650984(국제 특허 출원 공개 WO 08/047242호에 개시)의 서열로부터 유래된다. 팔리비주맙(palivizumab)(시나지스(SYNAGIS)(등록 상표)(메드이뮌(MedImmune))), 호흡기세포융합바이러스를 인식하는 임상적으로 입증된 항체를 CD38 결합에 대한 음성 대조군으로 삼았다.

[0253] **실시예 5:** 면역형광에 의한 Ab79의 검출

[0254] 알렉사 플루오르(Alexa Fluor)(등록 상표) 488 염료 표지된 Ab79를 정상의 인간 결장직장 조직, 전립선 및 림프의 동결 섹션에 적용하였다. 알렉사 플루오르(등록 상표) 488 염료 표지된 팔리비주맙(시나지스(등록 상표))를 음성 염색 대조군으로 삼았다. 생성된 면역형광 영상을 도 4에 나타내었다. Ab79에 대하여 관찰되는 염색 패턴은 정상 인간 결장직장 조직, 전립선 및 림프절에 대한 상업적으로 입수할 수 있는 폴리클로날 항-CD38 항체로 관찰되는 것(데이터 미도시)과 동일하였다.

[0255] 또한, 알렉사 플루오르(등록 상표) 488 염료 표지된 Ab79를 정상 및 다발성 골수종 골수 시편에 적용하였다(데이터 미도시). Ab79가 정상 골수로부터의 약 10%의 세포에 결합되는 한편, 시험한 4개의 샘플 중 4개에서, 다발성 골수종 골수 세포의 90% 초과와 세포가 Ab79 결합을 보였다.

[0256] Ab79가 많은 세포주(MOLP-8, DAUDI, RPMI 및 MCF7)에 결합하는 능력을 또한 시험하였다. MOLP-8(인간 다발성 골수종), DAUDI(버킷 림프종 환자 유래의 림프모구) 및 RPMI(만성 골수성 백혈병 환자로부터 확립된 세포주) 세포는 모두 Ab79에 의한 결합을 보였다. 유방암 세포주, MCF7은 대부분 Ab79 결합에 대하여 음성으로 나타났다(데이터 미도시).

[0257] 알렉사 플루오르(등록 상표)488-컨주게이트된 항체를 8 μ m 크라이오스탯(cryostat) 동결 섹션상에서 염색하고, 이를 에탄올/아세톤 혼합물에서 5분 동안 고정하고, 습도-조절 챔버 내의 실온에서 1시간 동안의 항체로의 인큐베이션으로 이어졌다. 이어서, 섹션을 세정하고, DAPI 함유 마운턴트(mountant)(벡터 레보러터리즈(Vector

Laboratories) 카탈로그 번호 H1500)를 첨가하고, 커버슬립을 적용하였다.

[0258] **실시예 6:** 다발성 골수종(MM) 및 만성 림프구성 백혈병(CLL)에 대한 Ab79 발현의 평가

[0259] 다발성 골수종 환자로부터의 골수 시료에 대한 Ab79 결합을 CD138⁺ 세포에 대한 농축 후에 유세포분석에 의해, 또는 CD138⁺CD45^{-/lo} 세포에 대한 게이팅(gating)에 의해 분석하였다(도 7a). Ab79는 6개의 다발성 골수종 시료 중 4개로부터의 95% 초과 세포에서 발현되는 것으로 관찰되었다. Ab79의 결합 패턴은 임상 실험실에서 사용되는 항-CD38 항체의 것과 매우 유사한 것으로 나타났다. 추가로, Ab79는 만성 림프구성 백혈병 환자로부터의 세포에 결합한다(도 7b).

[0260] FACS에 의한 MM 및 CLL에 대한 Ab79 결합을 측정하기 위하여, 환자 시료를 24시간 내에 처리하였다. 말초 혈액 단핵 세포를 제조처의 지시에 따라 피콜-파크(Ficoll-Paque)(지이 헬스케어(GE Healthcare))에 의해 분리하였다. 골수 내의 클론과 함께 하기의 항체의 패널을 사용하여 발현 분석을 수행하였다. MM 패널: Ab79-알렉사 플루오르(등록 상표) 488, CD45-PerCP(2D1), CD138-APC (MI15). CLL 패널: Ab79알렉사 플루오르(등록 상표) 488; CD5-PE(UCHT2), CD45-PerCP(2D1), CD19-APC(SJ25C1). 5 μ l의 PE, PerCP 또는 APC 표지된 항체 또는 10 μ l의 알렉사 플루오르(등록 상표) 488 표지된 항체 또는 아이소형 대조군을 100 μ l의 0.2 \times 10⁶ PBMC 또는 골수 천자액으로부터의 CD138 농축 세포 중 어느 하나를 함유하는 각 웰 또는 튜브에 첨가하였다. 시료를 실온에서 30분 동안 인큐베이션시킨 후에, 적혈구를 제조처의 지시에 따라 비디 파밀라이즈(BD Pharmlyse)를 사용하여 용해시켰다. 모든 시료를 FACS 완충액에서 3회 세정하였다. 시료를 1% 파라포름알데히드에서 고정하고, BD FACSCanto(상표명) II 또는 BD FACSCaliber(상표명) 상에서 분석하였다.

[0261] **실시예 7:** 항-CD38 유도 CDC 검정법

[0262] 사이노물구스 교차-반응성 클론을 보체-의존성 세포독성(CDC)의 유도 능력에 대하여 시험하였다. MOLP-8 세포를 블랙(black) 96-웰의 바닥이 평평한 조직 배양 플레이트에서 50 μ l의 완전 배지(10% 우태아혈청이 보충된 RPMI) 중에 웰당 10,000개 세포의 밀도로 플레이트하였다. 50 μ l의 2 \times 항-CD38 항체, 대조군 IgG 항체 또는 단독의 배지를 각 웰에 첨가하고, 실온에서 10분 동안 인큐베이션되게 놔두었다. 다양한 양(2-15 μ l)의 정제된 토끼 보체(카탈로그 번호 CL 3441 캐나다 소재의 세다란 래보러터리즈(Cedarlane Laboratories))를 세포주에 따라, 대조군을 제외한 각 웰에 첨가하였다. 37 $^{\circ}$ C에서 1시간 인큐베이션 후에, 플레이트를 실온으로 가져오고, 100 μ l의 셀 타이터 사이토스 글로(cell titer CytoTox Glo)(상표명) 시약(프로메가 G7571/G7573)을 각 웰에 첨가하고, 플레이트를 5 내지 7분 동안 웨이킹하고, 발광을 엔비전(EnVision)(등록 상표)(퍼킨 엘머(Perkin Elmer)) 발광 플레이트 판독기에서 판독하였다. 시험한 조건은 하기와 같다: 단독의 세포; 세포 + 보체; 세포 + IgG 대조군 + 보체; 세포 + 항체 + 보체. CDC%를 하기의 식을 사용하여 계산하였다:

[0263] $100 - (RLU_T / RLU_C) \times 100$,

[0264] 여기서, RLU_T는 시험 시료의 상대 발광 유닛이고, RLU_C는 보체만을 갖는 시료의 상대 발광 유닛이다. 통계적 분석을 프리즘(PRISM) 소프트웨어를 사용하여 수행하였다. CDC% 대 항체 농도의 플롯으로부터 결정된 바와 같은 EC₅₀ 값을 표 1에 나타내었다.

[0265] **실시예 8:** 항-CD38 유도 ADCC 검정법

[0266] 항체-의존성 세포-매개 세포독성(ADCC)을 표적 세포로서 Daudi, MOLP-8 및 RPMI-8226 세포주를 사용하여 평가하였다. PBMC를 스탠포드 혈액 센터(Stanford Blood Center)(미국 캘리포니아주 팔로 알토 소재)로부터 수득한 버피 코트(buffy coat) 또는 LRS로부터의 피콜-파크(상표명) 단리에 의해 이펙터 세포로서 분리하였다. 시편을 PBS 중의 2% FBS로 1:3 희석하였다. 15ml의 피콜-파크(상표명)(지이 헬스케어)를 35ml의 희석 시편 아래에 조심히 적층하고, 1800rpm(브레이크 없이)에서 25분 동안 원심분리하였다. PBMC를 함유하는 탁한 중간층(interphase)을 수집하고, PBS 중의 2% FBS로 3회 세정하고, 10% DMSO/FBS 중에 분취물당 50 \times 10⁶ 개 세포/ml의 분취물을 동결시켰다. PBMC의 동결된 분취물을 해동시키고, 필요한 경우 10% FBS/RPMI + 5ng/ml 재조합 인간 IL2(알앤디 시스템즈 #202-IL) 중에 ml당 2 \times 10⁶ 개로 하룻밤 배양하였다.

[0267] ADCC 검정법을 위하여, 모든 단계를 완전 배지에서 수행하였다. 96-웰 플레이트에서 50 μ l의 3 \times 항-CD38, 대조군 IgG 또는 단독의 배지 중에 웰당 5000개의 표적 세포를 플레이트하고, 이어서, 1:25 내지 1:50 표적:이펙터(T:E) 세포의 비로, 50 μ l의 인간 이펙터 PBMC를 첨가하였다. 플레이트를 800rpm에서 약 30초 동안 간단하게 원

심분리하여, 모든 세포를 가까이로 이동시켰다. 37℃에서 4시간 후에, 플레이트를 1100rpm에서 5분 동안 원심분리하고, 100 μ l의 상층액을 백색 플레이트로 옮겼다. 100 μ l의 사이토스 글로(상표명) 시약(프로메가 카탈로그 번호 G9292)을 상층액에 첨가하고, 플레이트를 실온에서 20 내지 30분 동안 셰이킹되게 하였다. 발광을 엔비전(등록 상표)(퍼킨 엘머) 발광 플레이트 판독기에서 판독하고, 특이적 용해 백분율을 하기 식을 사용하여 계산하였다:

[0268]
$$(RLU_T/RLU_{E/T}) / (RLU_L/RLU_{E/T}) \times 100$$

[0269] 여기서, RLU_T 는 시험 시료의 상대 발광 유닛이고, $RLU_{E/T}$ 는 표적 세포 및 이펙터 세포만을 함유하는 시료의 상대 발광 유닛이며, RLU_L 은 트리톤(Triton) X-100으로 용해된 세포에 대한 상대 발광 유닛이다. 통계적 분석을 프리즘 소프트웨어를 사용하여 수행하였다. 특이적 용해 % 대 항체 농도의 플롯으로부터 결정된 바와 같은 EC_{50} 값을 표 1에 나타내었다.

표 1

IgG 세포매트 항체에 대한 CDC, ADCC 및 효능제 활성

항체	CDC EC_{50} nM (MOLP-8)	ADCC EC_{50} nM (DAUDI)	ADCC EC_{50} nM (MOLP-8)	ADCC EC_{50} nM (RPMI-8226)	아포토시스 EC_{50} nM (DAUDI)
BM-1	0.48 ± 0.16	0.03 ± 0.02	0.036 ± 0.013	0.13 ± 0.03	0.057
BM-2	0.65 ± 0.18	0.04 ± 0.02	0.024 ± 0.005	0.15 ± 0.04	0.062
Ab19	0.98 ± 0.26	0.08 ± 0.03	0.038 ± 0.008	0.46 ± 0.15	0.032
Ab43	2.2	0.12 ± 0.09	0.027 ± 0.018	3.84 ± 1.34	1.56
Ab72	0.66 ± 0.49	0.14 ± 0.12	0.193 ± 0.037	2.35 ± 0.99	0.35
Ab79	1.1 ± 0.39	0.03 ± 0.02	0.047 ± 0.012	0.46 ± 0.19	0.048
Ab110	1.99 ± 0.71	0.24 ± 0.17	0.874 ± 0.804	2.98 ± 0.91	0.40
Ab164	2.00 ± 0.83	ND	0.165 ± 0.154	1.2 ± 0.24	0.31

[0270]

[0271] 실시예 9: FACS에 의한 친화성 결정

[0272] CD38을 발현하는 MOLP-8 세포를 대략 200만개 세포/ml의 생존 세포 농도로 1% FBS 완충액에 현탁화시켰다. 시험할 mAb를 1×PBS 중에 2개의 96-웰 플레이트에 대하여 웰을 건너 단계 희석하였다(2배). 각 적정의 마지막 웰에는 완충액만이 함유되었다. 추가의 PBS 및 세포 현탁액을 각 웰에 첨가하여, 최종 부피가 약 300 μ l/웰이 되게 하고, 각 웰에 대략 100,000개 세포를 포함시켰다. mAb를 적정에 사용되는 해당하는 최종 mAb 결합 부위 농도($2 \times$ 분자 농도) 범위와 함께 하기에 열거하였다:

[0273] 벤치마크 1, [mAb]결합 부위 = 50.8nM 내지 49.7pM

[0274] 벤치마크 2, [mAb]결합 부위 = 49.5nM 내지 48.3pM

[0275] Ab 43, [mAb]결합 부위 = 49.3nM 내지 48.2pM

[0276] Ab 110, [mAb]결합 부위 = 204nM 내지 49.9pM

- [0277] Ab 79, [mAb]결합 부위 = 103nM 내지 25.3pM
- [0278] Ab 72, [mAb]결합 부위 = 103nM 내지 25.2pM
- [0279] Ab 19, [mAb]결합 부위 = 100nM 내지 12.2pM.
- [0280] 플레이트를 4℃에서 5시간 동안 플레이트 셰이커에 두고, 그 후에, 플레이트를 4℃에서 1 ×PBS로 3회 세정하였다. 이어서, 200 μ l의 99nM Cy5 염소 항-인간 IgG Fc 특이적 폴리클로날 항체(잭슨 이뮤노리서치 래보러터리즈(Jackson ImmunoResearch Laboratories), #109-175-008)를 각 웰에 첨가하고, 플레이트를 4℃에서 30분 동안 셰이킹하였다. 플레이트를 4℃에서 1 ×PBS로 다시 2회 세정한 다음, FACSCanto(상표명) II HTS 유세포분석기를 사용하여, 독특한 mAb 결합 부위 농도를 함유하는 각 웰에 대하여 5000개 사건의 평균 형광 세기(MFI)를 기록하였다. 항체 결합 부위 농도의 함수로서 평균 형광 세기의 플롯을 하기의 식을 사용하여 사이언티스트(Scientist) 3.0 소프트웨어로 비선형으로 피팅시켰다:
- [0281]
$$F = p[(KD + LT + n(M)) - \{(KD + LT + n(M))^2 - 4n(M)(LT)\}^{1/2}]/2 + B$$
- [0282] 여기서, F(평균 형광 세기), LT(총 mAb 결합 부위 농도), p(임의의 형광 유닛을 결합 mAb와 연관시키는 비례 상수), M(물농도의 세포 농도; 300 μ l 중의 100,000개 세포에 기초한 0.553 fM), n(세포당 수용체의 개수), B(백그라운드 신호) 및 KD = 평형 해리 상수.
- [0283] 각 항체 적정 곡선에 대하여, KD에 대한 추정치를 P, n, B로 수득하였으며, KD는 비선형 분석에서 자유롭게 변동되었다. 상기 식의 상세한 유래에 대해서는 본 명세서에 참고로 포함되는 문헌[Drake and Klakamp (2007), "A rigorous multiple independent binding site model for determining cell-based equilibrium dissociation constants," J. Immunol. Methods 318: 157-62]을 참조한다. 표 3에는 괄호 안의 각 피트의 95% 신뢰성 구간과 함께, 친화성 감소의 순서로, 모든 항체에 대하여 얻은 KD가 열거되어 있다. 항체 결합 부위 농도(2×분자 농도)를 비선형 곡선-피팅을 위해 사용하였다.
- [0284] **실시예 10:** 비아코어(등록 상표)에 의한 친화성 결정
- [0285] 용해성 CD38 엑토도메인에 대한 IgG 항체의 친화성을 22℃에서 비아코어(상표명) A100 상에서의 표면 플라즈몬 공명(SPR) 분석에 의해 결정하였다. 염소 항-인간 IgG 폴리클로날 항체(칼태그(Caltag) H10500)를 칩의 모든 4개의 유동 셀 내에서 스폿 1, 2, 4 및 5로의 표준 아민 커플링을 사용하여 CM5 바이오센서 칩에 고정시켰다. 각 스폿 상의 고정 수준은 5865 RU 내지 6899 RU 범위이다. 인간 CD38을 알앤디 시스템즈(카탈로그 번호 2404-AC, 롯트(Lot) 번호 PEH020812A)로부터 수득하였다. CD38에 대한 스톡(stock) 농도를 문헌[Pace et al. (1995) "How to measure and predict molar absorption coefficient of a protein" *Protein Science* 4(11):2411-23] 및 문헌[Pace and Grimsley (2004) "Spectrophotometric determination of protein concentration," in *Current Protocols in Protein Science*, Chapter 3: Unit 3.1]에 상세화된 방법을 사용하여 결정하였으며, 각 참조문헌의 교시는 본 명세서에 참고로 포함된다.
- [0286] HEPES-완충 염수, 0.005% 폴르소르베이트 20을 탈기시키고, 여과시킨 BSA를 100 μ g/ml의 최종 농도로 첨가함으로써 런닝 완충액을 제조하였다. 모든 8개의 정제된 mAb를 런닝 완충액을 사용하여 대략 2 μ g/ml로 희석시켰다. 사전 실험에 의해, 포획될 각 mAb의 양을 추정하여, 약 100 RU 이하의 표면 용량(R_{max})을 유지하였다. 각 mAb 포획/항원 주입 사이클을 위하여, mAb를 각 유동 셀 내에서 스폿 1 및 5에 대하여 포획하고, 나란히 놓인 스폿 2 및 4를 각각의 기준 표면으로 삼았다. 각 희석된 mAb를 10 μ l/분의 유속으로 1분 동안 포획시키고, 표면 안정화를 위한 3분의 런닝 완충액의 유동으로 이어졌다. HuCD38을 모든 4개의 유동 셀에 대하여 193.7nM 내지 3.0nM(2×단계 희석)의 농도 범위에 걸쳐 30 μ l/분으로 120초 동안 주입하고, 15분의 해리 단계로 이어졌다. 시료를 모두 런닝 완충액에서 제조하고, 무작위로 3별로 주입하고, 7회의 완충액 주입을 이중 참조를 위해 사이에 배치하였다. 표면을 10 mM 글라이신, pH 1.7의 2회의 20초 펄스(pulse)로 재생시켰다.
- [0287] 모든 센서그램(sensorgram) 데이터를 스크러버(Scrubber) 2.0c 소프트웨어로 처리하고, 전체적으로 스크러버 2.0c에서 1:1 상호작용 모델로 피팅시켰다. 얻은 결합 상수는 표 2에 나타내었다.

표 2

항체	FACS KD (nM) MOLP-8	FACS KD (pM) RPMI-8226	비아코어 Ka (M-1s-1)	비아코어 Kd (s-1)	비아코어 KD (nM)
BM-1	1.1 (0.9)	802	4.49 x 10 ⁴	2.46 x 10 ⁻³	54.8
BM-2	1.6 (0.6)	428	4.24 x 10 ⁵	2.27 x 10 ⁻³	5.4
Ab19	0.4 (0.3)	-	1.54 x 10 ⁵	8.10 x 10 ⁻⁴	5.3
Ab79	1.2 (1.1)	508	1.22 x 10 ⁵	6.75 x 10 ⁻⁴	5.5
Ab72	0.6 (0.4)	-	1.44 x 10 ⁴	1.82 x 10 ⁻³	126
Ab110	1.0 (0.1)	-	1.22 x 10 ⁵	1.71 x 10 ⁻¹	1400
Ab43	1.1 (0.3)	-	2.72 x 10 ⁵	1.46 x 10 ⁻¹	537
Ab164	1.4 (0.7)	-	1.99 x 10 ⁵	7.15 x 10 ⁻²	359

[0288]

[0289]

실시예 11: 면역형광 내재화 검정법

[0290]

면역형광 기술을 사용하여 항-CD38 항체의 MOLP-8 세포로의 내재화를 평가하였다. MOLP-8 세포를 수집하고, 5×10^6 개 세포를 4℃에서 10분 동안, 알렉사 플루오르(등록 상표) 488에 직접 컨쥬게이트된 1μg의 각 항-CD38 항체가 있는 RPMI-1640 중에서 염색하였다. 세포를 1% BSA를 함유하는 PBS에서 세정하고, 1×10^6 개 세포를 4℃ 또는 37℃에서 3 또는 6시간 동안 인큐베이션시켰다. 표면 염색을 2μg의 토끼 항-알렉사 플루오르(등록 상표) 488 항체(인비트로젠)를 사용하여 4℃에서 30분 동안 컨칭하였다. 세포를 세정하고, 1% PFA가 있는 PBS 중에서 고정하고, 마이크로테스트(Microtest) 96-웰 플레이트(비디 바이오사이언스즈(BD Biosciences))로 옮기고, FACSCanto(상표명) II(비디 바이오사이언스즈) 유세포분석기를 사용한 유세포 분석에 의해 평가하거나, 20×배율로 이미지엑스프레스(ImageXpress)(등록 상표) 마이크로(몰레큘라 디바이스즈(Molecular Devices))를 사용하여 영상화하였다.

[0291]

실시예 12: 비아코어(등록 상표)에 의한 에피토프 비닝

[0292]

비아코어(등록 상표) A100 기기를 사용하여 2개의 벤치마크 항체뿐 아니라 Ab19 및 Ab79를 비닝하였다. 항체를 먼저 NHS/EDC 커플링 화학을 사용하여 고밀도 및 저밀도로 CM5 칩 상에 고정시켰다. 각 사이클의 에피토프 비닝 실험을 위하여, CD38을 먼저 이들 표면 상에 주입하였다. ELISA 형식에서 샌드위치 검정법과 유사하게, 독특한 항체(고정화된 항체의 세트로부터 취한)를 CD38/항체 복합체를 함유하는 표면 상에 주입하였다. 표면을 각 사이클의 마지막에 인산의 펄스를 사용하여 재생시켰다. 데이터를 BSA가 보충된 HBS-P(10mM 10 HEPES pH 7.4, 150mM NaCl, 0.005% P-20)를 사용하여 22℃에서 수집하였다. 얻은 센서그램을 비아코어(등록 상표) A100 평가 소프트웨어 패키지 내의 "에피토프 맵핑" 모듈뿐 아니라 A100 데이터 세트에 대한 시험 버전의 스크리버를 사용하여 처리하였다. 표 3에 나타난 바와 같이, 2개의 개별 실험으로부터 상기 4개의 mAb에 대한 2벌의 데이터를 사용하여 바이너리(binary) 4×4 매트릭스를 생성하였다.

표 3

	Ab79	BM1	Ab19	BM2
Ab79	0	0	1	1
BM1	0	0	1	0
Ab19	1	1	0	0
BM2	1	0	0	0

[0293]

[0294]

실시예 13: 종양학에서의 생체 내 분석

[0295]

Ab19 및 Ab79의 생체 내 효능을 인간 림프종의 산재형 Daudi-루시페라제 모델에서 시험하였다. 타코닉 래보러터

리즈(Taconic Laboratories)로부터의 6 내지 8주령 암컷 CB.17 SCID 마우스에 1×10^6 개 Daudi-Luc 종양 세포를 정맥내 주사하였다. 연구 7일째에, 팔리비주맵, Ab79, Ab19, 벤치마크 1 및 벤치마크 2를 복강내 처리하였다. 생물발광 영상화를 IVIS 제노젠 시스템(Xenogen system)(캘리포 라이프 사이언스즈(Caliper Life Sciences))을 사용하여 21일부터 시작하여 주마다 수행하여, 종양 크기를 모니터링하였다. 영상화를 위하여, 동물에 영상화 10분 전에 루시페라제 기질(150mg/kg)을 복강내 주사한 다음, 동물을 아이소플루란 하에서 마취시키고, 영상화 하였다. 결과는 도 8 및 9에 나타나 있다.

[0296] **실시예 14: 염증/면역 질환 상관관계**

[0297] CD38은 활성화 후에 PBMC 세포에서 급격하게 상향조절되는 것으로 나타났다. 정상 공여자로부터의 휴지 PMBC 에서, 휴지 세포의 20% 미만이 CD38을 발현하며, 수용체 개수는 세포당 대략 10,000 내지 20,000인 것으로 계산 된다. 다시 정상의 공여자로부터의 활성화 PMBC는 세포의 60 내지 75%가 CD38을 발현하는것을 보였으며, 세포당 110,000 내지 160,000의 수용체 개수가 있었다.

[0298] 또한, 도 5에 나타난 바와 같이, CD38은 SLE 환자로부터의 PMBC에서 발현의 증가를 보였다.

[0299] 시료를 CD38의 과발현에 대하여 면역조직화학적으로 시험하였다. SLE 환자로부터의 19개의 시료를 분석하여, B 및 T 메모리 세포 및 pDC 상에서의 CD38 발현 증가의 관찰로 이어졌다. 3명의 RA 환자를 분석하여, 모든 3명의 환자의 활액막 조직에서 CD38 형질 세포의 침윤뿐 아니라 Ab79가 있는 활액막 조직의 염색 증가가 나타났다. 7명의 크론병 환자 및 6명의 궤양성 대장염 환자를 분석하였으며, 환자로부터의 2가지 원발성 세포 시료 상에서 시험한 결장의 평활근에서 CD38 발현 형질 세포의 침윤이 나타났다. 동일한 수의 정상 환자를 시험하여, 이들 결과가 보이지 않았음을 주목해야 한다.

[0300] **실시예 15: 항-CD38 항체를 사용한 고갈**

[0301] 사이노물구스 원숭이의 Ab79의 투여에 의해, 림프구, B 및 T 세포 및 NK 세포의 유의미한 감소가 나타났다. 항체를 30분 정맥내 주입에 의해 도 6에 나타난 용량으로 투여하였으며, 데이터를 24시간에 수집하였다. 유사한 데이터가 4일, 7일, 11일 및 18일에 나타났다.

[0302] 그러나, pK/pD 데이터는 투여 후의 동물의 회복을 보여주었다. 도 7에 나타난 바와 같이, 림프구 계수는 심지어 고용량에서도, 단일의 정맥내 30분 주입 투여 후 소정의 기간 후에, 대조군 계수와 유사하게 복귀되었으며, 이는 림프계 전구 세포에 문제가 없음을 나타낸다.

[0303] **실시예 16: 자가면역 질환 모델**

[0304] 3가지 상이한 모델을 사용한다.

[0305] HuScid 마우스 모델을 슈도-이식편-대-숙주 모델뿐 아니라 항과상품 반응, IgG 고갈 및 전반적 생존을 위한 모델로 삼았다. CB17/HuSCID 마우스에 ASGM1을 주입하여, NK 세포를 고갈시킨 다음, 2일 후에 인간 PBMC를 주입하였다. 7 내지 10일 동안 생착이 진행되게 하고, 인간 Ig 무작위화를 위해 혈청을 수집하였다. 1일 후에, 마우스에 10mg/kg의 Ab79에 이어서, TTd를 주입하고, 4일 후에 제2 투여, 그 후 3일에 제3 투여를 하였고, 혈청을 그 후 3일에 인간 Ig 계수 및 항과상품 검출을 위해 수집하였다(제1 투여로부터 총 10일). 도 8은 단일의 마우스 공여자로부터의 결과를 보여주며, 이는 모든 처리 시의 Ig 아이소형의 유의미한 감소를 나타낸다. 도 9는 각 수여자 그룹에 대한 평균 Ig 수준의 결과를 보여주며, 각 데이터 점은 그룹(n= 5 내지 n=10)당 평균값을 나타낸다. 도 10은 AB79 처리 시의 항-과상품 반응의 유의미한 감소를 보여준다. 마지막으로, 도 11은 Ab79 처리를 사용한 유의미한 전반적인 생존을 보여준다.

[0306] 대리 마우스 실험

[0307] Ab79가 설치류 CD38과 교차 반응하지 않기 때문에, 대리 항체를 개발하였다. 선결 문제로서, 인간 CD38에 대한 상용의 항체 및 마우스 CD38에 대한 상용의 항체를 사용하여, 인간 및 마우스 간의 세포 유형 간에 CD38 발현 수준에서 유의미한 차이가 나타났으며(도 12 참조), 이는 질환의 생물 작용이 상이한 것을 보여준다. 따라서, 원숭이 모델에서 원숭이 CD38과 상호 작용하는 항체를 사용하여, 유의미하게 더 나은 결과를 제공할 수 있다.

[0308] 비장, 혈액 및 골수(데이터 미도시)뿐 아니라 말초 혈액(도 13 참조)으로부터 수집한 CD38+ 세포의 유사한 고갈을 보이는 대리 항체를 개발하였다. 또한, 고갈의 반응속도론을 구하였으며(데이터 미도시), 비장, 혈액 및 골수를 10mg/kg의 마우스 대리물의 단일 투여 후 1, 2 또는 3일에 수집하였다. 혈액 중의 B 세포의 신속한 고갈이 24시간 내에 나타났으며, 유사한 고갈이 비장 및 골수에서 나타났다.

- [0309] 마우스 SLE 모델
- [0310] 대리 마우스 항-CD38을 MRL/lpr 모델에서 하기의 중간 관독(예를 들어, 매 2주마다)을 사용하여 시험하며, 혈액 으로부터: 항-dsDNA 자가항체, CBC, T/B 세포 고갈에 대한 FACS, 소변 중의 단백질 알부민 및 피부 염증. 혈액 으로부터의 최종 관독에는 혈액으로부터: 항-dsDNA 자가항체, CBC, T/B 세포 고갈에 대한 FACS, 비장, 림프절 및 골수로부터: 장기 중량, 면역 세포 개수, T/B 세포 고갈에 대한 FACS, 신장에 대하여: 장기 중량, 조직병리학(H&E 및 PAS), IC 배치, 염증 세포 및 피부 염증(조직병리학)이 포함되나 이에 한정되지 않는다.
- [0311] 콜라겐 유도 관절염(CIA) 모델
- [0312] 마우스 대리 항체를 사용하여 마우스 CIA 모델을 7개 그룹의 마우스로 사용하여, 사전-예방, 예방 및 치료 효능 모두를 평가하였다. 모든 마우스를 0일에 CII/CFA로 면역화시키고, 21일에 CII/CFA 부스팅하여, 일반적으로 21 일 내지 42일(연구 종료)에 질환 진행을 야기하였다. 그룹 1(10마리 마우스)에는 0일에 시작하여(사전-예방), 주 2회 10mg/kg 대리 항체를 복강내 주사하였다. 그룹 2(n=10)에는 유사하게 투여하였으나 21일에 시작하였다. 그룹 3(n=10)은 질환 발병(25일 내지 28일)일에 유사하게 주사하였다. 그룹 4(n=10)에는 0일에 동일한 수준이지 만 hIgG1(예를 들어, 아이소형)을 투여하였다. 그룹 5(n=10)에는 hIgG1을 동일한 수준으로, 그러나 21일에 시작 하여 투여하였다. 그룹 6(n=10)에는 21일에 0.5mg/ℓ (물)의 텍사메타손을 투여하고, 그룹 7(n=5)은 처리하지 않 았다.
- [0313] 사이노물구스 원숭이 CIA 연구를 각 그룹에 대하여 n=3을 사용하여 행하였으며, 그룹 1은 오직 비히클 만의 나 이브 동물이다. 그룹 2는 3mg/kg 또는 10mg/kg의 Ab79의 매주 1회(q1w) 단일 투여이다(예방적 처치는 콜라겐 면 역화 7일 후 시작한다). 그룹 3은 치료적 처치를 위한 질환 발병, 21일 또는 28일에 시작하는 3mg/kg 또는 10mg /kg의 Ab79의 매주 1회 투여이다. 그룹 4도 또한 질환 발병시의 1일 1회(q1d)의 텍사메타손으로의 1.0mg/kg의 처치이다.
- [0314] **서열 목록**
- [0315] 서열 번호 1(CD38 호모 사피엔스(*Homo sapiens*); NP_001766.2)
- [0316] MANCEFSPVSGDKPCCRLSRRAQLCLGVSLVLILVVVLAVVPRWRQQWSGPGTTKRFPETVLARCVKYTEIHPEMRHVDCQSVWDAFKGAFISKHPCNIT EEDYQPLMKLGTQTVPCKILLWSRIKDLAQFTQVQRDMFTLEDTLGLYLAADDLTWCGEFNTSKINYQSCPDRKDCSNNPVSFVWKTVSRRFAEAACDVV HVMLNGSRSKIFDKNSTFGSVEVHNLQPEKVQTLAEAWVIHGGREDSRDLCDPTIKELESIIISKRNIQFSCKNIYRPDKFLQCVKNPEDSSCTSEI
- [0317] 서열 번호 2(CD38 마카카 파시쿨라리스(*Macaca fascicularis*); AAT36330.1)
- [0318] MANCEFSPVSGDKPCCRLSRRAQVCLGVCLLVLLILVVVVAVVLPWRQQWSGGTTSRFPETVLARCVKYTEVHPEMRHVDCQSVWDAFKGAFISKYPCNIT TEEDYQPLVKLGTQTVPCKNTLLWSRIKDLAQFTQVQRDMFTLEDMLGLYLAADDLTWCGEFNTFEINYQSCPDRKDCSNNPVSFVWKTVSRRFAETACGV VHVMLNGSRSKIFDKNSTFGSVEVHNLQPEKVQALEAWVIHGGREDSRDLCDPTIKELESIIISKRNIRFFCKNIYRPDKFLQCVKNPEDSSCLSGI
- [0319] 서열 번호 3(HCDR1 Ab79)
- [0320] GFTFDDYG
- [0321] 서열 번호 4(HCDR2 Ab79)
- [0322] ISWNGGKT
- [0323] 서열 번호 5(HCDR3 Ab79)
- [0324] ARGSLFHDSSGFYFGH
- [0325] 서열 번호 6(LCDR1 Ab79)
- [0326] SSNIGDNY
- [0327] 서열 번호 7(LCDR2 Ab79)
- [0328] RDS
- [0329] 서열 번호 8(LCDR3 Ab79)
- [0330] QSYDSSLGS

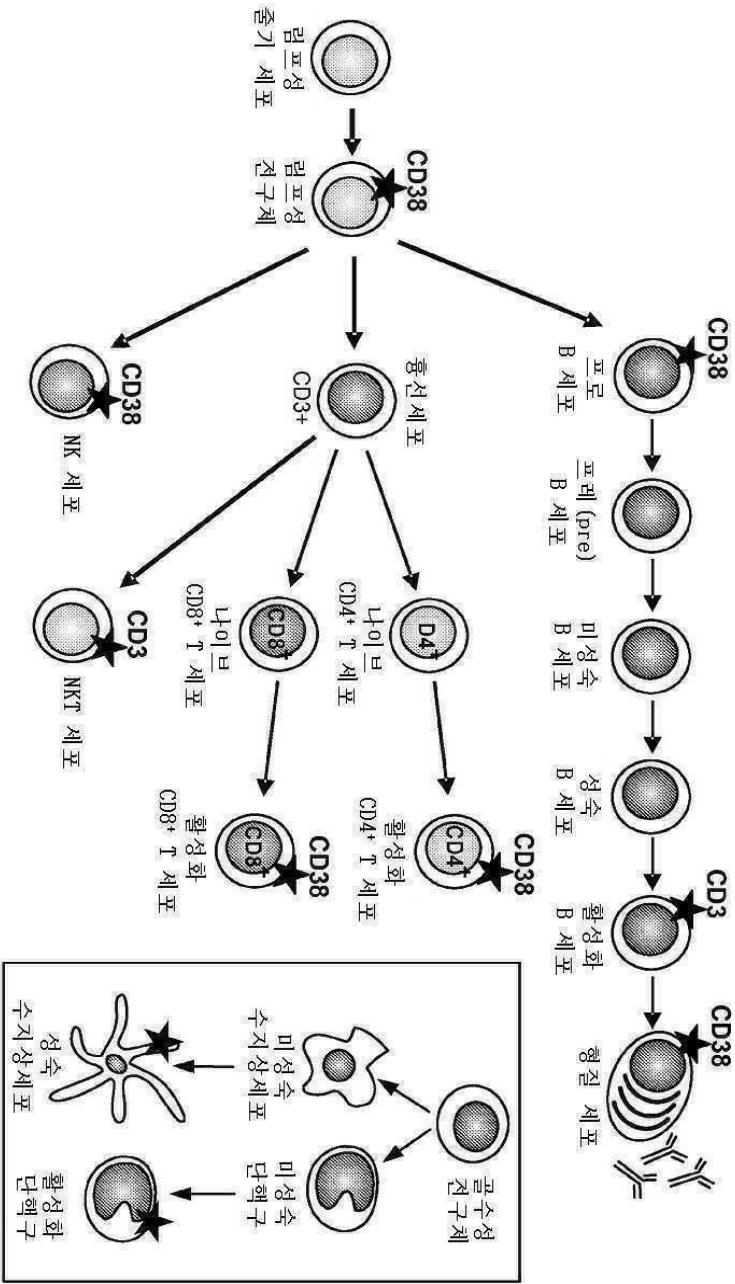
- [0331] 서열 번호 9(중쇄 Ab79)
- [0332] EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFDDYGMWVRQAPGKLEWVSDISWNGGKTHYVDSVKQFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGSLF
HDSSGFYFGHWGGTLTVSSASTKGPSVFPLA
- [0333] 서열 번호 10(경쇄 Ab79)
- [0334] QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGDNYVSWYQQLPGTAPKLLIYRDSQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAI SGLRSEDEADYYCQSYDSSLSGSVFG
GGTKLTVLGQPKANPTVTLFPPSSEEL
- [0335] 서열 번호 11(중쇄 Ab19)
- [0336] EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNNDMTWVRQAPGKLEWVAVISYDGSDDYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVYYY
GFGSPSMDVWGGTLTVSSASTKGPSVFPLA
- [0337] 서열 번호 12(경쇄 Ab19)
- [0338] QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSNSNIGSNTVNWYQQLPGTAPKLLIYSDSNRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAI SGLRSEDEADYYCQSYDSSLSGSRVF
GGGKLTVLGQPKANPTVTLFPPSSEEL
- [0339] 서열 번호 13(HCDR1 Ab19)
- [0340] GFTFNND
- [0341] 서열 번호 14(HCDR2 Ab19)
- [0342] ISYDGSDD
- [0343] 서열 번호 15(HCDR3 Ab19)
- [0344] ARVYYYGFGSPSMDV
- [0345] 서열 번호 16(LCDR1 Ab19)
- [0346] NSNIGSNT
- [0347] 서열 번호 17(LCDR2 Ab19)
- [0348] SDS
- [0349] 서열 번호 18(LCDR3 Ab19)
- [0350] QSYDSSLGSR
- [0351] 서열 번호 19(중쇄 Ab19) 불변 영역과 함께
- [0352] EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNNDMTWVRQAPGKLEWVAVISYDGSDDYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVYYY
GFGSPSMDVWGGTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYI
CNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR
VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGS
FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
- [0353] 서열 번호 20(경쇄 Ab19) 불변 영역과 함께
- [0354] QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSNSNIGSNTVNWYQQLPGTAPKLLIYSDSNRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAI SGLRSEDEADYYCQSYDSSLSGSRVF
GGGKLTVLGQPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEG
STVEKTVAPTECS
- [0355] 서열 번호 21(중쇄 Ab79)
- [0356] EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFDDYGMWVRQAPGKLEWVSDISWNGGKTHYVDSVKQFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGSLF
HDSSGFYFGHWGGTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTY
ICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY
RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDG
SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

- [0357] 서열 번호 22(경쇄 Ab79)
- [0358] QSVLTQPPSASGTPGQRTVITSCSGSSNIGDNYVSWYQQLPGTAPKLLIYRDSQRP SGVPDRFSGSKSGTSASLAI SGLRSEDEADYYCQSYDSSLSGSVFG
GGTKLTVLGQPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGS
TVEKTVAPTECS
- [0359] 서열 번호 23(CD157 호모 사피엔스; NP_004325)
- [0360] MAAQGCAASRLQLLLQLLLLLLLAAGGARARWRGEGTSAHLRDI FLGRCAEYRALLSPEQRNKNCTAIWEAFKVALDKDPCSVLPDSDYDLF INLSRHSIP
RDKSLFWENSHLLVNSFADNTRRFMPLSDVLYGRVADFLSWCRQKND SGLDYQSCPTS
- [0361] EDCENNPVDSFWKRASIQYSKDSGVIHVMLNGSEPTGAYPIKGFADYEIPNLQKEKITRIEIVWMHEIGGPNVESCGEGSMKVLEKRLKDMGFQYSCIND
YRPVKLLQCVDHSTHPDCALKSAAAATQRKAPSLYTEQRAGLI IPLFLVLASRTQL
- [0362] 서열 번호 24(벤치마크 1; 중쇄 가변 영역)
- [0363] EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFTFNSFAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGGTYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYFCAKDKIL
WFGEPVFDYWGGTLTVSS
- [0364] 서열 번호 25(벤치마크 1; 경쇄 가변 영역)
- [0365] EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLIYDASN RATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQGT
KVEIKR
- [0366] 서열 번호 26(벤치마크 2; 중쇄 가변 영역)
- [0367] QVQLVQSGAEVAKPGTSVKLSCKASGYTFTDYWMQVVKRPGQGLEWIGTIYPGDGDTGYAQKFQ GKATLTADKSSKTVYMHLSLASEDSAVYYCARGDYY
GSNSLDYWGGTSTVTVSS
- [0368] 서열 번호 27(벤치마크 2; 경쇄 가변 영역)
- [0369] DIVMTQSHLSMSTSLGDPVSI TCKASQDVSTVVAWYQQKPGQSPRRLIYSASYRYIGVPDRFTGSGAGTDFTFTISSVQAEDLAVYYCQQHYSPPYTFGGGT
KLEIKR
- [0370] 서열 번호 28(중쇄 Ab43)
- [0371] EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVSRINSDGSSTSYADSMKGQFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGYY
YYAMDVWGGTLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNV
NHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS
VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFL
YSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
- [0372] 서열 번호 29(경쇄 Ab43)
- [0373] QSVLTQPPSASGTPGQRTVITSCSGSSNIGYKTVNWWYQQLPGTAPKLLIYDNNKRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAI SGLRSEDEADYYCAAWDDSLNGLVFG
GGTKLTVLGQPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGS
TVEKTVAPTECS
- [0374] 서열 번호 30(중쇄 Ab72)
- [0375] EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMNHWVRQAPGKGLEWVSGISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDSNY
DFWSGYYYGMDVWGGTLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQ
TYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS
TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDS
DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
- [0376] 서열 번호 31(경쇄 Ab72)
- [0377] QSVLTQPPSASGTPGQRTVITSCSGSSNIGSKTVSWYQQLPGTAPKLLIYDNNKRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAI SGLRSEDEADYYCSSYAARSTNI IFG
GGTKLTVLGQPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGS
TVEKTVAPTECS
- [0378] 서열 번호 32(중쇄 Ab110)

- [0379] EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVSI IYSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARRATWG
GATHDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNV
NHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS
VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFL
YSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
- [0380] 서열 번호 33(경쇄 Ab110)
- [0381] QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNI GSNTVNWYQQLPGTAPKLLIYRNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCATWDDSLNGVLFG
GGTKLTVLGQPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGS
TVEKTVAPTECS
- [0382] 서열 번호 34(중쇄 Ab19) 불변 영역과 함께
- [0383] EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNNDMTWVRQAPGKGLEWVAVISYDGSDDYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVYYY
GFGSPSMDVWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYI
CNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR
VVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGS
FFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
- [0384] 서열 번호 35(경쇄 Ab19) 불변 영역과 함께
- [0385] QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSNSNI GSNTVNWYQQLPGTAPKLLIYSDSNRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCQSYDSSLGSRVF
GGGTKLTVLGQPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEG
STVEKTVAPTECS
- [0386] 본 발명은 상세하게, 그리고 그의 특정 실시형태를 참조로 기재되며, 첨부된 특허청구범위에서 정의된 본 발명
의 범주로부터 벗어남 없이 변형 및 변이가 가능함이 명백할 것이다. 더욱 구체적으로, 본 발명의 일부 태양이
본 명세서에서 특히 유리한 것으로 설명되었지만, 본 발명은 본 발명의 이들 특정 태양에 반드시 제한되지 않는
것으로 여겨진다.

도면

도면1



도면2a

Ab79 중쇄 (서열 번호 :21)

EVQLLESQGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFDDYGMWVRQAPGKGLEWVSDIS
WNGGKTHYVDSVKQGFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGSLFH
DSSGFYFGHWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF
PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVN
HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE
VTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV
LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD
KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Ab79 경쇄 (서열 번호 :22)

QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGDNYVSWYQQLPGTAPKLLIYRDSQ
RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCQSYDSSLSGSVFGGGKLT
VLGQPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGSPVK
AGVETTKPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAP
TECS

Ab19 중쇄 (서열 번호 :11)

EVQLLESQGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNNDMTWVRQAPGKGLEWVAVI
SYDGSDDYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVYYY
GFSGPSMDVWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY
FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVN
HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE
VTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV
LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD
KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

도면2b

Ab19 경쇄 (서열 번호 :12)

QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSNSNIGSNTVNWYQQLPGTAPKLLIYSDSN
RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCQSYDSSLSGSRVFGGGTKL
TVLGQPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGSPV
KAGVETTKPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAP
PTECS

도면3

CD38 호모 사파엘스 (수탁 번호 NP_001766.2; 서열 번호:1)

MANCEFSPVSGDKPCCRLSRRAQLCLGVLSILVLILVVVLAVVVPRWRQQWSGPGTTKR
 FPETVLARCVKYTEIHPEMRHVDCQSVWDAFKGAFISKHPCNITEEDYQPLMKLGTQT
 VPCNKILLWSRIKDLAHQFTQVQRDMFTLEDTLGLYLADDLTWCGEFNTSKINYQSCP
 DWRKDCSNNPVSFVWKTVSRRFAEAACDVVHVMLNGSRSKIFDKNSTFGSVEVHNLQ
 PEKVQTLEAWVIHGGREDSRDLCQDPTIKELESIIISKRNIIQFCKNIYRPDKFLQCVKNPE
 DSSCTSEI

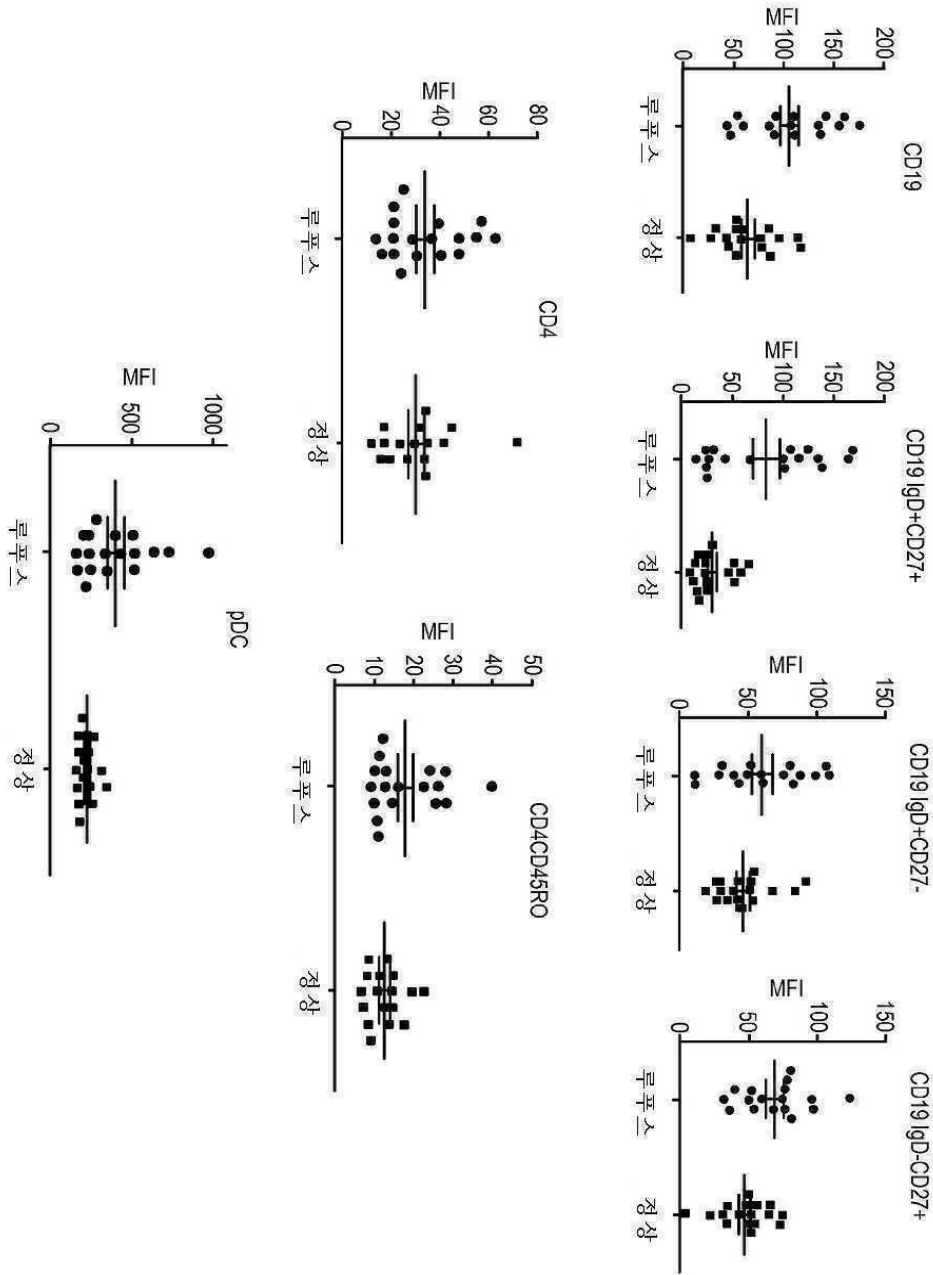
CD38 마카카 파시쿨라리스/사이노몰구스/계잡이원숭이 (수탁 번호 AAT36330.1;
 서열 번호 :2)

MANCEFSPVSGDKPCCRLSRRAQVCLGVCLLVLLILVVVAVVLPRWRQQWSGSGTTS
 RFPETVLARCVKYTEVHPEMRHVDCQSVWDAFKGAFISKYPCNITEEDYQPLVKLGTQ
 TVPCNKTLTWSRIKDLAHQFTQVQRDMFTLEDMLLGLYLADDLTWCGEFNTFEINYQSC
 PDWRKDCSNNPVSFVWKTVSRRFAETACGVVHVMLNGSRSKIFDKNSTFGSVEVHNL
 QPEKVQALEAWVIHGGREDSRDLCQDPTIKELESIIISKRNIRFFCKNIYRPDKFLQCVKN
 PEDSSCLSGI

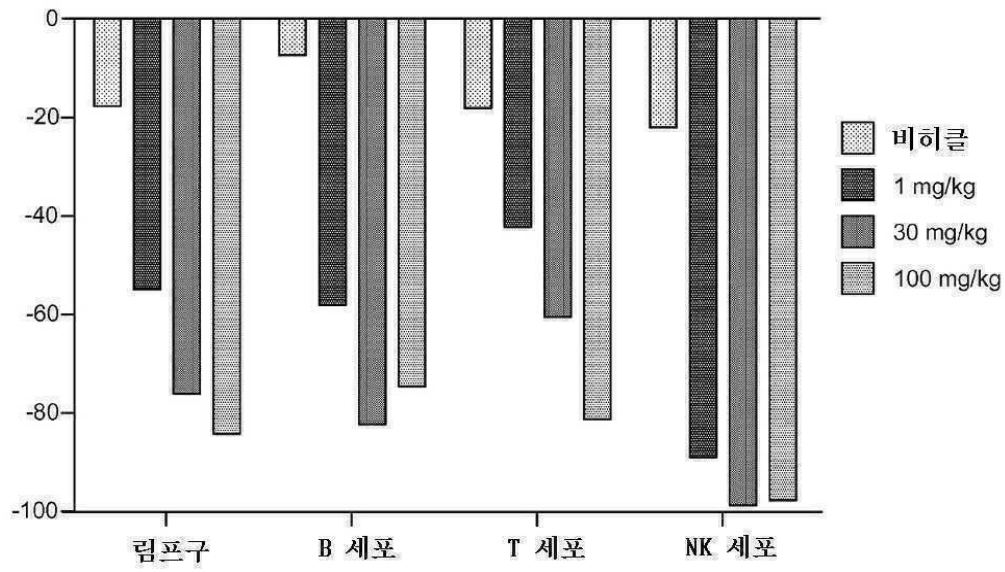
도면4

BM2		BM1		TSF19		TSF79	
E	76	N	120	G	91	K	121
H	79	K	121	E	103	F	135
E	104	F	135	E	104	Q	139
Q	107	Q	139	D	105	D	141
M	110	D	141	Q	107	M	142
K	111	D	202	M	110	E	239
L	112	V	203	K	111	W	241
G	113	H	205	T	114	S	274
T	114	Q	236	Q	115	C	275
Q	115	T	237	T	148	K	276
T	116	E	239	V	192	F	284
V	117	W	241	R	194	V	288
C	119	Q	272	R	195	K	289
T	148	F	273	F	196	N	290
L	150	S	274	E	198	P	291
T	191	C	275	A	199	E	292
V	192	K	276	H	228	D	293
R	194	F	284	N	229	S	294
R	195	P	291	Q	231		
F	196	E	292	E	233		
E	198	T	297	K	234		
A	199	S	298				
Q	231						
E	233						
K	234						

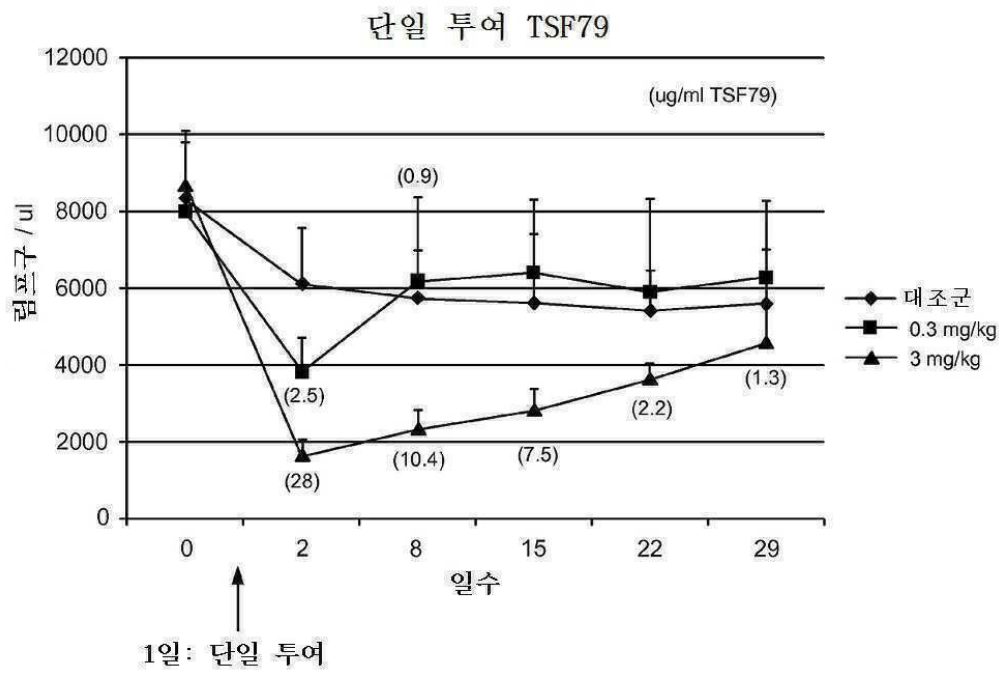
도면5



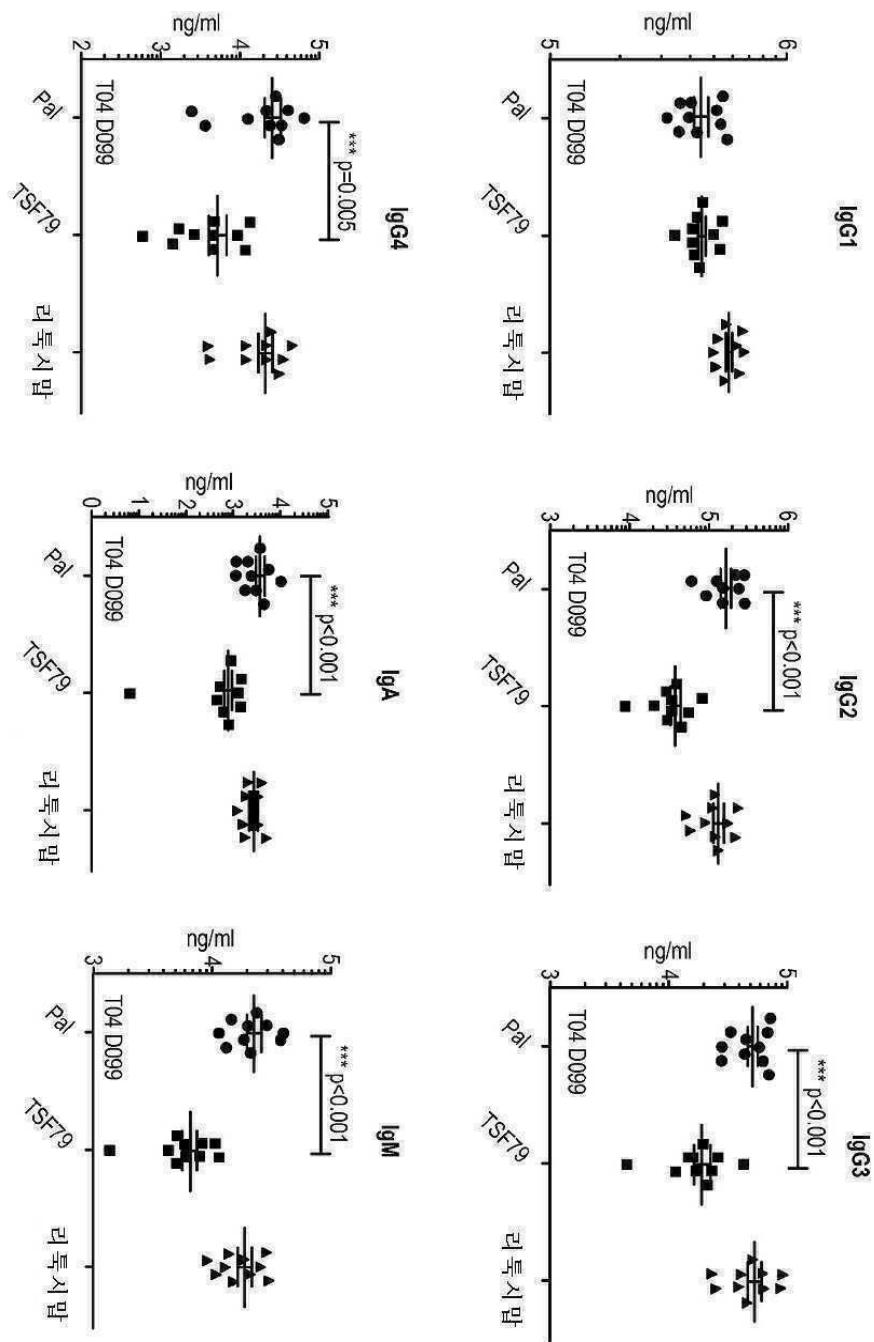
도면6

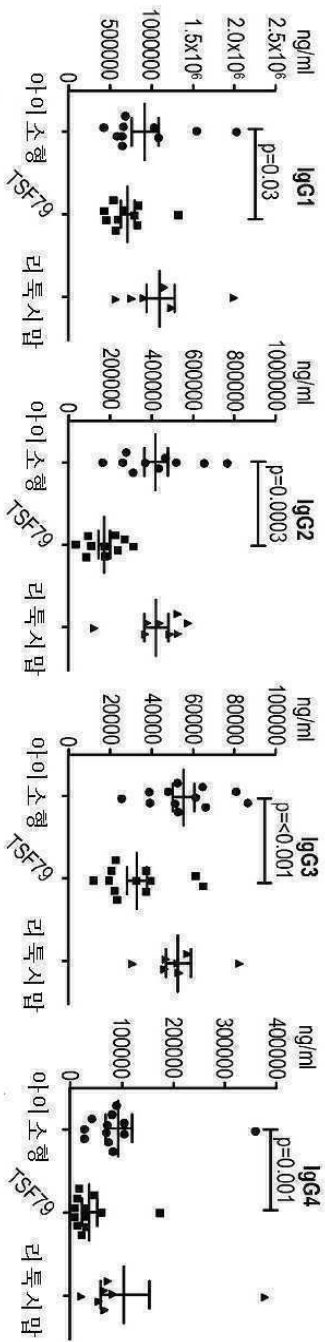


도면7

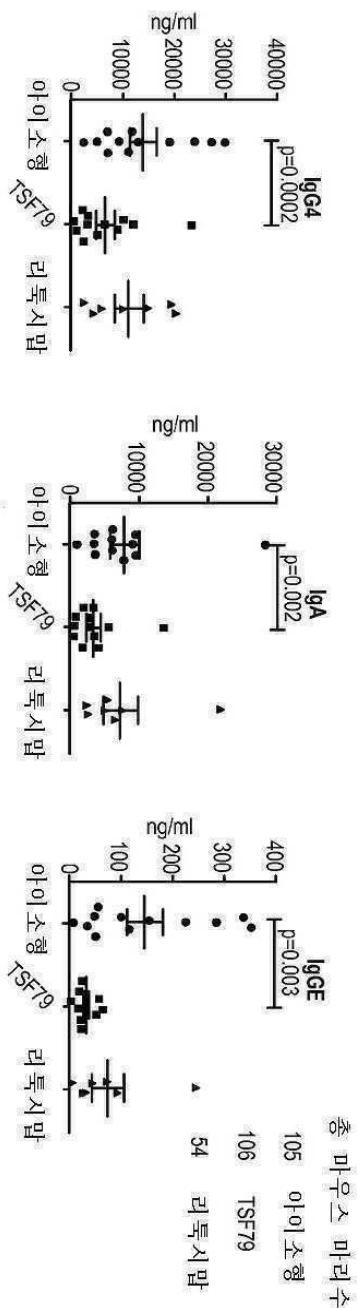


도면8



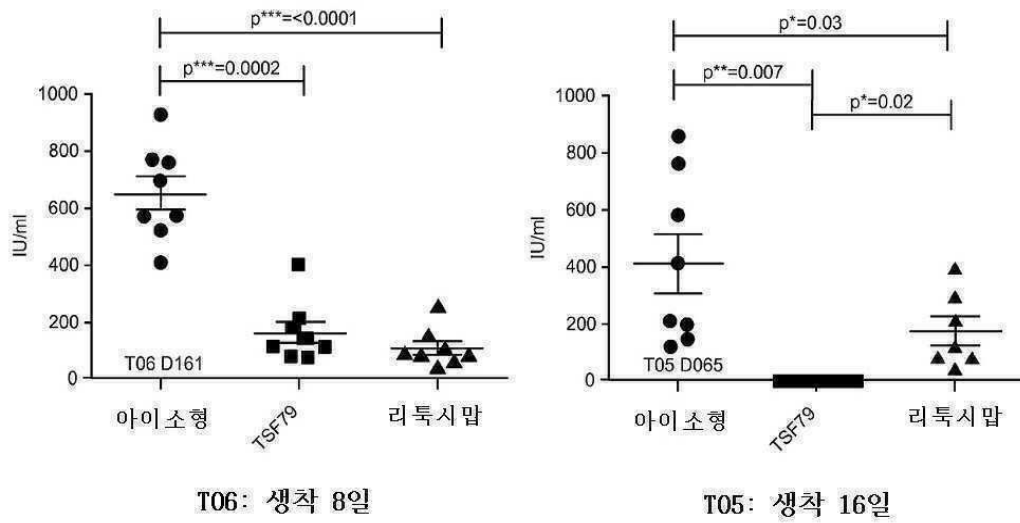


대응표본 t 검정

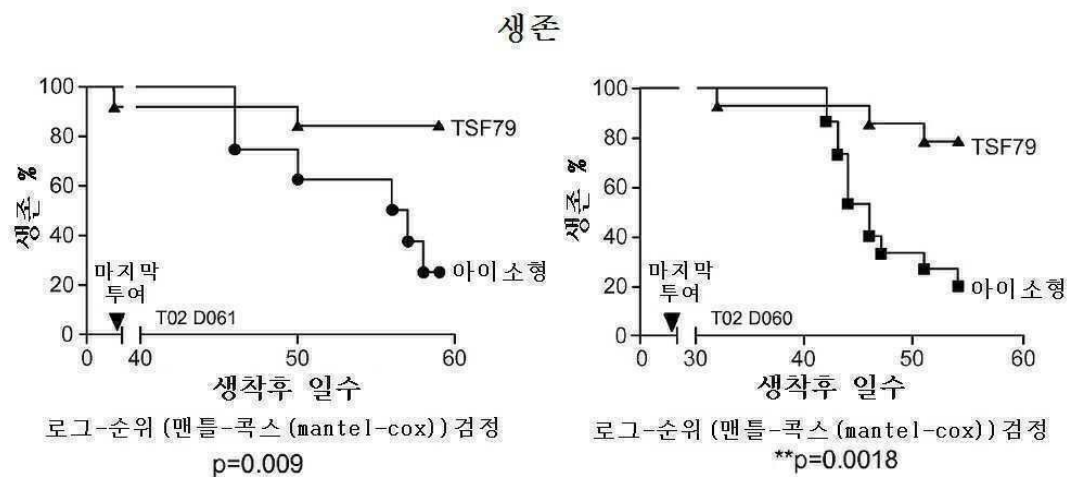


도면9

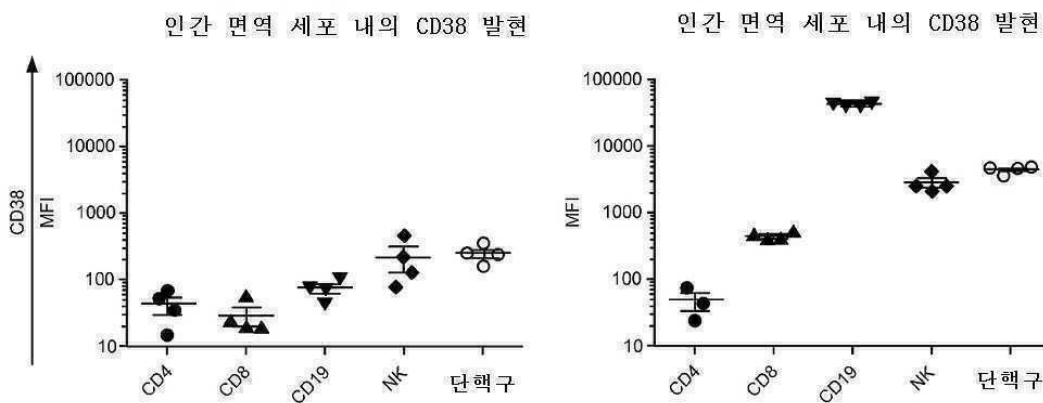
도면10



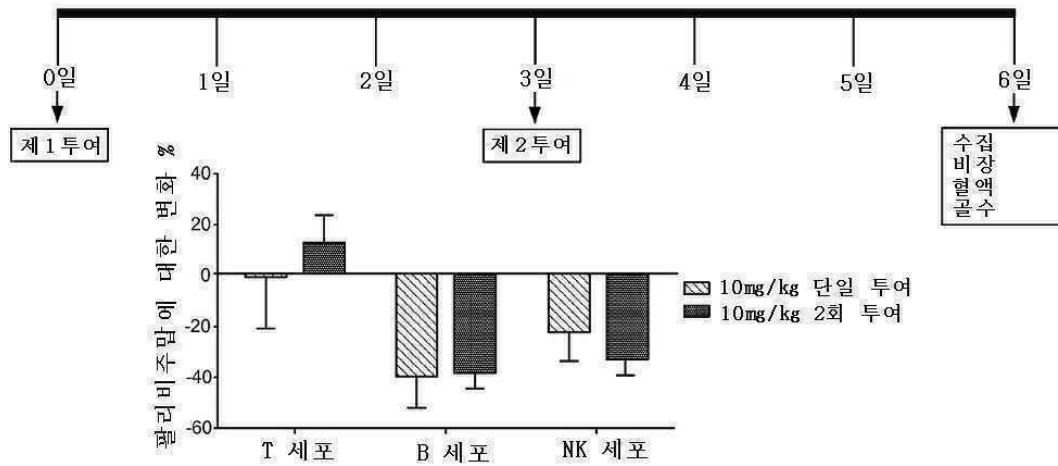
도면11



도면12



도면13



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> Takeda Pharmaceutical Company Limited

<120> ANTI-CD38 ANTIBODIES

<130> WO2012/092612

<140> PCT Patent Application No. to be assigned

<141> 2011-12-30

<150> 61/428,699

<151> 2010-12-30

<150> 61/470,382

<151> 2011-03-31

<150> 61/470,406

<151> 2011-03-31

<150> 61/485,104

<151> 2011-05-11

<160> 35

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 300

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

Met Ala Asn Cys Glu Phe Ser Pro Val Ser Gly Asp Lys Pro Cys Cys

1 5 10 15

Arg Leu Ser Arg Arg Ala Gln Leu Cys Leu Gly Val Ser Ile Leu Val

20 25 30

Leu Ile Leu Val Val Val Leu Ala Val Val Val Pro Arg Trp Arg Gln

35 40 45

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

50 55 60

Ala Arg Cys Val Lys Tyr Thr Glu Ile His Pro Glu Met Arg His Val

65 70 75 80

Asp Cys Gln Ser Val Trp Asp Ala Phe Lys Gly Ala Phe Ile Ser Lys

85 90 95

His Pro Cys Asn Ile Thr Glu Glu Asp Tyr Gln Pro Leu Met Lys Leu

100 105 110

Gly Thr Gln Thr Val Pro Cys Asn Lys Ile Leu Leu Trp Ser Arg Ile

115 120 125

Lys Asp Leu Ala His Gln Phe Thr Gln Val Gln Arg Asp Met Phe Thr

130 135 140

Leu Glu Asp Thr Leu Leu Gly Tyr Leu Ala Asp Asp Leu Thr Trp Cys

145 150 155 160

Gly Glu Phe Asn Thr Ser Lys Ile Asn Tyr Gln Ser Cys Pro Asp Trp

165 170 175

Arg Lys Asp Cys Ser Asn Asn Pro Val Ser Val Phe Trp Lys Thr Val

180 185 190

Ser Arg Arg Phe Ala Glu Ala Ala Cys Asp Val Val His Val Met Leu

195 200 205

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

210 215 220

Val Glu Val His Asn Leu Gln Pro Glu Lys Val Gln Thr Leu Glu Ala

225 230 235 240

Trp Val Ile His Gly Gly Arg Glu Asp Ser Arg Asp Leu Cys Gln Asp

245 250 255
Pro Thr Ile Lys Glu Leu Glu Ser Ile Ile Ser Lys Arg Asn Ile Gln

260 265 270
Phe Ser Cys Lys Asn Ile Tyr Arg Pro Asp Lys Phe Leu Gln Cys Val

275 280 285
Lys Asn Pro Glu Asp Ser Ser Cys Thr Ser Glu Ile

290 295 300

<210> 2

<211> 301

<212> PRT

<213> *Macaca fascicularis*

<400> 2

Met Ala Asn Cys Glu Phe Ser Pro Val Ser Gly Asp Lys Pro Cys Cys

1 5 10 15

Arg Leu Ser Arg Arg Ala Gln Val Cys Leu Gly Val Cys Leu Leu Val

20 25 30
Leu Leu Ile Leu Val Val Val Val Ala Val Val Leu Pro Arg Trp Arg

35 40 45
Gln Gln Trp Ser Gly Ser Gly Thr Thr Ser Arg Phe Pro Glu Thr Val

50 55 60
Leu Ala Arg Cys Val Lys Tyr Thr Glu Val His Pro Glu Met Arg His

65 70 75 80

Val Asp Cys Gln Ser Val Trp Asp Ala Phe Lys Gly Ala Phe Ile Ser

85 90 95
Lys Tyr Pro Cys Asn Ile Thr Glu Glu Asp Tyr Gln Pro Leu Val Lys

100 105 110
Leu Gly Thr Gln Thr Val Pro Cys Asn Lys Thr Leu Leu Trp Ser Arg

115 120 125
Ile Lys Asp Leu Ala His Gln Phe Thr Gln Val Gln Arg Asp Met Phe

130 135 140

Thr Leu Glu Asp Met Leu Leu Gly Tyr Leu Ala Asp Asp Leu Thr Trp

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

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

 275 280 285
 Val Lys Asn Pro Glu Asp Ser Ser Cys Leu Ser Gly Ile
 290 295 300

<210> 3

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Ab79 Heavy Chain CDR1

<400> 3

Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Gly

1 5

<210> 4

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Ab79 Heavy Chain CDR2

<400> 4

Ile Ser Trp Asn Gly Gly Lys Thr

1 5

<210> 5

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Ab79 Heavy Chain CDR3

<400> 5

Ala Arg Gly Ser Leu Phe His Asp Ser Ser Gly Phe Tyr Phe Gly His

1 5 10 15

<210> 6

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Ab79 Light Chain CDR1

<400> 6

Ser Ser Asn Ile Gly Asp Asn Tyr

1 5

<210> 7

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Ab79 Light Chain CDR2

<400> 7

Arg Asp Ser

1

<210> 8

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Ab79 Light Chain CDR3

<400> 8

Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Leu Ser Gly Ser

1 5 10

<210> 9

<211> 135

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Ab79 Heavy Chain Variable Region

<400> 9

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ser Asp Ile Ser Trp Asn Gly Gly Lys Thr His Tyr Val Asp Ser Val

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Gly Ser Leu Phe His Asp Ser Ser Gly Phe Tyr Phe Gly His

100 105 110

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

115 120 125

Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala

130 135

<210> 10

<211> 129

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Ab79 Light Chain Variable Region

<400> 10

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

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

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

Leu

<210> 11

<211> 134

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Ab19 Heavy Chain

<400> 11

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

Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asp Lys Asp Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr

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

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

Ser Val Phe Pro Leu Ala

130

<210> 12

<211> 130

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Ab19 Light Chain

<400> 12

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

1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Asn Ser Asn Ile Gly Ser Asn

20 25 30

Thr Val Asn Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu

35 40 45

Ile Tyr Ser Asp Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser

50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg

65 70 75 80

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

85 90 95

Ser Gly Ser Arg Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly

100 105 110

Gln Pro Lys Ala Asn Pro Thr Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu

115 120 125

Glu Leu

130

<210> 13

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Ab19 Heavy Chain CDR1

<400> 13

Gly Phe Thr Phe Asn Asn Tyr Asp

1 5

<210> 14

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Ab19 Heavy Chain CDR2

<400> 14

Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asp Lys

1 5

<210> 15

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Ab19 Heavy Chain CDR3

<400> 15

Ala Arg Val Tyr Tyr Tyr Gly Phe Ser Gly Pro Ser Met Asp Val

1 5 10 15

<210> 16

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Ab19 Light Chain CDR1

<400> 16

Asn Ser Asn Ile Gly Ser Asn Thr

1 5

<210> 17

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Ab19 Light Chain CDR2

<400> 17

Ser Asp Ser

1

<210> 18

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Ab19 Light Chain CDR3

<400> 18

Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Leu Ser Gly Ser Arg

1 5 10

<210> 19

<211> 452

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Ab19 Heavy Chain

<400> 19

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asp Lys Asp Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95
 Ala Arg Val Tyr Tyr Tyr Gly Phe Ser Gly Pro Ser Met Asp Val Trp
 100 105 110
 Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
 115 120 125
 Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr

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

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

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

 325 330 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
340 345 350
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
355 360 365
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
370 375 380
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385 390 395 400
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
405 410 415
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
420 425 430
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
435 440 445
Ser Pro Gly Lys
450
<210> 20
<211> 217
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Ab19 Light Chain
<400> 20
Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
1 5 10 15
Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Asn Ser Asn Ile Gly Ser Asn
20 25 30
Thr Val Asn Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
35 40 45
Ile Tyr Ser Asp Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60
Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg
65 70 75 80

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Leu
85 90 95

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

Gln Pro Lys Ala Asn Pro Thr Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu
115 120 125

Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe
130 135 140

Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Gly Ser Pro Val
145 150 155 160

Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Lys Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys
165 170 175

Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser
180 185 190

His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu
195 200 205

Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
210 215

<210> 21
<211> 453
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Ab79 Heavy Chain
<400> 21

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

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

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

Ser Asp Ile Ser Trp Asn Gly Gly Lys Thr His Tyr Val Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Arg Gly Ser Leu Phe His Asp Ser Ser Gly Phe Tyr Phe Gly His
100 105 110

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

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

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

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
165 170 175

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

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

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

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

Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
245 250 255

Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
260 265 270

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

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

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

305 310 315 320
 Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala
 325 330 335

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

 Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu
 405 410 415
 Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
 420 425 430
 Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
 435 440 445
 Leu Ser Pro Gly Lys
 450
 <210> 22
 <211> 216
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220
 ><223> Ab79 Light Chain
 <400> 22
 Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
 1 5 10 15
 Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asp Asn
 20 25 30
 Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
 35 40 45
 Ile Tyr Arg Asp Ser Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser

50

55

60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg

65

70

75

80

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

85

90

95

Ser Gly Ser Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln

100

105

110

Pro Lys Ala Asn Pro Thr Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu

115

120

125

Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr

130

135

140

Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Gly Ser Pro Val Lys

145

150

155

160

Ala Gly Val Glu Thr Thr Lys Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr

165

170

175

Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His

180

185

190

Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys

195

200

205

Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser

210

215

<210> 23

<211> 318

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 23

Met Ala Ala Gln Gly Cys Ala Ala Ser Arg Leu Leu Gln Leu Leu Leu

1

5

10

15

Gln Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu Ala Ala Gly Gly Ala Arg Ala

20

25

30

Arg Trp Arg Gly Glu Gly Thr Ser Ala His Leu Arg Asp Ile Phe Leu

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

Thr Gln Arg Lys Ala Pro Ser Leu Tyr Thr Glu Gln Arg Ala Gly Leu

290

295

300

Ile Ile Pro Leu Phe Leu Val Leu Ala Ser Arg Thr Gln Leu

305

310

315

<210> 24

<211> 122

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Benchmark 1 Heavy Chain

<400> 24

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

1

5

10

15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Phe Thr Phe Asn Ser Phe

20

25

30

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

35

40

45

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

50

55

60

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

65

70

75

80

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

85

90

95

Ala Lys Asp Lys Ile Leu Trp Phe Gly Glu Pro Val Phe Asp Tyr Trp

100

105

110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

120

<210> 25

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Benchmark 1 Light Chain

<400> 25

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

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Pro

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg

100 105

<210> 26

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Benchmark 2 Heavy Chain

<400> 26

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Trp Met Gln Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Gly Asp Tyr Tyr Gly Ser Asn Ser Leu Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 27

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Benchmark 2 Light Chain

<400> 27

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser His Leu Ser Met Ser Thr Ser Leu Gly
1 5 10 15

Asp Pro Val Ser Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Val
20 25 30

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

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

Ser Gly Ala Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala
65 70 75 80

Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Ser Pro Pro Tyr
85 90 95

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

<210> 28

<211> 449

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Ab43 Heavy Chain

<400> 28

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

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Gly Gly Tyr Tyr Tyr Tyr Ala Met Asp Val 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 Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly 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 Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro

195 200 205

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

210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro

225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser

245 250 255

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

260 265 270
Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn

275 280 285
Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val

290 295 300
Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335
Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr

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

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

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

405 410 415
Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu

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

Lys

<210> 29

<211> 216

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Ab43 Light Chain

<400> 29

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

1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Tyr Lys

20 25 30

Thr Val Asn Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu

35 40 45

Ile Tyr Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser

50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg

65 70 75 80

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu

85 90 95

Asn Gly Leu Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln

100 105 110

Pro Lys Ala Asn Pro Thr Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu

115 120 125

Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr

130 135 140

Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Gly Ser Pro Val Lys

145 150 155 160

Ala Gly Val Glu Thr Thr Lys Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr

165 170 175

Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His

180 185 190

Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys

195 200 205

Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser

210 215

<210> 30

<211> 455

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Ab72 Heavy Chain

<400> 30

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Lys Asp Ser Asn Tyr Asp Phe Trp Ser Gly Tyr Tyr Tyr Gly Met

100 105 110

Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

225 230 235 240

Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

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

420 425 430

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

435 440 445

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

450 455

<210> 31

<211> 216

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Ab72 Light Chain

<400> 31

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

1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Lys

20 25 30

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

35 40 45

Ile Tyr Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser

50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg

65 70 75 80

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Ala Ala Arg Ser

85 90 95

Thr Asn Ile Ile Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln

100 105 110

Pro Lys Ala Asn Pro Thr Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu

115 120 125

Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr

130 135 140

Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Gly Ser Pro Val Lys

145 150 155 160

Ala Gly Val Glu Thr Thr Lys Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr

165 170 175

Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His

180 185 190

Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys

195 200 205

Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser

210

215

<210> 32

<211> 449

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Ab110 Heavy Chain

<400> 32

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ser Ile Ile Tyr Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys

50

55

60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

180 185 190
 Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys
 195 200 205
 Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
 210 215
 <210> 34
 <211> 452
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Ab119 Heavy Chain
 <400> 34

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

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

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

165										170					175									
Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr									
180										185					190									
Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn									
195										200					205									
His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Pro	Lys	Ser									
210										215					220									
Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu									
225										230					235					240				
Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu									
245										250					255									
Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser									
260										265					270									
His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu									
275										280					285									
Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr									
290										295					300									
Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn									
305										310					315					320				
Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro									
325										330					335									
Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln									
340										345					350									
Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val									
355										360					365									
Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val									
370										375					380									
Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro									
385										390					395					400				
Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr									
405										410					415									

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

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

Ser Pro Gly Lys
450

<210> 35
<211> 217
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Ab19 Light Chain
<400> 35

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

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Asn Ser Asn Ile Gly Ser Asn
20 25 30

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

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

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg
65 70 75 80

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Leu
85 90 95

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

Gln Pro Lys Ala Asn Pro Thr Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu
115 120 125

Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe
130 135 140

Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Gly Ser Pro Val
145 150 155 160

Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Lys Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys
 165 170 175

Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser
 180 185 190

His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu
 195 200 205

Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
 210 215