

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)(11) 공개번호 10-2023-0027270
(43) 공개일자 2023년02월27일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

C07K 16/28 (2006.01) A61K 39/00 (2006.01)

A61K 47/68 (2017.01) A61P 35/00 (2006.01)

A61P 37/00 (2006.01) C12N 15/63 (2006.01)

(52) CPC특허분류

C07K 16/2896 (2013.01)

A61K 47/6803 (2017.08)

(21) 출원번호 10-2023-7002571

(22) 출원일자(국제) 2021년06월22일

심사청구일자 2023년01월20일

(85) 번역문제출일자 2023년01월20일

(86) 국제출원번호 PCT/CN2021/101408

(87) 국제공개번호 WO 2021/259227

국제공개일자 2021년12월30일

(30) 우선권주장

63/042,773 2020년06월23일 미국(US)

(71) 출원인

지양수 카니온 파마수티컬 씨오., 엘티디.

중국, 지양수 222047, 리엔원강, 이코노믹 앤드 테크놀로지컬 디벨롭먼트 존, 지양닝 인터스트리얼 시티

(72) 발명자

샤오, 웨이

중국, 지양수 222047, 리엔원강, 이코노믹 앤드 테크놀로지컬 디벨롭먼트 존, 지양닝 인터스트리얼 시티

자오, 아이즈

미국 19086 펜실베이니아, 윌링포드, 놀 로드 204 (뒷면에 계속)

(74) 대리인

파도특허법인유한회사

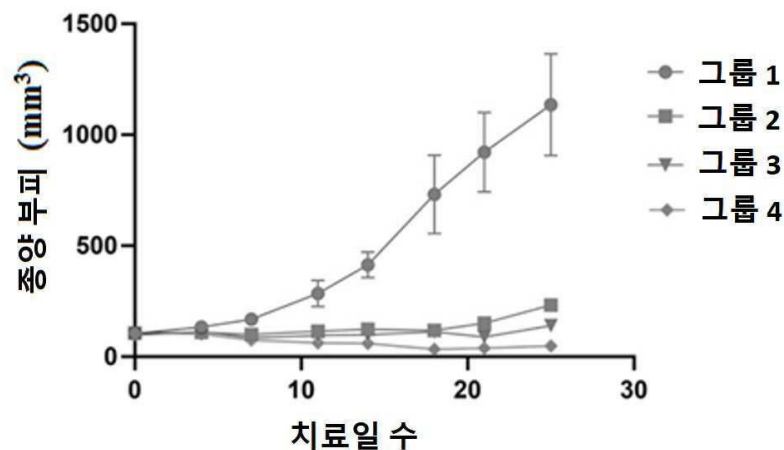
전체 청구항 수 : 총 32 항

(54) 발명의 명칭 항-CD38 항체 및 그의 용도

(57) 요약

본 발명은 CD38 항체 또는 그의 단편을 포함하는 조성물 및 CD38 발현과 관련된 질환 치료에서의 조성물 용도를 제공한다.

대표도 - 도7



(52) CPC특허분류

A61P 35/00 (2018.01)

A61P 37/00 (2018.01)

C12N 15/63 (2013.01)

A61K 2039/505 (2013.01)

C07K 2317/21 (2013.01)

C07K 2317/24 (2013.01)

C07K 2317/31 (2013.01)

C07K 2317/76 (2013.01)

(72) 발명자

한, 위에형

미국 19086 펜실베이니아, 윌링포드, 놀 로드 204

왕, 전중

중국, 지양수 222047, 리엔원강, 이코노믹 앤드 테크놀로지컬 디벨롭먼트 존, 지양닝 인더스트리얼 시티

장, 천평

중국, 지양수 222047, 리엔원강, 이코노믹 앤드 테크놀로지컬 디벨롭먼트 존, 지양닝 인더스트리얼 시티

차오, 량

중국, 지양수 222047, 리엔원강, 이코노믹 앤드 테크놀로지컬 디벨롭먼트 존, 지양닝 인더스트리얼 시티

조우, 지옌밍

중국, 지양수 222047, 리엔원강, 이코노믹 앤드 테크놀로지컬 디벨롭먼트 존, 지양닝 인더스트리얼 시티

리, 량

중국, 지양수 222047, 리엔원강, 이코노믹 앤드 테크놀로지컬 디벨롭먼트 존, 지양닝 인더스트리얼 시티

명세서

청구범위

청구항 1

항체 및 이의 항체 단편을 포함하는 조성물로서, 항체 및 이의 항체 단편은 하나 이상의

- a) SEQ ID NO: 23의 아미노산 서열 및 SEQ ID NO: 23에 대해 약 90% 초과 상동성을 갖는 아미노산 서열로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역FR1,
 - b) SEQ ID NO: 25의 아미노산 서열 및 SEQ ID NO: 25에 대해 약 90% 초과 상동성을 갖는 아미노산 서열로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 CDR1,
 - c) SEQ ID NO: 27의 아미노산 서열 및 SEQ ID NO: 27에 대해 약 90% 초과 상동성을 갖는 아미노산 서열로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역FR2 ,
 - d) SEQ ID NO: 29의 아미노산 서열 및 SEQ ID NO: 29에 대해 약 90% 초과 상동성을 갖는 아미노산 서열로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 CDR2 ,
 - e) SEQ ID NO: 31의 아미노산 서열 및 SEQ ID NO: 31에 대해 약 90% 초과 상동성을 갖는 아미노산 서열로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역FR3,
 - f) SEQ ID NO: 33의 아미노산 서열 및 SEQ ID NO: 33에 대해 약 90% 초과 상동성을 갖는 아미노산 서열로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 CDR3,
 - g) SEQ ID NO: 35의 아미노산 서열 및 SEQ ID NO: 35에 대해 약 90% 초과 상동성을 갖는 아미노산 서열로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역FR4,
 - h) SEQ ID NO: 7의 아미노산 서열 및 SEQ ID NO: 7에 대해 약 90% 초과 상동성을 갖는 아미노산 서열로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 FR1,
 - i) SEQ ID NO: 9의 아미노산 서열 및 SEQ ID NO: 9에 대해 약 90% 초과 상동성을 갖는 아미노산 서열로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 CDR1,
 - j) SEQ ID NO: 11의 아미노산 서열 및 SEQ ID NO: 11에 대해 약 90% 초과 상동성을 갖는 아미노산 서열로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 FR2 ,
 - k) SEQ ID NO: 13의 아미노산 서열 및 SEQ ID NO: 13에 대해 약 90% 초과 상동성을 갖는 아미노산 서열로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 CDR2 ,
 - l) SEQ ID NO: 15의 아미노산 서열 및 SEQ ID NO: 15에 대해 약 90% 초과 상동성을 갖는 아미노산 서열로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 FR3,
 - m) SEQ ID NO: 17의 아미노산 서열 및 SEQ ID NO: 17에 대해 약 90% 초과 상동성을 갖는 아미노산 서열로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 CDR3,
 - n) SEQ ID NO: 19의 아미노산 서열 및 SEQ ID NO: 19에 대해 약 90% 초과 상동성을 갖는 아미노산 서열로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 FR4
- 를 포함하는, 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 항체 및 이의 항체 단편이 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하며,

상기 중쇄 가변 영역이 중쇄 가변 영역의 상보성 결정 영역 1(CDR1), 상보성 결정 영역 2(CDR2) 및 상보성 결정

영역 3(CDR3)을 포함하며, 상기 중쇄 가변 영역의 CDR1, CDR2 및 CDR3는 SEQ ID NO: 9, 13, 17 및 SEQ ID NO: 9, 13 및 17과 90% 이상의 상동성을 갖는 아미노산 서열로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하며; 및

상기 경쇄 가변 영역이 경쇄 가변 영역의 상보성 결정 영역 1(CDR1), 상보성 결정 영역 2(CDR2) 및 상보성 결정 영역 3(CDR3)을 포함하며, 경쇄 가변 영역의 CDR1, CDR2 및 CDR3는 SEQ ID NO: 25, 29, 33 및 SEQ ID NO: 25, 29, 33과 90% 이상의 상동성을 갖는 아미노산 서열로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는, 조성물.

청구항 3

제2항에 있어서,

상기 중쇄 가변 영역의 CDR1은 SEQ ID NO: 9 및 SEQ ID NO: 9와 90% 이상의 상동성을 갖는 아미노산 서열로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하며, 상기 중쇄 가변 영역의 CDR2는 SEQ ID NO: 13 및 SEQ ID NO: 13과 90% 이상의 상동성을 갖는 아미노산 서열로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하며, 상기 중쇄 가변 영역의 CDR3은 SEQ ID NO: 17 및 SEQ ID NO: 17과 90% 이상의 상동성을 갖는 아미노산 서열로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하며; 및

상기 경쇄 가변 영역의 CDR1은 SEQ ID NO: 25 및 SEQ ID NO: 25와 90% 이상의 상동성을 갖는 아미노산 서열로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하며, 상기 경쇄 가변 영역의 CDR2는 SEQ ID NO: 29 및 SEQ ID NO: 29와 90% 이상의 상동성을 갖는 아미노산 서열로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하며, 상기 경쇄 가변 영역의 CDR3은 SEQ ID NO: 33 및 SEQ ID NO: 33과 90% 이상의 상동성을 갖는 아미노산 서열로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는, 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 항체 및 이의 항체 단편이 SEQ ID NO: 21의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 및 SEQ ID NO: 5의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 포함하는, 조성물.

청구항 5

제1항에 있어서,

상기 항체 및 이의 항체 단편이 SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열을 포함하는, 조성물.

청구항 6

항체 및 이의 항체 단편을 포함하는 조성물로,

상기 항체 및 이의 항체 단편은 하나 이상의

- SEQ ID NO: 39의 아미노산 서열 및 SEQ ID NO: 39에 대해 약 90% 초과 상동성을 갖는 아미노산 서열로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 신호 펩티드;
- SEQ ID NO: 5의 아미노산 서열 및 SEQ ID NO: 5에 대해 약 90% 초과 상동성을 갖는 아미노산 서열로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역;
- SEQ ID NO: 43의 아미노산 서열 및 SEQ ID NO: 43에 대해 약 90% 초과 상동성을 갖는 아미노산 서열로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 신호 펩티드; 및
- SEQ ID NO: 21의 아미노산 서열 및 SEQ ID NO: 21에 대해 약 90% 초과 상동성을 갖는 아미노산 서열로 이루어

진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는, 조성물.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 항체 및 이의 항체 단편이 IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgM, IgA1, IgA2, IgAsec, IgD, IgE 으로 이루어진 군으로부터 선택되거나, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgM, IgA1, IgA2, IgAsec, IgA or IgE의 면역글로불린 불변 및/또는 가변 도메인을 가지는, 조성물.

청구항 8

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 항체 또는 항원-결합 단편은 람다(lambda), 카파(kappa) 또는 이의 변이체의 일부 또는 전체 경쇄 불변 영역을 포함하는, 조성물.

청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 항체 및 이의 항체 단편이 재조합 항체인, 조성물.

청구항 10

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 항체 및 이의 항체 단편이 단클론 항체(monoclonal antibody)인, 조성물.

청구항 11

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 항체 및 이의 항체 단편이 다클론 항체(polyclonal antibody)인, 조성물.

청구항 12

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 항체 및 이의 항체 단편이 단클론 및/또는 다클론 항체의 혼합물인, 조성물.

청구항 13

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 항체 및 이의 항체 단편이 인간 항체인, 조성물.

청구항 14

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 항체 및 이의 항체 단편이 인간화 항체(humanized antibody)인, 조성물.

청구항 15

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 항체 및 이의 항체 단편이 키메라 항체(chimeric antibody)인, 조성물.

청구항 16

제1항 내지 제15항 중 어느 한 항에 따른 항체 또는 이의 항체 단편을 암호화하는 분리된 핵산 분자를 포함하는, 조성물.

청구항 17

제16항에 있어서,

상기 조성물이 분리된 핵산 분자를 포함하는 벡터인, 조성물.

청구항 18

제17항에 있어서,

상기 벡터가 DNA, RNA, 플라스미드, 렌티바이러스(lentivirus) 벡터, 아데노바이러스(adenoviral) 벡터 또는 레트로바이러스(retrovirus) 벡터로 이루어진 군에서 선택되는, 조성물.

청구항 19

제1항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 조성물은 항체 또는 이의 항체 단편을 포함하는 세포인, 조성물.

청구항 20

제16항에 있어서,

상기 조성물이 분리된 핵산 분자를 포함하는 세포인, 조성물.

청구항 21

제19항 또는 제20항에 있어서,

상기 세포는 파지, 대장균(E.coli), 효모 세포, 곤충 세포 또는 CHO, HEK293 또는 PER.C6과 같은 포유동물 세포인, 조성물.

청구항 22

제19항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 세포는 단백질 발현을 위해 조작된(engineered) 동물과 같은 시험관 내(in vitro) 또는 상체 내(in vivo)

발현 시스템인, 조성물.

청구항 23

제1항 내지 제20항 중 어느 한 항의 조성물의 유효량을 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, CD38의 발현과 관련된 질환을 갖는 대상체를 치료하는 방법.

청구항 24

제1항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 조성물은 생물학적 활성제에 작동 가능하게 공유 또는 비공유적으로 결합된 항체 및 이의 항체 단편을 포함하는 항체 약물 접합체(antibody drug conjugate)이며, 상기 생물학적 활성제는 독소, 방사성동위원소, 나노입자, 효소, 생체활성 펩티드 또는 뉴클레오티드인, 조성물.

청구항 25

제1항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 조성물은 동일하거나 상이한 항원 상의 2개 이상의 상이한 에피토프에 결합하는 다중 특이적 항체를 포함하고, 상기 에피토프 중 하나는 CD38 상에 있는, 조성물.

청구항 26

제25항에 있어서,

상기 다중 특이적 항체가 이중특이성 항체(bispecific antibody)인, 조성물.

청구항 27

제1항 내지 제26항 중 어느 한 항의 조성물의 유효량을 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, CD38의 발현과 관련된 질환을 갖는 대상체를 치료하는 방법.

청구항 28

포유동물에서 CD38의 발현과 관련된 질환의 존재를 진단하는 방법으로서, 상기 방법은 제1항 내지 제26항 중 어느 한 항의 조성물을 포함하는 조성물로 포유동물로부터 분리된 조직 샘플을 샘플링하는 것을 포함하며, 조직 샘플에 대한 항체 및 이의 항체 단편의 특이적 결합은 포유동물에서 CD38의 발현과 관련된 질환의 존재를 나타내는, 방법.

청구항 29

제1항 내지 제26항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 약학적으로 허용가능한 담체, 부형제, 안정화제, 희석제, 보조제, 사이토카인, 케모카인, 화학치료 약물, 기타 치료 약물 또는 이들의 조합을 추가로 포함하는, 조성물.

청구항 30

대상체 내 CD38의 발현과 관련된 질환을 영상화하는 방법으로, 상기 방법은 제1항 내지 제26항 중 어느 한 항의 조성물을 적용하는 단계를 포함하며, 상기 항체 및 이의 항체 단편이 시약에 작동 가능하게 연결된 방법.

청구항 31

제30항에 있어서,

상기 시약은 광활성화제, 형광시약, 방사성동위원소, 생물발광 단백질, 생물발광 펩티드, 형광 태그, 형광 단백질, 형광 펩티드, 영상 조영제, 효소, 핵 자기 공명 활성 시약 또는 나노입자인, 방법.

청구항 32

제27항 내지 제31항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 CD38 발현과 관련된 질환은 암 또는 악성종양 또는 전암성 상태(malignancy or a precancerous condition), 또는 RA, SLE, SSc, MS와 같은 자가면역 질환, 또는 CD38의 발현과 관련된 비-암(non-cancer) 또는 자가면역 질환으로부터 선택되는, 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 출원은 2020년 6월 23일에 출원된 미국 가출원 제 63042773호의 우선권을 주장하며, 우선권 출원의 개시 내용은 참조로 본원에 포함된다.

배경 기술

[0002] 사이클릭 ADP 리보스 가수분해효소(cyclic ADP ribose hydrolase)로도 알려진 CD38은 긴 C-말단 세포외 도메인과 짧은 N-말단 세포질 도메인을 가진 II형 막관통 당단백질(transmembrane glycoprotein)이다. CD38은 CD 157 및 아플라시아ADPR 시클라제(Aplysia ADPR cyclase)를 포함하는 관련 막 결합 효소 또는 가용성 효소 군의 구성원이다. 상기 계열의 효소는 NAD를 사이클릭 ADP 리보스(cyclic ADP ribose) 또는 니코틴산-아데닌 디뉴클레오타이드 인산염(nicotinic acid-adenine dinucleotide phosphate)으로 전환시키는 고유 능력을 갖는다.

[0003] 또한, CD38은 Ca²⁺ 동원, 및 포스포리파아제 C γ , ZAP-70, syk, c-cbl을 포함한 수많은 신호 분자의 티로신 인산화를 통한 신호 전달에 관여하는 것으로 보고되었다. 이러한 관찰에 기초하여, CD38은 정상적인 발달 동안 림프 세포의 성숙 및 활성화에서 중요한 신호 분자로 제안되었다.

[0004] 조혈 세포 간의 림프구 증식, 사이토카인 방출, B 및 골수 세포 발달 및 생존 조절, 수치상 세포 성숙 유도를 포함한 다양한 기능적 효과가 CD38 매개 신호 전달에 기인한다.

[0005] 그러나, 대부분의 신호전달 연구는 비생리학적 리간드인 CD38 및 항-CD38 단클론 항체를 이소적으로 과발현하는 세포주를 사용했기 때문에, 신호전달 및 조혈(hematopoiesis)에서 CD38의 정확한 역할이 불명확하다.

[0006] CD38의 추정 천연 리간드는 CD31(PECAM-1; Platelet Endothelial Cell Adhesion Molecule-1)이다. CD31은 순환하는 혈소판, 호중구, 단핵구 및 천연 B-림프구(naive B-lymphocytes)의 표면에서 발현되는 면역글로불린 슈퍼패밀리의 130kD 구성원이다. 기능적으로 CD31은 접착 분자(adhesion molecule)로 작용한다고 생각되었다. CD38과 CD31의 상호작용이 백혈병 세포의 생존을 촉진하는 역할을 할 수 있다고 제안되었다.

[0007] 다수의 경우에서, 단일 분자(single molecule)가 걸어진 동물 모델들은 동물 내 분자의 생물학적 역할을 이해하기 위한 기초적인 도구였다. 기본 가정은, 단백질이 비-중복적 기능을 발휘하는 한, 단백질의 완전한 결합은 해당 기능의 손실을 불러일으킨다는 것이다.

[0008] CD38 녹아웃 마우스가 생성되었다. 상기 동물들은 NADase 활성과 관련된 조직의 완전한 손실을 보여준다. 그러나, 상기 동물들은 생존 가능하므로, CD38과 그의 활성이 생명에 필수적이지 아니라는 결론에 도달한다. 그러나, 상기 마우스는 선천성 면역 결합 및 T 세포 의존성 체액 반응 감소를 보인다.

[0009] 마우스에서의 결과와 달리, 인간에서는 CD38의 부재와 생명은 양립불가하다는 강력한 정황 증거가 있다. 신생아

의 5,000개 이상의 혈액 샘플을 분석한 결과 단일 CD38⁺ 개체를 식별하지 못하였다. 마우스와 달리 CD38은 생존에 필수적임을 시사한다. 따라서, CD38 기능에 관한 마우스에서의 관찰이 인간에게도 추론될 수 있는지 명확하지 않다.

[0010] CD38은 다수의 조혈 악성종양, 및 비호지킨 림프종(NHL), 버킷 림프종(BL), 다발성 골수종(MM), B 만성 림프구성 백혈병(B-CLL), B 및 T 급성 림프구성 백혈병(ALL), T 세포 림프종(TCL), 급성 골수성 백혈병(AML), 모발 세포 백혈병(HCL), 호지킨 림프종(HL) 및 만성 골수성 백혈병(CML)를 포함하는 다양한 조혈 악성종양으로부터 유래된 세포주에서 상향조절된다. 한편, 조혈계의 가장 원시적인 만능줄기세포는 CD38⁺이다(도 1).

[0011] 최근 항암제의 발견 및 개발의 진전에도 불구하고, CD38-발현 종양과 관련된 다수 형태의 암은 여전히 예후가 좋지 않다. 따라서, 그러한 형태의 암을 치료하기 위해 개선된 방법이 필요하다.

발명의 내용

[0012] 본 발명의 요약

[0013] 본원에서 CD38에 결합하는 시약 및 방법, 및 CD38 관련 질환을 치료하고, CD38에 특이적인 항체를 포함하는 CD38-특이적 결합제를 사용하여 CD38을 검출하는 방법이 제공된다.

[0014] 따라서, 일부 구현예에서, 인간 CD38(SEQ ID NO: 1)에 특이적인 분리된 항체 또는 이의 항체 단편이 기술된다. 상기 항체 또는 이의 항체 단편은 중쇄 가변 영역과 경쇄 가변 영역으로 구성되며, 중쇄 가변 영역은 3개의 상보적 결정 영역(CDR) HCDR1, HCDR2, HCDR3으로 구성되며, 경쇄 가변 영역도 3개의 CDR, LCDR1, LCDR2로 구성된다. CDR의 서열은 다음과 같이 표현된다: HCDR1 (SEQ ID NO: 9), HCDR2 (SEQ ID NO: 13), HCDR3 (SEQ ID NO: 17), LCDR1 (SEQ ID NO: 25), LCDR2 (SEQ ID NO: 29) 및 LCDR3 (SEQ ID NO: 33).

[0015] 다른 구현예에서, 분리된 항체 또는 이의 항체 단편은 중쇄 가변 영역으로 구성되며, 상기 중쇄 가변 영역의 서열은 SEQ ID NO: 5에 포함된다. 다른 구현예에서, 분리된 항체는 경쇄 가변 영역으로 구성되며, 상기 경쇄 가변 영역의 서열은 SEQ ID NO: 21에 포함된다.

[0016] 일부 구현예에서, 분리된 항체 또는 이의 항체 단편은 중쇄 가변 영역으로 구성되며, 상기 중쇄 가변 영역의 서열은 SEQ ID NO: 5에 포함된다. 다른 구현예에서, 분리된 항체 또는 이의 항체 단편은 경쇄 가변 영역으로 구성되며, 상기 경쇄 가변 영역의 서열은 SEQ ID NO: 21에 포함된다. 상기 중쇄 가변 영역과 경쇄 가변 영역의 조합을 scFv418이라고 한다.

[0017] 일부 구현예에서, 분리된 항체 또는 이의 항체 단편은 Fc 도메인을 포함한다. 다른 구현예에서, Fc 도메인은 인간 Fc 도메인이다. 또 다른 구현예에서, Fc 도메인은 변이체 Fc 도메인이다.

[0018] 일부 구현예에서, SEQ ID NO: 37의 중쇄를 암호화하는 분리된 핵산이 제공된다*. 다른 구현예에서, SEQ ID NO: 41의 경쇄를 암호화하는 분리된 핵산이 제공된다*.

[0019] 일부 구현예에서, 숙주 세포가 제공되며, 상기 숙주 세포는 SEQ ID NO: 5의 중쇄를 암호화하는 분리된 핵산 및 서열번호 21의 경쇄를 암호화하는 분리된 핵산을 포함한다.

[0020] 일부 구현예에서, 숙주 세포가 제공되며, 상기 숙주 세포는 SEQ ID NO: 37의 중쇄를 암호화하는 분리된 핵산 및 서열번호 41의 경쇄를 암호화하는 분리된 핵산을 포함한다.

[0021] 일부 구현예에서, 본 발명의 항체의 제조 방법이 제공된다. 상기 방법은 SEQ ID NO: 5의 중쇄를 암호화하는 분리된 핵산 및 SEQ ID NO: 21의 경쇄를 암호화하는 분리된 핵산을 포함하는 숙주 세포를 상기 분리된 핵산(들)이 발현되고 항체가 생성되는 조건에서 배양하는 것을 포함한다.

[0022] 일부 구현예에서, 본 발명의 항체의 제조 방법이 제공된다. 상기 방법은 SEQ ID NO: 37의 중쇄를 암호화하는 분리된 핵산 및 SEQ ID NO: 41의 경쇄를 암호화하는 분리된 핵산을 포함하는 숙주 세포를 상기 분리된 핵산(들)이 발현되고 항체가 생성되는 조건에서 배양하는 것을 포함한다.

[0023] 일부 구현예에서, 인간 CD38(SEQ ID NO: 1)에 특이적인 분리된 항체가 기술된다. 상기 항체는 6개의 CDR로 구성되어 있으며, 상기 항체의 각 CDR은 0, 1 또는 2개의 아미노산 치환에 의해 SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 29와 상이할 수 있다.

[0024] 다른 구현예에서, 상기 분리된 항체는 중쇄 가변 영역으로 구성되며, 상기 중쇄 가변 영역의 서열은 SEQ ID NO: 5에 포함된다. 다른 구현예에서, 상기 분리된 항체는 경쇄 가변 영역으로 구성되며, 상기 경쇄 가변 영역의 서

열은 SEQ NO:21에 포함된다. 상기 중쇄 가변 영역과 경쇄 가변 영역의 조합을 scFv418이라고 한다.

- [0025] 일부 구현예에서, SEQ ID NO: 37의 중쇄를 암호화하는 상기 분리된 핵산이 제공된다. 다른 구현예에서, SEQ ID NO: 22의 경쇄를 암호화하는 분리된 핵산이 제공된다. 상기 중쇄와 경쇄의 조합을 IgG418 전체 항체(full antibody)라 한다.
- [0026] 일부 구현예에서, 숙주 세포를 제공하며, 상기 숙주 세포는 SEQ ID NO: 5의 중쇄를 암호화하는 분리된 핵산 및 SEQ ID NO: 21의 경쇄를 암호화하는 분리된 핵산을 포함한다.
- [0027] 일부 구현예에서, 숙주 세포를 제공하며, 상기 숙주 세포는 SEQ ID NO: 37의 중쇄를 암호화하는 분리된 핵산 및 SEQ ID NO: 41의 경쇄를 암호화하는 분리된 핵산을 포함한다.
- [0028] 일부 구현예에서, 본 발명의 항체의 제조 방법이 제공된다. 상기 방법은 SEQ ID NO: 5의 중쇄를 암호화하는 분리된 핵산 및 SEQ ID NO: 21의 경쇄를 암호화하는 분리된 핵산을 포함하는 숙주 세포를 상기 분리된 핵산(들)이 발현되고 항체가 생성되는 조건에서 배양하는 것을 포함한다.
- [0029] 일부 구현예에서, 본 발명의 항체의 제조 방법이 제공된다. 상기 방법은 SEQ ID NO: 37의 중쇄를 암호화하는 분리된 핵산 및 SEQ ID NO: 41의 경쇄를 암호화하는 분리된 핵산을 포함하는 숙주 세포를 상기 분리된 핵산(들)이 발현되고 항체가 생성되는 조건에서 배양하는 것을 포함한다.
- [0030] 다른 구현예에서, 인간 CD38(SEQ ID NO: 1)에 특이적인 분리된 항체가 기술된다. 상기 항체는 6개의 CDR로 구성되어 있으며, 상기 항체의 각 CDR은 0, 1 또는 2개의 아미노산 치환에 의해 SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 29와 상이할 수 있다.
- [0031] 일부 구현예에서, 인간 CD38(SEQ ID NO: 1)에 특이적으로 결합하는 분리된 항-CD38 항체가 제공되며, 상기 항체는 약 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-9} KD 또는 초과로 인간 CD38에 결합한다.
- [0032] 일부 구현예에서, 인간 CD38에 결합하기 위해 IgG418과 경쟁하는 항체가 제공된다.
- [0033] 일부 구현예에서, 항-CD38 항체 또는 이의 항체 단편을 포함하는 조성물이 제공된다.
- [0034] 일부 구현예에서, CD38 발현과 관련된 질환을 치료하는 방법이 제공되며, 상기 방법은 이를 필요로 하는 대상체에게 항-CD38 항체 또는 이의 항체 단편의 유효량 또는 항-CD38 항체 또는 이의 항체 단편을 포함하는 조성물을 투여하는 것을 포함한다.
- [0035] 일부 구현예에서, CD38 발현과 관련된 질병의 치료용 약제의 제조에 있어서 항-CD38 항체 또는 이의 항체 단편의 용도가 제공된다.
- [0036] 일부 구현예에서, CD38 발현과 관련된 질환의 치료용 약학 조성물이 제공되며, 상기 약학 조성물은 항-CD38 항체 또는 이의 항체 단편을 포함한다.
- [0037] 상기 및 다른 구현예들, 특징 및 잠재적 이점은 이하의 설명 및 도면을 참조하여 설명한다.
- [0038] 본 발명의 바람직한 실시예에 대한 아래의 상세한 설명은 첨부된 도면과 함께 더 잘 이해될 것이다. 본 발명을 설명하기 위하여, 바람직한 실시예가 도면에 도시되어 있다. 그러나, 본 발명은 도면에 도시된 실시예의 정확한 배열 및 수단에 제한되지 않는다는 것을 이해해야 한다.

도면의 간단한 설명

- [0039] 도 1은 다잘렉스(Darzalex)를 대조군으로 하여 포획 ELISA를 사용하여 CD38 재조합 단백질에 대한 IgG418 친화도 계산을 도시한 그래프이다.
- 도 2는 다잘렉스(Darzalex)를 대조군으로 하여 유세포 분석법(flow cytometry)을 사용하여 Daudi 세포에서 발현된 CD38에 대한 IgG418의 친화도 측정을 나타낸다.
- 도 3은 경쟁 ELISA를 사용하여 다잘렉스(Darzalex)의 것과는 다른 CD38 상의 에피토프에 결합하는 IgG418을 나타낸다.
- 도 4A 내지 도 4C는 다잘렉스(Darzalex)를 대조군으로 사용하여 Daudi 세포에서 IgG418의 CDC 활성에 대한 통계 분석을 나타낸다.

도 5는 CDC 데이터의 통계 분석을 나타낸다.

도 6은 다잘렉스(Darzalex)를 대조군으로 하여 Daudi 세포에서 야생형 및 어푸코실화된(afucosylated) IgG418의 ADCC 활성을 나타낸다.

도 7은 인간 B-세포 림프종 Daudi 세포를 가진 SCID 마우스에 10 mg/kg 용량으로 투여시, 이종 이식편(xenografts)의 성장에 대한 항-인간 CD38 단클론 항체의 억제 효과를 나타낸다.

도 8은 인간 B-세포 림프종 Daudi 세포를 가진 SCID 마우스에 1 mg/kg 용량으로 투여시, 이종 이식편의 성장에 대한 항-인간 CD38 단클론 항체의 억제 효과를 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0040] CD38의 세포외 도메인은 ADP-리보실 시클라제(ADP-ribosyl cyclase) 및 ADP-리보실 가수분해 효소(ADP-ribosyl hydrolase) 활성을 모두 갖는 이기능성 효소 활성을 갖는 것으로 나타났다. 따라서, CD38은 NAD를 cADPR(시클라제)로 전환하는 것을 촉매할 수 있으며, 추가적으로 ADP-리보스(가수분해 효소)로 가수분해할 수 있다. cADPR은 세포 내 저장고로부터의 칼슘의 동원(mobilization)에 관여하며, 증식, 분화 및 세포 사멸에 중요한 2차 메신저 활성이다.
- [0041] CD38의 증가된 발현은 조혈계 기원의 다양한 질환에서 문서화되었으며, 만성 림프모구 백혈병(chronic lymphoblastic leukemia)에서 음성 예후 마커로 기술되었다. 이러한 질환으로는 다발성 골수종(Jackson 외 (1988)), 만성 림프모구 백혈병(Moribito 외 (2001), Jelinek 외 (2001), Chevalier 외 (2002), Durig 외 (2002)), B-세포 만성 림프구성 백혈병, B-세포 급성 림프구성 백혈병을 포함하는 급성 림프모구 백혈병(Keyhani (2000)), 발덴스트롬 매크로글로불린혈증(Waldenstrom macroglobulinemia), 일차성 전신 아밀로이드증(primary systemic amyloidosis), 맨틀 세포 림프종(mantle-cell lymphoma), 친림프구성/골수구성 백혈병(pro-lymphocytic/myelocytic leukemia), 급성 골수성 백혈병(Keyhani 외 (1993)), 만성 골수성 백혈병(Marinov 외, (1993)), 소포성 림프종(follicular lymphoma), NK-세포 백혈병 및 형질 세포 백혈병(plasma-cell leukemia)을 포함하나, 이에 제한되지 않는다. 이와 같이 CD38은 조혈계 질환 치료에 유용한 표적을 제공한다.
- [0042] 다수의 항-CD38 항체가 CD38 관련 암 치료를 위한 임상 시험 중에 있다. 따라서, 치료 효과 및/또는 진단 적용을 갖는, CD38의 항체가 유용하다. 본 발명은 CD38의 상이한 에피토프에 결합하는 서로 상이한 항-CD38 세트 CDR 및 이들 CDR을 함유하는 항체를 제공한다.
- [0043] 골수종에 대한 CD38 항체 요법은 2015년부터 승인되었다. 또한, 최근 여러 다른 연구에서 CD38 항체 요법이 PD1/PDL1 요법에 대한 종양 세포의 저항성을 없앨 수 있다고 밝혔다. 따라서, 본 발명의 항-CD38 항체는 골수종에 제한되지 않고, 다른 모든 종류의 암에서도 진단 및 치료적 적용을 가진다.
- [0044] 또한, 본 발명은 항-CD38 항체가 특히, 자가면역 질환을 포함하는 활성화된 림프구와 관련된 염증 및/또는 면역학적 장애의 진단 및/또는 치료에서 사용될 수 있음을 보여준다. 본원에서, CD38은 미성숙 조혈 세포(immature hematopoietic cell)에서 발현되고, 성숙 세포에서 하향 조절되며, 활성화된 림프구 및 형질 세포에서 높은 수준으로 재발현된다. 예를 들면, 높은 CD38 발현은 활성화된 B 세포, 형질 세포, 활성화된 CD4+ 세포, 활성화된 CD8+ 세포, NK 세포, NKT 세포, 성숙한 수지상 세포(DC) 및 활성화된 단핵구에서 확인된다.
- [0045] 본원에서는 CD38에 대한 자가항체의 존재가 당뇨병, 만성 자가면역 갑상선염(chronic autoimmune thyroiditis) 및 그레이브스병(Graves' disease)과 연관되어 있다는 놀라운 사실을 발견하였으며(Antonelli 외, Clin. Exp. Immunol. 2001 126:426-431, Mallone 외, Diabetes 50:752 (2001), Antonelli 외, J. Endocrinol. Invest. 27:695-707 (2004) 참조), 이들 모두는 참조로 포함된다.
- [0046] 따라서, 본 발명의 항체는 하기 논의된 바와 같이, 전신성 홍반성 루푸스(SLE), 류마티스성 관절염(RA), 전신 경화증(SSc), 다발성 경화증(MS), 염증성 장 질환(IBD), 당뇨병 및 궤양성 대장염을 포함하는 자가면역 질환을 포함하나 이에 제한되지 않는 다수의 질환의 진단 및/또는 치료에 사용될 수 있다.
- [0047] 따라서, 예를 들면, 높은 형질 세포를 나타내는 SLE 환자뿐만 아니라 CD20 기반 요법에 반응하지 않는 것으로 나타난 RA 환자와 같이, 높은 형질 세포 함량을 가진 환자가 선택될 수 있다.
- [0048] 본 발명의 치료용 항-CD38 항체는 CD38 양성 세포에 결합하여 CDC, ADCC, ADCP 및 아포토시스 경로(apoptosis pathway)를 포함하나 이에 제한되지 않는 다수의 메커니즘을 통해 활성화된 림프구와 같이, 이들 세포를 고갈시

켜, 자가면역 질환을 치료 및/또는 개선한다.

[0049] 항체

[0050] 본 발명은 본원에서 설명된 일반적인 치료적 및/또는 진단적 항체인 항-CD38 항체를 제공한다. 본 발명에서 사용될 수 있는 항체는 아래에서 설명된 바와 같이 다수의 형태를 가질 수 있으며, 통상적인 항체 뿐만 아니라 하기 기술된 항체 유도체, 단편 및 모방체도 포함한다. 기본적으로, 본 발명은 (아래에 기술된 바와 같은 적은 수의 아미노산 변화를 포함하여) 본원에서 정의된 6개의 CDR 세트를 포함하는 항체 구조를 제공한다.

[0051] 통상적인 항체 구조 단위는 일반적으로 테트라머(tetramer)를 포함한다. 각 테트라머는 일반적으로 두 개의 동일한 폴리펩티드 사슬 쌍으로 구성되며, 각 쌍은 하나의 "경쇄"(일반적으로 약 25kDa의 분자량을 가짐)와 하나의 "중쇄"(일반적으로 약 50-70kDa의 분자량을 가짐)를 가진다. 인간 경쇄는 카파(kappa) 및 람다(lambda) 경쇄로 분류된다. 중쇄는 뮤(mu), 델타(delta), 감마(gamma), 알파(alpha) 또는 엡실론(epsilon)으로 분류되며, 항체의 이소타입(isotype)은 각각 IgM, IgD, IgG 및 IgE로 정의된다. IgG는 IgG1, IgG2, IgG3 및 IgG4를 포함하나 이에 제한되지 않는 다수의 서브클래스를 가진다. IgM는 IgM1 및 IgM2를 포함하나 이에 제한되지 않는 서브클래스를 포함한다. 따라서, 본원에서 사용되는 "이소타입"은 이들의 불변 영역의 화학적 및 항원적 특징에 의해 정의되는 면역글로불린의 임의의 서브클래스를 의미한다. 공지된 인간 면역글로불린 이소타입은 IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1, IgA2, IgM1, IgM2, IgD 및 IgE이다. 치료용 항체는 또한 이소타입 및/또는 서브클래스의 하이브리드를 포함하는 것으로 이해되어야 한다.

[0052] 각 사슬의 아미노-말단 부분은 주로 항원 인식을 담당하는 약 100 내지 110개 이상의 아미노산의 가변 영역을 포함한다. 가변 영역에서는 중쇄와 경쇄의 V 도메인 각각에 대해 3개의 루프가 모여 항원 결합 부위를 형성한다. 각각의 루프는 상보성 결정 영역(이하 "CDR"이라 함)으로 지칭되며, 여기서 상기 아미노산 서열에서의 변형이 가장 중요하다. "가변적"은 항체들 간의 서열에 있어서 가변 영역의 특정 세그먼트가 상당히 상이함을 의미한다. 가변 영역 내의 가변성은 균일하게 분포되지 않는다. 대신, V 영역은 15-30개 아미노산의 프레임 워크 영역(FR)이라고 하는 상대적으로 변하지 않는 스트레치로 구성되며, 이들 사이는 각 9-15개 아미노산 길이 이상의 "초가변 영역(hypervariable region)"이라고 불리는 극단적인 가변성의 더 짧은 영역으로 분리된다.

[0053] VH 및 VL 각각은 3개의 초가변 영역("상보적 결정 영역", "CDRs") 및 아미노 말단에서 카르복시 말단까지 다음 순서로 배열된 4개의 FR로 구성된다: FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3 -CDR3-FR4.

[0054] 초가변 영역은 일반적으로 경쇄 가변 영역에서 대략 아미노산 잔기 24-34(LCDR1; "L"은 경쇄를 나타냄), 50-56(LCDR2) 및 89-97(LCDR3) 및 중쇄 가변 영역에서 약 31-35B(HCDR1; "H"는 중쇄를 나타냄), 50-65(HCDR2) 및 95-102(HCDR3); Kabat 외, SEQUENCES OF PROTEINS OF IMMUNOLOGICAL INTEREST, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991) 및/또는 초가변 루프를 형성하는 상기 잔기들(예를 들면, 경쇄 가변 영역에서 잔기 26-32(LCDR1), 50-52(LCDR2) 및 91-96(LCDR3)) 및 중쇄 가변 영역에서 26-32(HCDR1), 53-55(HCDR2) 및 96-101(HCDR3))로부터 아미노산 잔기를 포함한다; Chothia and Lesk (1987) J. Mol. Biol. 196:901-917. 본 발명의 특정 CDR들은 아래에서 설명한다.

[0055] 본 명세서 전반에 걸쳐, Kabat 넘버링 시스템은 가변 도메인 내의 잔기(대략적으로, 경쇄 가변 영역의 잔기 1-107 및 중쇄 가변 영역의 잔기 1-113) (예를 들면, Kabat 외, supra (1991))를 참조할 때 일반적으로 사용되며, EU 번호 체계는 Fc 영역에 대해 사용된다.

[0056] 상기 CDR들은 항원 결합의 형성에 기여하거나, 보다 구체적으로, 항체의 에피토프 결합 부위 형성에 기여한다. "에피토프"는 파라토프(paratope)로 알려진 항체 분자의 가변 영역 내 특정 항원 결합 부위와 상호작용하는 결정인자를 의미한다. 에피토프는 아미노산 또는 당(sugar) 측쇄와 같은 분자들의 그룹핑(groupings)이며 일반적으로 특정 전하 특성뿐만 아니라 특정 구조적 특성을 가지고 있다. 단일 항원은 하나 이상의 에피토프를 가질 수 있다. 예를 들면, 본원에 나타난 바와 같이, 본원에서 "IgG418" 및 다잘렉스(Darzalex)로 지칭되는 2개의 상이한 항체는 CD38 분자 상의 상이한 에피토프에 결합한다.

[0057] 에피토프는 결합에 직접 관여하는 아미노산 잔기(에피토프의 면역우성 성분이라고도 함) 및 특이적으로 항원 결합 펩티드에 의해 효과적으로 차단되는 아미노산 잔기와 같이 결합에 직접 관여하지 않는 다른 아미노산 잔기를 포함할 수 있다. 즉, 상기 아미노산 잔기는 특이적으로 항원 결합 펩티드의 풋프린트(footprint) 내에 있다.

[0058] 에피토프는 구조적(conformational)이거나 선형(linear)일 수 있다. 구조적 에피토프는 선형 폴리펩티드 사슬의 서로 다른 세그먼트에서 온 아미노산이 공간적으로 겹치면서 생성된다. 선형 에피토프는 폴리펩티드 사슬 내 인접한 아미노산 잔기에 의해 생성되는 것이다. 구조적 및 비-구조적 에피토프는 변성 용매의 존재 하에서 전자에

대해 결합하지만, 후자에 대해서는 결합하지 않는다는 점에서 구별된다.

- [0059] 에피토프는 특정 공간적 구조에서 일반적으로 3개 이상, 보통 5개 또는 8~10개 이상의 아미노산을 포함한다. 동일한 에피토프를 인식하는 항체는 간단한 면역분석(immunoassay)을 통해 확인할 수 있으며, 하나의 항체가 다른 항체와 항체 표적 간의 결합을 차단하는 능력을 가짐을 보여준다.
- [0060] 본 발명에서 IgG418은 다잘렉스(Darzalex)의 에피토프와 다른 에피토프에 결합하는데, 이는 경쟁 ELISA 분석에서 동일한 에피토프와 경쟁하지 않기 때문이다.
- [0061] 따라서, 일부 구현예에서, scFv418 또는 IgG418의 에피토프 중 하나에 결합하여 scFv418 또는 IgG418과 경쟁하는 항체는 암 및 자가면역 질환을 치료하는 데 사용될 수 있다. scFv418 또는 IgG418과 경쟁하는 항체는 본 발명에서 용도를 가진다는 점을 주목해야 한다.
- [0062] 각 사슬의 카르복시 말단 부분은 주로 이펙터(effector) 기능을 담당하는 불변 영역을 정의한다. Kabat 등은 중쇄 및 경쇄의 가변 영역의 수 많은 1차 서열을 수집하였다. 서열의 보존 정도에 따라 개별의 1차 서열을 CDR과 프레임워크로 분류하고 그의 목록을 만들었다(SEQUENCES OF IMMUNOLOGICAL INTEREST, 5th edition, NIH publication, No. 91-3242, E. A. Kabat 외, 전문이 참조로 포함됨).
- [0063] 면역글로불린의 IgG 서브클래스에는 중쇄 내 다수의 면역글로불린 도메인이 있다. 본원에서 "면역글로불린(Ig) 도메인"은 뚜렷한 3차 구조를 갖는 면역글로불린의 영역을 의미한다. 본 발명에서 흥미로운 점은 불변 중쇄(CH) 도메인 및 힌지 도메인을 포함하는 중쇄 도메인이다. IgG 항체와 관련하여, IgG 이소타입은 각각 3개의 CH 영역을 갖는다. 따라서, IgG 항체에서 "CH" 도메인은 다음과 같다: "CH1"은 Kabat에서와 같이 EU 인덱스에 따라 위치 118-220을 의미하고, "CH2"는 Kabat에서와 같이 EU 인덱스에 따라 위치 237-340을 의미하며, "CH3"는 Kabat에서와 같이 EU 인덱스에 따라 위치 341-447을 나타낸다.
- [0064] 중쇄의 또 다른 유형의 Ig 도메인은 힌지 영역이다. 본 명세서에서 "힌지" 또는 "힌지 영역" 또는 "항체 힌지 영역" 또는 "면역글로불린 힌지 영역"은 항체의 제1 및 제2 불변 도메인 사이의 아미노산을 포함하는 유연한 폴리펩티드를 의미한다. 구조적으로, IgG CH1 도메인은 EU 위치 220에서 끝나고, IgG CH2 도메인은 잔기 EU 위치 237에서 시작한다. 따라서 IgG의 경우, 상기 항체 힌지는 위치 221 (IgG1의 D221)에서 236(IgG1의 G236)을 포함하는 것으로 본원에서 정의되며, 넘버링은 Kabat에서와 같이 EU 인덱스에 따른다. 일부 구현예에서, 예를 들면, Fc 영역은 "하부 힌지"를 포함하는 것으로 이해되며, 상기 "하부 힌지"는 일반적으로 위치 226 또는 230을 지칭한다.
- [0065] 본 발명에서 특히 흥미로운 것은 Fc 영역이다. 본원에서 사용된 "Fc" 또는 "Fc 영역" 또는 "Fc 도메인"은 제1 불변의 영역 면역글로불린 도메인 및 일부 경우, 힌지의 일부를 제외한 항체의 불변 영역을 포함하는 폴리펩티드를 의미하는 것으로 사용된다. 따라서, Fc는 IgA, IgD 및 IgG의 마지막 2개의 불변 영역 면역글로불린 도메인, IgE 및 IgM의 마지막 3개의 불변 영역 면역글로불린 도메인, 및 이들 도메인에 대한 유연한 힌지 N-말단을 의미한다. IgA 및 IgM의 경우, Fc는 J 사슬을 포함할 수 있다. IgG의 경우, Fc 도메인은 면역글로불린 도메인 C γ 2 및 C γ 3(C γ 2 및 C γ 3), 및 C γ 1(C γ 1) 및 C γ 2(C γ 2) 사이의 하부 힌지를 포함한다. Fc 영역의 경계는 다양할 수 있지만, 인간 IgG 중쇄 Fc 영역은 일반적으로 그의 카복실-말단에 잔기 C226 또는 P230을 포함하는 것으로 정의되며, 상기 넘버링은 Kabat에서와 같이 EU 인덱스에 따른다. 일부 구현예에서, 추가로 후술하는 바와 같이, 예를 들면, 하나 이상의 Fc γ R 수용체 또는 FeRn 수용체에 대한 결합을 변경하기 위해 Fc 영역에 아미노산 개질이 이루어진다.
- [0066] 일부 구현예에서, 항체는 전장(full length)이다. 본 명세서에서 "전장 항체(full length antibody)"는 본 명세서에 설명한 바와 같은 하나 이상의 개질을 포함하는 가변 영역 및 불변 영역을 포함하는 항체의 천연 생물학적 형태를 구성하는 구조를 의미한다.
- [0067] 또는, 항체는 다양한 구조일 수 있으며, 항체 단편, 단클론 항체, 이중특이성 항체, 미니바디(minibodies), 도메인 항체, 합성 항체(때로는 본원에서 "항체 모방체(antibody mimetic)"라고 함), 키메라 항체, 인간화 항체, 항체 융합(때로는 "항체 접합체"라고도 함) 및 각각의 단편을 포함하나, 이에 제한되지 않는다.
- [0068] 일 구현예에서, 항체는 항체 단편이다. 특정 항체 단편은 (i) VL, VH, CL 및 CH1 도메인으로 구성된 Fab 단편, (ii) VH 및 CH1 도메인으로 구성된 Fd 단편, (iii) 단일 항체의 VL 및 VH 도메인으로 구성된 Fv 단편, (iv) 단일 가변(single variable)으로 구성된 dAb 단편(Ward 외, 1989, Nature 341:544-546, 전문이 참조로 포함됨), (v) 분리된 CDR 영역, (vi) F(ab')₂ 단편, 2개의 연결된 Fab 단편을 포함하는 2가 단편 (vii) 단일 사슬 Fv 분자(scFv), 여기서 VH 도메인 및 VL 도메인은 2개의 도메인이 결합하여 항원 결합 부위를 형성하도록 하는 펩

티드 링커에 의해 연결되며(Bird 외, 1988, Science 242:423-426, Huston 외, 1988, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 85:5879-5883, 전문이 참조로 포함됨), (viii) 이중특이성 단일 사슬 Fv(WO 03/11161, 본 명세서에 참조로 포함됨) 및 (ix) "디아바디(diabodies)" 또는 "트리아바디(triabodies)", 유전자 융합에 의해 구축된 다가 또는 다중특이성 단편(Tomlinson 외, 2000, Methods Enzymol. 326:461-479; WO94/13804); Holliger 외, 1993, Proc. Natl. Acad. Sci, U.S.A. 90:6444-6448, 모두 전문이 참조로 포함됨)를 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

[0069] 키메라 및 인간화 항체

[0070] 일부 구현예에서 항체는 다른 종, 예를 들면, 키메라 항체 및/또는 인간화 항체의 혼합물일 수 있다. 즉, 본 발명에서 CDR 세트는 본원의 서열에 의해 구체적으로 기술된 것 이외의 프레임워크 및 불변 영역과 함께 사용될 수 있다.

[0071] 일반적으로 "키메라 항체"와 "인간화 항체"는 모두 하나 이상의 종의 영역을 결합한 항체를 의미한다. 예를 들면, "키메라 항체"는 통상적으로 마우스(또는 경우에 따라 래트)의 가변 영역(들)과 인간의 불변 영역(들)을 포함한다. "인간화 항체"는 일반적으로 인간에서 발견된 서열로 교체된 가변 도메인 프레임워크 영역을 가지는 비인간 항체를 지칭한다. 일반적으로, 인간화 항체에서, CDR을 제외한 전체 항체는, 인간 기원의 폴리뉴클레오티드에 의해 암호화되거나 내부의 CDR 을 제외하고는 상기 항체와 동일하다. 일부 또는 전부가 비인간 유기체에서 유래한 핵산에 의해 암호화된 CDR은 인간 항체 가변 영역의 베타-시트 프레임워크에 이식되어 이식된 CDR에 의해 결정되는 특이성을 갖는 항체를 생성한다. 이러한 항체들의 생성은 예를 들면, WO 92/11018, Jones, 1986, Nature 321:522-525, Verhoeyen 외, 1988, Science 239:1534-1536에 기술되어 있으며, 전문이 참조로 포함된다. 선택된 수용체 프레임워크 잔기의 공여체 잔기로의 "역돌연변이(Backmutation)"는 종종 초기 이식된 구조에서 손실된 친화도를 회복하는데 필요하다(미국 특허 제5,530,101호; 미국 특허 제5,585,089호; 미국 특허 제5,693,761호; U.S. 미국 특허 제5,693,762호, 미국 특허 제6,180,370호, 미국 특허 제5,859,205호, 미국 특허 제5,821,337호, 미국 특허 제6,054,297호, 미국 특허 제6,407,213호, 모두 전문이 참조로 포함됨). 인간화 항체는 또한 최적으로 면역글로불린 불변 영역의 적어도 일부를 포함하며, 전형적으로 인간 면역글로불린의 불변 영역을 포함할 것이며, 따라서 전형적으로 인간 Fc 영역을 포함할 것이다. 인간화 항체는 유전자 조작된 면역 체계를 가진 마우스를 사용하여 생성될 수 있다. Roque외, 2004, Biotechnol. Prog. 20:639-654, 전문이 참조로 포함된다. 비인간 항체를 인간화하고 재구성하기 위한 다양한 기술 및 방법이 당업계에 잘 알려져 있다(Tsurusita & Vasquez, 2004, Humanization of Monoclonal Antibodies, Molecular Biology of B Cells, 533-545, Elsevier Science(USA) 참조 및 위 문헌에 인용된 참고문헌 전문이 참고문헌으로 포함됨). 인간화 방법에는 Jones 외, 1986, Nature 321:522-525; Riechmann 외, 1988; Nature 332:323-329; Verhoeyen 외, 1988, Science, 239:1534-1536; Queen 외, 1989, Proc. Natl. Acad. Sci USA 86:10029-33; He외, 1998, J. Immunol. 160: 1029-1035; Carter 외, 1992, Proc Natl Acad Sci USA 89:4285-9, Presta 외, 1997, Cancer Res. 57(20):4593-9; Gorman 외, 1991, Proc. Natl. Acad. Sci USA 88:4181-4185; O'Connor 외, 1998, Protein Eng 11:321-8에 기재된 방법을 포함하나 이에 제한되지 않으며, 전문이 참조로 포함된다. 인간화 방법 또는 비인간간 항체 가변 영역의 면역원성을 감소시키는 다른 방법은, 예를 들면, Roguska 외, 1994, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91:969-973에 기술된 바와 같이 재포장 방법(resurfacing method)을 포함할 수 있으며, 위 문헌의 전문이 참조로 포함된다. 일 구현예에서, 당업계에 공지된 바와 같이 모항체는 성숙된 친화도를 갖는다. 구조 기반 방법(Structure-based method)은 예를 들면, U.S. Ser. 제11/004,590호에 기재된 바와 같이 인간화 및 친화도 성숙을 위해 사용될 수 있다. 선택 기반 방법(Selection based method)은 Wu 외, 1999, J. Mol. Biol. 294:151-162; Baca 외, 1997, J. Biol. Chem. 272(16):10678-10684; Rosok 외, 1996, J. Biol. Chem. 271(37): 22611-22618; Rader 외, 1998, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95: 8910-8915; Krauss 외, 2003, Protein Engineering 16(10):753-759에 설명된 방법을 포함하지만 이에 제한되지 않으며, 인간화 및/또는 친화도 성숙 항체 가변 영역을 위해 사용될 수 있으며, 위 문헌의 전문이 참조로 포함된다. 다른 인간화 방법은U.S. Ser. 제09/810,510호; Tan 외, 2002, J. Immunol. 169:1119-1125; De Pascalis 외, 2002, J. Immunol. 169:3076-3084에 기재된 방법을 포함하나 이에 제한되지 않으며, CDR의 일부만을 이식하는 것을 포함할 수 있으며, 위 문헌의 전문이 참조로 포함된다.

[0072] 일 구현예에서, 본 발명의 항체는 다중특이성 항체, 특히 종종 "디아바디(diabodies)"라고도 불리 이중특이성 항체일 수 있다. 이들은 두 개(또는 초과)의 다른 항원 또는 동일한 항원의 다른 에피토프에 결합하는 항체이다. 디아바디는 당업계에 공지된 다양한 방식(Holliger and Winter, 1993, Current Opinion Biotechnol. 4:446-449, 전문이 참조로 포함됨) 예를 들면, 화학적으로 또는 하이브리드 하이브리도마(hybrid hybridoma)로

부터 제조되는 방식으로 제조될 수 있다.

- [0073] 일 구현예에서, 항체는 미니바디(minibody)이다. 미니바디는 CH3 도메인에 결합된 scFv를 포함하는 최소화된 항체 유사 단백질이다. Hu 외, 1996, Cancer Res. 56:3055-3061의 전문이 참조로 포함된다. 일부 경우에, scFv는 Fc 영역에 연결될 수 있고, 일부 또는 전체 힌지 영역을 포함할 수 있다.
- [0074] 본 발명의 항체는 일반적으로 분리되거나 재조합된다. 본원에 개시된 다양한 폴리펩티드를 설명하기 위해 사용될 때 "분리된"은 그것이 발현된 세포 또는 세포 배양물로부터 확인되고 분리되고 및/또는 회수된 폴리펩티드를 의미한다. 통상적으로, 분리된 폴리펩티드는 하나 이상의 정제 단계에 의해 제조될 것이다. "분리된 항체"에는 항원 특이성이 다른 다른 항체가 실질적으로 없는 항체를 의미한다. 예를 들면, CD38에 특이적으로 결합하는 분리된 항체에는 실질적으로 CD38 이외의 항원에 특이적으로 결합하는 항체가 없다.
- [0075] 그러나, 인간 CD38 또는 시노몰구스(cynomolgus) CD38의 에피토프, 이소폼(isoform) 또는 변이체에 특이적으로 결합하는 분리된 항체는, 다른 관련 항체, 예를 들면, CD38 종의 상동체와 같은 다른 종에 대해 교차 반응성을 가질 수 있다. 더욱이, 분리된 항체에는 실질적으로 다른 세포 물질 및/또는 화학물질이 없다.
- [0076] 서로 다른 특이성을 가진 분리된 단클론 항체들은 잘 정의된 조성물 내에서 조합될 수 있다. 따라서 예를 들면, IgG418가 단일 제제에서 조합될 수 있다.
- [0077] 본 발명의 항-CD38 항체는 CD38 리간드(예를 들면, SEQ NOs:1의 인간 CD38 단백질)에 특이적으로 결합한다. "특이적 결합" 또는 특정 항원 또는 에피토프에 "대한 특이적 결합" 또는 "특이적인"은 비특이적 상호 작용과 상당히 다른 결합을 의미한다. 특이적 결합은 예를 들면, 일반적으로 결합 활성을 갖지 않는 유사한 구조 분자인 대조군 분자(control molecule)의 결합과 비교하여 분자의 결합을 결정함으로써 측정될 수 있다. 예를 들면, 특이적 결합은 표적과 유사한 한 대조군 분자와의 경쟁으로 결정될 수 있다.
- [0078] 특정 항원 또는 에피토프에 대한 특이적 결합은 예를 들면, 항원 또는 에피토프에 대해 약 10^{-4} M 이상, 약 10^{-5} M 이상, 약 10^{-6} M 이상, 약 10^{-7} M 이상, 약 10^{-8} M 이상, 약 10^{-9} M 이상, 또는 약 10^{-10} M 이상, 약 10^{-11} M 이상, 약 10^{-12} M 이상의 KD를 가지는 항체에 의해서 관측될 수 있으며, 여기서 KD는 특정 항체-항원 상호작용의 해리율(dissociation rate)을 나타낸다. 전형적으로, 항원에 특이적으로 결합하는 항체는 항원 또는 에피토프에 대해 상대적으로 대조군 분자보다 20배, 50배, 100배, 500배, 1000배, 5,000배, 10,000배 또는 그 이상 더 큰 KD를 갖는다.
- [0079] 또한, 특정 항원 또는 에피토프에 대한 특이적 결합이, 예를 들어 항원 또는 에피토프에 대한 KA 또는 Ka가 상대적으로 대조군과 비교하여 에피토프에 대해 적어도 20-, 50-, 100-, 500-, 1000-, 5,000-, 10,000- 이상인 항체에 의해 나타날 수 있으며, 여기서 KA 또는 Ka는 특정 항체-항원 상호작용의 결합 비율을 나타낸다.
- [0080] 항체 개질
- [0081] 본 발명은 추가로 변이체 항체를 제공한다. 즉, CDR에서의 아미노산 개질(친화도 성숙), Fc 영역에서의 아미노산 개질, 글리코실화 변이체, 다른 유형의 공유 결합 변형 등을 포함하나 이에 제한되지 않으며, 발명의 항체에 대해 수많은 개질이 형성될 수 있다.
- [0082] 본원에서 "변이체"는 하나 이상의 아미노산 개질로 인해 모 폴리펩티드의 폴리펩티드 서열과 상이한 폴리펩티드 서열을 의미하며, 아미노산 개질은 치환, 삽입 및 결실을 포함할 수 있으며, 많은 경우 전자가 바람직하다.
- [0083] 일반적으로, 변이체는 본원에 기재된 바와 같이 단백질의 기능이 여전히 존재하는 한, 임의의 수의 개질을 포함할 수 있다. 즉, 예를 들면, IgG418의 CDR을 가지는 아미노산 변이체가 생성된 경우, 항체는 인간 CD38에 특이적으로 결합해야 한다. 유사하게, 예를 들면, Fc 영역을 가지는 아미노산 변이체가 생성된다면, 변이체 항체는 항체의 특정 적용 또는 표시를 위해 요구되는 수용체 결합 기능을 유지해야 한다.
- [0084] 그러나, 주로 목적은 최소의 개질 수로 기능을 변경하는 것이므로, 일반적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 아미노산 치환이 통상 사용된다. 일부 경우에, 1 내지 5개의 개질이 있으며, 많은 실시예에서 1-2, 1-3 및 1-4개의 개질이 사용된다.
- [0085] 아미노산 개질의 개수는 기능성 도메인 내에 존재할 수 있음을 주목해야 한다. 예를 들면, 야생형 또는 조작된 단백질의 Fc 영역에서 1-5개의 개질 뿐만 아니라, Fv 영역에서 1-5개 개질을 가지는 것이 바람직할 수 있다. 변이체 폴리펩티드 서열은 바람직하게는 모 서열(예를 들면, IgG418에 대한 가변 영역, 불변 영역, 및/또는 중쇄

및 경쇄 서열)에 대해 약 80%, 85%, 90%, 95% 또는 최대 98 또는 99% 이상의 동일성을 보유하는 것이 바람직하다. 서열의 크기에 따라, 동일성 퍼센트는 아미노산의 수에 의존한다는 점을 주목해야 한다.

- [0086] 본원에서 "아미노산 치환" 또는 "치환"은 모 폴리펩티드 서열의 특정 위치에서 아미노산을 또 다른 아미노산으로 대체하는 것을 의미한다. 예를 들면, 치환 S100A는 위치 100의 세린이 알라닌으로 대체된 변이체 폴리펩티드를 의미한다. 본원에서 사용되는 "아미노산 삽입" 또는 "삽입"은 모 폴리펩티드 서열의 특정 위치에 아미노산을 첨가하는 것을 의미한다. 본원에서 사용되는 "아미노산 결실" 또는 "결실"은 모 폴리펩티드 서열의 특정 위치에서 아미노산의 제거를 의미한다.
- [0087] 본원에서 사용된 "모 폴리펩티드(parent polypeptide)", "모 단백질(parent protein)", "전구체 폴리펩티드" 또는 "전구체 단백질"은 후속적으로 개질되어 변이체를 생성하는, 변형되지 않은 폴리펩티드를 의미한다. 일반적으로, 본원의 모 폴리펩티드는 scFv418 및 IgG418이다. 모 폴리펩티드는 폴리펩티드 자체, 모 폴리펩티드를 포함하는 조성물, 또는 이를 암호화하는 아미노산 서열을 의미할 수 있다. 따라서, 본원에서 사용되는 "모 Fc 폴리펩티드"는 변이체를 생성하도록 개질되는, Fc 폴리펩티드를 의미하고, 본원에서 사용되는 "모 항체"는 변이체 항체를 생성하도록 개질되는, 항체를 의미한다.
- [0088] 본원에서, "야생형" 또는 "WT" 또는 "천연(native)"은 대립형질 변이체(allelic variations)를 포함하여 자연에서 발견되는 아미노산 서열 또는 뉴클레오티드 서열을 의미한다. WT 단백질, 폴리펩티드, 항체, 면역글로불린, IgG 등은 의도적으로 개질되지 않은 아미노산 서열 또는 뉴클레오티드 서열을 가진다.
- [0089] 본원에서 "변이체 Fc 영역"은 하나 이상의 아미노산 개질로 인해 야생형 Fc 서열과 상이한 Fc 서열을 의미한다. Fc 변이체는 Fc 변이체 폴리펩티드 또는 아미노산 서열을 포함하는 Fc 폴리펩티드 자체 조성물을 의미할 수 있다.
- [0090] 일부 구현예에서, 항체 IgG418의 하나 이상의 CDR에서 하나 이상의 아미노산 개질이 형성된다. 일반적으로 임의의 단일 CDR에서 1개 또는 2개 또는 3개의 아미노산이 치환되고 일반적으로 CDR 세트 내에서 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개 이하의 변화가 발생한다. 그러나, 임의의 CDR에서 무치환, 1, 2 또는 3개의 치환은 임의의 다른 치환과 독립적 및 선택적으로 조합될 수 있는 것으로 이해된다.
- [0091] 일부 경우에, CDR의 아미노산 개질은 "친화도 성숙(affinity maturation)"이라고 한다. "친화도 성숙된" 항체는 하나 이상의 CDR에서 하나 이상의 변경(들)을 갖는 항체로서, 상기 변경들은 그러한 변경(들)을 갖지 않는 모 항체 비교하여 항원에 대한 항체의 친화도를 향상시키는 결과를 가져온다. 일부 경우에, 드물지만 항원에 대한 항체 친화도가 감소하는 것이 바람직할 수 있지만, 일반적으로는 바람직하지 않다.
- [0092] 친화도 성숙은 항원에 대한 항체의 결합 친화도를 "모" 항체와 비교하여 약 10% 내지 50-100-150% 이상 또는 1 내지 5배 증가시키기 위해 수행될 수 있다. 바람직한 친화성 성숙 항체는 표적 항원에 대해 나노몰(nanomolar) 또는 심지어 피코몰(picomolar) 친화도를 가질 것이다. 친화도 성숙된 항체는 공지된 공정에 의해 제조된다. 예를 들면, 가변 중쇄(VH) 및 가변 경쇄(VL) 도메인 서플링에 의한 친화성 성숙에 대해 기술하는 Marks 외, 1992, Biotechnology 10:779-783을 참고한다. CDR 및/또는 프레임워크 잔기의 무작위 돌연변이 유발(Random mutagenesis)은 예를 들면, Barbas, 외 1994, Proc. Nat. Acad. Sci, USA 91:3809-3813; Shier 외, 1995, Gene169:147-155; Yelton 외, 1995, J. Immunol. 155:1994-2004; Jackson 외, 1995, J. Immunol. 154(7):3310-9; 및 Hawkins 외, 1992, J. Mol. Biol. 226:889-896에 기재된다.
- [0093] 또는, 예를 들면, 항원에 대한 항체의 친화도를 크게 변경하지 "사일런트(silent)"인 아미노산 개질이 본 발명의 항체의 하나 이상의 CDR 에서 이루어질 수 있다. 이들은 (본 발명의 항체를 암호화하는 핵산에 대해 수행될 수 있는 바와 같이) 최적화된 발현 등 다양한 이유로 수행될 수 있다.
- [0094] 따라서, 본 발명의 CDR 및 항체의 정의 내에 변이체 CDR 및 항체가 포함된다. 즉, 본 발명의 항체는 IgG418의 하나 이상의 CDR에 아미노산 개질을 포함할 수 있다. 또한, 하기에 요약된 바와 같이, 아미노산 개질은 프레임워크 및 불변 영역을 포함하는, CDR 외부의 임의의 영역에서 독립적 및 선택적으로 이루어질 수 있다.
- [0095] 일부 구현예에서, 본 발명의 항-CD38 항체는 가변 Fc 도메인(variant Fc domain)으로 구성된다. 당업계에 공지된 바와 같이, 항체의 Fc 영역은 다수의 Fc 수용체 및 리간드와 상호작용하여 이펙터(effector) 기능이라고 하는 일련의 중요한 기능적 능력을 부여한다. 이들 Fc 수용체는 이소폼 Fc γ RIa, Fc γ RIb 및 Fc γ RIc를 포함하는 (인간에서) Fc γ RI(CD64); 이소폼(알로타입 H131 및 R131), Fc γ RIIb(Fc γ RIIb-1 및 Fc γ RIIb-2 포함) 및 Fc γ RII를 포함하는 Fc γ RII(CD32); 및 이소폼 Fc γ RIIIa(항체-의존성 세포독성(ADCC)에 관련된 알로타입 V158 및 F158 포함) 및 Fc γ RIIIb(알로타입 Fc γ RIIIb-NA1 및 Fc γ RIIIb-NA2 포함), FcRn(신생아 수용체), C1q(보체의

존성 세포독성(CDC)에 관여하는 보체 단백질(complement protein) 및 FcRn(혈청 반감기에 관여하는 신생아 수용체)을 포함하는 FcγRIII(CD16)를 포함하나 이에 제한되지 않는다. 예를 들면, 미국 특허 출원 Ser 제 11/841,654호 및 이에 인용된 US 2004/013210, US 2005/0054832, US 2006/0024298, US 2006/0121032, US 2006/0235208, US 2007/0148170, US Ser. 제 12/341,769호, 미국 특허 제6,737,056호, 미국 특허 제7,670,600호, 미국 특허 제6,086,875호(이의 전문, 특히 Fc 수용체에 대한 결합을 증가시키는 특정 아미노산 치환이 참고로 포함됨)에 일반적으로 설명된 바와 같이, 적절한 개질이 하나 이상의 위치에서 발생할 수 있다.

[0096] 상기 설명한 개질 외에도 다른 개질이 발생할 수 있다. 예를 들면, 분자는 VH 및 VL 도메인을 연결하는 이황화 가교의 통합에 의해 안정화될 수 있다(Reiter 외, 1996, Nature Biotech. 14:1239-1245, 전문이 참조로 포함됨). 또한, 하기 설명된 대로 제조가능한 항체의 다양한 공유결합적 개질 (covalent modifications)이 가능하다.

[0097] 항체의 공유결합적 개질은 본 발명의 범위 내에 포함되며, 일반적으로 번역 후(post-translationally), 수행되지만 반드시 그런 것은 아니다. 예를 들면, 여러 유형의 항체의 공유결합적 개질은 특정 아미노산 잔기를 선택된 측쇄 또는 N- 또는 C-말단 잔기와 반응할 수 있는 유기 유도체화제(organic derivatizing agent)와 반응시켜 분자에 도입된다.

[0098] 시스테인 잔기(Cysteiny residue)는 가장 일반적으로 클로로아세트산(chloroacetic acid) 또는 클로로아세트아미드(chloroacetamide)와 같은 α-할로아세테이트(및 해당 아민)와 반응하여 카르복시메틸 또는 카르복시아미도메틸 유도체를 생성한다. 시스테인 잔기는 또한 브로모트리플루오로아세톤(bromotrifluoroacetone), α-브로모-β-(5-이미도조일)프로피온산(α-bromo-β-(5-imidozoyl)propionic acid), 클로로아세틸 포스페이트(chloroacetyl phosphate), N-알킬말레이미드(N-alkylmaleimide), 3-니트로-2-피리딜 디설파이드(3-nitro-2-pyridyl disulfide), 메틸 2-피리딜 디설파이드(methyl 2-pyridyl disulfide), p-클로로머큐리벤조에이트(p-chloromercuribenzoate), 2-클로로머큐리-4-니트로페놀(2-chloromercuri-4-nitrophenol) 또는 클로로-7-니트로벤조-2-옥사-1,3-디아졸(chloro-7-nitrobenzo-2-oxa-1,3-diazole) 등과의 반응에 의해 유도체화될 수 있다.

[0099] 히스티딘 잔기(Histidyl residues)는 pH 5.5-7.0에서 디에틸피로카보네이트(diethylpyrocarbonate)와의 반응에 의해 유도체화되는데, 이는 상기 시약이 상대적으로 히스티딘 측쇄에 특이적이기 때문이다. 파라-브로모페나실 브로마이드(Para-bromophenacyl bromide)도 유용하며, 상기 반응은 바람직하게는 pH 6.0에서 0.1M 소듐 카코딜레이트(sodium cacodylate)에서 수행된다.

[0100] 리시닐(Lysiny residue) 및 아미노 말단 잔기는 숙신산 또는 기타 카르복실산 무수물과 반응한다. 이러한 시약에 의한 유도체화는 리시닐 잔기의 전하를 역전시키는 효과를 갖는다. 알파-아미노-함유 잔기(alpha-amino-containing residues)를 유도체화하기 위한 기타 적절한 시약에는 메틸 피콜린이미데이트(methyl picolinimide)와 같은 이미도에스테르(imidoester); 피리독살 포스페이트(pyridoxal phosphate); 피리독살(pyridoxal); 클로로보로하이드라이드(chloroborohydride); 트리니트로벤젠설포닉산(trinitrobenzenesulfonic acid); 0-메틸이소우레아(0-methylisourea); 2,4-펜탄디온(2,4-pentanedione) 및 글리옥실레이트와의 트랜스아미나제-촉매(transaminase-catalyzed) 반응이 포함된다.

[0101] 아르기닐 잔기(Arginy residue)는 페닐글리옥살(phenylglyoxal), 2,3-부탄디온(2,3-butanedione, 1,2-시클로헥산디온(1,2-cyclohexanedione) 및 닌히드린(ninhydrin) 중 하나 이상의 기존 시약과의 반응으로 개질된다. 구아니딘(guanidine) 작용기의 pKa가 높기 때문에 아르기닌 잔기의 유도체화는 알칼리성 조건에서 반응이 수행되어야 한다. 또한, 이러한 시약들은 라이신(lysine) 및 아르기닌 엡실론-아미노(arginine epsilon-amino) 그룹과 반응할 수 있다.

[0102] 티로실 잔기(tyrosyl residues)에 스펙트럼 표지를 도입하는 데 특히 관심이 있는 경우, 방향족 디아조늄 화합물(aromatic diazonium compound) 또는 테트라니트로메탄(tetranitromethane)과의 반응으로 티로실 잔기의 특정 개질이 이루어질 수 있다. 가장 일반적으로, N-아세틸이미디졸(N-acetylimidazole) 및 테트라니트로메탄(tetranitromethane)은 각각 0-아세틸 티로실 중 및 3-니트로 유도체를 형성하는 데 사용되며, 티로실 잔기는 125I 또는 131I를 사용하여 요오드화되고, 방사성 면역 분석에 사용하기 위한 표지된 단백질로 준비되며, 이때 위에서 설명한 클로라민 T 방법이 적절하다.

[0103] 카르복실 사이드 그룹(아스파틸 또는 글루타밀)은 카르보디이미드(R'-N=C=N-R')와의 반응에 의해 선택적으로 개질되며, 여기서 R 및 R'는 임의의 다른 알킬 그룹, 예를 들면, 1-사이클로헥실-3-(2-모르폴리닐-4-에틸)카르보디이미드(1-cyclohexyl-3-(2-morpholinyl-4-ethyl)carbodiimide) 또는

1-에틸-3-(4-아조니아-4,4-디메틸펜틸)카르보다이미드(1-ethyl-3-(4-azonia-4,4-dimethylpentyl)carbodiimide)일 수 있다. 또한, 아스파르틸(aspartyl) 및 글루타밀 잔기(glutamyl residues)는 암모늄 이온과의 반응으로 아스파라기닐(asparaginy) 및 글루타미닐(glutaminy) 잔기로 전환된다.

[0104] 이관능성 시약을 사용한 유도체화는 아래에 설명된 방법 외에도 다양한 방법에서 수불용성 지지체 매트릭스 또는 표면에 항체를 가고 결합하는데 유용하다. 통상적으로 사용되는 가교제는 예를 들면, 1,1-비스(디아조아세틸)-2-페닐에탄(1,1-bis(diazoacetyl)-2-phenylethane), 글루타르알데히드(glutaraldehyde), N-히드록시숙신이미드 에스테르(N-hydroxysuccinimide esters), 예를 들면, 4-아지도살리실산(4-azidosalicylic acid)의 에스테르, 3,3'-디티오비스(숙신이미딜프로피오네이트)(3,3'-succinimidylpropionate))과 같은 이숙신이미딜 에스테르를 포함하는 동종이작용성 이미도에스테르를(homobifunctional imidoesters) 및 비스-N-말레이미도-1,8-옥탄(bis-N-maleimido-1,8-octane)과 같은 이작용성 말레이미드를 포함한다. 메틸-3-[(p-아지도페닐)디티오]프로피오이미데이트(methyl-3-[(p-azidophenyl)dithio]propioimide)와 같은 유도체 시약은 빛의 존재 하에서 가교결합을 형성할 수 있는 광활성화 중간체(photoactivatable intermediates)를 생성한다. 또는, 시노몰구소겐 브로마이드-활성화 탄수화물(cynomolgusogen bromide-activated carbohydrates)과 같은 반응성 수불용성 매트릭스 및 미국 특허 제 3,969,287호; 제3,691,016호; 제4,195,128호; 제4,247,642; 제4,229,537; 및 제4,330,440호(전문이 참조로 포함됨)에 기재된 반응성 기재는 단백질 고정화에 사용된다.

[0105] 글루타미닐(glutaminy) 및 아스파라기닐(asparaginy) 잔기는 종종 상응하는 글루타밀(glutamyl) 및 아스파르틸(aspartyl) 잔기로 각각 탈아미드화된다. 또는 상기 잔기들은 약산성 조건에서 탈아미노화된다. 이들 잔기의 어느 형태든 본 발명의 범위 내에 속한다.

[0106] 다른 개질에는 프롤린(proline)과 라이신(lysine)의 하이드록실화, 세릴(seryl) 또는 트레오닐(threonyl) 잔기의 하이드록실 그룹의 인산화, 라이신, 아르기닌 및 히스티딘 측쇄의 α-아미노 그룹의 메틸화, N-말단 아민의 아세틸화, 및 임의의 C-말단 카르복실기의 아미드화가 포함된다(T. E. Creighton, Proteins: Structure and Molecular Properties, W. H. Freeman & Co. ., San Francisco, pp. 79-86 [1983], 전문이 참조로 포함됨).

[0107] 또한, 당업자에 의해 인식되는 바와 같이, 표지(형광, 효소, 자기, 방사성 등 포함)는 모두 항체 (또한 본 발명의 기타 조성물)에 첨가될 수 있다.

[0108] 글리코실화

[0109] 다른 유형의 공유결합적 개질은 글리코실화의 변경이며, 또 다른 구현예에서, 본원에 개시된 항체는 하나 이상의 조작된 글리코형(engineered glycoforms)을 포함하도록 개질될 수 있다. 본원에서 사용된 "조작된 글리코형"은 항체에 공유결합된 탄수화물 조성물을 의미하며, 여기서 상기 탄수화물 조성물은 모 항체의 것과 화학적으로 상이하다. 조작된 글리코형은 이펙터(effector) 기능을 향상시키거나 감소시키는 것을 포함하지만, 이에 제한되지 않는 다양한 목적에 유용할 수 있다. 조작된 글리코형의 바람직한 형태는 어푸코실화(afucosylation)이며, 아마도 FcγRIIIa 수용체에 대한 보다 강한 결합을 통한 ADCC 기능의 증가와 상관관계가 있는 것으로 나타났다. 이러한 맥락에서, "어푸코실화"는 숙주 세포에서 생산된 대부분의 항체에 실질적으로 푸코스(fucose)가 없음을 의미한다. 예를 들면, 생성된 항체의 90-95-98%는 항체의 탄수화물 모이어티(일반적으로 Fc 영역에서 N297에 부착됨)의 구성요소인, 감지 가능한 푸코스를 가지고 있지 않다. 기능적으로 정의된 어푸코실화된 항체는 일반적으로 FcγRIIIa 수용체에 대해 50% 이상의 친화도를 나타낸다.

[0110] 조작된 글리코형은 당업계에 공지된 다양한 방법에 의해 생성될 수 있다(Umana 외, 1999, Nat Biotechnol 17:176-180; Davies 외, 2001, Biotechnol Bioeng 74:288-294; Shields 외, 2002, J Biol Chem 277:26733-26740, Shinkawa 외, 2003, J Biol Chem 278:3466-3473, 미국 특허 번호 6,602,684, 미국 일련 번호 10/277,370, 미국 일련 번호 10/ 113,929, PCT WO 00/61739A1, PCT WO 01/29246A1, PCT WO 02/31140A1, PCT WO 02/30954A1), 상기 전문이 참조로 포함된다; (Potelligent® technology [Biowa, Inc., Princeton, N.J.]; GlycoMAB® glycosylation engineering technology [Glycart Biotechnology AG, Zurich, Switzerland]). 상기 기술 중 다수는, 예를 들면, 다양한 조작된 유도체 또는 세포주 또는 기타(예를 들면, Lec-13 CHO 세포 또는 래트 하이브리도마 YB2/0 세포)에서 IgG를 발견하거나, 글리코실화 경로에 관여하는 효소(예를 들면, FUT8 [α 1,6-푸코실트랜스퍼라제] 및/또는 β 1-4N-아세틸글루코사미닐트랜스퍼라제 III [GnTIII])를 조절하거나, 또는 IgG가 발현된 후 탄수화물(들)을 개질함으로써, Fc 영역에 공유 결합된 푸코실화된 및/또는 이등분 올리고사카라이드의 수준을 제어하거나 하는 것을 기반으로 한다. 예를 들면, Seattle Genetics의 "당 조작된 항체(sugar engineered antibody)" 또는 "SEA 기술"은 생산 중에 푸코실화를 억제하는 개질된 사카라이드(saccharides)를

추가함으로써 기능한다. 예로, 20090317869의 전문이 참조로 포함된다. 조작된 글리코형은 일반적으로 다른 탄수화물 또는 올리고사카라이드를 의미하며, 따라서, 항체는 조작된 글리코형을 포함할 수 있다.

[0111] 또는, 조작된 글리코형은 상이한 탄수화물 또는 올리고사카라이드를 포함하는 IgG 변이체를 지칭할 수 있다. 당업계에 공지된 바와 같이, 글리코실화 패턴은 단백질의 서열(예를 들면, 하기 논의되는 특정 글리코실화 아미노산 잔기의 존재 또는 부재) 또는 단백질이 생산되는 숙주 세포 또는 유기체 모두에 의존할 수 있다. 특정 발현 시스템은 하기에 설명한다. .

[0112] 폴리펩티드의 글리코실화는 전형적으로 N-연결 또는 O-연결이다. N-연결은 아스파라긴 잔기의 측쇄에 대한 탄수화물 모이어티의 부착을 의미한다. 트리-펩티드 서열 아스파라긴-X-세린 및 아스파라긴-X-트레오닌(여기서 X는 프롤린을 제외한 임의의 아미노산임)은 아스파라긴 측쇄에 대한 탄수화물 모이어티의 효소적 부착을 위한 인식 서열이다. 따라서, 폴리펩티드에서 이들 트리-펩티드 서열 중 하나의 존재는 잠재적인 글리코실화 부위를 생성한다. O-결합 글리코실화는 포도당 N-아세틸갈락토사민(sugars N-acetylgalactosamine), 갈락토스 또는 자일로스 중 하나, 가장 일반적으로 세린 또는 트레오닌이 하이드록시아미노산에 부착되는 것을 의미하지만, 5-하이드록시프롤린 또는 5-하이드록시리신도 사용될 수 있다.

[0113] 항체에 대한 글리코실화 부위의 추가는 (N-연결된 글리코실화 부위를 위한) 상기 기재된 트리-펩티드 서열 중 하나 이상을 함유하도록 아미노산 서열을 변경함으로써 간편하게 달성된다. 변경은 또한 하나 이상의 세린 또는 트레오닌 잔기를 출발 서열(O-연결된 글리코실화 부위에 대해)에 첨가하거나 치환함으로써 이루어질 수 있다. 편의를 위해, 항체 아미노산 서열은 바람직하게는, 특히 원하는 아미노산으로 번역될 코돈(codon)이 생성되도록 미리 선택된 염기에서 표적 폴리펩티드를 암호화하는 DNA를 돌연변이시킴으로써 DNA 수준의 변화를 통해 변경된다.

[0114] 항체에서 탄수화물 모이어티의 수를 증가시키는 또 다른 방법은 단백질에 화학적 또는 효소적으로 결합시키는 것이다. 상기 공정은 N- 및 O-연결 글리코실화를 위한 글리코실화 능력을 갖는 숙주 세포에서 단백질의 생산을 필요로 하지 않는다는 점에서 유리하다. 사용되는 커플링 모드에 따라, 당(들)은 (a) 아르기닌 및 히스티딘, (b) 유리 카르복실기, (c) 시스테인과 같은 유리 설프하이드릴 그룹(free sulfhydryl group), (d) 세린, 트레오닌, 히드록시프롤린과 같은 유리 하이드록실 그룹, (e) 페닐알라닌, 티로신, 트립토판과 같은 방향족 잔기, 또는 (f) 글루타민의 아미드기에 부착될 수 있다. 이들 방법은 WO 87/05330 및 Aplin and Wriston, 1981, CRC Crit. Rev. Biochem., pp. 259-306에 기술되었으며, 상기 모든 전문이 참조로 포함된다.

[0115] 출발 항체(예: 번역 후)에 존재하는 탄수화물 모이어티의 제거는 화학적 또는 효소적으로 달성될 수 있다. 화학적 탈글리코실화(deglycosylation)는 화합물 트리플루오로메탄술폰산 또는 당가 화합물에 대한 단백질의 노출을 필요로 한다. 상기 처리는 연결 당(N-아세틸글루코사민 또는 N-아세틸갈락토사민)을 제외한 대부분의 모든 당을 절단하는 반면, 폴리펩티드는 그대로 둔다. 화학적 탈글리코실화는 Hakimuddin 외, 1987, Arch. Biochem. Biophys. 259:52 및 Edge 외, 1981, Anal. Biochem. 118:131에 기술되었으며, 모든 전문이 참조로 포함된다. 폴리펩티드 상의 탄수화물 모이어티의 효소 절단은 Thotakura 외, 1987, Meth. Enzymol. 138:350에 기술되었으며, 전문이 참조로 포함된다. 잠재적인 글리코실화 부위에서의 글리코실화는 Duskin 외, 1982, 0.1 Biol. Chem. 257:3105에 기술되었으며, 전문이 참조로 포함된다. 투니카마이신(Tunicamycin)은 단백질-N-글리코사이드(protein-N-glycoside) 결합의 형성을 차단한다.

[0116] 항체의 공유결합적 개질의 다른 유형은 예를 들면, Nektar Therapeutics 의 2005-2006 PEG 카달로그(Nektar 웹 사이트에서 접속가능), 미국 특허 제4,640,835호; 제4,496,689호; 제 4,301,144호; 제4,670,417호; 제 4,791,192호 또는 제4,179,337호에 제시된 방식으로 폴리에틸렌 글리콜, 폴리프로필렌 글리콜 또는 폴리옥시알킬렌과 같은 다양한 폴리올을 포함하지만 이에 제한되지 않는 다양한 비단백질성 폴리머에 항체를 연결하는 것을 포함하며, 상기 전문이 참조로 포함된다. 또한, 당업계에 공지된 바와 같이, PEG와 같은 폴리머의 첨가를 용이하게 하기 위해 항체 내의 다양한 위치에서 아미노산 치환이 이루어질 수 있다. 예를 들면, 미국 공개 번호 2005/0114037A1의 전문이 참조로 포함된다.

[0117] 특정 CDR 및 가변 영역의 구현예

[0118] 본 발명은 (상기 설명한 바와 같이, 일부 아미노산 치환 포함하는) 특정 CDR 세트를 각각 갖는 다수의 항체를 제공한다. 상기 설명한 바와 같이, 항체는 6개의 CDR 세트, 가변 영역, 또는 불변 영역을 포함하는 전장 중쇄 및 경쇄에 의해 정의될 수 있다. 또한, 위에서 설명한 바와 같이 아미노산 치환도 이루어질 수 있다. 일반적으로, CDR 내의 변화와 관련하여, CDR의 비교적 짧은 길이로 인해, 아미노산 개질은 일반적으로 이루어질 수 있는

아미노산 개질에 대해 기술한다. 이는 가변, 불변 또는 전장 서열에 도입될 수 있는 아미노산 개질의 수에 대한 논의에 적용할 수 있지만, 변화의 수에 추가로 이러한 변화를 "% 동일성"로 정의하는 것도 적절하다. 따라서, 본원에 기재된 바와 같이, 본 발명에 포함된 항체는 본원에 나열된 서열 번호(SEQ ID NO)와 80, 85, 90, 95, 98 또는 99% 동일하다.

- [0119] IgG418 항체에 있어서, CDR 세트는 다음과 같다: 중쇄의 3개 CDR은 HCDR1 SEQ ID NO:9(HCDR1), SEQ ID NO: 13(HCDR2) 및 SEQ ID NO: 17(HCDR3)를 포함하며, 경쇄의 3개 CDR은 SEQ ID NO: 25(LCDR1), SEQ ID NO: 29(LCDR2) 및 SEQ ID NO: 33(LCDR3)을 포함한다.
- [0120] 일부 구현예에서, 인간 CD38에 대해 결합하는 본 발명의 항체(예를 들면, scFv418 또는 IgG418)와 경쟁하는 항체가 제공된다. 2개 이상의 항-CD38 항체에 의해, CD38 또는 CD38의 일부에 대한 결합 경쟁은 당업계에 공지된 임의의 적합한 기술에 의해 결정될 수 있다.
- [0121] 본 발명의 맥락에서 경쟁은, 테스트 화합물의 존재 하에서 특정 결합 파트너, 예를 들면, CD38에 결합하는 항체의 경향에 있어서 감지가능한 상당한 감소를 의미한다. 전형적으로, 경쟁은 ELISA 또는 Biacore® 분석과 같은 표준 기술로 관측할 때 경쟁자의 존재 하에 CD38에 대한 본 발명의 항체 결합이 적어도 약 10-100% 감소하는 것을 의미한다. 따라서, 예를 들면, 항체가 충분히 경쟁력 있는 것으로 간주되기 전에 약 10% 이상의 상대적인 억제제가 관측되거나, 약 15% 이상의 상대적 억제가 관측되거나, 또는 약 20% 이상의 상대적 억제가 관측되는 경우, 경쟁력에 대한 기준을 설정하는 것이 가능하다. 항체와 경쟁하는 에피토프가 속하는 곳이 항원에 밀접하게 위치하는 경우, 경쟁은 CD38 결합의 약 40% 초과와 상대적 억제(예를 들면, 약 45% 이상 억제, 약 50% 이상 억제, 약 55% 이상 억제, 예를 들면, 약 60% 이상 억제, 예를 들면, 약 65% 이상 억제, 예를 들면, 약 70% 이상 억제, 예를 들면, 약 75% 이상 억제, 예를 들면, 약 80% 이상 억제, 예를 들면, 약 85% 이상 억제, 예를 들면, 약 90% 이상 억제, 예를 들면, 약 95% 이상 억제, 또는 더 높은 수준의 상대적 억제)로 표시될 수 있다.
- [0122] 일부 경우, 경쟁적 결합 분석의 구성요소 중 하나 이상이 진단 적용과 관련하여 아래에서 논의되는 바와 같이 표지(labeled)된다.
- [0123] 일 예로, 다양한 테스트 단편에 위치한 잘 제시된 선형 에피토프 또는 CD38뿐만 아니라 충분히 큰 CD38 단편에 제시된 구조적 에피토프에서와 같이, 예를 들면, CD38의 특정 영역의 항체-결합 특성이 그의 단편에서 유지되는 경우에 있어서, 하나 이상의 CD38 에피토프, 및/또는 CD38의 일부에 대해 항-CD38 항체 간에 경쟁이 존재하는 경우도 있다.
- [0124] 경쟁 평가는 전형적으로 본 발명의 항체, CD38 및 테스트 분자를 사용하여 상대적인 억제 결합(inhibitory binding)의 평가를 포함한다. 테스트 분자는 다른 항체, 소분자, 펩티드 등을 포함하는 임의의 분자를 포함할 수 있다. 상기 화합물들은 존재하는 다른 분자와 관련하여 문제가 되는 분자의 선택성 및/또는 특이성에 대한 정보를 제공하는 비교를 위해, 충분한 양으로 혼합된다.
- [0125] 본 발명의 테스트 화합물, CD38 및 항체의 양은 다양할 수 있다. 예를 들면, ELISA 평가에서, 경쟁이 존재하는지 여부를 평가하려면 항-CD38 항체 및/또는 CD38가 약 5-50 μ g (예를 들면, 약 10-50 μ g, 약 20-50 μ g, 약 5-20 μ g, 약 10-20 μ g 등)가 필요하다. 조건도 결합에 접합해야 한다. 전형적으로, 생리학적 조건 또는 거의 생리학적 조건(예를 들면, 약 20-40°C의 온도, 약 7-8의 pH 등)에서 항-CD38:CD38 결합에 적합하다.
- [0126] 주로 경쟁은 ELISA 및/또는 FACS 분석에 의해 결정되는 바와 같이 약 5% 보다 훨씬 큰 상대적 억제로 표시된다. 특정 상황(예: 경쟁 분석이 CD38에 대한 다른 펩티드 또는 분자(예: CD31 항원이라고도 하는 CD31, EndoCAM, GPIIA, PECAM-1, 혈소판/내피 세포 부착 분자 또는 천연 발생 항-CD38 항체와 같은 CD38의 천연 결합 파트너)의 결합을 차단하는 의도된 기능을 갖게 설계된 새로운 항체를 선택하거나 스크리닝하는 데 사용되는 경우)에서 적합한 경쟁 수준이 무엇인지에 대한 기준/결정자로서 상대적 억제의 더 높은 역치를 설정하는 것이 바람직할 수 있다.
- [0127] 일부 구현예에서, 본 발명의 항-CD38항체는 CD38의 하나 이상의 잔기 또는 영역에 특이적으로 결합하지만 BST-1(골수 기질 세포 항원-1) 및 CD157이라고도 하는 Mo5와 같이, CD38에 상동성을 갖는 다른 단백질과 교차 반응하지 않는다.
- [0128] 전형적으로, 교차 반응성의 결여는, 적합한 분석 약 서 충분한 양의 분자를 사용하는 ELISA 및/또는 FACS 분석에 의해 평가 시, 분자 간의 상대적 억제가 약 5% 미만임을 의미한다.
- [0129] CD38 활성 억제

- [0130] 개시된 항체는 리간드-수용체 상호작용을 차단하거나 수용체 성분 상호작용을 억제하는 용도를 가질 수 있다. 본 발명의 항-CD38 항체는 "차단(blocking)" 또는 "중화(neutralizing)"일 수 있다. "중화 항체"은 CD38에 대한 결합이, CD38의 생물학적 활성, 예를 들면, 리간드와의 상호 작용 능력, 효소 활성, 신호 능력, 특히 활성화된 림프구를 유발하는 능력의 억제를 유도하는 항체를 지칭하는 것으로 의도된다. CD38의 생물학적 활성의 억제는 당업계에 공지된 여러 표준 시험관 내 또는 생체 내 분석 중 하나 이상에 의해 평가될 수 있다.
- [0131] "결합을 억제한다" 또는 "결합을 차단한다"(예를 들면, CD38에 대한 CD38 결합 파트너의 결합의 억제/차단을 언급할 때)는 부분적 및 완전한 억제/차단을 모두 포함한다. CD38에 대한 CD38 결합 파트너의 결합의 억제/차단은 CD38 결합 파트너가 억제 또는 차단 없이 CD38에 결합할 때 발생하는 정상적인 수준 또는 유형의 세포 신호를 감소시키거나 변경할 수 있다. 또한, 억제 및 차단은 항-CD38 항체와 접촉하지 않는 리간드와 비교하여, 항-CD38 항체와의 접촉시 CD38에 대한 CD38 결합 파트너의 결합 친화도가 측정 가능한 정도의 임의적 감소, 예를 들면, CD38에 대한 CD38 결합 파트너의 결합 친화도가 약 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 99%, 또는 100% 이상으로 감소하는 것을 포함하도록 의도된다.
- [0132] 개시된 항-CD38 항체는 또한 세포 성장을 억제할 수 있다. "성장 억제"에는 항-CD38 항체 접촉하지 않는 세포의 성장과 비교하여 항-CD38 항체와 접촉했을 때 동일한 세포 성장에서 측정 가능한 임의적 감소, 예를 들면, 약 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 99%, 또는 100% 이상의 세포 배양 성장 억제를 포함하도록 의도된다.
- [0133] 일부 구현예에서, 개시된 항-CD38 항체는 활성화된 림프구 및 형질 세포를 고갈시킬 수 있다. 여기서 "고갈"은 처리되지 않은 동물과 비교하여 (예를 들면, 청록색 원숭이에서 테스트된 바와 같이) 활성화된 림프구 및/또는 형질 세포의 혈청 수준의 측정 가능한 감소를 의미한다. 일반적으로, 약 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 99% 또는 100% 이상의 고갈이 나타난다. 하기 실시예에서 나타난 바와 같이, 추가로, 본 발명의 항체가 나타내는 한 가지 특별한 이점은 투약 후 이들 세포의 회복성이다. 즉, 일부 치료(예: 항-CD20 항체)에 대해 알려진 바와 같이, 세포 고갈은 장기간 지속되어 원치 않는 부작용을 일으킬 수 있다. 본원에 나타난 바와 같이, 활성화된 림프구 및/또는 형질 세포에 대한 효과는 회복 가능하다.
- [0134] 본 발명 항체의 제조방법
- [0135] 본 발명은 개시된 항-CD38 항체를 제조하는 방법을 추가로 제공한다. 이러한 방법은 본 발명의 항체를 암호화하는 분리된 핵산(들)을 함유하는 숙주 세포를 배양하는 것을 포함한다. 당업자라면 이해할 수 있는 바와 같이, 이는 항체의 본성에 따라 다양한 방식으로 수행될 수 있다. 일부 구현예에서, 본 발명의 항체가 전장의 전통적인 항체인 경우, 예를 들어 항체가 생성되고 분리될 수 있는 조건 하에서 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역이 있다.
- [0136] 일반적으로, 본 발명의 항체를 암호화하는 핵산이 제공된다. 이러한 폴리뉴클레오타이드는 각각의 중쇄 및 경쇄의 가변 영역 및 불변 영역 모두를 암호화하지만, 본원에 기술된 조성물에 따라 본 발명에 의한 다른 조합도 고려된다. 본 발명은 또한 개시된 폴리뉴클레오타이드로부터 유도된 올리고뉴클레오타이드 단편 및 이들 폴리뉴클레오타이드에 대한 상보적인 핵산 서열도 고려한다.
- [0137] 폴리뉴클레오타이드는 RNA 또는 DNA의 형태일 수 있다. DNA, cDNA, 게놈 DNA, 핵산 유사체 및 합성 DNA 형태의 폴리뉴클레오타이드는 본 발명의 범위 내에 포함된다*. DNA는 이중 가닥 또는 단일 가닥일 수 있으며, 단일 가닥인 경우 암호화(센스) 가닥 또는 비암호화(안티센스) 가닥일 수 있다. 폴리펩티드를 암호화하는 암호화 서열(coding sequence)은 본원에 제공된 암호화 서열과 동일하거나, 유전 암호(genetic code)의 중복(redundancy) 또는 퇴화(degeneracy)의 결과로서 상이한 암호화 서열일 수 있으며, 이때 서열은 본원에 제공된 DNA와 동일한 폴리펩티드를 암호화한다.
- [0138] 일부 구현예에서, 본 발명의 항체를 암호화하는 핵산(들)은 염색체외(extrachromosomal)이거나, 도입되는 숙주 세포의 게놈으로 통합되도록 설계될 수 있는 발현 벡터에 통합된다. 발현 벡터는 임의의 수의 적절한 조절 서열(전사 및 번역 제어 서열, 프로모터, 리보솜 결합 부위, 인핸서, 복제 기점 등을 포함하나 이에 제한되지 않음) 또는 기타 구성요소(선택 유전자 등)를 함유할 수 있다. 이들 모두는 당업계에 잘 알려진 바와 같이 작동가능하게 연결된다. 일부 경우, 두 개의 핵산이 사용되며 각각 다른 발현 벡터에 삽입되거나(예: 첫 번째 발현 벡터의 중쇄, 두 번째 발현 벡터의 경쇄) 또는 동일한 발현 벡터에 삽입될 수 있다. 당업자는 조절 서열의 선택을 포함하는 발현 벡터(들)의 설계는 숙주 세포의 선택, 원하는 단백질의 발현 수준 등과 같은 요인에 따라 달라질 수 있음을 이해할 것이다.

- [0139] 일반적으로, 핵산 및/또는 발현은 선택된 숙주 세포에 적절한 임의의 방법(예를 들면, 형질전환, 형질감염, 전기천공법, 감염)을 사용하여 재조합 숙주 세포를 생성하기 위해 적합한 숙주 세포 내로 도입될 수 있으며, 핵산 분자(들)는 하나 이상의 발현 제어 요소(예를 들면, 벡터에서, 숙주 세포 계층으로 통합되는, 세포에서 프로세스에 의해 생성된 구성에서)에 작동가능하게 연결된다. 생성된 재조합 숙주 세포는 발현에 적합한 조건 하에서(예를 들면, 유도 인자의 존재 하에서, 적절한 비인간 동물에서, 적절한 염, 성장 인자, 항생제, 영양 보충제 등으로 보충된 적절한 배양 배지에서) 유지될 수 있으며, 이로써 암호화된 폴리펩티드(들)가 생성된다. 일부 경우에, 중쇄가 일 세포에서 생성되고, 경쇄가 다른 세포에서 생성된다*.
- [0140] 발현을 위한 숙주로서 이용가능한 포유동물 세포주는 당업계에 공지되어 있으며, 중국 햄스터 난소(CHO) 세포, HEK 293, NSO 세포, HeLa 세포, 아기 햄스터 신장(BHK) 세포, 원숭이 신장 세포(COS), 인간 간세포 암종 세포(예: Hep G2), 및 다수의 기타 세포주 세포를 포함하나 이에 제한되지 않는다. 박테리아, 효모, 곤충 및 식물을 포함하지만 이에 제한되지 않는 비포유류 세포는 또한 재조합 항체를 발현하는데 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, 상기 항체는 소나 닭과 같은 형질전환 동물에서 제조될 수 있다.
- [0141] 적용 및 지표
- [0142] 일단 생성된 본 발명의 항체는 CD38-관련 질환의 진단 및 이의 치료를 포함하는 다양한 적용에 있어서 용도를 가진다.
- [0143] CD38 관련 상태
- [0144] 일 측면에서, 본 발명은 염증 및 면역 질환, 특히 활성화된 림프구와 관련된 질환과 관련된 상태를 진단 및 치료하는 방법을 제공한다. 본원에서 나타낸 바와 같이, CD38은 미성숙 조혈 세포에서 발현되고, 성숙 세포에서 하향 조절되며, 활성화된 림프구 및 형질 세포에서 높은 수준으로 재발현된다. 예를 들면, 높은 CD38 발현은 활성화된 B 세포, 형질 세포, 활성화된 CD4+ T 세포, 활성화된 CD8+ T 세포, NK 세포, NKT 세포, 성숙한 수지상 세포(DC) 및 활성화된 단핵구에서 나타난다.
- [0145] 본 발명의 치료용 항-CD38 항체는 CD38 양성 세포에 결합하여 CDC, ADCC 및 ADCC 경로를 포함하는 다수의 작용 기전을 통해 활성화된 림프구와 같은 이들 세포를 고갈시킨다.
- [0146] 따라서, CD38의 증가된 발현 또는 질환의 구성요소로서 CD38 발현 세포의 증가된 수를 나타내는 임의의 자가면역 질환은 본 발명의 항체를 사용하여 치료될 수 있다. 여기에는 전신성 홍반성 루푸스(SLE), 류마티스 관절염(RA), 전신 경화증(SSc), 다발성 경화증(MS), 염증성 장 질환(IBD), 궤양성 대장염, 동종 섬 이식 거부(allogeneic islet graft rejection), 원형 탈모증(alopecia areata), 강직성 척추염(ankylosing spondylitis), 항인지질 증후군(antiphospholipid syndrome), 자가면역 애디슨병(autoimmune Addison's disease), 항호중구 세포질 항체(ANCA), 부신의 자가면역 질환, 자가면역 용혈성 빈혈(hemolytic anemia), 자가면역 간염(hepatitis), 자가면역 심근염(myocarditis), 자가면역 호중구감소증(eutropenia), 자가면역 난소염(oophoritis) 및 고환염(orchitis), 자가면역성 혈소판감소증(thrombocytopenia), 자가면역성 두드러기(urticaria), 베체트병(Behcet's disease), 물집유사천포창(bullous pemphigoid), 심근병증(cardiomyopathy), 캐슬만 증후군(Castleman's syndrome), 체강 스프루스-피부염(celiac spruce-dermatitis), 만성 피로 면역 장애 증후군(chronic fatigue immune dysfunction syndrome), 만성 염증성 탈수초성 다발신경병증(chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy), 처그-스트라우스 증후군(Churg-Strauss syndrome), 흉터유사천포창(cicatricial pemphigoid), CREST 증후군(CREST syndrome), 한랭응집질환(cold agglutinin disease), 크론병(Crohn's disease), 피부근염(dermatomyositis), 원판상 루푸스(discoid lupus), 필수 혼합 한랭글로불린혈증(essential mixed cryoglobulinemia), 인자 VIII 결핍(factor VIII deficiency), 섬유근육통-섬유근염(fibromyalgia-fibromyositis), 사구체신염(glomerulonephritis), 그레이브스병(Grave's disease), 길랭-바레(Guillain-Barre) 증후군, 굿파스처 증후군(Goodpasture's syndrome), 이식편대숙주병(GVHD), 하시모토 갑상선염(Hashimoto's thyroiditis), A형 혈우병(hemophilia A), 특발성 폐섬유증(idiopathic pulmonary fibrosis), 특발성 혈소판감소증 자반병(ITP), IgA 신경병증(IgA neuropathy), IgM 다발신경병증(IgM polyneuropathies), 면역매개성혈소판감소증(immune mediated thrombocytopenia), 소아관절염(juvenile arthritis), 가와사키병(Kawasaki's disease), 편평 태선(lichen planus), 홍반성낭창(lupus erythematosus), 메니에르병(Meniere's disease), 혼합결합조직병(mixed connective tissue disease), 다발성 경화증(multiple sclerosis), 제1형 당뇨병(type 1 diabetes mellitus), 중증근무력증(myasthenia gravis), 심상성 천포창(pemphigus vulgaris), 악성빈혈(pernicious anemia), 결절다발동맥염(polyarteritis nodosa), 다발성연골염(polychondritis), 다선성 증후군(polyglandular syndromes), 류마티스성 다발근통(polymyalgia rheumatica), 다발근염(polymyositis) 및

피부근염(dermatomyositis), 원발성 무감마글로빈린혈증(primary agammaglobulinemia), 원발성 담즙성 간경변증(primary biliary cirrhosis), 건선(psoriasis), 건선성 관절염(psoriatic arthritis), 레이놀드 현상(Reynauld's phenomenon), 라이터 증후군(Reiter's syndrome), 류마티스성 관절염(rheumatoid arthritis), 유육종증(sarcoidosis) 피부경화증 (Scleroderma), 쇼겐 증후군(Sjorgen's syndrome), 고형 장기 이식 거부(solid organ transplant rejection), 강직 남성 증후군(stiff-man syndrome), 전신성 홍반성 루푸스(systemic lupus erythematosus), 타카야수 동맥염(takayasu arteritis), 측두동맥염/거세포성동맥염(temporal arteritis/giant cell arteritis), 혈전성 혈소판감소성 자반(thrombotic thrombocytopenia purpura), 궤양성 대장염(ulcerative colitis), 포도막염(uveitis), 진상 피부염 혈관병증 (dermatitis herpetiformis vasculitis)과 같은 혈관염(vasculitides), 백반증(vitiligo) 및 베게너 육아종증(Wegener granulomatosis)이 포함되지만 이에 국한되지 않는다.

[0147] 일부 구현예에서의 특정 용도는 전신성 홍반성 루푸스 (SLE), 류마티스 관절염(RA), 전신 경화증(SSc), 다발성 경화증(MS), 염증성 장 질환(IBD), 당뇨병(diabetes), 이식편대숙주병(graft-v-host disease) 및 궤양성 대장염(ulcerative colitis)을 포함하나 이에 제한되지 않는 자가면역 질환을 포함하나 이에 제한되지 않는, 다수의 질환의 진단 및/또는 치료에 사용하기 위한 본 발명 항체의 용도이다.

[0148] 따라서, 예를 들면, 높은 형질 세포를 나타내는 SLE 환자뿐만 아니라 CD20 기반 요법에 반응하지 않는 것으로 나타난 RA 환자와 같은 높은 형질 세포 함량을 갖는 환자가 선택될 수 있다.

[0149] 한 측면에서, 본 발명은 약학적으로 유효량의 개시된 항체를 환자에게 투여하는 것을 포함하며, CD38을 발현하는 세포의 증식과 관련된 상태를 치료하는 방법을 제공한다. 특정 구현예에서, 상태가 암이며, 특정 구현예에서 암은 혈액암이다. 다른 특정 구현예에서, 상태는 다발성 골수종, 만성 림프모구 백혈병, 만성 림프구성 백혈병, 형질 세포 백혈병, 급성 골수성 백혈병, 만성 골수성 백혈병, B-세포 림프종 또는 버킷 림프종(Burkitt's lymphoma)이다.

[0150] 특정 조건들이 CD38을 발현하는 세포와 관련되고, 상기 특정 조건이 세포 표면에서 CD38의 과발현, 고밀도 발현 또는 상향조절된 발현과 연관된다는 것이 당업계에 공지되어 있다. 세포 집단이 CD38을 발현하는지 여부는 공지된 방법에 의해 결정될 수 있으며, 예를 들면, CD38에 특이적으로 결합하는 항체에 의해 표지된 어느 집단 내의 세포 백분율을 측정하는 유동 세포측정법(flow cytometric determination) 또는 진단 적용을 위해 일반적으로 아래에 기재된 바와 같은 면역조직화학적 분석(immunohistochemical assays)에 의해 결정될 수 있다. 세포 집단이 CD38을 발현하는지 여부를 결정하기 위해 다른 기준을 사용할 수 있지만, 예를 들면, (Jackson 외 (1988), Clin. Exp. Immunol. 72: 351-356에서와 같이), 세포의 약 10-30%에서 CD38 발현이 검출되는 세포 집단은 CD38에 대해 약한 양성을 갖는 것으로 간주될 수 있고, 약 30% 초과인 세포에서 CD38 발현이 검출되는 세포 집단은 CD38에 대해 확실한 양성을 갖는 것으로 간주될 수 있다. 세포 표면에서의 발현 밀도는 예를 들면, CD38에 특이적으로 결합하는 항체를 사용하여 형광 표지된 세포의 평균 형광 강도의 유동세포측정법 측정과 같이 당업계에 공지된 방법을 사용하여 결정될 수 있다.

[0151] 일부 구현예에서, 본 발명의 조성물 및 방법은 혈액 형성 조직의 악성 신생물을 지칭하고 백혈병, 림프종 및 다발성 골수종을 포함하는 용어인 "혈액암"과 같은 암에 적용된다. CD38 발현과 관련된 상태의 비제한적 예는, 당업자에게 잘 알려진 형태학적, 조직화학적 및 면역학적 기술에 의해 정의되는 이들 백혈병의 모든 서브타입 및 모세포 백혈병에 있어서, 다발성 골수종(Jackson 외 (1988), Clin. Exp. Immunol. 72: 351-356), B-세포 만성 림프구성 백혈병(B-CLL) Durig 외 (2002), Leukemia 16: 30-5; Morabito 외 (2001), Leukemia Research 25: 927-32; Marinov 외 (1993), Neoplasma 40(6): 355-8; 및 Jelinek 외 (2001), Br. J. Haematol. 115: 854-61), 급성 림프모구 백혈병(Keyhani 외 (1999), Leukemia Research 24: 153-9; and Marinov 외 (1993), Neoplasma 40(6): 355-8), 만성 골수성 백혈병 (Marinov 외 (1993), Neoplasma 40(6): 355-8), 급성 골수성 백혈병 (Keyhani 외 (1999), Leukemia Research 24: 153-9), 만성 림프구성 백혈병(CLL), 만성 골수성 백혈병 백혈병 또는 만성 골수성 백혈병(CML), 급성 골수성 백혈병 또는 급성 골수성 백혈병(AML), 급성 림프구성 백혈병(ALL), 모세포 백혈병(HCL), 골수이형성 증후군(MDS) 또는 만성 골수성 백혈병(CML-BP)을 포함하나 이에 제한되지 않는다.

[0152] "신생물(neoplasm)" 또는 "신생물 상태(neoplastic condition)"는 조절되지 않는 성장, 분화 결여, 국소 조직 침습 및 전이를 포함하는 하나 이상의 증상을 초래하는 정상 제어의 상실을 특징으로 하는 세포의 증식과 관련된 상태를 지칭한다.

[0153] 본 발명의 일부 구현예에서, 혈액암은 만성 림프구성 백혈병(CLL), 만성 골수성 백혈병(CML), 급성 골수성 백혈

병(AML) 및 급성 림프구성 백혈병(ALL)의 군으로부터 선택된다.

- [0154] 또한, CD38 발현이 예를 들면, B-세포 만성 림프구성 백혈병(Durig et al. (2002), *Leukemia* 16: 30-5; and Morabito et al. (2001) 및 급성 골수성 백혈병(Keyhani et al. (1999), *Leukemia Research* 24: 153-9)과 같은 상태를 갖는 환자에 대한 예후 지표임은 당업계에 알려져 있다.
- [0155] CLL은 서구 세계에서 가장 흔한 성인 백혈병이다. CLL은 골수의 진행성 침윤(progressive infiltration) 및 말초 혈액에서의 존재와 함께 림프절 및 기타 림프성 조직을 포함하는 성숙-외견 림프구(mature-appearing lymphocytes)의 클론 확장(clonal expansion)을 포함한다. B-세포 형태(B-CLL)는 거의 모든 경우에 나타난다.
- [0156] B-CLL
- [0157] B-CLL은 수년에 걸쳐 골수와 말초혈액에 축적되는 무반응(anergic) 단클론 B 계통 세포가 점진적으로 증가하는 것이 특징인 난치병이다. CD38의 발현은 B-CLL에 대한 독립적인 나쁜 예후 인자로 간주된다. Hamblin 외, *Blood* 99:1023-9 (2002).
- [0158] B-CLL의 오늘날의 표준 요법은 완화적이며, 주로 세포증식억제제(cytostatic agent)인 클로람부실(chlorambucil) 또는 플루다라빈(fludarabine)으로 수행된다. 재발이 발생하면 리툭시맵(rituximab)(CD20에 대한 단클론항체) 또는 캄패스(campath)(CD52에 대한 단클론항체)와 병용하여 플루다라빈(fludarabine), 시클로포스파미드(cyclophosphamide)를 사용하는 병용 요법이 주로 개시된다. 따라서 B-CLL의 치료에 대해 결정적으로 충족되지 않은 의학적 수요가 있다. 일부 구현예에서, 개시된 항-CD38 항체를 사용하여 B-CLL을 치료하는 방법이 제공된다(또한, 아래에 설명한 바와 같이, 이는 임의로 및 독립적으로 임의의 상기 약물을 포함하는 병용 요법을 사용하여 수행될 수 있다).
- [0159] B-CLL은 나태하고 공격적인 두 가지 서브타입이 특징이다. 이러한 임상적 표현형은 면역글로불린 중쇄 가변 영역(IgVH) 유전자에서 체세포 돌연변이(somatic mutation)의 존재 또는 부재와 상관관계가 있다. 본원에 사용된 바와 같이, 나태한 B-CLL(indolent B-CLL)은 돌연변이된 IgVH 유전자를 가지거나, 및/또는 나태한 B-CLL과 관련된 하나 이상의 임상적 표현형(phenotypes)을 나타내는 대상체의 장애를 의미한다 본원에 사용된, 문구 공격적 B-CLL은 돌연변이되지 않은 IgVH를 가지거나, 및/또는 공격적 B-CLL과 관련된 하나 이상의 임상적 표현형을 나타내는 대상체의 장애를 의미한다
- [0160] 다발성 골수종
- [0161] 다발성 골수종은 골수에서 형질 세포의 종양 증식(neoplastic proliferation)을 특징으로 하는 B 세포 계열의 악성 장애이다. 현재 치료 요법은 중간 정도의 반응률을 보인다. 그러나 전체 생존률에는 미미한 변화만 관찰되며 평균 생존은 약 3년이다. 따라서, 다발성 골수종 치료에 대한 결정적으로 충족되지 않은 의학적 수요가 있다. 일부 구현예에서, 개시된 항체를 사용하여 다발성 골수종을 치료하는 방법이 제공된다.
- [0162] CD38은 최종적으로 분화된 B 세포인 형질 세포에서 고도로 발현된다.
- [0163] 골수종 세포의 증식은 뼈의 용해성 병변(lytic lesions)(구멍), 적혈구 수 감소, (신장, 신경 및 기타 기관에 대산 손상을 수반하는) 비정상 단백질 생성, 면역 체계 기능 감소, 및 혈중 칼슘 수치 상승(고칼슘혈증)을 포함하는 다양한 효과를 야기한다.
- [0164] 현재 치료 옵션은, 바람직하게는 가능한 경우, 자가 줄기 세포 이식(ASCT)과 관련된 화학 요법이 포함된다.
- [0165] 유의성 미확인된 단클론 감마병증(Monoclonal Gammopathy) 및 아급성 다발골수종(Smoldering Multiple Myeloma)
- [0166] 일부 구현예에서, 개시된 항체를 사용하여 단클론 감마병증을 치료하는 방법이 제공된다. 다른 구현예에서, 개시된 항체를 사용하여 무증상 다발성 골수종(smoldering multiple myeloma)을 치료하는 방법이 제공된다.
- [0167] 유의성 미확인된 단클론 감마병증(MGUS) 및 무증상 다발성 골수종(SMM)은 무증상의 전악성 장애로 골수에서의 단클론 형질 세포 증식, 및 말단 기관 손상의 부재가 특징이다.
- [0168] 무증상 다발성 골수종(SMM)은 증후성 또는 활동성 다발성 골수종으로의 진행 위험이 높은 형질 세포의 무증상 증식 장애이다(N. Engl. J. Med. 356(25): 2582-2590 (2007)).
- [0169] SMM을 정의하는 국제 합의 기준은 2003년에 채택되었으며 환자가 30g/L 초과 M-단백질 수준 및/또는 10% 초과 골수 클론 형질 세포를 가질 것을 요구한다(Br. J. Haematol. 121: 749-57(Br. J. Haematol. 121: 749-57)

2003)). 환자는 뼈 병변 또는 증상을 포함하여 장기 또는 관련 조직 손상이 없어야 한다(Br. J. Haematol. 121: 749-57 (2003)).

- [0170] 최근 연구에서는 SMM의 두 개의 서브세트를 확인하였다. i) 진화하는 질환을 갖는 환자 및 ii) 진화하지 않는 질환이 있는 환자(Br. J. Haematol. 121: 631-636 (2003)). MGUS를 정의하는 국제적 합의 기준은 환자의 M 단백질 수준이 30g/L 미만이고, 골수 형질 세포가 10% 미만이며, 뼈 병변이나 증상을 포함한 장기 또는 관련 조직 손상이 없어야 한다고 요구한다(Br. J. Haematol 121: 749-57(2003)).
- [0171] SMM은 말단 기관 손상이 없다는 점에서 유의성 미확인된 단클론 감마병증(Monoclonal Gammopathy)과 유사하다(N. Engl. J. Med. 356(25): 2582-2590 (2007)). 그러나 임상적으로 SMM은 20년제에 활성 다발성 골수종 또는 아밀로이드증으로 진행될 가능성이 훨씬 더 높다(SMM의 경우 78% vs. MGUS의 경우 21%)(N. Engl. J. Med. 356(25): 2582-2590 (2007)).
- [0172] 또한, 최근 여러 다른 연구에서 CD38 항체 요법이 PD1/PDL1 요법에 대한 종양 세포의 저항성을 없앨 수 있다고 밝혔다. 따라서, 본 발명의 항-CD38 치료제는 골수종에 국한되지 않고, PD1/PDL1 또는 다른 면역 체크포인트 표적 요법과의 조합에 의해 다른 모든 종류의 암에서 진단 및 치료적 적용을 갖는다.
- [0173] 생체 내 투여용 항체
- [0174] 본 발명에 따라 사용되는 항체의 제제는 원하는 정도의 순도를 갖는 항체를 임의의 약학적으로 허용가능한 담체, 부형제 또는 안정화제와 혼합하여 동결건조 제제 또는 수용액 형태로 저장용으로 제조된다(Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. [1980]). 허용되는 담체, 부형제 또는 안정화제는 사용된 용량 및 농도에서 수용자에게 무독성이며, 인산염, 구연산염(citrate) 및 기타 유기산과 같은 완충제; 아스코르브산 및 메티오닌을 포함하는 항산화제; 방부제(옥타데실디메틸벤질 암모늄 클로라이드; 헥사메토늄 클로라이드; 벤잘코늄 클로라이드, 벤제토늄 클로라이드; 페놀, 부틸 또는 벤질 알코올; 메틸 또는 프로필 파라벤과 같은 알킬 파라벤; 카테콜; 레조르시놀; 사이클로헥산올; 3-펜탄올 및 m-크레졸 등); 저분자량(약 10개 미만의 잔기) 폴리펩티드; 혈청 알부민, 젤라틴 또는 면역글로불린과 같은 단백질; 폴리비닐피롤리돈과 같은 친수성 고분자; 글리신, 글루타민, 아스파라긴, 히스티딘, 아르기닌 또는 리신과 같은 아미노산; 포도당, 만노스 또는 텍스트린을 포함하는 당류, 이당류 및 기타 탄수화물; EDTA와 같은 킬레이트제; 수크로즈, 만니톨, 트레할로즈 또는 소르비톨과 같은 당류; 나트륨과 같은 염 형성 반대 이온; 금속 착물(예: Zn-단백질 착물); 및/또는 TWEEN 제, PLURONICS 제 또는 폴리에틸렌 글리콜(PEG)과 같은 비이온성 계면활성제를 포함한다.
- [0175] 본원의 제제는 또한 치료되는 특정 적응증에 필요한 하나 이상의 활성 화합물, 바람직하게는 서로 역효과를 내지 않는 상보적 활성을 갖는 활성 화합물을 함유할 수 있다. 예를 들면, 다른 특이성을 가진 항체를 제공하는 것이 바람직할 수 있다. 대안적으로 또는 추가로, 조성물은 세포독성제, 사이토카인, 성장 억제제 및/또는 소분자 길항제를 포함할 수 있다. 이러한 분자는 의도된 목적에 효과적인 양으로 적절하게 조합되어 존재한다.
- [0176] 활성 성분은, 또한 예를 들면, 콜로이드성 약물 전달 시스템 또는 매크로에멀전 각각에 있어서, 예를 들면, 코아세르베이션 기술(coacervation techniques) 또는 계면 중합에 의해 제조된 마이크로캡슐(예를 들면, 리포솜, 알부민 마이크로캡슐, 마이크로에멀전, 나노입자 및 나노캡슐) 내에 포획될 수 있다. 이러한 기술은 Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980)에 개시되어 있다.
- [0177] 생체 내 투여에 사용되는 제제는 무균이거나 거의 무균 상태여야 한다. 이는 멸균 여과막을 통한 여과에 의해 쉽게 달성된다.
- [0178] 서방성 제제(Sustained-release preparation)가 준비될 수 있다. 서방성 제제의 적합한 예는 항체를 함유하는 고체 소수성 폴리머의 반투과성 매트릭스를 포함하며, 상기 매트릭스는 성형품, 예를 들면, 필름 또는 마이크로캡슐의 형태이다. 서방성 매트릭스의 예는 폴리에스테르, 하이드로겔(예를 들면, 폴리(2-히드록시에틸-메타크릴레이트) 또는 폴리(비닐알코올)), 폴리락타이드(미국 특허 제3,773,919호), L-글루탐산과 감마-에틸-L-글루타메이트(gamma-ethyl-L-glutamate)의 코폴리머, 비분해성 에틸렌-비닐 아세테이트, 분해성 젯산-글리콜산 코폴리머, 예를 들면, LUPRON DEPOT 제(젯산-글리콜산 코폴리머(lactic acid-glycolic acid copolymer)와 류프로라이드 아세테이트(leuprolide acetate)로 구성된 주사 가능한 마이크로캡슐) 및 폴리-D-(-)-3-하이드록시부티르산을 포함한다. 에틸렌-비닐 아세테이트(ethylene-vinyl acetate) 및 젯산-글리콜산(lactic acid-glycolic acid)과 같은 폴리머는 100일 이상 분자를 방출할 수 있는 반면, 특정 하이드로겔은 더 짧은 시간 동안 단백질을 방출한다.
- [0179] 캡슐화된 항체가 체내에 장기간 남아있을 경우, 37°C에서 수분에 노출되어 변성되거나 응집되어 생물학적 활성

이 상실되고 면역원성 변화가 일어날 수 있다. 관련된 메커니즘에 따라 안정화를 위한 합리적인 전략이 고안될 수 있다. 예를 들면, 응집 메커니즘이 티오-디설파이드 상호교환을 통한 분자간 S-S 결합 형성인 것으로 밝혀지면, 설프하이드릴 잔기(sulfhydryl residues)의 개질, 산성 용액으로부터 동결 건조, 수분 함량 제어, 적절한 첨가제 사용, 특정 폴리머 매트릭스 개발을 통해 안정화를 달성할 수 있다.

[0180] 투여 양식

[0181] 본 발명의 항체 및 화학요법제는 예를 들면, 일정 기간에 걸친 연속 주입, 근육내, 복강내, 뇌척수내, 피하, 관절내, 윤활막내, 척수강내, 경구, 국소 또는 흡입 경로에 의해 또는 볼루스(bolus)로서 정맥내 투여 등과 같이 공지된 방법에 의해 대상체에 투여된다. 상기 항체는 정맥주사 또는 피하주사가 바람직하다.

[0182] 치료 양식

[0183] 본 발명의 방법에서, 요법은 질환 또는 상태에 대해 긍정적인 치료 반응을 제공하기 위해 사용된다. "긍정적인 치료 반응"은 질환 또는 상태의 개선, 및/또는 질환 또는 상태와 관련된 증상의 개선을 의미한다. 예를 들면, 긍정적인 치료 반응은 다음과 같은 질환의 개선 중 하나 이상을 의미한다. (1) 종양 세포(neoplastic cell) 수의 감소; (2) 종양 세포 사멸의 증가; (3) 종양 세포 생존의 억제; (4) 종양 성장의 억제(즉, 어느 정도 둔화, 바람직하게는 정지); (5) 환자 생존율 증가; 및 (6) 질환 또는 상태와 관련된 하나 이상의 증상으로부터 약간의 경감.

[0184] 임의의 질환 또는 상태에서 긍정적인 치료 반응은 해당 질환 또는 상태에 특정한 표준화된 반응 기준에 의해 결정될 수 있다. 종양 반응은 자기공명영상(MRI) 스캔, x-방사선 영상, 컴퓨터 단층촬영(CT) 스캔, 뼈 스캔 이미징, 내시경 검사, 골수 흡인(BMA)을 포함한 종양 생검 샘플링 및 순환계의 종양 세포 계수 등과 같은 스크리닝 기술을 사용하여 종양 형태(즉, 전체 종양 부하, 종양 크기 등)의 변화로 평가할 수 있다.

[0185] 이러한 긍정적인 치료 반응에 더하여, 치료를 받는 대상체는 질환과 관련된 증상이 개선되는 유의한 효과를 경험할 수 있다.

[0186] 따라서, B 세포 종양의 경우 대상체는 소위 B 증상, 즉 야간 발한, 발열, 체중 감소 및/또는 두드러기(urticaria)의 감소를 경험할 수 있다. 전악성 상태(pre-malignant condition)의 경우, 항-CD38 치료제를 사용한 요법은 예를 들면, 유의성 미확인된 단클론 감마병증(Monoclonal (MGUS)을 앓고 있는 대상체에서 다발성 골수종의 발생을 차단하거나, 관련 악성 상태의 발생 전 시간을 연장할 수 있다.

[0187] 질환에서 개선은 완전 반응으로 특징지어질 수 있다. "완전 반응"은 골수종의 경우, 임의의 이전 비정상 방사선 검사, 골수 및 뇌척수액(CSF) 또는 비정상 단클론 단백질의 정상화로 인해 임상적으로 감지 가능한 질환이 없음을 의미한다.

[0188] 상기 반응은 본 발명의 방법에 따른 치료 후 적어도 4 내지 8주, 또는 때로 6 내지 8주 동안 지속될 수 있다. 또는 질환의 개선은 부분 반응으로 분류될 수 있다. "부분 반응"은 4 내지 8주 또는 6 내지 8주 동안 지속될 수 있는 새로운 병변이 없을 때, 모든 측정 가능한 종양 부하(즉, 대상체에 존재하는 악성 세포의 수 또는 측정된 종양 덩어리의 부피 또는 비정상 단클론 단백질의 양)의 적어도 약 50% 감소를 의미한다.

[0189] 본 발명에 따른 치료는 사용되는 약제의 "치료학적 유효량"을 포함한다. "치료학적 유효량"은 원하는 치료 결과를 달성하기 위해 필요한 기간 동안 용량에서의 효과적인 양을 의미한다.

[0190] 치료학적 유효량은 개인의 질환 상태, 연령, 성별 및 체중 및 개인별 원하는 반응을 유도하는 약제의 능력 등의 인자에 따라 달라질 수 있다. 치료학적 유효량은 또한 항체 또는 항체 부분의 임의의 독성 또는 해로운 효과가 치료학적 유의한 효과보다 더 중요한 것이다.

[0191] 종양 치료를 위한 "치료학적 유효량"은 또한 질환의 진행을 안정화시키는 능력에 의해 측정될 수 있다. 암을 억제하는 화합물의 능력은 인간 종양에서 효능을 예측하는 동물 모델 시스템에서 평가될 수 있다.

[0192] 또한, 조성물의 상기 특성은 숙련된 당업자에게 공지된 시험관 내 분석에 의해 세포 성장을 억제하거나 아폽토시스를 유도하는 화합물의 능력을 관찰함으로써 평가될 수 있다. 치료 화합물의 치료학적 유효량은 대상체에서 종양 크기를 감소시키거나 그렇지 않으면 증상을 완화시킬 수 있다. 당업자는 대상체의 크기, 대상체의 증상의 중증도 및 선택된 특정 조성물 또는 투여 경로와 같은 인자에 기초하여 상기 양을 결정할 수 있다.

[0193] 투여 요법은 원하는 최적의 반응(예: 치료 반응)을 제공하도록 조정된다. 예를 들면, 단일 볼루스가 투여되거나, 여러 분할 용량이 시간 경과에 따라 투여되거나, 용량이 치료 상황의 긴급성에 의해 지시된 바와

같이 비례적으로 감소 또는 증가될 수 있다. 비경구 조성물은 투여의 용이성 및 용량의 균일성을 위해 투여 단위 형태로 제형화될 수 있다. 본원에 사용된 용량 단위 형태는 치료될 대상체에 대한 단일 용량으로 적합한 물리적으로 분리된 단위를 의미하며; 각 단위는 요구되는 약제학적 담체와 함께 원하는 치료 효과를 발휘하도록 계산된 활성 화합물의 미리 결정된 양을 포함한다.

- [0194] 본 발명의 투여 단위 형태에 대한 사양은 (a) 활성 화합물의 고유 특성 및 달성하고자 하는 특정 치료 효과, 및 (b) 개인의 민감성 치료를 위한 활성 화합물 등의 합성 기술에 내재된 한계에 의해 지시되고 직접적으로 의존한다.
- [0195] 본 발명에 사용된 항-CD38 항체에 대한 효율적인 용량 및 투여 요법은 치료할 질환 또는 상태에 따라 다르며 담당자에 의해 결정될 수 있다.
- [0196] 본 발명에서 사용되는 항-CD38 항의 치료학적 유효량에 대한 예시적이고 비제한적인 범위는 약 0.1-100 mg/kg, 예를 들면, 약 0.1-50 mg/kg, 예를 들면, 약 0.1-20 mg/kg, 예를 들면, 약 0.1-10 mg/kg, 예를 들면, 약 0.5, 예를 들면, 약 0.3, 약 1, 또는 약 3 mg/kg이다. 또 다른 구현예에서, 항체는 1 mg/kg 이상의 용량, 예를 들면, 1 내지 20 mg/kg의 용량, 예를 들면, 5 내지 20 mg/kg의 용량, 예를 들면, 8 mg/kg의 용량으로 투여된다.
- [0197] 해당 분야에서 통상의 기술을 보유한 의료인은 필요한 약제학적 조성물의 유효량을 용이하게 결정하고 처방할 수 있다. 예를 들면, 의사 또는 수의사는 원하는 치료 효과를 달성하기 위해 필요한 수준보다 낮은 수준에서 약학 조성물에 사용되는 약제의 용량으로 시작하고 원하는 효과가 달성될 때까지 용량을 점진적으로 증가시킬 수 있다.
- [0198] 일 구현예에서, 항-CD38 항체는 10 내지 500 mg/kg, 예를 들면, 200 내지 400 mg/kg의 주간 용량으로 주입에 의해 투여된다. 이러한 투여는 예를 들면, 1 내지 8회, 예를 들면, 3 내지 5회 반복될 수 있다. 투여는 2 내지 24시간, 예를 들면, 2 내지 12시간의 기간에 걸쳐 연속 주입으로 수행될 수 있다.
- [0199] 일 구현예에서, 항-CD38 항체는 독성을 포함하는 부작용을 감소시키기 위해 필요하다면 24시간 초과와 같이, 장기간에 걸쳐 느린 연속 주입으로 투여된다.
- [0200] 일 구현예에서, 항-CD38 항체는 최대 8회, 예를 들면, 4내지 6회 동안 250 mg 내지 2000 mg, 예를 들면, 300 mg, 500 mg, 700 mg, 1000 mg, 1500 mg 또는 2000 mg의 주간 용량으로 투여된다. 투여는 2 내지 24시간, 예를 들면, 2 내지 12시간의 기간에 걸쳐 연속 주입으로 수행될 수 있다. 이러한 요법은 필요에 따라, 예를 들면, 6개월 또는 12개월 후, 1회 이상 반복될 수 있다. 용량은 예를 들면, 생물학적 샘플을 채취하고 항-CD38항체의 항원 결합 영역을 표적으로 하는 항-개별특이형 항체를 사용함으로써 투여 시 혈액 내 본 발명의 화합물의 양을 측정함으로써 결정되거나 조정될 수 있다.
- [0201] 추가 구현예에서, 항-CD38 항체는 2 내지 12주 동안, 예를 들면, 3 내지 10주 동안, 예를 들면, 4 내지 8주 동안 매주 1회 투여된다.
- [0202] 일 구현예에서, 항-CD38 항체는 예를 들면, 6개월 이상의 기간 동안 1주에 1회와 같은 유지 요법에 의해 투여된다.
- [0203] 일 구현예에서, 항-CD38 항체는 항-CD38 항체의 1회 주입에 이어 방사성동위원소에 접합된 항-CD38 항체의 주입을 포함하는 요법에 의해 투여된다. 상기 요법은 예를 들면, 7 내지 9일 후에 반복될 수 있다.
- [0204] 비제한적 예로서, 본 발명에 따른 치료는 치료 시작 후, 매 24, 12, 8, 6, 4 또는 2시간 동안 단일 또는 분할 용량으로 또는 이들의 임의의 조합을 사용하여, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 또는 40일 중 적어도 하루 또는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20주 중 적어도 한 주 또는 이들의 조합으로, 약 0.1-100 mg/kg 예를 들면, 0.5, 0.9, 1.0, 1.1, 1.5, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 40, 45, 50, 60, 70, 80, 90 또는 100 mg/kg의 양을 항체의 일일 복용량으로 투여하도록 제공될 수 있다.
- [0205] 일부 구현예에서, 항-CD38 항체 분자는 하나 이상의 추가 치료제, 예를 들면, 화학치료제 조합하여 사용된다. DNA 손상 화학치료제의 비제한적 예는 토포이소머라제 I 억제제(예를 들면, 이리노테칸(irinotecan), 토포테칸(topotecan), 캄프토테신(camptothecin) 및 이의 유사체 또는 대사물, 및 독소루비신); 토포이소머라제 II 억제제(예를 들면, 에토포시드(etoposide), 테니포시드(teniposide) 및 다우노루비신(daunorubicin)); 알킬화제(예를 들면, 멜팔란(melphalan), 클로람부실(chlorambuci), 부숄판(busulfan), 티오테파(thiotepa) 이포스파미드

(ifosfamide), 카르무스틴(carmustine), 로무스틴(lomustine), 세무스틴(semustine), 스트렙토조신(streptozocin), 데카르바진(decarbazine), 메토트렉세이트(methotrexate), 미토마이신 C(mitomycin C) 및 시클로포스파미드(cyclophosphamide)); DNA 인터칼레이터(예를 들면, 시스플라틴(cisplatin), 옥살리플라틴(oxaliplatin) 및 카보플라틴(carboplatin)); 블레오마이신(bleomycin)과 같은 DNA 인터칼레이터 및 자유 라디칼 생성기; 및 뉴클레오사이드 모방체(예를 들면, 5-플루오로우라실(5-fluorouracil), 카페시틴빈(capecitabine), 겐시타빈(gemcitabine), 플루다라빈(fludarabine), 시타라빈(cytarabine), 머캅토피린(mercaptopurine), 티오구아닌(thioguanine), 펜토스타틴(pentostatin) 및 하이드록시우레아(hydroxyurea)를 포함한다.

[0206] 세포 복제를 방해하는 화학치료제는 파클리탁셀(paclitaxel), 도세탁셀(docetaxel) 및 관련 유사체; 빈크리스틴(vincristine), 빈블라스틴(vinblastin) 및 관련 유사체; 탈리도마이드(thalidomide), 레날리도마이드(lenalidomide) 및 관련 유사체(예: CC-5013 및 CC-4047); 단백질 티로신 키나제 억제제(예를 들면, 이마티닙 메실레이트(imatinib mesylate) 및 게피티닙(gefitinib)); 프로테아좀 억제제(예: 보르테조미); IKB 키나제의 억제제를 포함하는 NF-KB 억제제; 암에서 과발현된 단백질에 결합하여 세포 복제를 하향 조절하는 항체(예: 트라스투주맙(trastuzumab), 리툭시맙(rituximab), 세톡시맙(cetuximab) 및 베바시주맙(bevacizumab)); 및 암에서 상향조절, 과발현 또는 활성화되는 것으로 알려진 단백질 또는 효소의 다른 억제제(이의 억제제는 세포 복제를 하향조절함)를 포함한다.

[0207] 일부 구현예에서, 본 발명의 항체는 Velcade®(bortezomib)로 치료하기 전에, 동시에, 또는 후에 사용될 수 있다.

[0208] 진단 용도

[0209] 제공된 항-CD38 항체는 또한 CD38과 관련된 종양 또는 자가면역 질환 상태의 시험관 내 또는 생체 내의 영상화 용도를 가진다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항체는 진단 및 치료 모두, 또는 진단만을 위해 사용된다.

[0210] 다수의 구현예에서, 진단 항체는 표지화된다. 본원에서 "표지된(labeled)"은 본원에 개시된 항체가 스크리닝 또는 진단 절차에서 검출 가능하도록 부착된 하나 이상의 요소, 동위원소 또는 화학적 화합물을 가짐을 의미한다. 일반적으로 표지는 다음과 같은 여러 부류로 나뉜다. a) 항체에 의해 인식되는 융합 파트너로 통합된 에피토프 일 수 있는 면역 표지, b) 방사성 또는 무거운 동위원소일 수 있는 동위원소 표지, c) 형광 및 비색 염료를 포함할 수 있는 소분자 표지, 또는 다른 라벨링 방법을 가능하게 하는 비오틴과 같은 분자 및 d) 신체 영상을 가능하게 하는 입자(초음파 라벨링을 위한 거품 포함) 또는 상자성 표지와 같은 표지. 표지는 임의의 위치에서 항체에 혼입될 수 있고 당업계에 공지된 바와 같이 단백질 발현 동안 시험관 내 또는 생체 내에서 혼입될 수 있다.

[0211] 진단은 아래에 설명된 바와 같이 전신 영상화를 가능하게 하는 진단 항체를 투여하여 생체 내에서 수행하거나 환자에게서 채취한 샘플에 대해 시험관 내에서 수행할 수 있다. 본문에서 "샘플"은 관련 조직의 생검 결과 결과의 조직 샘플 뿐만 아니라 체액(혈액, 소변, 혈청, 림프, 타액, 향문 및 질 분비물, 땀 및 정액을 포함하되 이에 국한되지 않음)을 포함하되 이에 제한되지 않은 다수의 것을 포함한다.

[0212] 일부 구현예에서, 초음파, CT 스캔, X-선, MRI 및 PET 스캔뿐만 아니라 신체 표면 근처의 종양에 광학 표지를 사용하는 것과 같은 광학 기술을 포함하되 이에 국한되지 않는 생체 내 영상화가 수행된다.

[0213] CD38과 관련된 질환의 생체 내 영상화는 임의의 적합한 기술에 의해 수행될 수 있다. 예를 들면, ⁹⁹Tc-라벨링 또는 다른 β선 방출 동위원소 라벨링은 항-CD38 항체에 사용될 수 있다. 상기 기술의 변형에는 감마 카메라 기술보다 영상을 개선하기 위해 자기 공명 영상(MRI)을 사용하는 것이 포함될 수 있다. 유사한 면역섬광법 및 원리는 예를 들면, Srivastava (ed.), Radiolabeled Monoclonal Antibodies For Imaging And Therapy (Plenum Press 1988), Chase, "Medical Applications of Radioisotopes," Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Edition, Gennaro 외, (eds.), pp. 624-652 (Mack Publishing Co., 1990) 및 Brown, "Clinical Use of Monoclonal Antibodies," Biotechnology And Pharmacy 227-49, Pezzuto 외, (eds.) (Chapman & Hall 1993)에 기술된다.

[0214] 일 구현예에서, 본 발명은 항-CD38 항체가 검출-촉진제(detection-promoting agent)에 접합되고, 접합된 항체가 예를 들면, 혈류 내 주사에 의해 숙주에 투여되고, 숙주 내의 표지된 항체의 존재 및 위치가 분석된다. 상기 기술 및 본원에 제공된 임의의 다른 진단 방법을 통해, 본 발명은 인간 환자 또는 인간 환자로부터 채취한 생물학

적 샘플에서 질환 관련 세포의 존재를 스크리닝하는 방법을 제공한다.

- [0215] 진단 영상의 경우, 방사성동위원소는 중간 작용기(intermediary functional group)를 사용하여 직접 또는 간접적으로 항-CD38 항체에 결합될 수 있다. 유용한 중간 작용기는 킬레이트제, 예를 들면, 에틸렌디아민테트라아세트산(ethylenediaminetetraacetic acid) 및 디에틸렌트리아민펜타아세트산(diethylenetriaminepentaacetic acid)(예를 들면, 미국 특허 번호 5,057,313 참조)을 포함하며, 방사성동위원소-접합된 항-CD38 항체를 포함하는 진단 분석에서, 환자에게 전달되는 접합된 항-CD38 항체의 용량은 일반적으로, 최소 반감기, 체내 최소 체류 및 동위원소 최소량의 최상의 조합을 위한 동위원소 선택을 통해, 가능한 한 낮은 수준으로 유지되며, 이로써 검출 및 정확한 측정이 가능해진다.
- [0216] 방사성 동위원소 및 방사선 불투과성 물질(radio-opaque agent) 외에도, 염료(예: 비오틴-스트렙타비딘 복합체(biotin-streptavidin complex)), 조영제, 형광 화합물 또는 분자 및 자기 공명 영상(MRI)용(예를 들면, MRI 기술 및 MRI 증강제에 접합된 항체의 제조를 기술하는 미국 특허 번호 6,331,175 참조) 강화제(예: 상자성 이온)에 접합된 항-CD38 항체를 사용하여 진단 방법이 수행될 수 있다. 이러한 진단/검출 제제는 자기 공명 영상에 사용되는 제제 및 형광 화합물로부터 선택될 수 있다.
- [0217] 방사성 금속 또는 상자성 이온으로 항-CD38 항체를 로드(load)하기 위해서는 이온 결합을 위한 다수의 킬레이트 그룹이 부착된 긴 꼬리를 가진 시약과 반응해야 할 필요가 있을 수 있다. 상기 꼬리는 폴리리신, 폴리사카라이드, 또는 예를 들면, 포르피린(porphyrin), 폴리아민, 크라운 에테르, 비스티오세미카르바존(bisthiosemicarbazones), 폴리옥심(polyoximes) 및 상기 목적을 위해 유용한 공지된 기와 같이, 킬레이트 기가 결합될 수 있는 펜던트 기를 갖는 기타 유도체화되거나 유도체화 가능한 사슬 등의 폴리머일 수 있다.
- [0218] 킬레이트는 표준 화학을 사용하여 항-CD38 항체에 결합될 수 있다. 킬레이트는 일반적으로 면역 반응성의 최소 손실 및 최소 응집 및/또는 내부 가교 결합으로 분자에 대한 결합 형성을 가능하게 하는 그룹에 의해 항-CD38 항체에 연결된다.
- [0219] 잠재적으로 유용한 금속-킬레이트 조합의 예에는 60~4,000keV의 일반 에너지 범위에서 진단 동위원소, 예를 들면 방사성 영상용 ^{125}I , ^{123}I , ^{124}I , ^{62}Cu , ^{64}Cu , ^{18}F , ^{111}In , ^{67}Ga , ^{99}Tc , ^{94}Tc , ^{11}C , ^{13}N , ^5O 및 ^{76}Br 과 함께 사용되는 2-벤질-DTPA 및 그의 모노메틸 및 사이클로헥실 유사체가 포함된다.
- [0220] 표지(label)에는 방사성 핵종(radionuclide), 방사선 조영제, 상자성 이온, 금속, 형광 표지, 화학발광 표지, 초음파 조영제 및 광활성 제제가 포함된다. 이러한 진단 제제는 잘 알려져 있으며 임의의 공지된 진단 제제가 사용될 수 있다. 진단 제제의 비제한적 예는 ^{110}In , ^{111}In , ^{177}Lu , ^{18}F , ^{52}Fe , ^{62}Cu , ^{64}Cu , ^{67}Cu , ^{67}Ga , ^{68}Ga , ^{86}Y , ^{90}Y , ^{89}Zr , ^{94}mTc , ^{94}Tc , ^{99}mTc , ^{120}I , ^{123}I , ^{124}I , ^{125}I , ^{131}I , $^{154-158}\text{Gd}$, ^{32}P , ^{11}C , ^{13}N , ^{15}O , ^{18}O , ^6Re , ^{188}Re , ^{51}Mn , ^{52}Mn , ^{55}Co , ^{72}As , ^{75}Br , ^{76}Br , ^{82}mRb , ^{83}Sr 또는 기타 γ -, β - 또는 양전자 방출체를 포함할 수 있다.
- [0221] 사용되는 상자성 이온은 크롬(III), 망간(II), 철(III), 철(II), 코발트(II), 니켈(III), 구리(III), 네오디뮴(III), 사마륨(III), 이테르븀(III), 가돌리늄(III), 바나듐(II), 테르븀(III), 디스프로슘(III), 홀뮴(III) 또는 에르븀(III)을 포함할 수 있다. 금속 조영제는 란탄(III), 금(III), 납(II) 또는 비스무트(III)를 포함할 수 있다.
- [0222] 초음파 조영제는 가스로 채워진 리포솜과 같은 리포솜을 포함할 수 있다. 방사선 불투과성 진단 제제(radiopaque diagnostic agent)는 화합물, 바륨 화합물, 갈륨 화합물 및 탈륨 화합물로부터 선택될 수 있다.
- [0223] 상기 및 이와 유사한 킬레이트는 망간, 철, 가돌리늄(gadolinium)과 같은 비방사성 금속과 복합될 때 항-CD3 항체와 관련된 MRI 진단 방법에 유용할 수 있다. NOTA, DOTA 및 TETA와 같은 매크로시클릭 킬레이트(macrocyclic chelate)가 다양한 금속 및 방사성 금속, 특히 갈륨, 이트륨 및 구리 각각의 방사성 핵종과 함께 사용된다. 이러한 금속-킬레이트 착물은 관심 금속에 대해 고리 크기를 맞춤으로써 매우 안정적화될 수 있다. ^{223}Ra 와 같이 안정하게 결합하는 핵종에 관심을 두는 매크로시클릭 폴리에테르(macrocyclic polyethers)와 같은 다른 고리형 킬레이트도 진단 방법에 적합할 수 있다.
- [0224] 따라서, 본 발명은 진단용 항-CD38 항체 접합체를 제공하며, 상기 항-CD38 항체 접합체는 조영제(예를 들면, 자기공명영상, 컴퓨터 단층촬영 또는 초음파 조영증강제) 또는 예를 들면, γ -, β -, α -, 오거 전자(Auger

electron-) 또는 양전자 방출 동위원소(positron-emitting isotope)일 수 있는 방사성핵종에 접합된*?.

- [0225] 항-CD3 항체는 특정 세포, 조직 또는 혈청에서 관심 항원의 발현을 검출하는 데 유용할 수 있다. 진단 적용 분야의 경우, 항체는 일반적으로 시험관 내 분석을 위한 검출 가능한 모이어티로 표지화될 수 있다. 당업자가 이해하는 바와 같이, 시험관 내 테스트에 사용하기 위한 다양한 적합한 표지가 있다. 본 발명의 상기 측면에서 사용하기에 적합한 염료는 유로퓸(Europium) 및 테르븀(Terbium), 플루오레세인(fluorescein), 로다민(rhodamine), 테트라메틸로다민(tetramethylrhodamine), 에오신(eosin), 에리트로신(erythrosin), 쿠마린(coumarin), 메틸-쿠마린(methyl-coumarins), 양자점(또한, "나노결정"으로 지칭됨; 미국 일련 번호 09/315,584 참조, 참조로 본원에 포함됨), 피렌, 말라사이트 그린(Malachite green), 스틸벤(stilbene), 루시퍼 옐로우(Lucifer Yellow), 캐스케이드 블루™(Cascade Blue), 텍사스 레드(Texas Red), Cy 염료(Cy3, Cy5 등), alexa 염료(Alexa 포함), 피코에리틴(phycoerythrin), 보디피(bodipy) 및 Molecular Probes Handbook by Richard P. Haugland 제6판(명시적으로 참조로 포함됨)에 설명된 기타를 포함하나, 이에 제한되지 않는다.
- [0226] 염색된 조직은 중앙 내 CD38 관련 펩티드 양의 지표로서 방사능 계수로 평가될 수 있다. 상기 기술을 사용하여 얻은 영상은, 예를 들면, 침윤성 암 세포의 존재에 대한 바이오마커로서 CD38을 사용 시, 환자, 포유동물 또는 조직에서 CD38의 생체분포를 평가하는 데 사용될 수 있다.
- [0227] 제조 물품
- [0228] 다른 구현예에서, 상기 기술된 장애의 치료에 유용한 물질을 포함하는 제조 물품이 제공된다. 제조 물품 용기와 라벨로 구성된다. 적합한 용기에는 예를 들면, 병, 바이알, 주사기 및 시험관이 포함된다. 용기는 유리 또는 플라스틱과 같은 다다른 구현예에서, 상기 기술된 장애의 치료에 유용한 물질을 포함하는 제조 물품이 제공된다. 제조 물품 용기와 라벨로 구성된다. 적합한 용기에는 예를 들면, 병, 바이알, 주사기 및 시험관이 포함된다. 용기는 유리 또는 플라스틱과 같은 다양한 재료로 형성될 수 있다. 용기는 상태를 치료하는데 효과적인 조성물을 보유하고 멸균 접근 포트(sterile access port)를 가질 수 있다(예를 들면, 용기는 정맥내 용액 백 또는 피하 주사 바늘로 뚫을 수 있는 마개를 갖는 바이알일 수 있다). 조성물 내의 활성제는 항체이다. 용기 위의 또는 용기와 관련된 라벨은 조성물이 선택 상태를 치료하기 위해 사용됨을 표기한다. 제조 물품은 인산염 완충 식염수, 링거액(Ringer's solution) 및 텍스트로스 용액과 같은 약제학적으로 허용가능한 완충액을 포함하는 제2 용기를 추가로 포함할 수 있다. 다른 버퍼, 희석제, 필터, 바늘, 주사기 및 사용 설명서가 있는 패키지 삽입물을 포함하여 상업적 및 사용자 관점에서 바람직한 다른 재료를 추가로 포함할 수 있다.
- [0229] 실시예
- [0230] 본 발명은 하기 실시예를 참조하여 더욱 상세하게 설명한다. 이들 실시예는 예시의 목적으로만 제공되며 달리 명시되지 않는한 본 발명을 제한하려는 의도로 사용되지 않는다. 따라서, 본 발명은 하기 실시예에 제한되는 것으로 해석되어서는 안되며, 오히려 본원에 제공된 교시의 결과로서 명백해지는 임의의 및 모든 개질을 포함하는 것으로 해석되어야 한다.
- [0231] 추가 설명이 없는 경우, 당업자는 전술한 설명 및 하기의 예시적 실시예를 사용하여 본 발명을 제조하고 사용하며, 청구된 방법을 실시할 수 있다고 여겨진다. 따라서, 하기의 작용 실시예는 본 발명의 바람직한 구현예를 구체적으로 설명하며, 개시 내용의 나머지 부분을 어떤 식으로든 제한하는 것으로 해석되어서는 안 된다.
- [0232] 실시예 1: 효모 디스플레이 인간 scFv 라이브러리의 패닝(Panning of yeast display human scFv library)
- [0233] 1×10^{11} 효모 디스플레이 천연 인간 scFv 라이브러리를 구성하고, 인간 CD38의 세포외 도메인을 ACRO biosystems에서 구입하였다. 라이브러리 패닝 방법은 이전에 기술된 바 있다(Zhao 외, J Immunol Methods. 2011; 363(2):221-32.). 간략하게, 재조합 비오틀화 CD38-avi 단백질(recombinant biotinylated CD38-avi protein)을 유도된 효모 디스플레이 scFv 라이브러리와 함께 인큐베이션하고, CD38 결합 효모 세포(CD38 binding yeast cells)는 스트렙타비딘 접합 마이크로비드를 사용하여 분리한 뒤, 유세포분석 활성화 세포 분류(FACS: flowcytometry activated cell sorting)를 사용하였다. 확인된 scFv는 전체 항체로 조작되고, 293F 세포에 의해 발현되었다.
- [0234] 자기 비드를 사용한 효모 디스플레이 scFv 라이브러리 패닝(Yeast display scFv library panning using magnetic beads)
- [0235] 효모 디스플레이 scFv 라이브러리를 -80°C 에서 해동하고 3000rpm에서 5분 동안 원심분리하였다. 상층액을 버리고, 효모 세포를 12L SD-CAA 배지(1리터 SD-CAA 배지에는 카사미노산(casamino acids) 5g, SO_4 염도 없음 효

모 질소 베이스 1.7g, 황화암모늄 5.3g, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 10.2g, $7\text{H}_2\text{O}$, $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 8.6g 및 20g 텍스트로스가 포함됨)로 재현탁하였다. 세포를 200rpm에서 흔들면서 밤새 30℃에서 배양하였다. 다음날, 효모 세포를 3000 rpm에서 5분 동안 원심분리하여, 수확하고 적당량을 12 L S-CAA-GRD 유도 배지(1 리터 S-CAA-GRD 배지는 카사미노산 5g, SO_4^{2-} 암모늄 없는 효모 질소 베이스 1.7 g, 황화암모늄 5.3g, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 10.2g, $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 8.6g, 텍스트로스 1g, 갈락토스 20g 및 라피노스 20g가 포함됨)에 재현탁하며, 최종 농도가 OD600=0.5가 되도록 하고 20℃에서 밤새 유도하였다. 유도된 효모 세포를 3000rpm에서 5분 동안 원심분리에 의해 수확하고, 2L PBE 완충액(PBE 완충액은 2mM EDTA 및 0.5% BSA를 함유하는 PBS 완충액임)으로 2회 세척하고 최종적으로 200ml PBE에 재현탁시켰다. 세포를 비오틴화 CD38 단백질과 함께 실온(RT)에서 1.5시간 동안 인큐베이션한 뒤, 이어서 4℃에서 0.5시간 동안 인큐베이션하였다. 다음 단계는 4℃ 또는 얼음 위에서 수행되었다. 세포를 3000rpm에서 5분 동안 원심분리하여 수확하고, 2L PBE로 2회 세척하고 200ml PBE에 재현탁시켰다. 그 뒤, 2ml 스트렙타비딘 마이크로비드(streptavidin microbeads(Miltenyi Biotec))를 세포에 첨가하고, 1시간 동안 천천히 흔들면서 배양하였다. 1리터의 PBE를 세포에 첨가하고 용액을 와류시켜 세포가 단일 세포로 분리되었는지 확인하고, 70mm 스트레이너(strainer)를 사용하여 여과하였다. CD38 결합 효모 세포를 AUTOMACS 기계로 분리하였다. 수확된 세포를 SD-CAA 플레이트에 퍼고 30℃에서 2일 동안 배양하였다. 1차 자기 분류에서 총 2.5×10^7 개 클론을 얻었다. 2차 자기 분류를 위해 세포를 긁어내고 유도하였다. -80℃에서 10% 글리세롤이 포함된 SD-CAA내에 분취량을 보관하였다.

[0236] 유동 선별(flow sorting)를 사용한 Yeast 디스플레이 scFv 라이브러리 패닝

[0237] 자기 선별에서 얻은 효모 세포를 추가로 유동 선별하였다. 모든 원심분리는 5분 동안 3000rpm로 하였으며, 모든 단계는 별도로 표시되지 않는 한, 4℃ 또는 얼음 위에서 수행되었다. 3차 자기 선별에서 분리된 2×10^9 개 세포를 100ml S-CAA-GRD 배지에서 20℃에서 밤새 유도하고, 1차 순환 유동 선별을 위해 상기 1×10^8 세포를 취하였다. 세포를 펠렛화하고 15 ml PBE로 2회 세척한 다음 1 ml PBE에 재현탁하고, 0.2 mg 비오틴화 CD38 단백질을 RT에서 1.5시간 동안 배양한 뒤, 4℃에서 30분 동안 배양하였다. 세포를 PBE로 3회 세척한 다음 PBE 1ml 중의 50 Streptavidin-PE(SA-PE)(BD biosciences)으로 4℃, 암실에서 1시간 동안 배양하였다. 염색 후, 세포를 15ml PBE로 3회 세척하고 1ml PBE에 재현탁시켰다. CD38 결합 효모 세포를 유동 세포측정법으로 분류하였다. 분류된 세포는 30℃에서 2일 동안 SD-CAA 플레이트에서 성장하게 하였다.

[0238] 개별 클론을 골라내어 96개의 딥 웰 플레이트에서 성장시키고, scFv를 발현하도록 유도하였다. 개별 클론은 특정 CD38 결합에 대해 유세포 분석법으로 확인하였다.

[0239] 실시예 2: scFv418의 IgG418로의 조작

[0240] V-베이스 및 IMGT 데이터베이스를 기반으로 scFv418의 중쇄 및 경쇄의 생식계열을 확인하고 신호 펩티드 및 불변 영역을 가변 영역에 추가하여 중쇄 및 경쇄의 전장 펩티드를 암호화하는 유전자를 구성하였다. 중쇄 및 경쇄 유전자를 인-하우스 전체 항체 발현 벡터 Lh1에 클로닝하고 293F 세포에 의해 발현시키고, 단백질 A 친화성 크로마토그래피를 사용하여 정제하였다.

[0241] 실시예 3: 포획 ELISA에 의한 IgG418의 친화도 측정

[0242] CD38 재조합 단백질에 대한 IgG418 및 다잘렉스(Darzalex)의 친화도를 포획 ELISA로 측정하였다. 간략히 설명하면, 항-인간 Fc 항체를 ELISA 플레이트에 $10 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ 의 농도로 4℃에서 밤새 암호화하였다. 플레이트를 PBST로 2회 세척하고, 실온에서 2시간 동안 PBST로 차단하고, 50nM에서 0.012nM까지 3중 4배 연속 희석된 IgG418로 인큐베이션하였다. 플레이트를 PBST로 6회 세척한 다음 PBST중의 $0.5 \mu\text{g}/\text{ml}$ 비오틴화된 CD38-avi 재조합 단백질을 RT에서 1시간 동안 인큐베이션하였다. 6회 세척 후, 플레이트를 PBST 중 1:1000 희석된 스트렙타비딘-HRP(BD Bioscience)로 실온에서 30분 동안 인큐베이션하였다. 플레이트를 다시 6회 세척하고 실온에서 20분 동안 TMB와 함께 인큐베이션하고, 정지 버퍼로 비색 반응(colorimetric reaction)을 중지하고 OD450에서 흡광도를 판독하였다. GraphPad Prism 소프트웨어를 사용하여, 다잘렉스(Darzalex)의 경우, $K_d=1.64\text{nM}$, IgG418의 경우, $K_d=0.082\text{nM}$ 의 친화도를 계산하였다(도 1). 표 1은 ELISA의 판독값을 보여준다.

표 1

[0243]

OD450에서의 포획ELISA의 판독값		
Ab Con.	IgG418	다잘렉스(Darzalex)
50 nM	2.549	0.171
12.5 nM	2.599	0.164

3.125 nM	2.605	0.172
0.781 nM	2.551	0.145
0.195 nM	2.067	0.135
0.049 nM	0.959	0.147
0.012 nM	0.373	0.135
0 nM	0.143	0.143

[0244] 실시예 4: 유세포 분석법에 의한 IgG418의 친화도 측정

[0245] 세포 표면의 천연 형태 CD38에 대한 IgG418의 친화도는 다잘렉스(Darzalex)를 대조군으로 사용하여 Daudi 세포에서 유세포 분석법으로 측정하였다. Daudi 세포를 PBS로 2회 세척하고 표 2에 나타낸 바와 같이 FACS 완충액(2% FBS를 함유하는 PBS) 내의 연속적으로 희석된 항체로 얼음 위에서 1시간 동안 인큐베이션하였다. 세포를 PBS로 3회 세척한 후, FACS 완충액 내의 1:200으로 희석된 항-인간 IgG-Alexa647으로 4℃, 암실에서 30분 동안 배양하였다. PBS로 3회 세척한 후 유세포분석기를 사용하여 세포를 분석하였다. 표 2는 각 샘플의 항체 농도 및 평균 형광 관독값을 보여준다. GraphPad Prism 소프트웨어를 사용하여 다잘렉스(Darzalex)의 경우, $K_d=3.256\text{nM}$ 이고 IgG418의 경우, $K_d=3.1\text{nM}$ 의 친화도를 계산하였다(도 2).

표 2

[0246]

유세포 분석법에 의한 친화도 측정		
Ab con. (nM)	평균 형광	
	다잘렉스(Darzalex)	IgG418
300	1292320	1347858
50	1307359	1295772
16.7	1340008	1284821
5.56	1085825	1085645
1.85	573531	557698
1.617	157851	257948
0.206	46682	82851
0.069	9321	31974

[0247] 실시예 5: 경쟁 ELISA를 사용하여 IgG418이 다잘렉스(Darzalex)의 동일한 에피토프에 결합하는지 확인

[0248] ELISA 플레이트를 4℃에서 밤새 PBS 중의 $2\mu\text{g/ml}$ 다잘렉스(Darzalex), $50\mu\text{l}$ /웰로 코팅하였다. 그 후, 플레이트를 실온에서 2시간 동안 PBST으로 차단하였다. 그 후, 실온에서 1시간 동안 Ab($15\mu\text{g/ml}$) 및 CD38($0.2\mu\text{g/ml}$)을 사전 배양하여 준비된 CD38 단독 또는 Ab-CD38 복합체로 ELISA 웰을 배양하였다. 4℃에서 30분 배양 후, 플레이트를 PBST로 세척하고 실온에서 30분 동안 streptavidin-HRP으로 배양하였다. 플레이트를 다시 6회 세척하고 실온에서 20분 동안 TMB으로 인큐베이션하고, 정지 버퍼로 비색 반응(colorimetric reaction)을 중지하고 OD450에서 흡광도를 관독하였다. 경쟁 ELISA는 IgG418과 다잘렉스(Darzalex)가 CD38의 결합 부위와 경쟁하지 않으므로 이들의 에피토프가 다르다는 것을 보여주었다(도 3).

[0249] 실시예 6: IgG418의 CDC 활성

[0250] 보체-의존성 세포독성(CDC)은 종양 세포 또는 병원성 형질 세포와 같은 항원 양성 세포를 죽이는 항체의 주요 메커니즘 중 하나이다. IgG418 및 다잘렉스(Darzalex)의 CDC 활성은 다음과 같이 분석되었다: 20nM부터 약 0.078nM까지 96웰 플레이트의 완전 배지에서 2배 연속 희석 Abs $100\mu\text{l}$ /웰. 주변 웰은 증발을 방지하기 위해 $250\mu\text{l}$ 의 물로 채웠다. 주후 인간 혈청을 추가할 때 클로그(clog)을 줄이기 위해 플레이트를 인큐베이터에 넣고 예열하였다. 인간 혈청을 해동하고, 6000rpm에서 5분 동안 원심분리하여 클로그를 제거하였다. 1 부피 인간 혈청을 9 부피 완전 배지(10% 혈청, 2x)로 희석하고, 상기 1:9 희석 인간 혈청을 사용하여 밀도가 $4 \times 10^4/100\text{ul}$ 인 Daudi 세포를 재현탁하였다. 그 후, Abs(이미 $100\mu\text{l}$ 배지, 총 부피는 200ul)를 포함하는 각 웰에 상기 세포 $100\mu\text{l}$ 를 추가하고 37℃에서 2시간 동안 배양하였다. 완전 배지로 7AAD를 10배 희석하고 각 웰에 희석된 7AAD $50\mu\text{l}$ 를 첨가하고 암실에서 5-10 동안 배양하였다. 세포를 1.5ml 튜브로 옮기고 Accuri C6 유세포분석기에서 샘플을 실행한다 도 4A 내지 도 4C는 유세포분석기에 의한 CDC 데이터를 보여준다. P1만 살아있는 세포이고(7AAD 음성), P2는 모든 세포질이 방출된 완전히 죽은 세포이므로 7AAD도 음성이다(7AAD는 DNA에 결합함). P3는 부분

적인 세포질이 방출된 것 죽은 세포이므로 7AAD는 양성이다. 따라서, P1의 비율을 분석하여 CDC 활동을 평가하였다. 도 5는 CDC 데이터의 통계 분석을 보여준다. IgG418, 다잘렉스(Darzalex) 및 IgG207에 대해 계산된 IC50은 9.8nM, 29.8nM 및 30459nM이다. IgG207은 음성 대조군 항체이다.

표 3

[0251]

CDC 데이터			
Ab con. (nM)	IgG418 %	다잘렉스(Darzalex) %	IgG207 %
20	4.086845	33.9719	81.6092
10	7.535121	32.31162	73.18008
5	18.64623	40.86845	75.73436
2.5	27.33078	47.63729	61.55811
1.25	41.63474	55.55556	72.03065
0.625	53.89527	67.43295	70.49808
0.3125	67.17752	70.6258	68.58238
0.156	77.39464	75.2235	65.00639
0.078	75.35121	63.85696	72.15837

[0252]

실시예 7: 어푸코실화된 IgG418의 제조

[0253]

항체-의존성 세포독성(ADCC)은 항원 양성 세포를 죽이는 항체의 또 다른 중요한 메커니즘이다. 297N에 대한 항체 글리코실화가 ADCC의 효능에 영향을 미친다는 것은 당업계에 잘 확립되어 있다. 어푸코실화된 항체는 보통 10-100배 더 향상된 ADCC 활성을 가진다. ADCC 활성을 더욱 향상시키기 위해, Antagen Pharmaceuticals Inc.의 FUT8 녹아웃 CHO-K1 세포주에서 어푸코실화된 IgG-418(IgG418 AF로 명명됨)을 제조하였다.

[0254]

실시예 8: IgG418의 ADCC 활성

[0255]

다잘렉스(Darzalex) 및 야생형(WT) 및 어푸코실화된(AF) IgG418의 ADCC 활성은 ADCC 활성의 판독값으로서 루시퍼라제(luciferase) 신호를 사용하여 Antagen Pharmaceuticals에서 개발한 이펙터 세포로 조작된 Jurkat 세포주를 사용하여 측정되었다. ADCC는 Daudi 세포에서 수행되었다. 표 4는 항체 희석 및 그에 따른 루시퍼라제 판독값을 보여준다. 결과는 야생형 IgG418(WT)이 다잘렉스(Darzalex)보다 최대 ADCC 활성이 1.4배 더 높고, 어푸코실화된 IgG418(AF)이 다잘렉스(Darzalex)보다 최대 ADCC 활성이 1.6배 더 높고, IC₅₀이 약 10배 더 낮다는 것을 보여주었다(표 4 및 도 6)

표 4

[0256]

ADCC 데이터			
Ab Con. (nM)	ADCC 활성		
	다잘렉스(Darzalex)	IgG418 WT	IgG418 AF
100	66.47	89.14	90.32
25	64.12	92.15	104.70
6.25	61.04	82.39	105.56
1.56	57.17	48.81	94.83
0.39	40.89	25.06	86.06
0.098	14.74	10.76	53.85
0.0244	3.88	3.63	18.53
0.006	1.32	1.35	8.66
0.0015	0.12	0.038	3.42
0	0	0	0

[0257]

실시예 9: 인간 B-세포 림프종 Daudi 세포를 갖는 SCID 마우스에서 이종이식편의 성장에 대한 IgG418의 억제 효과

[0258]

CB-17 SCID 마우스, SPF 등급, 16.6-21.5g, 수컷은 Beijing Charles River Laboratory Animal Technology Co., Ltd.에서 구입하였다. Daudi 세포(Nanjing Cobioer Biosciences Co., Ltd., Cat. No.: CBP60262)는 10% FBS(Hyclone, Cat. No.: SH30087.03), 100 U/mL 페니실린 및 100 µg/mL 스트렙토마이신(Hyclone, Cat. No.:

SH30809.01)이 포함된 1640 완전 배지(Hyclone, Cat. No.: SH30809.01)에서 배양되고, 포화 습도 및 5% CO₂의 37° C 인큐베이터에서 유지되었다. 대수 성장기(logarithmic growth phase)에서 Daudi 세포를 수집하고, 1640 완전 배지에 재현탁하고, 마트리겔(matrigel)을 1:1로 첨가하여 세포 농도를 2X10⁷ 세포/ml로 조정하였다. 멸균 조건 하에서, 0.1ml의 세포 현탁액을 2X10⁶ 개 세포/0.1ml/마우스의 농도로 SCID 마우스의 오른쪽 등에 피하 점 주하였다. 접종 14일 후, 종양 부피가 약 100-200 mm³인 동물을 종양 부피에 따라 무작위로 각 그룹에 9마리씩 그룹으로 나누고, 그룹 간 종양 부피 차이는 평균의 10% 미만이었다. 그룹화 일수는 0일로 기록하고, 각각 4 개의 그룹이 있었다.

[0259]

그룹 1: 이소타입 대조군 항체 (Isotype) (10 mg/kg)

[0260]

그룹 2: 다잘렉스(Darzalex) (10 mg/kg) (JBS2Y20, Xi'an Janssen Pharmaceutical Co., Ltd.)

[0261]

그룹 3: IgG418-WT (10 mg/kg)

[0262]

그룹 4: IgG418-AF (10 mg/kg)

[0263]

실험 기간은 31일이며, 동물의 체중과 종양 부피를 주 2회 측정하고 데이터를 기록하였다. 동물의 임상 증상을 관찰하고 하루에 한 번씩 기록하였다. 모든 투여 후 마우스를 필요한 시간까지 관찰한 후 희생시켜 종양을 제거 하였다.

[0264]

종양 부피(TV)는 다음과 같이 계산되었다. $1/2 \times a \times b^2$, 여기서 a와 b는 각각 측정된 종양의 길이와 너비를 나타낸다. 상대 종양 부피(RTV)는 V_t / V_0 으로 계산되었으며, 여기서 V_0 는 그룹화 시 종양 부피를 나타내고, V_t 는 각 측정 시 종양 부피를 나타낸다. 종양 성장 억제(TGI) %는 다음과 같이 계산되었다: $(TWC-TWT)/TWC \times 100\%$, 여기서 TWC는 음성 대조군의 평균 종양 중량을 나타내고, TWT는 처리군의 평균 종양 중량을 나타낸다. Prism GraphPad 그래프 소프트웨어를 사용하여 그래프 분석(평균 $\pm$ SEM)을 수행하였고, 통계 분석을 위해 T-테스트를 사용하여 그룹 간 P 값을 얻었다. $p < 0.05$ 는 그룹간 유의차가 있는 것으로, $p < 0.01$ 은 그룹간 매우 유의한 차이가 있는 것으로 간주하였다. 그 결과를 표 5 (항-CD38 단클론 항체의 생체 내 종양 억제, (용량: 10 mg/kg)) 및 도 7에 나타내었다.

표 5

[0265]

그룹 및 용량	종양 부피(mm ³)	종양 성장 억제 (TGI) (%)
이소타입 (10 mpk)	1136.11 $\pm$ 229.12	/
다잘렉스(Darzalex) (10 mpk)	233.73 $\pm$ 26.54**	79
IgG418-WT (10 mpk)	141.24 $\pm$ 14.46**	88
IgG418-AF (10 mpk)	49.16 $\pm$ 6.44**	96

[0266]

참고: mpk는 mg/kg을 의미한다. **는 이소타입(Isotype)과 비교하여 $P < 0.01$ 을 의미한다.

[0267]

마우스에서의 약력학적 실험의 결과는 음성 대조군 이소타입과 비교하여 본 발명의 인간화 항체 IgG418-AF 및 IgG418-WT가 SCID 마우스에서 인간 림프종 Daudi 세포의 이종이식편에 상당한 억제 효과를 가짐을 보여준다. 음성 대조군 이소타입(10mg/kg) 그룹과 비교하여 투여 D21 시점의 IgG418-AF(10mg/kg) 그룹과 IgG418-WT(10mg/kg) 그룹은 종양 억제율이 각각96%, 88%였다. 이는 양성대조군 다잘렉스(Darzalex)(10 mg/kg) 그룹 (TGI: 79%)보다 유의하게 높은 것으로, 종양 억제 효과가 다잘렉스(Darzalex)보다 우수한 것을 의미한다. 투여 기간 동안 각 그룹 동물의 체중은 유의한 차이가 없었으며, 이는 본 발명의 항체가 명백한 독성 및 부작용이 없음을 시사한다.

[0268]

실시예 10: 인간 B-세포 림프종 Daudi 세포를 갖는 SCID 마우스에서 이종이식편의 성장에 대한 IgG418의 용량 의존적 억제 효과

[0269]

실험 절차 및 종양 측정은 실시예 9와 동일하였다.

[0270]

그룹 1: 이소타입 대조군 항체 (Isotype) (1 mg/kg)

[0271]

그룹 2: 다잘렉스(Darzalex) (1 mg/kg) (JBS2Y20, Xi'an Janssen Pharmaceutical Co., Ltd.)

- [0272] 그룹 3: IgG418-WT (1 mg/kg)
- [0273] 그룹 4: IgG418-AF (0.1 mg/kg)
- [0274] 그룹 5: IgG418-AF (0.3 mg/kg)
- [0275] 그룹 6: IgG418-AF (1 mg/kg)
- [0276] 그 결과를 표 6(항-CD38 단클론 항체의 생체 내 종양 억제) 및 도 8에 나타내었다.

표 6

그룹 및 용량	종량 부피(mm ³)	종량 성장 억제 (TGI) (%)
이소타입 (1 mpk)	1178.9±109.5	/
다잘렉스(Darzalex) (1 mpk)	544.8±91.9**	61
IgG418-WT (1 mpk)	379.6±46.2**	76
IgG418-AF (0.1 mpk)	1120.2±76.3	6
IgG418-AF (0.3 mpk)	874.1±102.2	29
IgG418-AF (1 mpk)	306.2±89.8**	84

[0278] 참고: mpk는 mg/kg을 의미한다. **는 이소타입(Isotype)과 비교하여 P<0.01을 의미한다.

[0279] 마우스에서의 약력학적 실험의 결과는 음성 대조군 이소타입과 비교하여 본 발명의 인간화 항체 IgG418-AF 및 IgG418-WT가 SCID 마우스에서 인간 림프종 Daudi 세포의 이종이식편에 상당한 억제 효과를 가짐을 보여준다. 음성 대조군 이소타입(1mg/kg) 그룹과 비교하여, 투여 D21 시점의 IgG418-AF(1mg/kg) 그룹 및 IgG418-WT(1mg/kg) 그룹은 종양 억제율이 각각 76%, 84%였다. 이는 양성 대조군 다잘렉스(Darzalex) (1 mg/kg) 그룹(TGI: 61%)보다 유의하게 높은 것으로, 종양 억제 효과가 다잘렉스(Darzalex)보다 우수한 것을 의미한다. 또한, IgG418-AF 투여군의 종양 억제 효과는 용량 의존적으로 나타났다. 실험 투여 기간 동안 각 그룹 동물의 체중은 유의한 차이가 없었으며, 이는 본 발명의 항체가 명백한 독성 및 부작용이 없음을 시사한다.

[0280] 본원에 인용된 각각 및 모든 특허, 특허 출원 및 간행물의 개시 내용은 전체가 본원에 참고로 포함된다. 본 발명이 특정 실시예를 참조하여 개시되었지만, 본 발명의 다른 실시예 및 변형이 본 발명의 진정한 사상 및 범위를 벗어나지 않고, 당업자에 의해 고안될 수 있음이 명백하다. 첨부된 청구범위는 그러한 모든 실시예 및 동등한 변형을 포함하는 것으로 해석되도록 의도된다.

[0281] 염기 서열

[0282] SEQ ID NO: 1 Human CD38

[0283] MANCEFSPVSGDKPCCRLSRRAQLCLGVSILVLILVVVLAVVPRWRQQWSGPGTTKRFPETVLARCVKYTEIHPEMRHVDCQSVWDAFKGAFISKHPCNIT
EEDYQPLMKLGTQTPCNKILLWSRIKDLAQHTQVQRDMFTLEDTLGLYADLLTWCGFNTSKINYQSCPDWRKDCSNNPVSVFWKTVSRRFAEACDVV
HVMLNGRSRKIFDKNSTFGSVEVHNLQPEKVQTLQAWV IHGGREDSRDLCDPTIKELESISKRN IQFSCKNIYRPDKFLQCVKNPEDSSCTSEI

[0284] SEQ ID NO: 2 scFv418 핵산 서열

[0285] CAATCTGCCCTGACTCAGCCTGCCTCCGTGTCTGGGTCTCTGGACAGTCGATCACCATCTCTGCACTGGAACCAGCAGTGACGTTGGTGGTTATAACTAT
GTCTCTCTGGTACCAACAGCACCCAGGCAAAGCCCCAACTCGTAATTTATGAGGCACTCAGCGGCCCTCAGGGTTTCTAGTCGCTTCTCTGGCTCCAAG
TCTGGCAACACGGCTCCCTGACAATCTCTGGGTCCAGGCTGAGGACGAGGCTGATTATTACTGCAGCTCATACACAAGCAGCAGTTTTATGTCTTCGGA
ACTGGGACCAAGCTGACCGTCTAGTCGACGGTGGAGGTGGCAGTGGAGGTGGCGGTTCTGGCGGTGGAGGTTCTGCTAGCCAGGTACAGCTGCAGCAGTCA
GGTCCAGGACTGGTGAAGCCCTCGCAGACCTCTCACTCACCTGTGCCATCTCCGGGGCAGTGTCTCTAGCAACAGTGCTGCTTGAAGTGGATCAGGCAG
TCCCCATCGAGAGGCTTGAGTGGCTGGGAAGGACATACTACAGGTCCAAGTGGTATAATGATTATGCAGTATCTGTGAAAAGTCAATAACCATCAACCCA
GACACATCCAAGAACCAGTTCTCCCTGCAGCTGAACTCTGTGACTCCCAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCAAGAGATGCGCTAGCAGCAGCTGGTACA
TATGGTTACTACTACTACTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA

[0286] SEQ ID NO: 3 scFv418 아미노산 서열

[0287] QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGYNVSWYQQHPGKAPKLVIYEGTQRPSGVSSRFSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYSSSFYVFG
TGTKLTVLVDGGGSGGGSGGGGASQVQLQSGPGLVKPSQTLSTCAISGGSVSSNSAANNWIRQSPSRGLEWLGRTYYRSKYNDYAVSVKSRITINP
DTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVVYCARDALAAAGTYGYYYGMDVWVGQTMVTVSS

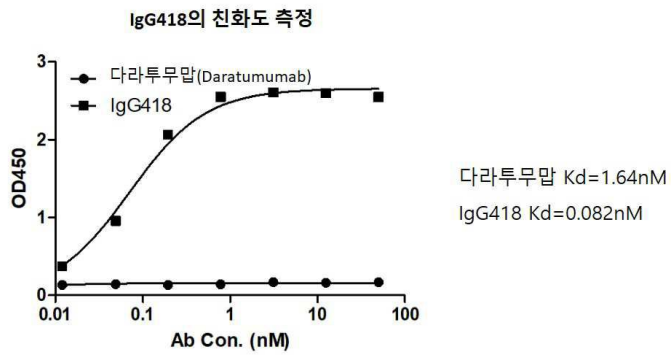
- [0288] SEQ ID NO: 4 scFv418 VH 핵산 서열
- [0289] CAGGTACAGCTGCAGCAGTCAGGTCCAGGACTGGTGAAGCCCTCGCAGACCCTCTCACTCACCTGTGCCATCTCCGGGGGCAGTGTCTCTAGCAACAGTGCT
GCTTGGAACTGGATCAGGCAGTCCCCATCGAGAGGCCTTGAGTGGCTGGGAAGGACATACTACAGGTCCAAGTGGTATAATGATTATGCAGTATCTGTGAAA
AGTCGAATAACCATCAACCCAGACACATCCAAGAACCAGTTCTCCCTGCAGCTGAACTCTGTGACTCCCAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCAAGAGAT
GCGCTAGCAGCAGCTGGTACATATGGTTACTACTACTACTACGGTATGGACGCTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA
- [0290] SEQ ID NO: 5 scFv418 VH 아미노산 서열
- [0291] QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCAISGGSVSSNSAAWNWIRQSPSRGLEWLGRITYYRSKWYNDYAVSVKSRITINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYYCARD
ALAAAGTYGYYYYGMDVWGQGTMTVSS
- [0292] SEQ ID NO: 6 scFv418 VH 프레임 영역 1 (FR1) 핵산 서열
- [0293] CAGGTACAGCTGCAGCAGTCAGGTCCAGGACTGGTGAAGCCCTCGCAGACCCTCTCACTCACCTGTGCCATCTCC
- [0294] SEQ ID NO: 7 scFv418 VH 프레임 영역 1 (FR1) 아미노산 서열
- [0295] QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCAIS
- [0296] SEQ ID NO: 8 scFv418 VH CDR1 핵산 서열
- [0297] GGGGGCAGTGTCTCTAGCAACAGTGCTGCT
- [0298] SEQ ID NO: 9 scFv418 VH CDR1 아미노산 서열
- [0299] GGSVSSNSAA
- [0300] SEQ ID NO: 10 scFv418 VH 프레임 영역 2 (FR2) 핵산 서열
- [0301] TGGAAGTGGATCAGGCAGTCCCCATCGAGAGGCCTTGAGTGGCTGGGAAGG
- [0302] SEQ ID NO: 11 scFv418 VH 프레임 영역 2 (FR2) 아미노산 서열
- [0303] WNWIRQSPSRGLEWLGR
- [0304] SEQ ID NO: 12 scFv418 VH CDR2 영역 핵산 서열
- [0305] ACATACTACAGGTCCAAGTGGTATAAT
- [0306] SEQ ID NO: 13 scFv418 VH CDR2 영역 아미노산 서열
- [0307] TYYSRWYN
- [0308] SEQ ID NO: 14 scFv418 VH 프레임 영역 3 (FR3) 핵산 서열
- [0309] GATTATGCAGTATCTGTGAAAAGTCGAATAACCATCAACCCAGACACATCCAAGAACCAGTTCTCCCTGCAGCTGAACTCTGTGACTCCCAGGACACGGCT
GTGTATTACTGT
- [0310] SEQ ID NO: 15 scFv418 VH 프레임 영역 3 (FR3) 아미노산 서열
- [0311] DYAVSVKSRITINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYYC
- [0312] SEQ ID NO: 16 scFv418 VH CDR3 영역 핵산 서열
- [0313] GCAAGAGATGCGCTAGCAGCAGCTGGTACATATGGTTACTACTACTACTACGGTATGGACGTC
- [0314] SEQ ID NO: 17 scFv418 VH CDR3 영역 아미노산 서열
- [0315] ARDALAAAGTYGYYYYGMDV
- [0316] SEQ ID NO: 18 scFv418 VH 프레임 영역 4 (FR4) 핵산 서열
- [0317] TGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA
- [0318] SEQ ID NO: 19 scFv418 VH 프레임 영역 4 (FR4) 아미노산 서열
- [0319] WGQGTMTVSS

- [0320] SEQ ID NO: 20 scFv418 VL 핵산 서열
- [0321] CAATCTGCCCTGACTCAGCCTGCCTCCGTGTCTGGGTCTCCTGGACAGTCGATCACCATCTCCTGCACTGGAACCAGCAGTGACGTTGGTGGTTATAACTATGTCTCCTGGTACCAACAGCACCCAGGCAAAGCCCCAACTCGTAATTTATGAGGGCACTCAGCGGCCCTCAGGGGTTTCTAGTCGCTTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCAACACGGCTCCCTGACAATCTCTGGGCTCCAGGCTGAGGACGAGGCTGATTATTACTGCAGCTCATACACAAGCAGCAGTTTTTATGTCTTCGGA
ACTGGGACCAAGCTGACCGTCCTA
- [0322] SEQ ID NO: 21 scFv418 VL 아미노산 서열
- [0323] QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQHPGKAPKLVIYEGTQRPSGVSSRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYTSSSFYVFG
TGTKLTVL
- [0324] SEQ ID NO: 22 scFv418 VL 프레임 영역 1 (FR1) 핵산 서열
- [0325] CAATCTGCCCTGACTCAGCCTGCCTCCGTGTCTGGGTCTCCTGGACAGTCGATCACCATCTCCTGCACTGGAACC
- [0326] SEQ ID NO: 23 scFv418 VL 프레임 영역 1 (FR1) 아미노산 서열
- [0327] QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGT
- [0328] SEQ ID NO: 24 scFv418 VL CDR1 핵산 서열
- [0329] AGCAGTGACGTTGGTGGTTATAACTAT
- [0330] SEQ ID NO: 25 scFv418 VL CDR1 아미노산 서열
- [0331] SSDVGGYNY
- [0332] SEQ ID NO: 26 scFv418 VL 프레임 영역 2 (FR2) 핵산 서열
- [0333] GTCTCCTGGTACCAACAGCACCCAGGCAAAGCCCCAACTCGTAATTTAT
- [0334] SEQ ID NO: 27 scFv418 VL 프레임 영역 2 (FR2) 아미노산 서열
- [0335] VSWYQHPGKAPKLVIY
- [0336] SEQ ID NO: 28 scFv418 VL CDR2 핵산 서열
- [0337] GAGGGCACT
- [0338] SEQ ID NO: 29 scFv418 VL CDR2 아미노산 서열
- [0339] EGT
- [0340] SEQ ID NO: 30 scFv418 VL 프레임 영역 3 (FR3) 핵산 서열
- [0341] CAGCGGCCCTCAGGGGTTTCTAGTCGCTTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCAACACGGCCTCCCTGACAATCTCTGGGCTCCAGGCTGAGGACGAGGCTGATTAT
TACTGC
- [0342] SEQ ID NO: 31 scFv418 VL 프레임 영역 3 (FR3) 아미노산 서열
- [0343] QRPSGVSSRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYC
- [0344] SEQ ID NO: 32 scFv418 VL CDR3 영역 핵산 서열
- [0345] AGCTCATACACAAGCAGCAGTTTTTATGTC
- [0346] SEQ ID NO: 33 scFv418 VL CDR3 영역 아미노산 서열
- [0347] SSYTSSSFYV
- [0348] SEQ ID NO: 34 scFv418 VL 프레임 영역 4 (FR4) 핵산 서열
- [0349] TTCGGAACCTGGGACCAAGCTGACCGTCCTA
- [0350] SEQ ID NO: 35 scFv418 VL 프레임 영역 4 (FR4) 아미노산 서열
- [0351] FGTGTLTVL

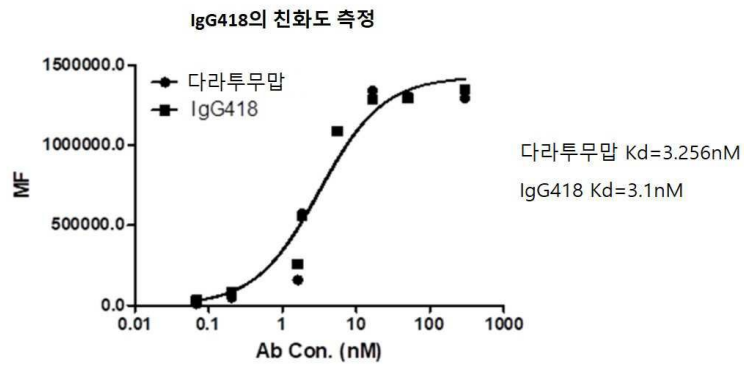
- [0352] SEQ ID NO: 36 IgG418 중쇄 핵산 서열
- [0353] CAGGTACAGCTGCAGCAGTCAGGTCCAGGACTGGTGAAGCCCTCGCAGACCCTCTCACTCACCTGTGCCATCTCCGGGGGCAGTGTCTCTAGCAACAGTGCTGCTTGGAACTGGATCAGGCAGTCCCCATCGAGAGGCCTTGAGTGGCTGGGAAGGACATACTACAGGTCCAAGTGGTATAATGATTATGCAGTATCTGTGAAAAGTCGAATAACCATCAACCCAGACACATCCAAGAACCAGTTCTCCCTGCAGCTGAACTCTGTGACTCCCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCAAGAGATGCGCTAGCAGCAGCTGGTACATATGGTTACTACTACTACTACGGTATGGACGCTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCAGCCTCCACTAAGGGCCATCCGTGTTCCTCCACTGGCACCCCTCTAGTAAGAGCACATCTGGGGGTACTGCCGCTCTGGGATGTCTGGTGAAGGATTACTTCCAGAGCCAGTCACCGTGTCCTGGAACAGCGGGGCCCTGACTTCCGGTGTCCATACCTTTCCAGCTGTGCTGCAGTCATCCGGCCTGTACAGCCTGAGCTCTGTGGTCACCGTCCCCAGTTCATCCCTGGGAACACAGACTTATATCTGCAACGTGAATCACAAGCCATCCAATACAAAAGTCGACAAGAAAGTGAACCCAAAGAGCTGTGATAAAACCCATACATGCCCCCTTGTCTGCTCCAGAGCTGCTGGGAGGACCATCCGTGTTCTGTTTCCACCCAAGCCTAAAGACACTCTGATGATTTCTCGAACCCCGAAGTCACATGCGTGGTCTGGACGTGTCCACGAGGATCCTGAAGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTCGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAACACGAGAGAACAGTACAACAGTACCTATCGTGTGTCAGTCTGACAGTGTGCACCAGGACTGGCTGAACGGGAAGGAATATAAGTGCAAAGTGAGCAATAAGGCACTGCCGCCCTATCGAGAAAACAATTTCTAAGGCTAAAGGACAGCCTAGGGAACACAGGTGTACACTCTGCCTCCATCAGGGACGAGCTGACAAAAGAACAGGTCACTGTGACTTGTCTGGTGAAGGGTCTATCCTTCTGATATCGCCGTGGAGTGGGAAAGTAATGGTCAGCCAGAGAACAAATTACAAGACCACACCCCTGTCTGGACTCTGATGGGAGTTTCTTTCTGTATTCCAAGCTGACCGTGGATAAAAGCCGGTGGCAGCAGGGTAATGTCTTTAGTTGTTTCAGTGATGCAGGAGCTGCACAATCACTACACCCAGAAATCACTGTCACTGTACCAGGTAAATGA
- [0354] SEQ ID NO: 37 IgG418 중쇄 아미노산 서열
- [0355] QVQLQSGPGLVKPSQTLSTCAISGGSVSSNSAANNWIRQSPSRGLEWLGRYYRSKWYNDYAVSVKSRITINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYYCARDALAAAGTYGYYYYYGMVDVWVGQTMVTSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMEALHNHYTQKLSLSPGK
- [0356] SEQ ID NO: 38 IgG418 중쇄 신호 펩티드 핵산 서열
- [0357] ATGTCTGTCTCCTTCCTCATCTTCTGCCCCGTGCTGGGCCTCCCATGGGGTGTCTGTCA
- [0358] SEQ ID NO: 39 IgG418 중쇄 신호 펩티드 아미노산 서열
- [0359] MSVSFLIFLPVLGLPWGVL
- [0360] SEQ ID NO: 40 IgG418 경쇄 핵산 서열
- [0361] CAATCTGCCCTGACTCAGCCTGCCTCCGTGTCTGGGTCTCCTGGACAGTCGATCACCATCTCCTGCACTGGAACCAGCAGTGACGTTGGTGGTTATAACTATGTCTCCTGGTACCAACAGCACCCAGGCAAAGCCCCAACTCGTAATTTATGAGGGCACTCAGCGGCCCTCAGGGGTTTCTAGTCGCTTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCAACACGGCTCCCTGACAATCTCTGGGTCCAGGCTGAGGACGAGGCTGATTATTACTGCAGCTCATACACAAGCAGCAGTTTTTATGTCTTCGGAACCTGGGACCAAGCTGACCGTCTAGGtCAGCCtAAGGctGCTCCTAGCGTGACCCTGTTCCCTCCAGCAGCGAGGAGCTGCAGGCAAACAAGCCACCTGTGTGTGCTGATCTCCGACTTTTACCCTGGCGCCGTGACAGTGGCCTGGAAGGCTGACAGCAGCCCAGTGAAAGCCGGAGTGGAGACCACCACCCCTCCAAGCAGTCCAACAACAAGTACGCCGATCTCTACCTGAGCCTGACCCCCGAGCAGTGAAGTCCCACAGGTCTACTCTGCCAGGTGACCCACGAGGGCTCTACCGTGGAAAAGACCGTGGCCCCACCGAGTGCTCCTGA
- [0362] SEQ ID NO: 41 IgG418 경쇄 아미노산 서열
- [0363] QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQHPGKAPKLVIYEGTQRPSGVSSRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYSSSFYVFGTGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPSKQSNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
- [0364] SEQ ID NO: 42 IgG418 경쇄 신호 펩티드 핵산 서열
- [0365] ATGGCCTGGGCTCTGCTGCTCCTACCCCTCCTCACTCAGGGCACAGGGTCTGGGCC
- [0366] SEQ ID NO: 43 IgG418 경쇄 신호 펩티드 아미노산 서열
- [0367] MAWALLLLTLLTQGTGSA

도면

도면1



도면2

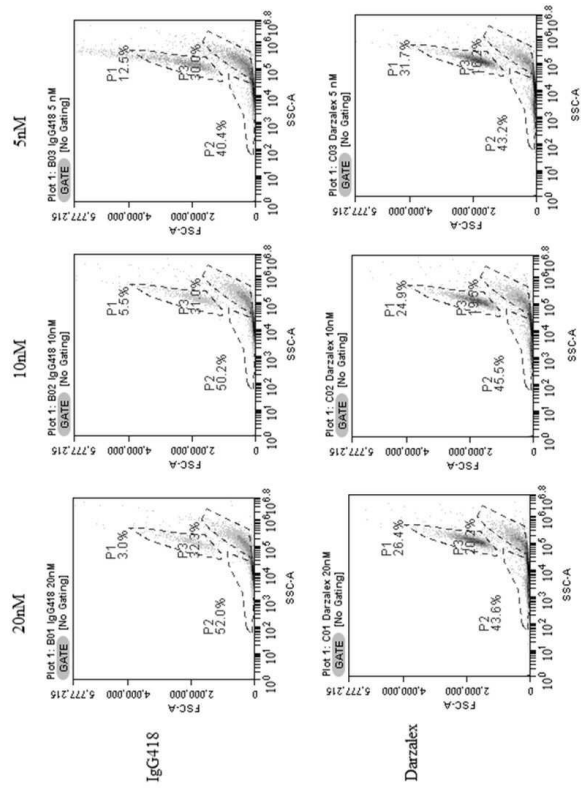


도면3

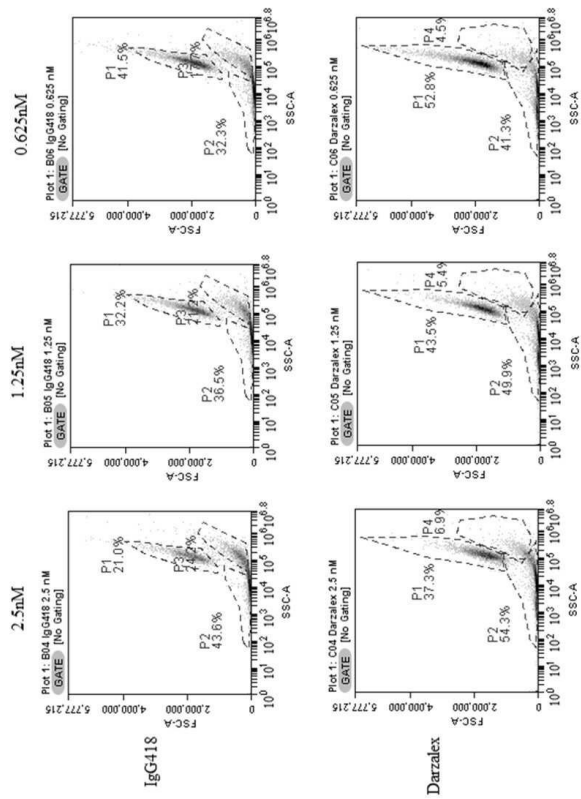
ELISA

샘플	OD450
IgG418+CD38	2.570
IgG418+CD38	2.507
Darzalex+CD38	0.168
Darzalex+CD38	0.176
CD38만	0.377
CD38만	0.385

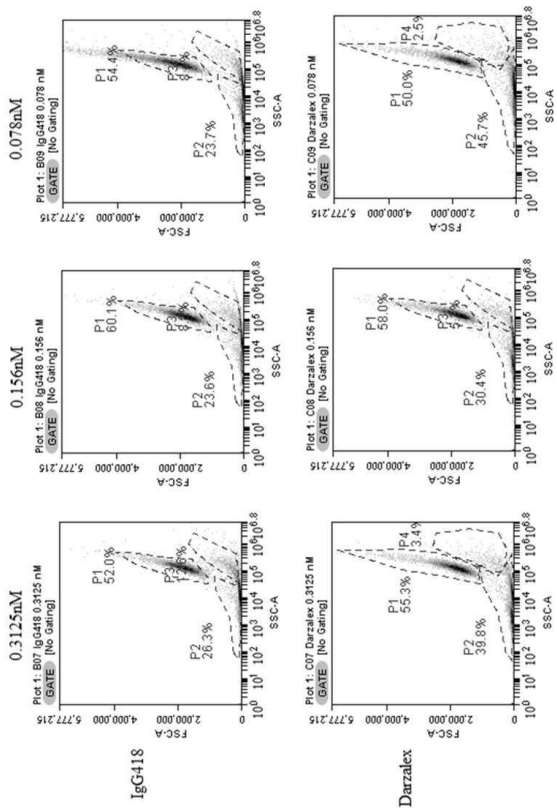
도면4a



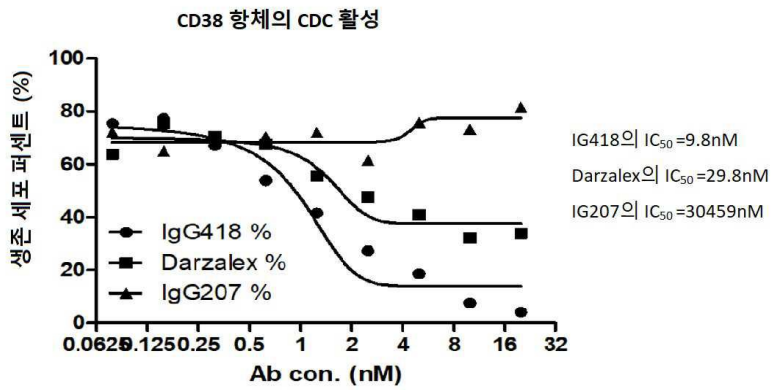
도면4b



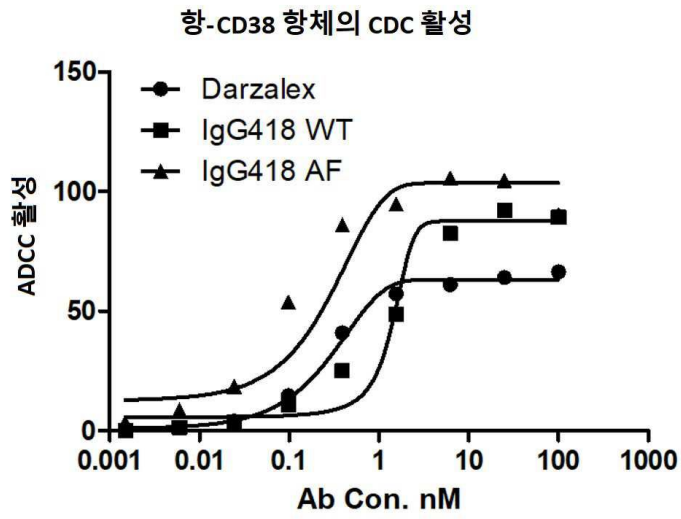
도면4c



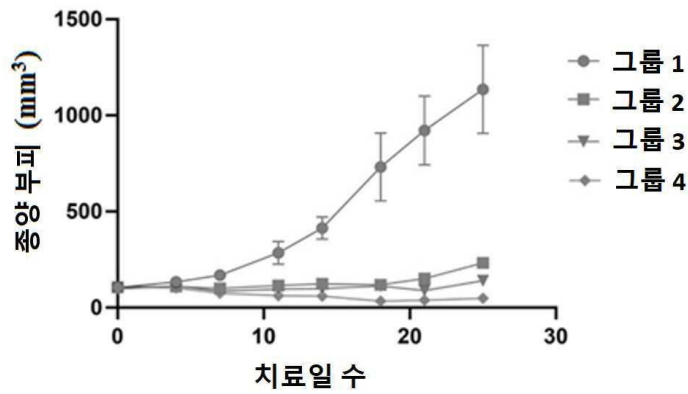
도면5



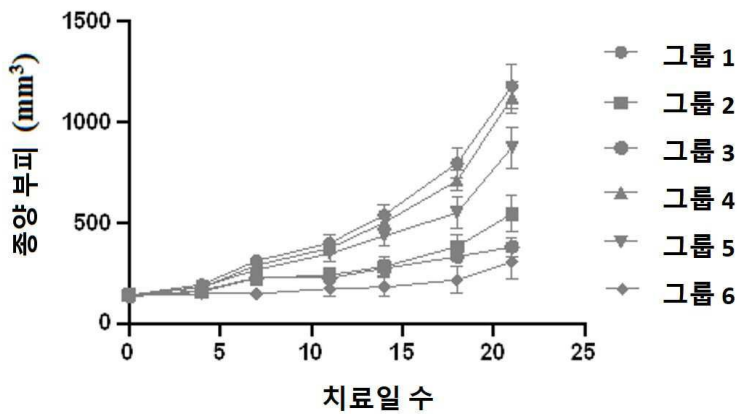
도면6



도면7



도면8



서 열 목 록 (첨부)



아이콘을 클릭하시면 서열목록 파일이 열립니다.

본 공보 PDF는 첨부파일을 가지고 있습니다. Acrobat Reader PDF뷰어를 제공하지 않는 브라우저(크롬, 파이어폭스, 사파리 등)의 경우 첨부파일 열기가 제한되어 있으므로 Acrobat Reader PDF뷰어 설치 후 공보 PDF를 다운로드 받아 해당 뷰어에서 조회해주시기 바랍니다.