(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2019년11월26일
(11) 등록번호 10-2048718
(24) 등록일자 2019년11월20일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/28 (2006.01) *A61K 47/68* (2017.01)
A61K 49/00 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07K 16/2866 (2013.01)
A61K 47/6803 (2017.08)
(21) 출원번호 10-2018-7030501(분할)
(22) 출원일자(국제) 2014년07월28일
심사청구일자 2018년10월22일
(85) 번역문제출일자 2018년10월22일
(65) 공개번호 10-2018-0118246
(43) 공개일자 2018년10월30일
(62) 원출원 특허 10-2017-7035455
원출원일자(국제) 2014년07월28일
심사청구일자 2017년12월08일
(86) 국제출원번호 PCT/IB2014/063483
(87) 국제공개번호 WO 2015/015401
국제공개일자 2015년02월05일
(30) 우선권주장
61/861,706 2013년08월02일 미국(US)
(56) 선행기술조사문헌
WO2010037831 A1*
KR1020130012132 A
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
화이자 인코포레이티드
미국 뉴욕주 10017 뉴욕 이스트 42번 스트리트 235
(72) 발명자
호 웨이-시엔
미국 캘리포니아주 94002 벨몬트 아카데미 애비뉴 917
리우 슈-후이
미국 캘리포니아주 94065 레드우드 시티 세인트 마틴 드라이브 361
페르나세티 플라비아 머서
미국 캘리포니아주 92126 샌 디에고 칼 칼자다 8624
(74) 대리인
제일특허법인(유)

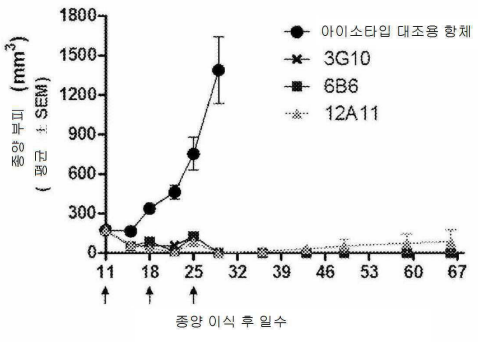
전체 청구항 수 : 총 16 항 심사관 : 이현지

(54) 발명의 명칭 **항-CXCR4 항체 및 항체-약물 접합체**

(57) 요 약

본 발명은 케모카인 수용체 4(CXCR4)에 결합하는 항체 및 관련 분자를 제공한다. 본 발명은 또한 상기와 같은 항체를 포함하는 항체-약물 접합체, 항체 암호화 핵산, 및 상기와 같은 항체의 획득 방법을 제공한다. 본 발명은 또한 CXCR4 기능 또는 발현과 관련된 질환(예를 들어 암), 예를 들어 결장, RCC, 식도, 위, 두경부, 폐, 난소, 췌장암 또는 혈액암의 치료를 위한 상기 항체 및 항-CXCR4 항체-약물 접합체의 치료학적 사용 방법에 관한 것이다.

대 표 도 - 도7



(52) CPC특허분류
A61K 47/6809 (2017.08)
A61K 47/6849 (2017.08)
A61K 47/6851 (2017.08)
A61K 49/0002 (2013.01)
C07K 2317/56 (2013.01)
C07K 2317/565 (2013.01)
C07K 2317/73 (2013.01)
C07K 2317/76 (2013.01)
C07K 2317/92 (2013.01)

명 세 서

청구범위

청구항 1

케모카인 수용체 4(CXCR4)에 결합하고,

서열번호 115, 121 또는 122의 VH CDR1, 서열번호 118 또는 119의 VH CDR2 및 서열번호 120의 VH CDR3을 포함하는 중쇄 가변(VH) 영역; 및 서열번호 135의 VL CDR1, 서열번호 136의 VL CDR2 및 서열번호 137의 VL CDR3을 포함하는 경쇄 가변(VL) 영역을 포함하는

단리된 항체 또는 그의 항원 결합 단편.

청구항 2

제 1 항에 있어서,

a) 서열번호 13의 VH 영역으로부터의 VH CDR1, VH CDR2 및 VH CDR3을 포함하는 중쇄 가변(VH) 영역; 및

b) 서열번호 15의 VL 영역으로부터의 VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3을 포함하는 경쇄 가변(VL) 영역을 포함하는,

단리된 항체 또는 그의 항원 결합 단편.

청구항 3

제 1 항에 있어서,

항체가 인간화된 항체, 키메릭 항체, CDR 이식된 항체, 또는 재조합 인간 항체인, 단리된 항체 또는 그의 항원 결합 단편.

청구항 4

치료적 유효량의 제 1 항 내지 제 3 항 중 어느 한 항에 따른 항체 또는 그의 항원 결합 단편 및 약학적으로 허용되는 담체를 포함하는 암의 치료를 위한 약학 조성물.

청구항 5

제 1 항 내지 제 3 항 중 어느 한 항에 따른 항체 또는 그의 항원 결합 단편을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 단리된 폴리뉴클레오티드.

청구항 6

제 5 항에 따른 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터.

청구항 7

제 1 항 내지 제 3 항 중 어느 한 항에 따른 항체 또는 그의 항원 결합 단편을 재조합적으로 생성하는 단리된 숙주 세포.

청구항 8

항체 또는 그의 항원 결합 단편을 생성시키는 조건하에서 배양 배지 중에 제 7 항의 숙주 세포를 배양하고, 상기 숙주 세포 또는 배양 배지로부터 상기 항체 또는 그의 항원 결합 단편을 단리시킴을 포함하는, 상기 항체 또는 그의 항원 결합 단편의 생성 방법.

청구항 9

제 4 항에 있어서,

암이 혈액암인 약학 조성물.

청구항 10

제 9 항에 있어서,

암이 B 세포 또는 T 세포 악성종양인 약학 조성물.

청구항 11

제 10 항에 있어서,

암이 급성 림프구성 백혈병(ALL), 급성 골수성 백혈병(AML), 만성 림프구성 백혈병(CLL), 작은 림프구성 림프종(SLL), 다발성 골수종(MM), 비-호지킨 림프종(NHL), 호지킨 림프종, 외투세포 림프종(MCL), 여포성 림프종, 발덴스트롬 마크로글로불린혈증(WM), B-세포 림프종 및 확산성 큰 B-세포 림프종(DLBCL)으로 이루어진 군 중에서 선택되는 약학 조성물.

청구항 12

제 4 항에 있어서,

암이 방광암, 유방암, 경부암, 융모막암종, 결장암, 식도암, 위암, 교모세포종, 두경부암, 신장암, 폐암, 구강암, 난소암, 췌장암, 전립선암 및 피부암으로 이루어진 군 중에서 선택되는 약학 조성물.

청구항 13

치료적 유효량의 제 1 항 내지 제 3 항 중 어느 한 항에 따른 항체 또는 그의 항원 결합 단편 및 약학적으로 허용되는 담체를 포함하는, CXCR4 발현 종양을 가진 대상체에서 종양 성장 또는 진행을 감소시키기 위한 약학 조성물.

청구항 14

치료적 유효량의 제 1 항 내지 제 3 항 중 어느 한 항에 따른 항체 또는 그의 항원 결합 단편 및 약학적으로 허용되는 담체를 포함하는, 대상체에서 CXCR4 발현 암세포의 전이를 감소시키기 위한 약학 조성물.

청구항 15

치료적 유효량의 제 1 항 내지 제 3 항 중 어느 한 항에 따른 항체 또는 그의 항원 결합 단편 및 약학적으로 허용되는 담체를 포함하는, CXCR4 발현 종양을 갖는 대상체에서 종양 퇴화를 유도하기 위한 약학 조성물.

청구항 16

제 1 항 내지 제 3 항 중 어느 한 항에 있어서,

CXCR4의 발현과 관련된 질환의 검출, 진단 및/또는 치료에 사용하기 위한 단리된 항체 또는 그의 항원 결합 단편.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 케모카인 수용체 4(CXCR4)에 결합하는 항체 및 관련 분자에 관한 것이다. 본 발명은 또한 전장 항체, 그의 항체 단편 또는 변이체를 포함하거나, 또는 한편으로 이들로 이루어지는 분자에 관한 것이다. 본 발명은 또한 상기와 같은 항체를 암호화하는 아미노산 및 핵산 서열에 관한 것이다. 본 발명은 또한 상기 항-CXCR4 항체를 포함하는 항체 접합체(예를 들어 항체-약물 접합체), 상기 항-CXCR4 항체를 포함하는 조성물, 및 CXCR4 발현과 관련된 상태(예를 들어 암)의 치료를 위한 상기 항-CXCR4 항체 및 그의 접합체의 사용 방법에 관한 것이다. 본 발명은 또한 CXCR4의 발현과 관련된 병리학적 질환의 검출 및 진단을 위한 상기 항체, 그의 항원-결합 단편, 또는 항체-약물 접합체의 용도 및 상응하는 과정을 포함한다. 몇몇 태양에서, 상기 질환은 정상에 비해 증가된 CXCR4의 발현과 관련된 발암성 질환 또는 CXCR4의 과발현과 관련된 임의의 다른 병리학이다.

다른 태양에서, 상기 질환은 염증 및 면역 질환, 알러지성 질환, 감염(HIV 감염 등), 자가면역 질환(예를 들어 류마티스성 관절염), 섬유증 질환(예를 들어 폐), 및 심혈관 질환이다. 본 발명은 최종적으로 상기와 같은 질환의 예후 또는 진단 또는 치료 모니터링을 위한 적어도 상기와 같은 항체 또는 항체-약물 접합체를 포함하는 생성물 및/또는 조성물 또는 키트를 포함한다.

배 경 기 술

[0002] 케모카인은, 특히 면역 반응 도중, 케모카인 구배로서 공지된 리간드의 화학적 구배를 따라 백혈구의 이동을 조절하는 작은 분비 펩타이드이다(문헌[Zlotnik et al., 2000, Immunity, 12:121-127]). 상기 케모카인은 N-말단에서의 Cys 잔기의 위치에 따라 4개의 부류로 분류된다. CXC 부류는 단일 잔기에 의해 분리된 한 쌍의 Cys를 갖는 케모카인들로 이루어진다. 상기 부류의 가장 중요한 구성원은 인터류킨-8(IL-8, CXCL8), 기질 유래된 인자-1(SDF-I, CXCL12), 감마-인터페론 유도성 단백질-10(IP-10, CXCLIO), 혈소판 인자-4(PF-4, CXCL4), 호중구 활성화 단백질-2(NAP-2, CXCL7) 및 흑색종 성장 자극 활성(MGSA, CXCLI)이다. 케모카인의 CC 부류는 N-말단에 2개의 인접한 Cys를 가지며 대식세포 염증성 단백질-1(MIP-Iα, CCL3; MIP-1jSa, CCL4), 활성화시 조절되고, 정상 T 발현되고 분비되는(RANTES, CCL5), 단핵세포 화학유인물질 단백질-1(MCP-I, CCL2)을 포함한다. 케모카인 CX3C 부류는 N-말단에 3개의 잔기에 의해 분리되는 2개의 Cys를 함유하며 프랙탈카인/뉴로탁틴(CX3CL1)에 의해 나타낸다. C-부류 케모카인은 N-말단에 단일의 Cys를 함유하며 림포탁틴/ATAC/SCM(CLI)에 의해 나타낸다. 케모카인 수용체들은 그들의 케모카인에 대한 결합 선택성에 따라 분류된다. 예를 들어, CXCR4는 SDF-I에 결합하고 CXCR5는 B 세포-유인성 케모카인 1(BCAI)에 결합한다. 상기 CXCR4 및 SDF-1 상호작용은 다수의 종양형성 단계들, 예를 들어 종양 성장, 침습, 혈관형성, 및 전이에 중요한 역할을 한다.

[0003] CXCR4는 7개의 막관통 G 단백질 커플링된 수용체(GPCR)이다(문헌[Herzog et al. DNA Cell Biol. 12: 465 (1993)]; 문헌[Rimland et al. Mol. Pharmacol. 40: 869 (1991)]; WO03014153, WO02061087). 다수의 의학적으로 중요한 생물학적 과정들은 G-단백질을 수반하는 신호 전달 경로에 의해 매개된다(문헌[Lefkowitz, Nature, 351:353-354, (1991)]). G 단백질-커플링된 수용체(GPCR)는 7개의 추정적인 막관통 도메인(TM)을 함유하는 내재막 단백질이다. 상기 단백질은 이종삼량체성 G 단백질의 활성화를 통해 신호를 세포의 내부로 전달하고, 차례로 다양한 효과기 단백질들을 활성화시켜, 최종적으로 생리학적 반응을 생성시킨다.

[0004] CXCR4는 배발생, 항상성 및 염증에서 역할을 한다. 더욱이, CXCR4는 T 림프영양성 HIV-I 단리물에 대한 공수용체로서 기능하는 것으로 나타났다(문헌[Feng, Y. et al. Science 272:872 (1996)]). CXCR4는 또한 인간암에서 다면발현 역할을 한다. 상기 CXCR4의 발현은 다수의 종양 유형들, 예를 들어 유방, 폐, 결장, 췌장, 뇌, 전립선, 난소의 암뿐만 아니라 혈액암에서 상향조절된다. 일부 문헌 보고서들은 SDF-1이 일부 종양에 대한 성장 및/또는 생존 인자로서 CXCR4를 통해 작용할 수 있음을 암시한다. CXCR4는 다수 종양의 줄기세포-유사 또는 종양 개시 아집단상에서 발현되며, 암의 재발 및 전이성 확산을 지지하는 상기 세포의 능력을 매개할 수 있다. 추가로, CXCR4는 내피 전구세포(EPC)상에서 발현되며, 혈관형성 중 EPC의 기능성 혈관내로의 통합에 그의 활성이 필요하다. 상기 CXCR4는 종양의 혈관형성 및 생존에 상당히 기여할 수도 있다. CXCR4 신호전달은 또한 혈관형성-전 사이토카인(예를 들어 VEGF)뿐만 아니라, 종양 세포에 의한 침습을 매개할 수 있는 인테그린, 부착 분자 및 기질 분해 효소의 유도를 이끌어낼 수도 있다. 더욱 또한, CXCR4 발현은 종양 침윤성 림프구 및 섬유아세포뿐만 아니라 종양 관련된 대식세포상에서 검출된다. 이들 세포는 면역 인식 및 종양에 대한 공격을 억제하고, 종양 미세환경을 개조하여 종양 성장 및 전이를 자극하는 경향이 있다.

[0005] 종양 성장 및 전이에서 CXCR4의 다수의 역할, 및 다수의 통상적인 종양 유형들에서의 그의 발현은 상기 수용체를, 억제제를 사용하는 치료학적 중재에 매력적인 표적으로 만든다. CXCR4 및 항-CXCR 항체의 펩타이드 및 소분자 억제제들이 확인되거나 임상에 돌입하였지만, 이들의 유용성은 약동학적 성질 및 독성학에 의해 제한되었다. 선택성이고 긴 반감기, 개선된 효능 및 안전성 프로파일을 갖는 작용제, 예를 들어 항체 또는 항체-약물 접합체가 암치료에 사용하기에 바람직한 작용제일 것이다.

[0006] CXCR4를 표적화하는 다양한 작용제들이 개발하에 있지만, 개선된 효능 및 안전성 프로파일을 가지며, 인간 환자 인간 환자에 적합한 CXCR4를 표적화하는 추가적인 치료제들(예를 들어 항체 또는 항체-약물 접합체)이 필요하다. 본 발명의 항체 및 항체-약물 접합체는 다수의 바람직한 성질들, 예를 들어 종양형성, 종양 성장, 혈관형성 및 전이를 감소시키는 성질들을 갖는 치료학적으로 유용한 항-CXCR4 항체이다. 추가로, 본 발명의 항체 및 항체-약물 접합체는 종양 세포의 세포사멸을 유도한다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0007] 본 발명은 케모카인 수용체 4(CXCR4)에 결합하는 단리된 항체, 그의 항원-결합 단편 및 유도체 및 항체-약물 접합체를 제공한다.

과제의 해결 수단

[0008] 본 발명은 케모카인 수용체 4(CXCR4)에 결합하는 단리된 항체, 그의 항원-결합 단편 및 유도체 및 항체-약물 접합체를 제공한다. 본 발명은 상기 항체의 가변 중쇄 및 경쇄의 아미노산 서열 및 그의 상응하는 핵산 서열을 포함한다.

[0009] 하나의 태양에서, 본 발명은 상보성 결정 영역(CDR)이 획득된 모 분자의 CXCR4-결합 능력을 유지하는 하나 이상의 상기 CDR 영역 또는 CDR-유래된 영역을 포함하는 결합 분자를 획득하기 위해서 상기 항체의 CDR 서열을 포함한다.

[0010] 또 다른 태양에서, 본 발명은 본 발명에 개시된 항-CXCR4 항체를 포함하는 항체-약물 접합체를 제공한다.

[0011] 또 다른 태양에서, 본 발명은 CXCR4의 발현 또는 기능과 관련된 질환을 검출 및 진단하기 위한 항-CXCR4 항체, 그의 항원-결합 단편, 및 항체-약물 접합체의 용도 및 상응하는 과정을 포함한다. 하나의 태양에서, 상기 질환은 정상에 비해 증가된 CXCR4의 발현과 관련된 암 질환 또는 CXCR4의 과발현과 관련된 임의의 다른 병리학이다.

[0012] 또 다른 태양에서, 본 발명은 몇몇 암의 예후 또는 진단 또는 치료 모니터링을 위한 적어도 상기와 같은 항체, 항원 결합 단편 또는 항체-약물 접합체를 포함하는 생성물 및/또는 조성물 또는 키트를 포함한다.

[0013] 하나의 태양에서, 본 발명은 케모카인 수용체 4(CXCR4)에 결합하고 a) (i) 서열번호 107, 113, 114, 108, 109, 115, 116, 117, 121 및 122로 이루어진 군 중에서 선택된 VH CDR1; (ii) 서열번호 162, 128, 110, 111, 118, 119, 154, 123, 158, 124, 159, 125, 160, 126, 161, 127, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 155, 129, 156 및 130으로 이루어진 군 중에서 선택된 VH CDR2; 및 (iii) 서열번호 112 및 120으로 이루어진 군 중에서 선택된 VH CDR3을 포함하는 중쇄 가변(VH) 영역; b) (i) 서열번호 144, 131, 135, 138, 141, 142, 143, 146, 147, 148, 149, 150 및 151로 이루어진 군 중에서 선택된 VL CDR1; (ii) 서열번호 145, 132, 136 및 152로 이루어진 군 중에서 선택된 VL CDR2; 및 (iii) 서열번호 139, 133, 137, 140 및 153으로 이루어진 군 중에서 선택된 VL CDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL) 영역을 포함하는 단리된 항체, 또는 그의 항원 결합 단편을 제공한다.

[0014] 또 다른 태양에서, 본 발명은 케모카인 수용체 4(CXCR4)에 결합하고 a) (i) 서열번호 107, 113, 114, 108, 109, 115, 116, 117, 121 또는 122로 나타낸 서열을 포함하는 VH CDR1; (ii) 서열번호 162, 128, 110, 111, 118, 119, 154, 123, 158, 124, 159, 125, 160, 126, 161, 127, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 155, 129, 156 또는 130으로 나타낸 서열을 포함하는 VH CDR2; 및 (iii) 서열번호 112 또는 120으로 나타낸 서열을 포함하는 VH CDR3으로 이루어진 군 중에서 선택된 상보성 결정 영역을 포함하는 중쇄 가변(VH) 영역; b) (i) 서열번호 144, 131, 135, 138, 141, 142, 143, 146, 147, 148, 149, 150 또는 151로 나타낸 서열을 포함하는 VL CDR1; (ii) 서열번호 145, 132, 136 및 152로 나타낸 서열을 포함하는 VL CDR2; 및 (iii) 서열번호 139, 133, 137, 140 또는 153으로 나타낸 서열을 포함하는 VL CDR3으로 이루어진 군 중에서 선택된 상보성 결정 영역을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL) 영역을 포함하는 단리된 항체, 또는 그의 항원 결합 단편을 제공한다.

[0015] 또 다른 태양에서, 본 발명은 케모카인 수용체 4(CXCR4)에 결합하고 a) (i) 서열 $X_1SX_2X_3SLFNSX_4X_5RKNYLX_6$(여기에서 X_1은 R 또는 K이고/이거나; X_2는 S 또는 A이고/이거나; X_3은 W, N 또는 Q이고/이거나; X_4는 H 또는 R이고/이거나; X_5는 T 또는 F이고/이거나; X_6은 A, L, N 또는 M이다)(서열번호 151)을 포함하는 VL CDR1; (ii) 서열 $WASARX_1S$(여기에서 X_1는 G 또는 E이다)(서열번호 152)를 포함하는 VL CDR2; 및 (iii) 서열 $KQSFX_1LRT$(여기에서 X_1은 N 또는 R이다)(서열번호 153)을 포함하는 VL CDR3을 포함하는 경쇄 가변(VL) 영역; 및/또는 b) (i) 서열번호 107, 108, 109, 113 또는 114로 나타낸 서열을 포함하는 VH CDR1; (ii) 서열번호 157로 나타낸 서열을 포함하는 VH CDR2; 및 (iii) 서열번호 112로 나타낸 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함하는 중쇄 가변(VH) 영역을 포함하는 단리된 항체, 또는 그의 항원-결합 단편을 제공한다.

[0016] 하나의 태양에서, 본 발명은 CXCR4에 결합하고 $EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWVRQAPGKGLEWVX_1FIRHKX_2NX_3X_4TX_5EYSTX_6X_7X_8GRFTISRDX_9SKNX_{10}LYLQMNSLX_{11}X_{12}ED$

TAVYYCAX$_{13}$DLPGFAYWGQGTLVTVSS(서열번호 106)(여기에서 X_1은 G 또는 S이고/이거나; X_2는 V 또는 A이고/이거나; X_3은 G, F, K, V, T, L 또는 I이고/이거나; X_4는 E 또는 Y이고/이거나; X_5는 T 또는 R이고/이거나; X_6은 W 또는 S이고/이거나; X_7은 D 또는 V이고/이거나; X_8은 K, T, 또는 R이고/이거나; X_9는 D 또는 N이고/이거나; X_{10}은 T 또는 S이고/이거나; X_{11}은 R 또는 K이고/이거나; X_{12}는 A 또는 T이고/이거나; X_{13}은 K 또는 R이다)를 포함하는 중쇄 가변(VH) 영역 서열을 포함하는 단리된 항체, 또는 그의 항원-결합 단편을 제공한다.

[0017] 하나의 태양에서, 본 발명은 케모카인 수용체 4(CXCR4)에 결합하고 a) 서열번호 107, 113 또는 114의 VH CDR1; 서열번호 162 또는 128의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 중쇄 가변(VH) 영역, 및 서열번호 144의 VL CDR1; 서열번호 145의 VL CDR2 및 서열번호 139의 VL CDR3을 갖는 경쇄 가변(VL) 영역; b) 서열번호 115, 116, 117, 121 또는 122의 VH CDR1; 서열번호 118 또는 119의 VH CDR2 및 서열번호 120의 VH CDR3을 갖는 VH 영역, 및 서열번호 135의 VL CDR1; 서열번호 136의 VL CDR2 및 서열번호 137의 VL CDR3을 갖는 VL 영역; c) 서열번호 107, 108, 109, 113 또는 114의 VH CDR1; 서열번호 110 또는 111의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 VH 영역, 및 서열번호 131의 VL CDR1; 서열번호 132의 VL CDR2 및 서열번호 133의 VL CDR3을 갖는 VL 영역; d) 서열번호 107, 108, 109, 113 또는 114의 VH CDR1; 서열번호 154 또는 123의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 VH 영역, 및 서열번호 138의 VL CDR1; 서열번호 132의 VL CDR2 및 서열번호 139의 VL CDR3을 갖는 VL 영역; 및 e) 서열번호 107, 108, 109, 113 또는 114의 VH CDR1; 서열번호 157의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 VH 영역, 및 서열번호 151의 VL CDR1; 서열번호 152의 VL CDR2 및 서열번호 153의 VL CDR3을 갖는 VL 영역으로 이루어진 군 중에서 선택된 단리된 항체 또는 그의 항원 결합 단편을 제공한다.

[0018] 하나의 태양에서, 본 발명은 a) 서열번호 107의 VH CDR1; 서열번호 162의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 중쇄 가변(VH) 영역, 및 서열번호 144의 VL CDR1; 서열번호 145의 VL CDR2 및 서열번호 139의 VL CDR3을 갖는 경쇄 가변(VL) 영역; b) 서열번호 115의 VH CDR1; 서열번호 118의 VH CDR2 및 서열번호 120의 VH CDR3을 갖는 VH 영역, 및 서열번호 135의 VL CDR1; 서열번호 136의 VL CDR2 및 서열번호 137의 VL CDR3을 갖는 VL 영역; c) 서열번호 107의 VH CDR1; 서열번호 110의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 VH 영역, 및 서열번호 131의 VL CDR1; 서열번호 132의 VL CDR2 및 서열번호 133의 VL CDR3을 갖는 VL 영역; d) 서열번호 107의 VH CDR1; 서열번호 154의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 VH 영역, 및 서열번호 138의 VL CDR1; 서열번호 132의 VL CDR2 및 서열번호 139의 VL CDR3을 갖는 VL 영역; 및 e) 서열번호 107의 VH CDR1; 서열번호 157의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 VH 영역, 및 서열번호 151의 VL CDR1; 서열번호 152의 VL CDR2 및 서열번호 153의 VL CDR3을 갖는 VL 영역으로 이루어진 군 중에서 선택된 단리된 항체 또는 그의 항원 결합 단편을 제공한다.

[0019] 하나의 태양에서, 본 발명은 a) 서열번호 107의 VH CDR1; 서열번호 158의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 중쇄 가변(VH) 영역, 및 서열번호 138의 VL CDR1; 서열번호 132의 VL CDR2 및 서열번호 139의 VL CDR3을 갖는 경쇄 가변(VL) 영역; b) 서열번호 107의 VH CDR1; 서열번호 158의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 VH 영역, 및 서열번호 138의 VL CDR1; 서열번호 132의 VL CDR2 및 서열번호 140의 VL CDR3을 갖는 VL 영역; c) 서열번호 107의 VH CDR1; 서열번호 158의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 VH 영역, 및 서열번호 150의 VL CDR1; 서열번호 132의 VL CDR2 및 서열번호 140의 VL CDR3을 갖는 VL 영역; d) 서열번호 107의 VH CDR1; 서열번호 158의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 VH 영역, 및 서열번호 141의 VL CDR1; 서열번호 132의 VL CDR2 및 서열번호 140의 VL CDR3을 갖는 VL 영역; e) 서열번호 107의 VH CDR1; 서열번호 158의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 VH 영역, 및 서열번호 144의 VL CDR1; 서열번호 145의 VL CDR2 및 서열번호 140의 VL CDR3을 갖는 VL 영역; f) 서열번호 107의 VH CDR1; 서열번호 158의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 VH 영역, 및 서열번호 147의 VL CDR1; 서열번호 132의 VL CDR2 및 서열번호 140의 VL CDR3을 갖는 VL 영역; g) 서열번호 107의 VH CDR1; 서열번호 159의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 VH 영역, 및 서열번호 138의 VL CDR1; 서열번호 132의 VL CDR2 및 서열번호 140의 VL CDR3을 갖는 VL 영역; h) 서열번호 107의 VH CDR1; 서열번호 160의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 VH 영역, 및 서열번호 138의 VL CDR1; 서열번호 132의 VL CDR2 및 서열번호 140의 VL CDR3을 갖는 VL 영역; i) 서열번호 107의 VH CDR1; 서열번호 161의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 VH 영역, 및 서열번호 138의 VL CDR1; 서열번호 132의 VL CDR2 및 서열번호 140의 VL CDR3을 갖는 VL 영역; j) 서열번호 107의 VH CDR1; 서열번호 162의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 VH 영역, 및 서열번호 138의 VL CDR1; 서열번호 132의 VL CDR2 및 서열번호 140의 VL CDR3을 갖는 VL 영역; k) 서열번호 107의 VH CDR1; 서열번호 163의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 VH 영역, 및 서열번호 138의 VL CDR1; 서열번호 132의 VL CDR2 및 서열번호 140

의 VL CDR3을 갖는 VL 영역; l) 서열번호 107의 VH CDR1; 서열번호 164의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 VH 영역, 및 서열번호 138의 VL CDR1; 서열번호 132의 VL CDR2 및 서열번호 140의 VL CDR3을 갖는 VL 영역; m) 서열번호 107의 VH CDR1; 서열번호 165의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 VH 영역, 및 서열번호 138의 VL CDR1; 서열번호 132의 VL CDR2 및 서열번호 140의 VL CDR3을 갖는 VL 영역; o) 서열번호 107의 VH CDR1; 서열번호 166의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 VH 영역, 및 서열번호 138의 VL CDR1; 서열번호 132의 VL CDR2 및 서열번호 140의 VL CDR3을 갖는 VL 영역; p) 서열번호 107의 VH CDR1; 서열번호 167의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 VH 영역, 및 서열번호 138의 VL CDR1; 서열번호 132의 VL CDR2 및 서열번호 140의 VL CDR3을 갖는 VL 영역; q) 서열번호 107의 VH CDR1; 서열번호 168의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 VH 영역, 및 서열번호 138의 VL CDR1; 서열번호 132의 VL CDR2 및 서열번호 140의 VL CDR3을 갖는 VL 영역; r) 서열번호 107의 VH CDR1; 서열번호 168의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 VH 영역, 및 서열번호 138의 VL CDR1; 서열번호 132의 VL CDR2 및 서열번호 140의 VL CDR3을 갖는 VL 영역; s) 서열번호 107의 VH CDR1; 서열번호 163의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 VH 영역, 및 서열번호 144의 VL CDR1; 서열번호 145의 VL CDR2 및 서열번호 140의 VL CDR3을 갖는 VL 영역; t) 서열번호 107의 VH CDR1; 서열번호 158의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 VH 영역, 및 서열번호 144의 VL CDR1; 서열번호 145의 VL CDR2 및 서열번호 139의 VL CDR3을 갖는 VL 영역; u) 서열번호 107의 VH CDR1; 서열번호 162의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 VH 영역, 및 서열번호 144의 VL CDR1; 서열번호 145의 VL CDR2 및 서열번호 139의 VL CDR3을 갖는 VL 영역; v) 서열번호 107의 VH CDR1; 서열번호 163의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 VH 영역, 및 서열번호 144의 VL CDR1; 서열번호 145의 VL CDR2 및 서열번호 139의 VL CDR3을 갖는 VL 영역; 및 w) 서열번호 107의 VH CDR1; 서열번호 162의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 VH 영역, 및 서열번호 144의 VL CDR1; 서열번호 145의 VL CDR2 및 서열번호 140의 VL CDR3을 갖는 VL 영역으로 이루어진 군 중에서 선택된 단리된 항체 또는 그의 항원 결합 단편을 제공한다.

[0020] 본 발명의 특정한 태양에서, 상기 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 서열번호 107, 162 및 112로 나타낸 3개의 CDR을 포함하는 중쇄 가변(VH) 영역을 포함한다. 일부 태양에서, 상기 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 서열번호 144, 145 및 139로 나타낸 3개의 CDR을 포함하는 경쇄 가변(VL) 영역을 포함한다. 일부 태양에서, 상기 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 서열번호 107, 162 및 112로 나타낸 3개의 CDR을 포함하는 중쇄 가변(VH) 영역; 및 서열번호 144, 145 및 139로 나타낸 3개의 CDR을 포함하는 경쇄 가변(VL) 영역을 포함한다.

[0021] 본 발명의 일부 태양에서, 상기 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 서열번호 33의 VH 영역으로부터의 VH CDR1, VH CDR2 및 VH CDR3을 포함하는 중쇄 가변(VH) 영역을 포함한다. 다른 태양에서, 상기 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 서열번호 73의 VL 영역으로부터의 VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3을 포함하는 경쇄 가변(VL) 영역을 포함한다.

[0022] 본 발명의 일부 태양에서, 상기 단리된 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 서열번호 33의 VH 영역으로부터의 VH CDR1, VH CDR2 및 VH CDR3을 포함하는 중쇄 가변(VH) 영역; 및 서열번호 73의 VL 영역으로부터의 VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3을 포함하는 경쇄 가변(VL) 영역을 포함한다.

[0023] 본 발명의 일부 태양에서, 상기 단리된 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 a) 서열번호 33의 VH 영역 및 서열번호 73의 VL 영역을 포함하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편; b) 서열번호 13의 VH 영역 및 서열번호 15의 VL 영역을 포함하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편; c) 서열번호 5의 VH 영역 및 서열번호 7의 VL 영역을 포함하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편; d) 서열번호 21의 VH 영역 및 서열번호 47의 VL 영역을 포함하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편; 및 e) 서열번호 106의 VH 영역, 및 서열번호 138의 VL CDR1; 서열번호 132의 VL CDR2; 및 서열번호 139의 VL CDR3을 갖는 VL 영역을 포함하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편으로 이루어진 군 중에서 선택된다.

[0024] 본 발명의 일부 태양에서, 상기 단리된 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 서열번호 33에 적어도 95% 일치하는 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역 및 서열번호 73에 적어도 95% 일치하는 아미노산 서열을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함한다.

[0025] 본 발명의 특정 태양들에서, 상기 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 a) 서열번호 33의 중쇄 가변(VH) 영역; 및/또는 b) 서열번호 73의 경쇄 가변(VL) 영역을 포함한다.

[0026] 본 발명의 일부 태양에서, 상기 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 ATCC 기탁 번호 PTA-121353을 갖는 발현 벡터에 의해 생성된 중쇄 가변(VH) 영역을 포함한다. 본 발명의 일부 태양에서, 상기 항체 또는 항원 결합 단편은 ATCC 기탁 번호 PTA-121354를 갖는 발현 벡터에 의해 생성된 경쇄 가변(VL) 영역을 포함한다.

[0027] 본 발명의 일부 태양에서, 상기 단리된 항체 또는 그의 항원 결합 단편은

[0028] a) 서열번호 107의 VH CDR1; 서열번호 158의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 중쇄 가변(VH) 영역, 및 서열번호 138의 VL CDR1; 서열번호 132의 VL CDR2 및 서열번호 139의 VL CDR3을 갖는 경쇄 가변(VL) 영역;

[0029] b) 서열번호 107의 VH CDR1; 서열번호 158의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 VH 영역, 및 서열번호 138의 VL CDR1; 서열번호 132의 VL CDR2 및 서열번호 140의 VL CDR3을 갖는 VL 영역; c) 서열번호 107의 VH CDR1; 서열번호 158의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 VH 영역, 및 서열번호 150의 VL CDR1; 서열번호 132의 VL CDR2 및 서열번호 140의 VL CDR3을 갖는 VL 영역; d) 서열번호 107의 VH CDR1; 서열번호 158의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 VH 영역, 및 서열번호 141의 VL CDR1; 서열번호 132의 VL CDR2 및 서열번호 140의 VL CDR3을 갖는 VL 영역; e) 서열번호 107의 VH CDR1; 서열번호 158의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 VH 영역, 및 서열번호 144의 VL CDR1; 서열번호 145의 VL CDR2 및 서열번호 140의 VL CDR3을 갖는 VL 영역; f) 서열번호 107의 VH CDR1; 서열번호 158의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 VH 영역, 및 서열번호 147의 VL CDR1; 서열번호 132의 VL CDR2 및 서열번호 140의 VL CDR3을 갖는 VL 영역; g) 서열번호 107의 VH CDR1; 서열번호 159의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 VH 영역, 및 서열번호 138의 VL CDR1; 서열번호 132의 VL CDR2 및 서열번호 140의 VL CDR3을 갖는 VL 영역; h) 서열번호 107의 VH CDR1; 서열번호 160의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 VH 영역, 및 서열번호 138의 VL CDR1; 서열번호 132의 VL CDR2 및 서열번호 140의 VL CDR3을 갖는 VL 영역; i) 서열번호 107의 VH CDR1; 서열번호 161의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 VH 영역, 및 서열번호 138의 VL CDR1; 서열번호 132의 VL CDR2 및 서열번호 140의 VL CDR3을 갖는 VL 영역; j) 서열번호 107의 VH CDR1; 서열번호 162의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 VH 영역, 및 서열번호 138의 VL CDR1; 서열번호 132의 VL CDR2 및 서열번호 140의 VL CDR3을 갖는 VL 영역; k) 서열번호 107의 VH CDR1; 서열번호 163의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 VH 영역, 및 서열번호 138의 VL CDR1; 서열번호 132의 VL CDR2 및 서열번호 140의 VL CDR3을 갖는 VL 영역; l) 서열번호 107의 VH CDR1; 서열번호 164의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 VH 영역, 및 서열번호 138의 VL CDR1; 서열번호 132의 VL CDR2 및 서열번호 140의 VL CDR3을 갖는 VL 영역; m) 서열번호 107의 VH CDR1; 서열번호 165의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 VH 영역, 및 서열번호 138의 VL CDR1; 서열번호 132의 VL CDR2 및 서열번호 140의 VL CDR3을 갖는 VL 영역; n) 서열번호 107의 VH CDR1; 서열번호 166의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 VH 영역, 및 서열번호 138의 VL CDR1; 서열번호 132의 VL CDR2 및 서열번호 140의 VL CDR3을 갖는 VL 영역; o) 서열번호 107의 VH CDR1; 서열번호 167의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 VH 영역, 및 서열번호 138의 VL CDR1; 서열번호 132의 VL CDR2 및 서열번호 140의 VL CDR3을 갖는 VL 영역; p) 서열번호 107의 VH CDR1; 서열번호 168의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 VH 영역, 및 서열번호 138의 VL CDR1; 서열번호 132의 VL CDR2 및 서열번호 140의 VL CDR3을 갖는 VL 영역; q) 서열번호 107의 VH CDR1; 서열번호 168의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 VH 영역, 및 서열번호 138의 VL CDR1; 서열번호 132의 VL CDR2 및 서열번호 140의 VL CDR3을 갖는 VL 영역; r) 서열번호 107의 VH CDR1; 서열번호 163의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 VH 영역, 및 서열번호 144의 VL CDR1; 서열번호 145의 VL CDR2 및 서열번호 140의 VL CDR3을 갖는 VL 영역; s) 서열번호 107의 VH CDR1; 서열번호 158의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 VH 영역, 및 서열번호 144의 VL CDR1; 서열번호 145의 VL CDR2 및 서열번호 139의 VL CDR3을 갖는 VL 영역; t) 서열번호 107의 VH CDR1; 서열번호 162의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 VH 영역, 및 서열번호 144의 VL CDR1; 서열번호 145의 VL CDR2 및 서열번호 139의 VL CDR3을 갖는 VL 영역; u) 서열번호 107의 VH CDR1; 서열번호 163의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 VH 영역, 및 서열번호 144의 VL CDR1; 서열번호 145의 VL CDR2 및 서열번호 139의 VL CDR3을 갖는 VL 영역; 및 v) 서열번호 107의 VH CDR1; 서열번호 162의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 VH 영역, 및 서열번호 144의 VL CDR1; 서열번호 145의 VL CDR2 및 서열번호 140의 VL CDR3을 갖는 VL 영역

[0030] 으로 이루어진 군 중에서 선택된다.

[0031] 본 발명의 일부 태양에서, CXCR4에 결합하는 단리된 항체 또는 그의 항원 결합 단편은, 본 발명에 개시된 항체 또는 그의 항원 결합 단편과 동일한 CXCR4의 에피토프와 CXCR4에의 결합에 대해서 경쟁하고/하거나 상기 에피토프에 결합한다.

[0032] 본 발명의 일부 태양에서, 상기 단리된 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 서열번호 107의 VH CDR1; 서열번호 162의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 VH 영역, 및 서열번호 144의 VL CDR1; 서열번호 145의 VL CDR2 및 서열번호 139의 VL CDR3을 갖는 VL 영역을 포함한다.

[0033] 본 발명의 일부 태양에서, 상기 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 인간화된, 키메릭, CDR 이식된, 또는 재조합 인간 항체이다. 본 발명의 다른 태양에서, 상기 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 개화(caninized)되거나 고양이화(felinized)되지 않는다.

[0034] 본 발명의 일부 태양에서, 상기 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 특정 부위에서 조작된 아실 공여체 글루타민-함유 태그를 포함한다.

[0035] 본 발명의 일부 태양에서, 항-CXCR4 항체-약물 접합체를 제공한다. 본 발명의 항체-약물 접합체는 일반적으로 식 Ab-(T-L-D)(여기에서 Ab는 케모카인 수용체 4(CXC4)에 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편이고; T는 임의로 포함시킬 수 있는 아실 공여체 글루타민-함유 태그이고; L은 연결기이고; D는 약물이다)을 갖는다.

[0036] 특정 태양에서, 본 발명의 항체-약물 접합체는 a) 서열번호 107, 162 및 112의 CDR을 포함하는 VH 영역 및 서열번호 144, 145 및 139의 CDR을 포함하는 VL 영역을 포함하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편; b) 서열번호 115, 118 및 120의 CDR을 포함하는 VH 영역 및 서열번호 135, 136 및 137의 CDR을 포함하는 VL 영역을 포함하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편; c) 서열번호 107, 110 및 112의 CDR을 포함하는 VH 영역 및 서열번호 131, 132 및 133의 CDR을 포함하는 VL 영역을 포함하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편; d) 서열번호 107, 154 및 112의 CDR을 포함하는 VH 영역 및 서열번호 138, 132 및 139의 CDR을 포함하는 VL 영역을 포함하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편; e) 서열번호 107, 157 및 112의 CDR을 포함하는 VH 영역 및 서열번호 151, 152 및 153의 CDR을 포함하는 VL 영역을 포함하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편; f) 서열번호 33의 VH 영역 및 서열번호 73의 VL 영역을 포함하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편; g) 서열번호 13의 VH 영역 및 서열번호 15의 VL 영역을 포함하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편; h) 서열번호 5의 VH 영역 및 서열번호 7의 VL 영역을 포함하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편; 및 i) 서열번호 21의 VH 영역 및 서열번호 47의 VL 영역을 포함하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편으로 이루어진 군 중에서 선택된다.

[0037] 본 발명의 일부 항체-약물 접합체에서, Ab는 인간화된, 키메릭, CDR 이식된, 또는 재조합 인간 항체 또는 그의 항원 결합 단편이다. 본 발명의 일부 항체-약물 접합체에서, T는 서열번호 171, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 172, 173, 102, 103 및 LLQ로 이루어진 군 중에서 선택된다. 본 발명의 일부 항체-약물 접합체에서, L은 아세틸-리신-발린-시트룰린-p-아미노벤질옥시카보닐(AcLys-VC-PABC), 아미노 PEG6-프로피오닐, 말레이미도카프로닉-발린-시트룰린-p-아미노벤질옥시카보닐(vc) 및 말레이미도카프로일(mc)로 이루어진 군 중에서 선택된다. 본 발명의 일부 항체-약물 접합체에서, D는 세포독성제, 면역조절제, 이미지화제, 치료학적 단백질, 생물중합체, 및 올리고뉴클레오타이드로 이루어진 군 중에서 선택된다.

[0038] 본 발명의 임의의 항체-약물 접합체를 세포독성제인 약물로 제조할 수 있다. 상기 세포독성제는 안트라사이클린, 아우리스타틴, 캄토테신, 콤브레타스테인, 돌라스타틴, 듀오카마이신, 에네다인, 젤다나마이신, 인돌리노-벤조다이아제핀 이량체, 메이탄신, 퓨로마이신, 피롤로벤조다이아제핀 이량체, 탁산, 빈카 알칼로이드, 투불리신, 헤미아스털린, 스플라이스오스타틴, 플라다이에놀리드, 및 칼케아미신일 수 있다. 본 발명의 임의의 항체-약물 접합체를 아우리스타틴인 약물로 제조할 수 있다. 하나의 태양에서, 상기 아우리스타틴은 0101(2-메틸알라닐-N-[(3R,4S,5S)-3-메톡시-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소-3-{[(1S)-2-페닐-1-(1,3-티아졸-2-일)에틸]아미노}프로필]피롤리딘-1-일}-5-메틸-1-옥소헵탄-4-일]-N-메틸-L-발린아미드), NMAD(모노메틸 아우리스타틴 D 또는 모노메틸 돌라스타틴 10) 및 8261(2-메틸알라닐-N-[(3R,4S,5S)-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-3-{[(1S)-1-카복시-2-페닐에틸]아미노}-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필]피롤리딘-1-일}-3-메톡시-5-메틸-1-옥소헵탄-4-일]-N-메틸-L-발린아미드)일 수 있다.

[0039] 특정 태양에서, 본 발명의 항체-약물 접합체는 a) Ab-LLQGA(서열번호 91)-(아세틸-리신-발린-시트룰린-p-아미노벤질옥시카보닐(AcLys-VC-PABC))-0101; Ab-LLQGA(서열번호 91)-(AcLys-VC-PABC)-MMAD; c) Ab-LLQ$X_1X_2X_3X_4X_5$ (서열번호 102)-(AcLys-VC-PABC)-0101; d) Ab-LLQ$X_1X_2X_3X_4X_5$ (서열번호 102)-(AcLys-VC-PABC)-MMAD; e) Ab-GGLLQGA(서열번호 92)-(AcLys-VC-PABC)-0101; 및 f) Ab-GGLLQGA(서열번호 92)-(AcLys-VC-PABC)-MMAD로 이루어진 군 중에서 선택된다.

[0040] 본 발명의 일부 태양에서, CXCR4 항체-약물 접합체는 본 발명에 개시된 항체 및 그의 항원 결합 단편 중 임의의 항체 또는 단편을 포함한다. 본 발명의 특정한 태양에서, 본 발명의 항체-약물 접합체는 서열번호 107, 162 및 112의 CDR을 포함하는 VH 영역 및 서열번호 144, 145 및 139의 CDR을 포함하는 VL 영역을 포함하는 항체를 포함한다.

[0041] 본 발명에 개시된 CXCR4 항체, 그의 항원 결합 단편, 또는 항체-약물 접합체 및 약학적으로 허용 가능한 담체를

포함하는 약학 조성물을 추가로 제공한다.

[0042] 본 발명의 일부 태양에서, 본 발명에 개시된 항-CXCR4 항체 및 그의 항원 결합 단편 중 임의의 항체 또는 단편을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 단리된 폴리뉴클레오타이드를 제공한다. 일부 태양에서, 본 발명에 개시된 항체 또는 그의 항원 결합 단편을 재조합적으로 생산하는 숙주 세포를 제공한다.

[0043] 다른 태양에서 대상체에게 유효량의 본 발명의 약학 조성물을 투여함을 포함하는, 상기 대상체에서 CXCR4 기능 또는 발현과 관련된 질환을 치료하는 방법을 제공한다. 본 발명의 특정 태양에서, 상기 질환은 암이다.

[0044] 다른 태양에서 CXCR4 발현 암세포의 전이의 감소가 필요한 대상체에게 유효량의 본 발명에 개시된 약학 조성물을 투여함을 포함하는, 상기 대상체에서 상기 전이를 감소시키는 방법을 제공한다. 다른 태양에서 종양 퇴화의 유도가 필요한, CXCR4 발현 종양을 갖는 대상체에게 유효량의 본 발명에 개시된 약학 조성물을 투여함을 포함하는, 상기 대상체에서 상기 종양 퇴화를 유도하는 방법을 제공한다.

[0045] 본 발명의 상기 및 다른 태양들은 본 출원 전체를 재고찰함으로써 이해될 것이다.

발명의 효과

[0046] 본 발명은 케모카인 수용체 4(CXCR4)에 결합하는 항체 및 관련 분자를 제공한다.

도면의 간단한 설명

[0047] 도 1은 h3G10 중쇄 가변 영역(VH) 정렬을 도시한다.

도 2는 h3G10 경쇄 가변 영역(VL) 정렬을 도시한다.

도 3a는 HPB-ALL(인간 T 세포 백혈병) 및 키노(Cyno)-CXCR4 형질감염된 CHO 세포상에서 일련의 희석물(0.007 내지 267 nM) 중의 유식 세포측정에 의한 키노몰구스 CXCR4에 대한 항-인간 CXCR4 Ab h3G10.1.91.A58B의 교차 반응성을 도시한다.

도 3b는 라지(Raji)(NHL; 인간 비-호지킨 림프종) 및 HSC-F(키노몰구스 T 세포주)상에서 일련의 희석물(0.007 내지 267 nM) 중의 유식 세포측정에 의한 키노몰구스 CXCR4에 대한 항-인간 CXCR4 Ab h3G10.1.91.A58B의 교차 반응성을 도시한다.

도 4는 CXCR4를 발현하는 인간 세포주상에서 항-인간 CXCR4 항체의 ADCC(4a 내지 4c) 및 CDC(4d 내지 4f) 활성을 도시한다.

도 4a는 라모스(Ramos)(NHL) 세포상에서 12A11, 6B6 및 3G10 항-인간 CXCR4 항체의 ADCC 활성을 도시한다.

도 4b는 MOLT-4(T-급성 림프구성 백혈병) 세포상에서 m3G10-hIgG1 및 m3G10-hIgG4 항-인간 CXCR4 항체의 ADCC 활성 비교를 도시한다.

도 4c는 MOLT-4(T-급성 림프구성 백혈병) 세포상에서 마우스(m3G10-) 및 인간화된(h3G10-) 항-인간 CXCR4 항체의 ADCC 활성을 도시한다.

도 4d는 라모스(NHL) 세포상에서 12A11, 6B6 및 3G10 항-인간 CXCR4 항체의 CDC 활성을 도시한다.

도 4e는 다우디(Daudi)(NHL) 세포상에서 m3G10-hIgG1 및 m3G10-hIgG4 항-인간 CXCR4 항체의 CDC 활성 비교를 도시한다.

도 4f는 다우디(NHL) 세포상에서 마우스(m3G10-) 및 인간화된(h3G10-) 항-인간 CXCR4 항체의 CDC 활성을 도시한다.

도 5는 3G10, 6B6 및 12A11 항-인간 CXCR4 항체에 의한 칼슘 유출의 억제를 도시한다.

도 6a는 3G10, 6B6 및 12A11 항-인간 CXCR4 항체가 용량 의존적인 방식으로 라모스 세포에서 세포사를 유도할 수 있음을 도시한다.

도 6b는 세포사를 유도하는 항-인간 CXCR4 항체 3G10의 능력이 2가 의존성임을 도시한다.

도 7은 3G10, 6B6 및 12A11 항-인간 CXCR4 항체가 아이소타입 대조용 항체에 비해 비-호지킨 림프종(NHL) 모델(라모스)에서 종양 성장을 현저하게 억제하였음을 도시한다.

도 8a는 항-인간 CXCR4 항체 3G10, 6B6 및 12A11이, 라지(Raji)-LUC 세포가 전신적으로 이식된 동물의 종양 크기에 대해, 아이소타입 대조용 항체에 비해 현저한 효과를 가짐을 도시한다.

도 8b는 항-인간 CXCR4 항체 3G10, 6B6 및 12A11에 의한 처리가 상기 모델에서 아이소타입 대조용 항체에 비해, 필적할만한 현저한 종양 성장 억제(TGI) 활성을 가졌음을 도시한다.

도 8c는 라지-LUC 세포가 전신적으로 이식된 동물의 생존에서 아이소타입 대조용 항체에 비해 항-인간 CXCR4 항체 3G10, 6B6 및 12A11의 현저한 효과를 도시하는 생존 곡선이다.

도 9a는 급성 골수성 백혈병(AML) 모델(MV4-11-LUC)에서 종양 크기에 대한 CXCR4 Ab 6B6의 효과를 도시한다. 제20일에서 제41일까지의 5마리 동물/처리 군의 전형적인 생물발광 이미지화를 도시한다.

도 9b는 MV4-11-LUC AML 세포가 전신적으로 이식된 동물의 생존에서 아이소타입 대조용 항체에 비해 항-CXCR4 항체 6B6의 현저한 효과를 도시한다.

도 9c는 제35 연구일에 아이소타입 대조용 처리 동물에 비해 항-CXCR4 6B6 항체로 처리된 동물의 말초 혈액(PB)에서 인간 AML 종양 크기의 현저한 감소를 도시한다.

도 10a는 CXCR4 3G10 항체로 처리된 전신 만성 림프구성 백혈병 종양을 갖는 마우스에서 전형적인 루시페라제 이미지화를 도시한다.

도 10b는 만성 림프구성 백혈병 세포가 전신적으로 이식된 동물의 생존에서 아이소타입 대조용 항체에 비해 항-인간 CXCR4 항체 3G10의 현저한 효과를 도시하는 생존 곡선이다.

도 11은 인간화된 항-인간 CXCR4 항체가 비-호지킨 림프종(NHL) 모델(라모스)에서 아이소타입 대조용 항체에 비해 종양 성장을 현저하게 억제하였음을 도시한다.

도 12a는 다발성 골수종(MM) 모델(OPM-2-LUC)에서 종양 크기에 대한 CXCR4 Ab h3G10.1.91.A58B의 효과를 도시한다. 제8일에서 제30일까지의 5마리 동물/처리 군의 전형적인 생물발광 이미지화를 도시한다.

도 12b는 아이소타입 대조용 항체 및 멜팔란으로 처리된 동물에 비해, 항-인간 CXCR4 항체 h3G10.1.91.A58B로 처리된 마우스 전신 다발성 골수종(MM) 모델에서 생물발광(루시페라제 활성)의 정량분석을 도시한다.

도 12c는 OPM-2-Luc MM 세포가 전신적으로 이식된 마우스에서 아이소타입 대조용 항체 및 멜팔란에 비해 항-CXCR4 항체 h3G10.1.91.A58B의 현저한 효과를 도시하는 생존 곡선이다.

도 13a는 라모스(NHL) 종양 모델에서 CXCR4 ADC 3G10-TG6-vc101 및 6B6-TG6-vc101의 현저한 종양 억제 효과를 도시한다.

도 13b는 HPB-ALL(T-ALL) 종양 모델에서 CXCR4 ADC 3G10-TG6-vc101의 현저한 종양 억제 효과를 도시한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0048] 본 출원에 개시된 발명은 CXCR4(예를 들어 인간 CXCR4)에 결합하는 항체 및 항체 접합체(예를 들어 항체-약물 접합체)를 제공한다. 본 발명은 또한 상기 항체를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드, 상기 항체를 포함하는 조성물, 및 상기 항체의 제조 및 사용 방법을 제공한다. 몇몇 태양에서, 본 명세의 항체는 특정한 중쇄 및 경쇄 생식계통 서열로부터 유래하고/하거나 특정한 구조적 특징, 예를 들어 특정한 아미노산 서열을 포함하는 CDR 영역을 포함한다. 본 명세는 단리된 항체, 상기와 같은 항체, 그의 항원 결합 단편, 상기와 같은 항체를 포함하는 항체-약물 접합체 및 이중특이성 분자의 제조 방법 및 본 명세의 항체, 그의 항원 결합 단편, 항체-약물 접합체 또는 이중특이성 분자를 함유하는 약학 조성물을 제공한다. 본 명세는 또한 CXCR4의 기능 또는 발현과 관련된 질환, 예를 들어 암에서, CXCR4를 검출하고, CXCR4 활성을 조절하고/하거나 파괴를 위해 CXCR4 발현 세포(예를 들어 ADCC, CDC, 독소)를 표적화하는 바와 같은 상기 항체의 사용 방법에 관한 것이다. 본 발명은 또한 대상체에서 CXCR4 기능 또는 발현과 관련된 질환, 예를 들어 암(예를 들어 고형 종양암 또는 혈액암)의 예방학적 및/또는 치료학적 치료를 위한 방법을 제공한다. 최종적으로, 본 발명은 상기와 같은 항체를 접합으로(예를 들어 항체-약물 접합체) 또는 다른 항암 화합물, 예를 들어 항체, 독소, 세포독성/세포발육정지제와 함께 포함하는 조성물, 및 CXCR4의 기능 또는 발현과 관련된 질환, 예를 들어 암의 예방 및/또는 치료를 위한 그의 용도를 포함한다.

[0049] 일반적인 기법

[0050] 본 발명의 실시는 달리 지시되지 않는 한, 분자 생물학(재조합 기법 포함), 미생물학, 세포 생물학, 생화학 및 면역학의 통상적인 기법들을 사용할 것이며, 이들 기법은 당해 분야의 기술 내에 있다. 상기와 같은 기법은 문헌, 예를 들어 문헌[Molecular Cloning: A Laboratory Manual, second edition (Sambrook et al., 1989) Cold Spring Harbor Press]; 문헌[Oligonucleotide Synthesis (M.J. Gait, ed., 1984)]; 문헌[Methods in Molecular Biology, Humana Press]; 문헌[Cell Biology: A Laboratory Notebook (J.E. Cellis, ed., 1998) Academic Press]; 문헌[Animal Cell Culture (R.I. Freshney, ed., 1987)]; 문헌[Introduction to Cell and Tissue Culture (J.P. Mather and P.E. Roberts, 1998) Plenum Press]; 문헌[Cell and Tissue Culture: Laboratory Procedures (A. Doyle, J.B. Griffiths, and D.G. Newell, eds., 1993-1998) J. Wiley and Sons]; 문헌[Methods in Enzymology (Academic Press, Inc.)]; 문헌[Handbook of Experimental Immunology (D.M. Weir and C.C. Blackwell, eds.)]; 문헌[Gene Transfer Vectors for Mammalian Cells (J.M. Miller and M.P. Calos, eds., 1987)]; 문헌[Current Protocols in Molecular Biology (F.M. Ausubel et al., eds., 1987)]; 문헌[PCR: The Polymerase Chain Reaction, (Mullis et al., eds., 1994)]; 문헌[Current Protocols in Immunology (J.E. Coligan et al., eds., 1991)]; 문헌[Short Protocols in Molecular Biology (Wiley and Sons, 1999)]; 문헌[Immunobiology (C.A. Janeway and P. Travers, 1997)]; 문헌[Antibodies (P. Finch, 1997)]; 문헌[Antibodies: a practical approach (D. Catty., ed., IRL Press, 1988-1989)]; 문헌[Monoclonal antibodies: a practical approach (P. Shepherd and C. Dean, eds., Oxford University Press, 2000)]; 문헌[Using antibodies: a laboratory manual (E. Harlow and D. Lane (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1999)]; 및 문헌[The Antibodies (M. Zanetti and J.D. Capra, eds., Harwood Academic Publishers, 1995)]에 충분히 설명되어 있다.

[0051] 정의 및 약어

[0052] 본 발명에 사용되는 바와 같은 "케모카인(C-X-C 동기) 수용체 4" 및 "CXCR4"란 용어는 세포막 내에 통상적으로 매몰되어 있는, G 단백질-커플링된 7 막관통 도메인 케모카인 수용체를 지칭한다. 상기 용어는 또한 변이체, 동형, 호몰로그, 오솔로그 및 파랄로그를 포함한다. 인간 CXCR4의 핵산 및 폴리펩타이드 서열은 각각 진뱅크(GenBank) 기탁 번호 NM_003467 및 NP_003458로서 개시되어 있다. 인간 CXCR4의 추가적인 설명을 문헌[Federsppiel, B. et al. Genomics 16(3):707-712 (1993)]; 문헌[Herzog, H. et al. DNA Cell Biol. 12(6):465-471 (1993)]; 문헌[Jazin, E. E. et al. Regul. Pept 47(3):247-258 (1993)]; 문헌[Nomura, H. et al. Int. Immunol. 5(10):1239-1249 (1993)]; 문헌[Loetscher, M. et al. J. Biol. Chem. 269(1):232-237 (1994)]; 문헌[Moriuchi, M. et al. J. Immunol. 159(9):4322-4329 (1997)]; 문헌[Caruz, A. et al. FEBS Lett. 426(2):271-278 (1998)]; 및 문헌[Wegner, S. A. et al. J. Biol. Chem. 273(8):4754-4760(1998)]에서 찾을 수 있다.

[0053] CXCR4는 또한 당해 분야에서 예를 들어 LESTR, CD 184, CD184 항원, C-X-C 케모카인 수용체 유형 4, CXCR-4, CXCL-12, CXCR-R4, D2S201E, FB22, 퓨전(fusion), 퓨신(Fusin), HM89, HSY3RR, LAP3, LCR1, 백혈구-유래된 7 막관통 도메인 수용체, NPY3R, NPYR, NPYRL, NPYY3R, SDF-1 수용체, 또는 기질 세포 유래된 인자 1 수용체로서 공지되어 있다.

[0054] 본 발명의 목적을 위해서, "CXCR4 항원"이란 용어는 인간 CXCR4, 또 다른 포유동물의 CXCR4(예를 들어 마우스 CXCR4, 래트 CXCR4, 개 CXCR4, 고양이 CXCR4 단백질 또는 영장류 CXCR4)를 포함한 임의의 CXCR4뿐만 아니라 CXCR4의 상이한 형태들(예를 들어 글리코실화된 CXCR4)을 포함한다.

[0055] 본 발명에 사용되는 바와 같은 "항체" 및 "Ab"란 용어는 면역글로불린 분자의 가변 영역 중에 위치한 적어도 하나의 항원 인식 부위를 통해, 특이적인 표적 또는 항원, 예를 들어 탄수화물, 폴리뉴클레오타이드, 지질, 폴리펩타이드 등을 인식하고 이에 결합할 수 있는 상기 면역글로불린 분자를 지칭한다. 본 발명에 사용되는 바와 같이, "항체"란 용어는 임의의 유형의 항체, 예를 들어 비제한적으로 단클론 항체, 다클론 항체 및 주어진 항원(예를 들어 CXCR4)에 특이적으로 결합하는 능력을 유지하는 완전한 항체의 항원 결합 단편, 이중특이성 항체, 이종접합성 항체, 그의 돌연변이체, 항체를 갖는 융합 단백질, 단쇄(ScFv) 및 단일 도메인 항체(예를 들어 상어 및 카멜리드 항체), 맥시바디, 미니바디, 인트라바디, 다이아바디, 트라이아바디, 테트라바디, v-NAR 및 비스-scFv(예를 들어 문헌[Hollinger and Hudson, 2005, Nature Biotechnology 23(9): 1126-1136]을 참조), 인간화된 항체, 키메릭 항체 및 필요한 특이성을 갖는 항원 인식 부위를 포함하는 면역글로불린 분자의 임의의 다른 변형된 배열, 예를 들어 항체의 글리코실화 변이체, 항체의 아미노산 서열 변이체, 및 공유적으로 변형된 항체를 포함할 수 있다. 상기 항체는 쥐, 래트, 인간, 또는 임의의 다른 기원(키메릭 또는 인간화된 항체 포함)일 수 있다. 본 발명의 일부 태양에서, 본 발명의 방법에 사용하기 위한 항체 또는 그의 항원 결합 단편은

키메릭, 인간화된, 또는 재조합 인간 항체, 또는 그의 CXCR4-결합 단편이다.

[0056] 면역글로불린의 5가지 주요 부류가 존재하며: IgA, IgD, IgE, IgG 및 IgM, 이들 중 다수는 하위부류(아이소타입)로 추가로 분류될 수 있다, 예를 들어 IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 및 IgA2. 면역글로불린의 상이한 부류들에 상응하는 중쇄 불변 영역들을 각각 알파, 델타, 입실론, 감마 및 뮤라 칭한다. 면역글로불린의 상이한 부류들의 서브유닛 구조 및 3차원 배열은 충분히 공지되어 있다.

[0057] 고유 또는 천연 항체는 전형적으로 2개의 동일한 경(L)쇄 및 2개의 동일한 중(H)쇄로 구성된, 약 150,000 달톤의 이종사량체성 당단백질이다. 각각의 경쇄는 하나의 공유적인 다이설파이드 결합에 의해 중쇄에 연결되는 반면, 상기 다이설파이드 연결의 수는 상이한 면역글로불린 아이소타입의 중쇄에 따라 다양하다. 각각의 중쇄 및 경쇄는 또한 규칙적으로 이격된 쇄내 다이설파이드 가교를 갖는다. 각각의 중쇄는 한쪽 단부에 하나의 가변 도메인(VH)에 이어서 다수의 불변 도메인들을 갖는다. 각각의 경쇄는 한쪽 단부에 하나의 가변 도메인(VL) 및 그의 다른쪽 단부에 불변 도메인을 가지며; 상기 경쇄의 불변 도메인은 상기 중쇄의 제1 불변 도메인과 정렬되고 상기 경쇄 가변 도메인은 상기 중쇄의 가변 도메인과 정렬된다. 특정한 아미노산 잔기들은 상기 경쇄 및 중쇄 가변 도메인 사이에 계면을 형성하는 것으로 여겨진다. "가변"이란 용어는 상기 가변 도메인들의 일정 부분이 항체에 따라 서열이 광범위하게 상이하다는 사실을 지칭한다.

[0058] 본 발명에 사용되는 바와 같은 "항원 결합 단편", "항원 결합 부분" 및 "항체 부분"이란 용어는 주어진 항원(예를 들어 CXCR4)에 결합하는 능력을 유지하는 완전한 항체의 하나 이상의 단편을 지칭한다. 항체의 항원 결합 기능은 완전한 항체의 단편들에 의해 수행될 수 있다. 항원 결합 단편의 예는 Fab; Fab'; $F(ab')_2$; VH 및 CH1 도메인으로 이루어지는 Fd 단편; 항체의 단일 가지의 VL 및 VH 도메인으로 이루어지는 Fv 단편; 단일 도메인 항체(dAb) 단편(문헌[Ward et al., Nature 341:544-546, 1989]), 단리된 상보성 결정 영역(CDR), 나노바디 및 단일 가변 도메인 및 2개의 불변 도메인을 함유하는 중쇄 가변 영역을 포함한다. 더욱 또한, 상기 Fv 단편의 2개 도메인, VL 및 VH는 별도의 유전자에 의해 암호화되지만, 이들 VL 및 VH는, 재조합 방법을 사용하여, 상기 VL 및 VH 영역이 짝을 이루어 1가 분자(단쇄 Fv(scFv)로서 공지됨, 예를 들어 문헌[Bird et al., Science 242:423-426 (1988)], 및 문헌[Huston el al., PNAS 85: 5879-5883 (1988)]을 참조)를 형성하는 단일 단백질 쇄로서 제조될 수 있게 하는 합성 연결기에 의해 결합될 수 있다. 상기와 같은 단쇄 항체를 또한 항체의 "항원 결합 부분"이란 용어내에 포함시키고자 한다. 이들 항체 단편을 당해 분야의 숙련가에게 공지된 통상적인 기법을 사용하여 획득하며, 상기 단편을 완전한 항체와 동일한 방식으로 유용성에 대해 선별한다.

[0059] 본 발명에 사용되는 바와 같은 "CDR"이란 용어는 항체의 결합 특이성을 부여하는 상기 항체의 가변 도메인 중의 영역을 지칭한다. 항체의 각 중쇄 및 경쇄상에는 3개의 CDR이 존재한다. 상기 CDR을 구성하는 가변 영역내의 아미노산 잔기들을 당해 분야에 공지된 방법, 예를 들어 비제한적으로 카밧(Kabat)(문헌[Kabat et al., 1992, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th ed., Public Health Service, NIH, Washington D.C.]), 코티아(Chothia)(문헌[Chothia et al., 1989, Nature 342:877-883]), 상기 카밧과 코티아 모두의 축적, AbM 정의(이는 카밧과 코티아 사이의 절충이며, 옥스포드 몰레큘라(Oxford Molecular)의 AbM 항체 모델링 소프트웨어(현재 액셀리스(Accelrys(등록상표)))를 사용하여 유도됨), 접촉 정의(문헌[MacCallum et al., 1996, J. Mol. Biol., 262:732-745]), 및/또는 형태적 정의(문헌[Makabe et al., 2008, Journal of Biological Chemistry, 283:1156-1166])를 사용하여 확인할 수 있다. 본 발명에 사용되는 바와 같이, CDR은 당해 분야에 공지된 임의의 접근법(접근법들의 조합을 포함하여)에 의해 정의된 CDR을 지칭한다. 본 발명에 사용되는 방법은 이들 접근법 중 임의의 접근법에 따라 정의된 CDR을 사용할 수 있다.

[0060] 본 발명에 사용되는 바와 같은 "Fc 영역"이란 용어는 면역글로불린 중쇄의 C-말단 영역을 지칭한다. "Fc 영역"은 고유 서열 Fc 영역 또는 변형 Fc 영역일 수 있다. 면역글로불린 중쇄의 Fc 영역의 경계들은 다양할 수 있지만, 인간 IgG 중쇄 Fc 영역은 대개 Cys226번 위치의 아미노산 잔기로부터, 또는 Pro230으로부터 그의 카복시-말단까지 뻗어있는 것으로 정의된다. 상기 Fc 영역 중의 상기 잔기들의 넘버링은 카밧(문헌[Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md., 1991])에서와 같은 EU 지수의 넘버링이다.

[0061] 본 발명에 사용되는 바와 같은 "단클론 항체" 및 "mAb"란 용어는 실질적으로 동종 항체의 집단으로부터 획득된 항체를 지칭한다, 즉 상기 집단을 차지하는 개별적인 항체들은, 소량으로 존재할 수도 있는 가능한 천연 돌연변이를 제외하고 동일하다. 단클론 항체는 고도로 특이적이며, 단일 항원 부위에 대한 것이다. 더욱 또한, 전형적으로 상이한 결정인자(에피토프)에 대한 상이한 항체들을 포함하는 다클론 항체 제제와 대조적으로, 각각의 단클론 항체는 항원상의 단일 결정인자에 대한 것이다. "단클론"이란 수식어구는 항체의 특성이 실질적으로 동

종의 항체 집단으로부터 획득됨을 가리키며, 이를 임의의 특정한 방법에 의한 상기 항체의 필수적인 생성으로서 해석해서는 안 된다. 예를 들어, 본 발명에 따라 사용되는 단클론 항체는 문헌[Kohler and Milstein, Nature 256:495, 1975]에 의해 처음으로 개시된 하이브리도마 방법에 의해 제조되거나, 또는 미국특허 제 4,816,567 호에 개시된 바와 같은 재조합 DNA 방법에 의해 제조될 수 있다. 상기 단클론 항체를 또한 예를 들어 문헌[McCafferty et al., Nature 348:552-554, 1990]에 개시된 기법을 사용하여 생성시킨 파지 라이브러리로부터 단리할 수도 있다.

[0062] 본 발명에 사용되는 바와 같은 "단리된 항체"란 용어는 상이한 항원 특이성을 갖는 다른 항체가 실질적으로 없는 항체를 지칭한다(예를 들어 CXCR4에 특이적으로 결합하는 단리된 항체는 CXCR4 이외의 항원에 특이적으로 결합하는 항체가 실질적으로 없다). 그러나, CXCR4에 특이적으로 결합하는 단리된 항체는 다른 항원, 예를 들어 다른 종으로부터의 CXCR4 분자에 대해 교차-반응성을 가질 수 있다. 더욱이, 단리된 항체는 다른 세포 물질 및/또는 화학물질이 실질적으로 없을 수도 있다.

[0063] 본 발명에 사용되는 바와 같은 "인간화된 항체" 및 "CDR-이식된 항체"란 용어는 비-인간 면역글로불린으로부터 유래한 최소 서열을 함유하는 키메릭 면역글로불린, 면역글로불린 쇄, 또는 그의 단편(예를 들어 Fv, Fab, Fab', $F(ab')_2$ 또는 항체의 다른 항원 결합 하위서열)인 비-인간(예를 들어 쥐) 항체의 형태들을 지칭한다. 바람직하게, 인간화된 항체는 수용체의 상보성 결정 영역(CDR)으로부터의 잔기가 목적하는 특이성, 친화성 및 능력을 갖는 비-인간 종(공여체 항체), 예를 들어 마우스, 래트 또는 토끼의 CDR로부터의 잔기에 의해 치환된 인간 면역글로불린(수용체 항체)이다.

[0064] 일부 예에서, 상기 인간 면역글로불린의 Fv 프레임워크 영역(FR)은 상응하는 비-인간 잔기에 의해 치환된다. 더욱 또한, 상기 인간화된 항체는, 수용체 항체에서도 또는 수입된 CDR 또는 프레임워크 서열에서도 발견되지 않지만 항체 성능을 추가로 구별짓고 최적화하기 위해서 포함되는 잔기를 포함할 수 있다. 일반적으로, 상기 인간화된 항체는 적어도 하나, 및 전형적으로는 2개의 가변 도메인을 실질적으로 전부 포함할 것이며, 여기에서 상기 CDR 영역의 전부 또는 실질적으로 전부는 비-인간 면역글로불린의 영역들에 상응하고 상기 FR 영역의 전부 또는 실질적으로 전부는 인간 면역글로불린 공통 서열의 영역들이다. 상기 인간화된 항체는 최적으로는 면역글로불린 불변 영역 또는 도메인(Fc)의 적어도 일부, 전형적으로는 인간 면역글로불린의 영역을 또한 포함할 것이다. WO 99/58572에 개시된 바와 같이 변형된 Fc 영역을 갖는 항체가 바람직하다. 인간화된 항체의 다른 형태들은 원래 항체에 대해 변경된 하나 이상의 CDR(CDR L1, CDR L2, CDR L3, CDR H1, CDR H2, 또는 CDR H3)(이들을 또한 원래 항체로부터의 하나 이상의 CDR"로부터 유래된" 하나 이상의 CDR이라 칭한다)을 갖는다.

[0065] 인간화는 윈터(Winter)와 동료들(문헌[Jones et al. Nature 321:522-525 (1986)]; 문헌[Riechmann et al. Nature 332:323-327 (1988)]; 문헌[Verhoeyen et al. Science 239:1534-1536 (1988)])의 방법에 따라, 인간 항체의 상응하는 서열 대신 설치류 또는 돌연변이 설치류 CDR 또는 CDR 서열을 사용함으로써 필수적으로 수행될 수 있다. 또한 미국특허 제 5,225,539 호; 미국특허 제 5,585,089 호; 미국특허 제 5,693,761 호; 미국특허 제 5,693,762 호; 미국특허 제 5,859,205 호(이들은 본 발명에 참고로 인용된다)를 참조한다. 일부 예에서, 상기 인간 면역글로불린의 하나 이상의 가변 영역의 프레임워크 영역내의 잔기들을 상응하는 비-인간 잔기로 치환시킨다(예를 들어 미국특허 제 5,585,089 호; 미국특허 제 5,693,761 호; 미국특허 제 5,693,762 호; 및 미국특허 제 6,180,370 호를 참조). 더욱 또한, 인간화된 항체는 수용체 항체 또는 공여체 항체 중에서 발견되지 않는 잔기들을 포함할 수 있다. 이러한 변형은 항체 성능을 추가로 구별 짓기 위해서(예를 들어 목적하는 친화성을 획득하기 위해서) 수행된다. 일반적으로, 상기 인간화된 항체는 적어도 하나, 및 전형적으로는 2개의 가변 도메인을 실질적으로 전부 포함할 것이며, 여기에서 상기 고가변 영역의 전부 또는 실질적으로 전부는 비-인간 면역글로불린의 영역들에 상응하고 상기 프레임워크 영역의 전부 또는 실질적으로 전부는 인간 면역글로불린 서열의 영역들이다. 상기 인간화된 항체는 임의로 면역글로불린 불변 영역(Fc)의 적어도 일부, 전형적으로는 인간 면역글로불린의 영역을 또한 포함할 것이다. 더욱 상세한 내용에 대해서, 문헌[Jones et al. Nature 331:522-525 (1986)]; 문헌[Riechmann et al. Nature 332:323-329 (1988)]; 및 문헌[Presta Curr. Op. Struct. Biol. 2:593-596 (1992)](이들은 본 발명에 참고로 인용된다)을 참조한다. 상응하게, 상기와 같은 "인간화된" 항체는 완전한 인간 가변 도메인보다 실질적으로 적게, 비-인간 종으로부터의 상응하는 서열에 의해 치환된 항체를 포함할 수 있다. 실제로, 인간화된 항체는 전형적으로 일부 CDR 잔기 및 가능하게는 일부 프레임워크 잔기가 설치류 항체 중의 유사한 부위로부터의 잔기에 의해 치환된 인간 항체이다. 예를 들어 미국특허 제 5,225,539 호; 미국특허 제 5,585,089 호; 미국특허 제 5,693,761 호; 미국특허 제 5,693,762 호; 미국특허 제 5,859,205 호를 참조한다. 또한 미국특허 제 6,180,370 호 및 국제 공보 WO 01/27160(인간화된 항체, 및 소정의 항원에 대해 개선된 친화성을 갖는 인간화된 항체의 생성을 위한 기법이 개시되어 있다)을 참조한다.

[0066] 본 발명에 사용되는 바와 같은 "인간 항체"란 용어는 인간에 의해 생산되고/되거나 당해 분야의 숙련가들에게 공지되거나 또는 본 발명에 개시된 인간 항체의 제조 기법들 중 임의의 기법을 사용하여 제조된 항체의 아미노산 서열에 상응하는 아미노산 서열을 갖는 항체를 지칭한다. 상기 인간 항체의 정의는 적어도 하나의 인간 중쇄 폴리펩타이드 또는 적어도 하나의 인간 경쇄 폴리펩타이드를 포함하는 항체를 포함한다. 하나의 상기와 같은 예는 쥐 경쇄 및 인간 중쇄 폴리펩타이드를 포함하는 항체이다. 인간 항체를 당해 분야에 공지된 다양한 기법들을 사용하여 생성시킬 수 있다. 하나의 실시태양에서, 상기 인간 항체는 파지 라이브러리로부터 선택되며, 이때 상기 파지 라이브러리는 인간 항체를 발현한다(문헌[Vaughan et al., Nature Biotechnology, 14:309-314, (1996)]; 문헌[Sheets et al., Proc. Natl. Acad. Sci. (USA) 95:6157-6162, (1998)]; 문헌[Hoogenboom and Winter, J. Mol. Biol., 227:381, (1991)]; 문헌[Marks et al., J. Mol. Biol., 222:581, (1991)]). 인간 항체를 또한, 인간 면역글로불린 유전자좌가 내인성 유전자좌 대신에 트랜스제닉하게 도입된 동물, 예를 들어 내인성 면역글로불린 유전자가 부분적으로 또는 완전하게 불활성화된 마우스의 면역화에 의해 제조할 수 있다. 상기 접근법은 미국특허 제 5,545,807 호; 미국특허 제 5,545,806 호; 미국특허 제 5,569,825 호; 미국특허 제 5,625,126 호; 미국특허 제 5,633,425 호; 및 미국특허 제 5,661,016 호에 개시되어 있다. 한편으로, 상기 인간 항체를 표적 항원에 대한 항체를 생산하는 인간 B 림프구를 불멸화시킴으로써 제조할 수도 있다(상기와 같은 B 림프구를 개인으로부터 또는 cDNA의 단세포 클로닝으로부터 회수하거나, 또는 시험관내에서 면역화시킬 수도 있다). 예를 들어 문헌[Cole et al. Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, Alan R. Liss, p. 77, (1985)]; 문헌[Boerner et al., J. Immunol., 147 (1):86-95, (1991)]; 및 미국특허 제 5,750,373 호를 참조한다.

[0067] 본 발명에 사용되는 바와 같은 "키메릭 항체"란 용어는 가변 영역 서열이 하나의 종으로부터 유래하고 불변 영역 서열이 또 다른 종으로부터 유래하는 항체, 예를 들어 상기 가변 영역 서열이 마우스 항체로부터 유래하고 상기 불변 영역 서열이 인간 항체로부터 유래하는 항체를 지칭한다. 수의학적 용도의 경우, 상기 키메릭 항체의 불변 도메인은 다른 종, 예를 들어 고양이 또는 개의 도메인으로부터 유래할 수 있다.

[0068] 본 발명에 사용되는 바와 같은 "개화된 항체" 및 "고양이화된 항체"란 용어는 각각 개 및 고양이에서 치료제로서 유용한 키메릭 항체를 지칭한다. 상기 두 경우 모두, 이종 종의 공여체 항체로부터의 항원 결합 도메인을 동일한 종의 수용체 항체의 비-항원 결합 도메인과 병용한다.

[0069] 표적(예를 들어 CXCR4 단백질)에의 항체의 결합과 관련하여 사용될 때 본 발명에 사용되는 바와 같은 "우선적으로 결합하는" 또는 "특이적으로 결합하는"이란 용어는 당해 분야에서 충분히 이해된 용어이다. 상기와 같은 특이적 또는 우선적 결합을 측정하는 방법도 또한 당해 분야에 충분히 공지되어 있다. 하나의 분자는 상기 분자가 또 다른 세포나 물질보다 더 빈번히, 더 신속하게, 더 큰 지속기간 및/또는 더 큰 친화성으로 특정한 세포 또는 물질과 반응하거나 회합하는 경우 "특이적인 결합" 또는 "우선적인 결합"을 나타낸다고 한다. 항체는 상기 항체가 다른 물질보다 더 큰 친화성, 결합활성으로, 더 쉽고/쉽거나 더 큰 지속기간으로 표적에 결합하는 경우 상기 표적에 "특이적으로 결합하거나" 또는 "우선적으로 결합한다". 예를 들어, CXCR4 에피토프에 특이적으로 또는 우선적으로 결합하는 항체는 상기 에피토프와, 다른 CXCR4 에피토프 또는 비-CXCR4 에피토프와 결합하는 것보다 더 큰 친화성, 결합활성으로, 더 쉽고/쉽거나 더 큰 지속기간으로 결합하는 항체이다.

[0070] 본 발명에 사용되는 바와 같은 "결합 친화성" 및 "K_D"란 용어는 특정한 항원-항체 상호작용의 평형 해리 상수를 지칭한다. 상기 K_D는 결합속도, 또는 "결합률" 또는 "k_a"에 대한 해리속도(또한 "해리율" 또는 "k_d"라 칭한다)의 비이다. 따라서, K_D는 k_d/k_a와 같으며, 몰 농도(M)로서 나타낸다. 상기 상수는 K_D가 작을수록, 결합 친화성이 강해짐을 따른다. 따라서, 1 μM의 K_D는 1 nM의 K_D에 비해 약한 결합 친화성을 가리킨다. 항체에 대한 K_D 값을 당해 분야에 충분히 확립된 방법들을 사용하여 측정할 수 있다. 항체의 K_D를 측정하는 한 가지 방법은 표면 플라스몬 공명을 사용함으로써, 전형적으로 비아코어(BIACORE: 등록상표) 시스템과 같은 바이오센서 시스템을 사용함으로써 수행된다.

[0071] 항체에 관하여 본 발명에 사용되는 바와 같은 "경쟁하다"란 용어는 제1 항체가, 상기 제1 항체와 그의 동족 에피토프와의 결합 결과가 제2 항체의 부재하에서의 상기 제1 항체의 결합에 비해 상기 제2 항체의 존재하에서 검출 가능하게 감소하도록 상기 제2 항체의 결합과 충분히 유사한 방식으로 상기 에피토프와 결합함을 의미한다. 본 발명의 항체와의 에피토프 결합에 대해 경쟁하는 항체는 본 발명에 의해 포함된다. 숙련가는 본 발명에 제공된 교시를 바탕으로, 상기와 같은 경쟁 항체가 본 발명에 개시된 방법들에 유용할 수 있음을 알 것이다.

[0072] 본 발명에 사용되는 바와 같은 "약물"이란 용어는 생물학적 또는 검출 가능한 활성을 갖는 임의의 물질을 지칭

한다. 약물이란 용어는 세포독성제, 치료제, 면역조절제, 검출 가능한 표지, 이미지화제, 결합제, 전구약물(생체내에서 활성제로 대사된다), 성장 인자, 호르몬, 사이토카인, 항-호르몬, 잔틴, 인터류킨, 인터페론, 및 세포독성 약물을 포함함을 의미한다. 약물은 소분자, 폴리펩타이드, 올리고뉴클레오타이드 또는 생물중합체일 수 있다. 약물을 연결기를 통해 본 발명의 항체에 접합시켜 항체-약물 접합체를 형성시킬 수 있다.

[0073] 본 발명에 사용되는 바와 같은 "효과기 기능"이란 용어는 항체의 Fc 영역에 기여하는 생물 활성을 지칭한다. 항체 효과기 기능의 예는 비제한적으로 항체-의존성 세포-매개된 세포독성(ADCC), Fc 수용체 결합, 보체 의존성 세포독성(CDC), 식작용, C1q 결합, 및 세포 표면 수용체(예를 들어 B 세포 수용체; BCR)의 하향 조절을 포함한다. 예를 들어 미국특허 제 6,737,056 호를 참조한다. 상기와 같은 효과기 기능은 일반적으로 결합 도메인(예를 들어 항체 가변 도메인)과 결합되는 Fc 영역을 필요로 하며 상기 기능을 상기와 같은 항체 효과기 기능의 평가에 대해 당해 분야에 공지된 다양한 분석들을 사용하여 평가할 수 있다. 효과기 기능의 예시적인 측정은 Fcγ3 및/또는 C1q 결합을 통해서이다.

[0074] 본 발명에 사용되는 바와 같은 "에피토프"란 용어는 면역글로불린 또는 T-세포 수용체에 결합하거나 또는 달리 하나의 분자와 상호작용할 수 있는 임의의 단백질 결정인자를 포함한다. 에피토프 결정인자는 일반적으로 아미노산 또는 탄수화물 또는 당 측쇄와 같은 분자들의 화학적으로 활성인 표면 기들로 이루어지며 일반적으로는 특이적인 3차원 구조적 특징뿐만 아니라 특이적인 전하 특징을 갖는다. 에피토프는 "선형"이거나 또는 "입체구조적"일 수 있다. 선형 에피토프에서, 단백질과 상호작용 분자간의 상호작용 점들은 모두 상기 단백질의 1차 아미노산 서열을 따라 선형으로 존재한다. 입체구조적 에피토프에서, 상기 상호작용 점들은 서로 분리된 상기 단백질상의 아미노산 잔기들 전체에 걸쳐 존재한다. 일단 항원상의 목적하는 에피토프가 결정되면, 예를 들어 본 발명에 개시된 기법들을 사용하여 상기 에피토프에 대한 항체를 생성시킬 수 있다. 한편으로, 상기 발견 과정 동안, 항체의 생성 및 특성화는 바람직한 에피토프에 대한 정보를 설명할 수 있다. 상기 정보로부터, 동일한 에피토프에의 결합에 대해 항체를 경쟁적으로 선별할 수 있다. 이를 성취하기 위한 접근법은 서로 경쟁적으로 결합하는 항체, 즉 상기 에피토프에의 결합에 대해 경쟁하는 항체를 발견하는 경쟁 연구를 수행하는 것이다. 경쟁을 근거로 항체를 '버리는(binning)' 대량 신속처리 과정이 국제 특허출원 WO 03/48731에 개시되어 있다. 본 발명에 개시된 바와 같이, '버리는'이란 용어는 항체들을 그들의 항원 결합 특성을 근거로 분류하는 방법을 지칭한다.

[0075] 본 발명에 사용되는 바와 같은 "폴리뉴클레오타이드", "핵산/뉴클레오타이드" 및 "올리고뉴클레오타이드"란 용어는 DNA 또는 RNA 폴리머라제에 의해 쇄에 통합시킬 수 있는 임의의 길이의 뉴클레오타이드의 중합체 형태, 데옥시리보뉴클레오타이드 또는 리보뉴클레오타이드, 그의 유사체 또는 임의의 기질을 지칭한다. 폴리뉴클레오타이드는 임의의 3차원 구조를 가질 수 있으며, 임의의 공지되거나 공지되지 않은 기능을 수행할 수 있다. 하기는 폴리뉴클레오타이드의 비제한적인 예이다: 유전자 또는 유전자 단편, 엑손, 인트론, 전령 RNA(mRNA), 전이 RNA, 리보솜 RNA, 리보자임, DNA, cDNA, 게놈 DNA, 재조합 폴리뉴클레오타이드, 분지된 폴리뉴클레오타이드, 플라스미드, 벡터, 임의의 서열의 단리된 DNA, 임의의 서열의 단리된 RNA, 핵산 탐침, 및 프라이머. 폴리뉴클레오타이드는 천연, 합성, 재조합 또는 이들의 임의의 조합일 수 있다. 폴리뉴클레오타이드는 변형된 뉴클레오타이드, 예를 들어 메틸화된 뉴클레오타이드 및 그의 유사체를 포함할 수 있다. 존재하는 경우, 상기 뉴클레오타이드 구조에 대한 변형을 상기 쇄의 조립 전 또는 후에 제공할 수 있다. 상기 뉴클레오타이드의 서열은 비-뉴클레오타이드 성분에 의해 중단될 수도 있다. 폴리뉴클레오타이드를 중합 후에, 예를 들어 표지 성분과의 접합에 의해 추가로 변형시킬 수도 있다. 다른 유형의 변형은 예를 들어 "캡", 천연 뉴클레오타이드 중 하나 이상의 유사체에 의한 치환, 뉴클레오타이드간 변형, 예를 들어 하전되지 않은 결합(예를 들어 메틸 포스포네이트, 포스포트라이에스터, 포스포아미데이트, 카바메이트 등) 및 하전된 결합(예를 들어 포스포로티오에이트, 포스포로다이티오에이트 등)을 갖는 것들, 펜던트 부분, 예를 들어 단백질(예를 들어 뉴클레아제, 독소, 항체, 신호 펩타이드, 폴리-L-리신 등)을 함유하는 것들, 삽입제(예를 들어 아크리딘, 소랄렌 등)를 갖는 것들, 킬레이터(예를 들어 금속, 방사성 금속, 붕소, 산화성 금속 등)를 함유하는 것들, 알킬화제를 함유하는 것들, 변형된 결합(예를 들어 알파 아노머 핵산 등)을 갖는 것들 뿐만 아니라 상기 폴리뉴클레오타이드(들)의 변형되지 않은 형태들을 포함한다. 더욱이, 당 중에 통상적으로 존재하는 하이드록실기 중 임의의 기가, 예를 들어 포스포네이트기, 포스페이트기에 의해 치환되거나, 표준 보호기에 의해 보호되거나, 또는 활성화되어 추가적인 뉴클레오타이드에 대한 추가적인 결합을 제조하거나, 또는 고체 지지체에 접합될 수 있다. 5' 및 3' 말단 OH를 인산화시키거나 또는 아민 또는 탄소수 1 내지 20의 유기 캡핑기 부분으로 치환시킬 수 있다. 다른 하이드록실을 또한 표준 보호기로 유도체화할 수 있다. 폴리뉴클레오타이드는 또한 당해 분야에 일반적으로 공지된 리보스 또는 데옥시리보스 당의 유사한 형태들, 예를 들어 2'-O-메틸-, 2'-O-알릴, 2'-플루오로- 또는 2'-아지도-리보스, 카보사이클릭 당 유사체, 알파- 또는 베타-아노머 당, 에피머 당, 예를 들어 아라비노스, 자일로스 또는 릭소스,

피라노스 당, 퓨라노스 당, 세도헵툴로스, 비환상 유사체 및 비염기성 뉴클레오사이드 유사체, 예를 들어 메틸리보사이드를 함유할 수 있다. 하나 이상의 포스포다이에스터 결합을 대체 결합기에 의해 치환시킬 수 있다. 상기 대체 결합기는 비제한적으로, 포스페이트가 P(O)S("티오에이트"), P(S)S("다이티오에이트"), (O)NR_2("아미데이트"), P(O)R, P(O)OR', CO 또는 CH_2("폼아세탈")(여기에서 각각의 R 또는 R'는 독립적으로 H, 또는 에테르(-O-) 결합, 아릴, 알케닐, 사이클로알킬, 사이클로알케닐 또는 아르알딜을 임의로 함유하는 치환되거나 비치환된 알킬(1-20 C)이다)에 의해 치환되는 실시태양들을 포함한다. 폴리뉴클레오타이드 중의 모든 결합이 일치할 필요는 없다. 선행 설명을 RNA 및 DNA를 포함하여, 본 발명에서 언급된 모든 폴리뉴클레오타이드에 적용한다.

[0076] 본 발명에 사용되는 바와 같은 "폴리펩타이드", "올리고펩타이드", "펩타이드" 및 "단백질"이란 용어는 임의의 길이, 바람직하게는 비교적 짧은(예를 들어 10 내지 100 아미노산) 아미노산의 쇄를 지칭한다. 상기 쇄는 선형이거나 분지될 수 있으며, 변형된 아미노산을 포함할 수 있고/있거나, 비-아미노산에 의해 중단될 수 있다. 상기 용어는 또한 자연적으로 또는 중재에 의해, 예를 들어 다이설파이드 결합 형성, 글리코실화, 지질화, 아세틸화, 인산화, 또는 임의의 다른 조작 또는 변형, 예를 들어 표지 성분과의 접합에 의해 변형된 아미노산 쇄를 포함한다. 또한, 예를 들어 아미노산의 하나 이상의 유사체(예를 들어 비천연 아미노산 등)뿐만 아니라 당해 분야에 공지된 다른 변형을 함유하는 폴리펩타이드가 상기 정의내에 포함된다. 상기 폴리펩타이드가 단일 쇄로서 또는 회합된 쇄로서 존재할 수 있는 것으로 생각된다.

[0077] 아미노산을 본 발명에서 그의 통상적으로 공지된 3문자 기호에 의해 또는 IUPAC-IUB 생화학에 의해 권장되는 1-문자 기호에 의해 지칭할 수 있다.

[0078] 본 발명에 사용되는 바와 같은 "아미노산" 및 "천연 아미노산"이란 용어는 아르기닌, 글루타민, 페닐알라닌, 타이로신, 트립토판, 리신, 글리신, 알라닌, 히스티딘, 세린, 프롤린, 글루탐산, 아스파트산, 쓰레오닌, 시스테인, 메티오닌, 류신, 아스파라진, 아이소류신 및 발린을 지칭한다.

[0079] 본 발명에 사용되는 바와 같은 "아미노산 유도체"란 용어는 모 아미노산의 공유 결합에 의해, 예를 들어 알킬화, 글리코실화, 아세틸화, 인산화 등에 의해 치환 또는 변형을 갖는 아미노산을 지칭한다. 더욱이, 예를 들어 치환된 결합뿐만 아니라 당해 분야에 공지된 다른 변형을 갖는 아미노산의 하나 이상의 유사체가 상기 "유도체"의 정의내에 포함된다.

[0080] 본 발명에 사용되는 바와 같은 "벡터"란 용어는 숙주 세포에서 하나 이상의 관심 유전자 또는 서열을 전달하고, 바람직하게는 발현시킬 수 있는 구조물을 지칭한다. 벡터의 예는 비제한적으로 바이러스 벡터, 네이키드 DNA 또는 RNA 발현 벡터, 플라스미드, 코스미드 또는 파지 벡터, 양이온성 축합제와 회합된 DNA 또는 RNA 발현 벡터, 리포솜 중에 캡슐화된 DNA 또는 RNA 발현 벡터, 및 몇몇 진핵생물 세포, 예를 들어 생산자 세포를 포함한다.

[0081] 본 발명에 사용되는 바와 같은 "서열 일치성%"란 용어는 2개 서열간의 유사성의 정도를 지칭한다. 핵산 서열과 관련하여, 상기 용어는 최대의 상응성으로 정렬될 때 동일한 2개 서열 중의 잔기를 의미한다. 서열 일치성 비교의 길이는 적어도 약 9 뉴클레오타이드, 대개는 적어도 약 18 뉴클레오타이드, 보다 대개는 적어도 약 24 뉴클레오타이드, 전형적으로 적어도 약 28 뉴클레오타이드, 보다 전형적으로 적어도 약 32 뉴클레오타이드, 및 바람직하게는 적어도 약 36, 48 이상 뉴클레오타이드의 범위에 걸쳐 있을 수 있다. 뉴클레오타이드 서열 일치성의 측정에 사용될 수 있는, 당해 분야에 공지된 다수의 상이한 연산이 존재한다. 예를 들어, 폴리뉴클레오타이드 서열을 FASTA, Gap 또는 Bestfit(이들은 미국 위스콘신주 매디슨 소재 제네틱스 컴퓨터 그룹(Genetics Computer Group)(GCG)의 위스콘신 패키지 버전 10.0의 프로그램들이다)을 사용하여 비교할 수 있다. FASTA(예를 들어 프로그램 FASTA2 및 FASTA3를 포함한다)는 조회 서열과 검색 서열간의 최상의 중복 영역의 정렬 및 서열 일치성%를 제공한다(문헌[Pearson, Methods Enzymol. 183:63-98 (1990)]; 문헌[Pearson, Methods MoI. Biol. 132:185-219 (2000)]; 문헌[Pearson, Methods Enzymol. 266:227-258 (1996)]; 문헌[Pearson, J. MoI. Biol. 276:71-84 (1998)]; 본 발명에 참고로 인용된다). 달리 명시되지 않는 한, 특정 프로그램 또는 연산에 대한 디폴트 매개변수들이 사용된다. 예를 들어, 핵산 서열들간의 서열 일치성%를 디폴트 매개변수(6의 단어 크기 및 채점 행렬을 위한 NOPAM 인자)와 함께 FAST를 사용하거나 또는 GCG 버전 6.1(본 발명에 참고로 인용된다)에 제공된 바와 같은 디폴트 매개변수와 함께 Gap를 사용하여 측정할 수 있다.

[0082] 뉴클레오타이드 서열에 대한 언급은 달리 명시되지 않는 한 그의 보체를 포함한다. 따라서, 특정한 서열을 갖는 핵산에 대한 언급은 그의 상보성 서열과 함께 그의 상보성 가닥을 포함하는 것으로 이해해야 한다.

[0083] 아미노산 서열과 관련하여, 상기 용어는 2개의 아미노산 서열이, 예를 들어 프로그램 GAP 또는 BESTFIT에 의해

상기 프로그램과 함께 공급된 바와 같은 디폴드 갭 가중치를 사용하여 최적으로 정렬될 때, 적어도 70%, 75% 또는 80% 서열 일치성, 바람직하게는 적어도 90% 또는 95% 서열 일치성, 및 보다 바람직하게는 적어도 97%, 98% 또는 99% 서열 일치성을 공유함을 의미한다. 일부 실질적으로 유사한 아미노산 서열들에서, 일치하지 않는 잔기 위치들은 보존적 아미노산 치환에 의해 상이하다.

[0084] 실질적으로 유사한 폴리펩타이드는 또한 하나 이상의 잔기가 기능상 유사한 잔기로 보존적으로 치환된 보존적으로 치환된 변이체를 포함한다. 보존적 치환의 예는 또 다른 것에 대한 하나의 비-극성(소수성) 잔기, 예를 들어 아이소류신, 발린, 류신 또는 메티오닌의 치환; 또 다른 것에 대한 하나의 극성(친수성) 잔기의 치환, 예를 들어 아르기닌과 리신 간의, 글루타민과 아스파라진 간의, 글리신과 세린 간의 치환; 또 다른 것에 대한 하나의 염기성 잔기, 예를 들이 리신, 아르기닌 또는 히스티딘의 치환; 또는 또 다른 것에 대한 하나의 산성 잔기, 예를 들어 아스파트산 또는 글루탐산의 치환을 포함한다.

[0085] 2개의 단백질이 실질적으로 일치하는 추가의 표시는 상기 단백질들이 전체적인 3차원 구조를 공유하거나, 또는 생물학적 기능상 등가물이라는 것이다.

[0086] 본 발명에 사용되는 바와 같은 "세포독성 활성"이란 용어는 항체, ADC 또는 상기 ADC의 세포내 대사산물의 세포-살해, 세포발육정지 또는 증식 억제 효과를 지칭한다. 세포독성 활성을 IC_{50} 값(세포의 절반이 생존하는 단위 부피당 농도(몰 또는 질량)이다)으로서 나타낼 수 있다.

[0087] 본 발명에 사용되는 바와 같이 "접촉하는"이란 용어는 본 발명의 항체 또는 그의 항원 결합 부분 및 표적 CXCR4 또는 그의 에피토프를 함께 상기 항체가 상기 CXCR4의 생물 활성에 영향을 미칠 수 있는 방식으로 가져가는 것을 지칭한다. 상기와 같은 "접촉"을 "시험관내에서", 즉 시험관, 페트리 접시 등에서 수행할 수 있다. 시험관에서, 접촉은 단지 항체 또는 그의 항원 결합 부분 및 CXCR4 또는 그의 에피토프만을 수반하거나, 또는 전체 세포를 수반할 수 있다. 세포를 또한 세포 배양 접시에서 유지시키거나 증식시키고 상기 환경에서 항체 또는 그의 항원 결합 부분과 접촉시킬 수 있다. 이와 관련하여, CXCR4-관련된 질환에 영향을 미치는 특정 항체 또는 그의 항원 결합 부분의 능력, 즉 상기 항체의 IC_{50}을, 생체내에서 상기 항체를 보다 복잡한 살아있는 유기체와 함께 사용하려고 하기 전에 측정할 수 있다. 상기 유기체 밖의 세포의 경우, CXCR4를 상기 항체 또는 그의 항원 결합 단편과 접촉시키기 위한 다수의 방법이 존재하며, 이는 당해 분야의 숙련가들에게 충분히 공지되어 있다. 또 다른 실시태양에서, 효과기 기능에 의해 상당한 양의 효능이 발생한다. 항체-매개된 세포독성에 기여하는 것으로 나타난 면역 효과기 기능은 비제한적으로 항체-의존성 세포-매개된 세포독성(ADCC), 항체-의존성 세포-매개된 식작용(ADCP), 및 보체-의존성 세포독성(CDC)을 포함한다.

[0088] 본 발명에 사용되는 바와 같은 "아실 공여체 글루타민-함유 태그" 및 "글루타민 태그"란 용어는 트랜스글루타미나제 아민 수용체로서 작용하는 하나 이상의 Gln 잔기(들)를 함유하는 폴리펩타이드 또는 단백질을 지칭한다. 예를 들어 WO 2012059882를 참조한다.

[0089] 본 발명에 사용되는 바와 같은 "약학적으로 허용 가능한 담체" 및 "약학적으로 허용 가능한 부형제"란 용어는, 활성 성분과 병용시 상기 성분이 생물학적 활성을 유지하게 하고 대상체의 면역계와 비-반응성인 임의의 물질을 지칭한다. 예로는 생리학적으로 상용성인 모든 용매, 분산 매질, 코팅제, 항균 및 항진균제, 등장성 및 흡수 지연제 등이 있다. 표준 약학 담체는 비제한적으로 포스페이트 완충된 염수 용액, 물, 유화액, 예를 들어 오일/수 유화액 및 다양한 유형의 습윤제를 포함한다. 에어로졸 또는 비경구 투여에 바람직한 희석제는 포스페이트 완충된 염수(PBS) 또는 생리(0.9%) 식염수이다. 상기와 같은 담체를 포함하는 조성물은 충분히-공지된 통상적인 방법에 의해 제형화된다(예를 들어 문헌[Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th edition, A. Gennaro, ed., Mack Publishing Co., Easton, PA, 1990]; 및 문헌[Remington, The Science and Practice of Pharmacy 21st Ed. Mack Publishing, 2005]을 참조). 바람직하게, 상기 담체는 정맥내, 근육내, 피하, 비경구, 척수 또는 표피 투여(예를 들어 주사 또는 주입에 의해)에 적합하다. 투여 경로에 따라, 상기 활성 화합물(예를 들어 단클론 항체, 그의 항원 결합 단편, 항체-약물 접합체)을, 상기 화합물을 불활성화시킬 수도 있는 산 및 다른 자연 조건의 작용으로부터 상기 화합물을 보호하는 물질로 코팅할 수도 있다.

[0090] 본 발명은 또한 본 발명의 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20 또는 그 이상의 항체(항체 단편 또는 그의 변이체를 포함하거나, 또는 달리 이들로 이루어지는 분자를 포함하여)를 포함하거나 또는 달리 상기 항체들로 이루어지는 조성물을 제공한다. 본 발명의 조성물은 하나 이상의 항체 또는 그의 단편 또는 변이체의 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20 또는 그 이상의 아미노산 서열을 포함하거나, 또는 달리 상기 서열들로 이루어질 수 있다. 한편으로, 본 발명의 조성물은 본 발명의 하나 이상의 항체를 암호화하는 핵산 분자를 포함하거나 또는 달리 상기 분자들

로 이루어질 수 있다.

[0091] "CXCR4 관련된 질환"이란 용어는 상기 병리학이 적어도 부분적으로, CXCR4의 증가되거나 또는 부적합한 발현 또는 CXCR4의 부적합한 기능에 기인한 임의의 상태이다. 상기와 같은 질환의 예는 비제한적으로 정상에 비해 증가된 CXCR4의 발현과 관련된 암, 염증 및 면역 질환, 알러지성 질환, 감염(HIV 감염 등), 자가면역 질환(예를 들어 류마티스성 관절염), 섬유증 질환(예를 들어 폐), 및 심혈관 질환을 포함한다.

[0092] "암"이란 용어는 전형적으로, 조절되지 않는 세포 성장을 특징으로 하는 포유동물의 생리학적 상태 또는 질환을 지칭한다. 혈액암은 혈액의 암, 예를 들어 비제한적으로 특히 백혈병, 림프종 및 골수종을 지칭한다. 고형암은 혈액 이외의 체조직의 암, 예를 들어 비제한적으로 방광암, 유방암, 경부암, 융모막암종, 결장암, 식도암, 위암, 교모세포종, 두경부암, 신장암, 폐암, 구강암, 난소암, 췌장암, 전립선암, 피부암, 간암 및 간암종 등을 지칭한다.

[0093] 본 발명에 사용되는 바와 같은 "환자"란 용어는 CXCR4 관련된 질환을 앓고 있는 피실험자를 지칭한다. 환자는 비제한적으로 인간, 비-인간 영장류(예를 들어 원숭이), 래트, 마우스, 기니 피그, 돼지, 염소, 소, 말, 개, 고양이, 새 및 가금류를 포함할 수 있다. 바람직한 실시태양에서, 본 발명의 항체 또는 항체-약물 접합체가 투여되는 환자는 인간이다.

[0094] 본 발명에 사용되는 바와 같은 "유효량" 또는 "유효 용량"이란 용어는 하나 이상의 이로운 또는 목적하는 치료 결과를 성취하기 위해 필요한 약물, 화합물 또는 약학 조성물의 양을 지칭한다. 예방학적 용도의 경우, 이롭거나 목적하는 결과는 질환의 생화학적, 조직학적 및/또는 행동 증상, 상기 질환의 발생 동안 나타나는 그의 합병증 및 중간의 병적인 표현형을 포함하여, 상기 질환의 위험성을 제거 또는 감소시키거나, 상기 질환의 중증도를 줄이거나, 또는 상기 질환의 개시를 지연시킴을 포함한다. 치료학적 용도의 경우, 이롭거나 또는 목적하는 결과는 질환의 발병률의 감소 또는 상기 질환의 하나 이상의 증상의 개선, 상기 질환의 치료에 필요한 다른 투약 용량을 감소시키는 능력, 상기 질환의 치료에 사용되는 또 다른 투약 효과의 증대 및/또는 상기 질환의 진행의 지연과 같은 임상 결과들을 포함한다.

[0095] 본 발명의 목적을 위해서, 이롭거나 목적하는 임상 결과는 비제한적으로 하기 중 하나 이상을 포함한다: CXCR4 관련된 질환에서 종양 또는 암성 세포의 증식의 감소(또는 상기 종양 또는 세포의 파괴), CXCR4 관련된 질환에서 종양 세포의 전이의 감소 또는 억제, CXCR4 발현 종양의 크기의 수축 또는 감소, CXCR4 관련된 질환의 완화, CXCR4 관련된 질환에 걸린 개인의 기대 수명 증가, CXCR4 관련된 질환으로부터 생성되는 증상의 감소, CXCR4 관련된 질환을 앓고 있는 사람들의 삶의 질의 증가, 유해한 효과 없이 CXCR4 관련된 질환의 치료에 필요한 다른 투약 용량을 감소시키는 능력, CXCR4 관련된 질환의 진행의 지연, CXCR4 관련된 질환의 치유 및/또는 CXCR4 관련된 질환이 있는 인간의 생존의 연장.

[0096] 본 발명에서 달리 정의되지 않는 한, 본 발명과 관련하여 사용되는 과학기술 용어들은 당해 분야의 통상적인 숙련가들에 의해 통상적으로 이해되는 의미를 가질 것이다. 예를 들어, "포함하다", "포함하는", "함유하는" 및 "갖는" 등의 용어들은 미국 특허법에서 상기 용어들에 주어진 의미를 가질 수 있으며 "내포하다", "내포하는" 등을 의미할 수 있고; "로 필수적으로 이루어지는" 또는 "필수적으로 이루어지다"는 마찬가지로 미국 특허법에서 주어진 의미를 가지며 상기 용어는 개방형 용어로, 인용되는 상기 용어의 기본적인 또는 신규의 특징이 상기 용어가 인용하는 것 이상의 존재에 의해 변하지 않고 선행 기술 실시태양을 제외하지 않는 한, 상기 용어가 인용하는 것 이상의 존재를 허용한다.

[0097] 더욱이, 문맥상 달리 요구되지 않는 한, 단수의 용어는 복수를 포함할 것이며 복수의 용어는 단수를 포함할 것이다.

[0098] 본 발명에서 "약" 값 또는 매개변수에 대한 언급은 상기 값 또는 매개변수 자체에 대한 실시태양을 포함한다(및 개시한다). 예를 들어 "약 X"에 대한 묘사는 "X"의 묘사를 포함한다. 숫자 범위는 상기 범위를 한정하는 숫자들을 포함한다. 본 발명의 태양 또는 실시태양을 마쿠시 그룹 또는 다른 대체 그룹에 의해 개시하는 경우, 본 발명은 나열된 전체 그룹 전체, 개별적으로 상기 그룹의 각 구성원 및 주 그룹의 모든 가능한 하위그룹뿐만 아니라, 상기 그룹 구성원들 중 하나 이상이 없는 상기 주 그룹을 포함한다. 본 발명은 또한 청구된 발명에서 그룹 구성원들 중 하나 이상의 임의의 구성원의 분명한 제외를 고려한다.

[0099] 본 명세서 및 특허청구범위 전체에 걸쳐, "포함하다"란 단어 또는 "포함하는"과 같은 변형은 서술된 정수 또는 정수들의 군의 포함을 의미하지만, 임의의 다른 정수 또는 정수들의 군의 제외를 의미하는 것은 아님을 알 것이다. 문맥상 달리 요구되지 않는 한, 단수 용어는 복수를 포함할 것이며 복수 용어는 단수를 포함할 것이다.

[0100] 달리 정의되지 않는 한, 본 발명에 사용되는 모든 과학기술 용어들은 본 발명이 속하는 분야의 통상적인 숙련가에 의해 통상적으로 이해되는 바와 동일한 의미를 갖는다. 상충하는 경우에, 정의를 포함하여 본 명세서가 지배할 것이다. 예시적인 방법 및 물질을 본 발명에 개시하지만, 본 발명에 개시된 것들과 유사하거나 동등한 방법 및 물질도 또한 본 발명의 실시 또는 시험에 사용될 수 있다. 상기 물질, 방법 및 실시예는 단지 예시적일 뿐이며 제한을 의도하지 않는다.

[0101] 항-CXCR4 항체 및 그의 제조 방법

[0102] 본 발명은 인간 CXCR4에 결합하는 항-CXCR4 항체 또는 그의 항원 결합 단편을 제공한다. 명세서의 본 섹션에서, 본 명세의 예시적인 항-CXCR4 항체 또는 항원 결합 단편의 기능적 및 구조적 특징을 상세히 개시한다. 본 명세의 항체 또는 항원 결합 단편을 본 발명에 개시된 구조적 및/또는 기능적 특징 중 임의의 하나 이상(2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 등)을 근거로 개시할 수 있음은 물론이다. 본 명세의 이 부분 전체를 통해 기능적 또는 구조적 특징을 본 명세의 항체에 관하여 개시하는 경우, 문맥상 달리 명백히 지시하는 경우를 제외하고, 상기와 같은 구조적 또는 기능적 특징을 본 명세의 항원 결합 단편을 개시하는데 유사하게 사용할 수 있다.

[0103] 인간 CXCR4 cDNA의 뉴클레오타이드 서열 및 인간 CXCR4 단백질의 예견된 아미노산 서열을 각각 서열번호 104 및 105로서 나타낸다(표 1). 상기 인간 CXCR4 유전자(대략 1679 뉴클레오타이드 길이이다)는, 대략 38.7 kD의 분자량을 갖고 대략 352 아미노산 잔기 길이인 전장 단백질을 암호화한다. 상기 인간 CXCR4 핵산 및 폴리펩타이드 서열에 대한 추가의 설명을 각각 진뱅크 기탁 번호 NM_003467 및 NP_003458; 뿐만 아니라 문헌[Federsppiel, B. et al. Genomics 16(3):707-712 (1993)]; 문헌[Herzog, H. et al. DNA Cell Biol. 12(6):465-471 (1993)]; 문헌[Jazin, E. E. et al. Regul. Pept 47(3):247-258 (1993)]; 문헌[Nomura, H. et al. Int. Immunol. 5(10):1239-1249 (1993)]; 문헌[Loetscher, M. et al. J. Biol. Chem. 269(1):232-237 (1994)]; 문헌[Moriuchi, M. et al. J. Immunol. 159(9):4322-4329 (1997)]; 문헌[Caruz, A. et al. FEBS Lett. 426(2):271-278 (1998)]; 및 문헌[Wegner, S. A. et al. J. Biol. Chem. 273(8):4754-4760 (1998)]에서 찾을 수 있다.

[0104] [표 1]

진뱅크 기탁 번호	서열 번호	서열
NM_003467.2	104	AACTTCAGTTTGTTGGCTGCGGCAGCAGGTAGCAAAGTGACGCCGAGGGCCTGAGTGCTCCAGTAGCCAC CGCATCTGGAGAACCAGCGGTTACC**ATG**GAGGGGATCAGTATATACACTTCAGATAACTACACCGAGGAA ATGGGCTCAGGGGACTATGACTCCATGAAGGAACCCTGTTTCCGTGAAGAAAATGCTAATTTCAATAAAA TCTTCCTGCCCACCATCTACTCCATCATCTTCTTAACTGGCATTGTGGGCAATGGATTGGTCATCCTGGT CATGGGTTACCAGAAGAAACTGAGAAGCATGACGGACAAGT

[0105]

[0106]

		ACAGGCTGCACCTGTCAGTGGCCGACCTC CTCTTTGTCATCACGCTTCCCTTCTGGGCAGTTGATGCCGTG GCAAACTGGTACTTTGGGAACTTCCTAT GCAAGGCAGTCCATGTCATCTACACAGTCAACCTCTACAGC AGTGTCCTCATCCTGGCCTTCATCAGTCT GGACCGCTACCTGGCCATCGTCCACGCCACCAACAGTCAGA GGCCAAGGAAGCTGTTGGCTGAAAAGGTG GTCTATGTTGGCGTCTGGATCCCTGCCCTCCTGCTGACTATT CCCGACTTCATCTTTGCCAACGTCAGTG AGGCAGATGACAGATATATCTGTGACCGCTTCTACCCCAATG ACTTGTGGGTGGTTGTGTTCCAGTTTCA GCACATCATGGTTGGCCTTATCCTGCCTGGTATTGTCATCCT GTCCTGCTATTGCATTATCATCTCCAAG CTGTCACACTCCAAGGGCCACCAGAAGCGCAAGGCCCTCAA GACCACAGTCATCCTCATCCTGGCTTTCT TCGCCTGTTGGCTGCCTTACTACATTGGGATCAGCATCGACT CCTTCATCCTCCTGGAAATCATCAAGCA AGGGTGTGAGTTTGAGAACACTGTGCACAAGTGGATTTCCA TCACCGAGGCCCTAGCTTTCTTCCACTGT TGTCTGAACCCCATCCTCTATGCTTTCCTTGGAGCCAAATTT AAAACCTCTGCCCAGCACGCACTCACCT CTGTGAGCAGAGGGTCCAGCCTCAAGATCCTCTCCAAAGGA AAGCGAGGTGGACATTCATCTGTTTCCAC TGAGTCTGAGTCTTCAAGTTTTCACTCCAGCTAACACAGATG TAAAAGACTTTTTTTTATACGATAAATA ACTTTTTTTTAAGTTACACATTTTTCAGATATAAAAGACTGAC

		CAATATTGTACAGTTTTTATTGCTTGT TGGATTTTTGTCTTGTGTTTCTTTAGTTTTTGTGAAGTTTAATT GACTTATTTATATAAATTTTTTTTTGT TTCATATTGATGTGTGTCTAGGCAGGACCTGTGGCCAAGTTC TTAGTTGCTGTATGTCTCGTGGTAGGAC TGTAGAAAAGGGAACTGAACATTCCAGAGCGTGTAGTGAAT CACGTAAAGCTAGAAATGATCCCCAGCTG TTTATGCATAGATAATCTCTCCATTCCCGTGGAACGTTTTTCC TGTTCTTAAGACGTGATTTTGCTGTAG AAGATGGCACTTATAACCAAAGCCCAAAGTGGTATAGAAATG CTGGTTTTTCAGTTTTCAGGAGTGGGTT GATTTCAGCACCTACAGTGTACAGTCTTGTATTAAGTTGTTAA TAAAAGTACATGTTAAACTTAAAAAAA AAAAAAAAAAA
NP_ 003458	105	MEGISIYTSDNYTEEMGSGDYDSMKEPCFREENANFNKIFLPTI YSIIFLTGIVGNGLVILVMGYQKKLRSMTDKYRLHLSVADLLFVIT LPFWAVDAVANWYFGNFLCKAVHVIYTVNLYSSVLILAFISLDRY LAIVHATNSQRPRKLLAEKVVYVGVWIPALLLTIPDFIFANVSEA DDRYICDRFYPNDLWVVVFQFQHIMVGLILPGIVILSCYCIIISKLS HSKGHQKRKALKTTVILILAFFACWLPYYIGISIDSFILLEIIKQGC EFENTVHKWISITEALAFFHCCLNPILYAFLGAKFKTSAQHALTS VSRGSSLKILSKGKRGGHSSVSTESESSSFHSS

[0107]

[0108] 본 발명에 사용되는 바와 같은 인간 CXCR4 서열은, 예를 들어 보존된 돌연변이 또는 비-보존 영역 중의 돌연변이를 가짐으로써 서열번호 105의 인간 CXCR4와 상이할 수 있으며, 상기 CXCR4는 서열번호 105의 인간 CXCR4와 실질적으로 동일한 생물학적 기능을 갖는다. 예를 들어, 인간 CXCR4의 생물학적 기능은 본 명세의 항체에 의해 결합된 CXCR4의 세포외 도메인 중에 에피토프를 갖는 것이거나, 또는 인간 CXCR4의 생물학적 기능은 전이 과정에서 케모카인 결합 또는 연루이다.

[0109] 특정한 인간 CXCR4 서열은 일반적으로 서열번호 105의 인간 CXCR4에 대해서 아미노산 서열이 적어도 90% 일치할 것이며, 다른 종(예를 들어 쥐)의 CXCR4 아미노산 서열에 비해 상기 아미노산 서열이 인간임을 나타내는 아미노산 잔기를 함유할 것이다. 몇몇 경우에, 인간 CXCR4는 서열번호 105의 CXCR4에 대해서 아미노산 서열이 적어도 95%, 또는 심지어 적어도 96%, 97%, 98% 또는 99% 일치할 수 있다. 본 발명의 일부 태양에서, 인간 CXCR4 서열은 서열번호 105의 CXCR4와 10 아미노산 이하의 차이를 나타낼 것이다. 본 발명의 몇몇 태양에서, 상기 인간 CXCR4는 서열번호 105의 CXCR4와 5 이하, 또는 심지어 4, 3, 2, 또는 1 이하의 아미노산 차이를 나타낼 수 있다. 일치성%는 본 발명에 개시된 바와 같이 측정될 수 있다.

[0110] 본 발명의 항체, 그의 항원 결합 단편, 및 항체-약물 접합체는 하기의 특징들 중 임의의 하나 이상을 특징으로 한다: (a) CXCR4에 결합한다; (b) CXCR4의 단백질 발현을 감소시키거나 하향-조절한다; (c) 대상체에서 CXCR4 기능 또는 발현과 관련된 질환(예를 들어 암, 예를 들어 NHL, AML, MM, CLL, T-ALL, 위, 두경부, 폐, 난소 또는 췌장암)의 하나 이상의 증상을 치료, 예방, 개선시킨다; (d) 대상체(CXCR4 발현 종양을 갖는)에서 종양 성장 또는 진행을 감소 또는 억제시킨다; (e) 대상체(하나 이상의 CXCR4 발현 암세포를 갖는)에서 CXCR4 발현 암세포의

전이를 감소 또는 억제시킨다; (f) CXCR4 발현 종양의 퇴화(예를 들어 장기적인 퇴화)를 유도한다; (g) CXCR4 발현 세포에서 세포독성 활성을 발휘한다; (h) CXCR4 경로를 탈활성화 또는 하향-조절한다; 및 (i) CXCR4 세포외 결합짝과의 CXCR4 상호작용을 차단한다. 예를 들어, 본 발명의 항체, 그의 항원 결합 단편, 및 항체-약물 접합체는 SDF-I의 기능을 차단한다.

[0111] 본 발명에 유용한 항체는 단클론 항체, 다클론 항체, 항체 단편(예를 들어 Fab, Fab', F(ab')2, Fv, Fc 등), 키메릭 항체, 이중특이성 항체, 이종접합체 항체, 단쇄(ScFv), 그의 돌연변이체, 항체 부분(예를 들어 도메인 항체)을 포함하는 융합 단백질, 인간화된 항체, 및 필요한 특이성의 항원 인식 부위를 포함하는 면역글로불린 분자의 임의의 다른 변형된 형태, 예를 들어 항체의 글리코실화 변이체, 항체의 아미노산 서열 변이체, 및 공유적으로 변형된 항체를 포함할 수 있다. 상기 항체는 쥐, 래트, 인간, 또는 임의의 다른 기원일 수 있다(키메릭 또는 인간화된 항체 포함).

[0112] 본 발명의 일부 태양에서, 본 발명에 개시된 바와 같은 항-CXCR4 항체는 단클론 항체이다. 예를 들어, 상기 항-CXCR4 항체는 인간화된 단클론 항체 또는 키메릭 단클론 항체이다.

[0113] 본 발명의 일부 태양에서, 본 발명의 항체는 인간 이외의 종으로부터의 CXCR4, 예를 들어 마우스, 래트, 개, 고양이 또는 영장류의 CXCR4뿐만 아니라 CXCR4의 상이한 형태(예를 들어 글리코실화된 CXCR4)와 교차-반응한다. 본 발명의 일부 태양에서, 인간 CXCR4에 특이적인 항체는 인간 CXCR4에 전적으로 특이적일 수 있으며 종 또는 다른 유형의 교차-반응성을 나타내지 않을 수도 있다.

[0114] 본 발명의 일부 태양에서, 본 발명에 개시된 바와 같은 항-CXCR4 항체는 개화된 항체, 또는 고양이화된 항체이다. 개화되거나 고양이화된 본 발명에 따른 항체는 개 CXCR4 단백질 및 고양이 CXCR4 단백질 중 적어도 하나에 결합할 수 있다. 하나의 태양에서, 본 발명의 단클론 항체는 개 CXCR4 단백질 또는 고양이 CXCR4 단백질에 결합하며 기질 세포-유래된 인자-1(SDF-1)에의 그의 결합을 방지한다.

[0115] 본 발명의 일부 태양에서, 상기 항체는 변형된 불변 영역, 예를 들어 비제한적으로 면역 반응을 일으킬 증가된 잠재성을 갖는 불변 영역을 포함한다. 예를 들어, 상기 불변 영역을 Fc 감마 수용체, 예를 들어 FcγRI, FcγRIIA, 또는 FcγIII에 대해 증가된 친화성을 갖도록 변형시킬 수 있다.

[0116] 본 발명의 일부 태양에서, 상기 항체는 변형된 불변 영역, 예를 들어 인간 Fc 감마 수용체에 대해 증가된 친화성을 갖고, 면역학적으로 불활성인, 즉 면역 반응을 일으킬 증가된 잠재성을 갖는 불변 영역을 포함한다. 본 발명의 일부 태양에서, 상기 불변 영역은 문헌[Eur. J. Immunol., 29:2613-2624, 1999]; PCT 출원 제 PCT/GB99/01441 호; 및/또는 영국 특허 출원 제 98099518 호에 개시된 바와 같이 변형된다. 상기 Fc는 인간 IgG1, 인간 IgG2, 인간 IgG3, 또는 인간 IgG4일 수 있다. 상기 Fc는 A330P331에서 S330S331로의 돌연변이를 함유하는 인간 IgG2(IgG2Δa)일 수 있으며, 여기에서 아미노산 잔기는 야생형 IgG2 서열을 참조하여 넘버링된다(문헌[Eur. J. Immunol., 29:2613-2624, 1999]). 본 발명의 일부 태양에서, 상기 항체는 하기의 돌연변이를 포함하는 IgG_4의 불변 영역을 포함한다(문헌[Armour et al., Molecular Immunology 40 585-593, 2003]): E233F234L235에서 P233V234A235(IgG4Δc)로의 돌연변이(여기에서 넘버링은 야생형 IgG4를 참조한다). 본 발명의 더욱 다른 태양에서, 상기 Fc는 G236 결실을 갖는 E233F234L235에서 P233V234A235로의 인간 IgG4(IgG4Δb)이다. 본 발명의 또 다른 태양에서, 상기 Fc는 S228에서 P228로의 힌지 안정화 돌연변이를 함유하는 임의의 인간 IgG4 Fc(IgG4, IgG4Δb 또는 IgG4Δc)이다(문헌[Aalberse et al., Immunology 105, 9-19, 2002]). 본 발명의 특정한 태양에서, 상기 Fc는 아글리코실화된(aglycosylated) Fc일 수 있다.

[0117] 본 발명의 일부 태양에서, 상기 불변 영역을, 상기 올리고사카라이드 부착 잔기(예를 들어 Asn297)를 돌연변이시키고/시키거나 상기 불변 영역 중의 글리코실화 인식 서열의 부분인 잔기들을 인접시킴으로써 아글리코실화시킨다. 본 발명의 일부 태양에서, 상기 불변 영역을 N-연결된 글리코실화를 위해 효소적으로 아글리코실화시킨다. 상기 불변 영역을 N-연결된 글리코실화를 위해 효소적으로, 또는 글리코실화 결함 숙주 세포에서의 발현에 의해 아글리코실화시킬 수도 있다.

[0118] CXCR4에 대한 항체의 결합 친화성을 측정하는 한 가지 방식은 상기 항체의 단일기능성 Fab 단편의 결합 친화성을 측정함에 의한다. 단일기능성 Fab 단편을 획득하기 위해서, 항체(예를 들어 IgG)를 파파인으로 절단하거나 재조합적으로 발현시킬 수 있다. 항체의 CXCR4 Fab 단편의 친화성을 HBS-EP 실행 완충제(0.01M HEPES, pH 7.4, 0.15 NaCl, 3 mM EDTA, 0.005% v/v 계면활성제 P20)를 사용하여, 사전-고정화된 스트렙트아비딘 센서칩(SA) 또는 항-마우스 Fc 또는 항-인간 Fc가 구비된 표면 플라스몬 공명(비아코어(상표) 3000(상표) 표면 플라스몬 공명(SPR) 시스템)에 의해 측정할 수 있다. 비오틴화된 WGA를 상기 SA 칩상에 코팅하여 CXCR4 단백질을 함

유하는 지방입자 포착을 촉진할 수 있다. Fab의 일련의 희석물(10 또는 30 nM의 정상 농도를 갖는 5-원, 3X 희석 인자)을 저농도에서부터 고농도로 주입하여(각 농도에 대해서 3-분 처리 시간으로), 문헌[Karlsson, R., Katsamba, P. S., Nordin, H., Pol, E. & Myszka, D. G. Analyzing a kinetic titration series using affinity biosensors. Anal. Biochem. 349, 136-147 (2006)]에 개시된 바와 같은 "동역학적 적정" 방법을 사용하여 상기 데이터의 동역학적 분석을 수행하였다. 일부 분석 주기를 위해서 완충제를 Fab 대신에 포착된 입자상에 주입하여 이중-참조 목적으로 블랭크 주기를 제공하였다(이중-참조를 문헌[Myszka, D. G. Improving biosensor analysis. J. Mol. Recognit. 12, 279-284 (1999)]에 개시된 바와 같이 수행하였다).

[0119] 상기 Fab 단백질의 농도를 표준으로서 공지된 농도(아미노산 분석에 의해 측정된 바와 같은)의 Fab를 사용하여 ELISA 및/또는 SDS-PAGE 전기영동에 의해 측정한다. 동역학적 결합속도(k_{on}) 및 해리속도(k_{off})를, 상기 데이터를 전체적으로 BIA평가 프로그램을 사용하여 1:1 랭뮤어 결합 모델(문헌[Karlsson, R. Roos, H. Fagerstam, L. Petersson, B. (1994). Methods Enzymology 6. 99-110])에 대입함으로써 동시에 획득한다. 평형 해리 상수(K_D) 값을 k_{off}/k_{on}으로서 계산한다. 상기 프로토콜은 임의의 CXCR4, 예를 들어 인간 CXCR4, 또 다른 포유동물의 CXCR4(예를 들어 마우스 CXCR4, 래트 CXCR4, 개 CXCR4 또는 영장류 CXCR4)뿐만 아니라 상이한 형태의 CXCR4(예를 들어 글리코실화된 CXCR4)에 대한 항체의 결합 친화성을 측정하는데 사용하기에 적합하다. 항체의 결합 친화성을 일반적으로는 25 ℃에서 측정하지만, 또한 37 ℃에서 측정할 수 있다.

[0120] 본 발명의 일부 태양에서, CXCR4에 결합하는 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 10,000 ㎍/㎖ 미만의 MFI를 갖는다. 본 발명의 특정한 태양에서, CXCR4에 결합하는 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 6000 ㎍/㎖ 미만의 MFI를 갖는다. 본 발명의 특정한 태양에서, CXCR4에 결합하는 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 5000 ㎍/㎖ 미만의 MFI를 갖는다. 본 발명의 특정한 태양에서, 본 발명의 일부 태양에서, CXCR4에 결합하는 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 2000 ㎍/㎖ ㎍/㎖ 내지 5000 ㎍/㎖ 범위의 MFI를 갖는다.

[0121] 본 발명에 사용되는 바와 같이, "MFI"는 평균 형광 강도 또는 중간 형광 강도를 지칭한다.

[0122] 본 발명의 일부 태양에서, CXCR4에 결합하는 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 3.00E-09 M 미만의 EC50을 갖는다. 본 발명의 일부 태양에서, CXCR4에 결합하는 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 약 1.00E-09 M 내지 약 3.00E-09 M의 범위 이내의 EC50을 갖는다. 예를 들어, CXCR4에 결합하는 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 2.00E-09 M의 EC50을 갖는다.

[0123] 본 발명의 일부 태양에서, CXCR4에 결합하는 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 SDF-1 유도된 칼슘 유출을 억제한다. 예를 들어 CXCR4에 결합하는 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 약 1 nM 내지 50 nM 범위 이내의 억제에 대한 IC50s와 함께, SDF-1 알파 유도된 칼슘 유출을 억제한다. 하나의 태양에서, CXCR4에 결합하는 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 30 nM 미만의 억제에 대한 IC50s와 함께, SDF-1 알파 유도된 칼슘 유출을 억제한다. 하나의 태양에서, CXCR4에 결합하는 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 2 nM 미만의 억제에 대한 IC50s와 함께, SDF-1 알파 유도된 칼슘 유출을 억제한다.

[0124] 본 발명의 일부 태양에서, 항체 또는 그의 항체 결합 단편은 AML 세포 모델에서 AML 세포의 수를 현저하게 감소시킨다. 예를 들어, 인간 세포수의 수가 상기 항-CXCR4 6B6 항체로 처리된 동물에서 현저하게 감소하였다. 더욱이, 본 발명의 항-CXCR4 항체로 처리된 동물의 생존이 현저하게 증가하였다.

[0125] 일부 태양에서, 본 발명의 항체는 마우스 전신 비-호지킨 림프종(NHL) 및 급성 골수성 골수성 백혈병(AML) 세포 모델에서 생존 시간을 증가시켰고 종양 크기를 감소시켰다. 하나의 태양에서, 본 발명의 항체는 마우스 전신 만성 림프구성 백혈병(CLL) 종양 모델에서 생존을 증가시켰다. 하나의 태양에서, 본 발명의 항체는 생체내에서 NHL 종양 성장을 억제하였다. 일부 태양에서, 본 발명의 항체는 마우스 전신 다발성 골수종(MM) 모델에서 생존 시간을 증가시켰고 종양 크기를 감소시켰다.

[0126] 본 발명의 항체를 당해 분야에 충분히 공지된 기법들, 예를 들어 재조합 기술, 파지 디스플레이 기술, 합성 기술 또는 상기와 같은 기술들의 조합 또는 당해 분야에 쉽게 공지된 다른 기술을 사용하여 생성시킬 수 있다(예를 들어 문헌[Jayasena, S.D., Clin. Chem., 45: 1628-50 (1999)] 및 문헌[Fellouse, F.A., et al, J. MoI. Biol., 373(4):924-40 (2007)]을 참조).

[0127] 본 발명에 개시된 바와 같은 항-CXCR4 항체 또는 그의 항원 결합 단편을 당해 분야에 공지된 임의의 방법에 의해 제조할 수 있다. 예를 들어, 하이브리도마 세포주의 생산을 위해서, 숙주 동물의 면역화 경로 및 스케줄은 본 발명에 추가로 개시된 바와 같은 항체 자극 및 생성에 대해 확립된 통상적인 기법에 따른다. 인간 및 마우

스 항체의 생성을 위한 일반적인 기법들은 당해 분야에 공지되고/되거나 본 발명에 개시되어 있다.

[0128] 인간을 포함한 임의의 포유동물 대상체 또는 상기 대상체로부터의 항체 생산 세포를, 인간을 포함한 포유동물 및 하이브리도마 세포주의 생산을 위한 토대로서 작용하도록 조작할 수 있는 것으로 생각된다. 전형적으로, 상기 숙주 동물을 본 발명에 개시된 바와 같은 양을 포함하여 일정량의 면역원으로 복강내, 근육내, 경구, 피하, 발바닥내, 및/또는 피내 접종한다.

[0129] 하이브리도마를 문헌[Kohler, B. and Milstein, C., Nature 256:495-497 (1975)]의 일반적인 체세포 하이브리드화 기법을 사용하거나 또는 문헌[Buck, D. W., et al., In Vitro, 18:377-381 (1982)]에 의해 변형된 바와 같이 림프구 및 불멸화된 골수종 세포로부터 제조할 수 있다. 입수할 수 있는 골수종 세포주, 예를 들어 비제한적으로 X63-Ag8.653 및 솔크 인스티튜트 셀 디스트리뷰션 센터(Salk Institute, Cell Distribution Center)(미국 캘리포니아주 샌디에고 소재)로부터의 세포주를 상기 하이브리드화에 사용할 수 있다. 일반적으로, 상기 기법은 융합유도물질(fusogen), 예를 들어 폴리에틸렌 글리콜을 사용하거나 또는 당해 분야의 숙련가들에게 충분히 공지된 전기적 수단에 의해 골수종 세포 및 림프 세포를 융합시킴을 포함한다. 상기 융합 후에, 상기 세포를 상기 융합 배지로부터 분리시키고 선택성 생육 배지, 예를 들어 하이포잔틴-아미노프테린-티미딘(HAT) 배지에서 생육시켜 하이브리드화되지 않은 모 세포를 제거한다. 혈청이 보충되거나 보충되지 않은, 본 발명에 개시된 배지들 중 임의의 배지를, 단클론 항체를 분비하는 하이브리도마의 배양에 사용할 수 있다. 상기 세포 융합 기법에 대한 또 다른 대안으로서, EBV 불멸화된 B 세포를 사용하여 본 발명의 CXCR4 단클론 항체를 생성시킬 수 있다. 상기 하이브리도마를, 경우에 따라, 확대 및 서브클로닝하고, 상등액을 통상적인 면역분석 과정들(예를 들어 방사성면역분석, 효소 면역분석, 또는 형광 면역분석)에 의해 항-면역원 활성에 대해 분석한다.

[0130] 항체의 공급원으로서 사용될 수 있는 하이브리도마는 CXCR4에 특이적인 단클론 항체 또는 그의 일부를 생산하는 모 하이브리도마의 모든 유도체, 자손 세포를 포함한다.

[0131] 상기와 같은 항체를 생산하는 하이브리도마를 시험관내에서 또는 생체내에서 공지된 과정을 사용하여 생육시킬 수 있다. 상기 단클론 항체를 경우에 따라, 통상적인 면역글로불린 정제 과정, 예를 들어 암모늄 설페이트 침전, 젤 전기영동, 투석, 크로마토그래피, 및 한외여과에 의해 상기 배양 배지 또는 체액으로부터 단리시킬 수 있다. 원치않는 활성이 존재하는 경우, 이를 예를 들어 고체상에 부착된 면역원으로 제조된 흡착제상에 상기 제제를 흐르게 하고 상기 면역원으로부터 목적하는 항체를 용리시키거나 방출시킴으로써 제거할 수 있다. 2 기능성 작용제 또는 유도체화제, 예를 들어 말레이미도벤조일 설포숙신이미드 에스터(시스테인 잔기를 통해 접합), N-하이드록시숙신이미드(리신 잔기를 통해), 글루타르알데하이드, 숙신산 무수물, $SOCl_2$, 또는 $R^1N=C=NR$(여기에서 R 및 R^1은 상이한 알킬기이다)을 사용하여, 면역시키려는 종에서 면역원성인 단백질, 예를 들어 키홀 림펫 헤모시아닌, 혈청 알부민, 소 타이로글로불린, 또는 대두 트립신 억제제에 접합된 표적 아미노산 서열을 함유하는 인간 CXCR4 또는 단편으로 숙주 동물을 면역화시켜 항체(예를 들어 단클론 항체) 집단을 제공할 수 있다.

[0132] 경우에 따라, 관심 항-CXCR4 항체(단클론 또는 다클론)를 서열분석하고 이어서 폴리뉴클레오타이드 서열을 발현 또는 증식을 위해 벡터내로 클로닝시킬 수 있다. 관심 항체를 암호화하는 서열을 숙주 세포에서 벡터 중에 유지시키고 이어서 상기 숙주 세포를 확대시키고 추후의 용도를 위해 동결시킬 수 있다. 세포 배양물 중의 재조합 단클론 항체의 생성을 당해 분야에 공지된 수단에 의해 B 세포로부터 항체 유전자의 클로닝을 통해 수행할 수 있다. 예를 들어 문헌[Tiller et al., J. Immunol. Methods 329, 112 (2008)]; 미국특허 제 7,314,622 호를 참조한다.

[0133] 한편으로, 상기 폴리뉴클레오타이드 서열을, 항체를 "인간화"시키거나 또는 상기 항체의 친화성 또는 다른 특징을 개선시키기 위한 유전자 조작에 사용할 수 있다. 예를 들어, 상기 항체를 임상 시험 및 인간의 치료에 사용하는 경우 면역 반응을 피하기 위해서 상기 불변 영역을 인간 불변 영역을 보다 가깝게 닮도록 조작할 수 있다. CXCR4에 대한 보다 큰 친화성 및/또는 CXCR4의 억제에 보다 큰 효능을 획득하기 위해서 상기 항체 서열을 유전적으로 조작하는 것이 바람직할 수 있다.

[0134] 단클론 항체의 인간화에 4개의 일반적인 단계가 존재한다. 상기 단계는 (1) 출발 항체 경쇄 및 중쇄 가변 도메인의 뉴클레오타이드 및 예견된 아미노산 서열을 측정하는 단계; (2) 상기 인간화된 항체를 설계하는, 즉 상기 인간화 과정 동안 사용하기 위한 항체 프레임워크 영역을 결정하는 단계; (3) 실제 인간화 방법/기술; 및 (4) 상기 인간화된 항체의 형질감염 및 발현 단계이다. 예를 들어 미국특허 제 4,816,567 호; 미국특허 제 5,807,715 호; 미국특허 제 5,866,692 호; 미국특허 제 6,331,415 호; 미국특허 제 5,530,101 호; 미국특허 제

5,693,761 호; 미국특허 제 5,693,762 호; 미국특허 제 5,585,089 호; 및 미국특허 제 6,180,370 호를 참조한다.

[0135] 설치류 또는 변형된 설치류 V 영역 및 인간 불변 영역에 융합된 관련된 CDR을 갖는 키메릭 항체를 포함하여, 비-인간 면역글로불린으로부터 유래된 항원 결합 부위를 포함하는 다수의 "인간화된" 항체 분자가 개시되었다. 예를 들어 문헌[Winter et al. Nature 349:293-299 (1991)], 문헌[Lobuglio et al. Proc. Nat. Acad. Sci. USA 86:4220-4224 (1989)], 문헌[Shaw et al. J Immunol. 138:4534-4538 (1987)], 및 문헌[Brown et al. Cancer Res. 47:3577-3583 (1987)]을 참조한다. 다른 참고문헌들은 적합한 인간 항체 불변 영역과의 융합 전에 인간 지지 프레임워크 영역(FR) 내로 이식된 설치류 CDR을 개시한다. 예를 들어 문헌[Riechmann et al. Nature 332:323-327 (1988)], 문헌[Verhoeyen et al. Science 239:1534-1536 (1988)], 및 문헌[Jones et al. Nature 321:522-525 (1986)]을 참조한다. 또 다른 참고문헌은 재조합적으로 조작된 설치류 프레임워크 영역에 의해 지지되는 설치류 CDR을 개시한다. 예를 들어 유럽특허 공보 제 0519596 호를 참조한다. 상기 "인간화된" 분자들은 설치류 항-인간 항체 분자에 대한 불필요한 면역학적 반응(이는 인간 수용체에서 상기 부분의 치료학적 적용의 지속기간 및 유효성을 제한한다)이 최소화되도록 설계된다. 예를 들어, 상기 항체 불변 영역을 상기 영역이 면역학적으로 불활성이도록(예를 들어 보체 용해를 촉발하지 않도록) 조작할 수 있다. 예를 들어 PCT 공보 PCT/GB99/01441; 영국 특허 출원 제 9809951.8 호를 참조한다. 또한 사용될 수 있는 항체의 다른 인간화 방법들이 문헌[Daugherty et al., Nucl. Acids Res. 19:2471-2476, 1991], 및 미국특허 제 6,180,377 호; 미국특허 제 6,054,297 호; 미국특허 제 5,997,867 호; 미국특허 제 5,866,692 호; 미국특허 제 6,210,671 호; 및 미국특허 제 6,350,861 호; 및 PCT 공보 WO 01/27160에 개시되어 있다.

[0136] 상기 논의된 인간화된 항체와 관련된 일반적인 원리를 또한, 예를 들어 개, 고양이, 영장류, 말 및 소에 사용하기 위한 항체의 맞춤화에 적용할 수 있다. 더욱이, 본 발명에 개시된 항체의 인간화의 하나 이상의 태양들, 예를 들어 CDR 이식, 프레임워크 돌연변이 및 CDR 돌연변이를 병행할 수 있다.

[0137] 본 발명의 일부 태양에서, 완전한 인간 항체를, 특이적인 인간 면역글로불린 단백질을 발현하도록 조작된 상업적으로 입수할 수 있는 마우스를 사용함으로써 획득할 수 있다. 보다 바람직한(예를 들어 완전한 인간 항체) 또는 보다 확고한 면역 반응을 생성하도록 설계된 트랜스제닉 동물들을 또한 인간화된 또는 인간 항체의 발생에 사용할 수 있다. 트랜스제닉 마우스로부터 인간 항체를 획득하는 방법들은 문헌[Green et at, Nature Genet. 7: 13 (1994)], 문헌[Lonberg et at, Nature 368:856 (1994)], 및 문헌[Taylor et at, Int. Immun. 6:519 (1994)]에 개시되어 있다. 상기와 같은 시스템의 비제한적인 예는 아브제닉스(Abgenix)(미국 캘리포니아주 프레몬트 소재)로부터의 제노마우스(XenoMouse: 등록상표)(예를 들어 본 발명에 참고로 인용된 문헌[Green et al., J. Immunol. Methods 231: 11-23 (1999)])이다. 상기 제노마우스(등록상표) 및 유사한 동물에서, 상기 마우스 항체 유전자는 불활성화되었고 기능성 인간 항체 유전자에 의해 치환된 반면, 상기 마우스 면역계의 나머지는 완전한 채로 유지되었다.

[0138] 상기 제노마우스(등록상표)를 부속 유전자 및 조절 서열과 함께, 가변 영역 서열의 대부분을 포함하여, 인간 IgH 및 Ig카파 유전자좌의 부분을 함유하는 생식계통-구성된 YAC(효모 인공 염색체)로 형질전환시켰다. 상기 인간 가변 영역 레퍼토리를 사용하여 항체 생산 B-세포를 생성시키고, 이를 공지된 기법에 의해 하이브리도마로 가공할 수 있다. 표적 항원으로 면역시킨 제노마우스(등록상표)는 통상적인 면역 반응에 의해 인간 항체를 생산하며, 이를 상기 논의된 표준 기법에 의해 수확하고/하거나 생성시킬 수 있다. 다양한 계통의 제노마우스(등록상표)를 입수할 수 있으며, 이들은 각각 상이한 부류의 항체를 생산할 수 있다. 트랜스제닉하게 생성된 인간 항체는 통상적인 인간 항체의 약동학적 성질을 유지하면서 치료학적 잠재성을 갖는 것으로 나타났다(문헌[Green et al., J. Immunol. Methods 231: 11-23 (1999)]). 숙련가는 특허청구된 조성물 및 방법이 상기 제노마우스(등록상표) 시스템의 사용으로 제한되지 않지만 인간 항체를 생산하도록 유전자 조작된 임의의 트랜스제닉 동물을 사용할 수 있음을 알 것이다.

[0139] 본 발명의 일부 태양에서, 변형된 항체를 조작하기 위해 출발 물질로서 본 발명에 개시된 VH 및/또는 VL 서열 중 하나 이상을 갖는 항체를 사용하여 항체를 제조할 수 있으며, 상기 변형된 항체는 상기 출발 항체로부터 변경된 성질을 가질 수 있다. 하나 또는 2개의 가변 영역(VH 및/또는 VL) 모두 내, 예를 들어 하나 이상의 CDR 영역 내 및/또는 하나 이상의 프레임워크 영역 내의 하나 이상의 잔기를 변형시킴으로써 항체를 조작할 수 있다. 추가로 또는 한편으로, 상기 불변 영역(들) 내의 잔기들을, 예를 들어 항체의 효과기 기능(들)을 변경시키도록 변형시킴으로써 상기 항체를 조작할 수 있다. 몇몇 태양에서, CDR 이식을 사용하여 항체의 가변 영역들을 조작할 수 있다. 항체는 6개의 중쇄 및 경쇄 상보성 결정 영역(CDR) 중에 위치한 아미노산 잔기를 통해 표적 항원과 우세하게 상호작용한다. 이 때문에, 상기 CDR 내의 아미노산 서열들은 CDR 밖의 서열들보다 개별 항

체 간에 더 다양하다. CDR 서열은 대부분의 항체-항원 상호작용을 맡고 있기 때문에, 상이한 성질을 갖는 상이한 항체로부터의 프레임워크 서열상에 이식된 특이적인 천연 항체로부터의 CDR 서열을 포함하는 발현 벡터를 제작함으로써 상기 특이적인 천연 항체의 성질을 모방하는 재조합 항체를 발현하는 것이 가능하다(예를 들어 문헌[Riechmann, L et al., Nature 332 323-327 (1995)], 문헌[Jones, P et al., Nature 32J. 522-525 (1986)], 문헌[Queen, C et al., Proc Natl Acad See U.S.A 86 10029-10033 (1989)], 미국특허 제 5,225,539 호; 미국특허 제 5,530,101 호; 미국특허 제5,58 5,089 호; 미국특허 제 5,693,762 호; 및 미국특허 제 6,180,370 호를 참조).

[0140] 상기와 같은 프레임워크 서열을 생식계통 항체 유전자 서열을 포함하는 공개 DNA 데이터베이스 또는 공개된 참고문헌으로부터 획득할 수 있다. 예를 들어, 인간 중쇄 및 경쇄 가변 영역 유전자에 대한 생식계통 DNA 서열들을 "VBase" 인간 생식계통 서열 데이터베이스(인터넷상에서 www mrc-cpe cam ac uk/vbase에서 입수할 수 있다)뿐만 아니라 문헌[Kabat, E A , et. al. (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No 91-3242], 문헌[Tomlinson, I M , et al. (1992) "The Repertoire of Human Germline V_H Sequences Reveals about Fifty Groups of VH Segments with Different Hypervariable Loops" Cox], 문헌[J P L et al., J MoI. Biol TTL 776-798 (1994) "A Directory of Human Germ-line Vn Segments Reveals a Strong Bias in their Usage" Ew. J. Immunol 2A 827-836](이들 문헌 각각의 내용은 본 발명에 참고로 인용된다)에서 찾을 수 있다. 또 다른 예로서, 인간 중쇄 및 경쇄 가변 영역 유전자에 대한 생식계통 DNA 서열들을 진뱅크 데이터베이스에서 찾을 수 있다. 예를 들어, HCo7 HuMAb 마우스에서 발견되는 하기의 중쇄 생식계통 서열들을 수반되는 진뱅크 기탁 번호 1-69(NG_0010109, NT_024637 및 BC070333), 3-33(NG_0010109 및 NT_024637) 및 3-7(NG_0010109 및 NT_024637)로 입수할 수 있다. 또 다른 예로서, HCol 2 HuMAb 마우스에서 발견되는 하기의 중쇄 생식계통 서열들을 수반되는 진뱅크 기탁 번호 1-69(NG_0010109, NT_024637 및 BCO7O333), 5-51(NG_0010109 및 NT_024637), 4-34(NG_0010109 및 NT_024637), 3-30 3(CAJ556644) 및 3-23 (AJ406678)로 입수할 수 있다. 인간 중쇄 및 경쇄 생식계통 서열의 더욱 또 다른 출처는 IMGT(http://imgt.cines.fr)로부터 입수할 수 있는 인간 면역글로불린 유전자의 데이터베이스이다.

[0141] 본 명세의 항체들에 사용하기에 바람직한 프레임워크 서열은 본 명세의 선택된 항체에 의해 사용되는 프레임워크 서열과 구조적으로 유사한 서열들이다. VH CDR1, CDR2 및 CDR3 서열, 및 VL CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 프레임워크 서열이 유래되는 생식계통 면역글로불린 유전자에서 발견되는 것과 동일한 서열을 갖는 프레임워크 영역상에 이식하거나, 또는 상기 CDR 서열들을 상기 생식계통 서열에 비해 하나 이상의 돌연변이를 함유하는 프레임워크 영역상에 이식시킬 수 있다. 또 다른 유형의 프레임워크 변형은 T 세포 에피토프를 제거하여 항체의 잠재적인 면역원성을 감소시키기 위해 상기 프레임워크 영역 내, 또는 심지어 하나 이상의 CDR 영역 내 하나 이상의 잔기를 돌연변이시킴을 포함한다. 이러한 접근법을 또한 "탈면역화"라 칭하며 이는 미국특허 공보 제 20030153043 호에 더욱 상세히 개시되어 있다.

[0142] 상기 프레임워크 또는 CDR 영역 내에서 이루어진 변형들 외에 또는 상기 변형에 대한 대안으로, 본 명세의 항체를, 전형적으로는 상기 항체의 하나 이상의 기능적 성질들, 예를 들어 혈청 반감기, 보체 결합, Fc 수용체 결합, 및/또는 항원-의존성 세포 세포독성을 변경시키기 위해서, 상기 Fc 영역 내에 변형을 포함하도록 조작할 수 있다. 더욱 또한, 본 명세의 항체를, 다시 상기 항체의 하나 이상의 기능적 성질들을 변경시키기 위해서, 화학적으로 변형시키거나(예를 들어 하나 이상의 화학적 부분을 상기 항체에 부착시킬 수 있다) 또는 그의 글리코실화를 변경시키기 위해 변형시킬 수 있다. 이들 실시태양 각각은 하기에 더욱 상게히 개시된다. 상기 Fc 영역 중의 잔기들의 넘버링은 카밧의 EU 지수 및/또는 코티아의 넘버링이다. 예를 들어, 몇몇 경우에 상기 항체의 항원 결합 능력을 유지시키거나 증대시키기 위해서 상기 프레임워크 영역 내의 잔기들을 돌연변이시키는 것이 이로운 것으로 밝혀졌다(예를 들어 미국특허 제 5,530,101 호; 미국특허 제 5,585,089 호; 미국특허 제 5,693,762 호를 참조). 본 발명의 일부 태양에서, CHI의 힌지 영역을 상기 힌지 영역 중의 시스테인 잔기의 수가 변경되도록, 즉 증가되거나 감소되도록 변형시킨다. 이러한 접근법은 보드머(Bodmer) 등의 미국특허 제 5,677,425 호에 추가로 개시되어 있다. 상기 CHI의 힌지 영역 중의 시스테인 잔기의 수를 예를 들어 상기 경쇄 및 중쇄의 조립을 용이하게 하기 위해서 또는 상기 항체의 안정성을 증가시키거나 감소시키기 위해서 변경시킨다. 본 발명의 일부 태양에서, 항체의 Fc 힌지 영역을 상기 항체의 생물학적 반감기가 감소되도록 돌연변이시킨다. 보다 구체적으로, 하나 이상의 아미노산 돌연변이를 항체가 고유의 Fc-힌지 도메인 SpA 결합에 비해 손상된 스타필로코커스 단백질 A(SpA) 결합을 갖도록 상기 Fc-힌지 단편의 CH2-CH3 도메인 계면 영역에 도입시킨다. 상기 접근법은 워드(Ward) 등의 미국특허 제 6,165,745 호에 더욱 상세히 개시되어 있다.

[0143] 본 발명의 일부 태양에서, 상기 항체를 그의 생물학적 반감기가 증가하도록 변형시킨다. 다양한 접근법들이 가능하다. 예를 들어, 하기의 돌연변이들 중 하나 이상, 즉 T252L, T254S, T256F를 미국특허 제 6,277,375 호에 개시된 바와 같이 도입시킬 수 있다. 한편으로, 상기 생물학적 반감기를 증가시키기 위해서, 상기 항체를 프레스타(Presta) 등의 미국특허 제 5,869,046 호 및 미국특허 제 6,121,022 호에 개시된 바와 같이, IgG의 Fc 영역의 CH2 도메인의 2개의 고리로부터 취한 구조 수용체 결합 에피토프를 함유하도록 상기 CHI 또는 CL 영역내에서 변경시킬 수 있다.

[0144] 본 발명의 일부 태양에서, 항체를 당해 분야에 공지된 임의의 방법을 사용하여 재조합적으로 제조하고 발현시킬 수 있다. 또 다른 대안에서, 항체를 파지 디스플레이 기술에 의해 재조합적으로 제조할 수 있다. 예를 들어 미국특허 제 5,565,332 호; 미국특허 제 5,580,717 호; 미국특허 제 5,733,743 호; 및 미국특허 제 6,265,150 호; 및 문헌[Winter et al., Annu. Rev. Immunol. 12:433-455 (1994)]을 참조한다. 한편으로, 상기 파지 디스플레이 기술(문헌[McCafferty et al., Nature 348:552-553 (1990)])을 사용하여 시험관내에서 인간 항체 및 항체 단편을 면역되지 않은 공여체로부터의 면역글로불린 가변(V) 도메인 유전자 레퍼토리로부터 생성시킬 수 있다. 상기 기법에 따라, 항체 V 도메인 유전자를 섬유상 박테리오파지, 예를 들어 M13 또는 fd의 주 또는 부 피막 단백질 유전자내로 인-프레임 클로닝시키며, 상기 유전자는 상기 파지 입자의 표면상에 기능상 항체 단편으로서 나타났다. 상기 섬유상 입자는 상기 파지 게놈의 단일-가닥 DNA 사본을 함유하기 때문에, 상기 항체의 기능상 성질들에 근거한 선택은 또한 상기 성질을 나타내는 항체를 암호화하는 유전자를 선택하게 한다. 따라서, 상기 파지는 상기 B 세포의 성질들 중 일부를 모방한다. 파지 디스플레이를 다양한 포맷으로 수행할 수 있다; 재고찰을 위해서 예를 들어 문헌[Johnson, Kevin S. and Chiswell, David J., Current Opinion in Structural Biology 3:564-571 (1993)]을 참조한다. V-유전자 분절의 다수의 공급원들을 파지 디스플레이에 사용할 수 있다. 클락슨(Clackson) 등(문헌[Clackson et al., Nature 352:624-628 (1991)])은 면역된 마우스의 비장으로부터 유래하는 V 유전자의 작은 무작위 조합 라이브러리로부터 항-옥사졸론 항체들의 다양한 배열을 단리하였다. 면역된 인간 공여체로부터의 V 유전자의 레퍼토리를 작성하고 항원(자기-항원 보함)의 다양한 배열에 대한 항체를 필수적으로 문헌[Mark et al., J. Mol. Biol. 222:581-597 (1991)], 또는 문헌[Griffith et al., EMBO J. 12:725-734 (1993)]에 개시된 기법에 따라 단리할 수 있다. 자연 면역 반응에서, 항체 유전자는 높은 비율로 돌연변이를 축적한다(체세포 초돌연변이). 상기 도입된 변화들 중 일부는 더 높은 친화성을 부여할 것이며, 고-친화성 표면 면역글로불린을 나타내는 B 세포는 후속의 항원 공격 중 우세하게 복제되고 분화된다. 이러한 자연 과정을 "쇄 셔플링"으로서 공지된 기법을 사용함으로써 모방할 수 있다(문헌[Marks et al., Bio/Technol. 10:779-783 (1992)]). 상기 방법에서, 파지 디스플레이에 의해 획득된 "1차" 인간 항체의 친화성을 면역되지 않은 공여체로부터 획득된 V 도메인 유전자의 천연 변이체의 레퍼토리(레퍼토리)로 상기 중쇄 및 경쇄 V 영역 유전자를 연속적으로 대체시킴으로써 개선시킬 수 있다. 상기 기법은 pM 내지 nM 범위의 친화성을 갖는 항체 및 항체 단편의 생성을 허용한다. 매우 넓은 파지 항체 레퍼토리(또한 "모든 라이브러리의 모태"로서 공지됨)의 제조 전략은 문헌[Waterhouse et al., Nucl. Acids Res. 21:2265-2266 (1993)]에 개시되었다. 유전자 셔플링을 또한 설치류 항체로부터 인간 항체를 유도하는데 사용할 수 있으며, 이때 상기 인간 항체는 상기 출발 설치류 항체와 유사한 친화성 및 특이성을 갖는다. 상기 방법(또한 "에피토프 각인"이라 지칭됨)에 따라, 파지 디스플레이 기법에 의해 획득된 설치류 항체의 중쇄 또는 경쇄 V 도메인 유전자를 인간 V 도메인 유전자의 레퍼토리로 대체시켜, 설치류-인간 키메라를 생성시킨다. 항원상의 선택은 기능성 항원 결합 부위를 복원할 수 있는 인간 가변 영역의 단리를 생성시킨다, 즉 상기 에피토프는 짝의 선택을 지배한다(각인시킨다). 상기 과정을 남은 설치류 V 도메인의 대체를 위해 반복하는 경우, 인간 항체가 획득된다(PCR 공보 WO 93/06213을 참조). CDR 이식에 의한 설치류 항체의 전통적인 인간화와 달리, 상기 기법은 설치류 기원의 프레임워크 또는 CDR 잔기를 갖지 않는 완벽한 인간 항체를 제공한다.

[0145] 항체를, 먼저 상기 항체 및 항체 생산 세포를 숙주 동물로부터 단리시키고, 유전자 서열을 획득하고, 상기 유전자 서열을 사용하여 숙주 세포(예를 들어 CHO 세포)에서 상기 항체를 재조합적으로 발현시킴으로써 재조합적으로 제조할 수 있다. 사용될 수 있는 또 다른 방법은 식물(예를 들어 담배) 또는 트랜스제닉 우유에서 상기 항체 서열을 발현시키는 것이다. 식물 또는 우유에서 항체를 재조합적으로 발현시키는 방법은 개시되었다. 예를 들어 문헌[Peeters, et al., Vaccine 19:2756, (2001)]; 문헌[Lonberg, N. and D. Huszar Int. Rev. Immunol 13:65 (1995)]; 및 문헌[Pollock, et al., J Immunol Methods 231:147 (1999)]을 참조한다. 항체의 유도체, 예를 들어 인간화된, 단쇄 등의 제조 방법은 당해 분야에 공지되어 있다.

[0146] 면역분석 및 유식 세포측정 분류 기법, 예를 들어 형광 활성화된 세포 분류(FACS)를 또한 CXCR4에 특이적인 항체의 단리에 사용할 수 있다.

[0147] 본 발명에 개시된 항체를 다수의 상이한 담체들에 결합시킬 수 있다. 담체는 활성이고/이거나 불활성일 수 있다. 충분히-공지된 담체의 예는 폴리프로필렌, 폴리스타이렌, 폴리에틸렌, 덱스트란, 나일론, 아밀라제, 유리, 천연 및 변형된 셀룰로스, 폴리아크릴아미드, 아가로스 및 마그네타이트를 포함한다. 상기 담체의 성질은 본 발명의 목적을 위해 용해성이거나 불용성일 수 있다. 당해 분야의 숙련가들은 다른 적합한 항체 결합용 담체를 알거나, 또는 통상적인 실험을 통해 상기와 같은 담체를 확인할 수 있을 것이다. 본 발명의 일부 태양에서, 상기 담체는 심근을 표적화하는 부분을 포함한다.

[0148] 상기 단클론 항체를 암호화하는 DNA를 통상적인 과정을 사용하여(예를 들어 상기 단클론 항체의 중쇄 및 경쇄를 암호화하는 유전자에 특이적으로 결합할 수 있는 올리고뉴클레오타이드 탐침을 사용함으로써) 쉽게 단리하고 서열분석한다. 상기 하이브리도마 세포는 상기와 같은 DNA의 바람직한 공급원으로서 작용한다. 상기 DNA를, 일단 단리하였으면, 발현 벡터(예를 들어 PCT 공보 WO 87/04462에 개시된 발현 벡터)에 넣고, 이어서 이를 숙주 세포, 예를 들어 에스케리키아 콜라이, 유인원 COS 세포, 중국 햄스터 난소(CHO) 세포 또는 골수종 세포(달리 면역글로불린 단백질을 생산하지 않는다)내로 형질감염시켜 상기 재조합 숙주 세포에서 단클론 항체의 합성을 획득할 수 있다. 예를 들어 PCT 공보 WO 87/04462를 참조한다. 상기 DNA를 또한, 예를 들어 동종 쥐 서열 대신에 인간 중쇄 및 경쇄 불변 영역에 대한 암호화 서열을 치환시키거나(문헌[Morrison et al., Proc. Nat. Acad. Sci. 81:6851, 1984]) 또는 상기 면역글로불린 암호화 서열에 비-면역글로불린 폴리펩타이드에 대한 암화 서열의 전부 또는 일부를 공유 결합시킴으로써 변형시킬 수 있다. 상기 방식으로, 본 발명의 CXCR4 단클론 항체의 결합 특이성을 갖는 "키메릭" 또는 "하이브리드" 항체를 제조한다.

[0149] 항-CXCR4 항체의 결합 특이성의 측정 방법은 당해 분야의 숙련가들에게 충분히-공지되어 있다. 일반적인 방법은 예를 들어 문헌[Mole, "Epitope Mapping," in METHODS IN MOLECULAR BIOLOGY, VOLUME 10: IMMUNOCHEMICAL PROTOCOLS, Manson(ed.), pages 105-116 (The Humana Press, Inc. 1992)]에 의해 제공된다.

[0150] 본 발명에 개시된 항-CXCR4 항체, 또는 그의 항원 결합 단편을 당해 분야에 공지된 방법을 사용하여 확인하거나 특성화할 수 있으며, 이에 의해 CXCR4 발현 수준의 감소를 검출하고/하거나 측정한다. 본 발명의 일부 태양에서, 항-CXCR4 항체 또는 그의 항원 결합 단편을, 후보 작용제를 CXCR4와 배양하고 결합 및/또는 수반되는 CXCR4 발현 수준의 감소를 모니터함으로써 확인한다. 상기 결합 분석을 정제된 CXCR4 폴리펩타이드(들), 또는 CXCR4 폴리펩타이드(들)가 자연적으로 발현하거나 또는 발현하도록 형질감염된 세포로 수행할 수 있다. 하나의 태양에서, 상기 결합 분석은 경쟁 결합 분석이며, 상기 분석에서 CXCR4 결합에 대해 공지된 항-CXCR4 항체 또는 그의 항원 결합 단편과 경쟁하는 후보 항체의 능력이 평가된다. 상기 분석을 ELISA 포맷을 포함한 다양한 포맷으로 수행할 수 있다.

[0151] 초기 확인에 이어서, 후보 항-CXCR4 항체 또는 그의 항원 결합 단편의 활성을, 표적화된 생물 활성을 시험하는 것으로 공지된 생물분석에 의해 추가로 확인하고 세밀히 구분하였다. 한편으로, 생물분석을 후보를 직접 선별하기 위해 사용할 수 있다. 항-CXCR4 항체 또는 그의 항원 결합 단편을 확인하고 특성화하기 위한 방법들 중 일부는 실시예에 상세히 개시되어 있다.

[0152] 항-CXCR4 항체 또는 그의 항원 결합 단편을 당해 분야에 충분히 공지된 방법들을 사용하여 특성화할 수 있다. 예를 들어, 한 가지 방법은 상기 항체에 결합하는 에피토프를 확인하는 것, 또는 "에피토프 지도화"이다. 예를 들어 문헌[Chapter 11 of Harlow and Lane, Using Antibodies, a Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, 1999]에 개시된 바와 같은, 항체-항원 복합체의 결정 구조를 해결함, 경쟁 분석, 유전자 단편 발현 분석, 및 합성 펩타이드-기재 분석을 포함한, 단백질 상의 에피토프의 위치를 지도화하고 특성화하는 다수의 방법들이 존재한다. 추가의 예에서, 에피토프 지도화를 사용하여 항-CXCR4 항체 또는 그의 항원 결합 단편이 결합하는 서열을 측정할 수 있다. 에피토프 지도화를 다양한 출처, 예를 들어 펩스캔 시스템스(Pepscan Systems)(네덜란드 8219 PH 렐리스태드 에델헤르트베그 15 소재)로부터 상업적으로 입수할 수 있다. 상기 에피토프는 선형 에피토프, 즉 아미노산의 단일 신장부 중에 함유된 에피토프, 또는 단일 신장부에 필수적으로 함유되지 않을 수도 있는 아미노산의 3차원 상호작용에 의해 형성된 형태적 에피토프일 수 있다. 다양한 길이(예를 들어 적어도 4 내지 6 아미노산 길이)의 펩타이드를 단리하거나 합성(예를 들어 재조합적으로)할 수 있으며 항-CXCR4 항체 또는 그의 항원 결합 단편과의 결합 분석에 사용할 수 있다. 또 다른 예에서, 상기 항-CXCR4 항체 또는 그의 항원 결합 단편이 결합하는 에피토프를, 상기 CXCR4 서열로부터 유래된 중복 펩타이드를 사용하고 상기 항-CXCR4 항체 또는 그의 항원 결합 단편에 의한 결합을 측정함으로써 체계적인 선별로 측정할 수 있다. 상기 유전자 단편 발현 분석에 따라, CXCR4를 암호화하는 개방 판독 프레임을 무작위로 또는 특이적인 유전자 구성에 의해 단편화하고 상기 CXCR4의 발현된 단편과 시험하려는 항체와의 반응성을 측정한다. 상기 유전자 단편을, 예를 들어 PCR에 의해 생성시키고 이어서 방사성 아미노산의 존재하

에서 시험관내에서 단백질내로 전사하고 번역할 수 있다. 이어서 상기 방사성 표지된 CXCR4 단편에의 상기 항체의 결합을 면역침전 및 젤 전기영동에 의해 측정한다. 몇몇 에피토프를 또한 파지 입자의 표면상에 나타난 무작위 펩타이드 서열의 큰 라이브러리들(파지 라이브러리)을 사용함으로써 확인할 수 있다. 한편으로, 중복 펩타이드 단편의 한정된 라이브러리를 간단한 결합 분석으로 시험 항체에의 결합에 대해 시험할 수 있다. 추가적인 예에서, 항원 결합 도메인의 돌연변이, 도메인 교환 실험 및 알라닌 스캐닝 돌연변이를 수행하여, 에피토프 결합에 요구되는, 충분한, 및/또는 필요한 잔기들을 확인할 수 있다. 예를 들어, 도메인 교환 실험을, 상기 CXCR4 단백질의 다양한 단편들이 또 다른 종(예를 들어 마우스)으로부터의 CXCR4의 서열로 교체된(교환된) 돌연변이 CXCR4, 또는 밀접하게 관련되었지만, 항원과 관련하여 별개의 단백질(예를 들어 CXCR4)을 사용하여 수행할 수 있다. 상기 돌연변이 CXCR4에 대한 상기 항체의 결합을 평가함으로써, 항체 결합에 대한 특정 CXCR4 단편의 중요성을 평가할 수 있다.

[0153] 항-CXCR4 항체를 특성화하기 위해 사용될 수 있는 더욱 또 다른 방법은 동일한 항원에 결합하는 것으로 공지된 다른 항체들, 즉 CXCR4 상의 다양한 단편들과의 경쟁 분석을 사용하여, 상기 항-CXCR4 항체가 다른 항체와 동일한 에피토프와 경쟁하고/하거나 상기 에피토프에 결합하는지를 측정한다. 경쟁 분석은 또한 당해 분야의 숙련가들에게 충분히 공지되어 있다.

[0154] 본 발명의 일부 태양에서, CXCR4에 결합하는 단리된 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 CXCR4에의 결합에 대해서 CXCR4의 동일한 에피토프와 경쟁하고/하거나 상기 에피토프에 결합한다. 상기 CXCR4에의 결합에 대해서 경쟁하고/하거나 CXCR4의 동일한 에피토프에 결합하는 항체들 중에는 (i) 서열번호 107, 113, 114, 108, 109, 115, 116, 117, 121 및 122로 이루어진 군 중에서 선택된 VH CDR1; (ii) 서열번호 162, 128, 110, 111, 118, 119, 154, 123, 158, 124, 159, 125, 160, 126, 161, 127, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 155, 129, 156 및 130으로 이루어진 군 중에서 선택된 VH CDR2; 및 (iii) 서열번호 112 및 120으로 이루어진 군 중에서 선택된 VH CDR3을 포함하는 적어도 중쇄 가변(VH) 영역; 및/또는 (i) 서열번호 144, 131, 135, 138, 141, 142, 143, 146, 147, 148, 149, 150 및 151로 이루어진 군 중에서 선택된 VL CDR1; (ii) 서열번호 145, 132, 136 및 152로 이루어진 군 중에서 선택된 VL CDR2; 및 (iii) 서열번호 139, 133, 137, 140 및 153으로 이루어진 군 중에서 선택된 VL CDR3을 포함하는 적어도 경쇄 가변 영역(VL) 영역을 포함하는 항체들이 있다.

[0155] 본 발명의 일부 태양에서, 항체는 CXCR4에의 결합에 대해서 서열번호 107, 162 및 112로 나타낸 3개의 CDR을 포함하는 중쇄 가변(VH) 영역을 포함하는 항체 또는 그의 항원 결합 단편과 경쟁한다.

[0156] 본 발명의 일부 태양에서, 항체는 CXCR4에의 결합에 대해서 서열번호 144, 145 및 139로 나타낸 3개의 CDR을 포함하는 경쇄 가변(VL) 영역을 포함하는 항체 또는 그의 항원 결합 단편과 경쟁한다.

[0157] 본 발명의 일부 태양에서, 항체는 CXCR4에의 결합에 대해서, a) 서열번호 107, 162 및 112로 나타낸 3개의 CDR을 포함하는 중쇄 가변(VH) 영역; 및 b) 서열번호 144, 145 및 139로 나타낸 3개의 CDR을 포함하는 경쇄 가변(VL) 영역을 포함하는 항체 또는 그의 항원 결합 단편과 경쟁한다.

[0158] 본 발명의 일부 태양에서, 항체는 CXCR4에의 결합에 대해서, a) 서열번호 33의 VH 영역으로부터의 VH CDR1, VH CDR2 및 VH CDR3을 포함하는 중쇄 가변(VH) 영역; 및 b) 서열번호 73의 VL 영역으로부터의 VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3을 포함하는 경쇄 가변(VL) 영역을 포함하는 항체 또는 그의 항원 결합 단편과 경쟁한다.

[0159] 본 발명의 일부 태양에서, 항체는 CXCR4에의 결합에 대해서, a) 서열번호 33의 중쇄 가변(VH) 영역; 및/또는 b) 서열번호 73의 경쇄 가변(VL) 영역을 포함하는 항체 또는 그의 항원 결합 단편과 경쟁한다.

[0160] 발현 벡터를 항-CXCR4 항체 또는 그의 항원 결합 단편의 발현을 지시하기 위해 사용할 수 있다. 당해 분야의 숙련가는 생체내에서 외인성 단백질의 발현을 획득하기 위한 발현 벡터의 투여와 친숙하다. 예를 들어 미국특허 제 6,436,908 호; 미국특허 제 6,413,942 호; 및 미국특허 제 6,376,471 호를 참조한다. 발현 벡터의 투여는 주사, 경구 투여, 입자 건 또는 카테터를 통한 투여, 및 국소 투여를 포함한 국소 또는 전신 투여를 포함한다. 본 발명의 또 다른 태양에서, 상기 발현 벡터를 교감신경 줄기 또는 신경절에, 또는 관상 동맥, 심방, 심실 또는 심막내에 직접 투여한다.

[0161] 발현 벡터, 또는 하위게놈 폴리뉴클레오타이드를 함유하는 치료학적 조성물의 표적 전달을 또한 사용할 수 있다. 수용체-매개된 DNA 전달 기법은 예를 들어 문헌[Findeis et al., Trends Biotechnol. 11:202 (1993)]; 문헌[Chiou et al., Gene Therapeutics: Methods And Applications Of Direct Gene Transfer, J.A. Wolff, ed., 1994]; 문헌[Wu et al., J. Biol. Chem., 263:621 (1988)]; 문헌[Wu et al., J. Biol. Chem., 269:542 (1994)]; 문헌[Zenke et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 87:3655 (1990)]; 및 문헌[Wu et al., J. Biol.

Chem., 266:338 (1991)]에 개시되어 있다. 폴리뉴클레오타이드를 함유하는 치료학적 조성물을 유전자 요법 프로토콜에서 국소 투여를 위해 약 100 ng 내지 약 200 mg의 DNA의 범위로 투여한다. 유전자 요법 프로토콜 동안 약 500 ng 내지 약 50 mg, 약 1 μg 내지 약 2 mg, 약 5 μg 내지 약 500 μg, 및 약 20 μg 내지 약 100 μg의 DNA의 농도 범위가 또한 사용될 수 있다. 상기 치료학적 폴리뉴클레오타이드 및 폴리펩타이드를 유전자 전달 비히클을 사용하여 전달할 수 있다. 상기 유전자 전달 비히클은 바이러스 또는 비-바이러스 기원의 것일 수 있다(일반적으로 문헌[Jolly et al., Cancer Gene Therapy,1:51 (1994)]; 문헌[Kimura, Human Gene Therapy, 5:845 (1994)]; 문헌[Connelly et al., Human Gene Therapy,1:185 (1995)]; 및 문헌[Kaplitt, Nature Genetics, 6:148 (1994)]을 참조). 상기와 같은 암호화 서열의 발현을 내인성 포유동물 또는 이종 프로모터를 사용하여 유도할 수 있다. 상기 암호화 서열의 발현은 구성적이거나 또는 조절될 수 있다.

[0162] 목적하는 세포에서 목적하는 폴리뉴클레오타이드의 전달 및 발현을 위한 바이러스-기재 벡터들이 당해 분야에 충분히 공지되어 있다. 예시적인 바이러스-기재 비히클은 비제한적으로 재조합 레트로바이러스(예를 들어 PCT 공보 WO 90/07936; WO 94/03622; WO 93/25698; WO 93/25234; WO 93/11230; WO 93/10218; WO 91/02805; 미국특허 제 5,219,740 호 및 미국특허 제 4,777,127 호; GB 특허 제 2,200,651 호; 및 EP 특허 제 0 345 242 호), 알파바이러스-기재 벡터(예를 들어 신드비스(Sindbis) 바이러스 벡터, 셈리키 포레스트(Semliki forest) 바이러스(ATCC VR-67; ATCC VR-1247), 로스 리버(Ross River) 바이러스(ATCC VR-373; ATCC VR-1246) 및 베네수엘라 말 뇌염 바이러스(ATCC VR-923; ATCC VR-1250; ATCC VR 1249; ATCC VR-532)), 및 아데노-관련된 바이러스(VVA) 벡터(예를 들어 PCT 공보 WO 94/12649, WO 93/03769; WO 93/19191; WO 94/28938; WO 95/11984 및 WO 95/00655를 참조)를 포함한다. 문헌[Curiel, Hum. Gene Ther., 1992, 3:147]에 개시된 바와 같은 살해된 아데노바이러스에 연결된 DNA의 투여를 또한 사용할 수 있다.

[0163] 비-바이러스성 전달 비히클 및 방법, 예를 들어 비제한적으로 살해된 아데노바이러스 단독에 연결되거나 또는 연결되지 않은 다중양이온성 축합된 DNA(예를 들어 문헌[Curiel et al., Hum. Gene Ther., 3:147 (1992)]을 참조); 리간드-연결된 DNA(예를 들어 문헌[Wu, J. et al., Biol. Chem., 264:16985 (1989)]을 참조); 진핵세포 전달 비히클 세포(예를 들어 미국특허 제 5,814,482 호; PCT 공보 WO 95/07994; WO 96/17072; WO 95/30763; 및 WO 97/42338을 참조) 및 핵 전하 중화 또는 세포막과의 융합을 또한 사용할 수 있다. 네이키드 DNA를 또한 사용할 수 있다. 예시적인 네이키드 DNA 도입 방법은 PCT 공보 WO 90/11092 및 미국특허 제 5,580,859 호에 개시되어 있다. 유전자 전달 비히클로서 작용할 수 있는 리포솜은 미국특허 제 5,422,120 호; PCT 공보 WO 95/13796; WO 94/23697; WO 91/14445; 및 EP 0524968에 개시되어 있다. 추가적인 접근법들은 문헌[Philip et al., Mol. Cell Biol., 14:2411 (1994)] 및 문헌[Woffendin et al., Proc. Natl. Acad. Sci., 91:1581 (1994)]에 개시되어 있다.

[0164] 본 발명의 일부 태양에서, 본 발명은 본 발명에 개시되거나 본 발명에 개시된 방법에 의해 제조된 항체를 포함하고 본 발명에 개시된 특징을 갖는 약학 조성물을 포함한 조성물을 포함한다. 본 발명에 사용되는 바와 같이, 조성물은 CXCR4에 결합하는 하나 이상의 항체, 및/또는 하나 이상의 상기 항체를 암호화하는 서열을 포함하는 하나 이상의 폴리뉴클레오타이드를 포함한다. 이들 조성물은 적합한 부형제, 예를 들어 완충제를 포함한 약학적으로 허용 가능한 부형제를 추가로 포함할 수 있으며, 이들 부형제는 당해 분야에 충분히 공지되어 있다.

[0165] 상응하게, 본 발명은 하기 중 일부, 또는 하기의 서열들 중 임의의 서열을 포함하는 조성물(약학 조성물 포함)을 제공한다:

[0166] [표 2]

설명	서열 번호	서열
m6B6 VH 단백질	1	HVEVKLVESGGGLVQPGGSLRLSCATS**GFTFTDYYMS** WVRQPPGKALEWLGF**IRNKANGYTTEYSASVKG**RFTIS RDNSQSILYLQMNTLRAEDSATYYCAR**DLPGFAY**WGQ GTLVTVSS
m6B6 VH DNA	2	GAGGTAAAGTTGGTGGAGTCTGGAGGAGGCTTGGTA CAGCCTGGGGGTTCTCTGAGACTCTCCTGTGCAACTT CTGGGTTCACCTTCACTGATTACTACATGAGTTGGGT CCGCCAGCCTCCAGGAAAGGCACTTGAGTGGTTGGG TTTTATTAGAAACAAAGCTAATGGTTACACAACAGAGT ACAGTGCATCTGTGAAGGGTCGGTTCACCATCTCCAG AGATAATTCCCAAAGCATCCTCTATCTTCAAATGAACA CCCTGAGAGCTGAGGACAGTGCCACTTATTACTGTGC AAGAGATCTCCCGGGGGTTTGCTTACTGGGGCCAAGG GACTCTGGTCACCGTCTCCTCA
m6B6 VL 단백질	3	DIVMSQSPSSLTVSAGEKVTMSC**KSSQSLYNSRTRKNY LA**WYQQKPGQSPKLLIY**WASARES**GVPGRFTGSGSGT DFALTISSVQAEDLAVYYC**KQSYNLRT**FGGGTKLEIK
m6B6 VL DNA	4	GACATAGTTATGTCGCAGTCTCCATCCTCCCTGACTG TGTCAGCAGGAGAGAAGGTCACTATGAGCTGCAAAT CCAGTCAGAGTCTGTACAACAGTAGAACCCGAAAGAA CTACTTGGCTTGGTACCAGCAGAAACCAGGGCAGTC TCCTAAACTGCTGATCTACTGGGCATCCGCTAGGGAA TCTGGGGTCCCTGGTCGCTTCACAGGCAGTGGATCT GGGACAGATTTCGCTCTCACCATCAGCAGTGTGCAG GCTGAAGACCTGGCAGTTTATTACTGCAAGCAATCTT ATAATCTTCGGACGTTCGGTGGAGGCACCAAGCTGG AGATCAAA
h6B6 VH 단백질	5	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS**GFTFSDYYMS**WV RQAPGKGLEWVGF**IRNKANGYTTEYSASVKG**RFTISRD DSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCAR**DLPGFAY**WGQGT LVTVSS
h6B6 VH DNA	6	GAAGTCCAGCTGGTTGAAAGTGGTGGCGGCCTGGTG CAGCCGGGCGGCTCTCTGCGCCTGTCATGCGCTGCA TCCGGCTTTACCTTCAGCGACTATTACATGAGCTGGG TTCGCCAAGCGCCCGGCAAAGGCCTGGAATGGGTGG GATTCATTCGAAATAAAGCGAACGGCTATACCACCGA ATATAGCGCATCTGTCAAGGGCCGGTTCACCATCTCC CGCGATGATTCCAAGAACAGCCTGTACCTGCAGATGA ACTCCCTGAAGACGGAAGATACCGCCGTCTATTATTG

[0167]

설명	서열 번호	서열
		TGCCCGCGATCTGCCTGGCTTTGCCTATTGGGGCCA AGGCACTCTGGTCACCGTCTCCTCA
h6B6 VL 단백질	7	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC**KSSQSLYNSRTRKNYL A**WYQQKPGQPPKLLIY**WASARES**GVPDRFSGSGSGTD FTLTISSLQAEDVAVYYC**KQSYNL RT**FGGGTKVEIK
h6B6 VL DNA	8	GACATCGTTATGACACAGTCACCAGATAGCTTAGCCG TGTCCCTGGGAGAACGTGCTACCATTAATTGCAAAAG CTCCCAGAGCCTGTATAACAGCCGGACACGGAAGAA TTATCTGGCATGGTATCAGCAGAAACCCGGACAGCC GCCTAAGCTGCTGATTTATTGGGCCAGCGCACGCGA AAGTGGTGTGCCCGACCGCTTTTCCGGCAGCGGTAG TGGCACTGACTTCACCCTGACCATCTCAAGCTTGCAA GCCGAAGACGTGGCAGTATATTATTGCAAGCAGTCGT ACAATCTGCGCACCTTTGGCGGCGGCACAAAAGTGG AGATCAAA
m12A11 VH 단백질	9	EIQLQQSGPELVKPGASVKVSCKAS**GYSFTDY**NIYWVK QSHGQSLEWIG**YIDPYNGG**TRYNQKFKGKATLTVDKSS STAFMHLNSLTSEDSAVYFCAR**TYGSRYVGAMDY**WGQ GTSVTVSS
m12A11 VH DNA	10	GAAATACAGTTGCAGCAGTCCGGGCCTGAGCTGGTG AAGCCTGGGGCTTCAGTGAAGGTATCCTGCAAGGCT TCTGGTTACTCATTCACTGACTATAATATATACTGGGT GAAGCAGAGCCATGGACAGAGCCTTGAGTGGATTGG ATATATTGATCCTTACAATGGTGGGACCAGGTATAAC CAGAAGTTCAAGGGCAAGGCCACATTGACTGTTGACA AGTCCTCCAGCACAGCCTTCATGCATCTCAACAGCCT GACATCTGAGGACTCTGCAGTCTATTTTTGTGCAAGA ACCTACGGTAGTCGGTACGTTGGGGCTATGGACTAC TGGGGTCAAGGAACCTCGGTCACCGTCTCCTCA
m12A11 VL 단백질	11	DIVMTQAAPSVPVTPGESVSISC**RSSKSLLHSNGNTYLY** WFLQRPGQSPQLLIY**RMSNPAS**GVPDRFSGSGSGTAF TLRISRVEAEDVGVYYC**MQHLEYPLT**FGAGTKLELK
m12A11 VL DNA	12	GATATCGTTATGACGCAGGCTGCACCCTCTGTACCTG TCACTCCTGGAGAGTCAGTATCCATCTCCTGCAGGTC TAGTAAGAGTCTCCTGCATAGTAATGGCAACACTTAC TTATATTGGTTCCTGCAGAGGCCAGGCCAGTCTCCTC AGCTCCTAATATATCGGATGTCCAACCCTGCCTCAGG AGTCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCAGGAAC TGCTTTCACACTGAGAATCAGTCGAGTGGAGGCTGA GGATGTGGGTGTTTATTACTGTATGCAACATCTAGAA

[0168]

[0169]

설명	서열 번호	서열
		TATCCGCTCACGTTCGGTGCTGGGACCAAGCTGGAG CTGAAA
h12A11 VH 단백질	13	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS**GYTFTDY**NIYWV RQATGQGLEWMGY**IDPYNGG**TRYNQKFKGRVTMTRN TSISTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR**TYGSRYVGAMDY**W GQGTLVTVSS
h12A11 VH DNA	14	CAGGTTCAGCTGGTGCAGAGCGGCGCCGAGGTGAA GAAACCAGGCGCCAGCGTGAAAGTGTCCTGCAAGGC GAGTGGATATACCTTCACCGATTACAATATTTATTGGG TTCGCCAGGCCACCGGGCAGGGCCTGGAGTGGATG GGCTACATTGATCCATATAACGGTGGCACCCGCTACA ACCAGAAGTTTAAAGGCCGCGTGACCATGACCCGCA ATACCTCGATCTCCACCGCCTATATGGAACTGAGCAG CTTACGCTCTGAAGATACGGCCGTGTACTACTGTGCC CGCACCTACGGGTCTCGCTACGTTGGCGCGATGGAT TATTGGGGTCAGGGCACCCTGGTCACCGTCTCCTCA
h12A11 VL 단백질	15	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISC**RSSKSLLHSNGNTYLY** WYLQKPGQSPQLLIY**RMSNPAS**GVPDRFSGSGSGTDF TLKISRVEAEDVGVYYC**MQHLEYPLT**FGGGTKVELK
h12A11 VL DNA	16	GACATCGTGATGACCCAGAGCCCGCTGTCTCTGCCA GTGACCCCTGGTGAGCCAGCCAGTATTAGCTGCCGC AGCAGCAAAAGTCTGCTGCACAGCAATGGAAACACCT ACCTGTATTGGTATCTGCAGAAACCGGGTCAGTCACC CCAGCTGCTGATCTACCGCATGTCTAACCCGGCCAG CGGCGTCCCTGATCGCTTTAGCGGCAGCGGTTCCGG AACCGATTTTACCCTGAAGATCTCCCGCGTTGAGGCC GAAGACGTCGGCGTCTACTATTGCATGCAGCACCTG GAATATCCGCTGACATTCGGTGGCGGTACCAAAGTG GAACTCAAA
m3G10 VH 단백질	17	EVKLVESGGGLVQPGSSLRLSCAAS**GFTFTDY**YMSWV RQPPGKALEWLGF**IRHKANGYT**TEYSTSVKGRFTISRD NSLSILYLQMNTLRPEDSATYYCAR**DLPGFAY**WGQGTL VTVSS
m3G10 VH DNA	18	GAAGTGAAATTGGTGGAGTCTGGAGGAGGCTTGGTA CAGCCTGGGAGTTCTCTGAGACTCTCCTGTGCAGCTT CTGGGTTCACCTTCACTGATTACTACATGAGCTGGGT CCGCCAGCCTCCAGGAAAGGCACTTGAGTGGTTGGG TTTTATTAGACACAAGGCTAATGGTTACACAACAGAAT ACAGTACATCTGTGAAGGGTCGGTTCACCATCTCCAG

설명	서열 번호	서열
		AGATAATTCCCTAAGCATCCTCTATCTTCAAATGAACA CCCTGAGACCTGAGGACAGTGCCACTTATTACTGTGC AAGAGATCTCCCGGGGTTTGCTTACTGGGGCCAAGG GACTCTGGTCACCGTCTCCTCA
m3G10 VL 단백질	19	DIVMSQSPSSLAVSAGEKVTMTC**KSSQSLFNSRTRKNY LA**WYQQKPGQSPKLLIY**WASARES**GVPDRFTGSGSGT DFTLTISSVQAEDLAVYYC**KQSFNLRT**FGGGTKLEIK
m3G10 VL DNA	20	GATATTGTTATGTCGCAGTCGCCATCCTCCCTGGCTG TGTCAGCAGGAGAGAAGGTCACTATGACCTGCAAATC CAGTCAGAGTCTGTTCAACAGTAGAACCCGAAAGAAC TACTTGGCTTGGTACCAGCAGAAACCCGGGCAGTCT CCTAAACTGCTGATCTACTGGGCATCCGCTAGGGAAT CTGGGGTCCCTGATCGCTTCACAGGCAGTGGATCTG GGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTGTGCAGGC TGAAGACCTGGCAGTTTATTACTGCAAGCAATCTTTTA ATCTTCGGACGTTCGGTGGAGGCACCAAGCTGGAAA TCAAA
h3G10 VH 단백질	21	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS**GFTFSDY**YMSWV RQAPGKGLEWVG**FIRHKANGYT**TEYSTSVKGRFTISRD DSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCAR**DLPGFAY**WGQGT LVTVSS
h3G10 VH DNA	22	GAAGTCCAGCTGGTTGAAAGTGGTGGCGGCCTGGTG CAGCCGGGCGGCTCTCTGCGCCTGTCATGCGCTGCA TCCGGCTTTACCTTCAGCGACTATTACATGAGCTGGG TTCGCCAAGCGCCCGGCAAAGGCCTGGAATGGGTGG GATTCATTCGACATAAAGCGAACGGCTATACCACCGA ATATAGCACATCTGTCAAGGGCCGGTTCACCATCTCC CGCGATGATTCCAAGAACAGCCTGTACCTGCAGATGA ACTCCCTGAAGACGGAAGATACCGCCGTCTATTATTG TGCCCGCGATCTGCCTGGCTTTGCCTATTGGGGCCA AGGCACTCTGGTCACCGTCTCCTCA
h3G10.A57 VH 단백질	23	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS**GFTFSDY**YMSWV RQAPGKGLEWVG**FIRHKANFYT**TEYSTSVKGRFTISRD DSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCAR**DLPGFAY**WGQGT LVTVSS
h3G10.A57 VH	24	GAAGTCCAGCTGGTTGAAAGTGGTGGCGGCCTGGTG CAGCCGGGCGGCTCTCTGCGCCTGTCATGCGCTGCA TCCGGCTTTACCTTCAGCGACTATTACATGAGCTGGG TTCGCCAAGCGCCCGGCAAAGGCCTGGAATGGGTGG

[0170]

설명	서열 번호	서열
DNA		GATTCATTCGACATAAAGCGAACTTTTATACCACCGAA TATAGCACATCTGTCAAGGGCCGGTTCACCATCTCCC GCGATGATTCCAAGAACAGCCTGTACCTGCAGATGAA CTCCCTGAAGACGGAAGATACCGCCGTCTATTATTGT GCCCGCGATCTGCCTGGCTTTGCCTATTGGGGCCAA GGCACTCTGGTCACCGTCTCCTCA
h3G10.B44 VH 단백질	25	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS**GFTFSDYYMS**WV RQAPGKGLEWVSF**IRHKANFYTTEYSTSVKG**RFTISRD NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAK**DLPGFAY**WGQGT LVTVSS
h3G10.B44 VH DNA	26	GAAGTCCAGCTGGTTGAAAGTGGTGGCGGCCTGGTG CAGCCGGGCGGCTCTCTGCGCCTGTCATGCGCTGCA TCCGGCTTTACCTTCAGCGACTATTACATGAGCTGGG TTCGCCAAGCGCCCGGCAAAGGCCTGGAATGGGTGT CATTCATTCGACATAAAGCGAACTTTTATACCACCGAA TATAGCACATCTGTCAAGGGCCGGTTCACCATCTCCC GCGATAATTCCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAA CTCCCTGAGGGCGGAAGATACCGCCGTCTATTATTGT GCCAAGGATCTGCCTGGCTTTGCCTATTGGGGCCAA GGCACTCTGGTCACCGTCTCTTCC
h3G10.1.7 VH 단백질	27	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS**GFTFSDYYMS**WV RQAPGKGLEWVGF**IRHKANKYTTEYSTSVKG**RFTISRD DSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCAR**DLPGFAY**WGQGT LVTVSS
h3G10.1.7 VH DNA	28	GAAGTCCAGCTGGTTGAAAGTGGTGGCGGCCTGGTG CAGCCGGGCGGCTCTCTGCGCCTGTCATGCGCTGCA TCCGGCTTTACCTTCAGCGACTATTACATGAGCTGGG TTCGCCAAGCGCCCGGCAAAGGCCTGGAATGGGTGG GATTCATTCGACATAAAGCGAACAAGTATACCACCGA ATATAGCACATCTGTCAAGGGCCGGTTCACCATCTCC CGCGATGATTCCAAGAACAGCCTGTACCTGCAGATGA ACTCCCTGAAGACGGAAGATACCGCCGTCTATTATTG TGCCCGCGATCTGCCTGGCTTTGCCTATTGGGGCCA AGGCACTCTGGTCACCGTCTCCTCA
h3G10.1.60 VH 단백질	29	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS**GFTFSDYYMS**WV RQAPGKGLEWVGF**IRHKANVYTTEYSTSVKG**RFTISRD DSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCAR**DLPGFAY**WGQGT LVTVSS
h3G10.1.60 VH	30	GAAGTCCAGCTGGTTGAAAGTGGTGGCGGCCTGGTG CAGCCGGGCGGCTCTCTGCGCCTGTCATGCGCTGCA TCCGGCTTTACCTTCAGCGACTATTACATGAGCTGGG

[0171]

설명	서열 번호	서열
DNA		TTCGCCAAGCGCCCGGCAAAGGCCTGGAATGGGTGG GATTCATTCGACATAAAGCGAACGTGTATACCACCGA ATATAGCACATCTGTCAAGGGCCGGTTCACCATCTCC CGCGATGATTCCAAGAACAGCCTGTACCTGCAGATGA ACTCCCTGAAGACGGAAGATACCGCCGTCTATTATTG TGCCCGCGATCTGCCTGGCTTTGCCTATTGGGGCCA AGGCACTCTGGTCACCGTCTCCTCA
h3G10.2.5 VH 단백질	31	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS**GFTFSDY**YMSWV RQAPGKGLEWVGF**IRHKANIYT**TEYSTSVKGRFTISRDD SKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCAR**DLPGFAY**WGQGTL VTVSS
h3G10.2.5 VH DNA	32	GAAGTCCAGCTGGTTGAAAGTGGTGGCGGCCTGGTG CAGCCGGGCGGCTCTCTGCGCCTGTCATGCGCTGCA TCCGGCTTTACCTTCAGCGACTATTACATGAGCTGGG TTCGCCAAGCGCCCGGCAAAGGCCTGGAATGGGTGG GATTCATTCGACATAAAGCGAACATTTATACCACCGA ATATAGCACATCTGTCAAGGGCCGGTTCACCATCTCC CGCGATGATTCCAAGAACAGCCTGTACCTGCAGATGA ACTCCCTGAAGACGGAAGATACCGCCGTCTATTATTG TGCCCGCGATCTGCCTGGCTTTGCCTATTGGGGCCA AGGCACTCTGGTCACCGTCTCCTCA
h3G10.1.91 VH 단백질	33	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS**GFTFSDY**YMSWV RQAPGKGLEWVGF**IRHKANFET**TEYSTSVKGRFTISRD DSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCAR**DLPGFAY**WGQGT LVTVSS
h3G10.1.91 VH DNA	34	GAAGTCCAGCTGGTTGAAAGTGGTGGCGGCCTGGTG CAGCCGGGCGGCTCTCTGCGCCTGTCATGCGCTGCA TCCGGCTTTACCTTCAGCGACTATTACATGAGCTGGG TTCGCCAAGCGCCCGGCAAAGGCCTGGAATGGGTGG GATTCATTCGACATAAAGCGAACTTTGAGACCACCGA ATATAGCACATCTGTCAAGGGCCGGTTCACCATCTCC CGCGATGATTCCAAGAACAGCCTGTACCTGCAGATGA ACTCCCTGAAGACGGAAGATACCGCCGTCTATTATTG TGCCCGCGATCTGCCTGGCTTTGCCTATTGGGGCCA AGGCACTCTGGTCACCGTCTCCTCA
h3G10.2.37 VH 단백질	35	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS**GFTFSDY**YMSWV RQAPGKGLEWVGF**IRHKANFYT**REYSTSVKGRFTISRD DSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCAR**DLPGFAY**WGQGT LVTVSS
h3G10.2.37	36	GAAGTCCAGCTGGTTGAAAGTGGTGGCGGCCTGGTG CAGCCGGGCGGCTCTCTGCGCCTGTCATGCGCTGCA

[0172]

설명	서열 번호	서열
VH DNA		TCCGGCTTTACCTTCAGCGACTATTACATGAGCTGGG TTCGCCAAGCGCCCGGCAAAGGCCTGGAATGGGTGG GATTCATTCGACATAAAGCGAACTTTTATACCCGGGA ATATAGCACATCTGTCAAGGGCCGGTTCACCATCTCC CGCGATGATTCCAAGAACAGCCTGTACCTGCAGATGA ACTCCCTGAAGACGGAAGATACCGCCGTCTATTATTG TGCCCGCGATCTGCCTGGCTTTGCCTATTGGGGCCA AGGCACTCTGGTCACCGTCTCCTCA
h3G10.2.45 VH 단백질	37	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS**GFTFSDYYMS**WV RQAPGKGLEWVG**FIRHKANFYTTEYSTWVKG**RFTISRD DSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCAR**DLPGFAY**WGQGT LVTVSS
h3G10.2.45 VH DNA	38	GAAGTCCAGCTGGTTGAAAGTGGTGGCGGCCTGGTG CAGCCGGGCGGCTCTCTGCGCCTGTCATGCGCTGCA TCCGGCTTTACCTTCAGCGACTATTACATGAGCTGGG TTCGCCAAGCGCCCGGCAAAGGCCTGGAATGGGTGG GATTCATTCGACATAAAGCGAACTTTTATACCACCGG GTATAGCACATCTGTCAAGGGCCGGTTCACCATCTCC CGCGATGATTCCAAGAACAGCCTGTACCTGCAGATGA ACTCCCTGAAGACGGAAGATACCGCCGTCTATTATTG TGCCCGCGATCTGCCTGGCTTTGCCTATTGGGGCCA AGGCACTCTGGTCACCGTCTCCTCA
h3G10.2.54 VH 단백질	39	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS**GFTFSDYYMS**WV RQAPGKGLEWVG**FIRHKANFYTTEYSTSVRG**RFTISRD DSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCAR**DLPGFAY**WGQGT LVTVSS
h3G10.2.54 VH DNA	40	GAAGTCCAGCTGGTTGAAAGTGGTGGCGGCCTGGTG CAGCCGGGCGGCTCTCTGCGCCTGTCATGCGCTGCA TCCGGCTTTACCTTCAGCGACTATTACATGAGCTGGG TTCGCCAAGCGCCCGGCAAAGGCCTGGAATGGGTGG GATTCATTCGACATAAAGCGAACTTTTATACCACCGAA TATAGCACATCTGTCCGTGGCCGGTTCACCATCTCCC GCGATGATTCCAAGAACAGCCTGTACCTGCAGATGAA CTCCCTGAAGACGGAAGATACCGCCGTCTATTATTGT GCCCGCGATCTGCCTGGCTTTGCCTATTGGGGCCAA GGCACTCTGGTCACCGTCTCCTCA
h3G10.2.42 HV 단백질	41	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS**GFTFSDYYMS**WV RQAPGKGLEWVG**FIRHKVNFYTTEYSTSVKG**RFTISRD DSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCAR**DLPGFAY**WGQGT LVTVSS

[0173]

설명	서열 번호	서열
h3G10.2.42 VH DNA	42	GAAGTCCAGCTGGTTGAAAGTGGTGGCGGCCTGGTG CAGCCGGGCGGCTCTCTGCGCCTGTCATGCGCTGCA TCCGGCTTTACCTTCAGCGACTATTACATGAGCTGGG TTCGCCAAGCGCCCGGCAAAGGCCTGGAATGGGTGG GATTCATTCGACATAAAGTGAACTTTTATACCACCGAA TATAGCACATCTGTCAAGGGCCGGTTCACCATCTCCC GCGATGATTCCAAGAACAGCCTGTACCTGCAGATGAA CTCCCTGAAGACGGAAGATACCGCCGTCTATTATTGT GCCCGCGATCTGCCTGGCTTTGCCTATTGGGGCCAA GGCACTCTGGTCACCGTCTCCTCA
h3G10.1.33 VH 단백질	43	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS**GFTFSDYYMS**WV RQAPGKGLEWVG**FIRHKANFYTTEYSTSVTG**RFTISRD DSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCAR**DLPGFAY**WGQGT LVTVSS
h3G10.1.33 VH DNA	44	GAAGTCCAGCTGGTTGAAAGTGGTGGCGGCCTGGTG CAGCCGGGCGGCTCTCTGCGCCTGTCATGCGCTGCA TCCGGCTTTACCTTCAGCGACTATTACATGAGCTGGG TTCGCCAAGCGCCCGGCAAAGGCCTGGAATGGGTGG GATTCATTCGACATAAAGCGAACTTTTATACCACCGAA TATAGCACATCTGTCACGGGCCGGTTCACCATCTCCC GCGATGATTCCAAGAACAGCCTGTACCTGCAGATGAA CTCCCTGAAGACGGAAGATACCGCCGTCTATTATTGT GCCCGCGATCTGCCTGGCTTTGCCTATTGGGGCCAA GGCACTCTGGTCACCGTCTCCTCA
h3G10.3.25 VH 단백질	45	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS**GFTFSDYYMS**WV RQAPGKGLEWVG**FIRHKANFYTTEYSTSDKG**RFTISRD DSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCAR**DLPGFAY**WGQGT LVTVSS
h3G10.3.25 VH DNA	46	GAAGTCCAGCTGGTTGAAAGTGGTGGCGGCCTGGTG CAGCCGGGCGGCTCTCTGCGCCTGTCATGCGCTGCA TCCGGCTTTACCTTCAGCGACTATTACATGAGCTGGG TTCGCCAAGCGCCCGGCAAAGGCCTGGAATGGGTGG GATTCATTCGACATAAAGCGAACTTTTATACCACCGAA TATAGCACATCTGATAAGGGCCGGTTCACCATCTCCC GCGATGATTCCAAGAACAGCCTGTACCTGCAGATGAA CTCCCTGAAGACGGAAGATACCGCCGTCTATTATTGT GCCCGCGATCTGCCTGGCTTTGCCTATTGGGGCCAA GGCACTCTGGTCACCGTCTCCTCA
h3G10 VL 단백질	47	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC**KSSQSLFNSRTRKNYL A**WYQQKPGQPPKLLIY**WASARES**GVPDRFSGSGSGTD FTLTISSLQAEDVAVYYC**KQSFNLRT**FGGGTKVEIK

[0174]

설명	서열 번호	서열
h3G10 VL DNA	48	GACATCGTTATGACACAGTCACCAGATAGCTTAGCCG TGTCCCTGGGAGAACGTGCTACCATTAATTGCAAAAG CTCCCAGAGCCTGTTTAACAGCCGGACACGGAAGAA TTATCTGGCATGGTATCAGCAGAAACCCGGACAGCC GCCTAAGCTGCTGATTTATTGGGCCAGCGCACGCGA AAGTGGTGTGCCCGACCGCTTTTCCGGCAGCGGTAG TGGCACTGACTTCACCCTGACCATCTCAAGCTTGCAA GCCGAAGACGTGGCAGTATATTATTGCAAGCAGTCGT TCAATCTGCGCACCTTTGGCGGCGGCACAAAAGTGG AGATCAAA
h3G10.2.72 VL 단백질	49	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC**KSSQSLFNSRTRKNYL AWYQQKPGQPPKLLIY**WASARESGVPDRFSGSGSGTD FTLTISSLQAEDVAVYYC**KQSFRLRT**FGGGTKVEIK
h3G10.2.72 VL DNA	50	GACATCGTTATGACACAGTCACCAGATAGCTTAGCCG TGTCCCTGGGAGAACGTGCTACCATTAATTGCAAAAG CTCCCAGAGCCTGTTTAACAGCCGGACACGGAAGAA TTATCTGGCATGGTATCAGCAGAAACCCGGACAGCC GCCTAAGCTGCTGATTTATTGGGCCAGCGCACGCGA AAGTGGTGTGCCCGACCGCTTTTCCGGCAGCGGTAG TGGCACTGACTTCACCCTGACCATCTCAAGCTTGCAA GCCGAAGACGTGGCAGTATATTATTGCAAGCAGTCGT TCAGGCTGCGCACCTTTGGCGGCGGCACAAAAGTGG AGATCAAA
h3G10.A11A VL 단백질	51	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC**KSAQSLFNSRTRKNYL AWYQQKPGQPPKLLIY**WASARESGVPDRFSGSGSGTD FTLTISSLQAEDVAVYYC**KQSFRLRT**FGGGTKVEIK
h3G10.A11A VL DNA	52	GACATCGTTATGACACAGTCACCAGATAGCTTAGCCG TGTCCCTGGGAGAACGTGCTACCATTAATTGCAAAAG CGCTCAGAGCCTGTTTAACAGCCGGACACGGAAGAA TTATCTGGCATGGTATCAGCAGAAACCCGGACAGCC GCCTAAGCTGCTGATTTATTGGGCCAGCGCACGCGA AAGTGGTGTGCCCGACCGCTTTTCCGGCAGCGGTAG TGGCACTGACTTCACCCTGACCATCTCAAGCTTGCAA GCCGAAGACGTGGCAGTATATTATTGCAAGCAGTCGT TCAGGCTGCGCACCTTTGGCGGCGGCACAAAAGTGG AGATCAAA
h3G10.A18A VL	53	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC**KSSWSLFNSRTRKNY LA**WYQQKPGQPPKLLIY**WASARES**GVPDRFSGSGSGT DFTLTISSLQAEDVAVYYC**KQSFRLRT**FGGGTKVEIK

[0175]

설명	서열 번호	서열
단백질		
h3G10.A18A VL DNA	54	GACATCGTTATGACACAGTCACCAGATAGCTTAGCCG TGTCCCTGGGAGAACGTGCTACCATTAATTGCAAAAG CTCCTGGAGCCTGTTTAACAGCCGGACACGGAAGAA TTATCTGGCATGGTATCAGCAGAAACCCGGACAGCC GCCTAAGCTGCTGATTTATTGGGCCAGCGCACGCGA AAGTGGTGTGCCCGACCGCTTTTCCGGCAGCGGTAG TGGCACTGACTTCACCCTGACCATCTCAAGCTTGCAA GCCGAAGACGTGGCAGTATATTATTGCAAGCAGTCGT TCAGGCTGCGCACCTTTGGCGGCGGCACAAAAGTGG AGATCAAA
h3G10.A19A VL 단백질	55	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC**KSSNSLFNSRTRKNYL A**WYQQKPGQPPKLLIY**WASARES**GVPDRFSGSGSGTD FTLTISSLQAEDVAVYYC**KQSFRLRT**FGGGTKVEIK
h3G10.A19A VL DNA	56	GACATCGTTATGACACAGTCACCAGATAGCTTAGCCG TGTCCCTGGGAGAACGTGCTACCATTAATTGCAAAAG CTCCAATAGCCTGTTTAACAGCCGGACACGGAAGAAT TATCTGGCATGGTATCAGCAGAAACCCGGACAGCCG CCTAAGCTGCTGATTTATTGGGCCAGCGCACGCGAA AGTGGTGTGCCCGACCGCTTTTCCGGCAGCGGTAGT GGCACTGACTTCACCCTGACCATCTCAAGCTTGCAAG CCGAAGACGTGGCAGTATATTATTGCAAGCAGTCGTT CAGGCTGCGCACCTTTGGCGGCGGCACAAAAGTGGA GATCAAA
h3G10.A58A VL 단백질	57	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC**KSSQSLFNSHTRKNYL A**WYQQKPGQPPKLLIY**WASARGS**GVPDRFSGSGSGT DFTLTISSLQAEDVAVYYC**KQSFRLRT**FGGGTKVEIK
h3G10.A58A VL DNA	58	GACATCGTTATGACACAGTCACCAGATAGCTTAGCCG TGTCCCTGGGAGAACGTGCTACCATTAATTGCAAAAG CTCCCAGAGCCTGTTTAACAGCCATACACGGAAGAAT TATCTGGCATGGTATCAGCAGAAACCCGGACAGCCG CCTAAGCTGCTGATTTATTGGGCCAGCGCACGCGGA AGTGGTGTGCCCGACCGCTTTTCCGGCAGCGGTAGT GGCACTGACTTCACCCTGACCATCTCAAGCTTGCAAG CCGAAGACGTGGCAGTATATTATTGCAAGCAGTCGTT CAGGCTGCGCACCTTTGGCGGCGGCACAAAAGTGGA GATCAAA

[0176]

설명	서열 번호	서열
h3G10.A65A VL 단백질	59	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC**KSSQSLFNSRFRKNYL A**WYQQKPGQPPKLLIY**WASARES**GVPDRFSGSGSGTD FTLTISSLQAEDVAVYYC**KQSFRLRT**FGGGTKVEIK
h3G10.A65A VL DNA	60	GACATCGTTATGACACAGTCACCAGATAGCTTAGCCG TGTCCCTGGGAGAACGTGCTACCATTAATTGCAAAAG CTCCCAGAGCCTGTTTAACAGCCGGTTTCGGAAGAAT TATCTGGCATGGTATCAGCAGAAACCCGGACAGCCG CCTAAGCTGCTGATTTATTGGGCCAGCGCACGCGAA AGTGGTGTGCCCGACCGCTTTTCCGGCAGCGGTAGT GGCACTGACTTCACCCTGACCATCTCAAGCTTGCAAG CCGAAGACGTGGCAGTATATTATTGCAAGCAGTCGTT CAGGCTGCGCACCTTTGGCGGCGGCACAAAAGTGGA GATCAAA
h3G10.B12A VL 단백질	61	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC**KSSQSLFNSRTRKNYL L**WYQQKPGQPPKLLIY**WASARES**GVPDRFSGSGSGTD FTLTISSLQAEDVAVYYC**KQSFRLRT**FGGGTKVEIK
h3G10.B12A VL DNA	62	GACATCGTTATGACACAGTCACCAGATAGCTTAGCCG TGTCCCTGGGAGAACGTGCTACCATTAATTGCAAAAG CTCCCAGAGCCTGTTTAACAGCCGGACACGGAAGAA TTATCTGCTTTGGTATCAGCAGAAACCCGGACAGCCG CCTAAGCTGCTGATTTATTGGGCCAGCGCACGCGAA AGTGGTGTGCCCGACCGCTTTTCCGGCAGCGGTAGT GGCACTGACTTCACCCTGACCATCTCAAGCTTGCAAG CCGAAGACGTGGCAGTATATTATTGCAAGCAGTCGTT CAGGCTGCGCACCTTTGGCGGCGGCACAAAAGTGGA GATCAAA
h3G10.B13A VL 단백질	63	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC**KSSQSLFNSRTRKNYL N**WYQQKPGQPPKLLIY**WASARES**GVPDRFSGSGSGTD FTLTISSLQAEDVAVYYC**KQSFRLRT**FGGGTKVEIK
h3G10.B13A VL DNA	64	GACATCGTTATGACACAGTCACCAGATAGCTTAGCCG TGTCCCTGGGAGAACGTGCTACCATTAATTGCAAAAG CTCCCAGAGCCTGTTTAACAGCCGGACACGGAAGAA TTATCTGAATTGGTATCAGCAGAAACCCGGACAGCCG CCTAAGCTGCTGATTTATTGGGCCAGCGCACGCGAA AGTGGTGTGCCCGACCGCTTTTCCGGCAGCGGTAGT GGCACTGACTTCACCCTGACCATCTCAAGCTTGCAAG CCGAAGACGTGGCAGTATATTATTGCAAGCAGTCGTT

[0177]

설명	서열 번호	서열
		CAGGCTGCGCACCTTTGGCGGCGGCACAAAAGTGGA GATCAAA
h3G10.B18A VL 단백질	65	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC**KSSQSLFNSRTRKNYL M**WYQQKPGQPPKLLIY**WASARES**GVPDRFSGSGSGT DFTLTISSLQAEDVAVYYC**KQSFRLRT**FGGGTKVEIK
h3G10.B18A VL DNA	66	GACATCGTTATGACACAGTCACCAGATAGCTTAGCCG TGTCCCTGGGAGAACGTGCTACCATTAATTGCAAAAG CTCCCAGAGCCTGTTTAACAGCCGGACACGGAAGAA TTATCTGATGTGGTATCAGCAGAAACCCGGACAGCCG CCTAAGCTGCTGATTTATTGGGCCAGCGCACGCGAA AGTGGTGTGCCCGACCGCTTTTCCGGCAGCGGTAGT GGCACTGACTTCACCCTGACCATCTCAAGCTTGCAAG CCGAAGACGTGGCAGTATATTATTGCAAGCAGTCGTT CAGGCTGCGCACCTTTGGCGGCGGCACAAAAGTGGA GATCAAA
h3G10.A11B VL 단백질	67	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC**KSAQSLFNSRTRKNYL A**WYQQKPGQPPKLLIY**WASARES**GVPDRFSGSGSGTD FTLTISSLQAEDVAVYYC**KQSFNLRT**FGGGTKVEIK
h3G10.A11B VL DNA	68	GACATCGTTATGACACAGTCACCAGATAGCTTAGCCG TGTCCCTGGGAGAACGTGCTACCATTAATTGCAAAAG CGCTCAGAGCCTGTTTAACAGCCGGACACGGAAGAA TTATCTGGCATGGTATCAGCAGAAACCCGGACAGCC GCCTAAGCTGCTGATTTATTGGGCCAGCGCACGCGA AAGTGGTGTGCCCGACCGCTTTTCCGGCAGCGGTAG TGGCACTGACTTCACCCTGACCATCTCAAGCTTGCAA GCCGAAGACGTGGCAGTATATTATTGCAAGCAGTCGT TCAATCTGCGCACCTTTGGCGGCGGCACAAAAGTGG AGATCAAA
h3G10.A18B VL 단백질	69	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC**KSSWSLFNSRTRKNY LA**WYQQKPGQPPKLLIY**WASARES**GVPDRFSGSGSGT DFTLTISSLQAEDVAVYYC**KQSFNLRT**FGGGTKVEIK
h3G10.A18B VL DNA	70	GACATCGTTATGACACAGTCACCAGATAGCTTAGCCG TGTCCCTGGGAGAACGTGCTACCATTAATTGCAAAAG CTCCTGGAGCCTGTTTAACAGCCGGACACGGAAGAA TTATCTGGCATGGTATCAGCAGAAACCCGGACAGCC GCCTAAGCTGCTGATTTATTGGGCCAGCGCACGCGA AAGTGGTGTGCCCGACCGCTTTTCCGGCAGCGGTAG TGGCACTGACTTCACCCTGACCATCTCAAGCTTGCAA

[0178]

설명	서열 번호	서열
		GCCGAAGACGTGGCAGTATATTATTGCAAGCAGTCGT TCAATCTGCGCACCTTTGGCGGCGGCACAAAAGTGG AGATCAAA
h3G10.A19B VL 단백질	71	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC**KSSNSLFNSRTRKNYL A**WYQQKPGQPPKLLIY**WASARES**GVPDRFSGSGSGTD FTLTISSLQAEDVAVYYC**KQSFNLRT**FGGGTKVEIK
h3G10.A19B VL DNA	72	GACATCGTTATGACACAGTCACCAGATAGCTTAGCCG TGTCCCTGGGAGAACGTGCTACCATTAATTGCAAAAG CTCCAATAGCCTGTTTAACAGCCGGACACGGAAGAAT TATCTGGCATGGTATCAGCAGAAACCCGGACAGCCG CCTAAGCTGCTGATTTATTGGGCCAGCGCACGCGAA AGTGGTGTGCCCGACCGCTTTTCCGGCAGCGGTAGT GGCACTGACTTCACCCTGACCATCTCAAGCTTGCAAG CCGAAGACGTGGCAGTATATTATTGCAAGCAGTCGTT CAATCTGCGCACCTTTGGCGGCGGCACAAAAGTGGA GATCAAA
h3G10.A58B VL 단백질	73	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC**KSSQSLFNSHTRKNYL A**WYQQKPGQPPKLLIY**WASARGS**GVPDRFSGSGSGT DFTLTISSLQAEDVAVYYC**KQSFNLRT**FGGGTKVEIK
h3G10.A58B VL DNA	74	GACATCGTTATGACACAGTCACCAGATAGCTTAGCCG TGTCCCTGGGAGAACGTGCTACCATTAATTGCAAAAG CTCCCAGAGCCTGTTTAACAGCCATACACGGAAGAAT TATCTGGCATGGTATCAGCAGAAACCCGGACAGCCG CCTAAGCTGCTGATTTATTGGGCCAGCGCACGCGGA AGTGGTGTGCCCGACCGCTTTTCCGGCAGCGGTAGT GGCACTGACTTCACCCTGACCATCTCAAGCTTGCAAG CCGAAGACGTGGCAGTATATTATTGCAAGCAGTCGTT CAATCTGCGCACCTTTGGCGGCGGCACAAAAGTGGA GATCAAA
h3G10.A65B VL 단백질	75	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC**KSSQSLFNSRFRKNYL A**WYQQKPGQPPKLLIY**WASARES**GVPDRFSGSGSGTD FTLTISSLQAEDVAVYYC**KQSFNLRT**FGGGTKVEIK
h3G10.A65B VL DNA	76	GACATCGTTATGACACAGTCACCAGATAGCTTAGCCG TGTCCCTGGGAGAACGTGCTACCATTAATTGCAAAAG CTCCCAGAGCCTGTTTAACAGCCGGTTTCGGAAGAAT TATCTGGCATGGTATCAGCAGAAACCCGGACAGCCG CCTAAGCTGCTGATTTATTGGGCCAGCGCACGCGAA AGTGGTGTGCCCGACCGCTTTTCCGGCAGCGGTAGT

[0179]

설명	서열 번호	서열
		GGCACTGACTTCACCCTGACCATCTCAAGCTTGCAAG CCGAAGACGTGGCAGTATATTATTGCAAGCAGTCGTT CAATCTGCGCACCTTTGGCGGCGGCACAAAAGTGGA GATCAAA
h3G10.B12B VL 단백질	77	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC**KSSQSLFNSRTRKNYL LWYQQKPGQPPKLLIY**WASARESGVPDRFSGSGSGTD FTLTISSLQAEDVAVYYC**KQSFNLRT**FGGGTKVEIK
h3G10.B12B VL DNA	78	GACATCGTTATGACACAGTCACCAGATAGCTTAGCCG TGTCCCTGGGAGAACGTGCTACCATTAATTGCAAAAG CTCCCAGAGCCTGTTTAACAGCCGGACACGGAAGAA TTATCTGCTTTGGTATCAGCAGAAACCCGGACAGCCG CCTAAGCTGCTGATTTATTGGGCCAGCGCACGCGAA AGTGGTGTGCCCGACCGCTTTTCCGGCAGCGGTAGT GGCACTGACTTCACCCTGACCATCTCAAGCTTGCAAG CCGAAGACGTGGCAGTATATTATTGCAAGCAGTCGTT CAATCTGCGCACCTTTGGCGGCGGCACAAAAGTGGA GATCAAA
h3G10.B13B VL 단백질	79	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC**KSSQSLFNSRTRKNYL NWYQQKPGQPPKLLIY**WASARESGVPDRFSGSGSGTD FTLTISSLQAEDVAVYYC**KQSFNLRT**FGGGTKVEIK
h3G10.B13B VL DNA	80	GACATCGTTATGACACAGTCACCAGATAGCTTAGCCG TGTCCCTGGGAGAACGTGCTACCATTAATTGCAAAAG CTCCCAGAGCCTGTTTAACAGCCGGACACGGAAGAA TTATCTGAATTGGTATCAGCAGAAACCCGGACAGCCG CCTAAGCTGCTGATTTATTGGGCCAGCGCACGCGAA AGTGGTGTGCCCGACCGCTTTTCCGGCAGCGGTAGT GGCACTGACTTCACCCTGACCATCTCAAGCTTGCAAG CCGAAGACGTGGCAGTATATTATTGCAAGCAGTCGTT CAATCTGCGCACCTTTGGCGGCGGCACAAAAGTGGA GATCAAA
h3G10.B18B VL 단백질	81	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC**KSSQSLFNSRTRKNYL MWYQQKPGQPPKLLIY**WASARESGVPDRFSGSGSGT DFTLTISSLQAEDVAVYYC**KQSFNLRT**FGGGTKVEIK
h3G10.B18B VL DNA	82	GACATCGTTATGACACAGTCACCAGATAGCTTAGCCG TGTCCCTGGGAGAACGTGCTACCATTAATTGCAAAAG CTCCCAGAGCCTGTTTAACAGCCGGACACGGAAGAA TTATCTGATGTGGTATCAGCAGAAACCCGGACAGCCG CCTAAGCTGCTGATTTATTGGGCCAGCGCACGCGAA

[0180]

설명	서열 번호	서열
		AGTGGTGTGCCCGACCGCTTTTCCGGCAGCGGTAGT GGCACTGACTTCACCCTGACCATCTCAAGCTTGCAAG CCGAAGACGTGGCAGTATATTATTGCAAGCAGTCGTT CAATCTGCGCACCTTTGGCGGCGGCACAAAAGTGGA GATCAAA
h3G10.2.25 VL 단백질	83	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC**RSSQSLFNSRTRKNYL A**WYQQKPGQPPKLLIY**WASARES**GVPDRFSGSGSGTD FTLTISSLQAEDVAVYYC**KQSFRLRT**FGGGTKVEIK
h3G10.2.25 VL DNA	84	GACATCGTTATGACACAGTCACCAGATAGCTTAGCCG TGTCCCTGGGAGAACGTGCTACCATTAATTGCAGGAG CTCCCAGAGCCTGTTTAACAGCCGGACACGGAAGAA TTATCTGGCATGGTATCAGCAGAAACCCGGACAGCC GCCTAAGCTGCTGATTTATTGGGCCAGCGCACGCGA AAGTGGTGTGCCCGACCGCTTTTCCGGCAGCGGTAG TGGCACTGACTTCACCCTGACCATCTCAAGCTTGCAA GCCGAAGACGTGGCAGTATATTATTGCAAGCAGTCGT TCAGGCTGCGCACCTTTGGCGGCGGCACAAAAGTGG AGATCAAA
h3G10.A59 VH 단백질	85	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS**GFTFSDYYMS**WV RQAPGKGLEWVGFI**RHKANTYT**TEYSTSVKGRFTISRD DSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCAR**DLPGFAY**WGQGT LVTVSS
h3G10.A59 VH DNA	86	GAAGTCCAGCTGGTTGAAAGTGGTGGCGGCCTGGTG CAGCCGGGCGGCTCTCTGCGCCTGTCATGCGCTGCA TCCGGCTTTACCTTCAGCGACTATTACATGAGCTGGG TTCGCCAAGCGCCCGGCAAAGGCCTGGAATGGGTGG GATTCATTCGACATAAAGCGAACACGTATACCACCGA ATATAGCACATCTGTCAAGGGCCGGTTCACCATCTCC CGCGATGATTCCAAGAACAGCCTGTACCTGCAGATGA ACTCCCTGAAGACGGAAGATACCGCCGTCTATTATTG TGCCCGCGATCTGCCTGGCTTTGCCTATTGGGGCCA AGGCACTCTGGTCACCGTCTCCTCA
>h3G10.A62 VH 단백질	87	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS**GFTFSDYYMS**WV RQAPGKGLEWVGFI**RHKANLYT**TEYSTSVKGRFTISRD DSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCAR**DLPGFAY**WGQGT LVTVSS
>h3G10.A62 VH	88	GAAGTCCAGCTGGTTGAAAGTGGTGGCGGCCTGGTG CAGCCGGGCGGCTCTCTGCGCCTGTCATGCGCTGCA TCCGGCTTTACCTTCAGCGACTATTACATGAGCTGGG TTCGCCAAGCGCCCGGCAAAGGCCTGGAATGGGTGG

[0181]

설명	서열 번호	서열
DNA		GATTCATTCGACATAAAGCGAACCTGTATACCACCGA ATATAGCACATCTGTCAAGGGCCGGTTCACCATCTCC CGCGATGATTCCAAGAACAGCCTGTACCTGCAGATGA ACTCCCTGAAGACGGAAGATACCGCCGTCTATTATTG TGCCCGCGATCTGCCTGGCTTTGCCTATTGGGGCCA AGGCACTCTGGTCACCGTCTCCTCA
돌연변이된 h3G10 VH	106	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWV RQAPGKGLEWV X_1FIRHKX_2N$X_3$$X_4TX_5$EYST X_6 X_7 X_8GRFTISRD X_9SKN X_{10}LYLQMNSL X_{11} X_{12}EDTAVYYCA X_{13}DLPGFAYWGQGTLVTVSS 여기에서, X_1 은 G 또는 S이고/이거나; X_2 는 V 또는 A이고/이거나; X_3은 G, F, K, V, T, L 또는 I이고/이거나; X_4 는 E 또는 Y이고/이거나; X_5는 T 또는 R이고/이거나; X_6 은 W 또는 S이고/이거나; X_7은 D 또는 V이고/이거나; X_8 은 K, T 또는 R이고/이거나; X_9는 D 또는 N이고/이거나; X_{10} 은 T 또는 S이고/이거나; X_{11} 은 R 또는 K이고/이거나; X_{12} 는 A 또는 T이고/이거나; X_{13}은 K 또는 R이다(카밧).
h3G10.L94D VL 단백질	169	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC**KSSQSLFNSRTRKNYL A**WYQQKPGQPPKLLIY**WASARES**GVPDRFSGSGSGTD FTLTISSLQAEDVAVYYC**KQSFNDR**TFGGGTKVEIK
h3G10.L94D VL DNA	134	GACATCGTTATGACACAGTCACCAGATAGCTTAGCCG TGTCCCTGGGAGAACGTGCTACCATTAATTGCAAAAG CTCCCAGAGCCTGTTTAACAGCCGGACACGGAAGAA TTATCTGGCATGGTATCAGCAGAAACCCGGACAGCC GCCTAAGCTGCTGATTTATTGGGCCAGCGCACGCGA AAGTGGTGTGCCCGACCGCTTTTCCGGCAGCGGTAG TGGCACTGACTTCACCCTGACCATCTCAAGCTTGCAA GCCGAAGACGTGGCAGTATATTATTGCAAGCAGTCGT TCAATGATCGCACCTTTGGCGGCGGCACAAAAGTGG AGATCAAA

[0182]

[0183] 표 2에서, 밑줄 친 서열들은 카밧에 따른 CDR 서열들이고 짙은색 서열들은 코티아에 따른 서열들이다.

[0184] 본 발명은 또한 CXCR4에 대한 항체의 CDR 부분들(코티아, 카밧 CDR, 및 CDR 접촉 영역 포함)을 제공한다. CDR 영역의 측정은 당해 분야의 기술내에 충분히 있다. 본 발명의 일부 태양에서, CDR들은 카밧과 코티아 CDR의 조합(또한 "조합된 CR" 또는 "연장된 CDR"이라 칭한다)일 수 있다. 일부 실시태양에서, 상기 CDR들은 카밧 CDR들이다. 다른 실시태양에서, 상기 CDR들은 코티아 CDR들이다. 즉, 하나 초과의 CDR을 갖는 실시태양들에서, 상기 CDR들은 카밧, 코티아, 조합 CDR, 및 이들의 조합 중 임의의 것일 수 있다. 표 3 및 4는 본 발명에 제공된 CDR 서열들의 예를 제공한다.

[0185] [표 3]

중쇄			
mAb	**CDRH1**	**CDRH2**	**CDRH3**
m6B6	DYYMS (서열 번호 107) (카밧); GFTFTDY (서열 번호 108) (코티아) GFTFTDYYMS (서열번호 109) (연장된)	FIRNKANGYTTEYSASVKG (서열번호 110) (카밧); RNKANGYT (서열번호 111) (코티아)	DLPGFAY (서열번호 112)
h6B6 단백질	DYYMS (서열 번호 107) (카밧); GFTFSDY (서열 번호 113) (코티아) GFTFSDYYMS (서열번호 114) (연장된)	FIRNKANGYTTEYSASVKG (서열번호 110) (카밧); RNKANGYT (서열번호 111) (코티아)	DLPGFAY (서열번호 112)
m12A11	DYNIY (서열	YIDPYNGGTRYNQKFKG	TYGSRYVGAMDY

[0186]

	번호 115) (카밧); GYSFTDY (서열 번호 116) (코티아); GYSFTDYNIY (서열번호 117) (연장된)	(서열번호 118) (카밧); DPYNGG (서열번호 119) (코티아)	(서열번호 120)
h12A11	DYNIY (서열번호 115) (카밧); GYTFTDY (서열 번호 121) (코티아); GYTFTDYNIY (서열번호 122) (연장된)	YIDPYNGGTRYNQKFKG (서열번호 118) (카밧); DPYNGG (서열번호 119) (코티아)	TYGSRYVGAMDY (서열번호 120)
m3G10	DYYMS (서열번호 107) (카밧); GFTFTDY (서열 번호 108) (코티아); GFTFTDYYMS (서열번호 109) (연장된)	FIRHKANGYTTEYSTSVKG (서열번호 154) (카밧); RHKANGYT (서열번호 123) (코티아);	DLPGFAY (서열번호 112)
h3G10	DYYMS (서열번호 107) (카밧);	FIRHKANGYTTEYSTSVKG (서열번호 154) (카밧);	DLPGFAY (서열번호 112)

[0187]

	GFTFSDY (서열번호 113) (코티아); GFTFSDYYMS (서열번호 114) (연장된)	RHKANGYT (서열번호 123) (코티아);	
h3G10.A57	DYYMS (서열번호 107) (카밧); GFTFSDY (서열번호 113) (코티아); GFTFSDYYMS (서열번호 114) (연장된)	FIRHKANFYTTEYSTSVKG (서열번호 158) (카밧); RHKANFYT (서열번호 124) (코티아)	DLPGFAY (서열번호 112)
h3G10.B44	DYYMS (서열번호 107) (카밧); GFTFSDY (서열번호 113) (코티아); GFTFSDYYMS (서열번호 114) (연장된)	FIRHKANFYTTEYSTSVKG (서열번호 158) (카밧); RHKANFYT (서열번호 124) (코티아)	DLPGFAY (서열번호 112)
h3G10.1.7	DYYMS	FIRHKANKYTTEYSTSVKG	DLPGFAY

[0188]

	(서열번호 107) (카밧); GFTFSDY (서열번호 113) (코티아); GFTFSDYYMS (서열번호 114) (연장된)	(서열번호 159) (카밧); RHKANKYT (서열번호 125) (코티아)	(서열번호 112)
h3G10.1.60	DYYMS (서열번호 107) (카밧); GFTFSDY (서열번호 113) (코티아); GFTFSDYYMS (서열번호 114) (연장된)	FIRHKANVYTTEYSTSVKG (서열번호 160) (카밧); RHKANVYT (서열번호 126) (코티아)	DLPGFAY (서열번호 112)
h3G10.2.5	DYYMS (서열번호 107) (카밧); GFTFSDY (서열번호 113) (코티아); GFTFSDYYMS (서열번호 114) (연장된)	FIRHKANIYTTEYSTSVKG (서열번호 161) (카밧); RHKANIYT (서열번호 127) (코티아);	DLPGFAY (서열번호 112)
h3G10.1.91	DYYMS (서열번호 107)	FIRHKANFETTEYSTSVKG (서열번호 162) (카밧);	DLPGFAY (서열번호 112)

[0189]

	(카밧); GFTFSDY (서열 번호 113) (코티아); GFTFSDYYMS (서열번호: 114) (연장된)	RHKANFET (서열번호 128) (코티아)	
h3G10.2.37	DYYMS (서열번호 107) (카밧); GFTFSDY (서열 번호 113) (코티아); GFTFSDYYMS (서열번호 114) (연장된)	FIRHKANFYTREYSTSVKG (서열번호 163) (카밧); RHKANFYT (서열번호 124) (코티아)	DLPGFAY (서열번호 112)
h3G10.2.45	DYYMS (서열번호 107) (카밧); GFTFSDY (서열 번호 113) (코티아); GFTFSDYYMS (서열번호 114) (연장된)	FIRHKANFYTTEYSTWVKG (서열번호 164) (카밧); RHKANFYT (서열번호 124) (코티아);	DLPGFAY (서열번호 112)
h3G10.2.54	DYYMS (서열번호 107) (카밧);	FIRHKANFYTTEYSTSVRG (서열번호 165) (카밧);	DLPGFAY (서열번호 112)

[0190]

	GFTFSDY (서열 번호 113) (코티아); GFTFSDYYMS (서열번호: 114) (연장된)	RHKANFYT (서열번호 124) (코티아)	
h3G10.2.42	DYYMS (서열번호 107) (카밧); GFTFSDY (서열 번호 113) (코티아); GFTFSDYYMS (서열번호: 114) (연장된)	FIRHKVNFYTTEYSTSVKG (서열번호 166) (카밧); RHKVNFYT (서열번호 127) (코티아)	DLPGFAY (서열번호 112)
h3G10.1.33	DYYMS (서열번호 107) (카밧); GFTFSDY (서열 번호 113) (코티아); GFTFSDYYMS (서열번호: 114) (연장된)	FIRHKANFYTTEYSTSVTG (서열번호 167) (카밧); RHKANFYT (서열번호 124) (코티아);	DLPGFAY (서열번호 112)
h3G10.3.25	DYYMS (서열번호 107) (카밧);	FIRHKANFYTTEYSTSDKG (서열번호 168) (카밧);	DLPGFAY (서열번호 112)

[0191]

	GFTFSDY (서열 번호 113) (코티아); GFTFSDYYMS (서열번호: 114) (연장된)	RHKANFYT (서열번호 124) (코티아)	
h3G10.A59 VH	DYYMS (서열번호 107) (카밧); GFTFSDY (서열 번호 113) (코티아); GFTFSDYYMS (서열번호: 114) (연장된)	FIRHKANTYTTEYSTSVKG (서열번호 155) (카밧); RHKANTYT (서열번호 129) (코티아)	DLPGFAY (서열번호 112)
h3G10.A62 VH	DYYMS (서열번호 107) (카밧); GFTFSDY (서열 번호 113) (코티아); GFTFSDYYMS (서열번호 114) (연장된)	FIRHKANLYTTEYSTSVKG (서열번호 156) (카밧); RHKANLYT (서열번호 130) (코티아);	DLPGFAY (서열번호 112)

[0192]

돌연변이된 h3G10 HV	DYYMS (서열번호 107) (연장된)	FIRHKX_2N$X_3$$X_4TX_5$EYST X_6 X_7 X_8G 여기에서, X_1 은 R 또는 K이고; X_2 는 S 또는 A이고; X_3은 W, N 또는 Q이고; X_4 는 H 또는 R이고; X_5 는 T 또는 F이고; X_6 은 A, L, N, 또는 M이다. (서열번호 157) (카밧);	DLPGFAY (서열번호 112)

[0193]

[0194] [표 4]

경쇄			
mAb	**CDRL1**	**CDRL2**	**CDRL3**
m6B6	KSSQSLYNSRTRKNYLA (서열번호 131)	WASARES (서열번호 132)	KQSYNLRT (서열번호 133)
h6B6	KSSQSLYNSRTRKNYLA (서열번호 131)	WASARES (서열번호 132)	KQSYNLRT (서열번호 133)
m12A11	RSSKSLLHSNGNTYLY (서열번호 135)	RMSNPAS (서열번호 136)	MQHLEYPLT (서열번호 137)
h12A11	RSSKSLLHSNGNTYLY (서열번호 135)	RMSNPAS (서열번호 136)	MQHLEYPLT (서열번호 137)
m3G10	KSSQSLFNSRTRKNYLA (서열번호 138)	WASARES (서열번호 132)	KQSFNLRT (서열번호 139)
h3G10	KSSQSLFNSRTRKNYLA (서열번호 138)	WASARES (서열번호 132)	KQSFNLRT (서열번호 139)
h3G10.2.72	KSSQSLFNSRTRKNYLA (서열번호 138)	WASARES (서열번호 132)	KQSFRLRT (서열번호 140)
h3G10.A11A	KSAQSLFNSRTRKNYLA	WASARES	KQSFRLRT

[0195]

	(서열번호 141)	(서열번호 132)	(서열번호 140)
h3G10.A18A	KSSWSLFNSRTRKNYLA (서열번호 142)	WASARES (서열번호 132)	KQSFRLRT (서열번호 140)
h3G10.A19A	KSSNSLFNSRTRKNYLA (서열번호 143)	WASARES (서열번호 132)	KQSFRLRT (서열번호 140)
h3G10.A58A	KSSQSLFNSHTRKNYLA (서열번호 144)	WASARGS (서열번호 145)	KQSFRLRT (서열번호 140)
h3G10.A65A	KSSQSLFNSRFRKNYLA (서열번호 146)	WASARES (서열번호 132)	KQSFRLRT (서열번호 140)
h3G10.B12A	KSSQSLFNSRTRKNYLL (서열번호 147)	WASARES (서열번호 132)	KQSFRLRT (서열번호 140)
h3G10.B13A	KSSQSLFNSRTRKNYLN (서열번호 148)	WASARES (서열번호 132)	KQSFRLRT (서열번호 140)
h3G10.B18A	KSSQSLFNSRTRKNYLM (서열번호 149)	WASARES (서열번호 132)	KQSFRLRT (서열번호 140)
h3G10.A11B	KSAQSLFNSRTRKNYLA (서열번호 141)	WASARES (서열번호 132)	KQSFNLRT (서열번호 139)
h3G10.A18B	KSSWSLFNSRTRKNYLA (서열번호 142)	WASARES (서열번호 132)	KQSFNLRT (서열번호 139)
h3G10.A19B	KSSNSLFNSRTRKNYLA (서열번호 143)	WASARES (서열번호 132)	KQSFNLRT (서열번호 139)
h3G10.A58B	KSSQSLFNSHTRKNYLA (서열번호 144)	WASARGS (서열번호 145)	KQSFNLRT (서열번호 139)
h3G10.A65B	KSSQSLFNSRFRKNYLA (서열번호 146)	WASARES (서열번호 132)	KQSFNLRT (서열번호 139)
h3G10.B12B	KSSQSLFNSRTRKNYLL	WASARES	KQSFNLRT

[0196]

	(서열번호 147)	(서열번호 132)	(서열번호 139)
h3G10.B13B	KSSQSLFNSRTRKNYLN (서열번호 148)	WASARES (서열번호 132)	KQSFNLRT (서열번호 139)
h3G10.B18B	KSSQSLFNSRTRKNYLM (서열번호 149)	WASARES (서열번호 132)	KQSFNLRT (서열번호 139)
h3G10.2.25	RSSQSLFNSRTRKNYLA (서열번호 150)	WASARES (서열번호 132)	KQSFRLRT (서열번호 140)
돌연변이된 h3G10 VL	$X_1S\ X_2\ X_3$ SLFNSX_4X_5RKNYL X_6 여기에서, X_1 은 R 또는 K이고; X_2 는 S 또는 A이고; X_3은 W, N 또는 Q이고; X_4 는 H 또는 R이고; X_5 는 T 또는 F이고; X_6은 A, L, N, 또는 M이다. (서열번호 151) (카밧)	WASAR X_1S 여기에서 X_1 은 E 또는 G이다 (서열번호 152) (카밧)	KQSF X_1LRT 여기에서 X_1 은 N 또는 R이다 (서열번호 153) (카밧)
h3G10.L94D	KSSQSLFNSRTRKNYLA (서열번호 138)	WASARES (서열번호 132)	KQSFNDR (서열번호 170)

[0197]

[0198] 하나의 태양에서, 본 발명은 CXCR4에 결합하고 본 발명에 개시된 항체, 예를 들어 m6B6, h6B6, m12A11, h12A11, m3G10, h3G10, h3G10.A57, h3G10.B44, h3G10.1.7, h3G10.1.60, h3G10.2.5, h3G10.1.91, h3G10.2.37, h3G10.2.45, h3G10.2.42, h3G10.1.33, h3G10.3.25, h3G10, h3G10.2.72, h3G10.A11A, h3G10.A18A, h3G10.A19A, h3G10.A58A, h3G10.A65A, 및 h3G10.B12A, h3G10.B13A, h3G10.B18A, h3G10.A11B, h3G10.A18B, h3G10.A19B, h3G10.A58B, h3G10.A65B, h3G10.B12B, h3G10.B13B, h3G10.B18B, h3G10.2.25, h3G10.A59, h3G10.A62, 또는 h3G10.L94D와 경쟁하는 항체를 제공한다.

[0199] 또 다른 태양에서, 상기 항체는 항체 m6B6, h6B6, m12A11, h12A11, m3G10, h3G10, h3G10.A57, h3G10.B44, h3G10.1.7, h3G10.1.60, h3G10.2.5, h3G10.1.91, h3G10.2.37, h3G10.2.45, h3G10.2.42, h3G10.1.33, h3G10.3.25, h3G10, h3G10.2.72, h3G10.A11A, h3G10.A18A, h3G10.A19A, h3G10.A58A, h3G10.A65A, 및 h3G10.B12A, h3G10.B13A, h3G10.B18A, h3G10.A11B, h3G10.A18B, h3G10.A19B, h3G10.A58B, h3G10.A65B, h3G10.B12B, h3G10.B13B, h3G10.B18B, h3G10.2.25, h3G10.A59, h3G10.A62, 또는 h3G10.L94D와, CXCR4의 결합에 대해서 경쟁한다.

[0200] 본 발명의 일부 태양에서, 상기 항체는 본 발명의 항체와 CXCR4의 결합에 대해서 경쟁하며 표면 플라스몬 공명에 의해 측정시 약 6.5 nM, 6.0 nM, 5.5 nM, 5.0 nM, 4.5 nM, 4.0 nM, 3.5 nM, 3.0 nM, 2.5 nM, 2.0 nM, 1.5 nM, 1.0 nM, 0.5 nM, 및 0.25 nM 중 어느 하나 또는 약 이들 중 어느 하나 미만의 1가 항체 결합 친화성(K_D)을 갖는다. 본 발명의 일부 태양에서, 상기 항체는 항체 h3G10과 CXCR4의 결합에 대해서 경쟁하며 30 nM, 25 nM, 22 nM, 20 nM, 15 nM, 및 10 nM 중 어느 하나 또는 약 이들 중 어느 하나 미만의 1가 항체 결합 친화성(K_D)을 갖는다.

[0201] 일부 태양에서, 본 발명은 또한 CDR 접촉 영역에 근거한 항-CXCR4 항체에 대한 항체의 CDR 부분을 제공한다. CDR 접촉 영역은 항체에 항원에 대한 특이성을 스며들게 하는 상기 항체의 영역이다. 일반적으로, CDR 접촉 영역은 상기 CDR 및 특이적인 항원에 결합하는 항체에 적합한 고리 구조를 유지시키기 위해 구속되는 버니어(Vernier) 대역 중의 잔기 위치들을 포함한다. 예를 들어 문헌[Makabe et al., J. Biol. Chem., 283:1156-1166, 2007]을 참조한다. CDR 접촉 영역의 측정은 충분히 당해 분야의 기술내에 있다.

[0202] 본 발명의 일부 태양에서, 케모카인 수용체 4(CXCR4)에 결합하는 단리된 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 (i) 서열번호 107, 113, 114, 108, 109, 115, 116, 117, 121 및 122로 이루어진 군 중에서 선택된 VH CDR1; (ii) 서열번호 162, 128, 110, 111, 118, 119, 154, 123, 158, 124, 159, 125, 160, 126, 161, 127, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 155, 129, 156 및 130으로 이루어진 군 중에서 선택된 VH CDR2; 및 (iii) 서열번호 112

및 120으로 이루어진 군 중에서 선택된 VH CDR3을 포함하는 중쇄 가변(VH) 영역; 및/또는 b) (i) 서열번호 144, 131, 135, 138, 141, 142, 143, 146, 147, 148, 149, 150 및 151로 이루어진 군 중에서 선택된 VL CDR1; (ii) 서열번호 145, 132, 136 및 152로 이루어진 군 중에서 선택된 VL CDR2; 및 (iii) 서열번호 139, 133, 137, 140 및 153으로 이루어진 군 중에서 선택된 VL CDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL) 영역을 포함한다.

[0203] 하나의 태양에서, CXCR4에 결합하는 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 서열번호 107, 113, 114, 108, 109, 115, 116, 117, 121, 122, 162, 128, 110, 111, 118, 119, 154, 123, 158, 124, 159, 125, 160, 126, 161, 127, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 155, 129, 156, 130, 112 및 120에 적어도 90%, 92%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 일치하는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변(VH) CDR 영역을 포함한다. 하나의 태양에서, CXCR4에 결합하는 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 서열번호 144, 131, 135, 138, 141, 142, 143, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 145, 132, 136 및 152, 139, 133, 137, 140 및 153에 적어도 90%, 92%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 일치하는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변(VL) CDR 영역을 포함한다.

[0204] 본 발명의 일부 태양에서, CXCR4에 결합하는 단리된 항체, 또는 그의 항원 결합 단편은 a) (i) 서열번호 107, 113, 114, 108, 109, 115, 116, 117, 121 및 122로 나타낸 서열을 포함하는 VH CDR1; (ii) 서열번호 162, 128, 110, 111, 118, 119, 154, 123, 158, 124, 159, 125, 160, 126, 161, 127, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 155, 129, 156 및 130으로 나타낸 서열을 포함하는 VH CDR2; 및 (iii) 서열번호 112 또는 120으로 나타낸 서열을 포함하는 VH CDR3으로 이루어진 군 중에서 선택된 상보성 결정 영역을 포함하는 중쇄 가변(VH) 영역; 및/또는 b) (i) 서열번호 144, 131, 135, 138, 141, 142, 143, 146, 147, 148, 149, 150 또는 151로 나타낸 서열을 포함하는 VL CDR1; (ii) 서열번호 145, 132, 136 또는 152로 나타낸 서열을 포함하는 VL CDR2; 및 (iii) 서열번호 139, 133, 137, 140 또는 153으로 나타낸 서열을 포함하는 VL CDR3으로 이루어진 군 중에서 선택된 상보성 결정 영역을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL) 영역을 포함한다. 본 발명의 일부 태양에서, CXCR4에 결합하는 단리된 항체, 또는 그의 항원 결합 단편은 a) (i) 서열 $X_1SX_2X_3SLFNSX_4X_5RKNYLX_6$(여기에서 X_1은 R 또는 K이고/이거나; X_2는 S 또는 A이고/이거나; X_3은 W, N 또는 Q이고; X_4는 H 또는 R이고/이거나; X_5는 T 또는 F이고/이거나; X_6은 A, L, N 또는 M이다)(서열번호 151)을 포함하는 VL CDR1; (ii) 서열 $WASARX_1S$(여기에서 X_1는 G 또는 E이다)(서열번호 152)를 포함하는 VL CDR2; 및 (iii) 서열 $KQSFX_1LRT$(여기에서 X_1은 N 또는 R이다)(서열번호 153)을 포함하는 VL CDR3을 포함하는 경쇄 가변(VL) 영역; 및/또는 b) (i) 서열번호 107, 108, 109, 113 또는 114로 나타낸 서열을 포함하는 VH CDR1; (ii) 서열번호 157로 나타낸 서열을 포함하는 VH CDR2; 및 (iii) 서열번호 112로 나타낸 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함하는 중쇄 가변(VH) 영역을 포함한다.

[0205] 또 다른 태양에서, 본 발명은 케모카인 수용체 4(CXCR4)에 결합하고 $EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWVRQAPGKGLEWVX_1FIRHKX_2NX_3X_4TX_5EYSTX_6X_7X_8GRFTISRDX_9SKNX_{10}LYLQMNSLX_{11}X_{12}ED$ $TAVYYCAX_{13}DLPGFAYWGQGTLVTVSS$(서열번호 106)(여기에서 X_1은 G 또는 S이고/이거나; X_2는 V 또는 A이고/이거나; X_3은 G, F, K, V, T, L 또는 I이고/이거나; X_4는 E 또는 Y이고/이거나; X_5는 T 또는 R이고/이거나; X_6은 W 또는 S이고/이거나; X_7은 D 또는 V이고/이거나; X_8은 K, T 또는 R이고/이거나; X_9는 D 또는 N이고/이거나; X_{10}은 T 또는 S이고/이거나; X_{11}은 R 또는 K이고/이거나; X_{12}는 A 또는 T이고/이거나; X_{13}은 K 또는 R이다)를 포함하는 중쇄 가변(VH) 영역 서열을 포함하는 단리된 항체, 또는 그의 항원 결합 단편을 제공한다.

[0206] 본 발명의 일부 태양에서, 케모카인 수용체 4(CXCR4)에 결합하는 단리된 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 a) 서열번호 107, 113 또는 114의 VH CDR1; 서열번호 162 또는 128의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 중쇄 가변(VH) 영역, 및 서열번호 144의 VL CDR1; 서열번호 145의 VL CDR2 및 서열번호 139의 VL CDR3을 갖는 경쇄 가변(VL) 영역; b) 서열번호 115, 116, 117, 121 또는 122의 VH CDR1; 서열번호 118 또는 119의 VH CDR2 및 서열번호 120의 VH CDR3을 갖는 VH 영역, 및 서열번호 135의 VL CDR1; 서열번호 136의 VL CDR2 및 서열번호 137의 VL CDR3을 갖는 VL 영역; c) 서열번호 107, 108, 109, 113 또는 114의 VH CDR1; 서열번호 110 또는 111의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 VH 영역, 및 서열번호 131의 VL CDR1; 서열번호 132의 VL CDR2 및 서열번호 133의 VL CDR3을 갖는 VL 영역; d) 서열번호 107, 108, 109, 113 또는 114의 VH CDR1; 서열번호 154 또는 123의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 VH 영역, 및 서열번호 138의 VL CDR1; 서열번호 132의 VL CDR2 및 서열번호 139의 VL CDR3을 갖는 VL 영역; 및 e) 서열번호 107, 108, 109, 113 또는 114의 VH CDR1; 서열번호 157의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 VH 영역, 및 서열번호 151의 VL CDR1; 서열번호 152의 VL CDR2 및 서열번호 153의 VL CDR3을 갖는 VL 영역으로 이루어진 군 중에서 선택된다.

[0207] 본 발명의 일부 태양에서, 케모카인 수용체 4(CXCR4)에 결합하는 단리된 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 a) 서열번호 107의 VH CDR1; 서열번호 162의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 중쇄 가변(VH) 영역, 및 서열번호 144의 VL CDR1; 서열번호 145의 VL CDR2 및 서열번호 139의 VL CDR3을 갖는 경쇄 가변(VL) 영역; b) 서열번호 115의 VH CDR1; 서열번호 118의 VH CDR2 및 서열번호 120의 VH CDR3을 갖는 VH 영역, 및 서열번호 135의 VL CDR1; 서열번호 136의 VL CDR2 및 서열번호 137의 VL CDR3을 갖는 VL 영역; c) 서열번호 107의 VH CDR1; 서열번호 110의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 VH 영역, 및 서열번호 131의 VL CDR1; 서열번호 132의 VL CDR2 및 서열번호 133의 VL CDR3을 갖는 VL 영역; d) 서열번호 107의 VH CDR1; 서열번호 154의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 VH 영역, 및 서열번호 138의 VL CDR1; 서열번호 132의 VL CDR2 및 서열번호 139의 VL CDR3을 갖는 VL 영역; 및 e) 서열번호 107의 VH CDR1; 서열번호 157의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 VH 영역, 및 서열번호 151의 VL CDR1; 서열번호 152의 VL CDR2 및 서열번호 153의 VL CDR3을 갖는 VL 영역으로 이루어진 군 중에서 선택된다.

[0208] 본 발명의 일부 태양에서, 케모카인 수용체 4(CXCR4)에 결합하는 단리된 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 a) 서열번호 107의 VH CDR1; 서열번호 158의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 중쇄 가변(VH) 영역, 및 서열번호 138의 VL CDR1; 서열번호 132의 VL CDR2 및 서열번호 139의 VL CDR3을 갖는 경쇄 가변(VL) 영역; b) 서열번호 107의 VH CDR1; 서열번호 158의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 VH 영역, 및 서열번호 138의 VL CDR1; 서열번호 132의 VL CDR2 및 서열번호 140의 VL CDR3을 갖는 VL 영역; c) 서열번호 107의 VH CDR1; 서열번호 158의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 VH 영역, 및 서열번호 150의 VL CDR1; 서열번호 132의 VL CDR2 및 서열번호 140의 VL CDR3을 갖는 VL 영역; d) 서열번호 107의 VH CDR1; 서열번호 158의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 VH 영역, 및 서열번호 141의 VL CDR1; 서열번호 132의 VL CDR2 및 서열번호 140의 VL CDR3을 갖는 VL 영역; e) 서열번호 107의 VH CDR1; 서열번호 158의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 VH 영역, 및 서열번호 144의 VL CDR1; 서열번호 145의 VL CDR2 및 서열번호 140의 VL CDR3을 갖는 VL 영역; f) 서열번호 107의 VH CDR1; 서열번호 158의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 VH 영역, 및 서열번호 147의 VL CDR1; 서열번호 132의 VL CDR2 및 서열번호 140의 VL CDR3을 갖는 VL 영역; g) 서열번호 107의 VH CDR1; 서열번호 159의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 VH 영역, 및 서열번호 138의 VL CDR1; 서열번호 132의 VL CDR2 및 서열번호 140의 VL CDR3을 갖는 VL 영역; h) 서열번호 107의 VH CDR1; 서열번호 160의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 VH 영역, 및 서열번호 138의 VL CDR1; 서열번호 132의 VL CDR2 및 서열번호 140의 VL CDR3을 갖는 VL 영역; i) 서열번호 107의 VH CDR1; 서열번호 161의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 VH 영역, 및 서열번호 138의 VL CDR1; 서열번호 132의 VL CDR2 및 서열번호 140의 VL CDR3을 갖는 VL 영역; j) 서열번호 107의 VH CDR1; 서열번호 162의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 VH 영역, 및 서열번호 138의 VL CDR1; 서열번호 132의 VL CDR2 및 서열번호 140의 VL CDR3을 갖는 VL 영역; k) 서열번호 107의 VH CDR1; 서열번호 163의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 VH 영역, 및 서열번호 138의 VL CDR1; 서열번호 132의 VL CDR2 및 서열번호 140의 VL CDR3을 갖는 VL 영역; l) 서열번호 107의 VH CDR1; 서열번호 164의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 VH 영역, 및 서열번호 138의 VL CDR1; 서열번호 132의 VL CDR2 및 서열번호 140의 VL CDR3을 갖는 VL 영역; m) 서열번호 107의 VH CDR1; 서열번호 165의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 VH 영역, 및 서열번호 138의 VL CDR1; 서열번호 132의 VL CDR2 및 서열번호 140의 VL CDR3을 갖는 VL 영역; o) 서열번호 107의 VH CDR1; 서열번호 166의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 VH 영역, 및 서열번호 138의 VL CDR1; 서열번호 132의 VL CDR2 및 서열번호 140의 VL CDR3을 갖는 VL 영역; p) 서열번호 107의 VH CDR1; 서열번호 167의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 VH 영역, 및 서열번호 138의 VL CDR1; 서열번호 132의 VL CDR2 및 서열번호 140의 VL CDR3을 갖는 VL 영역; q) 서열번호 107의 VH CDR1; 서열번호 168의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 VH 영역, 및 서열번호 138의 VL CDR1; 서열번호 132의 VL CDR2 및 서열번호 140의 VL CDR3을 갖는 VL 영역; r) 서열번호 107의 VH CDR1; 서열번호 168의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 VH 영역, 및 서열번호 138의 VL CDR1; 서열번호 132의 VL CDR2 및 서열번호 140의 VL CDR3을 갖는 VL 영역; s) 서열번호 107의 VH CDR1; 서열번호 163의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 VH 영역, 및 서열번호 144의 VL CDR1; 서열번호 145의 VL CDR2 및 서열번호 140의 VL CDR3을 갖는 VL 영역; t) 서열번호 107의 VH CDR1; 서열번호 158의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 VH 영역, 및 서열번호 144의 VL CDR1; 서열번호 145의 VL CDR2 및 서열번호 139의 VL CDR3을 갖는 VL 영역; u) 서열번호 107의 VH CDR1; 서열번호 162의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 VH 영역, 및 서열번호 144의 VL CDR1; 서열번호 145의 VL CDR2 및 서열번호 139의 VL CDR3을 갖는 VL 영역; v) 서열번호 107의 VH CDR1; 서열번호 163의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 VH 영역, 및 서열번호 144의 VL CDR1; 서열번호 145의 VL CDR2 및 서열번호 139의 VL CDR3을 갖는 VL 영역; 및

w) 서열번호 107의 VH CDR1; 서열번호 162의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 VH 영역, 및 서열번호 144의 VL CDR1; 서열번호 145의 VL CDR2 및 서열번호 140의 VL CDR3을 갖는 VL 영역으로 이루어진 군 중에서 선택된다.

[0209] 본 발명의 일부 태양에서, 단리된 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 서열번호 107, 162 및 112로 나타낸 3개의 CDR을 포함하는 중쇄 가변(VH) 영역을 포함한다. 본 발명의 일부 태양에서, 단리된 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 서열번호 144, 145 및 139로 나타낸 3개의 CDR을 포함하는 경쇄 가변(VL) 영역을 포함한다. 본 발명의 일부 태양에서, 단리된 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 a) 서열번호 107, 162 및 112로 나타낸 3개의 CDR을 포함하는 중쇄 가변(VH) 영역; 및 b) 서열번호 144, 145 및 139로 나타낸 3개의 CDR을 포함하는 경쇄 가변(VL) 영역을 포함한다.

[0210] 본 발명의 일부 태양에서, 단리된 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 서열번호 33의 VH 영역으로부터의 VH CDR1, VH CDR2 및 VH CDR3을 포함하는 중쇄 가변(VH) 영역을 포함한다. 본 발명의 일부 태양에서, 단리된 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 서열번호 73의 VL 영역으로부터의 VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3을 포함하는 경쇄 가변(VL) 영역을 포함한다. 본 발명의 더욱 다른 태양에서, 단리된 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 a) 서열번호 33의 VH 영역으로부터의 VH CDR1, VH CDR2 및 VH CDR3을 포함하는 중쇄 가변(VH) 영역; 및 b) 서열번호 73의 VL 영역으로부터의 VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3을 포함하는 경쇄 가변(VL) 영역을 포함한다.

[0211] 본 발명의 일부 태양에서, 단리된 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 a) 서열번호 33의 VH 영역 및 서열번호 73의 VL 영역을 포함하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편; b) 서열번호 13의 VH 영역 및 서열번호 15의 VL 영역을 포함하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편; c) 서열번호 5의 VH 영역 및 서열번호 7의 VL 영역을 포함하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편; d) 서열번호 21의 VH 영역 및 서열번호 47의 VL 영역을 포함하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편; 및 e) 서열번호 106의 VH 영역, 및 서열번호 138의 VL CDR1; 서열번호 132의 VL CDR2; 및 서열번호 139의 VL CDR3을 갖는 VL 영역을 포함하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편으로 이루어진 군 중에서 선택된다.

[0212] 본 발명의 하나의 태양에서, 단리된 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 a) 서열번호 33의 중쇄 가변(VH) 영역; 및/또는 b) 서열번호 73의 경쇄 가변(VL) 영역을 포함한다.

[0213] 하나의 태양에서, 본 발명은 CXCR4에 결합하는 단리된 항체 또는 그의 항원 결합 단편을 제공하며, 여기에서 상기 항체는 서열번호 1, 5, 9, 13, 17, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 85, 87 또는 106에 나타낸 서열을 포함하는 중쇄 가변(VH) 영역; 및/또는 서열번호 3, 7, 11, 15, 19, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75, 77, 79, 81, 83, 또는 169에 나타낸 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL) 영역을 포함한다. 하나의 태양에서, CXCR4에 결합하는 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 서열번호 1, 5, 9, 13, 17, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 85, 87 또는 106에 적어도 90%, 92%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 일치하는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변(VH) 영역을 포함한다. 하나의 태양에서, CXCR4에 결합하는 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 서열번호 3, 7, 11, 15, 19, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75, 77, 79, 81, 83, 또는 169에 적어도 90%, 92%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 일치하는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL) 영역을 포함한다.

[0214] 본 발명의 일부 태양에서, a) 서열번호 33의 VH 영역 및 서열번호 73의 VL 영역을 포함하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편; b) 서열번호 13의 VH 영역 및 서열번호 15의 VL 영역을 포함하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편; c) 서열번호 5의 VH 영역 및 서열번호 7의 VL 영역을 포함하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편; d) 서열번호 21의 VH 영역 및 서열번호 47의 VL 영역을 포함하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편; 및 e) 서열번호 106의 VH 영역, 및 서열번호 138의 VL CDR1; 서열번호 132의 VL CDR2; 및 서열번호 139의 VL CDR3을 갖는 VL 영역을 포함하는 항체 또는 그의 항원 결합 단편으로 이루어진 군 중에서 선택된 청구항 6의 단리된 항체 또는 그의 항원 결합 단편을 제공한다.

[0215] 본 발명의 일부 태양에서, 상기 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 a) 서열번호 33의 중쇄 가변(VH) 영역; 및/또는 b) 서열번호 73의 경쇄 가변(VL) 영역을 포함한다. 특정한 태양에서, 상기 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 ATCC 기탁 번호 PTA-121353을 갖는 발현 벡터에 의해 생성된 중쇄 가변(VH) 영역을 포함한다. 다른 태양에서, 상기 항체 또는 항원 결합 단편은 ATCC 기탁 번호 PTA-121354를 갖는 발현 벡터에 의해 생성된 경쇄 가변(VL) 영역을 포함한다.

[0216] 본 발명의 일부 태양에서, 케모카인 수용체 4(CXCR4)에 결합하는 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 a) 서열번호

107의 VH CDR1; 서열번호 158의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 중쇄 가변(VH) 영역, 및 서열번호 138의 VL CDR1; 서열번호 132의 VL CDR2 및 서열번호 139의 VL CDR3을 갖는 경쇄 가변(VL) 영역; b) 서열번호 107의 VH CDR1; 서열번호 158의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 VH 영역, 및 서열번호 138의 VL CDR1; 서열번호 132의 VL CDR2 및 서열번호 140의 VL CDR3을 갖는 VL 영역; c) 서열번호 107의 VH CDR1; 서열번호 158의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 VH 영역, 및 서열번호 150의 VL CDR1; 서열번호 132의 VL CDR2 및 서열번호 140의 VL CDR3을 갖는 VL 영역; d) 서열번호 107의 VH CDR1; 서열번호 158의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 VH 영역, 및 서열번호 141의 VL CDR1; 서열번호 132의 VL CDR2 및 서열번호 140의 VL CDR3을 갖는 VL 영역; e) 서열번호 107의 VH CDR1; 서열번호 158의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 VH 영역, 및 서열번호 144의 VL CDR1; 서열번호 145의 VL CDR2 및 서열번호 140의 VL CDR3을 갖는 VL 영역; f) 서열번호 107의 VH CDR1; 서열번호 158의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 VH 영역, 및 서열번호 147의 VL CDR1; 서열번호 132의 VL CDR2 및 서열번호 140의 VL CDR3을 갖는 VL 영역; g) 서열번호 107의 VH CDR1; 서열번호 159의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 VH 영역, 및 서열번호 138의 VL CDR1; 서열번호 132의 VL CDR2 및 서열번호 140의 VL CDR3을 갖는 VL 영역; h) 서열번호 107의 VH CDR1; 서열번호 160의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 VH 영역, 및 서열번호 138의 VL CDR1; 서열번호 132의 VL CDR2 및 서열번호 140의 VL CDR3을 갖는 VL 영역; i) 서열번호 107의 VH CDR1; 서열번호 161의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 VH 영역, 및 서열번호 138의 VL CDR1; 서열번호 132의 VL CDR2 및 서열번호 140의 VL CDR3을 갖는 VL 영역; j) 서열번호 107의 VH CDR1; 서열번호 162의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 VH 영역, 및 서열번호 138의 VL CDR1; 서열번호 132의 VL CDR2 및 서열번호 140의 VL CDR3을 갖는 VL 영역; k) 서열번호 107의 VH CDR1; 서열번호 163의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 VH 영역, 및 서열번호 138의 VL CDR1; 서열번호 132의 VL CDR2 및 서열번호 140의 VL CDR3을 갖는 VL 영역; l) 서열번호 107의 VH CDR1; 서열번호 164의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 VH 영역, 및 서열번호 138의 VL CDR1; 서열번호 132의 VL CDR2 및 서열번호 140의 VL CDR3을 갖는 VL 영역; m) 서열번호 107의 VH CDR1; 서열번호 165의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 VH 영역, 및 서열번호 138의 VL CDR1; 서열번호 132의 VL CDR2 및 서열번호 140의 VL CDR3을 갖는 VL 영역; n) 서열번호 107의 VH CDR1; 서열번호 166의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 VH 영역, 및 서열번호 138의 VL CDR1; 서열번호 132의 VL CDR2 및 서열번호 140의 VL CDR3을 갖는 VL 영역; o) 서열번호 107의 VH CDR1; 서열번호 167의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 VH 영역, 및 서열번호 138의 VL CDR1; 서열번호 132의 VL CDR2 및 서열번호 140의 VL CDR3을 갖는 VL 영역; p) 서열번호 107의 VH CDR1; 서열번호 168의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 VH 영역, 및 서열번호 138의 VL CDR1; 서열번호 132의 VL CDR2 및 서열번호 140의 VL CDR3을 갖는 VL 영역; q) 서열번호 107의 VH CDR1; 서열번호 168의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 VH 영역, 및 서열번호 138의 VL CDR1; 서열번호 132의 VL CDR2 및 서열번호 140의 VL CDR3을 갖는 VL 영역; r) 서열번호 107의 VH CDR1; 서열번호 163의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 VH 영역, 및 서열번호 144의 VL CDR1; 서열번호 145의 VL CDR2 및 서열번호 140의 VL CDR3을 갖는 VL 영역; s) 서열번호 107의 VH CDR1; 서열번호 158의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 VH 영역, 및 서열번호 144의 VL CDR1; 서열번호 145의 VL CDR2 및 서열번호 139의 VL CDR3을 갖는 VL 영역; t) 서열번호 107의 VH CDR1; 서열번호 162의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 VH 영역, 및 서열번호 144의 VL CDR1; 서열번호 145의 VL CDR2 및 서열번호 139의 VL CDR3을 갖는 VL 영역; u) 서열번호 107의 VH CDR1; 서열번호 163의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 VH 영역, 및 서열번호 144의 VL CDR1; 서열번호 145의 VL CDR2 및 서열번호 139의 VL CDR3을 갖는 VL 영역; 및 v) 서열번호 107의 VH CDR1; 서열번호 162의 VH CDR2 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 VH 영역, 및 서열번호 144의 VL CDR1; 서열번호 145의 VL CDR2 및 서열번호 140의 VL CDR3을 갖는 VL 영역으로 이루어진 군 중에서 선택된다.

[0217] 본 발명의 특정한 태양에서, 상기 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 서열번호 107의 VH CDR1; 서열번호 162의 VH CDR2; 및 서열번호 112의 VH CDR3을 갖는 VH 영역, 및 서열번호 144의 VL CDR1; 서열번호 145의 VL CDR2 및 서열번호 139의 VL CDR3을 갖는 VL 영역을 포함한다.

[0218] CXCR4(예를 들어 인간 CXCR4)에 대한 본 발명에 개시된 바와 같은 항-CXCR4 항체, 또는 그의 항원-결합 단편의 결합 친화성(K_D)은 약 0.002 내지 약 200 nM이다. 본 발명의 일부 태양에서, 상기 결합 친화성은 약 200 nM, 약 100 nM, 약 50 nM, 약 45 nM, 약 40 nM, 약 35 nM, 약 30 nM, 약 25 nM, 약 20 nM, 약 15 nM, 약 10 nM, 약 8 nM, 약 7.5 nM, 약 7 nM, 약 6.5 nM, 약 6 nM, 약 5.5 nM, 약 5 nM, 약 4 nM, 약 3 nM, 약 2 nM, 약 1 nM, 약 500 pM, 약 100 pM, 약 60 pM, 약 50 pM, 약 20 pM, 약 15 pM, 약 10 pM, 약 5 pM, 및 약 2 pM 중 어느 하나이다. 본 발명의 일부 태양에서, 상기 결합 친화성은 약 250 nM, 약 200 nM, 약 100 nM, 약 50 nM, 약 30 nM, 약 20 nM, 약 10 nM, 약 7.5 nM, 약 7 nM, 약 6.5 nM, 약 6 nM, 약 5 nM, 약 4.5 nM, 약 4 nM, 약 3.5

nM, 약 3 nM, 약 2.5 nM, 약 2 nM, 약 1.5 nM, 약 1 nM, 약 500 pM, 약 100 pM, 약 50 pM, 약 20 pM, 약 10 pM, 약 5 pM, 및 약 2 pM 중 어느 하나 미만이다.

[0219] 본 발명의 일부 태양에서, 본 발명에 개시된 바와 같은 항체의 결합 친화성(예를 들어 1가 항체 결합)은 표면 플라스몬 공명에 의해 측정시 약 35 nM 이하이다. 본 발명의 일부 태양에서, 본 발명에 개시된 바와 같은 항체의 결합 친화성(예를 들어 1가 항체 결합)은 표면 플라스몬 공명에 의해 측정시 약 6.5 nM 이하이다.

[0220] 본 발명은 또한 이들 항체 중 어느 하나의 제조 방법을 제공한다. 본 발명의 항체를 당해 분야에 공지된 과정에 의해 제조할 수 있다. 상기 폴리펩타이드를 상기 항체의 단백질분해 또는 다른 분해에 의해, 상술한 바와 같은 재조합 방법(즉 단일 또는 융합 폴리펩타이드)에 의해 또는 화학 합성에 의해 생성시킬 수 있다. 상기 항체의 폴리펩타이드, 특히 약 50 아미노산 이하의 보다 짧은 폴리펩타이드는 편의상 화학 합성에 의해 제조한다. 화학 합성 방법은 당해 분야에 공지되어 있으며 상업적으로 입수할 수 있다. 예를 들어 고상 방법을 사용하는 자동화된 폴리펩타이드 합성기에 의해 항체를 생성시킬 수 있다. 또한 미국특허 제 5,807,715 호; 미국특허 제 4,816,567 호 및 미국특허 제 6,331,415 호를 참조한다.

[0221] 본 발명의 또 다른 태양에서, 상기 항체를 당해 분야에 충분히 공지된 과정들을 사용하여 재조합적으로 제조할 수 있다. 또 다른 태양에서, 폴리뉴클레오타이드는 항체 m6B6, h6B6, m12A11, h12A11, m3G10, h3G10(VH), h3G10.A57, h3G10.B44, h3G10.1.7, h3G10.1.60, h3G10.2.5, h3G10.1.91, h3G10.2.37, h3G10.2.45, h3G10.2.42, h3G10.1.33, h3G10.3.25, h3G10.2.54, h3G10.A59, h3G10.A62, h3G10 (VL), h3G10.2.72, h3G10.A11A, h3G10.A18A, h3G10.A19A, h3G10.A58A, h3G10.A65A, 및 h3G10.B12A, h3G10.B13A, h3G10.B18A, h3G10.A11B, h3G10.A18B, h3G10.A19B, h3G10.A58B, h3G10.A65B, h3G10.B12B, h3G10.B13B, h3G10.B18B, h3G10.2.25 또는 h3G10.L94D의 중쇄 및/또는 경쇄 가변 영역을 암호화하는 서열을 포함한다. 상기 관심 항체를 암호화하는 서열을 숙주 세포에서 벡터 중에 유지시킬 수 있으며 이어서 상기 숙주 세포를 추후의 사용을 위해서 확대시키고 동결시킬 수 있다. 벡터(발현 벡터 포함) 및 숙주 세포는 본 발명에 추가로 개시되어 있다.

[0222] 본 발명은 또한 본 발명의 항체의 scFv를 포함한다. 단쇄 가변 영역 단편을, 짧은 연결 펩타이드를 사용함으로써 경쇄 및/또는 중쇄 가변 영역들을 연결시킴으로써 제조한다(문헌[Bird et al., Science 242:423-426, 1988]). 연결 펩타이드의 일례는 $(GGGGS)_3$(서열번호 89)이며, 이는 하나의 가변 영역의 카복시 말단과, 설계되고 사용된 말단 사이의 대략 3.5 nm를 가교한다(상기 문헌[Bird et al., 1988]). 연결기들은 짧은 가요성 폴리펩타이드이어야 하며 바람직하게는 약 20 아미노산 미만의 잔기로 구성된다. 차례로 연결기들을 추가적인 기능, 예를 들어 약물의 부착 또는 고체 지지체에의 부착을 위해 변형시킬 수도 있다. 상기 단쇄 변이체를 재조합적으로 또는 합성에 의해 생성시킬 수 있다. scFv의 합성 생성의 경우, 자동화된 합성기를 사용할 수 있다. scFv의 재조합 생성의 경우, 상기 scFv를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 함유하는 적합한 플라스미드를 적합한 진핵 숙주 세포, 예를 들어 효모, 식물, 곤충 또는 포유동물 세포, 또는 원핵 숙주 세포의 다른 가변 영역의 아미노 말단에 도입시킬 수 있다. 다른 서열의 연결기는 예를 들어 에스케리키아 콜라이이었다. 상기 관심 scFv를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 통상적인 조작, 예를 들어 폴리뉴클레오타이드의 연결에 의해 제조할 수 있다. 생성된 scFv를 당해 분야에 공지된 표준 단백질 정제 기법을 사용하여 단리시킬 수 있다.

[0223] 다른 형태의 단쇄 항체들, 예를 들어 다이아바디 또는 미니바디가 또한 포함된다. 다이아바디는, 중쇄 가변(VH) 및 경쇄 가변(VL) 도메인이 단일 폴리펩타이드 쇄상에서 발현되지만 동일한 쇄상의 상기 두 도메인 간의 짝짓기를 허용하기에는 너무 짧은 연결기가 사용되며, 이에 의해 상기 도메인들은 또 다른 쇄의 상보성 도메인과 강제로 짝을 짓게 되고 2개의 항원 결합 부위를 생성시키는 2가의 이중특이성 항체이다(예를 들어 문헌[Holliger, P., et al., Proc. Natl. Acad Sci. USA 90:6444-6448 (1993)]; 문헌[Poljak, R. J., et al., Structure 2:1121-1123 (1994)]을 참조). 미니바디는 면역글로불린 분자의 힌지 영역 및 CH3 도메인에 융합된 고유 항체의 VL 및 VH 도메인을 포함한다. 예를 들어 미국특허 제 5,837,821 호를 참조한다.

[0224] 이중특이성 항체는 2개의 상이한 표적에 동시에 결합할 수 있는 항체이다. 이중특이성 항체(bsAb) 및 이중특이성 항체 단편(bsFab)은, 예를 들어 종양-관련된 항원에 결합하는 적어도 하나의 가지 및 치료제 또는 진단제를 갖는 표적 가능한 접합체에 결합하는 적어도 하나의 다른 가지를 가질 수 있다. 다양한 이중특이성 융합 단백질을 분자 공학을 사용하여 생성시킬 수 있다.

[0225] 예를 들어, 적어도 2개의 상이한 항원에 대한 결합 특이성을 갖는 이중특이성 항체, 단클론 항체를 본 발명에 개시된 항체를 사용하여 제조할 수 있다. 이중특이성 항체의 제조 방법은 당해 분야에 공지되어 있다(문헌[Suresh et al., Methods in Enzymology 121:210 (1986)]). 전통적으로, 이중특이성 항체의 재조합적 생성은 2개의 면역글로불린 중쇄-경쇄 쌍의 동시발현을 기본으로 하였으며, 이때 상기 2개의 중쇄는 상이한 특이성을

갖는다(문헌[Millstein and Cuello, Nature 305, 537-539 (1983)]).

[0226] 이중특이성 항체의 제조를 위한 한 가지 접근법에 따라, 목적하는 결합 특이성(항체-항원 결합 부위)을 갖는 항체 가변 도메인을 면역글로불린 불변 영역 서열에 융합시킨다. 상기 융합은 바람직하게는 적어도 힌지, CH2 및 CH3 영역의 부분을 포함하는, 면역글로불린 중쇄 불변 영역과의 융합이다. 상기 융합 중 적어도 하나에 존재하는, 경쇄 결합에 필요한 부위를 함유하는 제1 중쇄 불변 영역(CH1)을 갖는 것이 바람직하다. 상기 면역글로불린 중쇄 융합 및 경우에 따라 상기 면역글로불린 경쇄를 암호화하는 DNA를 별도의 발현 벡터에 삽입시키고, 적합한 숙주 유기체에 동시형질감염시킨다. 이는 상기 구성에 사용되는 3개의 폴리펩타이드 쇄의 동일하지 않은 비가 최적의 수율을 제공하는 실시태양에서 상기 3개의 폴리펩타이드 단편의 상호 비율 조절에 큰 융통성을 제공한다. 그러나, 동일한 비의 적어도 2개의 폴리펩타이드 쇄의 발현이 높은 수율을 생성시키거나 또는 상기 비가 특별히 중요하지 않은 경우 하나의 발현 벡터에 2개 또는 3개 폴리펩타이드 쇄 전부에 대한 암호화 서열을 삽입하는 것도 가능하다.

[0227] 본 발명의 일부 태양에서, 상기 이중특이성 항체는 하나의 가지 중의 제1 결합 특이성을 갖는 하이브리드 면역글로불린 중쇄, 및 다른 가지 중의 하이브리드 면역글로불린 중쇄-경쇄 쌍(제2 결합 특이성을 제공한다)으로 구성된다. 상기 이중특이성 분자의 단지 절반에만 면역글로불린 경쇄를 갖는 이러한 비대칭 구조는 불필요한 면역글로불린 쇄 조합으로부터 목적하는 이중특이성 화합물을 분리시키는 것을 용이하게 한다. 이러한 접근법은 PCT 공보 WO 1994/004690에 개시되어 있다.

[0228] 또 다른 태양에서, 상기 이중특이성 항체는 하나의 가지에 제1 힌지 영역의 아미노산 변형으로 구성되며, 상기 제1 힌지 영역 중의 치환/대체된 아미노산은 또 다른 가지의 제2 힌지 영역 중의 상응하는 아미노산에 반대 전하를 갖는다. 이러한 접근법은 PCT WO 2011/143545에 개시되어 있다.

[0229] 또 다른 태양에서, 상기 이중특이성 항체를 트랜스글루타미나제의 존재하에서 하나의 가지에 에피토프(예를 들어 CXCR4)에 대한 항체에 대해 조작된 글루타민-함유 펩타이드 태그 및 또 다른 가지에 제2 에피토프에 대한 제2 항체에 대해 조작된 또 다른 펩타이드 태그(예를 들어 Lys-함유 펩타이드 태그 또는 반응성 내인성 Lys)를 사용하여 생성시킬 수 있다. 상기 접근법은 PCT 공보 WO 2012/059882에 개시되어 있다.

[0230] 2개의 공유 결합된 항체를 포함하는 이종접합 항체는 또한 본 발명의 범위 내에 있다. 상기와 같은 항체는 불필요한 세포에 면역계 세포를 표적화하고(미국특허 제 4,676,980 호) HIV 감염을 치료하는데(PCT 공보 WO 1991/000360) 사용되었다. 이종접합 항체를 임의의 편리한 가교결합 방법을 사용하여 제조할 수 있다. 적합한 가교결합제 및 기법은 당해 분야에 충분히 공지되어 있으며, 미국특허 제 4,676,980 호에 개시되어 있다.

[0231] 키메릭 또는 하이브리드 항체를 또한 합성 단백질 화학의 공지된 방법들, 예를 들어 가교결합제를 수반하는 방법을 사용하여 시험관내에서 제조할 수 있다. 예를 들어, 면역독소를 다이설파이드 교환 반응을 사용하여 또는 티오에테르 결합을 형성시킴으로써 제작할 수 있다. 상기 목적에 적합한 시약의 예는 이미노티올레이트 및 메틸-4-머캅토부티르이미데이트를 포함한다.

[0232] 본 발명은 표 2에 나타낸 본 발명의 변이체의 항체 및 폴리펩타이드에 대한 변형, 예를 들어 성질에 현저한 영향을 미치지 않는 기능상 동등한 항체 및 증대되거나 감소된 활성 및/또는 친화성을 갖는 변이체에 대한 변형을 포함한다. 예를 들어, 상기 아미노산 서열을 돌연변이시켜 CXCR4에 대한 목적하는 결합 친화성을 갖는 항체를 획득할 수 있다. 폴리펩타이드의 변형은 당해 분야에서 통상적인 실시이며 본 발명에서 상세히 개시할 필요는 없다. 변형된 폴리펩타이드의 예는 보존적인 서열 변형을 갖는 폴리펩타이드를 포함한다. 본 발명에 사용되는 바와 같이, "보존적인 서열 변형"이란 용어는 아미노산 서열을 함유하는 항체의 결합 특성에 현저한 영향을 미치지 않거나 상기 특성을 변경시키지 않는 상기 아미노산 변형을 지칭하고자 한다. 상기와 같은 보존적인 변형은 상기 기능 활성을 현저히 유해하게 변화시키지 않거나 또는 상기 폴리펩타이드의 그의 리간드에 대한 친화성을 성숙시키는(증대시키는) 아미노산 치환, 부가 및 결실, 또는 화학적 유사체의 사용을 포함한다.

[0233] 변형을 당해 분야에 공지된 표준 기법, 예를 들어 위치-지정 돌연변이 및 PCR-매개된 돌연변이에 의해 본 명세의 항체에 도입시킬 수 있다. 보존적인 아미노산 치환은 아미노산 잔기가 유사한 측쇄를 갖는 아미노산 잔기로 치환된 것이다. 유사한 측쇄를 갖는 아미노산 잔기의 기는 당해 분야에 정의되었다. 상기 기는 염기성 측쇄(예를 들어 리신, 아르기닌, 히스티딘), 산성 측쇄(예를 들어 아스파트산, 글루탐산), 하전되지 않은 극성 측쇄(예를 들어 글리신, 아스파라진, 글루타민, 세린, 쓰레오닌, 타이로신, 시스테인, 트립토판), 비극성 측쇄(예를 들어 알라닌, 발린, 류신, 아이소류신, 프롤린, 페닐알라닌, 메티오닌), 베타-분지된 측쇄(예를 들어 쓰레오닌, 발린, 아이소류신) 및 방향족 측쇄(예를 들어 타이로신, 페닐알라닌, 트립토판, 히스티딘)를 갖는 아미노산들을

포함한다. 따라서, 본 명세의 항체의 CDR 영역 내 하나 이상의 아미노산 잔기들을 동일한 측쇄 기로부터의 다른 아미노산 잔기로 치환시킬 수 있으며 변경된 항체를 본 발명에 개시된 기능 분석을 사용하여 보유된 기능(즉 상기 나타낸 기능들)에 대해 시험할 수 있다.

[0234] 아미노산 서열 삽입은 하나의 잔기에서부터 100개 이상 잔기를 함유하는 폴리펩타이드까지의 길이 범위의 아미노- 및/또는 카복실-말단 융합뿐만 아니라, 단일 또는 다수 아미노산 잔기의 서열내 삽입을 포함한다. 말단 삽입의 예는 N-말단 메티오닐 잔기를 갖는 항체 또는 에피토프 태그에 융합된 항체를 포함한다. 상기 항체 분자의 다른 삽입 변이체는 혈액 순환 중 항체의 반감기를 증가시키는 효소 또는 폴리펩타이드의 항체의 N- 또는 C-말단에의 융합을 포함한다.

[0235] 치환 변이체는 제거된 항체 분자 중의 적어도 하나의 아미노산 잔기 및 대신에 삽입된 상이한 잔기를 갖는다. 치환 돌연변이에 가장 큰 관심 부위는 고가변성 영역을 포함하지만, FR 변경도 또한 고려된다. 보존적인 치환을 표 5에 "보존적인 치환"이란 제목하에 나타낸다. 상기와 같은 치환이 생물 활성의 변화를 생성시키는 경우, 보다 실질적인 변화(표 5에서 "예시적인 치환"이라 명명되거나 또는 아미노산 부류를 참조하여 하기에 추가로 개시되는 바와 같은)가 도입될 수 있으며 생성물을 선별할 수 있다.

[0236] [표 5]

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

[0237]

[0238] 상기 항체의 생물학적 성질들의 실질적인 변형은 (a) 예를 들어 시트 또는 나선 형태로서 치환 영역 중의 폴리펩타이드 주쇄의 구조, (b) 표적 부위에서 분자의 전하 또는 소수성, 또는 (c) 측쇄의 부피를 유지함에 대한 효과가 현저하게 상이한 치환들을 선택함으로써 수행된다. 천연 아미노산 잔기들을 공통 측쇄 성질을 기준으로 여러 군으로 분할한다:

[0239] (1) 비극성: 노르류신, Met, Ala, Val, Leu, Ile;

[0240] (2) 전하 없이 극성: Cys, Ser, Thr, Asn, Gln;

[0241] (3) 산성(음으로 하전됨): Asp, Glu;

[0242] (4) 염기성(양으로 하전됨): Lys, Arg;

[0243] (5) 쇄 배향에 영향을 미치는 잔기: Gly, Pro; 및

[0244] (6) 방향족: Trp, Tyr, Phe, His.

[0245] 비-보존적인 치환은 상기 부류 중 하나의 구성원을 또 다른 부류에 대해 교환함으로써 이루어진다.

[0246] 상기 항체의 적합한 형태를 유지시킴에 관련되지 않는 임의의 시스테인 잔기를, 일반적으로 세린으로 치환시켜 상기 분자의 산화 안정성을 개선시키고 이상 가교결합을 방지할 수도 있다. 역으로, 시스테인 결합(들)을, 특

히 상기 항체가 Fv 단편과 같은 항체 단편인 경우에, 상기 항체에 가하여 그의 안정성을 개선시킬 수 있다.

[0247] 아미노산 변형은 하나 이상의 아미노산의 변화 또는 변형에서부터 상기 가변 영역과 같은 영역의 완전한 재설계에 이르는 범위일 수 있다. 상기 가변 영역의 변화는 결합 친화성 및/또는 특이성을 변경시킬 수 있다. 본 발명의 일부 태양에서, 단지 하나 내지 5개의 보존적인 아미노산 치환이 CDR 도메인 내에서 이루어진다. 본 발명의 다른 태양에서, 단지 하나 내지 3개의 보존적인 아미노산 치환이 CDR 도메인 내에서 이루어진다.

[0248] 변형은 또한 글리코실화된 및 글리코실화되지 않은 폴리펩타이드뿐만 아니라, 다른 번역-후 변형, 예를 들어 상이한 당에 의한 글리코실화, 아세틸화 및 인산화를 갖는 폴리펩타이드를 포함한다. 항체는 그의 불변 영역 중 보존된 위치에서 글리코실화된다(문헌[Jefferis and Lund, Chem. Immunol. 65:111-128 (1997)]; 문헌[Wright and Morrison, TibTECH 15:26-32 (1997)]). 상기 면역글로불린의 올리고사카라이드 측쇄는 단백질의 기능(문헌[Boyd et al., Mol. Immunol. 32:1311-1318 (1996)]; 문헌[Wittwe and Howard, Biochem. 29:4175-4180 (1990)]) 및 당단백질의 부분들간의 분자내 상호작용(상기 당단백질의 형태 및 제공된 3차원 표면에 영향을 미칠 수 있다)(상기 문헌[Jefferis and Lund]; 문헌[Wyss and Wagner, Current Opin. Biotech. 7:409-416 (1996)])에 영향을 미칠 수 있다. 올리고사카라이드는 또한 주어진 당단백질을 특이적인 인식 구조를 근거로 몇몇 분자에 표적화하는 작용을 할 수 있다. 항체의 글리코실화가 또한 항체-의존적인 세포 세포독성(ADCC)에 영향을 미치는 것으로 보고되었다. 특히, 양분되는 GlcNAc의 형성을 촉진하는 글리코실트랜스퍼라제인 β(1,4)-N-아세틸글루코스아미닐트랜스퍼라제 III(GnTIII)의 테트라사이클린-조절된 발현을 갖는 CHO 세포는 개선된 ADCC 활성을 갖는 것으로 보고되었다(문헌[Umana et al., Mature Biotech. 17:176-180 (1999)]).

[0249] 항체의 글리코실화는 전형적으로 N-연결되거나 O-연결된다. N-연결된은 탄수화물 부분의 아스파라진 잔기의 측쇄에의 부착을 지칭한다. 트라이펩타이드 서열 아스파라진-X-세린, 아스파라진-X-쓰레오닌 및 아스파라진-X-시스테인(여기에서 X는 프롤린을 제외한 임의의 아미노산이다)은 상기 탄수화물 부분의 아스파라진 측쇄에의 효소적 부착에 대한 인식 서열들이다. 따라서, 폴리펩타이드 중의 이들 트라이펩타이드 서열 중 어느 하나의 존재는 잠재적인 글리코실화 부위를 생성시킨다. O-연결된 글리코실화는 당 N-아세틸갈락토스아민, 갈락토스, 및 자일로스 중 하나의 하이드록시아미노산, 가장 통상적으로는 세린 또는 쓰레오닌에의 부착을 지칭하지만, 5-하이드록시프롤린 또는 5-하이드록시리신도 또한 사용될 수 있다.

[0250] 항체에의 글리코실화 부위의 부가는 편의상 아미노산 서열이 상술한 트라이펩타이드 서열들 중 하나 이상을 함유하도록 상기 아미노산 서열을 변경시킴으로써(N-연결된 글리코실화 부위에 대해서) 수행된다. 상기 변경을 또한 원래 항체의 서열에의 하나 이상의 세린 또는 쓰레오닌 잔기의 부가 또는 상기 잔기에 의한 치환에 의해서(O-연결된 글리코실화 부위에 대해서) 이룰 수 있다.

[0251] 항체의 글리코실화 패턴을 또한 근원적인 뉴클레오타이드 서열의 변경 없이 변경시킬 수 있다. 글리코실화는 주로 항체의 발현에 사용되는 숙주 세포에 따라 변한다. 잠재적인 치료제로서 재조합 당단백질, 예를 들어 항체의 발현에 사용되는 세포 유형은 고유 세포가 드물기 때문에, 상기 항체의 글리코실화 패턴의 변화를 예상할 수 있다(예를 들어 문헌[Hse et al., J. Biol. Chem. 272:9062-9070 (1997)]을 참조).

[0252] 숙주 세포의 선택 외에, 항체의 재조합 생성 중 글리코실화에 영향을 미치는 인자로는 생육 방식, 배지 제형, 배양 밀도, 산소화, pH, 정제 설계 등이 있다. 올리고사카라이드 생산에 관련된 몇몇 효소들의 도입 또는 과발현을 포함하여, 특정한 숙주 유기체에서 성취되는 글리코실화 패턴을 변경시키는 다양한 방법들이 제안되었다(미국특허 제 5,047,335 호; 미국특허 제 5,510,261 호 및 미국특허 제 5,278,299 호). 글리코실화, 또는 글리코실화의 몇몇 유형을, 예를 들어 엔도글리코시다제 H(엔도 H), N-글리코시다제 F, 엔도글리코시다제 F1, 엔도글리코시다제 F2, 엔도글리코시다제 F3을 사용하여 당단백질로부터 효소적으로 제거할 수 있다. 또한, 상기 재조합 숙주 세포를 몇몇 유형의 폴리사카라이드의 가공에 결함이 있도록 유전자 조작할 수 있다. 상기 및 유사한 기법들은 당해 분야에 충분히 공지되어 있다.

[0253] 본 명세에 의해 고려되는 본 발명 항체의 또 다른 변형은 peg화이다. 항체를, 예를 들어 상기 항체의 생물학적(예를 들어 혈청) 반감기를 증가시키기 위해 peg화시킬 수 있다. 항체를 peg화시키기 위해서, 상기 항체 또는 그의 단편을 전형적으로는 폴리에틸렌 글리콜(PEG), 예를 들어 PEG의 반응성 에스터 또는 알데하이드 유도체와, 하나 이상의 PEG 기가 상기 항체 또는 그의 항체 단편에 부착되게 하는 조건하에서 반응시킨다. 바람직하게는, 상기 peg화를 반응성 PEG 분자(또는 유사한 반응성 수용성 중합체)와의 아실화 반응 또는 알킬화 반응을 통해 수행한다. 본 발명에 사용되는 바와 같이, "폴리에틸렌 글리콜"이란 용어는 다른 단백질들을 유도체화하기 위해 사용되어 온 PEG의 형태들 중 어느 하나, 예를 들어 모노(C1-C10) 알콕시- 또는 아릴옥시-폴리에틸렌 글리콜 또는 폴리에틸렌 글리콜-말레이미드를 포함하고자 한다. 본 발명의 몇몇 태양에서, 상기 peg화시키려는 항체는

아글리코실화된 항체이다. 단백질의 peg화 방법은 당해 분야에 공지되어 있으며 상기 방법을 본 명세의 항체들에 적용시킬 수 있다. 예를 들어 니시무라(Nishimura) 등의 EP 0154316 및 이시가와(Ishikawa) 등의 EP 0401384를 참조한다.

[0254] 본 발명은 전통적인 항체로 제한되지 않으며 항체 단편 및 항체 유사물질의 사용을 포함한다. 광범위하게 다양한 항체 단편 및 항체 모방 기술들이 개발되었으며 당해 분야에 공지되어 있다. 다수의 상기 기술들, 예를 들어 도메인 항체, 나노바디 및 유니바디는 전통적인 항체 구조물의 단편 또는 상기 구조에 대한 다른 변형을 이용하지만, 또한 대체 기술, 예를 들어 전통적인 항체 결합을 모방하지만 별도의 기전을 통해 생성되고 기능하는 결합 구조를 사용하는 애피바디(Affibody), 달핀(DARPin), 애비머(Avimer), 안티칼린(Anticalin) 및 베르사바디(Versabody)가 존재한다.

[0255] 도메인 항체(dAb)는 인간 항체의 중쇄(VH) 또는 경쇄(VL)의 가변 영역들에 상응하는, 항체들의 최소 기능 결합 단위이다. 도만티스(Domantis)는 일련의 크고 고도로 기능성인 완전 인간 VH 및 VL dAb 라이브러리(각 라이브러리 중에 100억 초과의 상이한 서열)를 개발하였으며 치료학적 표적에 특이적인 dAb의 선택에 상기 라이브러리들을 사용한다. 다수의 통상적인 항체와 대조적으로, 도메인 항체는 세균, 효모 및 포유동물 세포계에서 잘 발현된다. 도메인 항체 및 그의 생성 방법에 대한 추가의 상세한 내용을 미국특허 제 6,291,158 호, 미국특허 제 6,582,915 호, 미국특허 제 6,593,081 호, 미국특허 제 6,172,197 호, 및 미국특허 제 6,696,245 호, 미국특허 출원 제 2004/0110941 호, 유럽특허 출원 제 1433846 호 및 유럽특허 제 0368684 호 및 유럽특허 제 0616640 호, WO 05/035572, WO 04/101790, WO 04/081026, WO 04/058821, WO 04/003019 및 WO 03/002609(이들은 각각 내용 전체가 본 발명에 참고로 인용된다)를 참조하여 얻을 수 있다.

[0256] 나노바디는 천연 중쇄 항체의 독특한 구조적 및 기능적 성질을 함유하는 항체-유래된 치료 단백질이다. 상기 중쇄 항체는 단일 가변 도메인(VHH) 및 2개의 불변 도메인(CH2 및 CH3)을 함유한다. 상기 클로닝되고 단리된 VHH 도메인은 원래 중쇄 항체의 완전 항원-결합 능력을 갖는 완벽하게 안정한 폴리펩타이드이다. 나노바디는 인간 항체의 VH 도메인과 높은 상동성을 가지며 어떠한 활성의 손실도 없이 추가로 인간화시킬 수 있다. 더욱이, 나노바디는 통상적인 항체들처럼 작은 분자 약물의 중요한 특징과 함께 통상적인 항체의 이점을 겸비한다. 나노바디는 높은 표적 특이성, 그의 표적에 대한 높은 친화성 및 낮은 본래의 독성을 나타낸다. 나노바디는 단일 유전자에 의해 암호화되며 거의 모든 원핵생물 및 진핵생물 숙주, 예를 들어 에스케리키아 콜라이(예를 들어, 내용 전체가 본 발명에 참고로 인용된 미국특허 제 6,765,087 호를 참조), 곰팡이(예를 들어 아스퍼질러스 또는 트리코데르마) 및 효모(예를 들어 사카로마이세스, 클루이베로마이세스, 한세눌라 또는 피키아)(예를 들어, 내용 전체가 본 발명에 참고로 인용된 미국특허 제 6,838,254 호를 참조)에서 효율적으로 생산된다.

[0257] 일부 태양에서, 본 발명은 유니바디의 용도를 제공한다. 유니바디는 IgG4 항체의 힌지 영역의 제거에 근거한, 또 다른 항체 단편 기술이다. 상기 힌지 영역의 결실은, 전통적인 IgG4 항체의 크기의 필수적으로 절반이고 IgG4 항체의 2가 결합 영역보다는 1가 결합 영역을 갖는 분자를 생성시킨다. 또한 IgG4 항체는 불활성이며 따라서 면역계와 반응하지 않는 것으로 널리 공지되어 있고, 이는 면역 반응이 요구되지 않는 질병의 치료에 유리할 수 있으며 상기 이점은 유니바디에 전달된다. 예를 들어, 유니바디는 상기가 결합하는 세포를 억제시키거나 침묵시키지만, 살해하지는 않는 기능을 가질 수 있다. 추가로, 암세포에 대한 유니바디 결합은 상기 세포가 증식하도록 자극하지 않는다. 더욱 또한, 유니바디는 전통적인 IgG4 항체 크기의 대략 절반이기 때문에, 유니바디가 전체 IgG4 항체와 유사한 속도로 신체로부터 제거되고 전체 항체로서 그의 항원에 유사한 친화성으로 결합할 수 있는 잠재적으로 유리한 효능과 함께 보다 큰 고형 종양위에 보다 양호한 분포를 나타낼 수 있다. 유니바디에 대한 추가의 상세한 내용을 PCT 공보 WO2007/059782(내용 전체가 본 발명에 참고로 인용된다)를 참조하여 획득할 수 있다.

[0258] 일부 태양에서, 본 발명은 애피바디 분자를 포함한다. 애피바디 분자는 스타필로코커스 단백질 A의 IgG-결합 도메인들 중 하나로부터 유래되는, 58-아미노산 잔기 단백질 도메인을 기본으로 하는 새로운 부류의 친화성 단백질이다. 상기 3 나선 다발 도메인은 조합적인 파지미드 라이브러리의 구성을 위한 스캐폴드로서 사용되어 왔으며, 이로부터 목적하는 분자를 표적화하는 애피바디 변이체를 파지 디스플레이 기술을 사용하여 선택할 수 있다(문헌[Nord K, Gunnettsson E, Ringdahl J, Stahl S, Uhlen M, Nygren PA, Binding proteins selected from combinatorial libraries of an α-helical bacterial receptor domain, Nat Biotechnol 15 772-7 (1997)], 문헌[Ronmark J, Gronlund H, Uhlen M, Nygren PA, Human immunoglobulin A (IgA)-specific ligands from combinatorial engineering of protein A, Eur J Biochem.,269 2647-55 (2002)]). 낮은 분자량(6 kDa)과 함께 상기 애피바디 분자의 간단하고 확고한 구조는 상기 분자를 광범위하게 다양한 용도, 예를 들어 검출 시약으로서(문헌[Ronmark J, Hansson M, Nguyen T, et al, Construction and characterization of affibody-Fc

chimeras produced in Escherichia coli, J Immunol Methods,261 199-211 (2002)]) 및 수용체 상호작용을 억제하기에(문헌[Sandstorm K, Xu Z, Forsberg G, Nygren PA, Inhibition of the CD28-CD80 co- stimulation signal by a CD28-binding Affibody ligand developed by combinatorial protein engineering, Protein Eng.,16 691-7 (2003)]) 적합하게 한다. 애피바디 및 그의 제조 방법에 대한 추가의 상세한 내용을 미국특허 제 5,831,012 호(내용 전체가 본 발명에 참고로 인용된다)를 참조하여 획득할 수 있다.

[0259] 본 발명과 관련하여 유용한 또 다른 항체 모방 기술은 애비머이다. 애비머는 시험관내 엑손 셔플링 및 파지 디스플레이에 의해 인간 세포외 수용체 도메인의 큰 군으로부터 진화되어, 결합 및 억제 성질을 갖는 다중도메인 단백질을 생성시킨다. 다수의 독립적인 결합 도메인들의 연결은 결합활성을 생성시키는 것으로 나타났으며 통상적인 단일-에피토프 결합 단백질에 비해 개선된 친화성 및 특이성을 생성시킨다. 다른 잠재적인 이점은 에스케리키아 콜라이에서 다중표적-특이성 분자의 단순하고 효율적인 생산, 개선된 열안정성 및 프로테아제에 대한 내성을 포함한다. 나노몰 이하의 친화성을 갖는 애비머가 다양한 표적에 대해 획득되었다. 애비머에 대한 추가적인 정보를 미국특허 출원 공보 2006/0286603, 2006/0234299, 2006/0223114, 2006/0177831, 2006/0008844, 2005/0221384, 2005/0164301, 2005/0089932, 2005/0053973, 2005/0048512, 2004/0175756(이들은 모두 내용 전체가 본 발명에 참고로 인용된다)에서 찾을 수 있다.

[0260] 베르사바디는 본 발명과 관련하여 사용될 수 있는 또 다른 항체 모방 기술이다. 베르사바디는, 높은 다이설파이드 밀도 스캐폴드를 형성하여 전형적인 단백질들이 갖는 소수성 코어를 대체하는, >15% 시스테인을 갖는 3 내지 5 kDa의 작은 단백질이다. 상기 소수성 코어를 포함하는 다수의 소수성 아미노산의 소수의 다이설파이드에 의한 치환은, MHC 표시에 가장 기여하는 잔기들이 소수성이므로, 보다 작고, 보다 친수성이며(덜 응집성이고 비-특이적인 결합), 프로테아제 및 열에 보다 내성이고, 보다 낮은 밀도의 T-세포 에피토프를 갖는 단백질을 생성시킨다. 이러한 성질들은 모두 면역원성에 영향을 미치는 것으로 잘 알려져 있으며, 이들 성질은 함께 면역원성의 큰 감소를 야기할 것으로 예상된다. 베르사바디에 관한 추가적인 정보는 미국특허 출원 공보 제 2007/0191272 호(내용 전체가 본 발명에 참고로 인용된다)에서 찾을 수 있다.

[0261] 상기 제공된 항체 단편 및 항체 모방 기술의 상세한 묘사는 본 명세서와 관련하여 사용될 수 있는 모든 기술들의 광범위한 목록임을 의도하는 것은 아니다. 예를 들어, 및 또한 비제한적으로, 대안의 폴리펩타이드-기재 기술, 예를 들어 문헌[Qui et al., Nature Biotechnology, 25(8) 921-929 (2007)](내용 전체가 본 발명에 참고로 인용된다)에 개략된 바와 같은 상보성 결정 영역들의 융합뿐만 아니라 핵산-기재 기술, 예를 들어 미국특허 제 5,789,157 호; 미국특허 제 5,864,026 호; 미국특허 제 5,712,375 호; 미국특허 제 5,763,566 호; 미국특허 제 6,013,443 호; 미국특허 제 6,376,474 호; 미국특허 제 6,613,526 호; 미국특허 제 6,114,120 호; 미국특허 제 6,261,774 호; 및 미국특허 제 6,387,620 호(이들은 전부 본 발명에 참고로 인용된다)에 개시된 RNA 앱타머 기술을 포함한 다양한 추가적인 기술들을 본 발명과 관련하여 사용할 수 있다.

[0262] 다른 변형 방법들은 당해 분야에 공지된 커플링 기법, 예를 들어 비제한적으로 효소적 수단, 산화적 치환 및 킬레이트화를 사용함을 포함한다. 변형을 예를 들어 면역분석용 표지의 부착에 사용할 수 있다. 변형된 폴리펩타이드를 당해 분야에 확립된 과정을 사용하여 제조하고 당해 분야에 공지된 표준 분석을 사용하여 선별할 수 있으며, 이중 일부는 하기 및 실시예에 개시된다.

[0263] 본 발명의 일부 태양에서, 항체는 변형된 불변 영역, 예를 들어 인간 Fc 감마 수용체에 증가된 친화성을 갖고 면역학적으로 불활성이거나 부분적으로 불활성인, 예를 들어 보체 매개된 용해를 촉발하지 않고, 항체-의존적인 세포 매개된 세포독성(ADCC)을 자극하지 않거나, 또는 대식세포를 활성화시키지 않거나; 또는 하기, 즉 보체 매개된 용해의 촉발, 항체-의존적인 세포 매개된 세포독성(ADCC)의 자극, 및 미세아교세포의 활성화 중 임의의 하나 이상에서 감소된 활성(변형되지 않은 항체에 비해)을 갖는 불변 영역을 포함한다. 상기 불변 영역의 상이한 변형들을 사용하여 효과기 기능들의 최적의 수준 및/또는 조합을 성취할 수 있다. 예를 들어 문헌[Morgan et al., Immunology 86:319-324 (1995)]; 문헌[Lund et al., J. Immunology 157:4963-9 157:4963-4969 (1996)]; 문헌[Idusogie et al., J. Immunology 164:4178-4184, (2000)]; 문헌[Tao et al., J. Immunology 143: 2595-2601 (1989)]; 및 문헌[Jefferis et al., Immunological Reviews 163:59-76 (1998)]을 참조한다. 본 발명의 일부 태양에서, 상기 불변 영역을 문헌[Eur. J. Immunol., 29:2613-2624 (1999)]; PCT 공보 WO 1999/058572에 개시된 바와 같이 변형시킨다. 본 발명의 다른 태양에서, 상기 항체는 A330P331에서 S330S331로(야생형 IgG2 서열을 참조한 아미노산 넘버링)의 돌연변이를 포함하는 인간 중쇄 IgG2 불변 영역을 포함한다(문헌[Eur. J. Immunol., 29:2613-2624 (1999)]). 본 발명의 더욱 다른 태양에서, 상기 불변 영역을 N-연결된 글리코실화에 대해 아글리코실화시킨다. 본 발명의 일부 태양에서, 상기 불변 영역은 상기 글리코실화된 아미노산 잔기를 돌연변이시키거나 또는 상기 불변 영역 중의 N-글리코실화 인식 서열 부분인 잔기들을 인접시킴으로써 N-연결된

글리코실화에 대해 아글리코실화시킨다. 예를 들어, N-글리코실화 부위 N297을 A, Q, K 또는 H로 돌연변이시킬 수 있다. 문헌[Tao et al., J. Immunology 143: 2595-2601 (1989)]; 및 문헌[Jefferis et al., Immunological Reviews 163:59-76 (1998)]을 참조한다. 본 발명의 일부 태양에서, 상기 불변 영역을 N-연결된 글리코실화에 대해 아글리코실화시킨다. 상기 불변 영역을 N-연결된 글리코실화에 대해 효소적으로(예를 들어 효소 PNGase에 의해 탄수화물을 제거함으로써) 또는 글리코실화 결함 숙주 세포에서의 발현에 의해서 아글리코실화시킬 수 있다.

[0264] 다른 항체 변형은 PCT 공보 WO 99/58572에 개시된 바와 같이 변형된 항체들을 포함한다. 이들 항체는 표적 분자에 대한 결합 도메인 외에, 인간 면역글로불린 중쇄의 불변 영역의 전부 또는 일부와 실질적으로 상동성인 아미노산 서열을 갖는 효과기 도메인을 포함한다. 이들 항체는 표적의 현저한 보체 의존성 용해 또는 세포-매개된 파괴를 촉발하지 않으면서 상기 표적 분자에 결합할 수 있다. 본 발명의 일부 태양에서, 상기 효과기 도메인은 FcRn 및/또는 FcγRIIb에 특이적으로 결합할 수 있다. 이들은 전형적으로 2개 이상의 인간 면역글로불린 중쇄 C_H2 도메인으로부터 유래된 키메릭 도메인을 기본으로 한다. 이러한 방식으로 변형된 항체는 통상적인 항체 요법에 대한 염증 및 다른 불리한 반응들을 피하기 위해, 만성적인 항체 요법에서 사용하기에 특히 적합하다.

[0265] 본 발명은 친화성 성숙된 항체를 포함한다. 예를 들어, 친화성 성숙된 항체를 당해 분야에 공지된 과정들에 의해 생성시킬 수 있다(문헌[Marks et al., Bio/Technology, 10:779-783 (1992)]; 문헌[Barbas et al., Proc Nat. Acad. Sci, USA 91:3809-3813 (1994)]; 문헌[Schier et al., Gene, 169:147-155 (1995)]; 문헌[Yelton et al., J. Immunol., 155:1994-2004 (1995)]; 문헌[Jackson et al., J. Immunol., 154(7):3310-9 (1995)], 문헌[Hawkins et al., J. Mol. Biol., 226:889-896 (1992)]; 및 PCT 공보 WO2004/058184).

[0266] 하기의 방법들을, 항체의 친화성을 조절하고 CDR을 특성화하기 위해 사용할 수 있다. 항체의 CDR의 특성화 및/또는 폴리펩타이드, 예를 들어 항체의 결합 친화성의 변경(예를 들어 개선)에 대한 한 가지 방식을 "라이브러리 스캐닝 돌연변이"라 칭한다. 일반적으로, 라이브러리 스캐닝 돌연변이는 하기와 같이 작용한다. 상기 CDR 중의 하나 이상의 아미노산 위치를 당해 분야에서 인정된 방법을 사용하여 2개 이상(예를 들어 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 또는 20)의 아미노산으로 치환시킨다. 이는 클론들의 작은 라이브러리(본 발명의 일부 태양에서, 분석되는 모든 아미노산 위치들에 대해서 하나)를 생성시키며, 각각의 라이브러리는 2개 이상의 구성원의 복잡성을 갖는다(2개 이상의 아미노산이 모든 위치에서 치환되는 경우). 일반적으로, 상기 라이브러리는 또한 고유의(치환되지 않은) 아미노산을 포함하는 클론을 포함한다. 각각의 라이브러리로부터 소수의 클론, 예를 들어 약 20 내지 80개의 클론(상기 라이브러리의 복잡성에 따라)이 표적 폴리펩타이드(또는 다른 결합 표적)에 대한 결합 친화성에 대해서 선별되며, 증가된, 동일한, 감소된 결합 또는 결합이 없는 후보들이 확인된다. 결합 친화성의 측정 방법은 당해 분야에 충분히 공지되어 있다. 결합 친화성을 비아코어(상표) 표면 플라스몬 공명 분석을 사용하여 측정할 수 있으며, 상기 분석은 약 2배 이상의 결합 친화성의 차이를 탐지한다. 비아코어(상표)는 출발 항체가 이미 비교적 높은 친화성, 예를 들어 약 10 nM 이하의 K_D로 결합하는 경우 특히 유용하다. 비아코어(상표) 표면 플라스몬 공명을 사용하는 선별은 본 발명에서 실시예에 개시된다.

[0267] 또 다른 태양에서, 본 발명은 CXCR4에 결합하는 항체 또는 그의 항원 결합 단편에 관한 것이며, 여기에서 상기 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 100 nM 미만의 EC50을 갖는다. 더욱 또 다른 태양에서, 본 발명은 CXCR4에 결합하는 항체 또는 그의 항원 결합 단편에 관한 것이며, 여기에서 상기 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 50 nM 미만의 EC50을 갖는다. 더욱 또 다른 태양에서, 본 발명은 CXCR4에 결합하는 항체 또는 그의 항원 결합 단편에 관한 것이며, 여기에서 상기 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 1 nM 미만의 EC50을 갖는다. "EC50"이란 용어는 시험관내에서 최대 효과의 50% 억제에 필요한 시험 항체, 그의 항원 결합 단편, 또는 항체-약물 접합체의 농도를 의미한다. "IC50" 평균이란 용어는 "50%의 억제 농도"로서 정의된다.

[0268] 결합 친화성을 키넥사 바이오센서(Kinexa Biocensor), 섬광 근접 분석, ELISA, 오리젠(ORIGEN) 면역분석(아이젠(IGEN)), 형광 소광, 형광 전이, 및/또는 효모 디스플레이를 사용하여 측정할 수 있다. 결합 친화성을 또한 적합한 생물분석을 사용하여 선별할 수 있다.

[0269] 본 발명의 일부 태양에서, CDR 중의 모든 아미노산 위치를 당해 분야에서 인정된 돌연변이 방법들(이들 중 일부는 본 발명에 개시된다)을 사용하여 20개 천연 아미노산 모두로 치환시킨다(일부 태양에서, 한 번에 하나씩). 이는 클론들의 작은 라이브러리(본 발명의 일부 태양에서, 분석되는 모든 아미노산 위치에 대해 하나)를 생성시키며, 상기 라이브러리는 각각 20개 구성원의 복잡성을 갖는다(20개 아미노산이 전부 모든 위치에서 치환되는

경우).

[0270] 본 발명의 일부 태양에서, 상기 선별되는 라이브러리는 2개 이상 위치에서 치환을 포함하며, 상기 위치는 동일한 CDR 또는 2개 이상의 CDR 중에 존재할 수 있다. 따라서, 상기 라이브러리는 하나의 CDR 중에 2개 이상의 위치에서 치환을 포함할 수 있다. 상기 라이브러리는 2개 이상의 CDR 중에 2개 이상의 위치에서 치환을 포함할 수 있다. 상기 라이브러리는 3, 4, 5 또는 그 이상의 위치에서 치환을 포함할 수 있으며, 상기 위치는 2, 3, 4, 5 또는 6개의 CDR에서 발견된다. 상기 치환을 낮은 중복 코돈을 사용하여 수행할 수도 있다. 예를 들어 문헌[Balint et al., Gene 137(1):109-18(1993)]의 표 2를 참조한다.

[0271] 상기 CDR은 CDRH3 및/또는 CDRL3일 수 있다. 상기 CDR은 CDRL1, CDRL2, CDRL3, CDRH1, CDRH2 및/또는 CDRH3 중 하나 이상일 수 있다. 상기 CDR은 카밧 CDR, 코티아 CDR, 또는 연장된 CDR일 수 있다.

[0272] 개선된 결합을 갖는 후보들을 서열분석할 수 있으며, 이에 의해 개선된 친화성(또한 "개선된" 치환이라 칭한다)을 생성시키는 CDR 치환 돌연변이체를 확인할 수 있다. 결합하는 후보들을 또한 서열분석하여, 결합을 유지하는 CDR 치환을 확인할 수도 있다.

[0273] 다중 라운드의 선별을 수행할 수 있다. 예를 들어, 개선된 결합을 갖는 후보들(각각 하나 이상의 CDR의 하나 이상의 위치에서 아미노산 치환을 포함한다)이 또한 각각의 개선된 CDR 위치(즉 치환 돌연변이체가 개선된 결합을 나타내는 상기 CDR 중의 아미노산 위치)에서 적어도 원래 및 치환된 아미노산을 함유하는 제2 라이브러리의 설계에 유용하다. 상기 라이브러리의 제조, 및 선별 또는 선택은 하기에 추가로 논의된다.

[0274] 라이브러리 스캐닝 돌연변이는 또한, 개선된 결합, 동일한 결합, 감소된 결합을 갖거나 결합이 없는 클론들의 빈도가 항체-항원 복합체의 안정성을 위한 각 아미노산 위치의 중요성에 관련된 정보를 제공하는 한, CDR의 특성화 수단을 제공한다. 예를 들어, 상기 CDR의 위치가 20개의 아미노산 모두에 대해 변했을 때 결합을 유지하는 경우, 상기 위치는 항원 결합에 필요한 것 같지 않은 위치로서 확인된다. 역으로, CDR의 위치가 단지 작은 치환 백분율로 결합을 유지하는 경우, 상기 위치는 CDR 기능에 중요한 위치로서 확인된다. 따라서, 상기 라이브러리 스캐닝 돌연변이 방법은 다수의 상이한 아미노산(20개 아미노산 모두 포함)으로 변화시킬 수 있는 상기 CDR 중의 위치, 및 변화시킬 수 없거나 또는 단지 소수의 아미노산으로만 변화시킬 수 있는 상기 CDR 중의 위치에 관한 정보를 생성시킨다.

[0275] 개선된 친화성을 갖는 후보들을, 개선된 아미노산, 상기 위치에서의 원래 아미노산을 포함하는 제2 라이브러리 중에 병용시킬 수 있으며, 상기 후보들은 상기 위치에서 목적하는 라이브러리의 복잡성에 따라, 또는 목적하는 선별 또는 선택 방법을 사용하여 허용되는 추가적인 치환을 추가로 포함할 수 있다. 또한, 경우에 따라, 인접한 아미노산 위치를 적어도 2개 이상의 아미노산으로 무작위화할 수 있다. 인접한 아미노산의 무작위화는 돌연변이 CDR 중에 추가적인 형태적 융통성을 허용할 수 있으며, 이는 차례로 보다 많은 수의 개선 돌연변이의 도입을 허용하거나 촉진할 수 있다. 상기 라이브러리는 또한 첫 번째 라운드의 선별에서 개선된 친화성을 나타내지 않은 위치들에서 치환을 포함할 수도 있다.

[0276] 상기 제2 라이브러리를, 당해 분야에 공지된 임의의 방법, 예를 들어 비아코어(상표) 표면 플라스몬 공명 분석을 사용하는 선별, 및 선택에 대해 당해 분야에 공지된 임의의 방법, 예를 들어 파지 디스플레이, 효모 디스플레이, 및 리보솜 디스플레이를 사용하는 선택을 사용하여 개선되고/되거나 변경된 결합 친화성을 갖는 라이브러리 구성원들에 대해서 선별하거나 선택한다.

[0277] 본 발명은 또한 본 발명의 항체로부터 하나 이상의 단편 또는 영역을 포함하는 융합 단백질을 포함한다. 본 발명의 일부 태양에서, 서열번호 1, 5, 9, 13, 17, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 85, 87 및 106에 나타낸 VH 영역 쇄 영역의 적어도 10개의 연속된 아미노산; 및/또는 서열번호 3, 7, 11, 15, 19, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75, 77, 79, 81, 83, 및 169에 나타낸 VL 영역의 적어도 10개의 아미노산을 포함하는 융합 폴리펩타이드를 제공한다. 본 발명의 다양한 태양에서, 가변 경쇄 영역의 적어도 약 10, 적어도 약 15, 적어도 약 20, 적어도 약 25, 또는 적어도 약 30개의 연속된 아미노산 및/또는 가변 중쇄 영역의 적어도 약 10, 적어도 약 15, 적어도 약 20, 적어도 약 25, 또는 적어도 약 30 개의 연속된 아미노산을 포함하는 융합 폴리펩타이드를 제공한다. 또 다른 태양에서, 상기 융합 폴리펩타이드는 표 2의 서열 쌍들 중 임의의 쌍, 예를 들어 서열번호 3 및 5; 3 및 9; 7 및 5; 11 및 13; 15 및 13; 19 및 17; 69 및 31; 49 및 37; 및 33 및 73으로 나타낸 바와 같은 경쇄 가변 영역 및/또는 중쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 태양에서, 상기 융합 폴리펩타이드는 하나 이상의 CDR(들)을 포함한다. 더욱 다른 태양에서, 상기 융합 폴리펩타이드는 CDR H3(VH CDR3) 및/또는 CDR L3(VL CDR3)을 포함한다. 본 발명의 목적을 위해서, 융합 단백질은 하

나 이상의 항체, 및 고유 분자에 부착되지 않은 또 다른 아미노산 서열, 예를 들어 또 다른 영역으로부터의 이종 서열 또는 상동성 서열을 함유한다. 예시적인 이종 서열은 비제한적으로 "태그", 예를 들어 FLAG 태그 또는 6His 태그를 포함한다. 태그는 당해 분야에 충분히 공지되어 있다.

[0278] 융합 폴리펩타이드를 당해 분야에 공지된 방법에 의해, 예를 들어 합성적으로 또는 재조합적으로 생성시킬 수 있다. 전형적으로, 본 발명의 융합 단백질을, 본 발명에 개시된 재조합 방법을 사용하여 상기 단백질을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 발현시킴으로써 제조하지만, 상기 단백질을 당해 분야에 공지된 다른 수단, 예를 들어 화학적 합성에 의해 또한 제조할 수도 있다.

[0279] 본 발명은 또한 고체 지지체(예를 들어 비오틴 또는 아비딘)에의 커플링을 촉진하는 작용제에 접합된(예를 들어 연결된) 항체를 포함하는 조성물을 제공한다. 간략성을 위해서, 상기 방법들을 본 발명에 개시된 항-CXCR4 항체 및 그의 항원-결합 단편 실시태양 중 임의의 실시태양에 적용한다는 이해와 함께 일반적으로 항체를 참조할 것이다. 접합은 일반적으로 본 발명에 개시된 바와 같은 상기 성분들의 연결을 지칭한다. 연결(이는 일반적으로 상기 성분들을 적어도 투여를 위해서 근접한 관계로 고정시키는 것이다)을 임의의 수의 방식들로 성취할 수 있다. 예를 들어, 작용제와 항체간의 직접적인 반응은 각각이 다른 것과 반응할 수 있는 치환체를 갖는 경우 가능하다. 예를 들어, 하나 상의 친핵성기, 예를 들어 아미노 또는 설프하이드릴기는 다른 것 상의 카보닐-함유기, 예를 들어 무수물 또는 산 할라이드, 또는 양호한 이탈기(예를 들어 할라이드)를 함유하는 알킬기와 반응할 수 있다.

[0280] 본 발명은 또한 본 발명의 항체를 암호화하는 단리된 폴리뉴클레오타이드, 및 상기 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 벡터 및 숙주 세포를 제공한다.

[0281] 따라서, 본 발명은 하기 중 임의의 것을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 폴리뉴클레오타이드(또는 약학 조성물을 포함한 조성물)를 제공한다: m6B6, h6B6, m12A11, h12A11, m3G10, h3G10, h3G10.A57, h3G10.B44, h3G10.1.7, h3G10.1.60, h3G10.2.5, h3G10.1.91, h3G10.2.37, h3G10.2.45, h3G10.2.42, h3G10.1.33, h3G10.3.25, h3G10, h3G10.2.72, h3G10.A11A, h3G10.A18A, h3G10.A19A, h3G10.A58A, h3G10.A65A, 및 h3G10.B12A, h3G10.B13A, h3G10.B18A, h3G10.A11B, h3G10.A18B, h3G10.A19B, h3G10.A58B, h3G10.A65B, h3G10.B12B, h3G10.B13B, h3G10.B18B, h3G10.2.25, h3G10.A59 h3G10.A62, h3G10.L94D, 또는 CXCR4에 결합하는 능력을 갖는 이들의 임의의 단편 또는 부분.

[0282] 일부 태양에서, 본 발명은 본 발명에 개시된 항체(항체 단편 포함) 및 폴리펩타이드, 예를 들어 손상된 또는 개선된 효과기 기능을 갖는 항체 및 폴리펩타이드 중 임의의 것을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 제공한다. 폴리뉴클레오타이드를 당해 분야에 공지된 과정에 의해 제조하고 발현시킬 수 있다.

[0283] 다른 태양에서, 본 발명은 본 발명의 폴리뉴클레오타이드들 중 임의의 것을 포함하는 조성물(예를 들어 약학 조성물)을 제공한다. 일부 태양에서, 상기 조성물은 본 발명에 개시된 항체들 중 임의의 항체를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 발현 벡터를 포함한다. 예를 들어, 상기 조성물은 서열번호 2 및 4, 또는 서열번호 6 및 8, 또는 서열번호 86 및 68에 나타낸 폴리뉴클레오타이드 중 어느 하나 또는 둘 다를 포함한다.

[0284] 폴리뉴클레오타이드 조성물의 발현 벡터 및 투여를 본 발명에 추가로 개시한다.

[0285] 다른 태양에서, 본 발명은 본 발명에 개시된 폴리뉴클레오타이드들 중 어느 하나의 제조 방법을 제공한다.

[0286] 임의의 상기와 같은 서열에 상보성인 폴리뉴클레오타이드는 또한 본 발명에 포함된다. 폴리뉴클레오타이드는 단일-가닥(암호화 또는 안티센스) 또는 이중-가닥일 수 있으며, DNA(게놈, cDNA 또는 합성) 또는 RNA 분자일 수 있다. RNA 분자는 HnRNA 분자(인트론을 함유하며 DNA 분자에 1 대 1 방식으로 상응한다), 및 mRNA 분자(인트론을 함유하지 않는다)를 포함한다. 추가적인 암호화 또는 비-암호화 서열이 본 발명의 폴리뉴클레오타이드 내에, 필요하지는 않지만, 존재할 수 있으며, 폴리뉴클레오타이드는 다른 분자 및/또는 지지체 물질에, 필요하지는 않지만, 연결될 수도 있다.

[0287] 폴리뉴클레오타이드는 고유의 서열(즉, 항체 또는 그의 일부를 암호화하는 내인성 서열)을 포함하거나 또는 상기와 같은 서열의 변이체를 포함할 수도 있다. 폴리뉴클레오타이드 변이체는 암호화된 폴리펩타이드의 면역반응성이 고유의 면역반응성 분자에 비해 감소되지 않도록 하나 이상의 치환, 부가, 결실 및/또는 삽입을 함유한다. 상기 암호화된 폴리펩타이드의 면역반응성에 대한 효과를 일반적으로 본 발명에 개시된 바와 같이 평가할 수 있다. 변이체는 바람직하게는 고유 항체 또는 그의 일부를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드 서열에 적어도 약 70% 일치성, 보다 바람직하게는 적어도 약 80% 일치성, 더욱 더 바람직하게는, 적어도 약 90% 일치성, 및 가

장 바람직하게는 적어도 약 95% 일치성을 나타낸다.

[0288] 2개의 폴리뉴클레오타이드 또는 폴리펩타이드 서열은 상기 두 서열 중의 뉴클레오타이드 또는 아미노산의 서열이 하기에 개시되는 바와 같이 최대의 상응성으로 정렬될 때 동일한 경우 "일치성"이라고 한다. 2개 서열간의 비교를 전형적으로는 상기 서열들을 서열 유사성의 국소 영역을 확인하고 비교하기 위해 "비교 창" 상에서 비교함으로써 수행한다. 본 발명에 사용되는 바와 같은 "비교 창"은 적어도 약 20, 대개는 30 내지 약 75, 또는 40 내지 약 50개의 연속된 위치들의 분절을 지칭하며, 여기에서 상기 2개의 서열을 최적으로 정렬시킨 후에 하나의 서열을 같은 수의 연속된 위치들의 기준 서열에 비교할 수 있다.

[0289] 비교를 위한 서열들의 최적의 정렬을 더 레이저진 스위트 오브 바이오인포마틱스 소프트웨어(the Lasergene suite of bioinformatics software)(디엔에이스타 인코포레이티드(DNASTAR, Inc.)(미국 위스콘신주 매디슨 소재))의 매그얼라인(Megalign) 프로그램을 사용하여, 디폴트 매개변수를 사용하여 수행할 수 있다. 상기 프로그램은 하기의 참고문헌들에 개시된 다수의 정렬 설계들을 실현시킨다: 문헌[Dayhoff, M.O., 1978, A model of evolutionary change in proteins - Matrices for detecting distant relationships. In Dayhoff, M.O. (ed.) Atlas of Protein Sequence and Structure, National Biomedical Research Foundation, Washington DC Vol. 5, Suppl. 3, pp. 345-358]; 문헌[Hein J., 1990, Unified Approach to Alignment and Phylogenes pp. 626-645 Methods in Enzymology vol. 183, Academic Press, Inc., San Diego, CA]; 문헌[Higgins, D.G. and Sharp, P.M., CABIOS 5:151-153 (1989)]; 문헌[Myers, E.W. and Muller W., CABIOS 4:11-17 (1988)]; 문헌[Robinson, E.D., Comb. Theor. 11:105 (1971)]; 문헌[Santou, N., Nes, M., Mol. Biol. Evol. 4:406-425 (1987)]; 문헌[Sneath, P.H.A. and Sokal, R.R., 1973, Numerical Taxonomy the Principles and Practice of Numerical Taxonomy, Freeman Press, San Francisco, CA]; 문헌[Wilbur, W.J. and Lipman, D.J., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 80:726-730 (1983)].

[0290] 바람직하게, 상기 "서열 일치성의 백분율"은 2개의 최적으로 정렬된 서열을 적어도 20개 위치의 비교 창에 걸쳐 비교함으로써 측정되며, 여기에서 상기 비교 창 중의 폴리뉴클레오타이드 또는 폴리펩타이드 서열 부분은 상기 2개 서열의 최적의 정렬을 위한 기준 서열(부가 또는 결실을 포함하지 않는다)에 비해, 20% 이하, 대개는 5 내지 15%, 또는 10 내지 12%의 부가 또는 결실(즉 끊김)을 포함할 수 있다. 상기 백분율은 상기 두 서열 중에 일치하는 핵산 염기 또는 아미노산 잔기가 존재하여 합치되는 위치의 수를 제공하는 위치들의 수를 측정하고, 상기 합치되는 위치의 수를 상기 기준 서열 중의 총 위치의 수(즉 창 크기)에 의해 나누고, 결과에 100을 곱하여 서열 일치성의 백분율을 제공함으로써 계산된다.

[0291] 변이체는 또한, 또는 한편으로, 고유 유전자, 또는 그의 일부 또는 보체에 실질적으로 상동성일 수 있다. 상기와 같은 폴리뉴클레오타이드 변이체는 보통으로 엄격한 조건하에서 고유 항체를 암호화하는 천연 DNA 서열(또는 상보성 서열)에 하이브리드화할 수 있다.

[0292] 적합한 "보통으로 엄격한 조건"은 5X SSC, 0.5% SDS, 1.0 mM EDTA(pH 8.0)의 용액에서 예비 세척; 50 ℃ 내지 65 ℃, 5X SSC에서 밤새 하이브리드화; 이어서 65 ℃에서 20분 동안 각각 0.1% SDS를 함유하는 2X, 0.5X 및 0.2X SSC에 의한 2회 세척을 포함한다.

[0293] 본 발명에 사용되는 바와 같이, "고도로 엄격한 조건" 또는 "고 엄격성 조건"은 (1) 세척을 위해 저 이온 강도 및 고온, 예를 들어 50 ℃에서 0.015 M 염화 나트륨/0.0015 M 나트륨 시트레이트/0.1% 나트륨 도데실 설페이트를 사용하거나; (2) 하이브리드화 동안 변성제, 예를 들어 42 ℃에서 750 mM 염화 나트륨, 75 mM 나트륨 시트레이트와 함께 0.1% 소 혈청 알부민/0.1% 피콜/0.1% 폴리비닐피롤리돈/pH 6.5의 50 mM 나트륨 포스페이트 완충제와 폼아미드, 예를 들어 50%(v/v) 폼아미드를 사용하거나; 또는 (3) 42 ℃에서 0.2x SSC(염화 나트륨/나트륨 시트레이트) 및 55 ℃에서 50% 폼아미드 중에서의 세척에 이어서 55 ℃에서 EDTA를 함유하는 0.1x SSC로 이루어지는 고-엄격성 세척과 함께, 42 ℃에서 50% 폼아미드, 5x SSC(0.75 M NaCl, 0.075 M 나트륨 시트레이트), 50 mM 나트륨 포스페이트(pH 6.8), 0.1% 나트륨 피로포스페이트, 5x 덴하르트의 용액, 초음파 처리된 연어 정자 DNA(50 ㎍/㎖), 0.1% SDS, 및 10% 덱스트란 설페이트를 사용하는 조건들이다. 숙련가는 탐침 길이 등과 같은 인자들을 수용하기 위해 필요에 따라 상기 온도, 이온 강도 등을 어떻게 조절하는 지를 알 것이다.

[0294] 당해 분야의 통상적인 숙련가들은 상기 유전자 암호의 축퇴의 결과로서, 본 발명에 개시된 바와 같은 폴리펩타이드를 암호화하는 다수의 뉴클레오타이드 서열이 존재함을 알 것이다. 상기 폴리뉴클레오타이드 중 일부는 임의의 고유 유전자의 뉴클레오타이드 서열에 대해 최소의 상동성을 갖는다. 그럼에도 불구하고, 코돈 사용의 차이로 인해 다양한 폴리뉴클레오타이드들이 본 발명에 의해 구체적으로 고려된다. 더욱이, 본 발명에 제공된 폴리뉴클레오타이드 서열을 포함하는 유전자들의 대립유전자는 본 발명의 범위 내에 있다. 대립유전자는 뉴클레

오타이드의 하나 이상의 돌연변이, 예를 들어 결실, 부가 및/또는 치환의 결과로서 변경된 내인성 유전자이다. 생성되는 mRNA 및 단백질은, 필요하지는 않지만, 변경된 구조 또는 기능을 가질 수도 있다. 대립유전자는 표준 기법(예를 들어 하이브리드화, 증폭 및/또는 데이터베이스 서열 비교)을 사용하여 확인될 수 있다.

[0295] 본 발명의 폴리뉴클레오타이드를 화학적 합성, 재조합 방법, 또는 PCR에 의해 획득할 수 있다. 화학적 폴리뉴클레오타이드 합성 방법은 당해 분야에 충분히 공지되어 있으며 여기에서 상세히 개시할 필요는 없다. 당해 분야의 숙련가는 목적하는 DNA 서열을 생성시키기 위해서 본 발명에 제공된 서열들 및 상업적인 DNA 합성기를 사용할 수 있다.

[0296] 재조합 방법을 사용하여 폴리뉴클레오타이드를 제조하는 경우, 목적하는 서열을 포함하는 폴리뉴클레오타이드를 적합한 벡터에 삽입할 수 있으며, 차례로 상기 벡터를 본 발명에 추가로 논의되는 바와 같이, 복제 및 증폭을 위해 적합한 숙주 세포에 도입시킬 수 있다. 폴리뉴클레오타이드를 당해 분야에 공지된 임의의 수단에 의해 숙주 세포에 삽입할 수 있다. 세포를 직접 흡수, 세포이물흡수, 형질감염, F-교배 또는 일렉트로포레이션에 의해 외인성 폴리뉴클레오타이드를 도입시킴으로서 형질전환시킬 수 있다. 상기 외인성 폴리뉴클레오타이드가 일단 도입되었으면, 상기 폴리뉴클레오타이드를 통합되지 않은 벡터(예를 들어 플라스미드)로서 상기 세포내에서 유지시키거나 또는 상기 숙주 세포 게놈에 통합시킬 수 있다. 상기와 같이 증폭된 폴리뉴클레오타이드를 당해 분야에 널리 공지된 방법들에 의해 상기 숙주 세포로부터 단리시킬 수 있다. 예를 들어 문헌[Sambrook et al., 1989]을 참조한다.

[0297] 한편으로, PCR은 DNA 서열의 복제를 허용한다. PCR 기술은 당해 분야에 충분히 공지되어 있으며 미국특허 제 4,683,195 호, 미국특허 제 4,800,159 호, 미국특허 제 4,754,065 호 및 미국특허 제 4,683,202 호뿐만 아니라, 문헌[PCR: The Polymerase Chain Reaction, Mullis et al. eds., Birkauswer Press, Boston, 1994]에 개시되어 있다.

[0298] RNA를, 적합한 벡터 중에 상기 단리된 DNA를 사용하고 이를 적합한 숙주 세포에 삽입시킴으로써 획득할 수 있다. 상기 세포가 복제하고 상기 DNA가 RNA로 전사되는 경우, 상기 RNA를 당해 분야의 숙련가들에게 널리 공지된 방법들, 예를 들어 상기 문헌[Sambrook et al., 1989]에 나타낸 바와 같은 방법을 사용하여 단리시킬 수 있다.

[0299] 적합한 클로닝 벡터를 표준 기법에 따라 제작하거나, 또는 당해 분야에서 입수할 수 있는 다수의 클로닝 벡터로부터 선택할 수 있다. 상기 선택된 클로닝 벡터는 사용하고자 하는 숙주 세포에 따라 다양할 수 있지만, 유용한 클로닝 벡터는 일반적으로 자기-복제 능력을 가질 것이며, 특정한 제한 엔도뉴클레아제에 대해 단일 표적을 가질 수 있고/있거나 상기 벡터를 함유하는 클론 선택에 사용될 수 있는 마커에 대한 유전자를 가질 수 있다. 적합한 예는 플라스미드 및 세균 바이러스, 예를 들어 pUC18, pUC19, 블루스크립트(Bluescript)(예를 들어 pBS SK+) 및 그의 유도체, mp18, mp19, pBR322, pMB9, ColE1, pCR1, RP4, 파지 DNA, 및 셔틀 벡터, 예를 들어 pSA3 및 pAT28을 포함한다. 이들 및 다수의 다른 클로닝 벡터들을 상업적인 판매자, 예를 들어 바이오래드(BioRad), 스트레이트진(Strategene), 및 인비트로젠(Invitrogen)으로부터 입수할 수 있다.

[0300] 발현 벡터는 일반적으로 본 발명에 따른 폴리뉴클레오타이드를 함유하는 복제성 폴리뉴클레오타이드 구조물이다. 이는 발현 벡터가 숙주 세포에서 에피솜으로서 또는 염색체 DNA의 일체 부분으로서 복제 가능해야 함을 암시한다. 적합한 발현 벡터는 비제한적으로 플라스미드, 바이러스 벡터, 예를 들어 아데노바이러스, 아데노-관련된 바이러스, 레트로바이러스, 코스미드, 및 PCT 공보 WO 87/04462에 개시된 발현 벡터(들)를 포함한다. 벡터 성분은 일반적으로, 비제한적으로 하기 중 하나 이상을 포함할 수 있다: 신호 서열; 복제 기원; 하나 이상의 마커 유전자; 적합한 전사 조절 요소(예를 들어 프로모터, 인헨서 및 종결자). 발현(즉 번역)을 위해서, 하나 이상의 번역 조절 요소, 예를 들어 리보솜 결합 부위, 번역 개시 부위, 및 정지 코돈이 또한 대개 필요하다.

[0301] 관심 폴리뉴클레오타이드를 함유하는 벡터를 다수의 적합한 수단들 중 임의의 수단, 예를 들어 일렉트로포레이션, 염화 칼슘, 염화 리비듐, 칼슘 포스페이트, DEAE-덱스트란 또는 다른 물질을 사용하는 형질감염; 미세투사 충격; 리포펙션; 및 감염(예를 들어 상기 벡터가 감염제, 예를 들어 우두 바이러스인 경우)에 의해 숙주 세포에 도입시킬 수 있다. 도입 벡터 또는 폴리뉴클레오타이드의 선택은 종종 상기 숙주 세포의 특징에 따라 변할 것이다.

[0302] 본 발명은 또한 본 발명에 개시된 폴리뉴클레오타이드 중 임의의 것을 포함하는 숙주 세포를 제공한다. 이종 DNA를 과발현할 수 있는 임의의 숙주 세포를 관심 항체, 폴리펩타이드 또는 단백질을 암호화하는 유전자의 단리

를 위해 사용할 수 있다. 포유동물 숙주 세포의 비제한적인 예는 비제한적으로 COS, HeLa, 및 CHO 세포를 포함한다. 또한 PCT 공보 WO 87/04462를 참조한다. 적합한 비-포유동물 숙주 세포는 원핵생물(예를 들어 에스케리키아 콜라이 또는 바실러스 서브틸리스) 및 효모(예를 들어 사카로마이세스 세레비지아에, 스키조사카로마이세스 폼베; 또는 클루이베로마이세스 락티스)를 포함한다. 바람직하게, 상기 숙주 세포는 상기 cDNA를 상기 숙주 세포 중의 상응하는 내인성 관심 항체 또는 단백질(존재하는 경우) 수준보다 약 5배 초과, 보다 바람직하게는 10배 초과, 훨씬 더 바람직하게는 20배 초과의 수준으로 발현한다. CXCR4 또는 CXCR4 도메인(예를 들어 도메인 1 내지 4)에 대한 특이적인 결합에 대해 상기 숙주 세포를 선별하는 것은 면역분석 또는 FACS에 의해 수행된다. 관심 항체 또는 단백질을 과발현하는 세포를 확인할 수 있다.

[0303] 항-CXCR4 항체-약물 접합체

[0304] 본 발명은 식 Ab-(T-L-D)의 항체-약물을 제공하며, 여기에서 a) Ab는 CXCR4에 결합하는 항체, 또는 그의 항원 결합 단편이고, b) T는 임의로 포함될 수 있는 아실 공여체 글루타민-함유 태그이고; c) L은 연결기이고; d) D는 약물이다. 또한 상기와 같은 항체-약물 접합체의 제조 및 제작 방법, 및 임상 용도에서 그의 용도를 제공한다. "항체-약물 접합체" 또는 "ADC"는 CXCR4에 결합하고 약물에 접합되는 항체 유도체를 포함한 항체 또는 그의 항원 결합 단편을 지칭한다.

[0305] 본 발명의 일부 태양에서, 상기 Ab는 a) 서열번호 107, 162 및 112의 CDR을 포함하는 VH 영역 및 서열번호 144, 145 및 139의 CDR을 포함하는 VL 영역을 포함하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편; b) 서열번호 115, 118 및 120의 CDR을 포함하는 VH 영역 및 서열번호 135, 136 및 137의 CDR을 포함하는 VL 영역을 포함하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편; c) 서열번호 107, 110 및 112의 CDR을 포함하는 VH 영역 및 서열번호 131, 132 및 133의 CDR을 포함하는 VL 영역을 포함하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편; d) 서열번호 107, 154 및 112의 CDR을 포함하는 VH 영역 및 서열번호 138, 132 및 139의 CDR을 포함하는 VL 영역을 포함하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편; e) 서열번호 107, 157 및 112의 CDR을 포함하는 VH 영역 및 서열번호 151, 152 및 153의 CDR을 포함하는 VL 영역을 포함하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편; f) 서열번호 33의 VH 영역 및 서열번호 73의 VL 영역을 포함하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편; g) 서열번호 13의 VH 영역 및 서열번호 15의 VL 영역을 포함하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편; h) 서열번호 5의 VH 영역 및 서열번호 7의 VL 영역을 포함하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편; 및 i) 서열번호 21의 VH 영역 및 서열번호 47의 VL 영역을 포함하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편으로 이루어진 군 중에서 선택된다.

[0306] 항체에 대한 세포독성제 또는 다른 치료제의 접합 방법들은 다양한 발행물들에 개시되었다. 예를 들어, 화학적 변형을 접합 반응이 발생하는 쇄간 다이설파이드 결합을 환원시킴으로써 활성화된 시스테인 설프하이드릴기를 통해 또는 리신 측쇄 아민을 통해 상기 항체 중에서 수행할 수 있다. 예를 들어 문헌[Tanaka et al., FEBS Letters 579:2092-2096, (2005)], 및 문헌[Gentle et al., Bioconjug. Chem. 15:658-663, (2004)]을 참조한다. 한정된 화학량론으로 특이적인 약물 접합을 위한 항체의 특정 부위에서 조작된 반응성 시스테인 잔기들이 또한 개시되었다. 예를 들어 문헌[Junutula et al., Nature Biotechnology, 26:925-932, (2008)]을 참조한다. 트랜스글루타미나제 및 아민(예를 들어 반응성 아민을 포함하거나 또는 상기 아민에 부착된 세포독성제)의 존재하에서 폴리펩타이드 공학에 의해 반응성(즉 아실 공여체로서 공유 결합을 형성하는 능력)으로 만들어진 아실 공여체 글루타민-함유 태그 및/또는 내인성 글루타민을 사용하는 접합이 또한 국제특허 출원 PCT/IB2011/054899 (WO2012/059882), 문헌[Strop et al., Chem. Biol. 20(2):161-167 (2013)], 및 문헌[Farias et al., Bioconjug. Chem. 25(2):245-250 (2014)]에 개시되어 있다.

[0307] 적합한 접합 과정의 일례는 항체 상에 천연으로 존재하는 탄수화물의 산화에 의해 생성된 알데하이드에의 하이드라지드 및 다른 친핵제의 접합에 따른다. 하이드라존-함유 접합체를 목적하는 약물-방출 성질을 제공하는 도입된 카보닐기로 제조할 수 있다. 접합체를 또한 한쪽 단부에 다이설파이드, 중간에 알킬쇄, 및 다른쪽 단부에 하이드라진 유도체를 갖는 연결기로 제조할 수 있다. 안트라사이클린이, 상기 기술을 사용하여 항체에 접합시킬 수 있는 세포독소의 일례이다.

[0308] 본 발명의 다른 태양에서, 본 발명에 개시된 항-CXCR4 항체 또는 그의 항원-결합 단편 또는 접합체는 상기 항체의 특정 부위(예를 들어 상기 항-CXCR4 항체 중의 카복시 말단, 아미노 말단, 또는 또 다른 부위)에서 조작된 아실 공여체 글루타민-함유 태그(T)를 포함한다. 본 발명의 일부 태양에서, 상기 태그는 아미노산 글루타민(Q) 또는 아미노산 서열 LLQGG(서열번호 171), GGLLQGG(서열번호 90), LLQGA(서열번호 91), GGLLQGA(서열번호 92), LLQ, LLQGPGK(서열번호 93), LLQGPG(서열번호 94), LLQGPA(서열번호 95), LLQGP(서열번호 96), LLQP(서열번호 97), LLQPGK(서열번호 98), LLQGAPGK(서열번호 99), LLQGAPG(서열번호 100), LLQGAP(서열번호 101), GGLLQGPP

(서열번호 172), LLQGPP(서열번호 173), $LLQX_1X_2X_3X_4X_5$(여기에서 X_1은 G 또는 P이고, X_2는 A, G, P이거나 또는 존재하지 않고, X_3은 A, G, K, P이거나 또는 존재하지 않고, X_4는 K, G이거나 또는 존재하지 않고, X_5는 K이거나 또는 존재하지 않는다)(서열번호 102), 또는 $LLQX_1X_2X_3X_4X_5$(여기에서 X_1은 임의의 천연 아미노산이고, X_2, X_3, X_4 및 X_5는 임의의 천연 아미노산이거나 또는 존재하지 않는다)(서열번호 103)을 포함한다. 본 발명의 특정한 태양에서, T는 서열번호 91, 92 및 102 중 어느 하나로 이루어진 군 중에서 선택된다.

[0309] 본 발명의 다른 태양에서, 단리된 항체의 222, 340 또는 370번 위치(EU 넘버링 설계)에 아실 공여체 글루타민-함유 태그 및 아미노산 변형을 포함하는 상기 항체를 제공하며, 여기에서 변형은 아미노산 결실, 삽입, 치환, 돌연변이 또는 이들의 임의의 조합이다. 예를 들어 상기 아미노산 변형은 K222R, K340R 및 K370R이다.

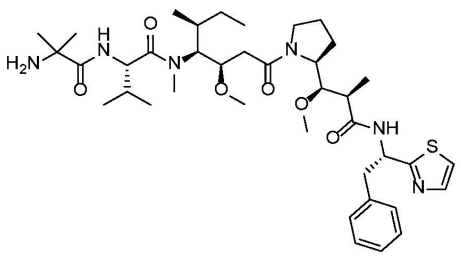
[0310] 본 발명의 일부 태양에서, 항체 또는 항원 결합 단편의 접합체를 약물에 접합시키며, 여기에서 상기 약물은 세포독성제, 면역조절제, 이미지화제, 치료제(예를 들어 치료학적 단백질), 생물중합체 및 올리고뉴클레오타이드로 이루어진 군 중에서 선택된다.

[0311] 본 발명의 일부 태양에서, 약물을 본 발명에 개시된 바와 같은 항-CXCR4 항체 또는 그의 항원 결합 단편에, 종양(예를 들어 CXCR4 발현 종양)에 상기 약물의 표적화된 국소 전달을 위해서 연결시키거나 접합시킬 수 있다. 본 발명의 특정한 태양에서, 상기 약물은 세포독성제이다. 세포독성제의 예는 비제한적으로 안트라사이클린, 아우리스타틴, 캄토테신, 콤브레타스테인, 돌라스타틴, 듀오카마이신, 에네다인, 젤다나마이신, 인돌리노-벤조다이아제핀 이량체, 메이탄신, 퓨로마이신, 피롤로벤조다이아제핀 이량체, 탁산, 빈카 알칼로이드, 투불리신, 헤미아스털린, 스플라이스오스타틴, 플라다이에놀리드, 칼케아미신, 및 이들의 입체이성질체, 등배전자체, 유사체 또는 유도체를 포함한다. 본 발명의 일부 태양에서, 상기 안트라사이클린은 세균 스트렙토마이세스로부터 유래되며 광범위한 암, 예를 들어 백혈병, 림프종, 유방, 자궁, 난소 및 폐암의 치료에 사용되어 왔다. 예시적인 안트라사이클린은 비제한적으로 다우노루비신, 독소루비신(즉 아드리아마이신), 에피루비신, 이다루비신, 발루비신, 및 미톡산트론을 포함한다.

[0312] 돌라스타틴 및 그의 펩타이드 유사체 및 유도체, 아우리스타틴은 항암 및 항진균 활성을 갖는 것으로 입증된 매우 효능 있는 세포분열저지제이다. 예를 들어 미국특허 제 5,663,149 호 및 문헌[Pettit et al., Antimicrob. Agents Chemother. 42:2961-2965(1998)]을 참조한다. 예시적인 돌라스타틴 및 아우리스타틴은 비제한적으로 돌라스타틴 10, 아우리스타틴 E, 아우리스타틴 EB(AEB), 아우리스타틴 EFP(AEFP), MMAD(모노메틸 아우리스타틴 D 또는 모노메틸 돌라스타틴 10), MMAF(모노메틸 아우리스타틴 F 또는 N-메틸발린-발린-돌라아이소류신-돌라프로인-페닐알라닌), MMAE(모노메틸 아우리스타틴 E 또는 N-메틸발린-발린-돌라아이소류신-돌라프로인-노르에페드린), 5-벤조일발레르산-AE 에스터(AEVB), 및 다른 신규의 아우리스타틴(예를 들어 미국 공보 제 20130129753 호에 개시된 것들)을 포함한다.

[0313] 본 발명의 특정한 태양에서, 상기 아우리스타틴은 0101(2-메틸알라닐-N-[(3R,4S,5S)-3-메톡시-1-{[(2S)-2-[(1R,2R)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소-3-{[(1S)-2-페닐-1-(1,3-티아졸-2-일)에틸]아미노}프로필]피롤리딘-1-일}-5-메틸-1-옥소헵탄-4-일]-N-메틸-L-발린아미드), MMAD(모노메틸 아우리스타틴 D 또는 모노메틸 돌라스타틴 10) 및 8261(2-메틸알라닐-N-[(3R,4S,5S)-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-3-{[(1S)-1-카복시-2-페닐에틸]아미노}-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필]피롤리딘-1-일}-3-메톡시-5-메틸-1-옥소헵탄-4-일]-N-메틸-L-발린아미드)로 이루어진 군 중에서 선택된다.

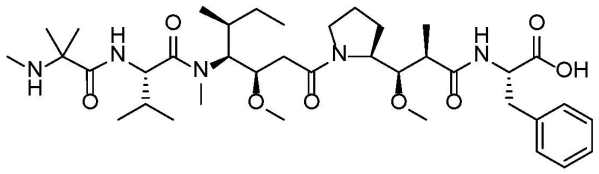
[0314] 본 발명의 일부 태양에서, 상기 아우리스타틴은 하기의 구조를 갖는 0101(2-메틸알라닐-N-[(3R,4S,5S)-3-메톡시-1-{[(2S)-2-[(1R,2R)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소-3-{[(1S)-2-페닐-1-(1,3-티아졸-2-일)에틸]아미노}프로필]피롤리딘-1-일}-5-메틸-1-옥소헵탄-4-일]-N-메틸-L-발린아미드)이다:



[0315]

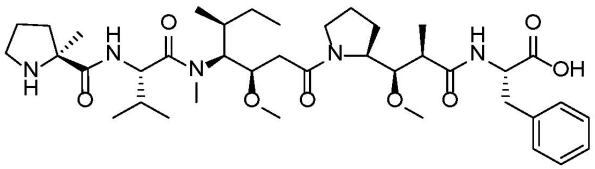
[0316] 다른 태양에서, 상기 아우리스타틴은 하기의 구조를 갖는 3377(N,2-다이메틸알라닐-N-{(1S,2R)-4-{(2S)-2-

[(1R,2R)-3-{[(1S)-1-카복실-2-페닐에틸]아미노}-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필]피롤리딘-1-일}-2-메톡시-1-[(1S)-1-메틸프로필]-4-옥소부틸}-N-메틸-L-발린아미드)이다:



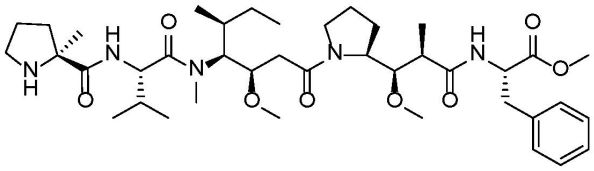
[0317]

[0318] 본 발명의 다른 태양에서, 상기 아우리스타틴은 하기의 구조를 갖는 0131(2-메틸-L-프롤리-N-[(3R,4S,5S)-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-3-{[(1S)-1-카복시-2-페닐에틸]아미노}-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필]피롤리딘-1-일}-3-메톡시-5-메틸-1-옥소헵탄-4-일]-N-메틸-L-발린아미드)이다:



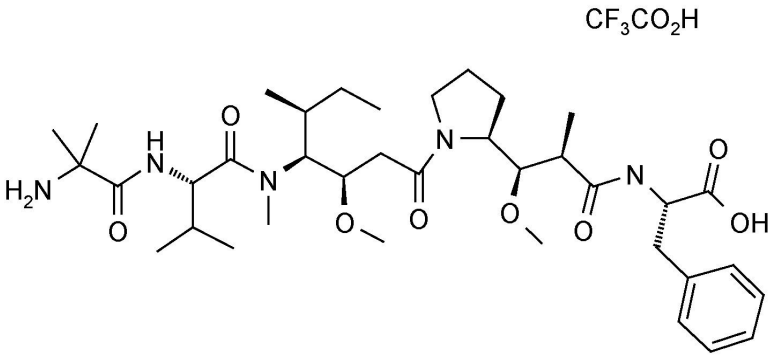
[0319]

[0320] 일부 태양에서, 상기 아우리스타틴은 하기의 구조를 갖는 0121(2-메틸-L-프롤리-N-[(3R,4S,5S)-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-3-{[(2S)-1-메톡시-1-옥소-3-페닐프로판-2-일]아미노}-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필]피롤리딘-1-일}-3-메톡시-5-메틸-1-옥소헵탄-4-일]-N-메틸-L-발린아미드)이다:



[0321]

[0322] 다른 태양에서, 상기 아우리스타틴은 하기의 구조를 갖는 8261(8261 2-메틸알라닐-N-[(3R,4S,5S)-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-3-{[(1S)-1-카복시-2-페닐에틸]아미노}-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필]피롤리딘-1-일}-3-메톡시-5-메틸-1-옥소헵탄-4-일]-N-메틸-L-발린아미드)이다:



[0323]

[0324] 캄토테신은 효소 국소이성화효소 I를 억제하는 세포독성 퀴놀린 알칼로이드이다. 캄토테신 및 그의 유도체의 예는 비제한적으로 토포테칸 및 이리노테칸, 및 이들의 대사산물, 예를 들어 SN-38을 포함한다.

[0325] 콤브레타스타틴은 종양에서 혈관 파괴 성질을 갖는 천연 페놀이다. 예시적인 콤브레타스타틴 및 그의 유도체는 비제한적으로 콤브레타스타틴 A-4(CA-4) 및 옴브라뷸린을 포함한다.

[0326] 듀오카마이신은 세포독성 효능을 갖는 DNA 알킬화제이다. 문헌[Boger and Johnson, PNAS 92:3642-3649(1995)]을 참조한다. 예시적인 듀오카마이신은 비제한적으로 듀오카마이신 A, 듀오카마이신 B1, 듀오카마이신 B2, 듀오카마이신 C1, 듀오카마이신 C2, 듀오카마이신 D, 듀오카마이신 SA, 및 CC-1065를 포함한다. 에네다인은 9- 및 10-원 고리 또는 접합된 삼중-이중-삼중 결합의 환상 시스템의 존재를 특징으로 하는 항-종양 세균 생성물의 부류이다. 예시적인 에네다인은 비제한적으로 칼리키아미신, 에스페라미신, 및 다이네미신을 포함

한다.

[0327] 젤다나마이신은 Hsp90(열 충격 단백질 90)에 결합하는 벤조퀴논 안사마이신 항생제이며 항종양 약물로 사용되어 왔다. 예시적인 젤다나마이신은 비제한적으로 17-AAG(17-N-알릴아미노-17-D-데메톡시젤다나마이신) 및 17-DMAG(17-다이메틸아미노에틸아미노-17-데메톡시젤다나마이신)를 포함한다.

[0328] 메이탄신 또는 그의 유도체 메이탄시노이드는 튜불린의 중합 억제를 통해 유사분열 중 미세소관 형성을 억제함으로써 세포 증식을 억제한다. 문헌[Remillard et al., Science 189:1002-1005(1975)]을 참조한다. 예시적인 메이탄신 및 메이탄시노이드는 비제한적으로 메르탄신(DM1) 및 그의 유도체뿐만 아니라 안사미토신을 포함한다.

[0329] 피롤로벤조다이아제핀 이량체(PBD) 및 인돌리노-벤조다이아제핀 이량체(IGN)는 이중나선 DNA에 결합하는 하나 이상의 이민 작용기 또는 그의 유도체를 함유하는 항-종양제이다. PBD 및 IGN 분자는 천연 산물인 아트라마이신을 기본으로 하며, DNA와 서열-선택적인 방식으로 상호작용하고, 퓨린-구아닌-퓨린 서열을 선호한다. 예시적인 PBD 및 그의 유사체는 비제한적으로 SJG-136을 포함한다.

[0330] 스플라이스오스타틴 및 플라다이에놀리드는 스플라이싱을 억제하고 스플라이스오솜, SF3b와 상호작용하는 항-종양 화합물이다. 스플라이스오스타틴의 예는 비제한적으로 스플라이스오스타틴 A, FR901464를 포함한다. 플라다이에놀리드의 예는 비제한적으로 플라다이에놀리드 B, 플라다이에놀리드 D, 및 E7107을 포함한다.

[0331] 탁산은 항-튜불린제 또는 유사분열 억제제로서 작용하는 다이터펜이다. 예시적인 탁산은 비제한적으로 패클리탁셀(예를 들어 탁솔(TAXOL: 등록상표) 및 도세탁셀(탁소테레(TAXOTERE: 등록상표))을 포함한다.

[0332] 빈카 알킬로이드가 또한 항-튜불린제이다. 예시적인 빈카 알킬로이드는 비제한적으로 빈크리스틴, 빈블라스틴, 빈데신 및 비노렐빈을 포함한다.

[0333] 본 발명의 일부 태양에서, 상기 약물은 면역조절제이다. 면역조절제의 예는 비제한적으로 강사이클로비어, 에타너셉트, 타크롤리무스, 시롤리무스, 보클로스포린, 사이클로스포린, 라파마이신, 사이클로포스파미드, 아자티오프린, 마이코페놀게이트 모페틸, 메토트렉스트레이트, 글루코코르티코이드 및 그의 유사체, 사이토킨, 줄기세포 성장 인자, 림포톡신, 종양 괴사 인자(TNF), 조혈 인자, 인터류킨(예를 들어 인터류킨-1(IL-1), IL-2, IL-3, IL6, IL-10, IL-12, IL-18, 및 IL-21), 콜로니 자극 인자(예를 들어 과립구-콜로니 자극 인자(G-CSF) 및 과립구 대식세포-콜로니 자극 인자(GM-CSF)), 인터페론(예를 들어 인터페론-α, -β 및 -γ), "S1 인자"로서 표시되는 줄기세포 성장 인자, 에리쓰로포이에틴 및 트롬보포이에틴, 또는 이들의 조합을 포함한다.

[0334] 본 발명의 일부 태양에서, 상기 약물은 이미지화제(예를 들어 형광단 또는 킬레이터), 예를 들어 플루오레세인, 로다민, 란타나이드 인광체, 및 이들의 유도체이다. 형광단의 예는 비제한적으로 플루오레세인 아이소티오시아네이트(FITC)(예를 들어 5-FITC), 플루오레세인 아미다이트(FAM)(예를 들어 5-FAM), 에오신, 카복시플루오레세인, 에리쓰로신, 알렉사 플루오르(Alexa Fluor: 등록상표)(예를 들어 알렉사 350, 405, 430, 488, 500, 514, 532, 546, 555, 568, 594, 610, 633, 647, 660, 680, 700, 또는 750), 카복시테트라메틸로다민(TAMRA)(예를 들어 5-TAMRA), 테트라메틸로다민(TMR), 및 설포로다민(SR)(예를 들어 SR101)을 포함한다. 킬레이터의 예는 비제한적으로 1,4,7,10-테트라아자사이클로도데칸-N,N',N",N"'-테트라아세트산(DOTA), 1,4,7-트라이아자사이클로노난-1,4,7-트라이아세트산(NOTA), 1,4,7-트라이아자사이클로노난, 1-글루타르산-4,7-아세트산(NODAGA), 다이에틸렌트라이아민펜타아세트산(DTPA), 및 1,2-비스(o-아미노페녹시)에탄-N,N,N',N'-테트라아세트산)(BAPTA)을 포함한다.

[0335] 본 발명의 일부 태양에서, 치료학적 또는 진단학적 방사성동위원소 또는 다른 표지(예를 들어 PET 또는 SPECT 표지)를 본 발명에 개시된 바와 같은 항-CXCR4 항체 또는 항원 결합 단편에의 접합을 위해 약물에 통합시킬 수 있다. 방사성동위원소 또는 다른 표지의 예는 비제한적으로 ^{3}H, ^{11}C, ^{13}N, ^{14}C, ^{15}N, ^{15}O, ^{35}S, ^{18}F, ^{32}P, ^{33}P, ^{47}Sc, ^{51}Cr, ^{57}Co, ^{58}Co, ^{59}Fe, ^{62}Cu, ^{64}Cu, ^{67}Cu, ^{67}Ga, ^{68}Ga, ^{75}Se, ^{76}Br, ^{77}Br, ^{86}Y, ^{89}Zr, ^{90}Y, ^{94}Tc, ^{95}Ru, ^{97}Ru, ^{99}Tc, ^{103}Ru, ^{105}Rh, ^{105}Ru, ^{107}Hg, ^{109}Pd, ^{111}Ag, ^{111}In, ^{113}In, ^{121}Te, ^{122}Te, ^{123}I, ^{124}I, ^{125}I, ^{125}Te, ^{126}I, ^{131}I, ^{131}In, ^{133}I, ^{142}Pr, ^{143}Pr, ^{153}Pb, ^{153}Sm, ^{161}Tb, ^{165}Tm, ^{166}Dy, ^{166}H, ^{167}Tm, ^{168}Tm, ^{169}Yb, ^{177}Lu, ^{186}Re, ^{188}Re, ^{189}Re, ^{197}Pt, ^{198}Au, ^{199}Au, ^{201}Tl, ^{203}Hg, ^{211}At, ^{212}Bi, ^{212}Pb, ^{213}Bi, ^{223}Ra, ^{224}Ac, 및 ^{225}Ac를 포함한다.

[0336] 본 발명의 일부 태양에서, 상기 약물은 치료학적 단백질, 예를 들어 비제한적으로 독소, 호르몬, 효소 및 성장 인자이다.

[0337] 독소 단백질(또는 폴리펩타이드)의 예는 비제한적으로 디프테리아(예를 들어 디프테리아 A 쇄), 슈도모나스 외독소 및 내독소, 리신(예를 들어 리신 A 쇄), 아브린(예를 들어 아브린 A 쇄), 모데신(예를 들어 모세신 A 쇄), 알파-사르신, 유동(Aleurites fordii) 단백질, 다이안틴 단백질, 리보뉴클레아제(RNase), DNase I, 스타필로코커스 엔테로톡신-A, 미국자리공 항바이러스 단백질, 젤로닌, 디프테린 독소, 피톨라카 아메리카나 단백질(PAPI, PAPII 및 PAP-S), 모모르디카 카란티아 억제제, 쿠르신, 크로틴, 사파오나리아 오피시날리스 억제제, 미토젤린, 레스트릭토신, 페노마이신, 에노마이신, 트라이코테세네스, 억제제 시스틴 매듭(ICK) 펩타이드(예를 들어 세라토톡신) 및 코노톡신(예를 들어 KIIIA 또는 SmIIIa)을 포함한다.

[0338] 본 발명의 일부 태양에서, 상기 약물은 생체적합성 중합체이다. 본 발명에 개시된 바와 같은 항-CXCR4 항체 또는 항원 결합 단편을 상기 생체적합성 중합체에 접합시켜 혈청 반감기 및 생물활성을 증가시키고/시키거나 생체내 반감기를 연장시킬 수 있다. 생체적합한 중합체의 예는 수용성 중합체, 예를 들어 폴리에틸렌 글리콜(PEG) 또는 그의 유도체 및 쯔비터이온-함유 생체적합성 중합체(예를 들어 포스포릴콜린 함유 중합체)를 포함한다.

[0339] 본 발명의 일부 태양에서, 상기 약물은 올리고뉴클레오타이드, 예를 들어 안티센스 올리고뉴클레오타이드이다.

[0340] 또 다른 태양에서, 본 발명은 본 발명에 개시된 바와 같은 항체 또는 항원 결합 단편의 접합체를 제공하며, 여기에서 상기 항체-약물 접합체는 식: 항체-(아실 공여체 글루타민-함유 태그)-(연결기)-(약물)[여기에서 상기 아실 공여체 글루타민-함유 태그는 항체 또는 항원 결합 단편의 특이적인 부위(예를 들어 중쇄 또는 경쇄의 카복시 말단 또는 또 다른 부위)에서 조작되며, 상기 태그는 연결기(예를 들어 하나 이상의 반응성 아민(예를 들어 1차 아민 NH_2)을 함유하는 연결기)에 접합되고, 상기 연결기는 세포독성제(예를 들어 MMAD 또는 본 발명에 개시된 바와 같은 다른 아우리스타틴)에 접합된다]을 포함한다. 본 발명의 일부 태양에서, 상기 항체-약물 접합체는 아실 공여체 글루타민-함유 태그를 포함하지 않는다.

[0341] 하나 이상의 반응성 아민을 함유하는 연결기의 예는 비제한적으로 아세틸-리신-발린-시트룰린-p-아미노벤질옥시카보닐(AcLys-VC-PABC) 또는 아미노 PEG6-프로피오닐을 포함한다. 예를 들어 WO2012/059882를 참조한다.

[0342] 본 발명의 일부 태양에서, 상기 연결기는 다이펩타이드 연결기, 예를 들어 발린-시트룰린(val-cit), 페닐알라닌-리신(phe-lys) 연결기, 또는 말레이미도카프로닉-발린-시트룰린-p-아미노벤질옥시카보닐(vc) 연결기일 수 있다. 또 다른 태양에서, 상기 연결기는 설포숙신이미딜-4-[N말레이미도메틸]사이클로헥산-1-카복실레이트(smcc)일 수 있다. 설포-smcc 접합은 설프하이드릴(티올, -SH)과 반응하는 말레이미드기를 통해 일어나는 반면, 그의 설포-NHS 에스터는 1차 아민(리신 및 단백질 또는 펩타이드 N 말단에서 발견되는 바와 같은)에 대해 반응성이다. 더욱이, 상기 연결기는 말레이미도카프로일(mc)일 수 있다. 본 발명의 일부 태양에서, 상기 아실 공여체 글루타민-함유 태그는 LLQGG(서열번호 171), GGLLQGG(서열번호 90), LLQGA(서열번호 91), GGLLQGA(서열번호 92), LLQ, LLQGPGK(서열번호 93), LLQGPG(서열번호 94), LLQGPA(서열번호 95), LLQGP(서열번호 96), LLQP(서열번호 97), LLQPGK(서열번호 98), LLQGAPGK(서열번호 99), LLQGAPG(서열번호 100), LLQGAP(서열번호 101), GGLLQGPP(서열번호 172), LLQGPP(서열번호 173), $LLQX_1X_2X_3X_4X_5$(여기에서 X_1은 G 또는 P이고, X_2는 A, G, P이거나 또는 존재하지 않고, X_3은 A, G, K, P이거나 또는 존재하지 않고, X_4는 K, G이거나 또는 존재하지 않고, X_5는 K이거나 또는 존재하지 않는다)(서열번호 102), 또는 $LLQX_1X_2X_3X_4X_5$(여기에서 X_1은 임의의 천연 아미노산이고, X_2, X_3, X_4 및 X_5는 임의의 천연 아미노산이거나 또는 존재하지 않는다)(서열번호 103)을 포함한다.

[0343] 본 발명의 일부 태양에서, 본 발명에 개시된 바와 같은 항-CXCR4 항체 또는 접합체는 상기 항-CXCR4 항체의 297번 위치에서 아스파라진(N)에서 글루타민(Q)으로, 또는 N에서 알라닌(A)으로의 아미노산 치환을 포함한다.

[0344] 본 발명의 일부 태양에서, 예를 들어 LLQ, 서열번호 91, 90, 94, 95, 95, 97, 98, 99, 100, 171,101, 172, 또는 173을 포함하는 상기 아실 공여체 글루타민-함유 태그는 상기 항체의 중쇄의 C-말단에서 조작되며, 여기에서 상기 C-말단의 리신 잔기가 결실된다. 다른 태양에서, 상기 아실 공여체 글루타민-함유 태그(예를 들어 GGLLQGA(서열번호 92))는 상기 항체의 경쇄의 C-말단에서 조작된다. 상기 항체의 예는 비제한적으로 m6B6, h6B6, m12A11, h12A11, m3G10, h3G10, h3G10.A57, h3G10.B44, h3G10.1.7, h3G10.1.60, h3G10.2.5, h3G10.1.91, h3G10.2.37, h3G10.2.45, h3G10.2.42, h3G10.1.33, h3G10.3.25, h3G10, h3G10.2.72, h3G10.A11A, h3G10.A18A, h3G10.A19A, h3G10.A58A, h3G10.A65A, 및 h3G10.B12A, h3G10.B13A, h3G10.B18A, h3G10.A11B, h3G10.A18B, h3G10.A19B, h3G10.A58B, h3G10.A65B, h3G10.B12B, h3G10.B13B, h3G10.B18B, h3G10.2.25, h3G10.A59, h3G10.A62 또는 h3G10.L94D를 포함한다.

[0345] 본 발명의 다른 태양에서, 상기 접합체는 식: 항체-(아실 공여체 글루타민-함유 태그)-(L)-(세포독성제)를 포함

한다. 본 발명의 일부 태양에서, 상기 접합체는 a) Ab-LLQGA(서열번호 91)-(아세틸-리신-발린-시트룰린-p-아미노벤질옥시카보닐(AcLys-VC-PABC))-0101; b) Ab-LLQGA(서열번호 91)-(AcLys-VC-PABC)-MMAD; c) Ab-$LLQX_1X_2X_3X_4X_5$(서열번호 102)-(AcLys-VC-PABC)-0101; d) Ab-$LLQX_1X_2X_3X_4X_5$(서열번호 102)-(AcLys-VC-PABC)-MMAD; e) Ab-GGLLQGA(서열번호 92)-(AcLys-VC-PABC)-0101; 및 f) Ab-GGLLQGA(서열번호 92)-(AcLys-VC-PABC)-MMAD이다.

[0346] 상기 항체의 예는 비제한적으로 m6B6, h6B6, m12A11, h12A11, m3G10, h3G10, h3G10.A57, h3G10.B44, h3G10.1.7, h3G10.1.60, h3G10.2.5, h3G10.1.91, h3G10.2.37, h3G10.2.45, h3G10.2.42, h3G10.1.33, h3G10.3.25, h3G10, h3G10.2.72, h3G10.A11A, h3G10.A18A, h3G10.A19A, h3G10.A58A, h3G10.A65A, 및 h3G10.B12A, h3G10.B13A, h3G10.B18A, h3G10.A11B, h3G10.A18B, h3G10.A19B, h3G10.A58B, h3G10.A65B, h3G10.B12B, h3G10.B13B, h3G10.B18B, h3G10.2.25, h3G10.L94D, h3G10.A59, h3G10.A62 또는 h3G10.L94D이다.

[0347] 본 발명의 일부 태양에서, Ab는 서열번호 107, 162 및 112의 CDR을 포함하는 VH 영역 및 서열번호 144, 145 및 139의 CDR을 포함하는 VL 영역을 포함하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편이다.

[0348] 본 발명의 일부 태양에서, 상기 항-CXCR4 항체-약물 접합체는 종양 퇴화를 유도한다.

[0349] 항-CXCR4 항체, 그의 항원-결합 단편 또는 그의 항체-약물 접합체의 사용 방법

[0350] 본 발명의 항체 및 그의 항체-약물 접합체는 다양한 용도, 예를 들어 비제한적으로 치료학적 치료 방법 및 진단학적 치료 방법에 유용하다.

[0351] 본 발명의 일부 태양에서, 환자에게 투여될 때 상기 항체 또는 접합체 및 약학적으로 허용 가능한 담체는 멸균성이다. 물은 상기 화합물 또는 접합체를 정맥내로 투여하는 경우 예시적인 담체이다. 염수 용액 및 수성 덱스트로스 및 글리세롤 용액을 또한, 특히 주사성 용액에 대한 액체 담체로서 사용할 수 있다. 본 발명의 조성물은, 목적하는 경우, 소량의 습윤제 또는 유화제, 또는 pH 완충제를 또한 함유할 수 있다.

[0352] 본 발명의 조성물은 용액, 펠릿, 분말, 서방성 제형의 형태, 또는 사용하기에 적합한 임의의 다른 형태를 취할 수 있다. 적합한 약학 담체의 다른 예들은 문헌[E.W. Martin, "Remington's Pharmaceutical Sciences"]에 개시되어 있다.

[0353] 일부 태양에서, 본 발명의 항체 및/또는 그의 항체-약물 접합체를 동물, 특히 인간에게 정맥내 투여하기에 적합한 약학 조성물로서 통상적인 과정에 따라 제형화한다. 전형적으로, 상기 정맥내 투여를 위한 담체 또는 비히클은 멸균 등장성 수성 완충제 용액이다. 필요한 경우, 상기 조성물은 또한 용해제를 포함할 수 있다. 정맥내 투여를 위한 조성물은 주사 부위에서의 통증을 덜기 위해서 국소 마취제, 예를 들어 리그노카인을 임의로 포함할 수 있다. 일반적으로, 상기 성분들을, 단위 투여형, 예를 들어 밀폐 밀봉된 용기, 예를 들어 활성제의 양을 가리키는 앰풀 또는 사쉐 중의 무수 농축물 또는 무수 동결건조된 분말로서 함께 혼합하여 또는 별도로 공급한다. 본 발명의 화합물 및/또는 그의 항체-약물 접합체를 주입에 의해 투여해야 하는 경우, 예를 들어 멸균 약제 등급의 물 또는 염수를 함유하는 주입 병으로 분배할 수 있다. 본 발명의 화합물 및/또는 그의 항체-약물 접합체를 주사에 의해 투여하는 경우, 주사용 멸균수 또는 염수의 앰풀을, 상기 성분들이 투여 전 혼합될 수 있도록 제공할 수 있다.

[0354] 상기 조성물은 고체 또는 액체 투여 단위의 물리적 형태를 변형시키는 다양한 물질을 포함할 수 있다. 예를 들어, 상기 조성물은 상기 활성 성분 주위에 코팅 쉘을 형성하는 물질을 포함할 수 있다. 상기 코팅 쉘을 형성하는 물질은 전형적으로 불활성이며, 예를 들어 당, 쉘락 및 다른 장용 코팅제 중에서 선택될 수 있다. 한편으로, 상기 활성 성분을 젤라틴 캡슐 중에 넣을 수 있다.

[0355] 본 발명의 조성물은 고체 형태든 또는 액체 형태든 간에 암 치료에 사용되는 약물학적 작용제를 포함할 수 있다. 하나의 태양에서, 본 발명은 대상체에서 CXCR4 발현과 관련된 병의 치료 방법을 제공한다. 본 발명의 일부 태양에서, 대상체에서 CXCR4 기능 또는 발현과 관련된 질환의 치료 방법은 상기 치료가 필요한 대상체에게 유효량의 본 발명에 개시된 바와 같은 항-CXCR4 항체, 그의 항원-결합 단편, 또는 항-CXCR4 항체-약물 접합체를 포함하는 조성물(예를 들어 약학 조성물)을 투여함을 포함한다. 상기 CXCR4 발현과 관련된 질환은 비제한적으로 이상 CXCR4 발현, 변경된 또는 일탈된 CXCR4 발현, CXCR4 과발현, 및 증식성 질환(예를 들어 암)을 포함한다.

[0356] 따라서, 일부 태양에서 암 치료가 필요한 대상체에게 유효량의 본 발명에 개시된 바와 같은 항-CXCR4 항체, 그의 항원-결합 단편, 또는 항-CXCR4 항체-약물 접합체를 포함하는 조성물을 투여함을 포함하는, 상기 대상체에서

암을 치료하는 방법을 제공한다. 본 발명에 사용되는 바와 같이, 암은 비제한적으로 방광, 유방, 경부, 융모막암종, 결장, 식도, 위, 교모세포종, 두경부, 신장, 폐, 구강, 난소, 췌장, 전립선, 피부 및 혈액암을 포함한다. 본 발명의 일부 태양에서, CXCR4 발현 종양을 갖는 대상체에서 종양 성장 또는 진행을 감소시키는 방법을 제공하며, 상기 방법은 상기 감소가 필요한 대상체에게 유효량의 본 발명에 개시된 바와 같은 항-CXCR4 항체, 그의 항원-결합 단편, 또는 항-CXCR4 항체-약물 접합체를 포함하는 조성물을 투여함을 포함한다. 다른 태양에서, 대상체에서 CXCR4 발현 암세포의 전이를 감소시키는 방법을 제공하며, 상기 방법은 상기 감소가 필요한 대상체에게 유효량의 본 발명에 개시된 바와 같은 항-CXCR4 항체, 그의 항원-결합 단편, 또는 항-CXCR4 항체-약물 접합체를 포함하는 조성물을 투여함을 포함한다. 다른 태양에서, 대상체에서 CXCR4 발현 종양 퇴화의 퇴화를 유도하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 상기 유도가 필요한 대상체에게 유효량의 본 발명에 개시된 바와 같은 항-CXCR4 항체, 그의 항원-결합 단편, 또는 항-CXCR4 항체-약물 접합체를 포함하는 조성물을 투여함을 포함한다.

[0357] 일부 태양에서, 본 발명은 CXCR4의 기능 또는 발현과 관련된 병리학적 질환의 검출, 진단 및 치료에 사용하기 위한 본 발명에 개시된 바와 같은 단리된 항체, 상기 항체들 중 어느 하나의 항원 결합 단편 또는 항체-약물 접합체를 제공한다. 하나의 태양에서, 상기 질환은 정상 또는 CXCR4의 과발현과 관련된 임의의 다른 병리학에 비해 증가된 CXCR4 발현과 관련된 발암성 질환이다.

[0358] 본 발명의 일부 태양에서, 암 치료가 필요한 대상체에게 유효량의, (i) 서열번호 107, 113, 114, 108, 109, 115, 116, 117, 121 및 122로 이루어진 군 중에서 선택된 VH CDR1; (ii) 서열번호 162, 128, 110, 111, 118, 119, 154, 123, 158, 124, 159, 125, 160, 126, 161, 127, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 155, 129, 156 및 130으로 이루어진 군 중에서 선택된 VH CDR2; 및 (iii) 서열번호 112 및 120으로 이루어진 군 중에서 선택된 VH CDR3을 포함하는 중쇄 가변(VH) 영역; 및/또는 b) (i) 서열번호 144, 131, 135, 138, 141, 142, 143, 146, 147, 148, 149, 150 및 151로 이루어진 군 중에서 선택된 VL CDR1; (ii) 서열번호 145, 132, 136 및 152로 이루어진 군 중에서 선택된 VL CDR2; 및 (iii) 서열번호 139, 133, 137, 140 및 153으로 이루어진 군 중에서 선택된 VL CDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL) 영역을 포함하는 조성물을 투여함을 포함하는, 상기 대상체에서 암을 치료하는 방법을 제공한다.

[0359] 본 발명의 일부 태양에서, 암 치료가 필요한 대상체에게 유효량의 항체 또는 그의 항원 결합 단편을 포함하는 조성물을 투여함을 포함하는, 상기 대상체에서 암을 치료하는 방법을 제공하며, 여기에서 상기 항체는 서열번호 107, 162 및 112로 나타낸 3개의 CDR을 포함하는 중쇄 가변(VH) 영역을 포함한다. 본 발명의 일부 태양에서, 암 치료가 필요한 대상체에게 유효량의 항체 또는 그의 항원 결합 단편을 포함하는 조성물을 투여함을 포함하는, 상기 대상체에서 암을 치료하는 방법을 제공하며, 여기에서 상기 항체는 서열번호 144, 145 및 139로 나타낸 3개의 CDR을 포함하는 경쇄 가변(VL) 영역을 포함한다.

[0360] 본 발명의 일부 태양에서, 암 치료가 필요한 대상체에게 유효량의 항체 또는 그의 항원 결합 단편을 포함하는 조성물을 투여함을 포함하는, 상기 대상체에서 암을 치료하는 방법을 제공하며, 여기에서 상기 항체는 서열번호 107, 162 및 112로 나타낸 3개의 CDR을 포함하는 중쇄 가변(VH) 영역; 및 서열번호 144, 145 및 139로 나타낸 3개의 CDR을 포함하는 경쇄 가변(VL) 영역을 포함한다.

[0361] 일부 태양에서, 본 발명은 암 치료가 필요한 대상체에게 유효량의, CXCR4에 결합하고 서열번호 33의 VH 영역으로부터의 VH CDR1, VH CDR2 및 VH CDR3을 포함하는 중쇄 가변(VH) 영역; 및 서열번호 73의 VL 영역으로부터의 VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3을 포함하는 경쇄 가변(VL) 영역을 포함하는 단리된 항체 또는 그의 항원 결합 단편을 포함하는 조성물을 투여함을 포함하는 상기 대상체에서 암을 치료하는 방법을 제공한다.

[0362] 더욱 다른 태양에서, 본 발명은 암 치료가 필요한 대상체에게 유효량의 선행 청구항들 중 어느 한 항의 항체 또는 그의 항원 결합 단편을 포함하는 조성물을 투여함을 포함하는, 상기 대상체에서 암을 치료하는 방법을 제공하며, 여기에서 상기 항체는 a) 서열번호 33의 중쇄 가변(VH) 영역; 및 b) 서열번호 73의 경쇄 가변(VL) 영역을 포함한다.

[0363] 일부 태양에서, 본 발명은 CXCR4 기능 또는 발현과 관련된 질환의 치료를 위한 약제의 제조에서 본 발명에 개시된 바와 같은 단리된 항체, 상기 항체들 중 어느 하나의 항원 결합 단편 또는 항체-약물 접합체의 용도를 제공한다. 하나의 태양에서, 상기 질환은 정상 또는 CXCR4의 과발현과 관련된 임의의 다른 병리학에 비해 증가된 CXCR4 발현과 관련된 발암성 질환이다.

[0364] 본 발명의 다른 태양에서, 항-CXCR4 항체-약물 접합체는 적어도 하나의 중쇄 가변 영역 및 적어도 하나의 경쇄

가변 영역을 갖는 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 포함하며, 여기에서 상기 적어도 하나의 중쇄 가변 영역은 서열번호 107, 113, 114, 162, 128 및 112로 나타낸 3개의 CDR을 포함한다. 본 발명의 일부 태양에서, 항-CXCR4 항체-약물 접합체는 적어도 하나의 중쇄 가변 영역 및 적어도 하나의 경쇄 가변 영역을 갖는 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 포함하며, 여기에서 상기 적어도 하나의 경쇄 가변 영역은 서열번호 144, 145 및 139로 나타낸 3개의 CDR을 포함한다.

[0365] 본 발명의 일부 태양에서, CXCR4에 결합하는 항체-약물 접합체는 서열번호 33, 5, 9, 13, 17, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 85, 및 87 중 어느 하나로 나타낸 중쇄 가변 영역, 및/또는 서열번호 73, 3, 7, 11, 15, 19, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 75, 77, 79, 81, 83, 및 169 중 어느 하나로 나타낸 경쇄 가변 영역을 갖는 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 포함한다. 예를 들어, 본 발명의 항-CXCR4 항체-약물 접합체는 서열번호 33에 적어도 90% 일치하는 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역 및 서열번호 73에 적어도 90% 일치하는 아미노산 서열을 갖는 경쇄 가변 영역을 갖는 항체 또는 그의 항원-결합 단편; 또는 서열번호 33으로 나타낸 중쇄 가변 영역 및 서열번호 73으로 나타낸 아미노산 서열을 갖는 경쇄 가변 영역을 갖는 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 포함할 수 있다.

[0366] 본 발명의 특정한 태양에서, 상기 항체는 개화되거나 고양이화되지 않는다.

[0367] 상기 항체를 또한, 예를 들어 상기 항체의 결합 성질을 변경시키기 위해서, 예를 들어 중쇄 및/또는 경쇄의 가변 도메인에서 변형시킬 수도 있다. 예를 들어, 항-CXCR4 항체의 K_D를 증가시키거나 또는 감소시키기 위해서, k_{off}를 증가시키거나 또는 감소시키기 위해서, 또는 상기 항체의 결합 특이성을 변경시키기 위해서 상기 CDR 영역 중 하나 이상에서 돌연변이를 수행할 수도 있다. 위치-지정 돌연변이의 기법들이 당해 분야에 충분히 공지되어 있다. 예를 들어 상기 문헌[Sambrook et al. and Ausubel et al.]을 참조한다.

[0368] 본 발명의 일부 태양에서, CXCR4 기능 또는 발현과 관련된 질환의 검출, 진단 및/또는 모니터링 방법을 제공한다. 예를 들어, 본 발명에 개시된 바와 같은 항-CXCR4 항체를 검출 가능한 부분, 예를 들어 이미지화제 및 효소-기질 표지로 표지할 수 있다. 본 발명에 개시된 바와 같은 항체를 또한 생체내 진단 분석, 예를 들어 생체내 이미지화(예를 들어 PET 또는 SPECT) 또는 염색 시약에 사용할 수 있다.

[0369] 본 발명의 하나의 태양에서, (i) CXCR4 기능 또는 발현과 관련된 질환을 갖는 것으로 의심되는 환자로부터 생물학적 샘플을 수득하고; (ii) 시험되는 샘플을 상기 항체 또는 그의 항원 결합 단편과, 상기 항체 및 상기 단백질 항원 CXCR4 간의 복합체의 형성을 허용하는 조건하에서 접촉시키고; (iii) 상기 항체-단백질 항원 복합체를 검출하는 단계들을 포함하는, CXCR4 기능 또는 발현과 관련된 질환의 검출, 진단 및/또는 모니터링 방법을 제공하며, 여기에서 상기 검출된 항체-단백질 항원 복합체의 존재는 상기 환자가 CXCR4 기능 또는 발현과 관련된 질환을 가짐을 가리킨다. 본 발명의 특정한 태양에서, 상기 방법은 상기 환자에게 치료 유효량의 본 발명에 개시된 바와 같은 단리된 항체, 상기 항체들 중 어느 하나의 항원 결합 단편 또는 항체-약물 접합체를 투여함을 추가로 포함한다.

[0370] 본 발명의 일부 태양에서, ADC를 사용하여 화합물(예를 들어 치료제, 표지, 세포독소, 방사성독소, 면역억제제 등)을 항체 또는 그의 단편에 결합시킴으로써, 상기 화합물을 CXCR4 세포 표면 수용체를 갖는 세포에 표적화할 수 있다. 따라서, 본 발명의 일부 태양에서, CXCR4를 발현하는 생체외 또는 생체내 세포를 국소화하는 방법(예를 들어 검출 가능한 표지, 예를 들어 방사성동위원소, 효소로서 형광 화합물)을 제공한다. 한편으로 상기 ADC를 사용하여 세포독소 또는 방사성독소를 CXCR4에 표적화함으로써 CXCR4 세포 표면 수용체를 갖는 세포를 살해할 수 있다.

[0371] 본 발명의 일부 태양에서, 본 발명에 개시된 방법은 대상체를 추가적인 형태의 치료법으로 치료하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 태양에서, 상기 추가적인 형태의 치료법은 추가적인 항암 요법, 예를 들어 비제한적으로 화학요법, 방사선치료, 수술, 호르몬 요법, 및/또는 추가적인 면역요법이다.

[0372] 본 발명의 일부 태양에서, 상기 추가적인 형태의 치료법은 본 발명에 개시된 바와 같은 항-CXCR4 항체, 그의 항원-결합 단편, 또는 항-CXCR4 항체-약물 접합체 외에 하나 이상의 치료제를 투여함을 포함한다. 상기 치료제는 비제한적으로 제2 항체(예를 들어 항-VEGF 항체, 항-HER2 항체, 항-CD25 항체, 및/또는 항-CD20 항체), 혈관형성 억제제, 세포독성제, 소염제(예를 들어 패클리탁셀, 도세탁셀, 시스플라틴, 독소루비신, 프레드니손 미토마이신, 프로제스테론, 타목시펜, 또는 플루오로유라실)를 포함한다. 하나의 태양에서, 상기 추가적인 형태의 치료법을 본 발명에 개시된 바와 같은 항-CXCR4 항체, 그의 항원-결합 단편, 또는 항-CXCR4 항체-약물 접합체와 동시에 또는 연속적으로 또는 동반하여 투여할 수 있다.

[0373] 본 발명의 항-CXCR4 항체, 그의 항원-결합 단편, 또는 항-CXCR4 항체-약물 접합체를 임의의 적합한 경로를 통해 개인에게 투여할 수 있다. 당해 분야의 숙련가들은 본 발명에 개시된 실시예들이 이용 가능한 기법들의 제한이 아닌 예시임을 이해해야 한다. 따라서, 본 발명의 일부 태양에서, 상기 항-CXCR4 항체, 그의 항원-결합 단편, 또는 항-CXCR4 항체-약물 접합체를 개인에게 공지된 방법들, 예를 들어 정맥내 투여로, 예를 들어 일시주사로서 또는 일정 기간에 걸친 연속 주입에 의해서, 근육내, 복강내, 뇌척수내, 두개내, 피내, 피하, 관절내, 설하, 활막내, 흡입을 통해, 척추강내, 경구, 흡입 또는 국소 경로에 따라 투여한다. 투여는 전신적, 예를 들어 정맥내 투여이거나 또는 국소적일 수 있다. 액체 제형에 상업적으로 이용가능한 분무기, 예를 들어 제트 분무기 및 초음파 분무기가 투여에 유용하다. 액체 제형을 직접 분무할 수 있으며 동결건조된 분말을 재조성 후에 분무할 수 있다. 한편으로, 상기 항-CXCR4 항체, 그의 항원-결합 단편, 또는 항-CXCR4 항체-약물 접합체를 플루오로카본 제형 및 계량된 용량 흡입기를 사용하여 에어로졸화하거나 또는 동결건조되고 분쇄된 분말로서 흡입시킬 수 있다. 본 발명의 일부 태양에서, 본 발명에 개시된 바와 같은 항-CXCR4 항체, 그의 항원-결합 단편, 또는 항-CXCR4 항체-약물 접합체를 흡입을 통해 투여할 수 있다. 다른 태양에서, 본 발명의 항-CXCR4 항체, 그의 항원-결합 단편, 또는 항-CXCR4 항체-약물 접합체를 약학적으로 허용 가능한 비히클, 예를 들어 염수, 링거액, 덱스트로스 용액 등과 병용할 수 있다. 특정한 투여 섭생, 즉 용량, 타이밍 및 반복은 특정한 개인 및 상기 개인의 병력에 따라 변할 것이다.

[0374] 하나의 태양에서, 상기 항-CXCR4 항체, 그의 항원-결합 단편, 또는 항-CXCR4 항체-약물 접합체를 부위-특이적인 또는 표적화된 국소 전달 기법을 통해 투여한다. 부위-특이적인 또는 표적화된 국소 전달 기법의 예는 상기 항-CXCR4 항체, 그의 항원-결합 단편, 또는 항-CXCR4 항체-약물 접합체의 다양한 이식성 데포 소스, 또는 국소 전달 카테터, 예를 들어 주입 카테터, 내재형 카테터, 또는 바늘 카테터, 합성 이식편, 외막 랩, 션트 및 스텐트 또는 다른 이식성 장치, 부위 특이적 담체, 직접 주사, 또는 직접 적용을 포함한다. 예를 들어 PCT 공보 WO 00/53211 및 미국특허 제 5,981,568 호를 참조한다.

[0375] 상기 항-CXCR4 항체, 그의 항원-결합 단편, 또는 항-CXCR4 항체-약물 접합체의 다양한 제형을 투여에 사용할 수 있다. 본 발명의 일부 태양에서, 상기 항-CXCR4 항체, (그의 항원-결합 단편, 또는 항-CXCR4 항체-약물 접합체) 및 약학적으로 허용 가능한 부형제는 다양한 제형 중에 존재할 수 있다. 본 발명의 일부 제형은 약학적으로 허용 가능한 부형제를 포함한다. 약학적으로 허용 가능한 부형제는 당해 분야에 공지되어 있으며, 약물학적으로 유효한 물질의 투여를 촉진하는 비교적 불활성인 물질이다. 예를 들어, 부형제는 형태 또는 점조도를 제공하거나, 또는 희석제로서 작용할 수 있다. 적합한 부형제는 비제한적으로 안정제, 습윤 및 유화제, 삼투압 변화용 염, 캡슐화제, 완충제 및 피부 침투 증진제를 포함한다. 부형제뿐만 아니라 비경구 및 비경구가 아닌 약물 전달을 위한 제형들은 문헌[Remington, The Science and Practice of Pharmacy 20th Ed. Mack Publishing, 2000]에 나열되어 있다.

[0376] 일반적으로 상기 항-CXCR4 항체, 그의 항원-결합 단편, 및/또는 항-CXCR4 항체-약물 접합체의 투여를 위해서, 초기 후보 투여량은 약 2 mg/kg일 수 있다. 본 발명의 목적을 위해서, 전형적인 1일 투여량은 상기 언급된 인자들에 따라 약 3 μg/kg 내지 30 μg/kg 내지 300 μg/kg 내지 3 mg/kg, 내지 30 mg/kg, 내지 100 mg/kg 또는 그 이상 중 어느 하나의 범위일 수 있다. 예를 들어 약 1 mg/kg, 약 2.5 mg/kg, 약 5 mg/kg, 약 10 mg/kg 및 약 25 mg/kg의 투여량이 사용될 수 있다. 수일 또는 그 이상에 걸친 반복된 투여를 위해서, 상기 조건에 따라, 상기 치료를 증상들의 목적하는 억제가 발생하거나 또는 예를 들어 종양 성장/암세포의 진행 또는 전이의 억제 또는 지연이 일어나기에 충분한 치료 수준이 성취될 때까지 지속시킨다. 예시적인 투여 섭생은 상기 항-CXCR4 항체, 그의 항원-결합 단편 또는 항-CXCR4 항체-약물 접합체 약 2 mg/kg의 초기 용량에 이어서 약 1 mg/kg의 매주 유지 용량, 또는 2주마다 약 1 mg/kg의 유지 용량을 투여함을 포함한다. 다른 예시적인 투여 섭생은 증가하는 용량(예를 들어 1 mg/kg의 초기 용량 및 매주 또는 보다 긴 기간 동안 1회 이상의 보다 많은 용량으로의 점차적인 증가)을 투여함을 포함한다. 의사가 성취하기 원하는 약동학적 감소 패턴에 따라 다른 투여량 섭생도 또한 유용할 수 있다. 예를 들어, 일부 태양에서, 1주일에 1회 내지 4회의 투여가 고려된다. 다른 태양에서 1개월에 한 번 또는 2개월 또는 3개월에 한 번의 투여가 고려된다. 이러한 치료법의 진행은 통상적인 기법 및 분석에 의해 쉽게 모니터링된다. 상기 투여 섭생(사용되는 상기 항-CXCR4 항체, 그의 항원-결합 단편 또는 항-CXCR4 항체-약물 접합체 포함)은 시간에 걸쳐 변할 수 있다.

[0377] 본 발명의 목적을 위해서, 항-CXCR4 항체, 그의 항원-결합 단편 또는 항-CXCR4 항체-약물 접합체의 적합한 투여량은 사용되는 상기 항-CXCR4 항체, 그의 항원-결합 단편 또는 항-CXCR4 항체-약물 접합체(또는 이들의 조성물), 치료되는 증상의 유형 및 중증도, 상기 작용제가 치료학적 목적으로 투여되는지의 여부, 선행 치료법, 환자의 임상적 병력 및 상기 작용제에 대한 반응, 상기 투여되는 작용제에 대한 상기 환자의 제거율, 및 주치의의

판단에 따라 변할 것이다. 전형적으로 임상의는 목적하는 결과가 성취되는 투여량에 도달할 때까지 항-CXCR4 항체, 그의 항원-결합 단편 또는 항-CXCR4 항체-약물 접합체를 투여할 것이다. 용량 및/또는 빈도는 치료 과정에 걸쳐 다양할 수 있다. 경험적인 고려사항들, 예를 들어 반감기가 일반적으로 상기 투여량의 결정에 기여할 것이다. 예를 들어, 인간 면역계에 적합한 항체, 예를 들어 인간화된 항체 또는 완전 인간 항체를, 상기 항체의 반감기를 연장시키고 상기 항체가 숙주 면역계에 의해 공격받는 것을 방지하기 위해 사용할 수 있다. 투여 빈도는 치료법의 과정에 걸쳐 결정되고 조절되며, 일반적으로, 반드시는 아니지만, 증상의 치료 및/또는 억제 및/또는 개선 및/또는 지연, 예를 들어 종양 성장 억제 또는 지연 등에 근거한다. 한편으로, 항-CXCR4 항체, 그의 항원-결합 단편 또는 항-CXCR4 항체-약물 접합체의 연속적인 서방성 제형이 적합할 수 있다. 서방성을 성취하기 위한 다양한 제형 및 장치들이 당해 분야에 공지되어 있다.

[0378] 본 발명의 일부 태양에서, 항-CXCR4 항체, 그의 항원-결합 단편 또는 항-CXCR4 항체-약물 접합체의 투여량은 상기 항-CXCR4 항체, 그의 항원-결합 단편 또는 항-CXCR4 항체-약물 접합체의 1회 이상의 투여(들)가 제공된 개인에서 실험적으로 결정될 수 있다. 개인은 항-CXCR4 항체, 그의 항원-결합 단편 또는 항-CXCR4 항체-약물 접합체의 증분적인 투여량을 제공받는다. 효능을 평가하기 위해서, 상기 질병의 표시자가 이어질 수 있다.

[0379] 본 발명의 방법에 따른 항-CXCR4 항체, 그의 항원-결합 단편 또는 항-CXCR4 항체-약물 접합체의 투여는 예를 들어 수용체의 생리학적 조건, 상기 투여 목적이 치료학적인지 예방학적인지의 여부, 및 숙련의에게 공지된 다른 인자들에 따라 연속적이거나 간헐적일 수 있다. 항-CXCR4 항체, 그의 항원-결합 단편 또는 항-CXCR4 항체-약물 접합체의 투여는 소정의 기간에 걸쳐 필수적으로 연속적이거나 또는 일련의 이격된 용량일 수 있다.

[0380] 본 발명의 일부 태양에서, 하나 초과의 항-CXCR4 항체, 그의 항원-결합 단편 또는 항-CXCR4 항체-약물 접합체가 존재할 수 있다. 적어도 하나, 적어도 2개, 적어도 3개, 적어도 4개, 적어도 5개 이상의 상이한 항-CXCR4 항체, 그의 항원-결합 단편 또는 항-CXCR4 항체-약물 접합체가 존재할 수 있다. 일반적으로, 상기 항-CXCR4 항체, 그의 항원-결합 단편 또는 항-CXCR4 항체-약물 접합체는 서로 불리한 영향을 미치지 않는 상보적인 활성을 가질 수 있다. 예를 들어, 이어지는 항-CXCR4 항체 중 하나 이상을 사용할 수 있다: CXCR4 상의 하나의 에피토프에 대한 제1 항-CXCR4 항체 및 CXCR4 상의 상이한 에피토프에 대한 제2 항-CXCR4 항체.

[0381] 본 발명의 방법에 따라 사용되는 항-CXCR4 항체, 그의 항원-결합 단편 또는 항-CXCR4 항체-약물 접합체의 치료학적 제형을, 목적하는 정도의 순도를 갖는 항체를 임의의 약학적으로 허용 가능한 담체, 부형제 또는 안정제(문헌[Remington, The Science and Practice of Pharmacy 21st Ed. Mack Publishing, 2005])와 혼합함으로써, 동결건조된 제형 또는 수용액의 형태로 보관을 위해 제조할 수 있다. 허용 가능한 담체, 부형제 또는 안정제는 사용되는 투여량 및 농도에서 수용체에게 무독성이며, 완충제, 예를 들어 포스페이트, 시트레이트 및 다른 유기산; 염, 예를 들어 염화 나트륨; 산화방지제, 예를 들어 아스코르브산 및 메티오닌; 보존제(예를 들어 옥타데실다이메틸벤질 암모늄 클로라이드; 헥사메토늄 클로라이드; 벤즈알코늄 클로라이드; 벤조에토늄 클로라이드; 페놀, 부틸 또는 벤질 알콜; 알킬 파라벤, 예를 들어 메틸 또는 프로필 파라벤; 카테콜; 레소르시놀; 사이클로헥산올; 3-펜탄올; 및 m-크레졸); 저분자량(약 10 잔기 미만)의 폴리펩타이드; 단백질, 예를 들어 혈청 알부민, 젤라틴 또는 면역글로불린; 친수성 중합체, 예를 들어 폴리비닐피롤리돈; 아미노산, 예를 들어 글리신, 글루타민, 아스파라진, 히스티딘, 아르기닌, 또는 리신; 모노사카라이드, 다이사카라이드, 및 다른 탄수화물, 예를 들어 글루코스, 만노스, 또는 덱스트린; 킬레이트화제, 예를 들어 EDTA; 당, 예를 들어 슈크로스, 만니톨, 트레할로스 또는 솔비톨; 염-형성 대이온, 예를 들어 나트륨; 금속 착체(예를 들어 Zn-단백질 착체); 및/또는 비이온성 계면활성제, 예를 들어 트윈(TWEEN: 상표), 플루로닉스(PLURONICS: 상표) 또는 폴리에틸렌 글리콜(PEG)을 포함할 수 있다.

[0382] 상기 항-CXCR4 항체, 그의 항원-결합 단편 또는 항-CXCR4 항체-약물 접합체를 함유하는 리포솜을 당해 분야에 공지된 방법들, 예를 들어 문헌[Epstein, et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82:3688 (1985)]; 문헌[Hwang, et al., Proc. Natl Acad. Sci. USA 77:4030 (1980)]; 및 미국특허 제 4,485,045 호 및 미국특허 제 4,544,545 호에 개시된 방법들에 의해 제조한다. 증대된 순환 시간을 갖는 리포솜은 미국특허 제 5,013,556 호에 개시되어 있다. 특히 유용한 리포솜을, 포스파티딜콜린, 콜레스테롤 및 PEG-유도체화된 포스파티딜에탄올아민(PEG-PE)을 포함하는 지질 조성물과 함께 역상 증발 방법에 의해 생성시킬 수 있다. 리포솜을 한정된 기공 크기의 필터를 통해 압출시켜 목적하는 직경을 갖는 리포솜을 제공한다.

[0383] 상기 활성 성분들을 또한, 예를 들어 코아세르베이션 기법에 의해서 또는 계면 중합에 의해서 제조된 미세캡슐, 예를 들어 각각 콜로이드 약물 전달 시스템(예를 들어 리포솜, 알부민 미소구, 미세유화액, 나노-입자 및 나노캡슐) 중의 또는 마크로유화액 중의 하이드록시메틸셀룰로스 또는 젤라틴-미세캡슐 및 폴리-(메틸메트아크릴레

이트) 미세캡슐 중에 포착시킬 수 있다. 상기와 같은 기법들은 문헌[Remington, The Science and Practice of Pharmacy 21st Ed. Mack Publishing, 2005]에 개시되어 있다.

[0384] 서방성 제제를 제조할 수 있다. 서방성 제제의 적합한 예는 상기 항체를 함유하는 고체 소수성 중합체의 반투과성 기질(상기 기질은 성형품, 예를 들어 필름 또는 미세캡슐의 형태이다)을 포함한다. 서방성 기질의 예는 폴리에스터, 하이드로젤(예를 들어 폴리(2-하이드록시에틸-메트아크릴레이트), 또는 폴리(비닐알콜)), 폴리락타이드(미국특허 제 3,773,919 호), L-글루탐산 및 7 에틸-L-글루타메이트의 공중합체, 비-분해성 에틸렌-비닐 아세테이트, 분해성 락트산-글리콜산 공중합체, 예를 들어 루프론 데포(LUPRON DEPOT)(상표)(락트산-글리콜산 공중합체 및 류프롤리드 아세테이트로 구성된 주사성 미소구), 슈크로스 아세테이트 아이소부티레이트, 및 폴리-D-(-)-3-하이드록시부티르산을 포함한다.

[0385] 생체내 투여에 사용되는 제형은 멸균성이어야 한다. 이는 예를 들어 멸균 여과막을 통한 여과에 의해 용이하게 수행된다. 치료학적 항-CXCR4 항체, 그의 항원-결합 단편 또는 항-CXCR4 항체-약물 접합체 조성물을 일반적으로는 멸균 출입구를 갖는 용기, 예를 들어 피하 주사 바늘에 의해 관통될 수 있는 마개를 갖는 정맥내 용액 주머니 또는 바이알에 넣는다.

[0386] 본 발명에 따른 조성물은 단위 투여형, 예를 들어 경구, 비경구 또는 직장 투여용 정제, 환제, 캡슐, 분말, 과립, 용액 또는 현탁액, 또는 좌약, 또는 흡입 또는 흡취에 의한 투여를 위한 단위 투여형의 형태 중에 존재할 수 있다.

[0387] 정제와 같은 고체 조성물의 제조를 위해서, 주요 활성 성분을 약학 담체, 예를 들어 통상적인 타정 성분, 예를 들어 옥수수 전분, 락토스, 슈크로스, 솔비톨, 활석, 스테아르산, 마그네슘 스테아레이트, 이칼슘 포스페이트 또는 검, 및 다른 약학적 희석제, 예를 들어 물과 혼합하여 본 발명의 화합물 또는 그의 무독성의 약학적으로 허용 가능한 염의 균질한 혼합물을 함유하는 고체 예비제형 조성물을 형성시킨다. 상기 예비제형 조성물을 균질한 것으로서 언급하는 경우, 이는 상기 조성물이 동등하게 유효한 단위 투여형, 예를 들어 정제, 환제 및 캡슐에 용이하게 세분될 수 있도록 상기 활성 성분이 상기 조성물 전체를 통해 균일하게 분산됨을 의미한다. 이어서 상기 고체 예비제형 조성물을 0.1 내지 약 500 ㎎의 본 발명의 활성 성분을 함유하는 상술한 유형의 단위 투여형으로 세분한다. 상기 신규 조성물의 정제 또는 환제를 코팅하거나 또는 달리 배합하여 연장된 작용의 이점을 제공하는 투여형을 제공할 수 있다. 예를 들어, 상기 정제 또는 환제는 내부 투여량 및 외부 투여량 성분을 포함할 수 있으며, 상기 외부 투여량 성분은 상기 내부 투여량 성분 위에 외막의 형태로 존재한다. 상기 두 성분을, 위에서의 붕해를 저지하는 작용을 하고 상기 내부 성분이 십이지장 내로 완전하게 통과되게 하거나 또는 방출의 지연을 허용하는 장용 층에 의해 분리시킬 수 있다. 다양한 물질들이 상기와 같은 장용 층 또는 코팅제에 사용될 수 있으며, 상기와 같은 물질은 다수의 중합체성 산 및 중합체성 산과 쉘락, 세틸 알콜 및 셀룰로스 아세테이트와 같은 물질과의 혼합물을 포함한다.

[0388] 적합한 표면-활성제는 특히 비이온성 작용제, 예를 들어 폴리옥시에틸렌솔비탄(예를 들어 트윈(상표) 20, 40, 60, 80 또는 85) 및 다른 솔비탄(예를 들어 스판(Span: 상표) 20, 40, 60, 80 또는 85)을 포함한다. 표면-활성제를 갖는 조성물은 편의상 0.05 내지 5% 표면-활성제를 포함할 것이며, 0.1 내지 2.5%일 수 있다. 필요한 경우 다른 성분들, 예를 들어 만니톨 또는 다른 약학적으로 허용 가능한 비히클들을 첨가할 수도 있음을 알 것이다.

[0389] 적합한 유화액을 상업적으로 입수할 수 있는 지방 유화액, 예를 들어 인트라리피드(Intralipid: 상표), 리포신(Liposyn: 상표), 인포누트롤(Infonutrol: 상표), 리포펀딘(Lipofundin: 상표) 및 리피피산(Lipiphysan: 상표)을 사용하여 제조할 수 있다. 상기 활성 성분을 예비-혼합된 유화액 조성물에 용해시키거나 또는 한편으로 오일(예를 들어 대두유, 잇꽃유, 면실유, 참깨유, 옥수수유 또는 아몬드유) 및 인지질(예를 들어 계란 인지질, 대두 인지질 또는 대두 레시틴) 및 물과 혼합시 형성되는 유화액에 용해시킬 수 있다. 다른 성분들, 예를 들어 글리세롤 또는 글루코스를 상기 유화액의 긴장성 조절을 위해 첨가할 수도 있음을 알 것이다. 적합한 유화액은 전형적으로 20% 이하, 예를 들어 5 내지 20%의 오일을 함유할 것이다. 지방 유화액은 0.1 내지 1.0 ㎛, 특히 0.1 내지 0.5 ㎛의 지방 소적을 포함하고 5.5 내지 8.0 범위의 pH를 가질 수 있다.

[0390] 상기 유화액 조성물은 항-CXCR4 항체, 그의 항원-결합 단편 또는 항-CXCR4 항체-약물 접합체를 인트라리피드(상표) 또는 그의 성분들(대두유, 계란 인지질, 글리세롤 및 물)과 혼합함으로써 제조된 것들일 수 있다.

[0391] 흡입 또는 흡취용 조성물은 약학적으로 허용 가능한 수성 또는 유기 용매, 또는 이들의 혼합물 중의 용액 및 현탁액, 및 분말을 포함한다. 상기 액체 또는 고체 조성물은 상기에 나타낸 바와 같은 적합한 약학적으로 허용

가능한 부형제를 함유할 수 있다. 본 발명의 일부 태양에서, 상기 조성물을 국소 또는 전신 효과를 위해서 경구 또는 코 호흡 경로에 의해 투여한다. 바람직하게는 멸균의 약학적으로 허용 가능한 용매 중의 조성물을 가스의 사용에 의해 분무시킬 수 있다. 분무된 용액을 분무 장치로부터 직접 호흡하거나 또는 상기 분무 장치를 페이스 마스크, 텐트 또는 간헐적인 양압 호흡기에 부착시킬 수도 있다. 용액, 현탁액 또는 분말 조성물을, 바람직하게는 경구로 또는 코로, 상기 제형을 적합한 방식으로 전달하는 장치로부터 투여할 수 있다.

[0392] 조성물

[0393] 본 발명의 방법에 사용되는 조성물은 유효량의 본 발명에 개시된 바와 같은 항-CXCR4 항체, 그의 항원-결합 단편 또는 항-CXCR4 항체-약물 접합체를 포함한다. 상기와 같은 조성물의 예뿐만 아니라, 제형화 방법은 선행 섹션 및 하기에 또한 개시된다. 본 발명의 일부 태양에서, 상기 조성물은 하나 이상의 항-CXCR4 항체, 그의 항원-결합 단편 또는 항-CXCR4 항체-약물 접합체를 포함한다. 예를 들어, 상기 항-CXCR4 항체는 인간 CXCR4를 인식한다. 일부 태양에서, 상기 CXCR4 항체는 인간 항체, CDR 이식된, 인간화된 항체, 또는 키메릭 항체이다. 다른 태양에서, 상기 항-CXCR4 항체는 목적하는 면역 반응, 예를 들어 항체-매개된 용해 또는 ADCC를 촉발할 수 있는 불변 영역을 포함한다. 더욱 다른 태양에서, 상기 항-CXCR4 항체는 불필요한 또는 바람직하지 않은 면역 반응, 예를 들어 항체-매개된 용해 또는 ADCC를 촉발하지 않는 불변 영역을 포함한다. 본 발명의 일부 태양에서, 상기 항-CXCR4 항체는 본 발명에 개시된 바와 같은 항-CXCR4 항체, 그의 항원-결합 단편 또는 항-CXCR4 항체-약물 접합체의 하나 이상의 CDR(들)(예를 들어 1, 2, 3, 4, 5, 또는 일부 실시태양에서, 6개 CDR 모두)을 포함한다.

[0394] 상기 조성물이 하나 초과의 항-CXCR4 항체, 그의 항원-결합 단편 또는 항-CXCR4 항체-약물 접합체(예를 들어 CXCR4의 상이한 에피토프를 인식하는 항-CXCR4 항체들의 혼합물)를 포함할 수 있는 것으로 생각된다. 다른 예시적인 조성물은 동일한 에피토프(들)를 인식하는, 하나 초과의 항-CXCR4 항체, 그의 항원-결합 단편 또는 항-CXCR4 항체-약물 접합체, 또는 CXCR4의 상이한 에피토프(예를 들어 인간 CXCR4)에 결합하는 상이한 종의 항-CXCR4 항체, 그의 항원-결합 단편 또는 항-CXCR4 항체-약물 접합체를 포함한다.

[0395] 본 발명에 사용되는 조성물은 약학적으로 허용 가능한 담체, 부형제 또는 안정제(문헌[Remington: The Science and Practice of Pharmacy 21st Ed., 2005, Lippincott Williams and Wilkins, Ed. K.E. Hoover])를, 동결건조된 제형 또는 수용액의 형태로 추가로 포함할 수 있다. 허용 가능한 담체, 부형제 또는 안정제는 투여량 및 농도에서 수용체에게 무독성이며, 완충제, 예를 들어 포스페이트, 시트레이트 및 다른 유기산; 산화방지제, 예를 들어 아스코르브산 및 메티오닌; 보존제(예를 들어 옥타데실다이메틸벤질 암모늄 클로라이드; 헥사메토늄 클로라이드; 벤즈알코늄 클로라이드; 벤즈에토늄 클로라이드; 페놀, 부틸 또는 벤질 알콜; 알킬 파라벤, 예를 들어 메틸 또는 프로필 파라벤; 카테콜; 레소르시놀; 사이클로헥산올; 3-펜탄올; 및 m-크레졸); 저분자량(약 10 잔기 미만)의 폴리펩타이드; 단백질, 예를 들어 혈청 알부민, 젤라틴 또는 면역글로불린; 친수성 중합체, 예를 들어 폴리비닐피롤리돈; 아미노산, 예를 들어 글리신, 글루타민, 아스파라진, 히스티딘, 아르기닌, 또는 리신; 모노사카라이드, 다이사카라이드, 및 다른 탄수화물, 예를 들어 글루코스, 만노스, 또는 덱스트린; 킬레이트화제, 예를 들어 EDTA; 당, 예를 들어 슈크로스, 만니톨, 트레할로스 또는 솔비톨; 염-형성 대이온, 예를 들어 나트륨; 금속 착체(예를 들어 Zn-단백질 착체); 및/또는 비이온성 계면활성제, 예를 들어 트윈(상표), 플루로닉스(상표) 또는 폴리에틸렌 글리콜(PEG)을 포함할 수 있다. 약학적으로 허용 가능한 부형제들을 본 발명에서 추가로 개시한다.

[0396] 키트

[0397] 본 발명은 또한 본 발명의 방법에 사용하기 위한 키트를 제공한다. 본 발명의 키트는 본 발명에 개시된 바와 같은 항-CXCR4 항체, 그의 항원-결합 단편 또는 항-CXCR4 항체-약물 접합체를 포함하는 하나 이상의 용기, 및 본 발명에 개시된 발명의 방법들 중 어느 하나에 따라 사용하기 위한 설명서를 포함한다. 일반적으로, 상기 설명서는 상술한 치료학적 치료를 위한 상기 항-CXCR4 항체, 그의 항원-결합 단편 또는 항-CXCR4 항체-약물 접합체의 투여 설명서를 포함한다.

[0398] 본 발명에 개시된 바와 같은 항-CXCR4 항체, 그의 항원-결합 단편 또는 항-CXCR4 항체-약물 접합체의 사용에 관한 설명서는 일반적으로 목적하는 치료를 위한 투여량, 투여 스케줄, 및 투여 경로에 관한 정보를 포함한다. 상기 용기는 단위 용량, 벌크 패키지(예를 들어 수회-용량 패키지) 또는 하위-단위 용량일 수 있다. 본 발명의 키트에 공급된 설명서는 전형적으로 표지 또는 패키지 삽입물(예를 들어 상기 키트 중에 포함된 종이 시트) 상의 서면 설명서이나, 기계-판독 가능한 설명서(예를 들어 자기 또는 광학 저장 디스크상에 실린 설명서)가 또한 허용될 수 있다.

[0399] 본 발명의 키트는 적합한 패키징 중에 있다. 적합한 패키징은 비제한적으로 바이알, 병, 단지, 가요성 패키징(예를 들어 밀봉된 마일라(Mylar) 또는 비닐 주머니) 등을 포함한다. 또한 특수 기구, 예를 들어 흡입기, 코 투여 기구(예를 들어 분무기) 또는 주입 기구, 예를 들어 소형펌프와 함께 사용하기 위한 패키지가 고려된다. 키트는 멸균 출입구를 가질 수 있다(예를 들어 상기 용기는 피하 주사 바늘에 의해 관통 가능한 마개를 갖는 정맥내 용액 주머니 또는 바이알일 수 있다). 상기 용기는 또한 멸균 출입구를 가질 수 있다(예를 들어 상기 용기는 피하 주사 바늘에 의해 관통 가능한 마개를 갖는 정맥내 용액 주머니 또는 바이알일 수 있다). 상기 조성물 중의 적어도 하나의 활성제는 항-CXCR4 항체이다. 상기 용기는 제2의 약학적 활성제를 추가로 포함할 수 있다.

[0400] 키트는 완충제와 같은 추가적인 성분 및 해석 정보를 임의로 제공할 수 있다. 통상적으로, 상기 키트는 용기 및 상기 용기상의 또는 상기 용기와 관련된 표지 또는 패키지 삽입물(들)을 포함한다.

[0401] 돌연변이 및 변형

[0402] 본 발명의 항-CXCR4 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 발현시키기 위해서, VH 및 VL 영역을 암호화하는 DNA 단편을 먼저 상술한 방법들 중 임의의 방법을 사용하여 획득할 수 있다. 다양한 변형들, 예를 들어 돌연변이, 치환, 결실 및/또는 부가를 또한 당해 분야의 숙련가들에게 공지된 표준 방법을 사용하여 DNA 서열에 도입시킬 수 있다. 예를 들어, 돌연변이를 표준 방법, 예를 들어 PCR-매개된 돌연변이를 사용하여 수행할 수 있으며, 여기에서 상기 돌연변이된 뉴클레오타이드를, PCR 산물이 목적하는 돌연변이 또는 위치지정 돌연변이를 함유하도록 PCR 프라이머에 통합시킨다.

[0403] 예를 들어 수행될 수 있는 치환의 한 가지 유형은 항체 중의 하나 이상의 시스테인(화학적으로 반응성일 수 있다)을 또 다른 잔기, 예를 들어 비제한적으로 알라닌 또는 세린으로 변화시키는 것이다. 예를 들어, 비-표준 시스테인의 치환이 존재할 수 있다. 상기 치환은 항체의 가변 도메인의 CDR 또는 프레임워크 영역 또는 불변 영역 중에서 이루어질 수 있다. 본 발명의 일부 태양에서, 상기 시스테인은 표준이다.

[0404] 상기 항체를 또한, 예를 들어 상기 항체의 결합 성질을 변경시키기 위해서, 예를 들어 중쇄 및/또는 경쇄의 가변 도메인에서 변형시킬 수 있다. 예를 들어, CXCR4에 대한 항체의 K_D를 증가시키거나 또는 감소시키거나, k_{off}를 증가시키거나 또는 감소시키거나, 또는 상기 항체의 결합 특이성을 변경시키기 위해서 상기 CDR 영역 중 하나 이상에서 돌연변이를 수행할 수 있다. 위치-지정 돌연변이 기법은 당해 분야에 충분히 공지되어 있다. 예를 들어 상기 문헌[Sambrook et al., and Ausubel et al.]을 참조한다.

[0405] 변형 또는 돌연변이를 또한 항-CXCR4 항체의 반감기를 증가시키기 위해서 프레임워크 영역 또는 불변 영역에서 수행할 수 있다. 예를 들어 PCT 공보 WO 00/09560을 참조한다. 상기 항체의 면역원성을 변경시키거나, 또 다른 분자에 대한 공유 또는 비-공유 결합 부위를 제공하거나, 또는 보체 고정, FcR 결합 및 항체-의존성 세포-매개된 세포독성과 같은 성질들을 변경시키기 위해서 프레임워크 영역 또는 불변 영역에서 돌연변이를 또한 수행할 수 있다. 본 발명에 따라, 단일 항체는 상기 가변 도메인의 CDR 및 프레임워크 영역 중 임의의 하나 이상 또는 불변 영역에 돌연변이를 가질 수 있다.

[0406] "생식계통화(germlining)"로서 공지된 과정에서, VH 및 VL 서열 중의 몇몇 아미노산을 생식계통 VH 및 V_L 서열에서 천연으로 발견되는 것들과 합치되도록 돌연변이시킬 수 있다. 특히, 상기 V_H 및 VL 서열 중의 프레임워크 영역의 아미노산 서열들을, 상기 항체가 투여될 때 면역원성의 위험을 감소시키기 위해서 상기 생식계통 서열과 합치되도록 돌연변이시킬 수 있다. 인간 VH 및 VL 유전자에 대한 생식계통 DNA 서열은 당해 분야에 공지되어 있다(예를 들어 문헌[the "Vbase" human germline sequence database]을 참조한다; 또한 문헌[Kabat, E. A., et al. (1991), Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242]; 문헌[Tomlinson et al., J. Mol. Biol. 227:776-798 (1992)]; 및 문헌[Cox et al., Eur. J. Immunol. 24:827-836 (1994)]을 참조한다).

[0407] 수행될 수 있는 아미노산 치환의 또 다른 유형은 항체 중에서 잠재적인 단백질분해 부위를 제거하는 것이다. 상기와 같은 부위는 항체의 가변 도메인의 CDR 또는 프레임워크 영역 또는 불변 영역 중에 존재할 수 있다. 시스테인 잔기의 치환 및 단백질분해 부위의 제거는 상기 항체 생성물의 이종성의 위험을 감소시킬 수 있으며 따라서 그의 동종성을 증가시킬 수 있다. 아미노산 치환의 또 다른 유형은 아스파라진-글리신 잔기 중 하나 또는 둘 다를 변경시킴으로써 상기 아스파라진-글리신 쌍(잠재적인 탈아미드화 부위를 형성한다)을 제거하는 것이다. 또 다른 예에서, 본 발명의 항-CXCR4 항체의 중쇄의 C-말단 리신을 제거할 수 있다. 본 발명의 다양한 태양에

서, 상기 항-CXCR4 항체의 중쇄 및 경쇄는 신호 서열을 임의로 포함할 수 있다.

[0408] 일단 본 발명의 VH 및 VL 분절을 암호화하는 DNA 단편이 획득되면, 상기 DNA 단편을, 예를 들어 가변 영역 유전자를 완전 길이 항체 쇄 유전자, Fab 단편 유전자 또는 scFv 유전자로 전환시키기 위해 표준 재조합 DNA 기법에 의해 추가로 조작할 수 있다. 상기 조작에서, VL- 또는 VH-암호화 DNA 단편을 또 다른 단백질을 암호화하는 또 다른 DNA 단편, 예를 들어 항체 불변 영역 또는 가요성 연결기에 작동적으로 연결시킨다. 이와 관련하여 사용되는 바와 같은 "작동적으로 연결시키는"이란 용어는 2개의 DNA 단편을 상기 두 DNA 단편에 의해 암호화된 아미노산 서열들이 인-프레임으로 남아있도록 결합시킴을 의미하고자 한다.

[0409] 상기 VH 영역을 암호화하는 단리된 DNA를, VH-암호화 DNA를 중쇄 불변 영역(CH1, CH2 및 CH3)을 암호화하는 또 다른 DNA 분자에 작동적으로 연결시킴으로써 전장 중쇄 유전자로 전환시킬 수 있다. 인간 중쇄 불변 영역 유전자의 서열은 당해 분야에 공지되어 있으며(예를 들어 문헌[Kabat, E. A., et al., 1991, Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242]을 참조) 상기 영역들을 포함하는 DNA 단편들을 표준 PCR 증폭에 의해 획득할 수 있다. 상기 중쇄 불변 영역은 IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA, IgE, IgM 또는 IgD 불변 영역일 수 있으나, 가장 바람직하게는 IgG1 또는 IgG2 불변 영역이다. 상기 IgG 불변 영역 서열은 상이한 개인들 간에 존재하는 것으로 공지된 다양한 대립유전자 및 알로타입 중 어느 하나, 예를 들어 Gm(1), Gm(2), Gm(3) 및 Gm(17)일 수 있다. 상기 알로타입은 상기 IgG1 불변 영역 중의 천연 아미노산 치환을 나타낸다. Fab 단편 중쇄 유전자의 경우, V_H-암호화 DNA를 오직 중쇄 CH1 불변 영역만을 암호화하는 또 다른 DNA 분자에 작동적으로 연결시킬 수 있다. 상기 CH1 중쇄 불변 영역은 상기 중쇄 유전자들 중 임의의 것으로부터 유래될 수 있다.

[0410] 상기 VL 영역을 암호화하는 단리된 DNA를, 상기 VL-암호화 DNA를 경쇄 불변 영역, CL을 암호화하는 또 다른 DNA 분자에 작동적으로 연결시킴으로써 전장 경쇄 유전자(뿐만 아니라 Fab 경쇄 유전자)로 전환시킬 수 있다. 상기 인간 경쇄 불변 영역 유전자의 서열은 당해 분야에 공지되어 있으며(예를 들어 문헌[Kabat, E. A., et al., 1991, Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242]을 참조) 상기 영역들을 포함하는 DNA 단편을 표준 PCR 증폭에 의해 획득할 수 있다. 상기 경쇄 불변 영역은 카파 또는 람다 불변 영역일 수 있다. 상기 카파 불변 영역은 상이한 개인들 간에 존재하는 것으로 공지된 다양한 대립유전자들 중 어느 하나, 예를 들어 Inv(1), Inv(2) 및 Inv(3)일 수 있다. 상기 람다 불변 영역은 3개의 람다 유전자 중 어느 하나로부터 유래될 수 있다.

[0411] scFv 유전자를 생성시키기 위해서, VH 및 VL 암호화 DNA 단편을, 상기 VH 및 VL 서열이 연속적인 단쇄 단백질로서 발현될 수 있도록 가요성 연결기를 암호화하는, 예를 들어 아미노산 서열$(Gly_4\text{-}Ser)_3$(서열번호 80)을 암호화하는 또 다른 단편에 작동적으로 연결시키며, 이때 상기 VL 및 VH 영역은 상기 가요성 연결기에 의해 결합된다(예를 들어 문헌[Bird et al., Science 242:423-426 (1988)]; 문헌[Huston et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883 (1988)]; 문헌[McCafferty et al., Nature 348:552-554 (1990)]을 참조). 상기 단쇄 항체는 단일의 VH 및 VL만이 사용되는 경우 1가이거나, 2개의 VH 및 VL이 사용되는 경우 2가이거나, 또는 2개 초과의 VH 및 VL이 사용되는 경우 다가일 수 있다. CXCR4 및 또 다른 분자에 결합하는 이중특이성 또는 다가 항체를 생성시킬 수 있다.

[0412] 본 발명의 일부 태양에서, 또 다른 폴리펩타이드에 연결된 본 발명의 항-CXCR4 항체의 전부 또는 일부를 포함하는 융합 항체 또는 면역접합체를 제조할 수 있다. 다른 태양에서, 단지 상기 항-CXCR4 항체의 가변 도메인만을 상기 폴리펩타이드에 연결시킨다. 본 발명의 일부 태양에서, 항-CXCR4 항체의 VH 도메인을 제1 폴리펩타이드에 연결시키는 반면, 항-CXCR4 항체의 VL 도메인을, 상기 VH 및 VL 도메인이 서로 상호작용하여 항원 결합 부위를 형성할 수 있도록 하는 방식으로 상기 제1 폴리펩타이드와 회합하는 제2 폴리펩타이드에 연결시킨다. 다른 태양에서, 상기 VH 도메인을, 상기 VH 및 VL 도메인이 서로 상호작용할 수 있도록 연결기에 의해 상기 VL 도메인으로부터 분리시킨다. 이어서 상기 VH-연결기-VL 항체를 관심 폴리펩타이드에 연결시킨다. 또한, 2개(이상)의 단쇄 항체가 서로 연결된 융합 항체를 생성시킬 수 있다. 이는 단일 폴리펩타이드쇄상에 2가 또는 다가 항체를 생성시키기 원하는 경우 또는 이중특이성 항체를 생성시키기 원하는 경우 유용하다.

[0413] 본 발명의 일부 태양에서, 다른 변형된 항체를 항-CXCR4 항체 암호화 핵산 분자를 사용하여 제조할 수 있다. 예를 들어 "카파 바디"(문헌[Ill et al., Protein Eng. 10:949-57 (1997)]), "미니바디"(문헌[Martin et al., EMBO J., 13:5303-9 (1994)]), "다이아바디"(문헌[Holliger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:6444-6448 (1993)]), 또는 "재누신(Janusin)"(문헌[Traunecker et al., EMBO J. 10:3655-3659 (1991)] 및 문헌[Traunecker et al., Int. J. Cancer (Suppl.) 7:51-52 (1992)]을 명세서의 교시에 따라 표준 분자 생물

학 기법을 사용하여 제조할 수 있다.

[0414] 이중특이성 항체 또는 항원 결합 단편을 다양한 방법들, 예를 들어 하이브리도마의 융합 또는 Fab 단편들의 연결에 의해 생성시킬 수 있다. 예를 들어 문헌[Songsivilai & Lachmann, Clin. Exp. Immunol. 79:315-321 (1990)], 문헌[Kostelny et al., J. Immunol. 148:1547-1553 (1992)]을 참조한다. 또한, 이중특이성 항체를 "다이아바디" 또는 "재누신"으로서 형성시킬 수 있다. 본 발명의 일부 태양에서, 상기 이중특이성 항체는 CXCR4의 2개의 상이한 에피토프에 결합한다. 일부 태양에서, 상술한 변형된 항체들을 본 발명에 제공된 항-CXCR4 항체의 가변 도메인 및 CDR 영역 중 하나 이상을 사용하여 제조한다.

[0415] 하나의 태양에서, 본 발명은 다중특이성 항체의 용도를 포함한다. 다중특이성 항체는 상이한 구조를 갖는 적어도 2개의 표적, 예를 들어 2개의 상이한 항원, 동일한 항원상의 2개의 상이한 에피토프, 또는 합텐 및/또는 항원 또는 에피토프에 동시에 결합할 수 있는 항체이다. 다중특이성, 다가 항체는 하나보다 많은 결합 부위를 갖는 구조물이며, 상기 결합 부위는 상이한 특이성을 갖는다.

[0416] 본 발명의 전형적인 물질들은 2014년 6월 19일자로 아메리칸 타입 컬쳐 콜렉션(ATCC)에 기탁되었다. ATCC 기탁 번호 PTA-121353을 갖는 벡터는 인간화된 항-CXCR4 항체 중쇄 가변 영역을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드이고, ATCC 기탁 번호 PTA-121354를 갖는 벡터는 인간화된 항-CXCR4 항체 경쇄 가변 영역을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드이다. 상기 기탁은 특허 절차를 위해 미생물 기탁의 국제적인 승인에 대한 부다페스트 조약의 조항 및 그에 따른 규정(부타페스트 조약)하에서 이루어졌다. 상기 기탁은 기탁일로부터 30년 동안 상기 기탁의 생육 가능한 배양물의 유지를 보증한다. 상기 기탁은 부다페스트 조약의 기간하에서, 화이자 인코포레이티드와 ATCC 간의 동의에 따라 ATCC에 의해 이용 가능하게 이루어질 것이며, ATCC는 적절한 미국특허의 허여시 또는 임의의 미국 또는 외국 특허 출원(어느 것이든 먼저 발생한)의 공개시 상기 기탁 배양물의 자손의 일반인에 대한 영구적이고 무제한적인 유효성을 보증하고, 35 U.S.C. 섹션 122 및 그에 따른 장관의 규정(특히 886 OG 638을 참조하여 37 C.F.R. 섹션 1.14 포함)에 따라 권리가 주어진 미국 특허 상표청에 의해 결정된 것에 따라 상기 자손의 유효성을 보증한다.

[0417] 본 출원의 양수인은 기탁시 물질의 배양물이 적합한 조건하에서 배양될 때 죽거나 파괴되는 경우, 상기 물질은 통보시 또 다른 동일한 물질로 즉시 대체될 것임에 동의하였다. 상기 기탁된 물질의 유효성을 임의의 정부의 특허법에 따라 상기 정부의 권한하에서 부여된 권리에 위반하여 본 발명을 실행할 허가로서 해석해서는 안된다.

[0418] 본 발명은 또한 CXCR4 조절과 관련된 질환 및 상태, 예를 들어 골수 이식, 화학적 감작, 암, 전이성 질병(예를 들어 암), 자가면역 질병(예를 들어 류마티스성 관절염), 섬유증 질병(예를 들어 폐), AIDS 감염, 심혈관 질병, 포도막염, 염증성 질병, 셀리악병 HIV 감염 및 줄기세포-기재 재생의료의 치료에서 상기 항-CXCR4 항체, 예를 들어 전장 항체, 그의 항원 결합 단편, 또는 항-CXCR4 항체-약물 접합체 및 상기 CXCR4 수용체 항체, 예를 들어 전장 항체 또는 그의 항원 결합 단편을 포함하는 약학 조성물의 용도에 관한 것이다.

[0419] 암

[0420] CXCR4 수용체는 다수의 암, 예를 들어 비제한적으로 유방(문헌[Muller, A. et al. Nature 410:50-56 (2001)]); 난소(문헌[Scotton, C. et al. Br. J. Cancer 85:891-897 (2001)]); 전립선(문헌[Taichman, R.S. et al. Cancer Res. 62:1832-1837 (2002)]; 비-소세포 폐(문헌[Spano J.P. et al. Ann. Oncol. 15:613-617 (2004)]); 췌장(문헌[Koshiba, T. et al. Clin. Cancer Res. 6:3530-3535 (2000)]); 갑상선(문헌[Hwang, J.H. et al. J. Clin. Endocrinol. Metab. 88:408-416 (2003)]); 비인두 암종(문헌[Wang, N. et al. J. Transl. Med. 3:26-33 (2005)]); 흑색종(문헌[Scala, S. et al. Clin. Cancer Res. 11:1835-1841 (2005)]); 신세포 암종(문헌[Staller, P. et al. Nature 425:307-311 (2003)]); 림프종(문헌[Bertolini, F. et al. Cancer Res. 62:3530-3535 (2002)]); 신경모세포종(문헌[Geminder, H. et al. J. Immunol. 167:4747-4757 (2001)]); 교모세포종(문헌[Rempel, S.A. et al. Clin. Cancer Res. 6:102-111 (2000)]); 횡문근육종(문헌[Libura, J. et al. Blood 100:2597-2606 (2002)]); 결장직장(문헌[Zeelenberg, I.S. et al. Cancer Res. 63:3833-3839 (2003)]); 신장(문헌[Schrader, A.J. et al. Br. J. Cancer 86:1250-1256 (2002)]); 골육종(문헌[Laverdiere, C. et al. Clin. Cancer Res. 11:2561-2567 (2005)]); 급성 림프구성 백혈병(문헌[Crazzolara, R. et al. Br. J. Haematol. 115:545-553 (2001)]); 및 급성 골수성 백혈병(문헌[Rombouts, E.J.C. et al. Blood 104:550-557 (2004)])에서 과발현된다.

[0421] 상기에 비추어, 본 명세의 항-CXCR4 항체, 그의 항원-결합 단편 또는 항-CXCR4 항체-약물 접합체를 암, 예를 들

어 비제한적으로 유방암, 난소암, 전립선암, 비-소세포 폐암, 췌장암, 갑상선암, 비인두 암종, 흑색종, 신세포 암종, 림프종, 신경모세포종, 교모세포종, 횡문근육종, 결장직장암, 신장암, 골육종, 급성 림프구성 백혈병(ALL), 급성 골수성 백혈병(AML), 만성 림프구성 백혈병(CLL), 작은 림프구성 림프종(SLL), 다발성 골수종(MM), 비-호지킨 림프종(NHL), 호지킨 림프종, 외투세포 림프종(MCL), 여포성 림프종, 발덴스트롬 마크로글로불린혈증(WM), 및 B-세포 림프종 및 확산성 큰 B-세포 림프종(DLBCL)의 치료에 사용할 수 있다. 상기 항체를 단독으로 또는 다른 암 치료, 예를 들어 수술 및/또는 방사선치료 및/또는 다른 항-종양제, 예를 들어 상기에 논의되고 나타낸 항-종양제, 예를 들어 화학요법 약물 및 다른 항-종양 항원 항체, 예를 들어 CD20, Her2, PSMA, 캄패쓰(Campath)-1, EGFR 등에 결합하는 것들과 함께 사용할 수 있다.

[0422] 일부 태양에서, 본 발명의 항-CXCR4 항체를 항-CD22 또는 항 CD33 항체, 항체-약물 접합체 또는 상기와 같은 항체를 포함하는 조성물과 함께 사용할 수 있다. 예를 들어, 본 발명의 항-CXCR4 항체를 이노투주맵 오조가미신 또는 젬투주맵 오조가미신(마일로탈그(Mylotarg: 등록상표))과 병용할 수 있다.

[0423] "복합 요법" 또는 하나 이상의 추가적인 치료제"와 함께" 투여는 동시, 동반 및 임의의 순서의 연속 투여를 포함한다. 본 발명의 복합 제제의 구성성분들의 투여를 동시에, 별도로 또는 연속적으로 수행할 수 있다.

[0424] 본 발명에 따라 본 발명의 항-CXCR4 항체 및 이노투주맵 오조가미신의 동시, 동반 또는 연속적인 투여를 포함하는, 암 치료 방법을 제공한다. 예를 들어, 항-CXCR4 항체를 이노투주맵 오조가미신 전 또는 후 또는 동시에 투여할 수 있다. 추가로, 본 발명은 본 발명의 항-CXCR4 항체 및 마일로탈그의 동시, 동반 또는 연속적인 투여를 포함하는, 암, 예를 들어 AML의 치료 방법을 제공한다. 예를 들어, 항-CXCR4 항체를 마일로탈그 전 또는 후 또는 동시에 투여할 수 있다.

[0425] 상기 항-CXCR4 항체 또는 그의 단편을 치료학적 부분 및/또는 진단제, 예를 들어 세포독소, 약물(예를 들어 면역억제제) 또는 방사성독소에 접합시킬 수 있다. 상기와 같은 접합체를 본 발명에서 항체-약물 접합체라 칭한다. 항체-약물 접합체는 하나 이상의 세포독소를 포함할 수 있다.

[0426] 본 발명의 일부 태양에서, 상기 치료는 본 발명의 항-CXCR4 항체, 그의 항원 결합 단편, 또는 항-CXCR4 항체-약물 접합체를, 항체, 성장 인자, 호르몬, 사이토카인, 항-호르몬, 잔틴, 인터류킨, 인터페론, 및 세포독성 약물 중에서 선택된 하나 이상의 생물활성제와 함께 투여함을 포함한다. 본 발명의 특정한 태양에서, 상기 생물활성제는 항체이고, B-세포 악성종양상에서 발현된 세포 표면 항원에 대한 것이다.

[0427] 본 발명의 일부 태양에서, B-세포 악성종양상에서 발현된 세포 표면 항원에 대한 항체를 항-CD19, 항-CD20 및 항-CD33 항체로 이루어진 군 중에서 선택한다. 상기와 같은 항체는 항-CD20 항체, 리툭시맵(리툭산(상표))을 포함한다.

[0428] 본 발명의 일부 태양에서, 상기 생물활성제는 사이토카인 또는 성장 인자이며, 비제한적으로 인터류킨 2(IL-2), TNF, CSF, GM-CSF 및 G-CSF를 포함한다. 본 발명의 특정한 태양에서, 생물활성제는 호르몬이고 에스트로젠, 안드로젠, 프로제스틴 및 코르티코스테로이드를 포함한다.

[0429] 본 발명의 일부 태양에서, 상기 약물은 독소루비신, 다우노루비신, 이다루비신, 아클라루비신, 조루비신, 미톡산트론, 에피루비신, 카루비신, 벤다머스틴, 베바시주맵, 보르테소밉, 레날리도미드, 멜팔란, 노갈라마이신, 메노가릴, 피타루비신, 발루비신, 시타라빈, 젬시타빈, 트라이플루리딘, 안시타빈, 에노시타빈, 아자시티딘, 독시플루리딘, 펜토스타틴, 브록슈리딘, 카페시타빈, 클라드리빈, 데시타빈, 플록슈리딘, 플루다라빈, 구제로틴, 퓨로마이신, 테가퓨어, 티아조퓨린, 아드리아마이신, 시스플라틴, 카르보플라틴, 사이클로포스파미드, 다카바진, 빈블라스틴, 빈크리스틴, 미톡산트론, 블레오마이신, 메클로르에타민, 프레드니손, 프로카바진 메토트렉세이트, 플루로유라실, 에토포시드, 탁솔, 탁솔 유사체 및 미토마이신 중에서 선택된 약물이다.

[0430] 본 발명의 일부 태양에서, 치료 유효량의 본 발명의 항-CXCR4 항체, 그의 단편, 또는 항-CXCR4 항체-약물 접합체를 타이로신 키나제 억제제들의 하나 이상의 조합과 함께 투여한다. 타이로신 키나제 억제제는 단백질 및 비-단백질 부분 모두를 포함한다. 타이로신 키나제 억제제는 예를 들어 항체, 수용체 리간드, 또는 소분자 억제제일 수 있다. 본 발명의 방법에 사용하기에 적합한 타이로신 키나제 억제제의 예는 비제한적으로 제피티니브, 수니티니브, 에를로티니브, 라파티니브, 카네르티니브, 세막시니브, 바탈라니브, 소라페니브, 이마티니브, 다사티니브, 레플루노미드, 반데타니브, 그의 유도체, 그의 유사체, 및 이들의 조합을 포함한다. 본 발명에 사용하기에 적합한 추가적인 타이로신 키나제 억제제는 예를 들어 미국특허 제 5,618,829 호; 미국특허 제 5,639,757 호; 미국특허 제 5,728,868 호; 미국특허 제 5,804,396 호; 미국특허 제 6,100,254 호; 미국특허 제 6,127,374 호; 미국특허 제 6,245,759 호; 미국특허 제 6,306,874 호; 미국특허 제 6,313,138 호; 미국특허 제 6,316,444

호; 미국특허 제 6,329,380 호; 미국특허 제 6,344,459 호; 미국특허 제 6,420,382 호; 미국특허 제 6,479,512 호; 미국특허 제 6,498,165 호; 미국특허 제 6,544,988 호; 미국특허 제 6,562,818 호; 미국특허 제 6,586,423 호; 미국특허 제 6,586,424 호; 미국특허 제 6,740,665 호; 미국특허 제 6,794,393 호; 미국특허 제 6,875,767 호; 미국특허 제 6,927,293 호; 및 미국특허 제 6,958,340 호에 개시된 바와 같다.

[0431] 일부 태양에서, 치료 유효량의 본 발명의 항-CXCR4 항체, 그의 항원 결합 단편, 또는 항-CXCR4 항체-약물 접합체를 치료 섭생의 일부로서 약물들 중 하나 이상의 조합과 함께 투여하며, 여기에서 상기 세포독성제들의 조합은 CHOPP(사이클로포스파미드, 독소루비신, 빈크리스틴, 프레드니손 및 프로카바진); CHOP(사이클로포스파미드, 독소루비신, 빈크리스틴 및 프레드니손); COP(사이클로포스파미드, 빈크리스틴 및 프레드니손); CAP-BOP(사이클로포스파미드, 독소루비신, 프로카바진, 블레오마이신, 빈크리스틴 및 프레드니손); m-BACOD(메토트렉세이트, 블레오마이신, 독소루비신, 사이클로포스파미드, 빈크리스틴, 덱사메타손 및 류코보린); ProMACE-MOPP(프레드니손, 메토트렉세이트, 독소루비신, 사이클로포스파미드, 에토포시드, 류코보린, 메클로에타민, 빈크리스틴, 프레드니손 및 프로카바진); ProMACE-CytaBOM(프레드니손, 메토트렉세이트, 독소루비신, 사이클로포스파미드, 에토포시드, 류코보린, 시타라빈, 블레오마이신, 및 빈크리스틴); MACOP-B(메토트렉세이트, 독소루비신, 사이클로포스파미드, 빈크리스틴, 프레드니손, 블레오마이신 및 류코보린); MOPP(메클로에타민, 빈크리스틴, 프레드니손 및 프로카바진); ABVD(아드리아마이신/독소루비신, 블레오마이신, 빈블라스틴 및 다카바진); ABV(아드리아마이신/독소루비신, 블레오마이신 및 빈블라스틴)와 교번하는 MOPP(메클로에타민, 빈크리스틴, 프레드니손 및 프로카바진); ABVD(아드리아마이신/독소루비신, 블레오마이신, 빈블라스틴 및 다카바진)과 교번하는 MOPP(메클로에타민, 빈크리스틴, 프레드니손 및 프로카바진); ChIVPP(클로람부실, 빈블라스틴, 프로카바진 및 프레드니손); IMVP-16(이포스파미드, 메토트렉세이트 및 에토포시드); MIME(메틸-gag, 이포스파미드, 메토트렉세이트, 및 에토포시드); DHAP(덱사메타손, 고용량 시타리빈, 및 시스플라틴); ESHAP(에토포시드, 메틸프레디솔론, 고용량 시타라빈, 및 시스플라틴); CEPP(B)(사이클로포스파미드, 에토포시드, 프로카바진, 프레드니손 및 블레오마이신); CAMP(로머스틴, 미톡산트론, 시타라빈 및 프레드니손); CVP-1(사이클로포스파미드, 빈크리스틴 및 프레드니손), ESHOP(에토포시드, 메틸프레디솔론, 고용량 시타라빈, 빈크리스틴 및 시스플라틴); EPOCH(96시간 동안 사이클로포스파미드 및 경구 프레드니손의 일시주사 용량과 함께 에토포시드, 빈크리스틴 및 독소루비신), ICE(이포스파미드, 사이클로포스파미드, 및 에토포시드), CEPP(B)(사이클로포스파미드, 에토포시드, 프로카바진, 프레드니손 및 블레오마이신), CHOP-B(사이클로포스파미드, 독소루비신, 빈크리스틴, 프레드니손 및 블레오마이신), CEPP-B(사이클로포스파미드, 에토포시드, 프로카바진 및 블레오마이신), 및 P/DOCE(에피루비신 또는 독소루비신, 빈크리스틴, 사이클로포스파미드 및 프레드니손) 중에서 선택된다.

[0432] 본 발명의 일부 태양에서, 상기 약물을 본 발명에 개시된 항-CXCR4 항체, 그의 항원 결합 단편, 또는 항-CXCR4 항체-약물 접합체와 동시에 또는 연속적으로 또는 동반하여 투여할 수 있다. 예를 들어 상기 항-CXCR4 항체, 그의 항원 결합 단편, 또는 항-CXCR4 항체-약물 접합체를 치료 섭생의 일부로서 세포독성제들 중 하나 이상의 조합의 투여 전에 투여할 수 있다. 본 발명의 일부 태양에서, 치료 유효량의 상기 항-CXCR4 항체, 그의 항원 결합 단편, 또는 항-CXCR4 항체-약물 접합체를 치료 섭생의 일부로서 세포독성제들의 하나 이상의 조합의 투여에 후속으로 투여한다.

[0433] 본 발명의 일부 태양에서, 상기 항-CXCR4 항체, 그의 항원 결합 단편, 또는 항-CXCR4 항체-약물 접합체를 치료 섭생의 일부로서 세포독성제들의 하나 이상의 조합과 함께 투여한다.

[0434] 본 발명의 항-CXCR4 항체, 그의 항원 결합 단편, 또는 항-CXCR4 항체-약물 접합체를 또한 비약물 치료, 예를 들어 수술, 방사선 요법, 화학요법, 면역요법 및 식이요법/운동 섭생과 함께 투여할 수 있다. 상기 다른 치료법을 본 발명의 항-CXCR4 항체, 그의 항원 결합 단편, 또는 항-CXCR4 항체-약물 접합체에 의한 치료 전에, 상기 치료와 동반하여, 또는 상기 치료 후에 투여할 수 있다. 본 발명의 항-CXCR4 항체, 그의 항원 결합 단편, 또는 항-CXCR4 항체-약물 접합체가 상기 다른 치료 전 또는 후에 투여될 수 있도록, 상이한 치료들의 투여 사이에 수 시간, 수일 및 일부의 경우 수주일의 지연이 있을 수 있다.

[0435] CXCR4의 치료학적 용도

[0436] 본 발명의 다양한 태양에 따라, 항-CXCR4 항체, 그의 항원-결합 단편, 또는 항-CXCR4 항체-약물을 다양한 암, 염증성 질환, 알러지성 질환, 감염(HIV 감염 등), 자가면역 질환(예를 들어 류마티스성 관절염), 섬유증 질환(예를 들어 폐) 및 심혈관 질환을 포함한 다양한 질환의 치료, 또는 상기 치료를 위한 약제의 제조에 사용할 수 있다. 암 질환은 고형 종양 암(예를 들어 위, 두경부, 폐, 난소 및 췌장암) 및 혈액암(예를 들어 골수이형성 증후군, 골수증식성 질환 및 급성 백혈병)을 포함한다. 조혈 장애의 예는 비-B 계통 유래된, 예를 들어 급성

골수성 백혈병(AML), 만성 골수성 백혈병(CML), 비-B 세포 급성 림프구성 백혈병(ALL), 골수이형성 질환, 골수증식성 질환, 적혈구 증가증, 혈소판 증가증, 또는 비-B 비전형 면역 림프증식을 포함한다. B-세포 또는 B 세포 계통 유래된 질환의 예는 만성 림프구성 백혈병(CLL), B 림프구 계통 백혈병, 다발성 골수종, 급성 림프구성 백혈병(ALL), B-세포 전-림프구성 백혈병, 전구체 B 림프구성 백혈병, 털세포 백혈병 또는 형질세포 질환, 예를 들어 아밀로이드증 또는 발덴스트롬 마크로글로불린혈증을 포함한다.

[0437] 혈액 질환

[0438] 혈액 질환은 혈액 및 모든 그의 구성성분의 질병뿐만 아니라 혈액의 모든 구성성분들의 생성 또는 분해에 관련된 기관 및 조직의 질병을 포함한다. 본 발명의 일부 태양에서, 상기 혈액 질환은 비제한적으로 급성 림프구성 백혈병(ALL), 급성 골수성 백혈병(AML), 만성 림프구성 백혈병(CLL), 작은 림프구성 림프종(SLL), 다발성 골수종(MCL), 비-호지킨 림프종(NHL), 호지킨 림프종, 외투세포 림프종(MCL), 여포성 림프종, 발덴스트롬 마크로글로불린혈증(WM), B-세포 림프종 및 확산성 큰 B-세포 림프종(DLBCL)을 포함한다. NHL은 지연성 비-호지킨 림프종(iNHL) 또는 공격성 비-호지킨 림프종(aNHL)을 포함할 수 있다. 몇몇 태양에서, 대상체들은 다른 치료로부터 재발하거나 또는 난치성이다. 일부 태양에서, 대상체들은 적어도 2개 이상의 다른 치료로부터 재발하거나 난치성이다. 본 발명의 일부 태양에서, 대상체들은 적어도 3개 이상의 다른 치료로부터 재발하거나 난치성이다. 본 발명의 일부 태양에서, 대상체들은 적어도 5개 이상의 다른 치료로부터 재발하거나 난치성이다.

[0439] 본 발명은 혈액 질환의 치료를 위한 주요 치료학적 조성물로서 항-CXCR4 항체, 그의 항원 결합 단편, 또는 항-CXCR4 항체-약물 접합체의 용도를 고려한다. 상기와 같은 조성물은 다클론성 항-CXCR4 또는 단클론성 항-CXCR4 항체를 함유할 수 있다. 또한, 본 발명의 치료학적 조성물은 상이한 비-차단성 CXCR4 에피토프들에 대한 단클론성 항-CXCR4 항체들의 혼합물 또는 항-CXCR4 항체-약물 접합체의 혼합물 또는 단클론성 항-CXCR4 및 항-CXCR4 항체-약물 접합체의 혼합물을 함유할 수 있다.

[0440] 만성 림프구성 백혈병

[0441] CLL 세포는 높은 수준의 CXCR4를 발현한다(문헌[Burger JA, Burger M, Kipps TJ. Chronic lymphocytic leukemia B cells express functional CXCR4 chemokine receptors that mediate spontaneous migration beneath bone marrow stromal cells. Blood.94:3658-3667 (1999)]). 본 발명은 B-세포 만성 림프구성 백혈병(CLL)의 치료를 위한 주요 치료학적 조성물로서 항-CXCR4 항체, 그의 항원 결합 단편, 또는 항-CXCR4 항체-약물 접합체의 용도를 고려한다. 상기와 같은 조성물은 다클론성 항-CXCR4 또는 단클론성 항-CXCR4 항체 또는 다클론성 항-CXCR4 또는 단클론성 항-CXCR4 항체의 혼합물을 함유할 수 있다. 또한, 본 발명의 치료학적 조성물은 상이한 비-차단성 CXCR4 에피토프들에 대한 단클론성 항-CXCR4 항체들의 혼합물 또는 항-CXCR4 항체-약물 접합체의 혼합물 또는 단클론성 항-CXCR4 및 항-CXCR4 항체-약물 접합체의 혼합물을 함유할 수 있다.

[0442] 다른 B 세포 림프종

[0443] CXCR4 발현은 B-세포(문헌[Burger et. al., Chronic lymphocytic leukemia B cells express functional CXCR4 chemokine receptors that mediate spontaneous migration beneath bone marrow stromal cells. Blood. 94:3658-3667 (1999)]) 및 T-세포(문헌[Trentin L, Agostini C, Facco M, et al. The chemokine receptor CXCR4 is expressed on malignant B cells and mediates chemotaxis. J Clin Invest. 104:115-121 (1999)]) 비-호지킨 림프종(NHL)에서 입증되었다. B-NHL을 갖는 환자로부터의 악성 B 세포는 기능성 CXCR4 수용체를 발현한다. 케모카인 수용체 발현의 독특한 패턴은 림프종 세포 수송 및 귀소에 관련되는 것으로 생각되며 상이한 NHL 부분집합들을 식별할 수 있게 한다(문헌[Jones D, Benjamin RJ, Shahsafaei A, Dorfman DM. The chemokine receptor CXCR4 is expressed in a subset of B-cell lymphomas and is a marker of B-cell chronic lymphocytic leukemia. Blood. 95:627-632 (2000)]). 동물 모델에서, 마우스를 세포질 내에 CXCR4를 보유하도록 조작된 T-세포 하이브리도마 세포로 항원공격하였다. 인간 고급 NHL의 또 다른 마우스 모델에서, 단클론 항체에 의한 CXCR4 중화는 순환하는 NHL 세포의 귀소를 억제하였고 생존을 개선시켰으며(문헌[Bertolini F, Dell'Agnola C, Mancuso P, et al. CXCR4 neutralization, a novel therapeutic approach for non-Hodgkin's lymphoma. Cancer Res. 62:3106-3112 (2002)]), 따라서 이는 NHL에서 신규의 치료학적 접근으로서 CXCR4 중화를 암시하였다. 본 발명은 B-세포 만성 B 세포 림프종의 치료를 위한 주요 치료학적 조성물로서 항-CXCR4 항체, 그의 항원 결합 단편, 또는 항-CXCR4 항체를 포함하는 항-CXCR4 항체-약물 접합체의 용도를 고려한다. 상기와 같은 조성물은 다클론성 항-CXCR4 또는 단클론성 항-CXCR4 항체를 함유할 수 있다. 또한, 본 발명의 치료학적 조성물은 상이한 비-차단성 CXCR4 에피토프들에 대한 단클론성 항-CXCR4 항체들의 혼합물 또는 항-CXCR4 항체-약물 접합체의 혼합물 또는 단클론성 항-CXCR4 및 항-CXCR4 항체-약물 접합체의 혼합물을 함유할 수 있다.

[0444] 다발성 골수종에서 CXCR4

[0445] 다발성 골수종(MM)은 형질 세포의 큰 불치성 종양에 의한다. 케모카인 수용체 CXCR4는 환자의 MM 세포의 대다수에 의해 발현된다. 상기 CXCR4는 골수종 세포 이동 및 골수(BM) 구획으로의 귀소를 촉진하고, 종양 세포 생존을 지지하고 화학요법-유도된 세포사멸로부터 골수종 세포를 보호한다. 따라서, 항-CXCR4 항체, 그의 항원 결합 단편, 또는 CXCR4 활성을 억제하는 본 발명의 항-CXCR4 항체(예를 들어 길항물질 항체)를 포함하는 항-CXCR4 항체-약물 접합체를 혈액 질환, 예를 들어 다발성 골수종의 치료에 사용할 수 있다. 또한, 본 발명의 치료학적 조성물은 상이한 비-차단성 CXCR4 에피토프들에 대한 단클론성 항-CXCR4 항체들의 혼합물 또는 항-CXCR4 항체-약물 접합체의 혼합물 또는 단클론성 항-CXCR4 및 항-CXCR4 항체-약물 접합체의 혼합물을 함유할 수 있다.

[0446] 급성 백혈병에서 CXCR4

[0447] CXCR4는 골수에서 조혈 선조세포의 유지에 중요한 역할을 하기 때문에, 여러 그룹들이 선조세포 백혈병에서 CXCR4에 의해 수행되는 역할을 검토하였다. 전구체-B-세포 급성 림프구성 백혈병(ALL)은 비-비만 당뇨성 중증 복합 면역결핍(NOD/SCID) 마우스에서 백혈병 세포의 골수로의 귀소에 관여하는 기능성 CXCR4 수용체를 발현한다(문헌[Bradstock KF, Makrynikola V, Bianchi A, Shen W, Hewson J, Gottlieb DJ. Effects of the chemokine stromal cell-derived factor-1 on the migration and localization of precursor-B acute lymphoblastic leukemia cells within bone marrow stromal layers. Leukemia. 14:882-888 (2000)]). (문헌[Shen W, Bendall LJ, Gottlieb DJ, Bradstock KF. The chemokine receptor CXCR4 enhances integrin-mediated in vitro adhesion and facilitates engraftment of leukemic precursor-B cells in the bone marrow. Exp Hematol. 29:1439-1447 (2001)]). 정연한 동물 모델에서, 시프킨스(Sipkins) 등(문헌[Sipkins DA, Wei X, Wu JW, et al. In vivo imaging of specialized bone marrow endothelial microdomains for tumour engraftment. Nature. 435: 969-973 (2005)])은 기능성 CXCR4가 ALL 세포의 골수 환경으로의 귀소에 필요하다는 직접적인 증거를 제공하였다. 본 발명은 급성 림프구성 백혈병(ALL)의 치료를 위한 주요 치료학적 조성물로서 항-CXCR4 항체, 그의 항원 결합 단편, 또는 항-CXCR 항체를 포함하는 항-CXCR4 항체-약물 접합체의 용도를 고려한다. 상기와 같은 조성물은 다클론성 항-CXCR4 또는 단클론성 항-CXCR4 항체를 함유할 수 있다.

[0448] 또한, 본 발명의 치료학적 조성물은 상이한 비-차단성 CXCR4 에피토프들에 대한 단클론성 항-CXCR4 항체들의 혼합물 또는 항-CXCR4 항체-약물 접합체의 혼합물 또는 단클론성 항-CXCR4 및 항-CXCR4 항체-약물 접합체의 혼합물을 함유할 수 있다.

[0449] 급성 골수성 백혈병(AML)에서 CXCR4

[0450] 화학요법에 대한 일반적인 감도에도 불구하고, AML에서 장기적인 무질병 생존은 대부분의 환자들이 최소 잔존 질병(MRD)으로부터 재발하기 때문에 낮게 유지된다. CXCR4는 항암 약물 내성을 나타내는 생존 신호의 중추적인 조절인자인 것으로 보인다. 상기 개념은 백혈병 세포에 의한 CXCR4의 높은 수준 발현이 AML에서 불리한 예후 지표라는 발견에 의해 지지된다. 문헌[Spoo AC, Wierda WG, Burger JA. The CXCR4 score: a new prognostic marker in acute myelogenous leukemia [abstract]. Blood. 104:304a (2004)]. 본 발명은 급성 골수성 백혈병(AML)의 치료를 위한 주요 치료학적 조성물로서 항-CXCR4 항체, 그의 항원 결합 단편, 또는 항-CXCR 항체를 포함하는 항-CXCR4 항체-약물 접합체의 용도를 고려한다. 상기와 같은 조성물은 다클론성 항-CXCR4 또는 단클론성 항-CXCR4 항체를 함유할 수 있다.

[0451] 또한, 본 발명의 치료학적 조성물은 상이한 비-차단성 CXCR4 에피토프들에 대한 단클론성 항-CXCR4 항체들의 혼합물 또는 항-CXCR4 항체-약물 접합체의 혼합물 또는 단클론성 항-CXCR4 및 항-CXCR4 항체-약물 접합체의 혼합물을 함유할 수 있다.

[0452] 비-조혈성 암에서 CXCR4

[0453] 케모카인 및 상기 케모카인 수용체가 갖는 가장 흥미롭고 아마도 중요한 역할들 중 하나는 고형 종양의 전이를 조절하는 것이다. CXCR4는 가장 잘 연구된 케모카인 수용체들 중 하나로, CXC 케모카인 기질 세포-유래된 인자 1(SDF-1)(또한 CXCL12(문헌[Fredriksson et al., Mol Pharmacol. 63:1256-72(2003)])로서 공지됨)에 선택적으로 결합한다. 지금까지, CXCR4는 유방암, 전립선암, 신장암, 결장암, 갑상선암 및 췌장암을 포함한 20개가 넘는 인간 악성종양에서 과발현되는 것으로 나타났다(문헌[Muller et al., Nature 410: 50-6 (2001)]; 문헌[Akashi et al. Cancer Sci. 99(3):539-542 (2008)]; 문헌[Marechal et al. Br J Cancer, 100, 1444-51 (2009)]; 문헌[Wang et al., Clin Exp Metastasis, 26, 1049-54.(2009)]; 문헌[He X et al., Pathol Res Pract, 206, 712-5. (2010)]).

[0454] 본 발명은 비-조혈성 암의 치료를 위한 주요 치료학적 조성물로서 항-CXCR4 항체, 그의 항원 결합 단편, 또는 항-CXCR 항체를 포함하는 항-CXCR4 항체-약물 접합체의 용도를 고려한다. 상기와 같은 조성물은 다클론성 항-CXCR4 또는 단클론성 항-CXCR4 항체를 함유할 수 있다. 또한, 본 발명의 치료학적 조성물은 상이한 비-차단성 CXCR4 에피토프들에 대한 단클론성 항-CXCR4 항체들의 혼합물 또는 항-CXCR4 항체-약물 접합체의 혼합물 또는 단클론성 항-CXCR4 및 항-CXCR4 항체-약물 접합체의 혼합물을 함유할 수 있다.

[0455] 유방암에서 CXCR4

[0456] 신생물 세포상에서 CXCR4의 높은 수준의 발현은 유방암 환자에서 비교적 불량한 전체 생존과 관련있다(문헌[Li YM, Pan Y, Wei Y, et al. Up-regulation of CXCR4 is essential for HER2-mediated tumor metastasis. Cancer Cell. 6:459-469 (2004)]). 모든 유방암의 약 30%에서 관찰되는 HER2/neu의 높은 수준의 발현이 또한 비교적 불량한 예후와 관련있다. 리(Li) 등은 최근에 HER2/neu가 CXCR4 분해를 억제함으로써 CXCR4의 발현 및 기능을 증대시킴을 입증하였다(문헌[Li YM, Pan Y, Wei Y, et al. Up-regulation of CXCR4 is essential for HER2-mediated tumor metastasis. Cancer Cell. 6:459-469 (2004)]). 따라서, 본 발명은 유방암의 치료를 위한 주요 치료학적 조성물로서 항-CXCR4 항체, 그의 항원 결합 단편, 또는 항-CXCR 항체를 포함하는 항-CXCR4 항체-약물 접합체의 용도를 고려한다. 상기와 같은 조성물은 다클론성 항-CXCR4 또는 단클론성 항-CXCR4 항체를 함유할 수 있다. 또한, 본 발명의 치료학적 조성물은 상이한 비-차단성 CXCR4 에피토프들에 대한 단클론성 항-CXCR4 항체들의 혼합물 또는 항-CXCR4 항체-약물 접합체의 혼합물 또는 단클론성 항-CXCR4 및 항-CXCR4 항체-약물 접합체의 혼합물을 함유할 수 있다.

[0457] 폐암에서 CXCR4

[0458] 소-세포 폐암(SCLC)은 골수 연루 성향이 높은, 공격적이고, 빠르게 전이하는 신생물이다. 복합적인 화학요법 및 방사선요법 치료에 의해서조차, 5-년 생존이 빠른 약물 내성의 발생으로 인해 단지 약 5%이다. SCLC 세포에서, CXCR4 활성화는 이동성 및 침습성 반응 및 CXCR4- 및 인테그린-의존적인 방식으로 골수 기질 세포에의 부착을 유도한다. CXCR4는 SCLC 환자에서 관찰되는 독특한 전이 패턴을 지시할 수 있다. 따라서, 본 발명은 폐암의 치료를 위한 주요 치료학적 조성물로서 항-CXCR4 항체, 그의 항원 결합 단편, 또는 항-CXCR 항체를 포함하는 항-CXCR4 항체-약물 접합체의 용도를 고려한다. 상기와 같은 조성물은 다클론성 항-CXCR4 또는 단클론성 항-CXCR4 항체를 함유할 수 있다. 또한, 본 발명의 치료학적 조성물은 상이한 비-차단성 CXCR4 에피토프들에 대한 단클론성 항-CXCR4 항체들의 혼합물 또는 항-CXCR4 항체-약물 접합체의 혼합물 또는 단클론성 항-CXCR4 및 항-CXCR4 항체-약물 접합체의 혼합물을 함유할 수 있다.

[0459] 신세포 암종(RCC)에서 CXCR4

[0460] 최근에, mRCC에서 CXCR4의 역할이 철저히 밝혀졌다. 결과는 CXCR4의 높은 발현이 mRCC 환자의 불량한 생존과 강하게 관련됨을 입증하였다(문헌[Wang et al., Clin Exp Metastasis, 26, 1049-54(2009)]; 문헌[Zhao et al., Mol Biol Rep, 38, 1039-45 (2011)]). 더욱 또한, 쥐 모델의 결과에서, CXCR4-발현 RCC 세포의 전이 능력이 암세포상의 CXCR4 단백질 수준 및 표적 기관에서의 SDF-1α 발현과 강한 상관이 있었다(문헌[Motzer et. Al. The New England Journal of Medicine, vol. 335, no. 12, pp. 865-875 (1996)]). 따라서, CXCR4는 신장 투명세포 암종의 다중방식 치료법에서 흥미로운 치료학적 표적일 수 있다.

[0461] 본 발명은 신세포 암종(RCC)의 치료를 위한 주요 치료학적 조성물로서 항-CXCR4 항체, 그의 항원 결합 단편, 또는 항-CXCR 항체를 포함하는 항-CXCR4 항체-약물 접합체의 용도를 고려한다. 상기와 같은 조성물은 다클론성 항-CXCR4 또는 단클론성 항-CXCR4 항체를 함유할 수 있다.

[0462] 또한, 본 발명의 치료학적 조성물은 상이한 비-차단성 CXCR4 에피토프들에 대한 단클론성 항-CXCR4 항체들의 혼합물 또는 항-CXCR4 항체-약물 접합체의 혼합물 또는 단클론성 항-CXCR4 및 항-CXCR4 항체-약물 접합체의 혼합물을 함유할 수 있다.

[0463] 비-종양학 적응증에서 CXCR4

[0464] 케모카인 수용체는 다양한 특정한 세포에서 특정한 시간에 발현된다. 상기 수용체는 주로, 상기 수용체의 효과기 세포가 케모카인이 생산되는 부위에서 축적되는 기전을 통해 염증- 및 면역-반응의 조절과 관련된다. 예를 들어, SDF-1은 시험관내에서 T 세포-지시된(X4) HIV의 감염을 특이적으로 억제하는 것으로 나타났다(문헌[Bleul et al. Nature, 382:829-833 (1996), Oberlin et al. Nature, 833-835 (1996)]). 이는 SDF-1이 HIV에 앞서 CXCR4에 결합하며, 이에 의해 HIV로부터 세포를 감염시키기 위한 스캐폴드를 제거하여 HIV 감염을 억제시키는

것으로 생각될 수 있다. 더욱이, HIV 감염 억제제는 CXCR4의 길항물질인 것으로 나타났다(문헌[Nat. Med., 4, 72(1998)]).

[0465] 따라서, 본 발명은 염증 및 면역 질병, 알러지성 질병, 감염(HIV 감염 등), HIV 감염과 관련된 질병(후천성 면역결핍 증후군 등)의 치료를 위한 치료학적 조성물로서 항-CXCR4 항체, 그의 항원 결합 단편, 또는 항-CXCR 항체를 포함하는 항-CXCR4 항체-약물 접합체의 용도를 고려한다. 상기와 같은 조성물은 다클론성 항-CXCR4 또는 단클론성 항-CXCR4 항체를 함유할 수 있다.

[0466] 또한, 본 발명의 치료학적 조성물은 상이한 비-차단성 CXCR4 에피토프들에 대한 단클론성 항-CXCR4 항체들의 혼합물 또는 항-CXCR4 항체-약물 접합체의 혼합물 또는 단클론성 항-CXCR4 및 항-CXCR4 항체-약물 접합체의 혼합물을 함유할 수 있다.

[0467] WHIM 증후군

[0468] WHIM 증후군은 주요 임상 징후들, 즉 사마귀, 저감마글로불린혈증, 재발성 세균 감염 및 골수로부터의 배출 장애를 특징으로 하는 희귀한 선천성 면역결핍 질환이다(문헌[McDermott, DH et al. Blood 118 (18): 4957-4962 (2011)]; 문헌[Mcermott DH et al. J. Cell. Mol. Med. 15(10): 2071-2081 (2011)]. 골수로부터의 배출 장애는, 성숙한 호중구가 골수를 빠져나가지 못하고 B- 및 T-세포 존재량 또는 기능에 결함이 있는 이상 혈액 질환을 추가의 특징으로 할 수 있다(문헌[Zueler WW et al. N. Engl. J. Med. 270: 699-704 (1964)]). 에르난데스(Hernandez) PA 등은 상기 CXCR4 중의 돌연변이가 WHIM 증후군과 관련되며, 여기에서 $CXCR4^{R334X}$가 가장 통상적이고 가장 잘 연구된 변이체임을 최초로 개시하였다(문헌[Hernandez PA et al. Nature Genetics 34: 70-74 (2003)]). 기능획득 돌연변이로서 $CXCR4^{R334X}$는 내인성 리간드 CXCL12에 대해 증대된 신호전달 능력을 나타낸다. 따라서, $CXCR4^{R334X}$의 증가된 신호전달 능력을 약화시키는 것을 이용하여 WHIM 증후군을 치료할 수 있다.

[0469] 본 발명의 일부 태양에서, WHIM 증후군의 치료를 위한 주요 치료학적 조성물로서 항-CXCR4 항체를 포함하는 항체-약물 접합체의 용도를 고려하며, 여기에서 상기 조성물은 다클론성 항-CXCR4 또는 단클론성 항-CXCR4 항체를 함유할 수 있다. 더욱 또한, 본 발명의 치료학적 조성물은 상이한 비-차단성 CXCR4 에피토프들에 대한 단클론성 항-CXCR4 항체들의 혼합물 또는 항-CXCR4 항체-약물 접합체의 혼합물 또는 단클론성 항-CXCR4 및 항-CXCR4 항체-약물 접합체의 혼합물을 함유할 수 있다. 추가로, 일부 태양에서, 본 발명에 의해 개시되는 치료학적 조성물을 단독으로 또는 WHIM 증후군에 대한 일부 현행 치료, 예를 들어 G-CSF(필그라스팀(뉴포젠(Neupogen); 암젠 인코포레이티드(Amgen Inc.)), 정맥내 면역글로불린, 및 소분자 CXCR4 길항물질 AMD3100(플레릭사포어, 상표명 모조빌(Mozobil)(제니즘 코포레이션(Genyzme Corporation))과 함께 투여할 수 있다.

[0470] 하기의 실시예들을 단지 예시를 목적으로 제공하며, 이들 실시예는 본 발명의 범위를 어떠한 식으로도 제한하고자 하지 않는다. 실제로, 본 발명에 도시되고 개시된 것들 외에 본 발명의 다양한 변형들은 상기 설명으로부터 당해 분야의 숙련가들에게 자명해질 것이며 이들 변형은 첨부된 특허청구범위의 범위 내에 있다.

[0471] 실시예 1

[0472] 키메릭 항-CXCR4 마우스 항체에 대한 항체 결합 친화성 측정

[0473] 키메릭 마우스 항-CXCR4 항체 12A11, 6B6 및 3G10(hIgG1 서브유형으로서 나타냄)의 결합을 유식 세포측정에 의해 CXCR4-발현 인간 비-호지킨 림프종(NHL) 라모스 세포상에서 평가하였다. 100,000개의 세포를 100 ㎕ 결합 완충제(PBS + 0.5% BSA) 중에서 연속 희석된 항-CXCR4 항체와 배양한 다음, 잭슨 임뮤노리써치 레보라토리즈(Jackson Immunoresearch Laboratories)로부터의 다이라이트(Dylight)488-접합된 염소 항-인간 Fc 2차 항체와 함께 배양하였다. %는 각 희석의 MFI 값을 최대 값에 대해 표준화함으로써 유도되었다. EC50을 PRISM 소프트웨어에 의해 계산하였다.

[0474] [표 6]

㎍/㎖	12A11	6B6	3G10
50	100.0%	100.0%	100.0%
20	79.1%	97.5%	103.8%
5	38.0%	90.7%	91.1%
2	13.4%	87.8%	88.0%
0.5	5.9%	79.8%	77.8%
0.2	3.1%	67.3%	65.7%
0.05	1.6%	44.6%	25.4%
0.02	0.1%	12.8%	10.2%
0.005	0.1%	3.8%	3.2%
0.002	0.0%	3.0%	2.0%
EC50(㎍/㎖)	7.28	0.09	0.13
EC50(nM)	48.51	0.63	0.89

[0475]

[0476] 실시예 2

[0477] 인간화된 3G10 Fab의 CXCR4-발현 HPB-ALL 세포에의 결합

[0478] 인간화된 3G10 Fab의 결합을 유식 세포측정에 의해 CXCR4-발현 HPB-ALL 세포상에서 평가하였다. 150,000개의 세포를 100 ㎕ 결합 완충제(PBS + 0.5% BSA) 중의 2.5 또는 0.25 ㎍/㎖의 다양한 h3G10 Fab와 함께 배양한 다음 알앤디 시스템스(R&D systems)로부터의 APC-접합된 염소 항-인간 Fab-특이성 2차 항체와 함께 배양하였다.

[0479] [표 7]

클론 명칭		MFI	
중쇄	경쇄	2.5 ㎍/㎖	0.25 ㎍/㎖
m3G10 VH	m3G10 VL	6198	2177
h3G10 VH	h3G10 VL	2464	563
h3G10.A57 VH	h3G10 L	4058	868
h3G10.A57 VH	h3G10.2.72 VL	4326	1216
h3G10.A57 VH	h3G10.2.25 VL	4998	1384
h3G10.A57 VH	h3G10.A11 VL	4521	1251
h3G10.A57 VH	h3G10.A58A VL	7402	3613
h3G10.A57 VH	h3G10.B12 VL	6830	2921
h3G10.1.7 VH	h3G10.2.72 VL	4124	768
h3G10.1.60 VH	h3G10.2.72 VL	2806	396
h3G10.2.5 VH	h3G10.2.72 VL	2793	390
h3G10.1.91 VH	h3G10.2.72 VL	7024	2673
h3G10.2.37 VH	h3G10.2.72 VL	6239	2919
h3G10.2.45 VH	h3G10.2.72 VL	2779	929
h3G10.2.54 VH	h3G10.2.72 VL	4611	1737
h3G10.2.42 VH	h3G10.2.72 VL	4724	1763
h3G10.1.33 VH	h3G10.2.72 VL	4138	848
h3G10.3.25 VH	h3G10.2.72 VL	2685	454
h3G10.B44 VH	h3G10.2.72 VL	8908	4513
h3G10.B44 VH	h3G10.A11 VL	8306	3792
h3G10.B44 VH	h3G10.A58A VL	9414	5123
h3G10.B44 VH	h3G10.B12 VL	8127	2094

[0480]

[0481] 실시예 3

[0482] CXCR4 항체 결합: CXCR4 Ab Fab의 세포 결합 및 친화성 측정

[0483] CXCR4-발현 세포에 대한 CXCR4 Fab의 결합을 HPB-ALL(인간 T 세포 백혈병) 세포상에서 유식 세포측정에 의해 측정하였다. 150,000개의 HPB-ALL 세포를 96웰 플레이트상에서 100 ㎕ FACS 완충제(1xPBS + 0.5% BSA) 중에 재현탁시켰다. 항-CXCR4 Fab를 각 웰에 0.25 ㎍/㎖의 최종 농도로 가하고 4 ℃에서 30분 동안 배양하였다. 1차 항체의 제거 후에, 상기 세포를 FACS 완충제로 2회 세척하고 이어서 FACS 완충제 중에 재현탁시키고 이어서 2 ㎕(3 ug)의 2차 Ab(알렉사 플루오르(Alexa Fluor) 647-접합된 염소 항-인간 IgG, F(ab')2 특이성, 잭슨 임뮤노리써치 레보라토리즈, 미국 펜실바니아주 웨스트 그로브 소재)를 각 웰에 가하였다. 상기 플레이트를 4 ℃에서 추가로 30분 동안 배양하였다. 형광 신호를 세포 분석기 LSRII(BD 바이오사이언시즈, 미국 캘리포니아주 산호세 소재)에 의해 획득하였다. 표에 각 샘플의 MFI(평균 형광 강도)를 나타낸다.

[0484] 각 Fab의 결합 친화성을 인간 CXCR4-풍부 지방입자(LEV101, 인테그랄 몰레큘러(Integral Molecular), 미국 펜

실바니아주 필라델피아 소재)를 사용하여 측정하였다. 비오틴화된 WGA(시그마 알드리치, 미국 미주리주 세인트 루이스 소재)를 SA 칩상에 코팅하여 CXCR4 단백질을 함유하는 지방입자의 포착을 용이하게 할 수 있다. Fab의 일련의 희석물(5-원, 10 또는 30 nM의 최고 농도로 3X 희석 인자)을 낮은 농도에서부터 높은 농도로 주사하여 (각 농도에 대해 3-분 처리 시간으로) 칼슨(Karlsson) 등의 문헌[Karlsson, R., Katsamba, P. S., Nordin, H., Pol, E. & Myszka, D. G. Analyzing a kinetic titration series using affinity biosensors. *Anal. Biochem.* 349, 136-147 (2006)]에 개시된 바와 같은 "동역학적 적정" 방법을 사용하여 상기 데이터의 동역학적 분석을 수행하였다. 일부 분석 주기를 위해서 완충제를 Fab 대신에 포착된 입자상에 주사하여 이중-비교를 목적으로 블랭크 주기를 제공하였다(이중-비교는 문헌[Myszka et al. Improving biosensor analysis. *J. Mol. Recognit.* 12, 279-284 (1999)]에 개시된 바와 같이 수행되었다).

[0485] [표 8]

클론 명칭		FACS	바이오센서 친화성 측정			
중쇄	경쇄	MFI (0.25 ㎍/㎖에서)	Ka (1/MS)	Kd (1/s)	t1/2 (분)	KD(nM)
m3G10 VH	m3G10 VL	2555	2.10E+06	1.40E-03	8.30	0.65
h3G10 VH	h3G10 VL	1363	1.60E+06	3.00E-03	3.90	1.90
h3G10.A57 VH	h3G10 VL	1345	1.17E+06	1.43E-03	8.08	1.22
h3G10.A57 VH	h3G10.2.72 VL	2769	1.10E+06	1.30E-03	9.00	1.12
h3G10.1.91 VH	h3G10.2.72 VL	2347	1.50E+06	4.90E-04	23.50	0.33
h3G10.2.37 VH	h3G10.2.72 VL	2887	2.30E+06	8.00E-04	14.40	0.35
h3G10.A57 VH	h3G10.A58A VL	3886	1.60E+06	6.30E-04	18.20	0.39
h3G10.1.91 VH	h3G10.A58A VL	5046	9.08E+05	3.41E-04	33.90	0.38
h3G10.2.37 VH	h3G10.A58A VL	4069	1.29E+06	4.18E-04	27.60	0.32
h3G10.A57 VH	h3G10.A58B VL	3089	6.88E+05	5.15E-04	22.40	0.75
h3G10.1.91 VH	h3G10.A58B VL	4627	8.03E+05	2.86E-04	40.40	0.36
h3G10.2.37 VH	h3G10.A58B VL	4551	7.97E+05	4.49E-04	25.70	0.56

[0486]

[0487] 실시예 4

[0488] 원숭이 키노(Cyno) 및 인간 CXCR4에 대한 CXCR4 Ab의 결합

[0489] 항-인간 CXCR4 Ab h3G10.1.91.A58B를 1) HPB-ALL(인간 T 세포 백혈병) 및 키노-CXCR4 형질감염된 CHO 세포 및 2) 라지(Raji)(인간 비-호지킨 림프종) 및 HSC-F(키노몰구스 T 세포주) 상에서 유식 세포측정에 의해 일련의 희석물(0.007 내지 267 nM) 중의 키노몰구스 CXCR4에 대한 그의 교차-반응성에 대해 시험하였다. 결합을 2차 Ab (알렉사 플루오르 647-접합된 염소 항-인간 IgG, Fc 감마 특이성, 잭슨 임뮤노리써치 레보라토리즈, 미국 펜실바니아주 웨스트 그로브 소재)에 의해 검출하고 LSRFortessa 세포 분석기(BD 바이오사이언시즈, 미국 캘리포니아주 산호세 소재)에 의해 획득하였다. 곡선 정합 및 EC50 계산을 프리즘(Prism) 소프트웨어(그래프패드(GraphPad) 소프트웨어, 미국 캘리포니아주 라졸라 소재)로 수행하였다. 표 9A 및 9B 및 도 3a 및 3b.

[0490] [표 9A]

[0491]

	HPB-ALL	CHO-키노CXCR4
EC50 (nM)	0.27	0.16

[0492] [표 9B]

[0493]

	라지	HSC-F
EC50 (nM)	3.050	2.585

[0494] 실시예 5

[0495] CXCR4 항체의 효과기 기능

[0496] 치료학적 네이키드 항체는 2가지 유형의 기능에 의존하여 임상 효능을 성취한다: 항체의 Fc 도메인과 다양한 세포 유형상의 Fc 수용체와의 상호작용을 통한, Fab(항원-결합 단편) 도메인에 의한 표적-특이적 결합 및 면역-매개된 효과기 기능 - 예를 들어 항체-의존성 세포-매개된 세포독성(ADCC) 및 보체 의존성 세포독성(CDC). ADCC에서, 상기 항체의 Fc 영역은 면역 효과기 세포, 예를 들어 천연 킬러 및 대식세포의 표면상의 Fc 수용체(FcγR)에 결합하여, 표적화된 세포의 식작용 또는 용해를 유도한다. CDC에서, 상기 항체는 세포 표면에서 보체 캐스케이드를 촉발함으로써 표적화된 세포를 살해한다. 따라서 치료학적 항체의 Fc 부분은 ADCC 또는 CDC에 대한 그의 영향을 통해 그의 작용 기전에서 중요한 역할을 갖는다.

[0497] 인간 IgG의 각 하위부류(IgG1, IgG2, IgG3 및 IgG4)는 효과기 기능의 독특한 프로파일을 나타내며, 이는 상기 FcγR 및 보체 복합체 단백질 각각에 대한 차별적인 결합에 의해 지시된다. IgG1 및 IgG3은 모두 비교적 강하게 결합하는 반면, IgG2 및 IgG4는 상기 Fc 수용체에 훨씬 더 낮은 친화성을 가지며, 높은 수준의 ADCC를 유도하지 않는다. IgG1은 또한 상기 보체 복합체 단백질에 대해 더 높은 친화성을 가지며, IgG2, IgG3 및 IgG4에 의해서는 훨씬 더 낮은 CDC가 유도된다.

[0498] 항-CXCR4 항체의 ADCC(항체-의존성 세포독성) 활성을 사이토톡스(cytoTox) 96 비-방사성 세포독성 분석 키트(프로메가(Promega), 미국 위스콘신주 매디슨 소재)로 측정하였다. CXCR4-발현 인간 종양 세포를 상기 분석 전날 10,000개의 세포로 시딩하였다. 공여체 PBMC 세포를 피콜(Ficoll) 구배를 통해 단리하고 생체외 배지에서 37 ℃에서 밤새 배양하였다. 다음날 10 또는 20 ㎍/㎖의 항체를, RPMI + 5% FBS 중의 1000,000 PBMC 세포(E:T = 100:1)의 첨가와 함께 또는 상기 첨가 없이 상기 웰에 가하였다. 이어서 상기 플레이트를 37 ℃에서 4시간 동안 배양하였다. 3시간 반의 시점에서, 20 ㎕의 용해 용액을 상기 표적 세포 웰에 단독으로 가하였다. 상기 플레이트를 8000 rpm에서 3분 동안 회전 후에 50 ㎕의 상등액을 또 다른 플레이트로 옮겼다. 이어서 50 ㎕의 기질을 각 웰에 가하고 상기 플레이트를 암실에서 실온에서 30분 동안 배양하였다. 50 ㎕의 정지 용액을 각 웰에 가하여 반응을 정지시켰다. 이어서 플레이트를 490 ㎚에서 분광광도계(몰레큘라 디바이시즈)로 판독하였다. 비(specific)용해의 백분율(%)을 하기 식에 의해 계산하였다:

[0499] 비용해% = (처리 LDH 방출 - 표적 세포 자발적 LDH 방출 - 효과기 세포 자발적 LDH 방출)/(표적 세포 최대 LDH 방출 - 표적 세포 자발적 LDH 방출) x 100

[0500] 항-CXCR4 항체의 CDC(보체-의존성 세포독성) 활성을 사이토톡스 96 비-방사성 세포독성 분석 키트(프로메가, 미국 위스콘신주 매디슨 소재)로 측정하였다. CXCR4-발현 인간 종양 세포를 상기 분석 전날 10,000개의 세포로 시딩하였다. 다음날 5 내지 20 ㎍/㎖의 각 Ab를 상기 세포에 단독으로 또는 2.5%, 10% 또는 20%의 공여체 AB 보체(이노베이티브 바이오테크(Innovative Biotech) 또는 시그마)와 함께 가하였다. 상기 플레이트를 전개시키고 비용해를 상기 ADCC 분석과 유사하게 분석하였다.

[0501] 상기 ADCC 분석을 20 ㎍/㎖(도 4a) 또는 10 ㎍/㎖(도 4c)의 항체 + 100:1(효과기:표적)비의 통상적인 공여체 PBMC 세포를 사용하여 CXCR4 발현 라모스(NHL) 또는 MOLT-4(인간 T 세포 백혈병) 세포에서 수행하였다. 4시간의 배양 후에, ADCC 활성은 라모스(NHL) 세포상의 키메릭 hIgG1으로서 생산된 항-인간 CXCR4 마우스 Ab 12A11, 6B6 및 3G10(도 4a) 또는 MOLT-4 세포상의 인간화된 3G10 항체(도 4c)로부터 자명하였다. MOLT-4 세포상의 m3G10-hIgG4 하위유형으로부터의 약 20% 세포 용해에 비해 m3G10-hIgG1 처리로부터 세포 용해의 대략 80%가 나타났다(도 4b).

[0502] CDC 활성은 CXCR4 발현 라모스 세포 중의 20 ㎍/㎖의 키메릭 마우스 12A11-, 6B6- 및 3G10-hIgG1 항체(도 4d) 및 다우디(NHL) 세포상의 5 ㎍/㎖의 인간화된 항체(도 4f)의 처리로부터 관찰되었다. 비용해 활성의 최대 20 내지 30%가 다우디 세포상의 양성 대조용 항체 리툭산과 유사하게, IgG1 주쇄 중의 5 ㎍/㎖의 항-CXCR4 3G10 항체에 의해 검출된 반면, hIgG4 포맷 중의 3G10은 CDC 활성을 나타내지 않았다(도 4e).

[0503] 실시예 6

[0504] 항-CXCR4 항체에 의한 SDF-1 유도된 칼슘 유출의 억제

[0505] CXCR4 수용체에 대한 SDF-1(리간드)의 결합시 칼슘 유출 반응이 촉발된다. 상기 CXCR4 Ab의 기능성 길항물질 활성에 대한 증거로서, SDF-1 유도된 칼슘 유출을 억제하는 상기 항-인간 CXCR4 항체의 능력, 인간 T-세포 백혈병(주르캣(Jurkat)) 세포를 플루오(Fluo)-NW 칼슘 분석 키트(몰레큘라 프로브스/라이프 테크놀로지스(Molecular Probes/life technologies)와 함께 사용하였다. 세포를 CO_2 배양기에서 37 ℃에서 10% 소 태아 혈청, 1% 글루타민을 함유하는 RPMI 1640 배지에서 융합 이하로 배양하였다. 상기 분석 당일, 세포를 검은색의 투명 바닥 384-웰 플레이트에서 25 ㎕ 분석 완충제 중의 웰당/70,000 세포로 도말하였다. 이어서 키트 분석 염료를 실온에서 빛을 차단하여, 110분 동안 25 ㎕/웰로 상기 플레이트에 가하였다. 11 포인트 1:3 연속 희석물을 각각의 항-인간 CXCR4 항체에 대해 상기 플루오-NW Ca 분석 키트 완충제 중에서 제조하여, 500 nM 내지 8 pM의 농도 범위를 생성시켰다. 세포를 실온에서 20분 동안 항체와 함께 배양하였다. 이어서 세포를 8 nM의 최종 농도의 SDF-1 알파(인비트로젠)로 자극하였다. 이어서 칼슘 유출을 FLIPR 테트라(Tetra)(몰레큘라 디바이시즈)를 사용하여 95초 동안 측정하였다. 양성 대조군은 SDF-1 알파의 존재하에서 항체 처리 없이 세포들로 이루어졌다. 기준선은 SDF-1 알파 및 항체 처리의 부재하에서 세포로부터 측정되었다. 상기 칼슘의 SDF-1 알파 유도를 시간에 따른 형광 신호의 발생에 의해 측정하였다. 데이터가 송출되었으며 이를 그래프패드 프리즘 소프트웨어를 사용하여 플롯팅하였고 s자 용량 반응식에 따른 비-선형 곡선 정합을 사용하여 EC50 값을 계산하였다. 생성되는 항-인간 CXCR4 항체에 의한 칼슘 유출의 억제를 도 5에 나타낸다. 항체 3G10, 6B6 및 12A11 억제된 SDF-1 알파는, 각각 1.555 nM, 1.418 nM 및 27.07 nM의 억제에 대한 IC50과 함께 칼슘 유출을 유도하였다(표 10). 칼슘 유출 기능 분석에서 평가된 인간화된 CXCR4 항체에 대한 IC50을 표 11에 요약한다(평균 n = 3 독립적인 실험/항체). 요약하면, 상기 인간화된 CXCR4 항체의 효능은 상기 분석에서 키메릭 m3G10 항체의 경우와 유사하다.

[0506] [표 10]

[0507]

키메릭 CXCR4 항체의 칼슘 유출 활성			
	3G10	6B6	12A11
IC50	1.555	1.418	27.07

[0508] [표 11]

[0509]

인간화된 CXCR4 항체의 칼슘 유출 활성			
중쇄	경쇄	항체 명칭	IC50 (M)
m3G10 VH	m3G10 VL	m3G10	1.25E-09
h3G10 VH	h3G10 VL	h3G10	2.00E-09
A57	h3G10 VL	h3G10.A57	1.69E-09
h3G10.2.37 VH	h3G10.2.72 VL	h3G10.2.37.2.72	1.36E-09
h3G10.A57 VH	h3G10.A58A VL	h3G10.A57.A58A	1.31E-09
h3G10.1.91 VH	h3G10.A58A VL	h3G10.1.91.A58A	2.35E-09
h3G10.1.91 VH	h3G10.A58B VL	h3G10.1.91.A58B	2.17E-09

[0510] 실시예 7

[0511] 환상 AMP(cAMP) 세포 기재 기능 분석에서 CXCR4 항체 활성

[0512] CXCR4 수용체에 CXCL12(리간드)의 결합시 cAMP는 억제되는 것으로 공지되어 있다. 상기 CXCR4 Ab의 길항 활성에 대한 증거로서, cAMP 분석을, 디스커버렉스(DiscoveRx)(미국 캘리포니아주 프레몬트 소재)로부터 구입한 인간 CXCR4로 형질감염된 CHO-K1 세포를 사용하여 수행하였다. cAMP 헌터 익스프레스(Hunter eXpress) GPCR 분석 키트(디스커버렉스)를 사용하여 상기 분석을 수행하였다. CXCR4 항체의 부재하에서, CXCR4의 리간드, CXCL12에 의한 처리는 cAMP 생성을 억제하였다. CXCR4 항체로 처리시, 상기 억제는 취소되었으며, cAMP 생성은 증가하였다. 상기 반응에 대한 EC50을 표 12에 나타낸다. 요약하면, 시험된 모든 CXCR4 항체는 상기 분석에서 24.3 내지 45.6 nM 범위의 유사한 효능있는 활성을 가졌다. 상기 연구는 마우스(키메릭) 3G10 및 인간화된 3G10 CXCR4 항체가 경쟁할 수 있고 상기 cAMP 기능 분석에서 상기 CXCR4 리간드 활성을 차단할 수 있음을 입증한다.

[0513] [표 12]

cAMP 분석에서 항-CXCR4 Ab의 EC50 요약	
시험된 항체	EC50 (M)
아이소타입 대조용 항체	9.80 E+10
m3G10	4.56 E-08
h3G10.1.91.A58B	3.92 E-08
h3G10.2.37.2.72	3.41 E-08
h3G10.A57.A58A	2.43 E-08

[0514]

[0515] 실시예 8

[0516] 항-CXCR4 항체에 의한 세포사 유도

[0517] 항-CXCR4 항체를 인간 비-호지킨 림프종 라모스 세포주에서 세포사를 유도하는 능력에 대해 검사하였다. 세포를 CO_2 배양기에서 37 ℃에서 10% 소 태아 혈청 및 2 nM 글루타민을 함유하는 RPMI 1640 배지에서 융합 이하로 배양하였다. 세포를 48-웰 플레이트에서 성장 배지 중에 2.5 x 10^6 세포/㎖로 시딩하였다. PB 중에서 지시된 농도로 희석된 항-CXCR4 항체를 상기 세포에 가하고 37 ℃에서 24시간 동안 배양하였다. 세포사를 LSRII 유식 세포계(BD 바이오사이언시즈)에서 측정된 애넥신(Annexin) V-PE 및 프로피디움 요오다이드(PI) 형광 신호에 의해 측정하였다. 전체 세포사를, 애넥신 V+/PI-(초기) 집단과 함께 애넥신 V+/PI+(말기) 집단을 가함으로써 측정하였다.

[0518] 도 6a의 결과는 6B6 및 3G10 항-CXCR4 항체가 라모스 세포에서 세포사를 용량 의존적인 방식으로 유도할 수 있음을 입증한다. 시험된 최고 농도, 100 nM에서, 3G10 및 6B6은 >70% 세포사를 생성시켰다. 상기 효과는 공지된 효능 있는 세포사 유도제(대략 60%)인 양성 대조용 스타우로스포린(STS)보다 더 컸다. 처리되지 않은 세포는 상기 분석에서 대략 30% 세포사를 나타내었다. 항-CXCR4 12A11 항체는 시험된 조건하에서 세포사를 유도할 수 없었다. 라지 비-호지킨 림프종 세포상에서 상기 항체들의 활성 시험시 유사한 결과가 관찰되었다.

[0519] 유사한 연구에서, 단쇄(Fab) 및 2가 F(ab)2'가 상기 3G10 항체로부터 생성되었다. 상기 Fab는 단쇄 항체(1가)이며 상기 항원-결합 부위의 일부인 면역글로불린 가변 영역 및 제1 면역글로불린 불변 영역을 함유한다. 상기 단편은 상기 3G10 항체의 단백질분해 효소인 파파인에 의한 절단에 의해 획득되었다. 상기 F(ab')2는 펩신 절단에 의해 생성되어 상기 Fc 영역의 대부분이 제거된 반면 힌지 영역의 일부는 완전하게 남아있었다. F(ab')2 단편은 다이설파이드 결합에 의해 함께 연결된 2개의 항원-결합 Fab 부분을 가지며, 따라서 2가이다. 상기 Fab 및 F(ab')2를 라모스 세포의 세포사를 유도하는 능력에 대해서 상기 2가 전장 3G10 항체와 나란히 시험하였다. 도 6b에 나타낸 결과는 세포사를 유도하는 능력은 2가 의존성이며, 이때 상기 완전한 항체 (3G10) 및 F(ab')2 항체는 세포사를 유도할 수 있는 반면 상기 3G10 Fab는 세포사에 매우 제한된 효과를 가짐을 가리킨다.

[0520] 실시예 9

[0521] 항-CXCR4 항체에 의한 생체내 비-호지킨 림프종 고형 종양 성장의 억제

[0522] SDF-1/CXCR4 신호전달은 종양 성장, 혈관형성, 침습 및 전이를 포함한 종양 발생의 다수의 단계들에서 중요한 역할을 하는 것으로 생각된다. 종양 성장을 억제하는 상기 항-인간 CXCR4 Ab의 능력을 평가하기 위해서, 4 내지 6주령 암컷 CB17 SCID 베이지색 마우스(잭슨 레보라토리즈) 및 피하 이식된 인간 비-호지킨 림프종 라모스 세포를 사용하는 종양 이종이식 모델을 사용하였다. 세포를 5% CO_2 배양기에서 37 ℃에서 10% 소 태아 혈청을 함유하는 RPMI 1640 배지에서 배양하였다. 상기 연구에서, 5 x 10^6 세포를 각 마우스의 우측 뒤쪽 옆구리 영역에 이식하고, 식 (부피 = 길이 x 너비^2)/2에 의해 계산된, 대략 175 ㎣의 평균 크기 부피의 고형 종양으로서 성장시켰다. 이어서 상기 마우스를 4개의 상이한 처리 군(군당 동물 n=10)들로 무작위 분배하였다. 마우스의 군들을 멸균 PBS 용액 중의 항체들의 정맥내(i.v.) 주사로 처리하였다: (i) 아이소타입 대조용 Ab(15 ㎎/㎏); (ii) 3G10(15 ㎎/㎏); (iii) 6B6(15 ㎎/㎏); 및 (iv) 12A11(15 ㎎/㎏). 동물들에게 3주 동안 1주일에 1회 항체들을 총 3 회 용량으로 투여하였다. 종양 부피를 상기 연구 기간 동안 1주일에 1 내지 3회 캘리퍼스에 의해 측정하였다. 상기 실험의 결과를 도 7에 나타낸다. 결과는 시험된 모든 3개의 항-CXCR4 항체들이 상기 아이소타입 대조용 항체에 비해 종양 성장을 현저하게 억제하였음을 가리킨다. 결과는 상기 항-CXCR4 항체가 생체내에서 확립된 고형 종양의 성장을 억제할 수 있음을 가리킨다. 상기 종양 성장 억제 효과는 항체 투여를 중지한 후 오랜 기간(42일) 동안 지속되었다. 시험된 3개의 항-CXCR4 항체 모두의 활성은 상기 고형 종양 모델에서 필

적할만하였다(도 7).

[0523] 실시예 10

[0524] 마우스 전신 비-호지킨 림프종 세포 모델에서 항-CXCR4 항체에 의해 증가된 생존 시간 및 감소된 종양 크기

[0525] 항-CXCR4 항체의 항-종양 활성을 라지 비-호지킨 림프종 세포를 사용하여 혈액 림프종 모델에서 추가로 조사하였다. 상기 연구에 사용된 라지 세포를 루시페라제 유전자(LUC)로 형질감염시켜 시간에 따른 종양 크기의 "생애 중(in life)" 모니터링을 허용하였다. 세포를 5% CO_2 중에서 37 ℃에서 10% 소 태아 혈청을 함유하는 RPMI 1640 배지에서 배양하였다. 상기 모델은 6 내지 8주령 SCID 베이지색 암컷 마우스(찰스 리버 레보라토리즈로부터)에게 꼬리 정맥을 통해 1 x 10^6 라지-LUC 세포를 주사함으로써 확립되었다. 제0일(이식일)에 라지-LUC 세포를 폐에 꽂았으며, 이는 모든 동물에서 종양 세포의 정확한 i.v. 주사를 가리킨다. 세포이식 후 제1일에 마우스를 폐 생물발광의 존재를 근거로 처리 군들(군당 10마리 동물)로 할당하였다. 마우스를 67일까지 1주일에 1회 복강내(i.p.)로, 멸균 PBS 용액 중의 10 mg/kg의 아이소타입 대조용 항체, 3G10, 6B6 및 12A11로 처리하였다. 종양 크기를 제노젠(Xenogen) IVIS 2000 이미지화 시스템을 사용하여 생물발광 이미지화에 의해 모니터하였다. 마우스를 복부 위치에서 5일마다 이미지화하고, 루시페린을 15 mg/mℓ, 200 ㎕ 주사로 IP 전달하고, 전신 생물발광을 제노젠 리빙 이미지(Xenogen Living Image)를 사용하여 측정하였다. 마우스가 뒷다리 마비를 나타내거나 다른 무통 종점에 도달하기 시작했을 때, 안락사시켰다. 종양 크기(생물발광에 의한) 및 생존 모두를 종점으로서 평가하였다.

[0526] 도 8a 및 8b는 상기 연구의 생물발광 연구를 나타낸다. 종양 크기의 감소는 시간에 따른 생물발광 수준의 감소에 의해 나타난다. 도 8a는 제0 연구일(이식 기준선), 제15 및 25 연구일에 각 군의 4 내지 5마리 동물의 전형적인 이미지화를 나타낸다. 3개의 항-CXCR4 항체는 모두 발광 수준에 의해 측정된 바와 같이 종양 크기를 현저하게 감소시켰다. 도 8b는 상기 모델에서 3G10, 6B6 및 12A11 항체에 의한 처리가 아이소타입 대조용 항체에 비해 필적하는 TGI 활성을 가졌음을 나타낸다.

[0527] 도 8c에 나타낸 생존 곡선은 라지-LUC 세포가 전신적으로 이식된 동물의 생존에서 아이소타입 대조용 항체에 비해 항-CXCR4 항체 3G10, 6B6 및 12A11의 매우 현저한 효과를 입증한다. 아이소타입 대조용 처리된 동물들은 18일의 중간 생존을 나타낸 반면, 항-CXCR4 항체로 처리된 동물들은 상기 연구의 종결 전에 중간 생존에 도달하지 않았다. 시험된 3개의 항-CXCR4 항체 모두의 효과는 그들간의 통계학적 차이 없이 필적할만하였다. 상기 항-CXCR4 항체 처리된 동물들의 생존은 67일(최종 항체 용량이 투여됨)을 넘어서 충분히 지속되었다.

[0528] 실시예 11

[0529] 마우스 전신 급성 골수성 백혈병(AML) 세포 모델에서 항-CXCR4 항체에 의해 증가된 생존 시간 및 감소된 종양 크기

[0530] 항-CXCR4 항체 6B6을 AML의 산재성/전신 정맥내 모델을 사용하여 NSG 마우스의 생존을 증가시키고 종양 크기를 감소시키는 그의 능력에 대해 시험하였다. 인간 AML 암 계통 MV4-11에 루시페라제 유전자(MV4-11-LUC)를 형질도입시켜 시간에 따른 종양 크기의 "생애 중" 모니터링을 허용하였다. 세포를 5% CO_2 배양기에서 37 ℃에서, 루시페라제 발현 선택을 위한 1 ㎍/mℓ 퓨로마이신과 함께 10% 소 태아 혈청을 함유하는 IMDM 배지에서 배양하였다. 4 내지 6주령 NSG 암컷 마우스(잭슨 레보라토리즈로부터)에게 MV4-11-LUC AML 세포(1 x 10^6/동물)를 정맥내 주사하였다.

[0531] 세포 이식 후 제13일에 마우스를 전신 생물발광 강도를 근거로 3개의 처리 군(군당 10마리의 동물)으로 무작위 분할하였다. 멸균 PBS 용액 중의 10 mg/kg의 매주 피하(s.c.) 항체 처리를 도면에서 가리킨 바와 같이(제13일; 제20일), 제13일(아이소타입 대조용 및 항-CXCR4 6B6 항체) 및 제20일(항-CXCR4 6B6 항체)에 개시하였다. 종양 크기를 제노젠 IVIS 200 이미지화 시스템을 사용하여 평가하였다. 마우스를 복부 위치에서 7일마다 이미지화하고 전신 생물발광을 제노젠 리빙 이미지 소프트웨어를 사용하여 측정하였다. 마우스가 뒷다리 마비를 나타내거나 다른 무통 종점에 도달하기 시작했을 때, 안락사시켰다. 종양 크기(생물발광에 의한) 및 생존 모두를 종점으로서 평가하였다. 마우스(군당 n = 10)의 말초 혈액(PB) 중의 순환하는 인간 AML 세포의 수를 제35 연구일에 수집된 혈액 샘플상에서 모니터하였다. AML CD45 및 CD33 마커를 사용하여 항-인간 CD45 및 항-인간 CD33 항체(BD 바이오사이언시즈로부터)의 유식 세포측정 염색에 의해 순환하는 인간 AML 세포의 백분율을 측정하였다.

[0532] 도 9a는 상기 연구(제20일에서부터 제41일까지)에 대한 5마리 동물/처리 군의 전형적인 생물발광 이미지화를 나

타낸다. 종양 크기의 감소는 시간에 따른 생물발광 수준의 감소에 의해 나타난다. 보다 일찍(제13일) 출발한 항-CXCR4 6B6 항체에 의한 종양 크기 억제는 1주일 더 늦게(제20일) 개시되었을 때보다 더 현저하였다. 6B6 항-CXCR4 항체는 아이소타입 대조용 항체에 비해, 상기 두 처리 군 모두에서 종양 크기를 현저하게 감소시켰으며, 이는 상기 항-CXCR4 항체가 인간 AML의 단계화된 산재된 마우스 모델에서 종양 크기를 유효하게 억제시킴을 가리킨다.

[0533] 도 9b에 나타낸 생존 곡선은 MV4-11-LUC AML 세포를 전신적으로 이식한 동물의 생존에서 아이소타입 대조용 항체에 비해 항-CXCR4 항체 6B6의 현저한 효과를 입증한다. 아이소타입 대조용 처리된 동물은 40일의 중간 생존을 나타낸 반면, 제13일 및 제20일에 항-CXCR4 6B6 항체로 처리된 동물은 각각 53일 및 61일의 중간 생존을 가졌다. 이러한 차이는 만텔-콕스(Mantel-Cox) 검정에 의해 통계학적으로 유의수준($p<0.05$)이었다.

[0534] 도 9c는 상기 제35 연구일에 아이소타입 대조용 처리된 동물에 비해 항-CXCR4 6B6 항체로 처리된 동물에서 인간 AML 세포수의 현저한 감소를 나타낸다.

[0535] 실시예 12

[0536] 마우스 전신 만성 림프구성 백혈병 종양 모델에서 항-CXCR4 항체에 의해 증가된 생존

[0537] CXCR4 항체의 항-종양 활성을 산재된 정맥내 만성 림프구성 백혈병(CLL) 모델에서 추가로 조사하였다. 루시페라제 유전자를 발현하도록 안정하게 형질감염시킨 인간 JVM-13 종양 세포주를 5% CO_2 배양기 중에서 37 ℃에서 10% 소 태아 혈청 및 0.25 ㎎/㎖ 퓨로마이신을 함유하는 RPMI 1640 배지에서 배양하였다. 상기 모델은 6 내지 8주령 암컷 SCID 베이지색 마우스에게 꼬리 정맥을 통해 1 x 10^6 JVM-13-Luc 세포를 주사함으로써 확립되었다. 세포이식 후 21일째에 마우스를 생물발광(BLI) 판독을 근거로 처리 군들(군당 10마리 동물)로 할당하였다. 마우스를 아이소타입 대조용 항체로 처리하고 3G10을 1주일에 1회 피하(s.c.)로, 멸균 PBS 용액 중의 10 ㎎/㎏으로 투여하였다. CLL 환자의 치료에 승인된 항-CD20 Ab인 리툭시맵을 양성 대조용으로서 사용하였다. 리툭시맵을 1주일에 1회 s.c.로, 멸균 PBS 용액 중의 10 ㎎/㎏으로 투여하였다. 종양 크기를 제노젠 IVIS 2000 이미지화 시스템을 사용하여 평가하였다. 마우스를 복부 위치에서 7일마다 이미지화하고, 전신 생물발광을 제노젠 리빙 이미지 소프트웨어를 사용하여 측정하였다. 마우스가 뒷다리 마비를 나타내거나 다른 무통 종점에 도달하기 시작했을 때, 안락사시켰다. 종양 크기(생물발광에 의한) 및 생존 모두를 종점으로서 평가하였다.

[0538] 도 10a는 상기 제28, 35, 42, 49 및 56 연구일에 각 처리 군의 마우스에 대한 전형적인 루시페라제 활성 이미지화를 나타낸다. 3G10에 의한 처리는 아이소타입 대조용 항체에 비해, 시간에 따른 발광 수준에 의해 측정된 바와 같이, 큰 뼈에서 JVM-13-Luc 종양 크기를 현저하게 감소시켰다. 리툭시맵에 의한 처리는 또한 아이소타입 대조용 항체에 비해 종양 크기를 현저하게 감소시켰다.

[0539] 도 10b는 상기 연구에 대한 카플란-마이어 생존 곡선을 나타낸다. 생존의 현저한 증가가 아이소타입 대조용 Ab에 비해 3G10 및 리툭시맵 항체에 대해서 관찰되었다($p<0.0001$). 아이소타입 대조용 항체 처리된 동물은 32.5일의 중간 생존을 나타낸 반면, 리툭산으로 처리된 동물은 45일의 중간 생존을 나타내었고 3G10으로 처리된 동물은 제60일 전에 중간 생존에 도달하지 않았다. 상기 연구로부터의 결과는 상기 항-CXCR4 항체가 인간 CLL의 단계화된 산재된 마우스 모델에서 종양 크기를 유효하게 억제함을 가리킨다.

[0540] 실시예 13

[0541] 인간화된 항-CXCR4 항체에 의한 생체내 라모스 비-호지킨 림프종 종양 성장의 억제

[0542] 종양 성장을 억제하는 인간화된 CXCR4 Ab의 능력을 평가하기 위해서, 4 내지 6주령 암컷 CB17.cg-Prkdc SCID 베이지색 마우스(찰스 리버) 및 피하 이식된 인간 비-호지킨 림프종 라모스 세포를 사용하는 종양 이종이식 모델을 사용하였다. 세포를 5% CO_2 배양기에서 37 ℃에서 10% 소 태아 혈청을 함유하는 RPMI 1640 배지에서 배양하였다. 상기 연구에서, 5 x 10^6 세포를 각 마우스의 우측 뒤쪽 옆구리 영역에 이식하고, 식 (부피 = 길이 x 너비^2)/2에 의해 계산된, 대략 350 ㎣의 평균 크기 부피의 고형 종양으로서 성장시켰다. 이어서 상기 마우스를 7개의 상이한 처리 군(군당 동물 n=10)들로 무작위 분배하였다. 마우스의 군들을 멸균 PBS 용액 중의 각각의 항체 10 ㎎/㎏으로 피하(s.c.) 처리하였다: (아이소타입 대조용 항체; m3G10; h3G10.A57.WT; h3G10.2.37.2.72; h3G10.A57.A58; h3G10.1.91.A58A; h3G10.1.91.A58B. 동물들에게 2주 동안 1주일에 1회 항체들을 총 2회 용량으로 투여하였다. 종양 부피를 상기 연구 기간 동안 1주일에 2회 캘리퍼스에 의해 측정하였다. 상기 실험의 결과를 도 11에 나타낸다. 결과는 시험된 모든 항-CXCR4 항체들이 상기 아이소타입 대조용 항체에 비해 종양

성장을 현저하게 억제하였음을 가리킨다. 결과는 상기 시험된 인간화된 CXCR4 항체가 키메릭 m3G10 항체의 경우와 유사한 효능을 가짐을 가리킨다. 종양 성장 억제 효과는 항체 투여를 중지(7일)한 후 수일 동안 지속되었다.

[0543] 실시예 14

[0544] 마우스 전신 다발성 골수종(MM) 모델에서 인간화된 항-CXCR4 항체에 의해 증가된 생존 시간 및 감소된 종양 크기

[0545] 인간화된 항-CXCR4 항체 h3G10.1.91.A58B를 MM의 산재성/전신 정맥내 모델을 사용하여 NSG 마우스의 생존을 증가시키고 종양 크기를 감소시키는 그의 능력에 대해 시험하였다. 인간 MM 암 계통 OPM-2에 루시페라제 유전자(OPM-2-LUC)를 형질도입시켜 시간에 따른 종양 크기의 "생애 중" 모니터링을 허용하였다. 세포를 5% CO_2 배양기에서 37 ℃에서, 루시페라제 발현 선택을 위한 0.5 ㎍/㎖ 퓨로마이신과 함께 10% 소 태아 혈청을 함유하는 RPMI 1640 배지에서 배양하였다. 4 내지 6주령 NSG 암컷 마우스에게 OPM-2-LUC 세포(5×10^6/동물)를 정맥내 주사하였다.

[0546] 세포 이식 후 제8일에 마우스를 전신 생물발광 강도를 근거로 3개의 처리 군(군당 10마리의 동물)으로 무작위 분할하였다. 멸균 PBS 용액 중의 10 mg/kg의 매주 피하(s.c.) 항체 처리를 개시하고 5주 동안 수행하였다. 다발성 골수종 환자의 치료에 승인된 약물 중 하나인 멜팔란을 1 mg/kg으로 투여하고, 이를 3주 동안 2회/주로 수행하였다. 종양 크기를 제노젠 IVIS 200 이미지화 시스템을 사용하여 평가하였다. 마우스를 복부 위치에서 7일마다 이미지화하고 전신 생물발광을 제노젠 리빙 이미지 소프트웨어를 사용하여 측정하였다. 마우스가 뒷다리 마비를 나타내거나 다른 무통 종점에 도달하기 시작했을 때, 안락사시켰다. 종양 크기(생물발광에 의한) 및 생존 모두를 종점으로서 평가하였다.

[0547] 도 12a 및 12b는 상기 연구에서의 생물발광(루시페라제 활성) 결과를 나타낸다. 종양 크기의 감소는 시간에 따른 생물발광 수준의 감소에 의해 나타난다. 도 12a는 상기 연구에 대한 5마리 동물/처리 군의 전형적인 생물발광 이미지화를 나타낸다. 도 12b는 CXCR4 항체 h3G10.1.91.A58B에 의한 처리가 시간에 따라 아이소타입 대조용 항체에 비해 종양 성장을 현저하게 억제하였음을 나타내며(제30일에 $p<0.0001$), 이는 상기 항-CXCR4 항체가 인간 다발성 골수종의 단계화된 산재된 이종이식 모델에서 종양 크기를 유효하게 억제시킴을 가리킨다. 상기 연구에 대한 생존 곡선을 도 12c에 나타내며, 상기 생존 곡선은 OPM-2-LUC MM 세포를 전신적으로 이식한 동물의 생존에서 아이소타입 대조용 항체에 비해 항-CXCR4 항체 h3G10.1.91.A58B의 유의수준 효과를 입증한다. 아이소타입 대조용 및 멜팔란 처리된 동물은 각각 33.5 및 36일의 중간 생존을 나타낸 반면, h3G10.1.91.A58B CXCR4 항체로 처리된 동물은 상기 제50 연구일까지 관찰된 사망 없이, 한정되지 않은 중간 생존을 가졌다(표 13). 이러한 차이는 만텔-콕스 검정에 의해 통계학적으로 유의수준($p<0.0001$)이었다.

[0548] [표 13]

[0549]

	아이소타입 대조용	h3G10.1.91.A58B	멜팔란
중간 생존(일수)	33.5	한정되지 않음	36

[0550] 실시예 15

[0551] CXCR4-양성 세포에서 항-CXCR4-ADC의 세포독성

[0552] 항-CXCR4 항체(예를 들어 3G10)를 인간 IgG1 서브유형으로서 발현시키고 글루타민-함유 트랜스글루타미나제("Q") 태그 TG6(서열번호 91(LLQGA))로 조작하고 AcLys-vc-PABC-MMAD(아세틸-리신-발린-시트룰린-p-아미노벤질옥시카보닐-MMAD), 및 AcLys-vc-PABC-0101((2-메틸알라닐-N-[(3R,4S,5S)-3-메톡시-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소-3-{[(1S)-2-페닐-1-(1,3-티아졸-2-일)에틸]아미노}프로필]피롤리딘-1-일}-5-메틸-1-옥소헵탄-4-일]-N-메틸-L-발린아미드)과 접합시켰다. 상기 트랜스글루타미나제 태그를 상기 항체의 중쇄 C-말단에서 조작하였다. 이어서 상기 세포독성제 MMAD 또는 0101에 대한 항-CXCR4 항체 접합을, 특이적인 부위(예를 들어 상기 항체의 중쇄의 카복시 말단)에 글루타민-함유 태그를 갖는 항-CXCR4 항체와 탑재물(예를 들어 MMAD 또는 0101)의 아민-함유 유도체간의 미생물 트랜스글루타미나제-촉매화된 트랜스아미드화 반응을 통해 성취하였다. 일부의 예에서, 상기 카복시 말단(EU 넘버링 설계에 따른 위치 447)의 야생형 아미노산 리신을 결실시키고 Q-태그로 대체시켰다. 다른 예에서, 222번 위치(EU 넘버링 설계에 따라)의 야생형 아미노산 리신을 아미노산 아르기닌으로 대체시켰다("K222R"). 상기 K222R 치환은 보다 동종의 항체 및 탑재 접합체, 및/또는 상기 항체와 상기 탑재물간의 보다 양호한 분자간 가교결합을 생성시키는 현저한 효과를 제공하였다. 상기 트랜스아미드화 반

응에서, 상기 글루타민-함유 태그상의 글루타민은 아실 공여체로서 작용하였고, 상기 아민-함유 화합물은 아실 수용체(아민 공여체)로서 작용하였다. 정제된 항-CXCR4 항체를 150 내지 900 mM NaCl 중의 스트렙토베르티실리움 모바라엔세(*Streptoverticillium mobaraense*) 트랜스글루타미나제(액티바(ACTIVA: 상표), 아지노모토(Ajinomoto), 일본 소재), 및 25 mM MES, HEPES[4-(2-하이드록시에틸)-1-피페라진에탄설폰산] 또는 pH 범위 6.2 내지 8.8의 트리스 HCl 완충제의 존재하에서 과잉의 아실 수용체와 배양하였다. 상기 반응 조건들을 개별적인 아실 수용체 유도체에 대해 조절하였다. 실온에서 2.5시간 동안 배양한 다음, 상기 항체-약물 접합체를 당해 분야의 숙련가에게 공지된 표준 친화성 크로마토그래피 방법, 예를 들어 GE 헬쓰케어로부터의 상업적인 친화성 크로마토그래피를 사용하여 맵셀렉트(MabSelect) 수지(GE 헬쓰케어, 미국 위스콘신주 워케샤 소재)상에서 정제시켰다.

[0553] 이어서 CXCR4 발현 세포를 처리전 24시간 동안 백색 벽 투명 바닥 플레이트상에서 4000 내지 8,000 세포/웰로 시딩하였다. 이어서 세포를 4배 연속 희석된 항체-약물 접합체로 3회 중복 처리하였다. 세포 생육력을 처리후 96시간째에 셀티터-글로(CellTiter-Glo)(등록상표) 발광 세포 생육력 분석 96(프로메가, 미국 위스콘신주 매디슨 소재)에 의해 측정하였다. 상대 세포 생육력을 처리되지 않은 대조군의 백분율로서 측정하였다. 이어서 IC50을 계산하였다. 트랜스글루타미나제 태그를 통해 MMAD 또는 0101에 접합된 상기 항-CXCR4 항체는 CXCR4-발현 세포에서 효능 있는 세포 살해 활성을 발휘한다.

[0554] [표 14]

CXCR4-발현 세포에 대한 CXCR4 ADC의 세포독성

	CXCR4-발현 종양 세포에서 ADC IC50 (nM)						
접합체	DAR (약물-Ab-비)	라모스 (NHL)	MM1.S (MM)	RPMI-8226 (MM)	MOLP-8 (MM)	HPB-ALL (T-ALL)	MOLT-4 (T-ALL)
Neg ctrl-TG6-vcMMAD	1.87	>267	n/d	n/d	n/d	n/d	n/d
3G10-TG6-vcMMAD	1.90	0.151	n/d	n/d	n/d	n/d	n/d
6B6-TG6-vcMMAD	1.90	0.316	n/d	n/d	n/d	n/d	n/d
12A11-TG6-vcMMAD	1.87	0.371	n/d	n/d	n/d	n/d	n/d
Neg ctrl-TG6-vc0101	1.92	167.000	142.000	246.733	257.133	257.133	223.067
3G10-TG6-vc0101	1.86	0.066	8.533	0.138	0.045	0.059	0.062
6B6-TG6-vc0101	2.00	0.075	1.556	0.245	0.066	0.071	0.055

n/d: 측정 안됨

[0555]

[0556] 실시예 16

[0557] CXCR4-ADC의 생체내 항-종양 활성

[0558] CXCR4 ADC의 생체내 항-종양 효능을 라모스(NHL) 및 HPB-ALL(T-ALL)의 이종이식 모델에서 평가하였다. 4 내지 6주령 암컷 CB17 SCID 마우스(잭슨 레보라토리즈)에, 식 (부피 = 길이 x 너비^2)/2에 의해 계산된, 대략 500 ㎣의 평균 크기 부피까지 실시예 9에 개시된 바와 같이 5 x 10^6 라모스(NHL)를 피하 이식하였다. 10 x 10^6 HPB-ALL 세포를 평균 종양 크기 부피가 또한 약 500 ㎣에 도달할 때까지 4 내지 6주령 암컷 CB17 SCID 마우스에 이식하였다. 라모스 모델에서, 상기 마우스의 군들을 음성 대조용 ADC(neg ctrl-TG6-vc0101) 6.0 mg/kg 또는 CXCR4 ADC(3G10-TG6-vc0101 및 6B6-TG6-vc0101) 1.5, 3.0 또는 6.0 mg/kg의 단일 용량 정맥내(i.v.) 주사로 처리하였다. 종양 부피를 상기 연구 기간 동안 1주일에 1회 캘리퍼스로 측정하였다. 상기 실험의 결과를 도 13a에 나타낸다. 상기 결과는 2개의 CXCR4 ADC가 모두 ≥3 mg/kg 용량에서 종양 퇴화를 유도하였음을 가리킨다. 대조용 ADC는 종양 성장에 효과가 없었다. 상기 HPB-ALL 모델에서, 3G10-TG6-vc0101의 1.5 mg/kg의 단일 용량 주사면 종양 퇴화를 유도하기에 충분하다(도 13b).

[0559] **미생물기탁**

[0560] 기탁기관명 : 아메리칸 타입 컬쳐 컬렉션(ATCC)

[0561] 수탁번호 : PTA-121353

[0562] 수탁일자 : 20140619

[0563] 기탁기관명 : 아메리칸 타입 컬쳐 컬렉션(ATCC)

[0564] 수탁번호 : PTA-121354

[0565] 수탁일자 : 20140619

도면

도면1

```
h3G10       VH EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWVRQAPGKGLEWVGFIRHKANGYT
h3G10.A57   VH EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWVRQAPGKGLEWVGFIRHKANFYT
h3G10.2.42  VH EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWVRQAPGKGLEWVGFIRHKVNFYT
h3G10.1.7   VH EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWVRQAPGKGLEWVGFIRHKANKYT
h3G10.1.60  VH EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWVRQAPGKGLEWVGFIRHKANVYT
h3G10.2.5   VH EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWVRQAPGKGLEWVGFIRHKANIYT
h3G10.1.91  VH EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWVRQAPGKGLEWVGFIRHKANFET
h3G10.2.37  VH EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWVRQAPGKGLEWVGFIRHKANFYT
h3G10.2.45  VH EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWVRQAPGKGLEWVGFIRHKANFYT
h3G10.3.25  VH EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWVRQAPGKGLEWVGFIRHKANFYT
h3G10.1.33  VH EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWVRQAPGKGLEWVGFIRHKANFYT
h3G10.2.54  VH EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWVRQAPGKGLEWVGFIRHKANFYT
h3G10.A59   VH EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWVRQAPGKGLEWVGFIRHKANTYT
h3G10.A62   VH EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWVRQAPGKGLEWVGFIRHKANLYT
h3G10.B44   VH EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWVRQAPGKGLEWVSFIRHKANFYT

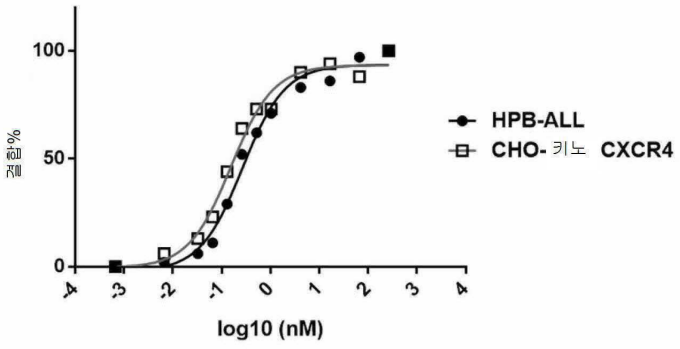
h3G10       VH TEYSTSVKGRFTISRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCARDLPGFAYWGQGTLVTVSS
h3G10.A57   VH TEYSTSVKGRFTISRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCARDLPGFAYWGQGTLVTVSS
h3G10.2.42  VH TEYSTSVKGRFTISRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCARDLPGFAYWGQGTLVTVSS
h3G10.1.7   VH TEYSTSVKGRFTISRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCARDLPGFAYWGQGTLVTVSS
h3G10.1.60  VH TEYSTSVKGRFTISRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCARDLPGFAYWGQGTLVTVSS
h3G10.2.5   VH TEYSTSVKGRFTISRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCARDLPGFAYWGQGTLVTVSS
h3G10.1.91  VH TEYSTSVKGRFTISRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCARDLPGFAYWGQGTLVTVSS
h3G10.2.37  VH REYSTSVKGRFTISRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCARDLPGFAYWGQGTLVTVSS
h3G10.2.45  VH TEYSTWVKGRFTISRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCARDLPGFAYWGQGTLVTVSS
h3G10.3.25  VH TEYSTSDKGRFTISRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCARDLPGFAYWGQGTLVTVSS
h3G10.1.33  VH TEYSTSVTGRFTISRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCARDLPGFAYWGQGTLVTVSS
h3G10.2.54  VH TEYSTSVRGRFTISRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCARDLPGFAYWGQGTLVTVSS
h3G10.A59   VH TEYSTSVRGRFTISRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCARDLPGFAYWGQGTLVTVSS
h3G10.A62   VH TEYSTSVRGRFTISRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCARDLPGFAYWGQGTLVTVSS
h3G10.B44   VH TEYSTSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDLPGFAYWGQGTLVTVSS
```

도면2

```
h3G10      VL DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLFNSRTRKNYLAWYQQKPGQPPKLLIY
h3G10.2.72 VL DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLFNSRTRKNYLAWYQQKPGQPPKLLIY
h3G10.2.25 VL DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRSSQSLFNSRTRKNYLAWYQQKPGQPPKLLIY
h3G10.A11A VL DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSAQSLFNSRTRKNYLAWYQQKPGQPPKLLIY
h3G10.A11B VL DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSAQSLFNSRTRKNYLAWYQQKPGQPPKLLIY
h3G10.A18A VL DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSWSLFNSRTRKNYLAWYQQKPGQPPKLLIY
h3G10.A18B VL DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSWSLFNSRTRKNYLAWYQQKPGQPPKLLIY
h3G10.A19A VL DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSNSLFNSRTRKNYLAWYQQKPGQPPKLLIY
h3G10.A19B VL DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSNSLFNSRTRKNYLAWYQQKPGQPPKLLIY
h3G10.A58A VL DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLFNSHTRKNYLAWYQQKPGQPPKLLIY
h3G10.A58B VL DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLFNSHTRKNYLAWYQQKPGQPPKLLIY
h3G10.A65A VL DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLFNSRFRKNYLAWYQQKPGQPPKLLIY
h3G10.A65B VL DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLFNSRFRKNYLAWYQQKPGQPPKLLIY
h3G10.B12A VL DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLFNSRTRKNYLLWYQQKPGQPPKLLIY
h3G10.B12B VL DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLFNSRTRKNYLLWYQQKPGQPPKLLIY
h3G10.B13A VL DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLFNSRTRKNYLNWYQQKPGQPPKLLIY
h3G10.B13B VL DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLFNSRTRKNYLNWYQQKPGQPPKLLIY
h3G10.B18  VL DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLFNSRTRKNYLMWYQQKPGQPPKLLIY
h3G10.B18B VL DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLFNSRTRKNYLMWYQQKPGQPPKLLIY
h3G10.L94D VL DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLFNSRTRKNYLAWYQQKPGQPPKLLIY

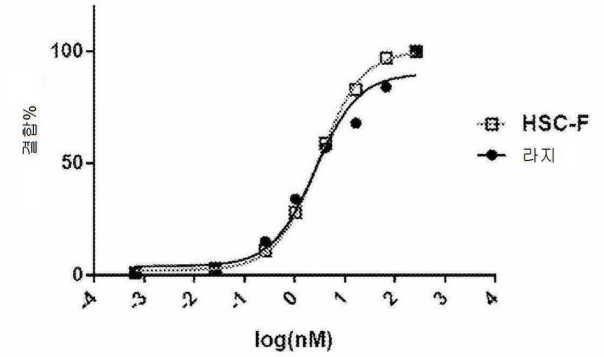
h3G10      VL WASARESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCKQSFNLRTFGGGTKVEIK
h3G10.2.72 VL WASARESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCKQSFRLRTFGGGTKVEIK
h3G10.2.25 VL WASARESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCKQSFRLRTFGGGTKVEIK
h3G10.A11A VL WASARESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCKQSFRLRTFGGGTKVEIK
h3G10.A11B VL WASARESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCKQSFNLRTFGGGTKVEIK
h3G10.A18A VL WASARESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCKQSFRLRTFGGGTKVEIK
h3G10.A18B VL WASARESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCKQSFNLRTFGGGTKVEIK
h3G10.A19A VL WASARESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCKQSFRLRTFGGGTKVEIK
h3G10.A19B VL WASARESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCKQSFNLRTFGGGTKVEIK
h3G10.A58A VL WASARGSGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCKQSFRLRTFGGGTKVEIK
h3G10.A58B VL WASARGSGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCKQSFNLRTFGGGTKVEIK
h3G10.A65A VL WASARESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCKQSFRLRTFGGGTKVEIK
h3G10.A65B VL WASARESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCKQSFNLRTFGGGTKVEIK
h3G10.B12A VL WASARESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCKQSFRLRTFGGGTKVEIK
h3G10.B12B VL WASARESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCKQSFNLRTFGGGTKVEIK
h3G10.B13A VL WASARESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCKQSFRLRTFGGGTKVEIK
h3G10.B13B VL WASARESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCKQSFNLRTFGGGTKVEIK
h3G10.B18A VL WASARESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCKQSFRLRTFGGGTKVEIK
h3G10.B18B VL WASARESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCKQSFNLRTFGGGTKVEIK
h3G10.L94D VL WASARESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCKQSFNDRTFGGGTKVEIK
```

도면3a



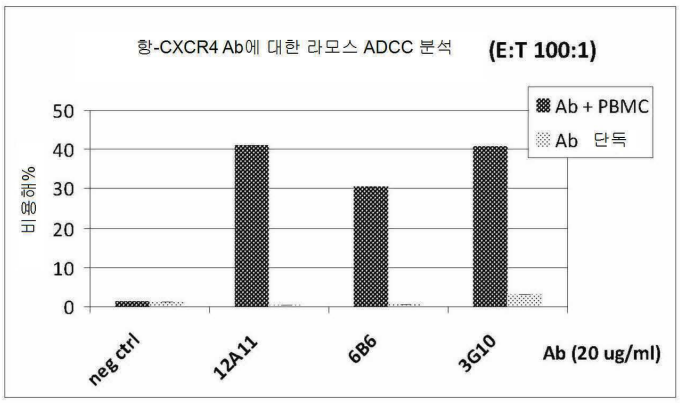
	HPB-ALL	CHO-키노 CXCR4
EC50 (nM)	0.27	0.16

도면3b

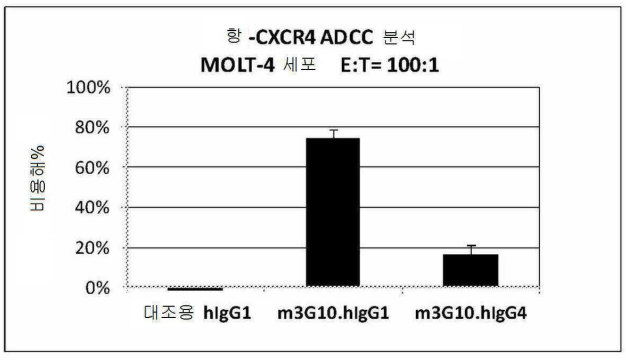


	라지	HSC-F
EC50 (nM)	3.050	2.585

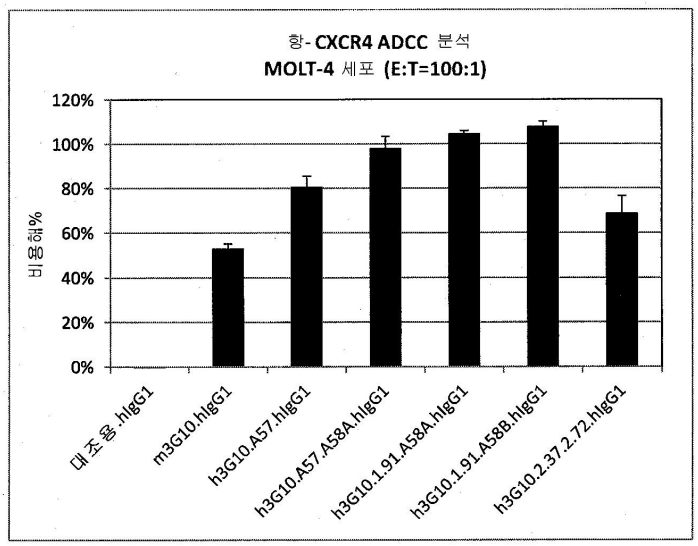
도면4a



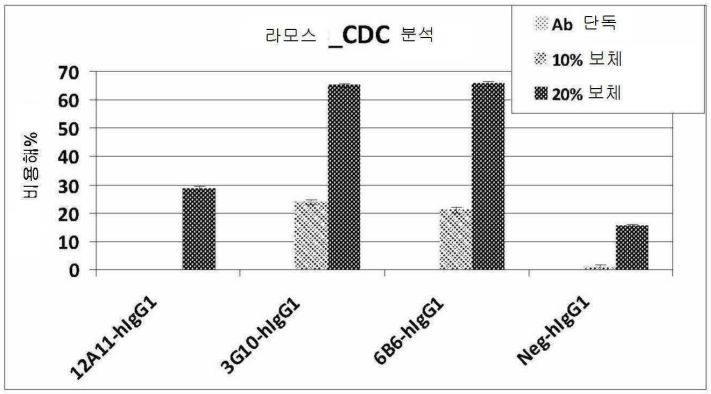
도면4b



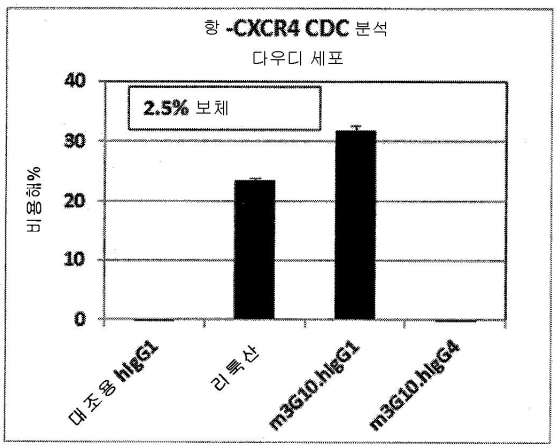
도면4c



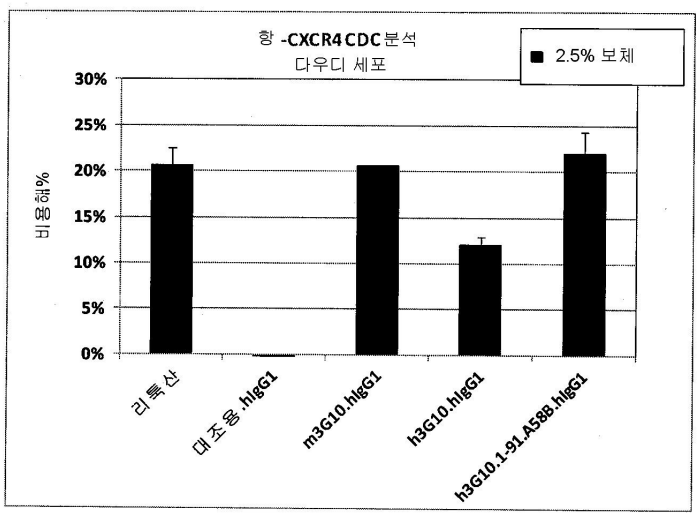
도면4d



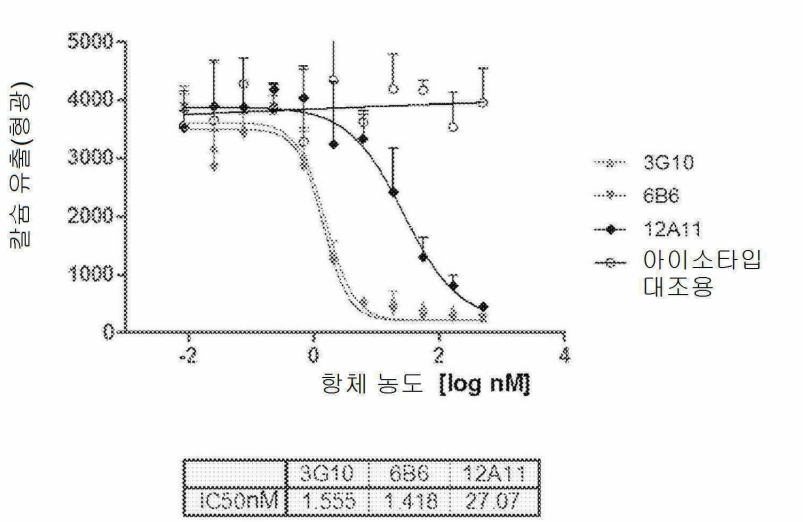
도면4e



도면4f

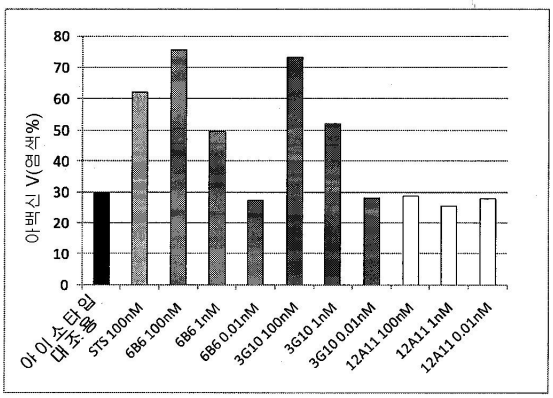


도면5

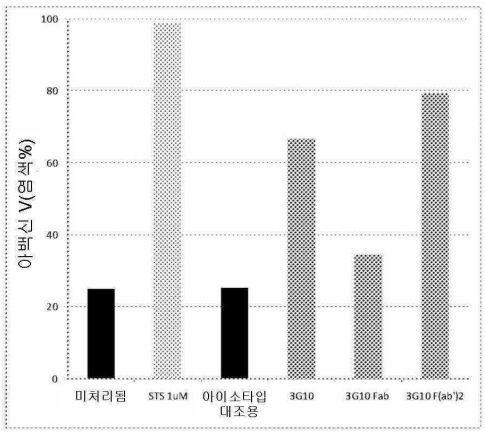


	3G10	6B6	12A11
IC50nM	1.555	1.418	27.07

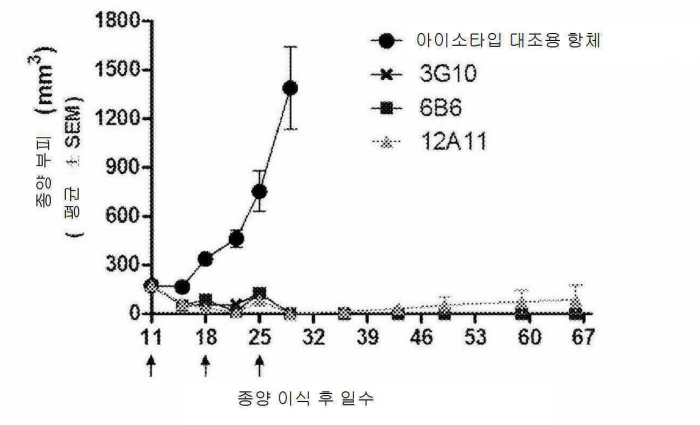
도면6a



도면6b



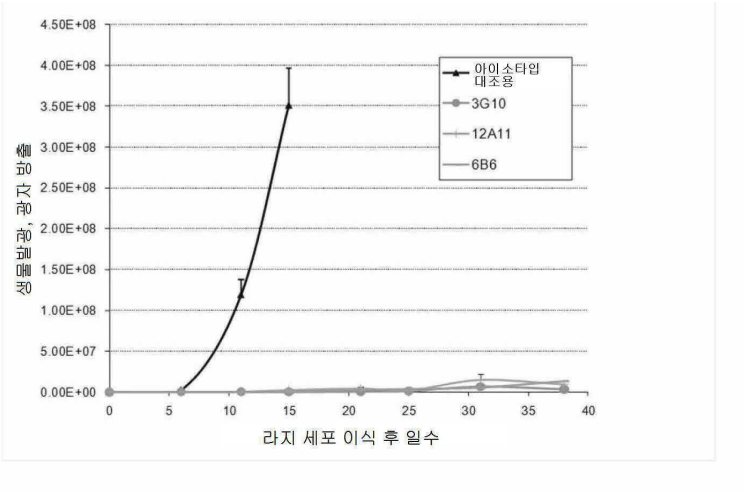
도면7



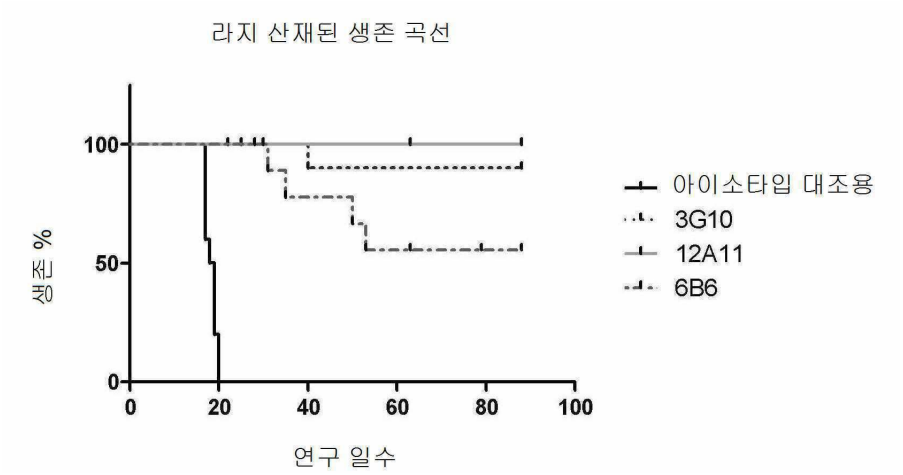
도면8a



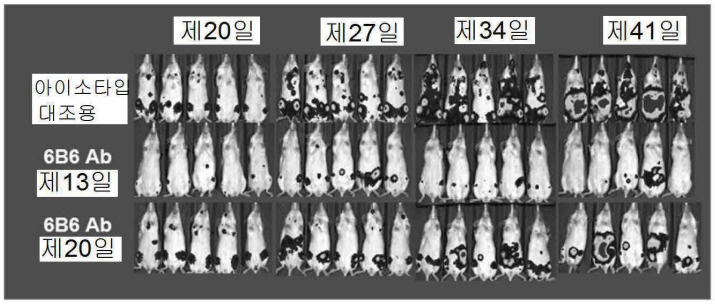
도면8b



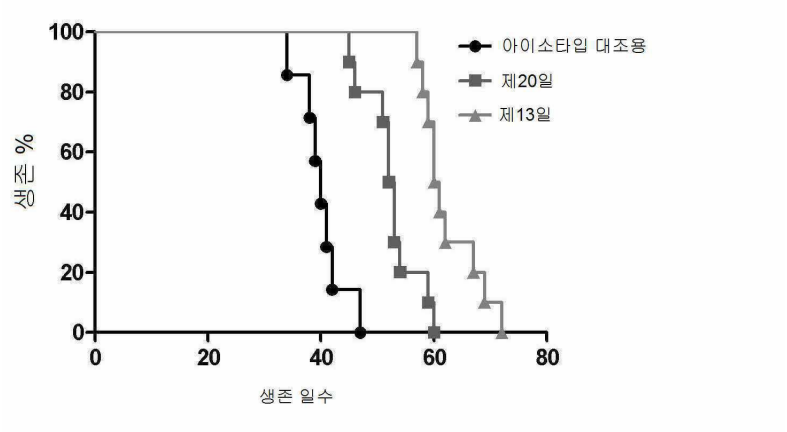
도면8c



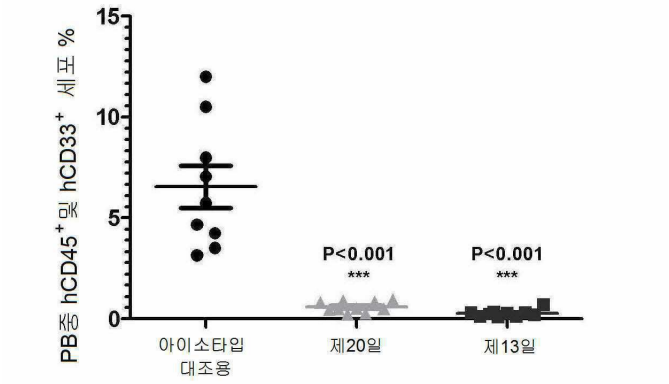
도면9a



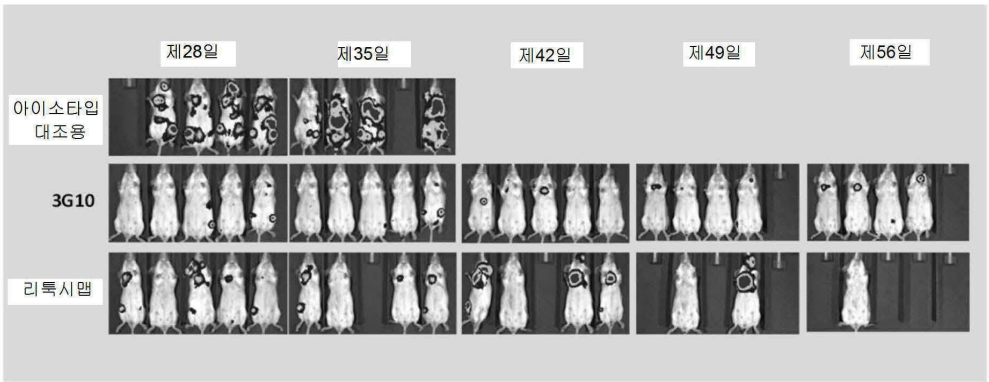
도면9b



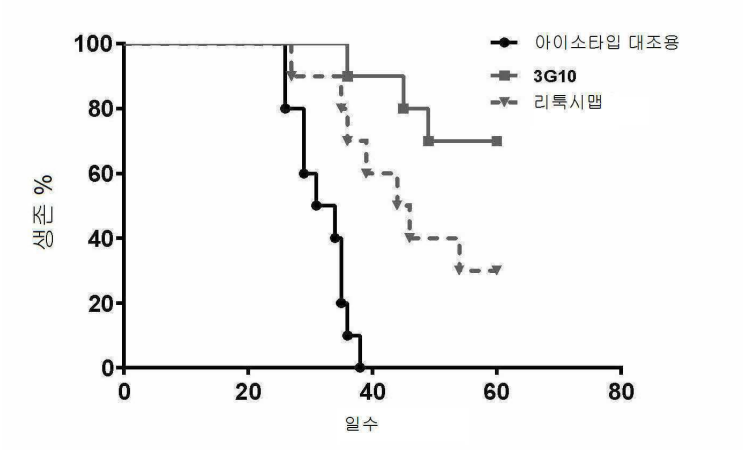
도면9c



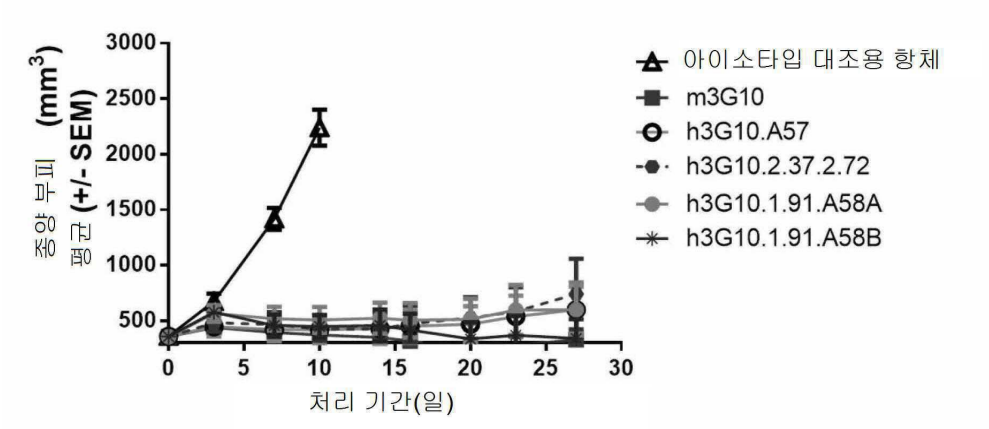
도면10a



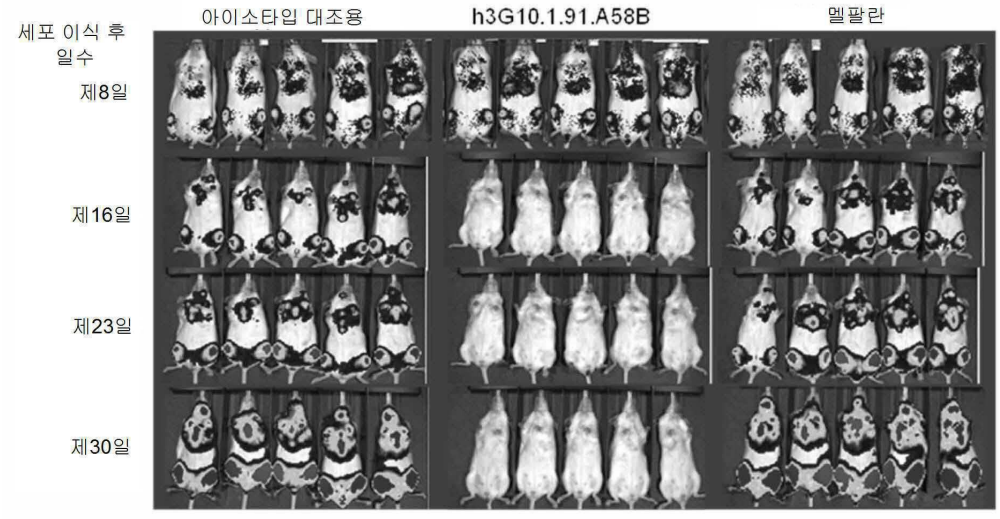
도면10b



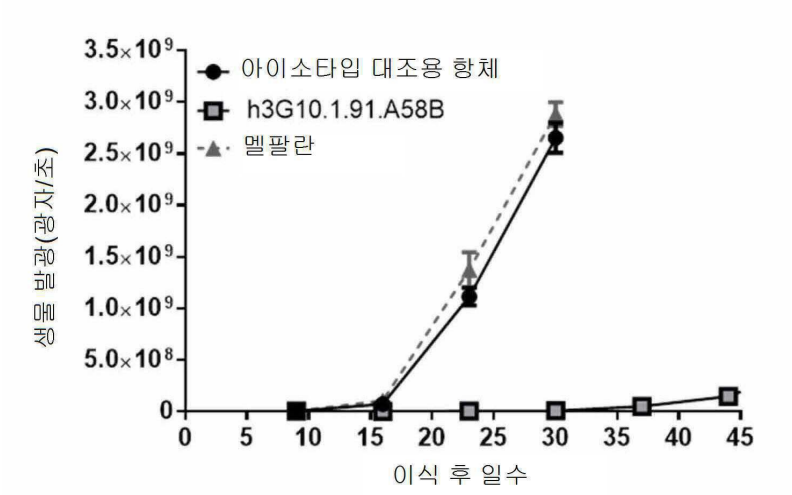
도면11



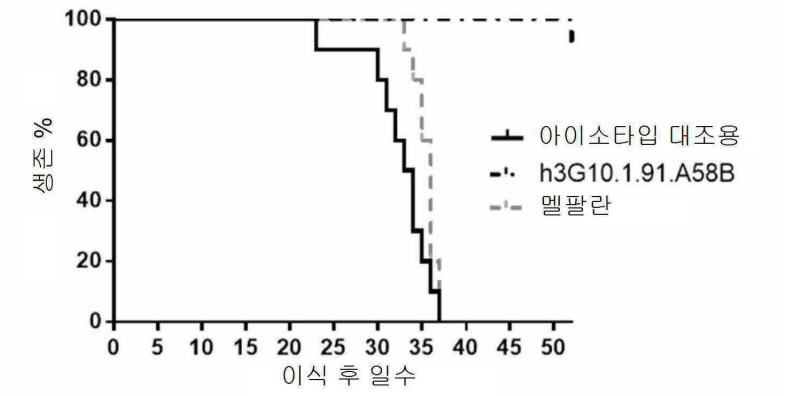
도면12a



도면12b

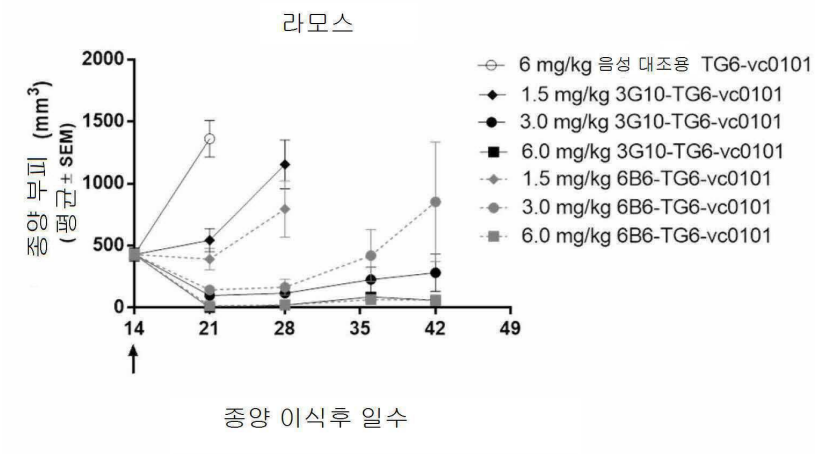


도면12c

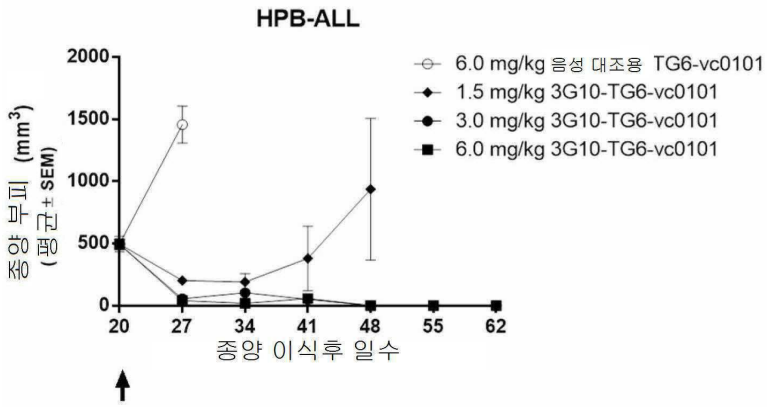


	아이소타입 대조용	h3G10.1.91.A58B	멜팔란
중간 생존 (일수)	33.5	한정되지 않음	36

도면13a



도면13b



서 열 목 록

<110> Pfizer Inc.

<120> ANTI-CXCR4 ANTIBODIES AND ANTIBODY-DRUG CONJUGATES

<130> PC71971A

<140> PCT/IB2014/063483

<141> 2014-07-28

<150> US 61/861,706

<151> 2013-08-02

<160> 173

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 1

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

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

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

Trp Leu Gly Phe Ile Arg Asn Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Thr Glu Tyr

50 55 60

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

65 70 75 80

Ser Ile Leu Tyr Leu Gln Met Asn Thr Leu Arg Ala Glu Asp Ser Ala

85 90 95

Thr Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Leu Pro Gly Phe Ala Tyr Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 2

<211> 354

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 2

gaggtaaagt tggtggagtc tggaggaggc ttggtacagc ctgggggttc tctgagactc 60

tcctgtgcaa cttctgggtt caccttcact gattactaca tgagttgggt ccgccagcct 120

ccaggaaagg cacttgagtg gttgggtttt attagaaaca aagctaatgg ttacacaaca 180

gagtacagtg catctgtgaa gggtcggttc accatctcca gagataattc ccaaagcatc 240

ctctatcttc aaatgaacac cctgagagct gaggacagtg ccacttatta ctgtgcaaga 300

gatctcccgg ggtttgctta ctggggccaa gggactctgg tcaccgtctc ctca 354

<210> 3

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 3

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Ala Arg Glu Ser Gly Val

50 55 60

Pro Gly Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Ala Leu Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

<210> 4

<211> 336

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 4

gacatagtta tgtcgcagtc tccatcctcc ctgactgtgt cagcaggaga gaaggtcact 60

atgagctgca aatccagtca gagtctgtac aacagtagaa cccgaaagaa ctacttggct 120

tggtaccagc agaaaccagg gcagtctcct aaactgctga tctactgggc atccgctagg 180

gaatctgggg tccctggtcg cttcacaggc agtggatctg ggacagattt cgctctcacc 240

atcagcagtg tgcaggctga agacctggca gtttattact gcaagcaatc ttataatctt 300

cggacgttcg gtggaggcac caagctggag atcaaa 336

<210> 5

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 5

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Phe Ile Arg Asn Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Thr Glu Tyr Ser Ala

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr

85 90 95

Tyr Cys Ala Arg Asp Leu Pro Gly Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 6

<211> 354

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 6

gaagtccagc tggttgaaag tggtggcggc ctggtgcagc cgggcggctc tctgcgcctg 60

tcatgcgctg catccggctt taccttcagc gactattaca tgagctgggt tcgccaagcg 120

cccggcaaag gcctggaatg ggtgggattc attcgaaata aagcgaacgg ctataccacc 180

gaatatagcg catctgtcaa gggccggttc accatctccc gcgatgattc caagaacagc 240

ctgtacctgc agatgaactc cctgaagacg gaagataccg ccgtctatta ttgtgcccgc 300

gatctgcctg gctttgccta ttggggccaa ggcactctgg tcaccgtctc ctca 354

<210> 7

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 7

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

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Tyr Asn Ser

20 25 30

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

35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Ala Arg Glu Ser Gly Val

50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ser Tyr Asn Leu Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105 110

<210> 8

<211> 336

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 8

gacatcgtta tgacacagtc accagatagc ttagccgtgt ccctgggaga acgtgctacc 60

attaattgca aaagctccca gagcctgtat aacagccgga cacggaagaa ttatctggca 120

tggtatcagc agaaacccgg acagccgcct aagctgctga tttattgggc cagcgcacgc 180

gaaagtggtg tgcccgaccg cttttccggc agcggtagtg gcactgactt caccctgacc 240

atctcaagct tgcaagccga agacgtggca gtatattatt gcaagcagtc gtacaatctg 300

cgcacctttg gcggcggcac aaaagtggag atcaaa 336

<210> 9

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 9

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Asn Ile Tyr Trp Val Lys Gln Ser His Gly Gln Ser Leu Glu Trp Ile

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Thr Tyr Gly Ser Arg Tyr Val Gly Ala Met Asp Tyr Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 10

<211> 363

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400

> 10

gaaatacagt tgcagcagtc cgggcctgag ctggtgaagc ctggggcttc agtgaaggta 60

tcctgcaagg cttctggtta ctcattcact gactataata tatactgggt gaagcagagc 120

catggacaga gccttgagtg gattggatat attgatcctt acaatggtgg gaccaggtat 180

aaccagaagt tcaagggcaa ggccacattg actgttgaca agtcctccag cacagccttc 240

atgcatctca acagcctgac atctgaggac tctgcagtct atttttgtgc aagaacctac 300

ggtagtcggt acgttggggc tatggactac tggggtcaag gaacctcggt caccgtctcc 360

tca 363

<210> 11

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 11

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

Glu Ser Val Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu His Ser
20 25 30

Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Tyr Trp Phe Leu Gln Arg Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Arg Met Ser Asn Pro Ala Ser Gly Val Pro

50 55 60

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln His
85 90 95

Leu Glu Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
100 105 110

<210> 12

<211> 336

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 12

gatatcgtta tgacgcaggc tgcaccctct gtacctgtca ctcctggaga gtcagtatcc 60

atctcctgca ggtctagtaa gagtctcctg catagtaatg gcaacactta cttatattgg 120

ttcctgcaga ggccaggcca gtctcctcag ctcctaatat atcggatgtc caaccctgcc 180

tcaggagtcc cagacaggtt cagtggcagt gggtcaggaa ctgctttcac actgagaatc 240

agtcgagtgg aggctgagga tgtgggtgtt tattactgta tgcaacatct agaatatccg 300

ctcacgttcg gtgctgggac caagctggag ctgaaa 336

<210>

13

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 13

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

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

<210> 14

<211> 363

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 14

caggttcagc tggtgcagag cggcgccgag gtgaagaaac caggcgccag cgtgaaagtg 60

tcctgcaagg cgagtggata taccttcacc gattacaata tttattgggt tcgccaggcc 120

accgggcagg gcctggagtg gatgggctac attgatccat ataacggtgg cacccgctac 180

aaccagaagt ttaaaggccg cgtgaccatg acccgcaata cctcgatctc caccgcctat 240

atggaactga gcagcttacg ctctgaagat acggccgtgt actactgtgc ccgcacctac 300

gggtctcgct acgttggcgc gatggattat tggggtcagg gcaccctggt caccgtctcc 360

tca 363

<210> 15

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 15

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu His Ser
20 25 30

Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Tyr Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser

35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Arg Met Ser Asn Pro Ala Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln His
85 90 95

Leu Glu Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Leu Lys

100 105 110

<210> 16

<211> 336

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 16

gacatcgtga tgacccagag cccgctgtct ctgccagtga cccctggtga gccagccagt 60

attagctgcc gcagcagcaa aagtctgctg cacagcaatg gaaacaccta cctgtattgg 120

tatctgcaga aaccgggtca gtcaccccag ctgctgatct accgcatgtc taacccggcc 180

agcggcgtcc ctgatcgctt tagcggcagc ggttccggaa ccgattttac cctgaagatc 240

tcccgcgttg aggccgaaga cgtcggcgtc tactattgca tgcagcacct ggaatatccg 300

ctgacattcg gtggcggtac caaagtggaa ctcaaa 336

<210> 17

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 17

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

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

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

Gly Phe Ile Arg His Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Thr Glu Tyr Ser Thr
50 55 60

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

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

Tyr Cys Ala Arg Asp Leu Pro Gly Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 18

<211> 354

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 18

gaagtgaaat tggtggagtc tggaggaggc ttggtacagc ctgggagttc tctgagactc 60

tcctgtgcag cttctgggtt caccttcact gattactaca tgagctgggt ccgccagcct 120

ccaggaaagg cacttgagtg gttgggtttt attagacaca aggctaatgg ttacacaaca 180

gaatacagta catctgtgaa gggtcggttc accatctcca gagataattc cctaagcatc 240

ctctatcttc aaatgaacac cctgagacct gaggacagtg ccacttatta ctgtgcaaga 300

gatctcccgg ggtttgctta ctggggccaa gggactctgg tcaccgtctc ctca 354

<210> 19

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 19

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

Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Phe Asn Ser
20 25 30

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

Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Ala Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60

Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

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

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

<210> 20

<211> 336

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 20

gatattgtta tgtcgcagtc gccatcctcc ctggctgtgt cagcaggaga gaaggtcact 60

atgacctgca aatccagtca gagtctgttc aacagtagaa cccgaaagaa ctacttggct 120

tggtaccagc agaaacccgg gcagtctcct aaactgctga tctactgggc atccgctagg 180

gaatctgggg tccctgatcg cttcacaggc agtggatctg ggacagattt cactctcacc 240

atcagcagtg tgcaggctga agacctggca gtttattact gcaagcaatc ttttaatctt 300

cggacgttcg gtggaggcac caagctggaa atcaaa 336

<210> 21

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 21

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

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

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

Gly Phe Ile Arg His Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Thr Glu Tyr Ser Thr
50 55 60

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

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

Tyr Cys Ala Arg Asp Leu Pro Gly Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 22

<211> 354

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 22

gaagtccagc tggttgaaag tggtggcggc ctggtgcagc cgggcggctc tctgcgcctg 60

tcatgcgctg catccggctt taccttcagc gactattaca tgagctgggt tcgccaagcg 120

cccggcaaag gcctggaatg ggtgggattc attcgacata aagcgaacgg ctataccacc 180

gaatatagca catctgtcaa gggccggttc accatctccc gcgatgattc caagaacagc 240

ctgtacctgc agatgaactc cctgaagacg gaagataccg ccgtctatta ttgtgcccgc 300

gatctgcctg gctttgccta ttggggccaa ggcactctgg tcaccgtctc ctca 354

<210> 23

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 23

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Phe Ile Arg His Lys Ala Asn Phe Tyr Thr Thr Glu Tyr Ser Thr

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr

85 90 95

Tyr Cys Ala Arg Asp Leu Pro Gly Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 24

<211> 354

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 24

gaagtccagc tggttgaaag tggtggcggc ctggtgcagc cgggcggctc tctgcgcctg 60

tcatgcgctg catccggctt taccttcagc gactattaca tgagctgggt tcgccaagcg 120

cccggcaaag gcctggaatg ggtgggattc attcgacata aagcgaactt ttataccacc 180

gaatatagca catctgtcaa gggccggttc accatctccc gcgatgattc caagaacagc 240

ctgtacctgc agatgaactc cctgaagacg gaagataccg ccgtctatta ttgtgcccgc 300

gatctgcctg gctttgccta ttggggccaa ggcactctgg tcaccgtctc ctca 354

<210> 25

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 25

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ser Phe Ile Arg His Lys Ala Asn Phe Tyr Thr Thr Glu Tyr Ser Thr

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Tyr Cys Ala Lys Asp Leu Pro Gly Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 26

<211> 354

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 26

gaagtccagc tggttgaaag tggtggcggc ctggtgcagc cgggcggctc tctgcgcctg 60

tcatgcgctg catccggctt taccttcagc gactattaca tgagctgggt tcgccaagcg 120

cccggcaaag gcctggaatg ggtgtcattc attcgacata aagcgaactt ttataccacc 180

gaatatagca catctgtcaa gggccggttc accatctccc gcgataattc caagaacacc 240

ctgtacctgc agatgaactc cctgagggcg gaagataccg ccgtctatta ttgtgccaag 300

gatctgcctg gctttgccta ttggggccaa ggcactctgg tcaccgtctc ttcc 354

<210> 27

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 27

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

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

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

Gly Phe Ile Arg His Lys Ala Asn Lys Tyr Thr Thr Glu Tyr Ser Thr
50 55 60

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

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

Tyr Cys Ala Arg Asp Leu Pro Gly Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 28

<211> 354

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 28

gaagtccagc tggttgaaag tggtggcggc ctggtgcagc cgggcggctc tctgcgcctg 60

tcatgcgctg catccggctt taccttcagc gactattaca tgagctgggt tcgccaagcg 120

cccggcaaag gcctggaatg ggtgggattc attcgacata aagcgaacaa gtataccacc 180

gaatatagca catctgtcaa gggccggttc accatctccc gcgatgattc caagaacagc 240

ctgtacctgc agatgaactc cctgaagacg gaagataccg ccgtctatta ttgtgcccgc 300

gatctgcctg gctttgccta ttggggccaa ggcactctgg tcaccgtctc ctca 354

<210> 29

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 29

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

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

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

Gly Phe Ile Arg His Lys Ala Asn Val Tyr Thr Thr Glu Tyr Ser Thr
50 55 60

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

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

Tyr Cys Ala Arg Asp Leu Pro Gly Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 30

<211> 354

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 30

gaagtccagc tggttgaaag tggtggcggc ctggtgcagc cgggcggctc tctgcgcctg 60

tcatgcgctg catccggctt taccttcagc gactattaca tgagctgggt tcgccaagcg 120

cccggcaaag gcctggaatg ggtgggattc attcgacata aagcgaacgt gtataccacc 180

gaatatagca catctgtcaa gggccggttc accatctccc gcgatgattc caagaacagc 240

ctgtacctgc agatgaactc cctgaagacg gaagataccg ccgtctatta ttgtgcccgc 300

gatctgcctg gctttgccta ttggggccaa ggcactctgg tcaccgtctc ctca 354

<210> 31

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 31

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

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

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

Gly Phe Ile Arg His Lys Ala Asn Ile Tyr Thr Thr Glu Tyr Ser Thr
50 55 60

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

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

Tyr Cys Ala Arg Asp Leu Pro Gly Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 32

<211> 354

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 32

gaagtccagc tggttgaaag tggtggcggc ctggtgcagc cgggcggctc tctgcgcctg 60

tcatgcgctg catccggctt taccttcagc gactattaca tgagctgggt tcgccaagcg 120

cccggcaaag gcctggaatg ggtgggattc attcgacata aagcgaacat ttataccacc 180

gaatatagca catctgtcaa gggccggttc accatctccc gcgatgattc caagaacagc 240

ctgtacctgc agatgaactc cctgaagacg gaagataccg ccgtctatta ttgtgcccgc 300

gatctgcctg gctttgccta ttggggccaa ggcactctgg tcaccgtctc ctca 354

<210> 33

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 33

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Phe Ile Arg His Lys Ala Asn Phe Glu Thr Thr Glu Tyr Ser Thr

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr

85 90 95

Tyr Cys Ala Arg Asp Leu Pro Gly Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 34

<211> 354

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 34

gaagtccagc tggttgaaag tggtggcggc ctggtgcagc cgggcggctc tctgcgcctg 60

tcatgcgctg catccggctt taccttcagc gactattaca tgagctgggt tcgccaagcg 120

cccggcaaag gcctggaatg ggtgggattc attcgacata aagcgaactt tgagaccacc 180

gaatatagca catctgtcaa gggccggttc accatctccc gcgatgattc caagaacagc 240

ctgtacctgc agatgaactc cctgaagacg gaagataccg ccgtctatta ttgtgcccgc 300

gatctgcctg gctttgccta ttggggccaa ggcactctgg tcaccgtctc ctca 354

<210> 35

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 35

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Phe Ile Arg His Lys Ala Asn Phe Tyr Thr Arg Glu Tyr Ser Thr

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr

85 90 95

Tyr Cys Ala Arg Asp Leu Pro Gly Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 36

<211> 354

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 36

gaagtccagc tggttgaaag tggtggcggc ctggtgcagc cgggcggctc tctgcgcctg 60

tcatgcgctg catccggctt taccttcagc gactattaca tgagctgggt tcgccaagcg 120

cccggcaaag gcctggaatg ggtgggattc attcgacata aagcgaactt ttatacccgg 180

gaatatagca catctgtcaa gggccggttc accatctccc gcgatgattc caagaacagc 240

ctgtacctgc agatgaactc cctgaagacg gaagataccg ccgtctatta ttgtgcccgc 300

gatctgcctg gctttgccta ttggggccaa ggcactctgg tcaccgtctc ctca 354

<210> 37

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 37

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Phe Ile Arg His Lys Ala Asn Phe Tyr Thr Thr Glu Tyr Ser Thr

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr

85 90 95

Tyr Cys Ala Arg Asp Leu Pro Gly Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 38

<211> 354

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 38

gaagtccagc tggttgaaag tggtggcggc ctggtgcagc cgggcggctc tctgcgcctg 60

tcatgcgctg catccggctt taccttcagc gactattaca tgagctgggt tcgccaagcg 120

cccggcaaag gcctggaatg ggtgggattc attcgacata aagcgaactt ttataccacc 180

gggtatagca catctgtcaa gggccggttc accatctccc gcgatgattc caagaacagc 240

ctgtacctgc agatgaactc cctgaagacg gaagataccg ccgtctatta ttgtgcccgc 300

gatctgcctg gctttgccta ttggggccaa ggcactctgg tcaccgtctc ctca 354

<210> 39

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 39

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Phe Ile Arg His Lys Ala Asn Phe Tyr Thr Thr Glu Tyr Ser Thr

50 55 60

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

65 70 75 80

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

<210> 40
<211> 354
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic Construct
<400> 40

gaagtccagc tggttgaaag tggtggcggc ctggtgcagc cgggcggctc tctgcgcctg 60
tcatgcgctg catccggctt taccttcagc gactattaca tgagctgggt tcgccaagcg 120

cccggcaaag gcctggaatg ggtgggattc attcgacata aagcgaactt ttataccacc 180
gaatatagca catctgtccg tggccggttc accatctccc gcgatgattc caagaacagc 240
ctgtacctgc agatgaactc cctgaagacg gaagataccg ccgtctatta ttgtgcccgc 300
gatctgcctg gctttgccta ttggggccaa ggcactctgg tcaccgtctc ctca 354

<210> 41
<211> 118
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic Construct
<400> 41

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

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr

85 90 95

Tyr Cys Ala Arg Asp Leu Pro Gly Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 42

<211> 354

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 42

gaagtccagc tggttgaaag tggtggcggc ctggtgcagc cgggcggctc tctgcgcctg 60

tcatgcgctg catccggctt taccttcagc gactattaca tgagctgggt tcgccaagcg 120

cccggcaaag gcctggaatg ggtgggattc attcgacata aagtgaactt ttataccacc 180

gaatatagca catctgtcaa gggccggttc accatctccc gcgatgattc caagaacagc 240

ctgtacctgc agatgaactc cctgaagacg gaagataccg ccgtctatta ttgtgcccgc 300

gatctgcctg gctttgccta ttggggccaa ggcactctgg tcaccgtctc ctca 354

<210> 43

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 43

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Phe Ile Arg His Lys Ala Asn Phe Tyr Thr Thr Glu Tyr Ser Thr

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr

85 90 95

Tyr Cys Ala Arg Asp Leu Pro Gly Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 44

<211> 354

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 44

gaagtccagc tggttgaaag tggtggcggc ctggtgcagc cgggcggctc tctgcgcctg 60

tcatgcgctg catccggctt taccttcagc gactattaca tgagctgggt tcgccaagcg 120

cccggcaaag gcctggaatg ggtgggattc attcgacata aagcgaactt ttataccacc 180

gaatatagca catctgtcac gggccggttc accatctccc gcgatgattc caagaacagc 240

ctgtacctgc agatgaactc cctgaagacg gaagataccg ccgtctatta ttgtgcccgc 300

gatctgcctg gctttgccta ttggggccaa ggcactctgg tcaccgtctc ctca 354

<210> 45

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 45

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Phe Ile Arg His Lys Ala Asn Phe Tyr Thr Thr Glu Tyr Ser Thr

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr

85 90 95

Tyr Cys Ala Arg Asp Leu Pro Gly Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 46

<211> 354

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 46

gaagtccagc tggttgaaag tggtggcggc ctggtgcagc cgggcggctc tctgcgcctg 60

tcatgcgctg catccggctt taccttcagc gactattaca tgagctgggt tcgccaagcg 120

cccggcaaag gcctggaatg ggtgggattc attcgacata aagcgaactt ttataccacc 180

gaatatagca catctgataa gggccggttc accatctccc gcgatgattc caagaacagc 240

ctgtacctgc agatgaactc cctgaagacg gaagataccg ccgtctatta ttgtgcccgc 300

gatctgcctg gctttgccta ttggggccaa ggcactctgg tcaccgtctc ctca 354

<210> 47

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 47

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

1 5 10 15

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

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Lys Gln
85 90 95
Ser Phe Asn Leu Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 48
<211> 336
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic Construct
<400> 48

gacatcgtta tgacacagtc accagatagc ttagccgtgt ccctgggaga acgtgctacc 60
attaattgca aaagctccca gagcctgttt aacagccgga cacggaagaa ttatctggca 120

tggtatcagc agaaacccgg acagccgcct aagctgctga tttattgggc cagcgcacgc 180
gaaagtggtg tgcccgaccg cttttccggc agcggtagtg gcactgactt caccctgacc 240
atctcaagct tgcaagccga agacgtggca gtatattatt gcaagcagtc gttcaatctg 300
cgcacctttg gcggcggcac aaaagtggag atcaaa 336

<210> 49
<211> 112
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic Construct
<400> 49

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

1 5 10 15

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

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Lys Gln
85 90 95
Ser Phe Arg Leu Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 50
<211> 336
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic Construct
<400> 50

gacatcgtta tgacacagtc accagatagc ttagccgtgt ccctgggaga acgtgctacc 60
attaattgca aaagctccca gagcctgttt aacagccgga cacggaagaa ttatctggca 120

tggtatcagc agaaacccgg acagccgcct aagctgctga tttattgggc cagcgcacgc 180
gaaagtggtg tgcccgaccg cttttccggc agcggtagtg gcactgactt caccctgacc 240
atctcaagct tgcaagccga agacgtggca gtatattatt gcaagcagtc gttcaggctg 300
cgcacctttg gcggcggcac aaaagtggag atcaaa 336

<210> 51
<211> 112
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic Construct
<400> 51

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

1 5 10 15

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

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Lys Gln
85 90 95
Ser Phe Arg Leu Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 52
<211> 336
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic Contstruct
<400> 52

gacatcgtta tgacacagtc accagatagc ttagccgtgt ccctgggaga acgtgctacc 60
attaattgca aaagcgctca gagcctgttt aacagccgga cacggaagaa ttatctggca 120

tggtatcagc agaaacccgg acagccgcct aagctgctga tttattgggc cagcgcacgc 180
gaaagtggtg tgcccgaccg cttttccggc agcggtagtg gcactgactt caccctgacc 240
atctcaagct tgcaagccga agacgtggca gtatattatt gcaagcagtc gttcaggctg 300
cgcacctttg gcggcggcac aaaagtggag atcaaa 336

<210> 53
<211> 112
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic Construct
<400> 53

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

1 5 10 15

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

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Lys Gln
85 90 95
Ser Phe Arg Leu Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 54

<211> 336

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 54

gacatcgtta tgacacagtc accagatagc ttagccgtgt ccctgggaga acgtgctacc 60

attaattgca aaagctcctg gagcctgttt aacagccgga cacggaagaa ttatctggca 120

tggtatcagc agaaacccgg acagccgcct aagctgctga tttattgggc cagcgcacgc 180

gaaagtggtg tgcccgaccg cttttccggc agcggtagtg gcactgactt caccctgacc 240

atctcaagct tgcaagccga agacgtggca gtatattatt gcaagcagtc gttcaggctg 300

cgcacctttg gcggcggcac aaaagtggag atcaaa 336

<210> 55

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 55

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

1 5 10 15

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

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Lys Gln
85 90 95
Ser Phe Arg Leu Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 56

<211> 336

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 56

gacatcgtta tgacacagtc accagatagc ttagccgtgt ccctgggaga acgtgctacc 60

attaattgca aaagctccaa tagcctgttt aacagccgga cacggaagaa ttatctggca 120

tggtatcagc agaaacccgg acagccgcct aagctgctga tttattgggc cagcgcacgc 180

gaaagtggtg tgcccgaccg cttttccggc agcggtagtg gcactgactt caccctgacc 240

atctcaagct tgcaagccga agacgtggca gtatattatt gcaagcagtc gttcaggctg 300

cgcacctttg gcggcggcac aaaagtggag atcaaa 336

<210> 57

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 57

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

1 5 10 15

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

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Lys Gln
85 90 95
Ser Phe Arg Leu Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 58
<211> 336
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic Construct
<400> 58

gacatcgtta tgacacagtc accagatagc ttagccgtgt ccctgggaga acgtgctacc 60
attaattgca aaagctccca gagcctgttt aacagccata cacggaagaa ttatctggca 120

tggtatcagc agaaacccgg acagccgcct aagctgctga tttattgggc cagcgcacgc 180
ggaagtggtg tgcccgaccg cttttccggc agcggtagtg gcactgactt caccctgacc 240
atctcaagct tgcaagccga agacgtggca gtatattatt gcaagcagtc gttcaggctg 300
cgcacctttg gcggcggcac aaaagtggag atcaaa 336

<210> 59
<211> 112
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic Construct
<400> 59

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

1 5 10 15

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

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Lys Gln
85 90 95
Ser Phe Arg Leu Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 60
<211> 336
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic Construct
<400> 60

gacatcgtta tgacacagtc accagatagc ttagccgtgt ccctgggaga acgtgctacc 60
attaattgca aaagctccca gagcctgttt aacagccggt ttcggaagaa ttatctggca 120

tggtatcagc agaaacccgg acagccgcct aagctgctga tttattgggc cagcgcacgc 180
gaaagtggtg tgcccgaccg cttttccggc agcggtagtg gcactgactt caccctgacc 240
atctcaagct tgcaagccga agacgtggca gtatattatt gcaagcagtc gttcaggctg 300
cgcacctttg gcggcggcac aaaagtggag atcaaa 336

<210> 61
<211> 112
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic Construct
<400> 61

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

1 5 10 15

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

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Lys Gln
85 90 95
Ser Phe Arg Leu Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 62
<211> 336
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic Construct
<400> 62

gacatcgtta tgacacagtc accagatagc ttagccgtgt ccctgggaga acgtgctacc 60
attaattgca aaagctccca gagcctgttt aacagccgga cacggaagaa ttatctgctt 120

tggtatcagc agaaacccgg acagccgcct aagctgctga tttattgggc cagcgcacgc 180
gaaagtggtg tgcccgaccg cttttccggc agcggtagtg gcactgactt caccctgacc 240
atctcaagct tgcaagccga agacgtggca gtatattatt gcaagcagtc gttcaggctg 300
cgcacctttg gcggcggcac aaaagtggag atcaaa 336

<210> 63
<211> 112
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic Construct
<400> 63

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

1 5 10 15

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

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Lys Gln
85 90 95
Ser Phe Arg Leu Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 64
<211> 336
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic Construct
<400> 64

gacatcgtta tgacacagtc accagatagc ttagccgtgt ccctgggaga acgtgctacc 60
attaattgca aaagctccca gagcctgttt aacagccgga cacggaagaa ttatctgaat 120

tggtatcagc agaaacccgg acagccgcct aagctgctga tttattgggc cagcgcacgc 180
gaaagtggtg tgcccgaccg cttttccggc agcggtagtg gcactgactt caccctgacc 240
atctcaagct tgcaagccga agacgtggca gtatattatt gcaagcagtc gttcaggctg 300
cgcacctttg gcggcggcac aaaagtggag atcaaa 336

<210> 65
<211> 112
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic Construct
<400> 65

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

1 5 10 15

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

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Lys Gln
85 90 95
Ser Phe Arg Leu Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 66
<211> 336
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic Construct
<400> 66

gacatcgtta tgacacagtc accagatagc ttagccgtgt ccctgggaga acgtgctacc 60
attaattgca aaagctccca gagcctgttt aacagccgga cacggaagaa ttatctgatg 120

tggtatcagc agaaacccgg acagccgcct aagctgctga tttattgggc cagcgcacgc 180
gaaagtggtg tgcccgaccg cttttccggc agcggtagtg gcactgactt caccctgacc 240
atctcaagct tgcaagccga agacgtggca gtatattatt gcaagcagtc gttcaggctg 300
cgcacctttg gcggcggcac aaaagtggag atcaaa 336

<210> 67
<211> 112
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic Construct
<400> 67

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

1 5 10 15

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

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Lys Gln
85 90 95
Ser Phe Asn Leu Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 68
<211> 336
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic Construct
<400> 68

gacatcgtta tgacacagtc accagatagc ttagccgtgt ccctgggaga acgtgctacc 60
attaattgca aaagcgctca gagcctgttt aacagccgga cacggaagaa ttatctggca 120

tggtatcagc agaaacccgg acagccgcct aagctgctga tttattgggc cagcgcacgc 180
gaaagtggtg tgcccgaccg cttttccggc agcggtagtg gcactgactt caccctgacc 240
atctcaagct tgcaagccga agacgtggca gtatattatt gcaagcagtc gttcaatctg 300
cgcacctttg gcggcggcac aaaagtggag atcaaa 336

<210> 69
<211> 112
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic Construct
<400> 69

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

1 5 10 15

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

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Lys Gln
85 90 95
Ser Phe Asn Leu Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 70
<211> 336
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic Construct
<400> 70

gacatcgtta tgacacagtc accagatagc ttagccgtgt ccctgggaga acgtgctacc 60
attaattgca aaagctcctg gagcctgttt aacagccgga cacggaagaa ttatctggca 120

tggtatcagc agaaacccgg acagccgcct aagctgctga tttattgggc cagcgcacgc 180
gaaagtggtg tgcccgaccg cttttccggc agcggtagtg gcactgactt caccctgacc 240
atctcaagct tgcaagccga agacgtggca gtatattatt gcaagcagtc gttcaatctg 300
cgcacctttg gcggcggcac aaaagtggag atcaaa 336

<210> 71
<211> 112
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic Construct
<400> 71

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

1 5 10 15

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

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Lys Gln
85 90 95
Ser Phe Asn Leu Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 72
<211> 336
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic Construct
<400> 72

gacatcgtta tgacacagtc accagatagc ttagccgtgt ccctgggaga acgtgctacc 60
attaattgca aaagctccaa tagcctgttt aacagccgga cacggaagaa ttatctggca 120

tggtatcagc agaaacccgg acagccgcct aagctgctga tttattgggc cagcgcacgc 180
gaaagtggtg tgcccgaccg cttttccggc agcggtagtg gcactgactt caccctgacc 240
atctcaagct tgcaagccga agacgtggca gtatattatt gcaagcagtc gttcaatctg 300
cgcacctttg gcggcggcac aaaagtggag atcaaa 336

<210> 73
<211> 112
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic Construct
<400> 73

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

1 5 10 15

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

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Lys Gln
85 90 95
Ser Phe Asn Leu Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 74
<211> 336
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic Construct
<400> 74

gacatcgtta tgacacagtc accagatagc ttagccgtgt ccctgggaga acgtgctacc 60
attaattgca aaagctccca gagcctgttt aacagccata cacggaagaa ttatctggca 120

tggtatcagc agaaacccgg acagccgcct aagctgctga tttattgggc cagcgcacgc 180
ggaagtggtg tgcccgaccg cttttccggc agcggtagtg gcactgactt caccctgacc 240
atctcaagct tgcaagccga agacgtggca gtatattatt gcaagcagtc gttcaatctg 300
cgcacctttg gcggcggcac aaaagtggag atcaaa 336

<210> 75
<211> 112
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic Construct
<400> 75

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

1 5 10 15

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

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Lys Gln
85 90 95
Ser Phe Asn Leu Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 76
<211> 336
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic Construct
<400> 76

gacatcgtta tgacacagtc accagatagc ttagccgtgt ccctgggaga acgtgctacc 60
attaattgca aaagctccca gagcctgttt aacagccggt ttcggaagaa ttatctggca 120

tggtatcagc agaaacccgg acagccgcct aagctgctga tttattgggc cagcgcacgc 180
gaaagtggtg tgcccgaccg cttttccggc agcggtagtg gcactgactt caccctgacc 240
atctcaagct tgcaagccga agacgtggca gtatattatt gcaagcagtc gttcaatctg 300
cgcacctttg gcggcggcac aaaagtggag atcaaa 336

<210> 77
<211> 112
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic Construct
<400> 77

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

1 5 10 15

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

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Lys Gln
85 90 95
Ser Phe Asn Leu Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 78
<211> 336
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic Construct
<400> 78

gacatcgtta tgacacagtc accagatagc ttagccgtgt ccctgggaga acgtgctacc 60
attaattgca aaagctccca gagcctgttt aacagccgga cacggaagaa ttatctgctt 120

tggtatcagc agaaacccgg acagccgcct aagctgctga tttattgggc cagcgcacgc 180
gaaagtggtg tgcccgaccg cttttccggc agcggtagtg gcactgactt caccctgacc 240
atctcaagct tgcaagccga agacgtggca gtatattatt gcaagcagtc gttcaatctg 300
cgcacctttg gcggcggcac aaaagtggag atcaaa 336

<210> 79
<211> 112
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic Construct
<400> 79

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

1 5 10 15

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

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Lys Gln
85 90 95
Ser Phe Asn Leu Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 80
<211> 336
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic Construct
<400> 80

gacatcgtta tgacacagtc accagatagc ttagccgtgt ccctgggaga acgtgctacc 60
attaattgca aaagctccca gagcctgttt aacagccgga cacggaagaa ttatctgaat 120

tggtatcagc agaaacccgg acagccgcct aagctgctga tttattgggc cagcgcacgc 180
gaaagtggtg tgcccgaccg cttttccggc agcggtagtg gcactgactt caccctgacc 240
atctcaagct tgcaagccga agacgtggca gtatattatt gcaagcagtc gttcaatctg 300
cgcacctttg gcggcggcac aaaagtggag atcaaa 336

<210> 81
<211> 112
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic Construct
<400> 81

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

1 5 10 15

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

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Lys Gln
85 90 95
Ser Phe Asn Leu Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 82
<211> 336
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic Construct
<400> 82

gacatcgtta tgacacagtc accagatagc ttagccgtgt ccctgggaga acgtgctacc 60
attaattgca aaagctccca gagcctgttt aacagccgga cacggaagaa ttatctgatg 120

tggtatcagc agaaacccgg acagccgcct aagctgctga tttattgggc cagcgcacgc 180
gaaagtggtg tgcccgaccg cttttccggc agcggtagtg gcactgactt caccctgacc 240
atctcaagct tgcaagccga agacgtggca gtatattatt gcaagcagtc gttcaatctg 300
cgcacctttg gcggcggcac aaaagtggag atcaaa 336

<210> 83
<211> 112
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic Construct
<400> 83

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

1 5 10 15

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

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Lys Gln
85 90 95
Ser Phe Arg Leu Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 84
<211> 336
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic Construct
<400> 84

gacatcgtta tgacacagtc accagatagc ttagccgtgt ccctgggaga acgtgctacc 60
attaattgca ggagctccca gagcctgttt aacagccgga cacggaagaa ttatctggca 120

tggtatcagc agaaacccgg acagccgcct aagctgctga tttattgggc cagcgcacgc 180
gaaagtggtg tgcccgaccg cttttccggc agcggtagtg gcactgactt caccctgacc 240
atctcaagct tgcaagccga agacgtggca gtatattatt gcaagcagtc gttcaggctg 300
cgcacctttg gcggcggcac aaaagtggag atcaaa 336

<210> 85
<211> 118
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic Construct
<400> 85

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

1 5 10 15

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

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

<210> 86
<211> 354
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic Construct
<400> 86
gaagtccagc tggttgaaag tggtggcggc ctggtgcagc cgggcggctc tctgcgcctg 60
tcatgcgctg catccggctt taccttcagc gactattaca tgagctgggt tcgccaagcg 120

cccggcaaag gcctggaatg ggtgggattc attcgacata aagcgaacac gtataccacc 180
gaatatagca catctgtcaa gggccggttc accatctccc gcgatgattc caagaacagc 240
ctgtacctgc agatgaactc cctgaagacg gaagataccg ccgtctatta ttgtgcccgc 300
gatctgcctg gctttgccta ttggggccaa ggcactctgg tcaccgtctc ctca 354
<210> 87
<211> 118
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic Construct

<400> 87

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

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

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

Gly Phe Ile Arg His Lys Ala Asn Leu Tyr Thr Thr Glu Tyr Ser Thr
50 55 60

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

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

Tyr Cys Ala Arg Asp Leu Pro Gly Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 88

<211> 354

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 88

gaagtccagc tggttgaaag tggtggcggc ctggtgcagc cgggcggctc tctgcgcctg 60

tcatgcgctg catccggctt taccttcagc gactattaca tgagctgggt tcgccaagcg 120

cccggcaaag gcctggaatg ggtgggattc attcgacata aagcgaacct gtataccacc 180

gaatatagca catctgtcaa gggccggttc accatctccc gcgatgattc caagaacagc 240

ctgtacctgc agatgaactc cctgaagacg gaagataccg ccgtctatta ttgtgcccgc 300

gatctgcctg gctttgccta ttggggccaa ggcactctgg tcaccgtctc ctca 354

<210> 89

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 89

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

1 5 10 15

<210> 90

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 90

Gly Gly Leu Leu Gln Gly Gly

1 5

<210> 91

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 91

Leu Leu Gln Gly Ala

1 5

<210> 92

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 92

Gly Gly Leu Leu Gln Gly Ala

1 5

<210> 93

<

211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 93

Leu Leu Gln Gly Pro Gly Lys

1 5

<210> 94

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 94

Leu Leu Gln Gly Pro Gly

1 5

<210> 95

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 95

Leu Leu Gln Gly Pro Ala

1 5

<210> 96

<211> 5

<212

> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 96

Leu Leu Gln Gly Pro

1 5

<210> 97

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 97

Leu Leu Gln Pro

1

<210> 98

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 98

Leu Leu Gln Pro Gly Lys

1 5

<210> 99

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223

> Synthetic Construct

<400> 99

Leu Leu Gln Gly Ala Pro Gly Lys

1 5

<210> 100

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 100

Leu Leu Gln Gly Ala Pro Gly

1 5

<210> 101

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 101

Leu Leu Gln Gly Ala Pro

1 5

<210> 102

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<

220><223> Synthetic Construct

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (4)..(4)

<223> G or P

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (5)..(5)

<223> A, G, P, or absent

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (6)..(6)

<223> A, G, K, P, or absent

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (7)..(7)

<223> K, G or absent

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (8)..(8)

<223> K or absent

<400> 102

Leu Leu Gln Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

1 5

<210> 103

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (4)..(4)

<223> any naturally occurring amino acids or absent

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (5)..(8)

<223> any naturally occurring amino acids or absent

<400> 103

Leu Leu Gln Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

1 5

<210> 104

<211> 1691

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 104

aacttcagtt tgttggctgc ggcagcaggt agcaaagtga cgccgagggc ctgagtgctc 60

cagtagccac cgcatctgga gaaccagcgg ttaccatgga ggggatcagt atatacactt 120

cagataacta caccgaggaa atgggctcag gggactatga ctccatgaag gaaccctgtt 180

tccgtgaaga aaatgctaat ttcaataaaa tcttcctgcc caccatctac tccatcatct 240

tcttaactgg cattgtgggc aatggattgg tcatcctggt catgggttac cagaagaaac 300

tgagaagcat gacggacaag tacaggctgc acctgtcagt ggccgacctc ctctttgtca 360

tcacgcttcc cttctgggca gttgatgccg tggcaaactg gtactttggg aacttcctat 420

gcaaggcagt ccatgtcatc tacacagtca acctctacag cagtgtcctc atcctggcct 480

tcatcagtct ggaccgctac ctggccatcg tccacgccac caacagtcag aggccaagga 540

agctgttggc tgaaaaggtg gtctatgttg gcgtctggat ccctgccctc ctgctgacta 600

ttcccgactt catctttgcc aacgtcagtg aggcagatga cagatatatc tgtgaccgct 660

tctaccccaa tgacttgtgg gtggttgtgt tccagtttca gcacatcatg gttggcctta 720

tcctgcctgg tattgtcatc ctgtcctgct attgcattat catctccaag ctgtcacact 780

ccaagggcca ccagaagcgc aaggccctca agaccacagt catcctcatc ctggctttct 840

tcgcctgttg gctgccttac tacattggga tcagcatcga ctccttcatc ctcctggaaa 900

tcatcaagca agggtgtgag tttgagaaca ctgtgcacaa gtggatttcc atcaccgagg 960

ccctagcttt cttccactgt tgtctgaacc ccatcctcta tgctttcctt ggagccaaat 1020

ttaaaacctc tgcccagcac gcactcacct ctgtgagcag agggtccagc ctcaagatcc 1080

tctccaaagg aaagcgaggt ggacattcat ctgtttccac tgagtctgag tcttcaagtt 1140

ttcactccag ctaacacaga tgtaaaagac tttttttttat acgataaata actttttttt 1200

aagttacaca tttttcagat ataaaagact gaccaatatt gtacagtttt tattgcttgt 1260

tggatttttg tcttgtgttt ctttagtttt tgtgaagttt aattgactta tttatataaa 1320

tttttttgt ttcatattga tgtgtgtcta ggcaggacct gtggccaagt tcttagttgc 1380

tgtatgtctc gtggtaggac tgtagaaaag ggaactgaac attccagagc gtgtagtgaa 1440
tcacgtaaag ctagaaatga tccccagctg tttatgcata gataatctct ccattcccgt 1500
ggaacgtttt tcctgttctt aagacgtgat tttgctgtag aagatggcac ttataaccaa 1560
agcccaaagt ggtatagaaa tgctggtttt tcagttttca ggagtgggtt gatttcagca 1620
cctacagtgt acagtcttgt attaagttgt taataaaagt acatgttaaa cttaaaaaaa 1680
aaaaaaaaaa a 1691

<210> 105
<211> 352
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 105

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

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

Phe Ile Ser Leu Asp Arg Tyr Leu Ala Ile Val His Ala Thr Asn Ser
130 135 140
Gln Arg Pro Arg Lys Leu Leu Ala Glu Lys Val Val Tyr Val Gly Val

145 150 155 160

Trp Ile Pro Ala Leu Leu Leu Thr Ile Pro Asp Phe Ile Phe Ala Asn

165 170 175

Val Ser Glu Ala Asp Asp Arg Tyr Ile Cys Asp Arg Phe Tyr Pro Asn

180 185 190

Asp Leu Trp Val Val Val Phe Gln Phe Gln His Ile Met Val Gly Leu

195 200 205

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

210 215 220

Lys Leu Ser His Ser Lys Gly His Gln Lys Arg Lys Ala Leu Lys Thr

225 230 235 240

Thr Val Ile Leu Ile Leu Ala Phe Phe Ala Cys Trp Leu Pro Tyr Tyr

245 250 255

Ile Gly Ile Ser Ile Asp Ser Phe Ile Leu Leu Glu Ile Ile Lys Gln

260 265 270

Gly Cys Glu Phe Glu Asn Thr Val His Lys Trp Ile Ser Ile Thr Glu

275 280 285

Ala Leu Ala Phe Phe His Cys Cys Leu Asn Pro Ile Leu Tyr Ala Phe

290 295 300

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

305 310 315 320

Ser Arg Gly Ser Ser Leu Lys Ile Leu Ser Lys Gly Lys Arg Gly Gly

325 330 335

His Ser Ser Val Ser Thr Glu Ser Glu Ser Ser Ser Phe His Ser Ser

340 345 350

<210> 106

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (49)..(49)

<223> G or S

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (55)..(55)

<223> V or A

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (57)..(57)

<223> G , F, K, V, T, L or I

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (58)..(58)

<223> E or Y

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (60)..(60)

<223> T or R

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (65)..(65)

<223> W or S

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (66)..(66)

<223> D or V

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (67)..(67)

<223> K, T, or R

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (76)..(76)

<223> D or N

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (80)..(80)

<223> T or S

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (89)..(89)

<223> R or K

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (90)..(90)

<223> A or T

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (100)..(100)

<223> K or R

<400> 106

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

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

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

Xaa Phe Ile Arg His Lys Xaa Asn Xaa Xaa Thr Xaa Glu Tyr Ser Thr
50 55 60

Xaa Xaa Xaa Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Xaa Ser Lys Asn Xaa
65 70 75 80

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

Tyr Cys Ala Xaa Asp Leu Pro Gly Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 107

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 107

Asp Tyr Tyr Met Ser
1 5

<210> 108

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 108

Gly Phe Thr Phe Thr Asp Tyr

1 5

<210> 109

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 109

Gly Phe Thr Phe Thr Asp Tyr Tyr Met Ser

1 5 10

<210> 110

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 110

Phe Ile Arg Asn Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Thr Glu Tyr Ser Ala Ser

1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 111

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 111

Arg Asn Lys Ala Asn Gly Tyr Thr

1 5

<210> 112

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 112

Asp Leu Pro Gly Phe Ala Tyr

1 5

<210> 113

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 113

Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr

1 5

<210> 114

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 114

Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr Tyr Met Ser

1 5 10

<210> 115

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 115

Asp Tyr Asn Ile Tyr

1 5

<210> 116

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 116

Gly Tyr Ser Phe Thr Asp Tyr

1 5

<210> 117

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 117

Gly Tyr Ser Phe Thr Asp Tyr Asn Ile Tyr

1 5 10

<210> 118

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 118

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

1 5 10 15

Gly

<210> 119

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 119

Asp Pro Tyr Asn Gly Gly

1 5

<210> 120

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 120

Thr Tyr Gly Ser Arg Tyr Val Gly Ala Met Asp Tyr

1 5 10

<210> 121

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 121

Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr

1 5

<210> 122

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 122

Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Asn Ile Tyr

1 5 10

<210> 123

<211> 8

<212

> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 123

Arg His Lys Ala Asn Gly Tyr Thr

1 5

<210> 124

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 124

Arg His Lys Ala Asn Phe Tyr Thr

1 5

<210> 125

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 125

Arg His Lys Ala Asn Lys Tyr Thr

1 5

<210> 126

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 126

Arg His Lys Ala Asn Val Tyr Thr

1 5

<210> 127

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 127

Arg His Lys Ala Asn Ile Tyr Thr

1 5

<210> 128

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 128

Arg His Lys Ala Asn Phe Glu Thr

1 5

<210> 129

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 129

Arg His Lys Ala Asn Thr Tyr Thr

1 5

<210> 130

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 130

Arg His Lys Ala Asn Leu Tyr Thr

1 5

<210> 131

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 131

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Tyr Asn Ser Arg Thr Arg Lys Asn Tyr Leu

1 5 10 15

Ala

<210> 132

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 132

Trp Ala Ser Ala Arg Glu Ser

1 5

<210> 133

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 133

Lys Gln Ser Tyr Asn Leu Arg Thr

1 5

<210> 134

<211> 336

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223

> Synthetic Construct

<400> 134

gacatcgtta tgacacagtc accagatagc ttagccgtgt ccctgggaga acgtgctacc 60

attaattgca aaagctccca gagcctgttt aacagccgga cacggaagaa ttatctggca 120

tggtatcagc agaaacccgg acagccgcct aagctgctga tttattgggc cagcgcacgc 180

gaaagtggtg tgcccgaccg cttttccggc agcggtagtg gcactgactt caccctgacc 240

atctcaagct tgcaagccga agacgtggca gtatattatt gcaagcagtc gttcaatgat 300

cgcacctttg gcggcggcac aaaagtggag atcaaa 336

<210> 135

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 135

Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Tyr

1 5 10 15

<210> 136

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 136

Arg Met Ser Asn Pro Ala Ser

1 5

<210> 137

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400>

137

Met Gln His Leu Glu Tyr Pro Leu Thr

1 5

<210> 138

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 138

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Phe Asn Ser Arg Thr Arg Lys Asn Tyr Leu

1 5 10 15

Ala

<210> 139

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 139

Lys Gln Ser Phe Asn Leu Arg Thr

1 5

<210> 140

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 140

Lys Gln Ser Phe Arg Leu Arg Thr

1 5

<210> 141

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 141

Lys Ser Ala Gln Ser Leu Phe Asn Ser Arg Thr Arg Lys Asn Tyr Leu

1 5 10 15

Ala

<210> 142

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220

><223> Synthetic Construct

<400> 142

Lys Ser Ser Trp Ser Leu Phe Asn Ser Arg Thr Arg Lys Asn Tyr Leu

1 5 10 15

Ala

<210> 143

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 143

Lys Ser Ser Asn Ser Leu Phe Asn Ser Arg Thr Arg Lys Asn Tyr Leu

1 5 10 15

Ala

<210> 144

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 144

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Phe Asn Ser His Thr Arg Lys Asn Tyr Leu

1 5 10 15

Ala

<210> 145

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 145

Trp Ala Ser Ala Arg Gly Ser

1 5

<210> 146

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 146

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Phe Asn Ser Arg Phe Arg Lys Asn Tyr Leu

1 5 10 15

Ala

<210> 147

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 147

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Phe Asn Ser Arg Thr Arg Lys Asn Tyr Leu

1 5 10 15

Leu

<210> 148

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 148

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Phe Asn Ser Arg Thr Arg Lys Asn Tyr Leu

1 5 10 15

Asn

<210> 149

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 149

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Phe Asn Ser Arg Thr Arg Lys Asn Tyr Leu

1 5 10 15

Met

<210> 150

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 150

Arg Ser Ser Gln Ser Leu Phe Asn Ser Arg Thr Arg Lys Asn Tyr Leu

1 5 10 15

Ala

<210> 151

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> R or K

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (3)..(3)

<223> S or A

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (4)..(4)

<223> W, N or Q

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (10)..(10)

<223> H or R

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (11)..(11)

<223> T or F

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (17)..(17)

<223> A, L, N, or M

<400> 151

Xaa Ser Xaa Xaa Ser Leu Phe Asn Ser Xaa Xaa Arg Lys Asn Tyr Leu

1 5 10 15

Xaa

<210> 152

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (6)..(6)

<223> G or E

<400> 152

Trp Ala Ser Ala Arg Xaa Ser

1 5

<210> 153

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223>

Synthetic Construct

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (5)..(5)

<223> N or R

<400> 153

Lys Gln Ser Phe Xaa Leu Arg Thr

1 5

<210> 154

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 154

Phe Ile Arg His Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Thr Glu Tyr Ser Thr Ser

1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 155

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220

><223> Synthetic Construct

<400> 155

Phe Ile Arg His Lys Ala Asn Thr Tyr Thr Thr Glu Tyr Ser Thr Ser

1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 156

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 156

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

1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 157

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (6)..(6)

<223> V or A

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (8)..(8)

<223> G , F, K, V, T, L or I

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (9)..(9)

<223> E or Y

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (11)..(11)

<223> T or R

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (16)..(16)

<223> W or S

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (17)..(17)

<223> D or V

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (18)..(18)

<223> K, T or R

<400> 157

Phe Ile Arg His Lys Xaa Asn Xaa Xaa Thr Xaa Glu Tyr Ser Thr Xaa

1 5 10 15

Xaa Xaa Gly

<210> 158

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 158

Phe Ile Arg His Lys Ala Asn Phe Tyr Thr Thr Glu Tyr Ser Thr Ser

1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 159

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 159

Phe Ile Arg His Lys Ala Asn Lys Tyr Thr Thr Glu Tyr Ser Thr Ser

1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 160

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 160

Phe Ile Arg His Lys Ala Asn Val Tyr Thr Thr Glu Tyr Ser Thr Ser

1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 161

<211> 19

<212

> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 161

Phe Ile Arg His Lys Ala Asn Ile Tyr Thr Thr Glu Tyr Ser Thr Ser

1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 162

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 162

Phe Ile Arg His Lys Ala Asn Phe Glu Thr Thr Glu Tyr Ser Thr Ser

1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 163

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 163

Phe Ile Arg His Lys Ala Asn Phe Tyr Thr Arg Glu Tyr Ser Thr Ser

1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 164

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 164

Phe Ile Arg His Lys Ala Asn Phe Tyr Thr Thr Glu Tyr Ser Thr Trp

1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 165

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 165

Phe Ile Arg His Lys Ala Asn Phe Tyr Thr Thr Glu Tyr Ser Thr Ser

1 5 10 15

Val Arg Gly

<210> 166

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 166

Phe Ile Arg His Lys Val Asn Phe Tyr Thr Thr Glu Tyr Ser Thr Ser
1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 167

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 167

Phe Ile Arg His Lys Ala Asn Phe Tyr Thr Thr Glu Tyr Ser Thr Ser
1 5 10 15

Val Thr Gly

<210> 168

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 168

Phe Ile Arg His Lys Ala Asn Phe Tyr Thr Thr Glu Tyr Ser Thr Ser
1 5 10 15

Asp Lys Gly

<210> 169

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 169

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

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Phe Asn Ser
20 25 30
Arg Thr Arg Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45

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

<210> 170
<211> 7
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic Construct
<400> 170
Lys Gln Ser Phe Asn Asp Arg
1 5
<210> 171
<211> 5
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic Construct
<400> 171
Leu Leu Gln Gly Gly
1 5
<210> 172
<211> 8
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic Construct

<400> 172

Gly Gly Leu Leu Gln Gly Pro Pro

1 5

<210> 173

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 173

Leu Leu Gln Gly Pro Pro

1 5