



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2020-0090801
(43) 공개일자 2020년07월29일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/28 (2006.01) A61K 39/00 (2006.01)
A61P 37/06 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07K 16/2806 (2013.01)
A61P 37/06 (2018.01)
(21) 출원번호 10-2020-7016423
(22) 출원일자(국제) 2018년11월29일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2020년06월08일
(86) 국제출원번호 PCT/US2018/063171
(87) 국제공개번호 WO 2019/108860
국제공개일자 2019년06월06일
(30) 우선권주장
62/592,169 2017년11월29일 미국(US)

(71) 출원인
마젠타 테라퓨틱스 인코포레이티드
미국 매사추세츠 케임브리지 테크놀로지 스퀘어
100 피프스 플로어 (우: 02139)
(72) 발명자
보이타노, 앤서니
미국 02468 매사추세츠 뉴턴 에블린 로드 27
쿡, 마이클
미국 02445 매사추세츠 브루클린 유니버시티 로드
135 넘버 1
(74) 대리인
(뒷면에 계속)
특허법인 남앤남

전체 청구항 수 : 총 226 항

(54) 발명의 명칭 CD2+ 세포의 고갈을 위한 조성물 및 방법

(57) 요약

본 발명은 다른 혈액학적 및 증식성 질환 중에서 줄기 세포 장애, 암, 또는 자가면역 질환을 치료하는 제제로서 사용하기 위한 항-CD2 항체, 이의 항원-결합 단편, 및 이의 항체-약물 컨쥬게이트를 제공한다. 본원에 기재된 조성물 및 방법은 CD2+ 암 세포 및 CD2+ 면역 세포와 같은 CD2+ 세포 집단을 고갈시키는데 사용될 수 있고, 조혈 줄기 세포 이식을 위해 환자를 준비하는데 사용될 수 있다.

(52) CPC특허분류

A61K 2039/505 (2013.01)

C07K 2317/21 (2013.01)

C07K 2317/73 (2013.01)

C07K 2317/92 (2013.01)

(72) 발명자

팔차우두리, 라홀

미국 02143 매사추세츠 섬머빌 스프링필드 스트리트 46 아파트먼트 2

맥도너, 셴

미국 01460 매사추세츠 리틀턴 달리아 드라이브 60

명세서

청구범위

청구항 1

유효량의 항-CD2 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 환자에게 투여하는 단계를 포함하는, 인간 환자에서 CD2+ 세포 집단을 고갈시키는 방법으로서, 상기 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 세포독소에 컨쥬게이션된 방법.

청구항 2

유효량의 항-CD2 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 환자에게 투여하는 단계를 포함하는, 조혈 줄기 세포 이식을 필요로 하는 인간 환자에서 CD2+ 세포 집단을 고갈시키는 방법으로서, 상기 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 세포독소에 컨쥬게이션된 방법.

청구항 3

인간 환자가 조혈 줄기 세포를 포함하는 이식을 받기 전에, 유효량의 항-CD2 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 환자에게 투여하는 단계를 포함하는, 조혈 줄기 세포 이식을 필요로 하는 인간 환자에서 조혈 줄기 세포 이식편의 거부를 예방하는 방법으로서, 상기 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 세포독소에 컨쥬게이션된 방법.

청구항 4

환자가 조혈 줄기 세포를 포함하는 이식을 받기 전에, 유효량의 항-CD2 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 환자에게 투여하는 단계를 포함하는, 조혈 줄기 세포 이식을 필요로 하는 인간 환자에서 CD2+ 세포 집단을 고갈시키는 방법으로서, 상기 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 세포독소에 컨쥬게이션된 방법.

청구항 5

조혈 줄기 세포를 포함하는 이식물을 인간 환자에게 투여하는 단계를 포함하는 방법으로서, 상기 환자가 환자에서 CD2+ 세포 집단을 고갈시키기에 충분한 양의 항-CD2 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 이전에 투여받았고, 상기 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 세포독소에 컨쥬게이션된 방법.

청구항 6

- i) 환자에서 CD2+ 세포 집단을 고갈시키기에 충분한 양의 CD2에 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 인간 환자에게 투여하는 단계로서, 상기 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 세포독소에 컨쥬게이션된 단계; 및
- ii) 이어서 상기 환자에게 조혈 줄기 세포를 포함하는 이식물을 투여하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 하이브리도마 세포주 ATCC HB 11423에 의해 생산되는 방법.

청구항 8

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 ATCC 수탁 번호 HB 11423을 갖는 하이브리도마 세포주에 의해 생산된 항체 LO-CD2A의 중쇄 가변 영역 CDR 세트(CDR1, CDR2, 및 CDR3) 및 경쇄 가변 영역 CDR 세트(CDR1, CDR2, 및 CDR3)를 포함하는 방법.

청구항 9

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편이,

- i) SEQ ID NO: 1에 제시된 CDR-H1; SEQ ID NO: 2에 제시된 CDR-H2; SEQ ID NO: 3에 제시된 CDR-H3을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함하고; SEQ ID NO: 4에 제시된 CDR-L1; SEQ ID NO: 5에 제시된 CDR-L2; 및 SEQ ID NO: 6에 제시된 CDR-L3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항-CD2 항체 또는 이의 항원 결합 부분;
- ii) SEQ ID NO: 14에 제시된 CDR-H1; SEQ ID NO: 15에 제시된 CDR-H2; SEQ ID NO: 16 또는 17에 제시된 CDR-H3

을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함하고; SEQ ID NO: 18에 제시된 CDR-L1; SEQ ID NO: 19에 제시된 CDR-L2; 및 SEQ ID NO: 20에 제시된 CDR-L3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항-CD2 항체 또는 이의 항원 결합 부분;

iii) SEQ ID NO: 7에 제시된 중쇄 가변 영역을 포함하고 SEQ ID NO: 8에 제시된 경쇄 가변 영역을 포함하는 항-CD2 항체 또는 이의 항원 결합 부분;

iv) SEQ ID NO: 9에 제시된 중쇄 가변 영역을 포함하고 SEQ ID NO: 10에 제시된 경쇄 가변 영역을 포함하는 항-CD2 항체 또는 이의 항원 결합 부분; 또는

v) SEQ ID NO: 21 또는 22에 제시된 중쇄 가변 영역을 포함하고 SEQ ID NO: 23에 제시된 경쇄 가변 영역을 포함하는 항-CD2 항체 또는 이의 항원 결합 부분인 방법.

청구항 10

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 제9항의 항체 또는 이의 항원-결합 단편에 대한 CD2의 결합을 경쟁적으로 억제하는 방법.

청구항 11

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 모노클로날 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 폴리클로날 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 인간화 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 이중특이적 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 무손상 항체, 이중-가변 면역글로불린 도메인, 단일쇄 Fv 분자(scFv), 디아바디, 트리아바디, 나노바디, 항체-유사 단백질 스캐폴드, Fv 단편, Fab 단편, F(ab')₂ 분자, 및 탠덤 디-scFv로 구성된 군으로부터 선택되는 방법.

청구항 12

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 인간화 항체 또는 이의 항원-결합 단편인 방법.

청구항 13

제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 항체가 IgG, IgA, IgM, IgD, 및 IgE로 구성된 군으로부터 선택된 아이소형을 갖는 방법.

청구항 14

제13항에 있어서, IgG 아이소형이 IgG1 또는 IgG4인 방법.

청구항 15

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 세포독소가 슈도모나스 외독소 A, 테부가닌, 디프테리아 독소, 아마톡신, 사포린, 메이탄신, 메이탄시노이드, 아우리스타틴, 안트라사이클린, 칼리케아미신, 이리노테칸, SN-38, 듀오카마이신, 피롤로벤조디아제핀, 피롤로벤조디아제핀 이량체, 인돌리노벤조디아제핀, 및 인돌리노벤조디아제핀 이량체, 또는 이의 변이체로 구성된 군으로부터 선택되는 방법.

청구항 16

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 세포독소가 RNA 중합효소 억제제인 방법.

청구항 17

제16항에 있어서, RNA 중합효소 억제제가 RNA 중합효소 II 억제제인 방법.

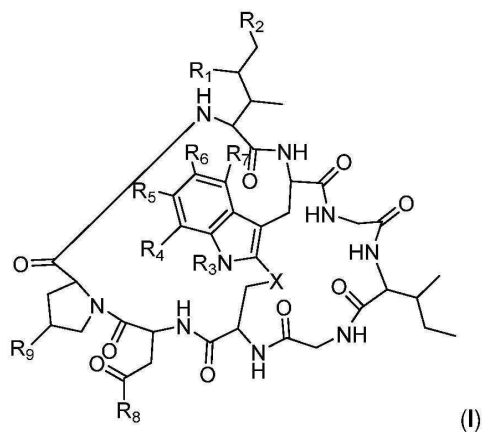
청구항 18

제17항에 있어서, RNA 중합효소 II 억제제가 아마톡신인 방법.

청구항 19

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 세포독소에 컨쥬게이션된 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 화학식

Ab-Z-L-Am으로 표현되고, 여기서 Ab는 항체 또는 이의 항원-결합 단편이고, L은 링커이고, Z는 화학적 모이어티이고, Am은 하기 화학식 (I)로 표현되는 아마톡신인 방법:



상기 식에서, R₁은 H, OH, OR_A, 또는 OR_C이고;

R₂는 H, OH, OR_B, 또는 OR_C이고;

R_A 및 R_B는 존재하는 경우 이들이 결합된 산소 원자와 함께 조합되어 임의로 치환된 5원 헤테로사이클로알킬 기를 형성하고;

R₃은 H, R_C, 또는 R_D이고;

R₄, R₅, R₆, 및 R₇은 각각 독립적으로 H, OH, OR_C, OR_D, R_C, 또는 R_D이고;

R₈은 OH, NH₂, OR_C, OR_D, NHR_C, 또는 NR_CR_D이고;

R₉는 H, OH, OR_C, 또는 OR_D이고;

X는 -S-, -S(O)-, 또는 -SO₂-이고;

R_C는 -L-Z이고;

R_D는 임의로 치환된 C₁-C₆ 알킬, 임의로 치환된 C₁-C₆ 헤테로알킬, 임의로 치환된 C₂-C₆ 알케닐, 임의로 치환된 C₂-C₆ 헤테로알케닐, 임의로 치환된 C₂-C₆ 알키닐, 임의로 치환된 C₂-C₆ 헤테로알키닐, 임의로 치환된 사이클로알킬, 임의로 치환된 헤테로사이클로알킬, 임의로 치환된 아릴, 또는 임의로 치환된 헤테로아릴이고;

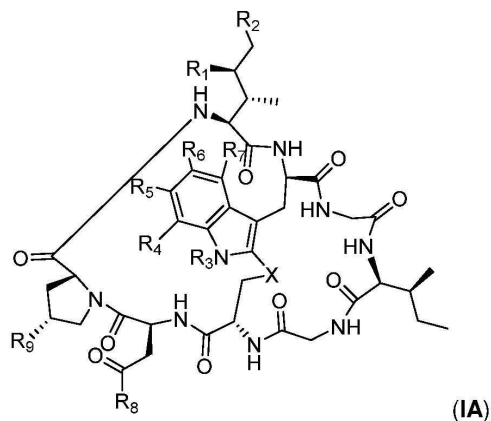
L은 임의로 치환된 C₁-C₆ 알킬렌, 임의로 치환된 C₁-C₆ 헤테로알킬렌, 임의로 치환된 C₂-C₆ 알케닐렌, 임의로 치환된 C₂-C₆ 헤테로알케닐렌, 임의로 치환된 C₂-C₆ 알키닐렌, 임의로 치환된 C₂-C₆ 헤테로알키닐렌, 임의로 치환된 사이클로알킬렌, 임의로 치환된 헤테로사이클로알킬렌, 임의로 치환된 아릴렌, 임의로 치환된 헤테로아릴렌, 디펩티드, -C(=O)-, 펩티드, 또는 이의 조합이고;

Z는 L 상에 존재하는 반응성 치환기와 항체 또는 이의 항원-결합 단편 내에 존재하는 반응성 치환기 사이의 커플링 반응으로부터 형성된 화학적 모이어티이고,

여기서 Am은 정확히 하나의 R_C 치환기를 포함한다.

청구항 20

제19항에 있어서, Am-L-Z가 하기 화학식 (IA)로 표현되는 방법:



상기 식에서, R₁은 H, OH, OR_A, 또는 OR_C이고;

R₂는 H, OH, OR_B, 또는 OR_C이고;

R_A 및 R_B는 존재하는 경우 이들이 결합된 산소 원자와 함께 조합되어 임의로 치환된 5원 헤테로사이클로알킬 기를 형성하고;

R₃은 H, R_C, 또는 R_D이고;

R₄, R₅, R₆, 및 R₇은 각각 독립적으로 H, OH, OR_C, OR_D, R_C, 또는 R_D이고;

R₈은 OH, NH₂, OR_C, OR_D, NHR_C, 또는 NR_CR_D이고;

R₉는 H, OH, OR_C, 또는 OR_D이고;

X는 -S-, -S(O)-, 또는 -SO₂-이고;

R_C는 -L-Z이고;

R_D는 임의로 치환된 C₁-C₆ 알킬, 임의로 치환된 C₁-C₆ 헤테로알킬, 임의로 치환된 C₂-C₆ 알케닐, 임의로 치환된 C₂-C₆ 헤테로알케닐, 임의로 치환된 C₂-C₆ 알키닐, 임의로 치환된 C₂-C₆ 헤테로알키닐, 임의로 치환된 사이클로알킬, 임의로 치환된 헤테로사이클로알킬, 임의로 치환된 아릴, 또는 임의로 치환된 헤테로아릴이고;

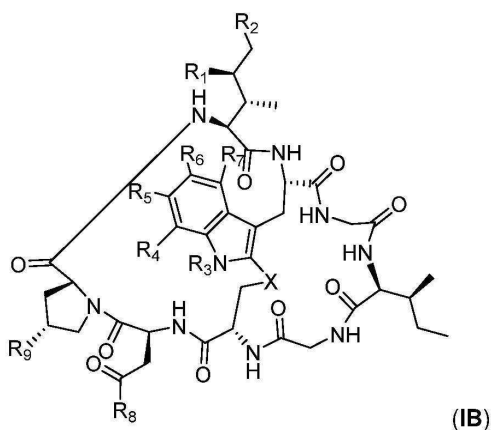
L은 임의로 치환된 C₁-C₆ 알킬렌, 임의로 치환된 C₁-C₆ 헤테로알킬렌, 임의로 치환된 C₂-C₆ 알케닐렌, 임의로 치환된 C₂-C₆ 헤테로알케닐렌, 임의로 치환된 C₂-C₆ 알키닐렌, 임의로 치환된 C₂-C₆ 헤테로알키닐렌, 임의로 치환된 사이클로알킬렌, 임의로 치환된 헤테로사이클로알킬렌, 임의로 치환된 아릴렌, 임의로 치환된 헤테로아릴렌, 디캡티드, -C(=O)-, 캡티드, 또는 이의 조합이고;

Z는 L 상에 존재하는 반응성 치환기와 항체 또는 이의 항원-결합 단편 내에 존재하는 반응성 치환기 사이의 커플링 반응으로부터 형성된 화학적 모이어티이고;

여기서 Am은 정확히 하나의 R_C 치환기를 포함한다.

청구항 21

제19항에 있어서, Am-L-Z가 하기 화학식 (IB)로 표현되는 방법:



상기 식에서, R₁은 H, OH, OR_A, 또는 OR_C이고;

R₂는 H, OH, OR_B, 또는 OR_C이고;

R_A 및 R_B는 존재하는 경우 이들이 결합된 산소 원자와 함께 조합되어 임의로 치환된 5원 헤테로사이클로알킬 기를 형성하고;

R₃은 H, R_C, 또는 R_D이고;

R₄, R₅, R₆, 및 R₇은 각각 독립적으로 H, OH, OR_C, OR_D, R_C, 또는 R_D이고;

R₈은 OH, NH₂, OR_C, OR_D, NHR_C, 또는 NR_CR_D이고;

R₉는 H, OH, OR_C, 또는 OR_D이고;

X는 -S-, -S(O)-, 또는 -SO₂-이고;

R_C는 -L-Z이고;

R_D는 임의로 치환된 C₁-C₆ 알킬, 임의로 치환된 C₁-C₆ 헤테로알킬, 임의로 치환된 C₂-C₆ 알케닐, 임의로 치환된 C₂-C₆ 헤테로알케닐, 임의로 치환된 C₂-C₆ 알키닐, 임의로 치환된 C₂-C₆ 헤테로알키닐, 임의로 치환된 사이클로알킬, 임의로 치환된 헤테로사이클로알킬, 임의로 치환된 아릴, 또는 임의로 치환된 헤테로아릴이고;

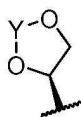
L은 임의로 치환된 C₁-C₆ 알킬렌, 임의로 치환된 C₁-C₆ 헤테로알킬렌, 임의로 치환된 C₂-C₆ 알케닐렌, 임의로 치환된 C₂-C₆ 헤테로알케닐렌, 임의로 치환된 C₂-C₆ 알키닐렌, 임의로 치환된 C₂-C₆ 헤테로알키닐렌, 임의로 치환된 사이클로알킬렌, 임의로 치환된 헤테로사이클로알킬렌, 임의로 치환된 아릴렌, 임의로 치환된 헤테로아릴렌, 디펩티드, -C(=O)-, 펩티드, 또는 이의 조합이고;

Z는 L 상에 존재하는 반응성 치환기와 항체 또는 이의 항원-결합 단편 내에 존재하는 반응성 치환기 사이의 커플링 반응으로부터 형성된 화학적 모이어티이고,

여기서 Am은 정확히 하나의 R_C 치환기를 포함한다.

청구항 22

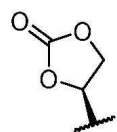
제20항 또는 제21항에 있어서, R_A 및 R_B가 이들이 결합된 산소 원자와 함께 조합되어 하기 화학식의 5원 헤테로사이클로알킬 기를 형성하는 방법:



상기 식에서, Y는 $-C(=O)-$, $-C(=S)-$, $-C(=NR_E)-$, 또는 $-C(R_E R_{E'})-$ 이고; R_E 및 $R_{E'}$ 는 각각 독립적으로 임의로 치환된 C_1-C_6 알킬렌- R_C , 임의로 치환된 C_1-C_6 헤테로알킬렌- R_C , 임의로 치환된 C_2-C_6 알케닐렌- R_C , 임의로 치환된 C_2-C_6 헤테로알케닐렌- R_C , 임의로 치환된 C_2-C_6 알키닐렌- R_C , 임의로 치환된 C_2-C_6 헤테로알키닐렌- R_C , 임의로 치환된 사이클로알킬렌- R_C , 임의로 치환된 헤테로사이클로알킬렌- R_C , 임의로 치환된 아릴렌- R_C , 또는 임의로 치환된 헤테로아릴렌- R_C 이다.

청구항 23

제22항에 있어서, R_A 및 R_B 가 이들이 결합된 산소 원자와 함께 조합되어 다음을 형성하는 방법:

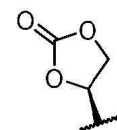


청구항 24

제20항 또는 제21항에 있어서, R_1 이 H, OH, 또는 OR_A 이고;

R_2 가 H, OH, 또는 OR_B 이고;

R_A 및 R_B 가 이들이 결합된 산소 원자와 함께 조합되어 다음을 형성하고:



R_3 , R_4 , R_6 , 및 R_7 이 각각 H이고;

R_5 가 OR_C 이고;

R_8 이 OH 또는 NH_2 이고;

R_9 가 H 또는 OH인 방법.

청구항 25

제20항 또는 제21항에 있어서, R_1 및 R_2 가 각각 독립적으로 H 또는 OH이고;

R_3 이 R_C 이고;

R_4 , R_6 , 및 R_7 이 각각 H이고;

R_5 가 H, OH, 또는 OC_1-C_6 알킬이고;

R_8 이 OH 또는 NH_2 이고;

R_9 가 H 또는 OH인 방법.

청구항 26

제20항 또는 제21항에 있어서, R_1 및 R_2 가 각각 독립적으로 H 또는 OH이고;

R_3 , R_6 , 및 R_7 이 각각 H이고;

R_4 및 R_5 가 각각 독립적으로 H, OH, OR_C , 또는 R_C 이고;

R_8 이 OH 또는 NH_2 이고;

R_9 가 H 또는 OH인 방법.

청구항 27

제20항 또는 제21항에 있어서, R_1 및 R_2 가 각각 독립적으로 H 또는 OH이고;

R_3 , R_6 , 및 R_7 이 각각 H이고;

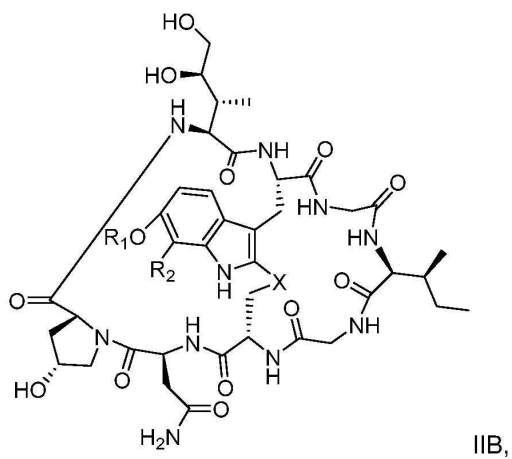
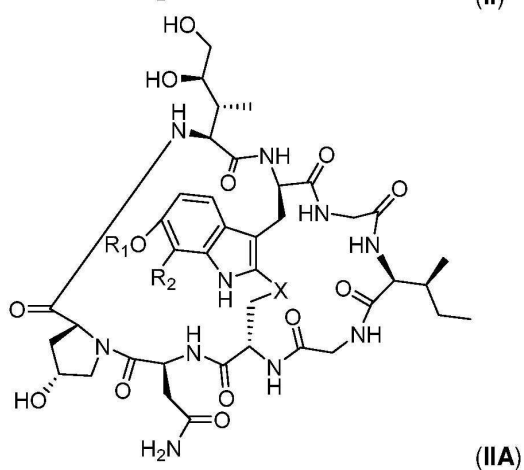
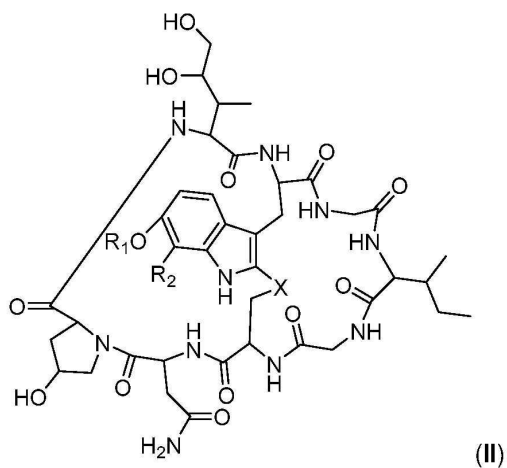
R_4 및 R_5 가 각각 독립적으로 H 또는 OH이고;

R_8 이 OR_C 또는 NHR_C 이고;

R_9 가 H 또는 OH인 방법.

청구항 28

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 세포독소에 컨쥬게이션된 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 화학식 Ab-Z-L-Am으로 표현되고, 여기서 Ab는 항체 또는 이의 항원 결합 단편이고, Z는 화학적 모이어티이고, L은 링커이고, Am은 아마톡신이며, 아마톡신-링커 컨쥬게이트 Am-L-Z가 하기 화학식 (II), 화학식 (IIA), 또는 화학식 (IIB)로 표현되는 방법:



상기 식에서, X는 S, SO, 또는 SO₂이고;

R₁은 H 또는 링커 상에 존재하는 반응성 치환기와 항체 또는 이의 항원-결합 단편 내에 존재하는 반응성 치환기 사이의 커플링 반응으로부터 형성된 화학적 모이어티 Z를 통해 항체 또는 이의 항원-결합 단편에 공유적으로 결합된 링커이고;

R₂는 H 또는 링커 상에 존재하는 반응성 치환기와 항체 또는 이의 항원-결합 단편 내에 존재하는 반응성 치환기 사이의 커플링 반응으로부터 형성된 화학적 모이어티 Z를 통해 항체 또는 이의 항원-결합 단편에 공유적으로 결합된 링커이고;

여기서 R₁이 H인 경우, R₂는 링커이고, R₂가 H인 경우, R₁은 링커이다.

청구항 29

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 세포독소가 DM1 및 DM4로 구성된 군으로부터 선택된 메이탄시노이드인 방법.

청구항 30

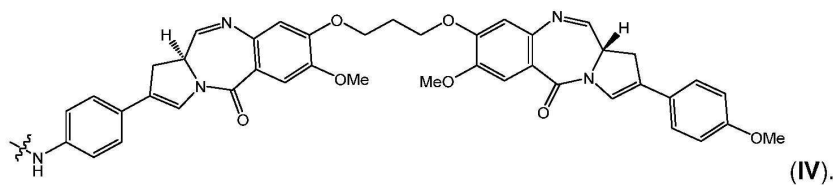
제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 세포독소가 모노메틸 아우리스타틴 E 및 모노메틸 아우리스타틴 F로 구성된 군으로부터 선택된 아우리스타틴인 방법.

청구항 31

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 세포독소가 다우노루비신, 독소루비신, 에피루비신, 및 이다루비신으로 구성된 군으로부터 선택된 안트라사이클린인 방법.

청구항 32

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 세포독소가 하기 화학식 (IV)로 표현되는 피롤로벤조디아제핀 이량체 유도체인 방법:



청구항 33

제1항 내지 제32항 중 어느 한 항에 있어서, 세포독소에 컨쥬게이션된 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 환자에게 투여된 후 면역 세포에 의해 내재화되는 방법.

청구항 34

제1항 내지 제33항 중 어느 한 항에 있어서, 세포독소에 컨쥬게이션된 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 면역 세포의 괴사를 촉진할 수 있는 방법.

청구항 35

제1항 내지 제34항 중 어느 한 항에 있어서, 세포독소에 컨쥬게이션된 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 환자에게 투여시 하나 이상의 보체 단백질을 면역 세포로 동원할 수 있는 방법.

청구항 36

제33항 내지 제35항 중 어느 한 항에 있어서, 면역 세포가 T 세포 및 NK 세포로 구성된 군으로부터 선택되는 방법.

청구항 37

제3항 내지 제35항 중 어느 한 항에 있어서, 조혈 줄기 세포를 포함하는 이식물이 세포독소에 컨쥬게이션된 항체 또는 이의 항원-결합 단편의 농도가 환자의 혈액으로부터 실질적으로 제거된 후에 환자에게 투여되는 방법.

청구항 38

제37항에 있어서, 조혈 줄기 세포를 포함하는 이식물이 세포독소에 컨쥬게이션된 항체 또는 이의 항원-결합 단편의 농도가 환자의 혈액으로부터 실질적으로 제거된 후 1시간 내지 7일 사이에 환자에게 투여되는 방법.

청구항 39

제37항에 있어서, 조혈 줄기 세포를 포함하는 이식물이 세포독소에 컨쥬게이션된 항체 또는 이의 항원-결합 단편의 농도가 환자의 혈액으로부터 실질적으로 제거된 후 6시간 내지 3일 사이에 환자에게 투여되는 방법.

청구항 40

제37항에 있어서, 조혈 줄기 세포를 포함하는 이식물이 세포독소에 컨쥬게이션된 항체 또는 이의 항원-결합 단편의 농도가 환자의 혈액으로부터 실질적으로 제거된 후 약 12시간 내지 약 36시간 사이에 환자에게 투여되는 방법.

청구항 41

제37항에 있어서, 조혈 줄기 세포를 포함하는 이식물이 세포독소에 컨쥬게이션된 항체 또는 이의 항원-결합 단편의 농도가 환자의 혈액으로부터 실질적으로 제거된지 약 24시간 후에 환자에게 투여되는 방법.

청구항 42

제3항 내지 제35항 중 어느 한 항에 있어서, 조혈 줄기 세포 또는 이의 자손이 상기 조혈 줄기 세포를 환자에게 이식한 후 약 2일 이상이 지난 후에 조혈 줄기 세포 기능 잠재력을 유지하는 방법.

청구항 43

제3항 내지 제42항 중 어느 한 항에 있어서, 조혈 줄기 세포가 환자에 대해 자가 세포인 방법.

청구항 44

제3항 내지 제42항 중 어느 한 항에 있어서, 조혈 줄기 세포가 환자에 대해 동종이계 세포인 방법.

청구항 45

제44항에 있어서, 조혈 줄기 세포가 환자에 대해 HLA-매칭된 세포인 방법.

청구항 46

제44항에 있어서, 조혈 줄기 세포가 환자에 대해 HLA-미스매칭된 세포인 방법.

청구항 47

제1항, 제2항, 및 제4항 내지 제36항 중 어느 한 항에 있어서, CD2+ 세포 집단이 T 세포를 포함하는 방법.

청구항 48

제3항 내지 제47항 중 어느 한 항에 있어서, 조혈 줄기 세포 또는 이의 자손이 조혈 줄기 세포를 환자에게 이식한 후 조혈 조직에 국소화되고/되거나 조혈을 재확립할 수 있는 방법.

청구항 49

제3항 내지 제48항 중 어느 한 항에 있어서, 환자에게 이식시, 조혈 줄기 세포가 거핵세포, 혈전구, 혈소판, 적혈구, 비만 세포, 골수모세포(myeloblast), 호염기구, 호중구, 호산구, 미세아교세포, 과립구, 단핵구, 파골세포, 항원-제시 세포, 대식세포, 수지상 세포, 자연 살해 세포, T 림프구, 및 B 림프구로 구성된 군으로부터 선택된 세포 집단의 회복을 야기하는 방법.

청구항 50

제1항 내지 제49항 중 어느 한 항에 있어서, 환자가 줄기 세포 장애로 고통받는 방법.

청구항 51

제1항 내지 제49항 중 어느 한 항에 있어서, 환자가 혈액소병증 장애로 고통받는 방법.

청구항 52

제51항에 있어서, 혈액소병증 장애가 겸상 적혈구 빈혈, 지중해 빈혈, 판코니 빈혈, 재생불량 빈혈, 및 위스코트-알드리치 증후군으로 구성된 군으로부터 선택되는 방법.

청구항 53

제51항에 있어서, 혈색소병증 장애가 판코니 빈혈인 방법.

청구항 54

제51항에 있어서, 혈색소병증 장애가 재생불량 빈혈인 방법.

청구항 55

제51항에 있어서, 혈색소병증 장애가 겸상 적혈구 빈혈인 방법.

청구항 56

제51항에 있어서, 혈색소병증 장애가 지중해 빈혈인 방법.

청구항 57

제1항 내지 제49항 중 어느 한 항에 있어서, 환자가 골수형성이상 장애로 고통받는 방법.

청구항 58

제1항 내지 제49항 중 어느 한 항에 있어서, 환자가 면역결핍 장애로 고통받는 방법

청구항 59

제58항에 있어서, 면역결핍 장애가 선천성 면역결핍인 방법.

청구항 60

제58항에 있어서, 면역결핍 장애가 후천성 면역결핍인 방법.

청구항 61

제60항에 있어서, 후천성 면역결핍이 인간 면역결핍 바이러스 또는 후천성 면역 결핍 증후군인 방법.

청구항 62

제1항 내지 제49항 중 어느 한 항에 있어서, 환자가 대사 장애로 고통받는 방법.

청구항 63

제62항에 있어서, 대사 장애가 글리코겐 축적병, 뮤코다당질축적증, 고쇄병, 후플러병, 스펅고지질증, 및 이염 색백색질 장애로 구성된 군으로부터 선택되는 방법.

청구항 64

제1항 내지 제63항 중 어느 한 항에 있어서, 환자가 암으로 고통받는 방법.

청구항 65

제64항에 있어서, 암이 백혈병, 림프종, 다발성 골수종, 및 신경모세포종으로 구성된 군으로부터 선택되는 방법.

청구항 66

제64항에 있어서, 암이 혈액학적 암인 방법.

청구항 67

제64항에 있어서, 암이 급성 골수 백혈병인 방법.

청구항 68

제64항에 있어서, 암이 급성 림프 백혈병인 방법.

청구항 69

제64항에 있어서, 암이 만성 골수 백혈병인 방법.

청구항 70

제64항에 있어서, 암이 만성 림프 백혈병인 방법.

청구항 71

제64항에 있어서, 암이 다발성 골수종인 방법.

청구항 72

제64항에 있어서, 암이 광범위 큰 B-세포 림프종인 방법.

청구항 73

제64항에 있어서, 암이 비호지킨 림프종인 방법.

청구항 74

제1항 내지 제73항 중 어느 한 항에 있어서, 환자가 아데노신 데아미나제 결핍증 및 중증 복합형 면역결핍증, 고면역글로불린 M 증후군, 체디악-히가시 질병, 유전성 림프조직구증, 골석화증, 골형성 부전증, 축적병, 중증 성 지중해 빈혈, 전신 경화증, 전신 홍반 루푸스, 다발성 경화증, 및 소아 류마티스 관절염으로 구성된 군으로부터 선택된 장애로 고통받는 방법.

청구항 75

제1항 내지 제74항 중 어느 한 항에 있어서, 환자가 자가면역 질환으로 고통받는 방법.

청구항 76

제75항에 있어서, 자가면역 질환이 다발성 경화증, 인간 전신 루푸스, 류마티스 관절염, 염증성 장질환, 치료 중인 건선, 타입 1 당뇨병, 급성 산재성 뇌척수염, 애디슨병, 전신 탈모증, 강직성 척추염, 항인지질 항체 증후군, 무형성 빈혈, 자가면역 용혈 빈혈, 자가면역 간염, 자가면역 내이 질환, 자가면역 림프세포증식 증후군, 자가면역 난소염, 발로병, 베체트병, 물질 유사천포창, 심근병증, 샤가스병, 만성 피로 면역 기능이상 증후군, 만성 염증성 탈수초성 다발성 신경병증, 크론병, 반흔성 유사천포창, 복강 스프루-포진성 피부염, 저온응집병, CREST 증후군, Degos병, 원반모양 루푸스, 자율신경 기능이상, 자궁 내막증, 본태성 혼합 한랭 글로불린혈증, 섬유근통-섬유근염, 굿파스처 증후군, 그레이브스병, 길랭-바레 증후군, 하시모토 갑상선염, 화농땀샘염, 특발성 및/또는 급성 혈소판감소성 자반병, 특발성 폐섬유증, IgA 신경병증, 간질성 방광염, 소아 관절염, 가와사키병, 편평태선, 라임병, 메니에르병, 혼합결합조직병, 중증 근무력증, 신경근긴장증, 안구간대경련-근간대경련 증후군, 시신경염, 오드 갑상선염, 보통 천포창, 악성 빈혈, 다발연골염, 다발성 근염 및 피부근염, 원발성 쓸개관 간경화증, 결절다발동맥염, 다분비선 증후군, 류마티스 다발근육통증, 원발성 무감마글로불린혈증, 레이노 현상, 라이트 증후군, 류마티스성 열, 사르코이드증, 공피증, 쇼그렌 증후군, 강직 인간 증후군, 타카야수 동맥염, 관자 동맥염, 궤양성 대장염, 포도막염, 맥관염, 백반증, 외음부 통증, 및 베게너 육아종증으로 구성된 군으로부터 선택되는 방법.

청구항 77

제75항에 있어서, 자가면역 질환이 공피증인 방법.

청구항 78

제75항에 있어서, 자가면역 질환이 다발성 경화증인 방법.

청구항 79

제75항에 있어서, 자가면역 질환이 췌양성 대장염인 방법.

청구항 80

제75항에 있어서, 자가면역 질환이 크론병인 방법.

청구항 81

제75항에 있어서, 자가면역 질환이 타입 1 당뇨병인 방법.

청구항 82

제50항 내지 제81항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 방법이 장애 또는 암을 치료하는 방법.

청구항 83

CD2에 결합하는 치료적 유효량의 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 환자에게 투여하는 단계를 포함하는, 인간 환자에서 줄기 세포 장애를 치료하는 방법으로서, 상기 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 세포독소에 컨쥬게이션된 방법.

청구항 84

CD2에 결합하는 치료적 유효량의 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 환자에게 투여하는 단계를 포함하는, 인간 환자에서 혈액소병증 장애를 치료하는 방법으로서, 상기 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 세포독소에 컨쥬게이션된 방법.

청구항 85

제84항에 있어서, 혈액소병증 장애가 겸상 적혈구 빈혈, 지중해 빈혈, 판코니 빈혈, 재생불량 빈혈, 및 위스콧트-알드리치 증후군으로 구성된 군으로부터 선택되는 방법.

청구항 86

제84항에 있어서, 혈액소병증 장애가 판코니 빈혈인 방법.

청구항 87

제84항에 있어서, 혈액소병증 장애가 재생불량 빈혈인 방법.

청구항 88

제84항에 있어서, 혈액소병증 장애가 겸상 적혈구 빈혈인 방법.

청구항 89

제84항에 있어서, 혈액소병증 장애가 지중해 빈혈인 방법.

청구항 90

CD2에 결합하는 치료적 유효량의 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 환자에게 투여하는 단계를 포함하는, 인간 환자에서 골수형성이상 장애를 치료하는 방법으로서, 상기 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 세포독소에 컨쥬게이션된 방법.

청구항 91

CD2에 결합하는 치료적 유효량의 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 환자에게 투여하는 단계를 포함하는, 인간 환자에서 면역결핍 장애를 치료하는 방법으로서, 상기 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 세포독소에 컨쥬게이션된 방법.

청구항 92

제91항에 있어서, 면역결핍 장애가 선천성 면역결핍인 방법.

청구항 93

제91항에 있어서, 면역결핍 장애가 후천성 면역결핍인 방법.

청구항 94

제93항에 있어서, 후천성 면역결핍이 인간 면역결핍 바이러스 또는 후천성 면역 결핍 증후군인 방법.

청구항 95

CD2에 결합하는 치료적 유효량의 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 환자에게 투여하는 단계를 포함하는, 인간 환자에서 대사 장애를 치료하는 방법으로서, 상기 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 세포독소에 컨쥬게이션된 방법.

청구항 96

제95항에 있어서, 대사 장애가 글리코겐 축적병, 뮤코다당질축적증, 고쇄병, 후플러병, 스펅고지질증, 및 이염 색백색질 장애로 구성된 군으로부터 선택되는 방법.

청구항 97

CD2에 결합하는 치료적 유효량의 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 환자에게 투여하는 단계를 포함하는, 인간 환자에서 암을 치료하는 방법으로서, 상기 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 세포독소에 컨쥬게이션된 방법.

청구항 98

제97항에 있어서, 암이 백혈병, 림프종, 다발성 골수종, 및 신경모세포종으로 구성된 군으로부터 선택되는 방법.

청구항 99

제97항에 있어서, 암이 혈액학적 암인 방법.

청구항 100

제97항에 있어서, 암이 급성 골수 백혈병인 방법.

청구항 101

제97항에 있어서, 암이 급성 림프 백혈병인 방법.

청구항 102

제97항에 있어서, 암이 만성 골수 백혈병인 방법.

청구항 103

제97항에 있어서, 암이 만성 림프 백혈병인 방법.

청구항 104

제97항에 있어서, 암이 다발성 골수종인 방법.

청구항 105

제97항에 있어서, 암이 광범위 큰 B-세포 림프종인 방법.

청구항 106

제97항에 있어서, 암이 비호지킨 림프종인 방법.

청구항 107

CD2에 결합하는 치료적 유효량의 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 환자에게 투여하는 단계를 포함하는, 인간 환자에서 아데노신 데아미나제 결핍증 및 중증 복합형 면역결핍증, 고면역글로불린 M 증후군, 체디악-히가시 질병, 유전성 림프조직구증, 골석화증, 골형성 부전증, 축적병, 중증성 지중해 빈혈, 전신 경화증, 전신 홍반 루푸스, 다발성 경화증, 및 소아 류마티스 관절염으로 구성된 군으로부터 선택된 장애를 치료하는 방법으로서, 상기 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 세포독소에 컨쥬게이션된 방법.

청구항 108

CD2에 결합하는 치료적 유효량의 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 환자에게 투여하는 단계를 포함하는, 인간 환자에서 자가면역 질환을 치료하는 방법으로서, 상기 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 세포독소에 컨쥬게이션된 방법.

청구항 109

제108항에 있어서, 자가면역 질환이 다발성 경화증, 인간 전신 루푸스, 류마티스 관절염, 염증성 장질환, 치료 중인 건선, 타입 1 당뇨병, 급성 산재성 뇌척수염, 애디슨병, 전신 탈모증, 강직성 척추염, 항인지질 항체 증후군, 무형성 빈혈, 자가면역 용혈 빈혈, 자가면역 간염, 자가면역 내이 질환, 자가면역 림프세포증식 증후군, 자가면역 난소염, 발로병, 베체트병, 물질 유사천포창, 심근병증, 샤가스병, 만성 피로 면역 기능이상 증후군, 만성 염증성 탈수초성 다발성 신경병증, 크론병, 반흔성 유사천포창, 복강 스프루-포진성 피부염, 저온응집병, CREST 증후군, Degos병, 원반모양 루푸스, 자율신경 기능이상, 자궁 내막증, 본태성 혼합 한랭 글로불린혈증, 섬유근통-섬유근염, 굿파스처 증후군, 그레이브스병, 길랭-바레 증후군, 하시모토 갑상선염, 화농담샘염, 특발성 및/또는 급성 혈소판감소성 자반병, 특발성 폐섬유증, IgA 신경병증, 간질성 방광염, 소아 관절염, 가와사키병, 편평태선, 라임병, 메니에르병, 혼합결합조직병, 중증 근무력증, 신경근긴장증, 안구간대경련-근간대경련 증후군, 시신경염, 오프 갑상선염, 보통 천포창, 악성 빈혈, 다발연골염, 다발성 근염 및 피부근염, 원발성 쓸개관 간경화증, 결절다발동맥염, 다분비선 증후군, 류마티스 다발근육통증, 원발성 무감마글로불린혈증, 레이노 현상, 라이터 증후군, 류마티스성 열, 사르코이드증, 공피증, 쇼그렌 증후군, 강직 인간 증후군, 타까야수 동맥염, 관자 동맥염, 궤양성 대장염, 포도막염, 맥관염, 백반증, 외음부 통증, 및 베게너 육아종증으로 구성된 군으로부터 선택되는 방법.

청구항 110

제108항에 있어서, 자가면역 질환이 공피증인 방법.

청구항 111

제108항에 있어서, 자가면역 질환이 다발성 경화증인 방법.

청구항 112

제108항에 있어서, 자가면역 질환이 궤양성 대장염인 방법.

청구항 113

제108항에 있어서, 자가면역 질환이 크론병인 방법.

청구항 114

제108항에 있어서, 자가면역 질환이 타입 1 당뇨병인 방법.

청구항 115

제83항 내지 제114항 중 어느 한 항에 있어서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 하이브리도마 세포주 ATCC HB 11423에 의해 생산되는 방법.

청구항 116

제83항 내지 제114항 중 어느 한 항에 있어서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편이,

i) SEQ ID NO: 1에 제시된 CDR-H1; SEQ ID NO: 2에 제시된 CDR-H2; SEQ ID NO: 3에 제시된 CDR-H3을 포함하는

중쇄 가변 영역을 포함하고; SEQ ID NO: 4에 제시된 CDR-L1; SEQ ID NO: 5에 제시된 CDR-L2; 및 SEQ ID NO: 6에 제시된 CDR-L3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항-CD2 항체 또는 이의 항원 결합 부분;

ii) SEQ ID NO: 14에 제시된 CDR-H1; SEQ ID NO: 15에 제시된 CDR-H2; SEQ ID NO: 16 또는 17에 제시된 CDR-H3을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함하고; SEQ ID NO: 18에 제시된 CDR-L1; SEQ ID NO: 19에 제시된 CDR-L2; 및 SEQ ID NO: 20에 제시된 CDR-L3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항-CD2 항체 또는 이의 항원 결합 부분;

iii) SEQ ID NO: 7에 제시된 중쇄 가변 영역을 포함하고 SEQ ID NO: 8에 제시된 경쇄 가변 영역을 포함하는 항-CD2 항체 또는 이의 항원 결합 부분;

iv) SEQ ID NO: 9에 제시된 중쇄 가변 영역을 포함하고 SEQ ID NO: 10에 제시된 경쇄 가변 영역을 포함하는 항-CD2 항체 또는 이의 항원 결합 부분; 또는

v) SEQ ID NO: 21 또는 22에 제시된 중쇄 가변 영역을 포함하고 SEQ ID NO: 23에 제시된 경쇄 가변 영역을 포함하는 항-CD2 항체 또는 이의 항원 결합 부분인 방법.

청구항 117

제83항 내지 제114항 중 어느 한 항에 있어서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 제116항에 개시된 항체 또는 이의 항원-결합 단편에 대한 CD2의 결합을 경쟁적으로 억제하는 방법.

청구항 118

제83항 내지 제117항 중 어느 한 항에 있어서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 모노클로날 항체, 폴리클로날 항체, 인간화 항체, 이중특이적 항체, 이중-가변 면역글로불린 도메인, 단일쇄 Fv 분자(scFv), 디아바디, 트리아바디, 나노바디, 항체-유사 단백질 스캐폴드, Fv 단편, Fab 단편, F(ab')₂ 분자, 및 탠덤 디-scFv로 구성된 군으로부터 선택되는 방법.

청구항 119

제83항 내지 제117항 중 어느 한 항에 있어서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 인간화 항체 또는 이의 항원 결합 단편인 방법.

청구항 120

제83항 내지 제119항 중 어느 한 항에 있어서, 항체가 IgG, IgA, IgM, IgD, 및 IgE로 구성된 군으로부터 선택된 아이소형을 갖는 방법.

청구항 121

제120항에 있어서, IgG 아이소형이 IgG1 또는 IgG4인 방법.

청구항 122

제83항 내지 제117항 중 어느 한 항에 있어서, 세포독소가 슈도모나스 외독소 A, 테부가닌, 디프테리아 독소, 아마톡신, 사포린, 메이탄신, 메이탄시노이드, 아우리스타틴, 안트라사이클린, 칼리케아미신, 이리노테칸, SN-38, 듀오카마이신, 피롤로벤조디아제핀, 피롤로벤조디아제핀 이량체, 인돌리노벤조디아제핀, 및 인돌리노벤조디아제핀 이량체, 또는 이의 변이체로 구성된 군으로부터 선택되는 방법.

청구항 123

제83항 내지 제117항 중 어느 한 항에 있어서, 세포독소가 RNA 중합효소 억제제인 방법.

청구항 124

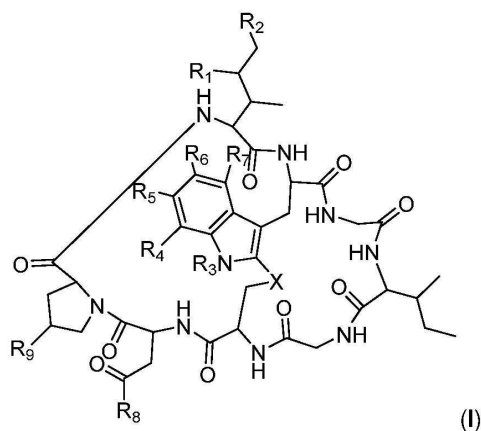
제123항에 있어서, RNA 중합효소 억제제가 RNA 중합효소 II 억제제인 방법.

청구항 125

제124항에 있어서, RNA 중합효소 II 억제제가 아마톡신인 방법.

청구항 126

제83항 내지 제117항 중 어느 한 항에 있어서, 세포독소에 컨쥬게이션된 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 화학식 Ab-Z-L-Am으로 표현되고, 여기서 Ab는 항체 또는 이의 항원-결합 단편이고, L은 링커이고, Z는 화학적 모이어티이고, Am은 하기 화학식 (I)로 표현되는 아마톡신인 방법:



상기 식에서, R₁은 H, OH, OR_A, 또는 OR_C이고;

R₂는 H, OH, OR_B, 또는 OR_C이고;

R_A 및 R_B는 존재하는 경우 이들이 결합된 산소 원자와 함께 조합되어 임의로 치환된 5원 헤테로사이클로알킬 기를 형성하고;

R₃은 H, R_C, 또는 R_D이고;

R₄, R₅, R₆, 및 R₇은 각각 독립적으로 H, OH, OR_C, OR_D, R_C, 또는 R_D이고;

R₈은 OH, NH₂, OR_C, OR_D, NHR_C, 또는 NR_CR_D이고;

R₉는 H, OH, OR_C, 또는 OR_D이고;

X는 -S-, -S(O)-, 또는 -SO₂-이고;

R_C는 -L-Z이고;

R_D는 임의로 치환된 C₁-C₆ 알킬, 임의로 치환된 C₁-C₆ 헤테로알킬, 임의로 치환된 C₂-C₆ 알케닐, 임의로 치환된 C₂-C₆ 헤테로알케닐, 임의로 치환된 C₂-C₆ 알키닐, 임의로 치환된 C₂-C₆ 헤테로알키닐, 임의로 치환된 사이클로알킬, 임의로 치환된 헤테로사이클로알킬, 임의로 치환된 아릴, 또는 임의로 치환된 헤테로아릴이고;

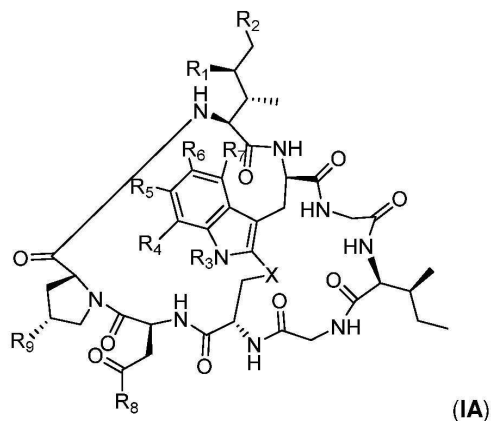
L은 임의로 치환된 C₁-C₆ 알킬렌, 임의로 치환된 C₁-C₆ 헤테로알킬렌, 임의로 치환된 C₂-C₆ 알케닐렌, 임의로 치환된 C₂-C₆ 헤테로알케닐렌, 임의로 치환된 C₂-C₆ 알키닐렌, 임의로 치환된 C₂-C₆ 헤테로알키닐렌, 임의로 치환된 사이클로알킬렌, 임의로 치환된 헤테로사이클로알킬렌, 임의로 치환된 아릴렌, 또는 임의로 치환된 헤테로아릴렌, 디펩티드, -C(=O)-, 펩티드, 또는 이의 조합이고;

Z는 L 상에 존재하는 반응성 치환기와 항체 또는 이의 항원-결합 단편 내에 존재하는 반응성 치환기 사이의 커플링 반응으로부터 형성된 화학적 모이어티이고,

여기서 Am은 정확히 하나의 R_C 치환기를 포함한다.

청구항 127

제126항에 있어서, Am-L-Z가 하기 화학식 (IA)로 표현되는 방법:



상기 식에서, R₁은 H, OH, OR_A, 또는 OR_C이고;

R₂는 H, OH, OR_B, 또는 OR_C이고;

R_A 및 R_B는 존재하는 경우 이들이 결합된 산소 원자와 함께 조합되어 임의로 치환된 5원 헤테로사이클로알킬 기를 형성하고;

R₃은 H, R_C, 또는 R_D이고;

R₄, R₅, R₆, 및 R₇은 각각 독립적으로 H, OH, OR_C, OR_D, R_C, 또는 R_D이고;

R₈은 OH, NH₂, OR_C, OR_D, NHR_C, 또는 NR_CR_D이고;

R₉는 H, OH, OR_C, 또는 OR_D이고;

X는 -S-, -S(O)-, 또는 -SO₂-이고;

R_C는 -L-Z이고;

R_D는 임의로 치환된 C₁-C₆ 알킬, 임의로 치환된 C₁-C₆ 헤테로알킬, 임의로 치환된 C₂-C₆ 알케닐, 임의로 치환된 C₂-C₆ 헤테로알케닐, 임의로 치환된 C₂-C₆ 알키닐, 임의로 치환된 C₂-C₆ 헤테로알키닐, 임의로 치환된 사이클로알킬, 임의로 치환된 헤테로사이클로알킬, 임의로 치환된 아릴, 또는 임의로 치환된 헤테로아릴이고;

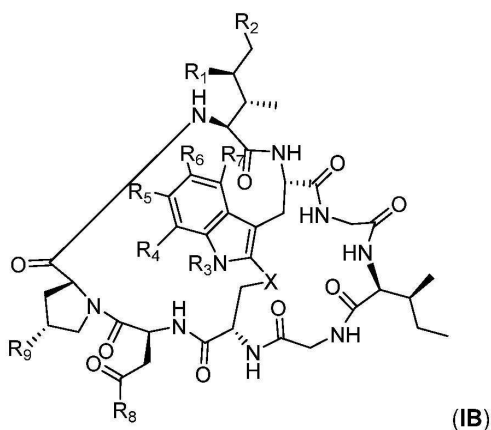
L은 임의로 치환된 C₁-C₆ 알킬렌, 임의로 치환된 C₁-C₆ 헤테로알킬렌, 임의로 치환된 C₂-C₆ 알케닐렌, 임의로 치환된 C₂-C₆ 헤테로알케닐렌, 임의로 치환된 C₂-C₆ 알키닐렌, 임의로 치환된 C₂-C₆ 헤테로알키닐렌, 임의로 치환된 사이클로알킬렌, 임의로 치환된 헤테로사이클로알킬렌, 임의로 치환된 아릴렌, 임의로 치환된 헤테로아릴렌, 디캡티드, -C(=O)-, 캡티드, 또는 이의 조합이고;

Z는 L 상에 존재하는 반응성 치환기와 항체 또는 이의 항원-결합 단편 내에 존재하는 반응성 치환기 사이의 커플링 반응으로부터 형성된 화학적 모이어티이고;

여기서 Am은 정확히 하나의 R_C 치환기를 포함한다.

청구항 128

제126항에 있어서, Am-L-Z가 하기 화학식 (IB)로 표현되는 방법:



상기 식에서, R₁은 H, OH, OR_A, 또는 OR_C이고;

R₂는 H, OH, OR_B, 또는 OR_C이고;

R_A 및 R_B는 존재하는 경우 이들이 결합된 산소 원자와 함께 조합되어 임의로 치환된 5원 헤테로사이클로알킬 기를 형성하고;

R₃은 H, R_C, 또는 R_D이고;

R₄, R₅, R₆, 및 R₇은 각각 독립적으로 H, OH, OR_C, OR_D, R_C, 또는 R_D이고;

R₈은 OH, NH₂, OR_C, OR_D, NHR_C, 또는 NR_CR_D이고;

R₉는 H, OH, OR_C, 또는 OR_D이고;

X는 -S-, -S(O)-, 또는 -SO₂-이고;

R_C는 -L-Z이고;

R_D는 임의로 치환된 C₁-C₆ 알킬, 임의로 치환된 C₁-C₆ 헤테로알킬, 임의로 치환된 C₂-C₆ 알케닐, 임의로 치환된 C₂-C₆ 헤테로알케닐, 임의로 치환된 C₂-C₆ 알키닐, 임의로 치환된 C₂-C₆ 헤테로알키닐, 임의로 치환된 사이클로알킬, 임의로 치환된 헤테로사이클로알킬, 임의로 치환된 아릴, 또는 임의로 치환된 헤테로아릴이고;

L은 임의로 치환된 C₁-C₆ 알킬렌, 임의로 치환된 C₁-C₆ 헤테로알킬렌, 임의로 치환된 C₂-C₆ 알케닐렌, 임의로 치환된 C₂-C₆ 헤테로알케닐렌, 임의로 치환된 C₂-C₆ 알키닐렌, 임의로 치환된 C₂-C₆ 헤테로알키닐렌, 임의로 치환된 사이클로알킬렌, 임의로 치환된 헤테로사이클로알킬렌, 임의로 치환된 아릴렌, 임의로 치환된 헤테로아릴렌, 디펩티드, -C(=O)-, 펩티드, 또는 이의 조합이고;

Z는 L 상에 존재하는 반응성 치환기와 항체 또는 이의 항원-결합 단편 내에 존재하는 반응성 치환기 사이의 커플링 반응으로부터 형성된 화학적 모이어티이고,

여기서 Am은 정확히 하나의 R_C 치환기를 포함한다.

청구항 129

제127항 또는 제128항에 있어서, R_A 및 R_B가 이들이 결합된 산소 원자와 함께 조합되어 하기 화학식의 5원 헤테로사이클로알킬 기를 형성하는 방법:

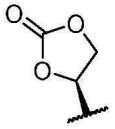


상기 식에서, Y는 $-C(=O)-$, $-C(=S)-$, $-C(=NR_E)-$, 또는 $-C(R_E R_{E'})-$ 이고;

R_E 및 $R_{E'}$ 는 각각 독립적으로 임의로 치환된 C_1-C_6 알킬렌- R_C , 임의로 치환된 C_1-C_6 헤테로알킬렌- R_C , 임의로 치환된 C_2-C_6 알케닐렌- R_C , 임의로 치환된 C_2-C_6 헤테로알케닐렌- R_C , 임의로 치환된 C_2-C_6 알키닐렌- R_C , 임의로 치환된 C_2-C_6 헤테로알키닐렌- R_C , 임의로 치환된 사이클로알킬렌- R_C , 임의로 치환된 헤테로사이클로알킬렌- R_C , 임의로 치환된 아릴렌- R_C , 또는 임의로 치환된 헤테로아릴렌- R_C 이다.

청구항 130

제129항에 있어서, R_A 및 R_B 가 이들이 결합된 산소 원자와 함께 조합되어 다음을 형성하는 방법:

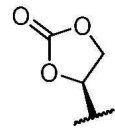


청구항 131

제127항 또는 제128항에 있어서, R_1 이 H, OH, 또는 OR_A 이고;

R_2 가 H, OH, 또는 OR_B 이고;

R_A 및 R_B 가 이들이 결합된 산소 원자와 함께 조합되어 다음을 형성하고:



R_3 , R_4 , R_6 , 및 R_7 이 각각 H이고;

R_5 가 OR_C 이고;

R_8 이 OH 또는 NH_2 이고;

R_9 가 H 또는 OH인 방법.

청구항 132

제127항 또는 제128항에 있어서, R_1 및 R_2 가 각각 독립적으로 H 또는 OH이고;

R_3 이 R_C 이고;

R_4 , R_6 , 및 R_7 이 각각 H이고;

R_5 가 H, OH, 또는 OC_1-C_6 알킬이고;

R_8 이 OH 또는 NH_2 이고;

R_9 가 H 또는 OH인 방법.

청구항 133

제127항 또는 제128항에 있어서, R_1 및 R_2 가 각각 독립적으로 H 또는 OH이고;

R_3 , R_6 , 및 R_7 이 각각 H이고;

R_4 및 R_5 가 각각 독립적으로 H, OH, OR_C , 또는 R_C 이고;

R_8 이 OH 또는 NH_2 이고;

R_9 가 H 또는 OH인 방법.

청구항 134

제127항 또는 제128항에 있어서, R_1 및 R_2 가 각각 독립적으로 H 또는 OH이고;

R_3 , R_6 , 및 R_7 이 각각 H이고;

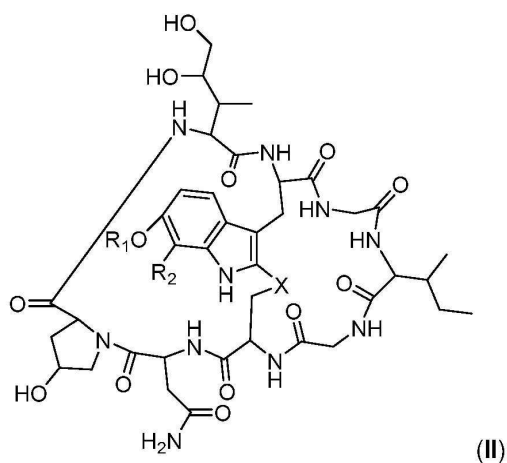
R_4 및 R_5 가 각각 독립적으로 H 또는 OH이고;

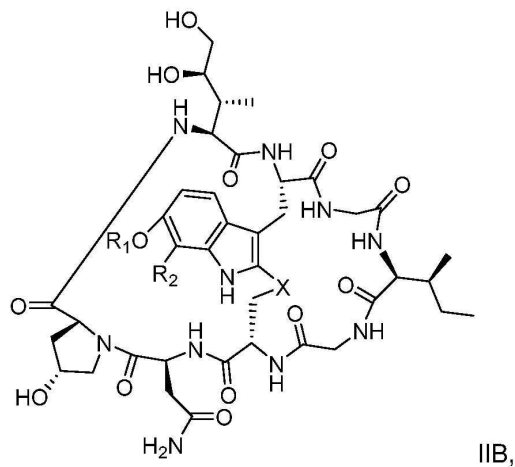
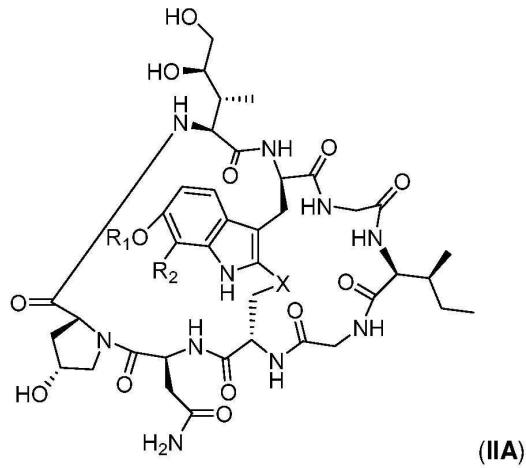
R_8 이 OR_C 또는 NHR_C 이고;

R_9 가 H 또는 OH인 방법.

청구항 135

제83항 내지 제117항 중 어느 한 항에 있어서, 세포독소에 컨쥬게이션된 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 화학식 Ab-Z-L-Am으로 표현되고, 여기서 Ab는 항체 또는 이의 항원 결합 단편이고, Z는 화학적 모이어티이고, L은 링커이고, Am은 아마톡신이며, 아마톡신-링커 컨쥬게이트 Am-L-Z가 하기 화학식 (II), 화학식 (IIA), 또는 화학식 (IIB)로 표현되는 방법:





상기 식에서, X는 S, SO, 또는 SO₂이고;

R₁은 H 또는 링커 상에 존재하는 반응성 치환기와 항체 또는 이의 항원-결합 단편 내에 존재하는 반응성 치환기 사이의 커플링 반응으로부터 형성된 화학적 모이어티 Z를 통해 항체 또는 이의 항원-결합 단편에 공유적으로 결합된 링커이고;

R₂는 H 또는 링커 상에 존재하는 반응성 치환기와 항체 또는 이의 항원-결합 단편 내에 존재하는 반응성 치환기 사이의 커플링 반응으로부터 형성된 화학적 모이어티 Z를 통해 항체 또는 이의 항원-결합 단편에 공유적으로 결합된 링커이고;

여기서 R₁이 H인 경우, R₂는 링커이고, R₂가 H인 경우, R₁은 링커이다.

청구항 136

제83항 내지 제117항 중 어느 한 항에 있어서, 세포독소가 DM1 및 DM4로 구성된 군으로부터 선택된 메이탄시노이드인 방법.

청구항 137

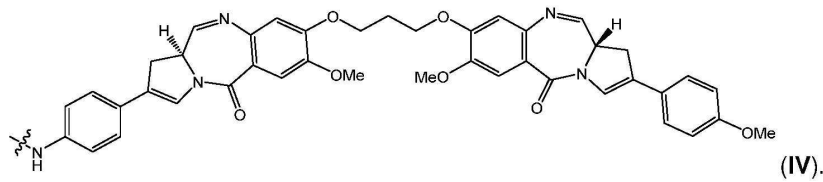
제83항 내지 제117항 중 어느 한 항에 있어서, 세포독소가 아우리스타틴 모노메틸 아우리스타틴 E 또는 모노메틸 아우리스타틴 F인 방법.

청구항 138

제83항 내지 제117항 중 어느 한 항에 있어서, 세포독소가 다우노루비신, 독소루비신, 에피루비신, 및 이다루비신으로 구성된 군으로부터 선택된 안트라사이클린인 방법.

청구항 139

제83항 내지 제117항 중 어느 한 항에 있어서, 세포독소가 하기 화학식 (IV)로 표현되는 피롤로벤조디아제핀 이량체 유도체인 방법:



청구항 140

화학식 Ab-Z-L-Cy로 표현되는 컨쥬게이트로서, 여기서 Ab가 CD2에 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편이고, Z가 화학적 모이어티이고, L이 링커이고, Cy가 세포독소이고, 상기 세포독소가 슈도모나스 외독소 A, 테부가닌, 디프테리아 독소, 아마톡신, 사포린, 메이탄신, 메이탄시노이드, 아우리스타틴, 안트라사이클린, 칼리케아미신, 이리노테칸, SN-38, 듀오카마이신, 피롤로벤조디아제핀, 피롤로벤조디아제핀 이량체, 인돌리노벤조디아제핀, 및 인돌리노벤조디아제핀 이량체, 또는 이의 변이체로 구성된 군으로부터 선택되는, 컨쥬게이트.

청구항 141

제140항에 있어서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 하이브리도마 세포주 ATCC HB 11423에 의해 생산되는 컨쥬게이트.

청구항 142

제140항에 있어서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편이,

vi) SEQ ID NO: 1에 제시된 CDR-H1; SEQ ID NO: 2에 제시된 CDR-H2; SEQ ID NO: 3에 제시된 CDR-H3을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함하고; SEQ ID NO: 4에 제시된 CDR-L1; SEQ ID NO: 5에 제시된 CDR-L2; 및 SEQ ID NO: 6에 제시된 CDR-L3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항-CD2 항체 또는 이의 항원 결합 부분;

vii) SEQ ID NO: 14에 제시된 CDR-H1; SEQ ID NO: 15에 제시된 CDR-H2; SEQ ID NO: 16 또는 17에 제시된 CDR-H3을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함하고; SEQ ID NO: 18에 제시된 CDR-L1; SEQ ID NO: 19에 제시된 CDR-L2; 및 SEQ ID NO: 20에 제시된 CDR-L3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항-CD2 항체 또는 이의 항원 결합 부분;

viii) SEQ ID NO: 7에 제시된 중쇄 가변 영역을 포함하고 SEQ ID NO: 8에 제시된 경쇄 가변 영역을 포함하는 항-CD2 항체 또는 이의 항원 결합 부분;

ix) SEQ ID NO: 9에 제시된 중쇄 가변 영역을 포함하고 SEQ ID NO: 10에 제시된 경쇄 가변 영역을 포함하는 항-CD2 항체 또는 이의 항원 결합 부분; 또는

x) SEQ ID NO: 21 또는 22에 제시된 중쇄 가변 영역을 포함하고 SEQ ID NO: 23에 제시된 경쇄 가변 영역을 포함하는 항-CD2 항체 또는 이의 항원 결합 부분인 컨쥬게이트.

청구항 143

제140항에 있어서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 제142항의 항체 또는 이의 항원-결합 단편에 대한 CD2의 결합을 경쟁적으로 억제하는 컨쥬게이트.

청구항 144

제140항 내지 제143항 중 어느 한 항에 있어서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 모노클로날 항체, 폴리클로날 항체, 인간화 항체, 이중특이적 항체, 이중-가변 면역글로불린 도메인, 단일쇄 Fv 분자(scFv), 디아바디, 트리아바디, 나노바디, 항체-유사 단백질 스캐폴드, Fv 단편, Fab 단편, F(ab')₂ 분자, 및 탠덤 디-scFv로 구성된 군으로부터 선택되는 컨쥬게이트.

청구항 145

제140항 내지 제143항 중 어느 한 항에 있어서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 인간화 항체 또는 이의 항원-

결합 단편인 컨쥬게이트.

청구항 146

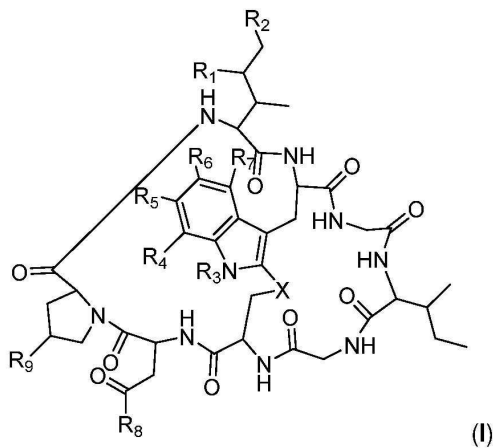
제140항 내지 제145항 중 어느 한 항에 있어서, 항체가 IgG, IgA, IgM, IgD, 및 IgE로 구성된 군으로부터 선택된 아이소형을 갖는 컨쥬게이트.

청구항 147

제146항에 있어서, IgG가 IgG1 또는 IgG4인 컨쥬게이트.

청구항 148

제140항 내지 제146항 중 어느 한 항에 있어서, Cy가 하기 화학식 (I)로 표현되는 아마톡신(Am)인 컨쥬게이트:



상기 식에서, R₁은 H, OH, OR_A, 또는 OR_C이고;

R₂는 H, OH, OR_B, 또는 OR_C이고;

R_A 및 R_B는 존재하는 경우 이들이 결합된 산소 원자와 함께 조합되어 임의로 치환된 5원 헤테로사이클로알킬기를 형성하고;

R₃은 H, R_C, 또는 R_D이고;

R₄, R₅, R₆, 및 R₇은 각각 독립적으로 H, OH, OR_C, OR_D, R_C, 또는 R_D이고;

R₈은 OH, NH₂, OR_C, OR_D, NHR_C, 또는 NR_CR_D이고;

R₉는 H, OH, OR_C, 또는 OR_D이고;

X는 -S-, -S(O)-, 또는 -SO₂-이고;

R_C는 -L-Z이고;

R_D는 임의로 치환된 C₁-C₆ 알킬, 임의로 치환된 C₁-C₆ 헤테로알킬, 임의로 치환된 C₂-C₆ 알케닐, 임의로 치환된 C₂-C₆ 헤테로알케닐, 임의로 치환된 C₂-C₆ 알키닐, 임의로 치환된 C₂-C₆ 헤테로알키닐, 임의로 치환된 사이클로알킬, 임의로 치환된 헤테로사이클로알킬, 임의로 치환된 아릴, 또는 임의로 치환된 헤테로아릴이고;

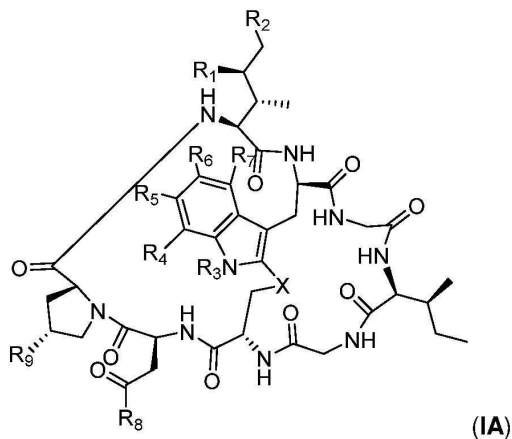
L은 임의로 치환된 C₁-C₆ 알킬렌, 임의로 치환된 C₁-C₆ 헤테로알킬렌, 임의로 치환된 C₂-C₆ 알케닐렌, 임의로 치환된 C₂-C₆ 헤테로알케닐렌, 임의로 치환된 C₂-C₆ 알키닐렌, 임의로 치환된 C₂-C₆ 헤테로알키닐렌, 임의로 치환된 사이클로알킬렌, 임의로 치환된 헤테로사이클로알킬렌, 임의로 치환된 아릴렌, 또는 임의로 치환된 헤테로아릴렌, 디펩티드, -C(=O)-, 펩티드, 또는 이의 조합이고;

Z는 L 상에 존재하는 반응성 치환기와 항체 또는 이의 항원-결합 단편 내에 존재하는 반응성 치환기 사이의 커

플링 반응으로부터 형성된 화학적 모이어티이고,
여기서 Am은 정확히 하나의 R_C 치환기를 포함한다.

청구항 149

제148항에 있어서, Am이 하기 화학식 (IA)로 표현되는 아마톡신인 컨쥬게이트:



상기 식에서, R₁은 H, OH, OR_A, 또는 OR_C이고;

R₂는 H, OH, OR_B, 또는 OR_C이고;

R_A 및 R_B는 존재하는 경우 이들이 결합된 산소 원자와 함께 조합되어 임의로 치환된 5원 헤테로사이클로알킬 기를 형성하고;

R₃은 H, R_C, 또는 R_D이고;

R₄, R₅, R₆, 및 R₇은 각각 독립적으로 H, OH, OR_C, OR_D, R_C, 또는 R_D이고;

R₈은 OH, NH₂, OR_C, OR_D, NHR_C, 또는 NR_CR_D이고;

R₉는 H, OH, OR_C, 또는 OR_D이고;

X는 -S-, -S(O)-, 또는 -SO₂-이고;

R_C는 -L-Z이고;

R_D는 임의로 치환된 C₁-C₆ 알킬, 임의로 치환된 C₁-C₆ 헤테로알킬, 임의로 치환된 C₂-C₆ 알케닐, 임의로 치환된 C₂-C₆ 헤테로알케닐, 임의로 치환된 C₂-C₆ 알키닐, 임의로 치환된 C₂-C₆ 헤테로알키닐, 임의로 치환된 사이클로알킬, 임의로 치환된 헤테로사이클로알킬, 임의로 치환된 아릴, 또는 임의로 치환된 헤테로아릴이고;

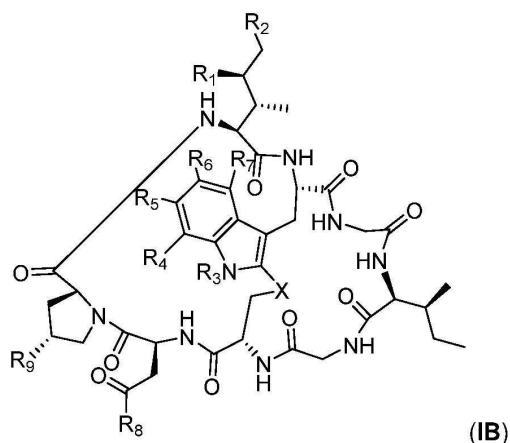
L은 임의로 치환된 C₁-C₆ 알킬렌, 임의로 치환된 C₁-C₆ 헤테로알킬렌, 임의로 치환된 C₂-C₆ 알케닐렌, 임의로 치환된 C₂-C₆ 헤테로알케닐렌, 임의로 치환된 C₂-C₆ 알키닐렌, 임의로 치환된 C₂-C₆ 헤테로알키닐렌, 임의로 치환된 사이클로알킬렌, 임의로 치환된 헤테로사이클로알킬렌, 임의로 치환된 아릴렌, 임의로 치환된 헤테로아릴렌, 디펩티드, -C(=O)-, 펩티드, 또는 이의 조합이고;

Z는 L 상에 존재하는 반응성 치환기와 항체 또는 이의 항원-결합 단편 내에 존재하는 반응성 치환기 사이의 커플링 반응으로부터 형성된 화학적 모이어티이고;

여기서 Am은 정확히 하나의 R_C 치환기를 포함한다.

청구항 150

제148항에 있어서, Am이 하기 화학식 (IB)로 표현되는 아마톡신인 컨쥬게이트:



상기 식에서, R₁은 H, OH, OR_A, 또는 OR_C이고;

R₂는 H, OH, OR_B, 또는 OR_C이고;

R_A 및 R_B는 존재하는 경우 이들이 결합된 산소 원자와 함께 조합되어 임의로 치환된 5원 헤테로사이클로알킬 기를 형성하고;

R₃은 H, R_C, 또는 R_D이고;

R₄, R₅, R₆, 및 R₇은 각각 독립적으로 H, OH, OR_C, OR_D, R_C, 또는 R_D이고;

R₈은 OH, NH₂, OR_C, OR_D, NHR_C, 또는 NR_CR_D이고;

R₉는 H, OH, OR_C, 또는 OR_D이고;

X는 -S-, -S(O)-, 또는 -SO₂-이고;

R_C는 -L-Z이고;

R_D는 임의로 치환된 C₁-C₆ 알킬, 임의로 치환된 C₁-C₆ 헤테로알킬, 임의로 치환된 C₂-C₆ 알케닐, 임의로 치환된 C₂-C₆ 헤테로알케닐, 임의로 치환된 C₂-C₆ 알키닐, 임의로 치환된 C₂-C₆ 헤테로알키닐, 임의로 치환된 사이클로알킬, 임의로 치환된 헤테로사이클로알킬, 임의로 치환된 아릴, 또는 임의로 치환된 헤테로아릴이고;

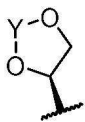
L은 임의로 치환된 C₁-C₆ 알킬렌, 임의로 치환된 C₁-C₆ 헤테로알킬렌, 임의로 치환된 C₂-C₆ 알케닐렌, 임의로 치환된 C₂-C₆ 헤테로알케닐렌, 임의로 치환된 C₂-C₆ 알키닐렌, 임의로 치환된 C₂-C₆ 헤테로알키닐렌, 임의로 치환된 사이클로알킬렌, 임의로 치환된 헤테로사이클로알킬렌, 임의로 치환된 아릴렌, 임의로 치환된 헤테로아릴렌, 디펩티드, -C(=O)-, 펩티드, 또는 이의 조합이고;

Z는 L 상에 존재하는 반응성 치환기와 항체 또는 이의 항원-결합 단편 내에 존재하는 반응성 치환기 사이의 커플링 반응으로부터 형성된 화학적 모이어티이고,

여기서 Am은 정확히 하나의 R_C 치환기를 포함한다.

청구항 151

제149항 또는 제150항에 있어서, R_A 및 R_B가 이들이 결합된 산소 원자와 함께 조합되어 하기 화학식의 5원 헤테로사이클로알킬 기를 형성하는 컨쥬게이트:

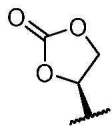


상기 식에서, Y는 $-C(=O)-$, $-C(=S)-$, $-C(=NR_E)-$, 또는 $-C(R_E R_{E'})-$ 이고;

R_E 및 $R_{E'}$ 는 각각 독립적으로 임의로 치환된 C_1-C_6 알킬렌- R_C , 임의로 치환된 C_1-C_6 헤테로알킬렌- R_C , 임의로 치환된 C_2-C_6 알케닐렌- R_C , 임의로 치환된 C_2-C_6 헤테로알케닐렌- R_C , 임의로 치환된 C_2-C_6 알키닐렌- R_C , 임의로 치환된 C_2-C_6 헤테로알키닐렌- R_C , 임의로 치환된 사이클로알킬렌- R_C , 임의로 치환된 헤테로사이클로알킬렌- R_C , 임의로 치환된 아릴렌- R_C , 또는 임의로 치환된 헤테로아릴렌- R_C 이다.

청구항 152

제151항에 있어서, R_A 및 R_B 가 이들이 결합된 산소 원자와 함께 조합되어 다음을 형성하는 컨쥬게이트:

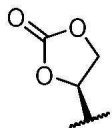


청구항 153

제149항 또는 제150항에 있어서, R_1 이 H, OH, 또는 OR_A 이고;

R_2 가 H, OH, 또는 OR_B 이고;

R_A 및 R_B 가 이들이 결합된 산소 원자와 함께 조합되어 다음을 형성하고:



R_3 , R_4 , R_6 , 및 R_7 이 각각 H이고;

R_5 가 OR_C 이고;

R_8 이 OH 또는 NH_2 이고;

R_9 가 H 또는 OH인 컨쥬게이트.

청구항 154

제149항 또는 제150항에 있어서, R_1 및 R_2 가 각각 독립적으로 H 또는 OH이고;

R_3 이 R_C 이고;

R_4 , R_6 , 및 R_7 이 각각 H이고;

R_5 가 H, OH, 또는 OC_1-C_6 알킬이고;

R_8 이 OH 또는 NH_2 이고;

R_9 가 H 또는 OH인 컨쥬게이트.

청구항 155

제149항 또는 제150항에 있어서, R_1 및 R_2 가 각각 독립적으로 H 또는 OH이고;

R_3 , R_6 , 및 R_7 이 각각 H이고;

R_4 및 R_5 가 각각 독립적으로 H, OH, OR_C , 또는 R_C 이고;

R_8 이 OH 또는 NH_2 이고;

R_9 가 H 또는 OH인 컨쥬게이트.

청구항 156

제149항 또는 제150항에 있어서, R_1 및 R_2 가 각각 독립적으로 H 또는 OH이고;

R_3 , R_6 , 및 R_7 이 각각 H이고;

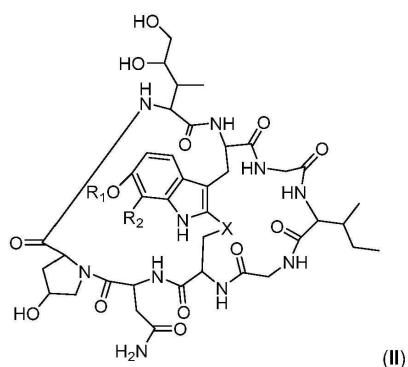
R_4 및 R_5 가 각각 독립적으로 H 또는 OH이고;

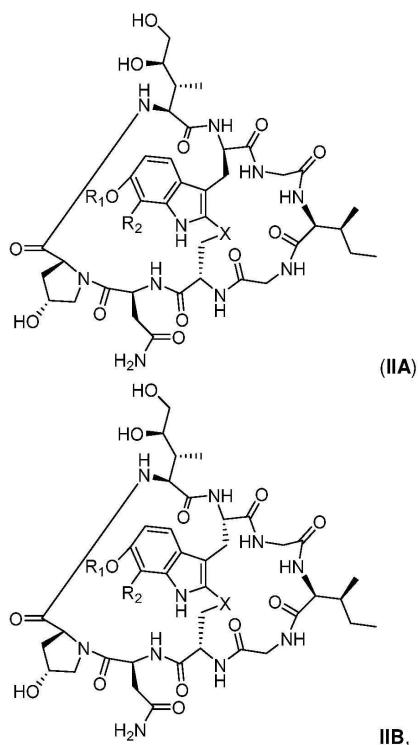
R_8 이 OR_C 또는 NHR_C 이고;

R_9 가 H 또는 OH인 컨쥬게이트.

청구항 157

제140항 내지 제146항 중 어느 한 항에 있어서, 세포독소에 컨쥬게이션된 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 화학식 Ab-Z-L-Am으로 표현되고, 여기서 Ab는 항체 또는 이의 항원 결합 단편이고, Z는 화학적 모이어티이고, L은 링커이고, Am은 아마톡신이며, 아마톡신-링커 컨쥬게이트 Am-L-Z가 하기 화학식 (II), 화학식 (IIA), 또는 화학식 (IIB)로 표현되는 컨쥬게이트:





상기 식에서, X는 S, SO, 또는 SO₂이고;

R₁은 H 또는 링커 상에 존재하는 반응성 치환기와 항체 또는 이의 항원-결합 단편 내에 존재하는 반응성 치환기 사이의 커플링 반응으로부터 형성된 화학적 모이어티 Z를 통해 항체 또는 이의 항원-결합 단편에 공유적으로 결합된 링커이고;

R₂는 H 또는 링커 상에 존재하는 반응성 치환기와 항체 또는 이의 항원-결합 단편 내에 존재하는 반응성 치환기 사이의 커플링 반응으로부터 형성된 화학적 모이어티 Z를 통해 항체 또는 이의 항원-결합 단편에 공유적으로 결합된 링커이고;

여기서 R₁이 H인 경우, R₂는 링커이고, R₂가 H인 경우, R₁은 링커이다.

청구항 158

제140항 내지 제146항 중 어느 한 항에 있어서, Cy가 DM1 및 DM4로 구성된 군으로부터 선택된 메이탄시노이드인 컨쥬게이트.

청구항 159

제140항 내지 제146항 중 어느 한 항에 있어서, Cy가 아우리스타틴인 컨쥬게이트.

청구항 160

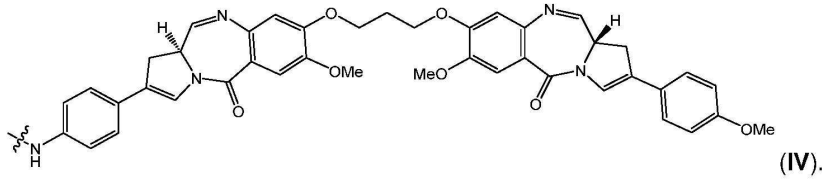
제159항에 있어서, 아우리스타틴이 모노메틸 아우리스타틴 E 및 모노메틸 아우리스타틴 F인 컨쥬게이트.

청구항 161

제140항 내지 제146항 중 어느 한 항에 있어서, Cy가 다우노루비신, 독소루비신, 에피루비신, 및 이다루비신으로 구성된 군으로부터 선택된 안트라사이클린인 컨쥬게이트.

청구항 162

제140항 내지 제146항 중 어느 한 항에 있어서, Cy가 하기 화학식 (IV)로 표현되는 피롤로벤조디아제핀 이량체 유도체인 컨쥬게이트:



청구항 163

제140항 내지 제146항 중 어느 한 항에 있어서, Cy가 RNA 중합효소 억제제인 방법.

청구항 164

제163항에 있어서, RNA 중합효소 억제제가 RNA 중합효소 II 억제제인 방법.

청구항 165

제164항에 있어서, RNA 중합효소 II 억제제가 아마톡신인 방법.

청구항 166

제140항 내지 제165항 중 어느 한 항의 컨쥬게이트 및 약학적으로 허용되는 부형제를 포함하는 약학적 조성물.

청구항 167

제166항에 있어서, 약학적 조성물이 인간 환자에게 경피, 피하, 정맥내, 근육내, 안내, 종양내, 비경구, 경막내 또는 뇌실내 투여용으로 제형화된 약학적 조성물.

청구항 168

제166항에 있어서, 약학적 조성물이 인간 환자에게 정맥내 투여용으로 제형화된 약학적 조성물.

청구항 169

유효량의 항-CD2 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 환자에게 투여하는 단계를 포함하는, 인간 환자에서 CD2+ 세포 집단을 고갈시키는 방법.

청구항 170

유효량의 항-CD2 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 환자에게 투여하는 단계를 포함하는, 조혈 줄기 세포 이식을 필요로 하는 인간 환자에서 CD2+ 세포 집단을 고갈시키는 방법.

청구항 171

인간 환자가 조혈 줄기 세포를 포함하는 이식을 받기 전에, 유효량의 항-CD2 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 환자에게 투여하는 단계를 포함하는, 조혈 줄기 세포 이식을 필요로 하는 인간 환자에서 조혈 줄기 세포 이식편의 거부를 예방하는 방법.

청구항 172

환자가 조혈 줄기 세포를 포함하는 이식을 받기 전에, 유효량의 항-CD2 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 환자에게 투여하는 단계를 포함하는, 조혈 줄기 세포 이식을 필요로 하는 인간 환자에서 CD2+ 세포 집단을 고갈시키는 방법.

청구항 173

조혈 줄기 세포를 포함하는 이식물을 인간 환자에게 투여하는 단계를 포함하는 방법으로서, 상기 환자가 환자에서 CD2+ 세포 집단을 고갈시키기에 충분한 양의 항-CD2 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 이전에 투여받은, 방법.

청구항 174

- a. 환자에서 CD2+ 세포 집단을 고갈시키기에 충분한 양의 CD2에 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 인간 환자에게 투여하는 단계; 및
- b. 이어서 조절 줄기 세포를 포함하는 이식물을 환자에게 투여하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 175

제169항 내지 제174항 중 어느 한 항에 있어서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 하이브리도마 세포주 ATCC HB 11423에 의해 생산되는 방법.

청구항 176

제169항 내지 제174항 중 어느 한 항에 있어서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 ATCC 수탁 번호 HB 11423을 갖는 하이브리도마 세포주에 의해 생산된 항체 LO-CD2A의 중쇄 가변 영역 CDR 세트(CDR1, CDR2, 및 CDR3) 및 경쇄 가변 영역 CDR 세트(CDR1, CDR2, 및 CDR3)를 포함하는 방법.

청구항 177

제169항 내지 제174항 중 어느 한 항에 있어서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편이,

- i) SEQ ID NO: 1에 제시된 CDR-H1; SEQ ID NO: 2에 제시된 CDR-H2; SEQ ID NO: 3에 제시된 CDR-H3을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함하고; SEQ ID NO: 4에 제시된 CDR-L1; SEQ ID NO: 5에 제시된 CDR-L2; 및 SEQ ID NO: 6에 제시된 CDR-L3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항-CD2 항체 또는 이의 항원 결합 부분;
- ii) SEQ ID NO: 14에 제시된 CDR-H1; SEQ ID NO: 15에 제시된 CDR-H2; SEQ ID NO: 16 또는 17에 제시된 CDR-H3을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함하고; SEQ ID NO: 18에 제시된 CDR-L1; SEQ ID NO: 19에 제시된 CDR-L2; 및 SEQ ID NO: 20에 제시된 CDR-L3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항-CD2 항체 또는 이의 항원 결합 부분;
- iii) SEQ ID NO: 7에 제시된 중쇄 가변 영역을 포함하고 SEQ ID NO: 8에 제시된 경쇄 가변 영역을 포함하는 항-CD2 항체 또는 이의 항원 결합 부분;
- iv) SEQ ID NO: 9에 제시된 중쇄 가변 영역을 포함하고 SEQ ID NO: 10에 제시된 경쇄 가변 영역을 포함하는 항-CD2 항체 또는 이의 항원 결합 부분; 또는
- v) SEQ ID NO: 21 또는 22에 제시된 중쇄 가변 영역을 포함하고 SEQ ID NO: 23에 제시된 경쇄 가변 영역을 포함하는 항-CD2 항체 또는 이의 항원 결합 부분인 방법.

청구항 178

제169항 내지 제174항 중 어느 한 항에 있어서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 제177항의 항체 또는 이의 항원-결합 단편에 대한 CD2의 결합을 경쟁적으로 억제하는 방법.

청구항 179

제169항 내지 제178항 중 어느 한 항에 있어서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 모노클로날 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 폴리클로날 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 인간화 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 이중특이적 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 무손상 항체, 이중-가변 면역글로불린 도메인, 단일쇄 Fv 분자(scFv), 디아바디, 트리아바디, 나노바디, 항체-유사 단백질 스캐폴드, Fv 단편, Fab 단편, F(ab')₂ 분자, 및 텐덤 디-scFv로 구성된 군으로부터 선택되는 방법.

청구항 180

제169항 내지 제179항 중 어느 한 항에 있어서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 인간화 항체 또는 이의 항원-결합 단편인 방법.

청구항 181

제169항 내지 제180항 중 어느 한 항에 있어서, 항체가 IgG, IgA, IgM, IgD, 및 IgE로 구성된 군으로부터 선택된 아이소형을 갖는 방법.

청구항 182

제169항 내지 제181항 중 어느 한 항에 있어서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 환자에게 투여된 후 면역 세포에 의해 내재화되는 방법.

청구항 183

제169항 내지 제182항 중 어느 한 항에 있어서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 면역 세포의 괴사를 촉진할 수 있는 방법.

청구항 184

제169항 내지 제183항 중 어느 한 항에 있어서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 환자에게 투여시 하나 이상의 보체 단백질을 면역 세포로 동원할 수 있는 방법.

청구항 185

제182항 내지 제184항 중 어느 한 항에 있어서, 면역 세포가 T 세포 및 NK 세포로 구성된 군으로부터 선택되는 방법.

청구항 186

제171항 내지 제174항 중 어느 한 항에 있어서, 조혈 줄기 세포를 포함하는 이식물이 항체 또는 이의 항원-결합 단편의 농도가 환자의 혈액으로부터 실질적으로 제거된 후에 환자에게 투여되는 방법.

청구항 187

제186항에 있어서, 조혈 줄기 세포를 포함하는 이식물이 항체 또는 이의 항원-결합 단편의 농도가 환자의 혈액으로부터 실질적으로 제거된 후 1시간 내지 7일 사이에 환자에게 투여되는 방법.

청구항 188

제186항에 있어서, 조혈 줄기 세포를 포함하는 이식물이 항체 또는 이의 항원-결합 단편의 농도가 환자의 혈액으로부터 실질적으로 제거된 후 6시간 내지 3일 사이에 환자에게 투여되는 방법.

청구항 189

제186항에 있어서, 조혈 줄기 세포를 포함하는 이식물이 항체 또는 이의 항원-결합 단편의 농도가 환자의 혈액으로부터 실질적으로 제거된 후 12시간 내지 36시간 사이에 환자에게 투여되는 방법.

청구항 190

제186항에 있어서, 조혈 줄기 세포를 포함하는 이식물이 항체 또는 이의 항원-결합 단편의 농도가 환자의 혈액으로부터 실질적으로 제거된지 24시간 후에 환자에게 투여되는 방법.

청구항 191

제171항 내지 제174항 중 어느 한 항에 있어서, 조혈 줄기 세포 또는 이의 자손이 상기 조혈 줄기 세포를 환자에게 이식한 후 2일 이상이 지난 후에 조혈 줄기 세포 기능 잠재력을 유지하는 방법.

청구항 192

제169항 내지 제174항 중 어느 한 항에 있어서, 조혈 줄기 세포가 환자에 대해 자가 세포인 방법.

청구항 193

제169항 내지 제174항 중 어느 한 항에 있어서, 조혈 줄기 세포가 환자에 대해 동종이계 세포인 방법.

청구항 194

제193항에 있어서, 조혈 줄기 세포가 환자에 대해 HLA-매칭된 세포인 방법.

청구항 195

제193항에 있어서, 조혈 줄기 세포가 환자에 대해 HLA-미스매칭된 세포인 방법.

청구항 196

제169항 내지 제174항 중 어느 한 항에 있어서, CD2+ 세포 집단이 T 세포를 포함하는 방법.

청구항 197

제169항 내지 제174항 중 어느 한 항에 있어서, 조혈 줄기 세포 또는 이의 자손이 조혈 줄기 세포를 환자에게 이식한 후 조혈 조직에 국소화되고/되거나 조혈을 재확립할 수 있는 방법.

청구항 198

제169항 내지 제174항 중 어느 한 항에 있어서, 환자에게 이식시, 조혈 줄기 세포가 거핵세포, 혈전구, 혈소판, 적혈구, 비만 세포, 골수모세포, 호염기구, 호중구, 호산구, 미세아교세포, 과립구, 단핵구, 파골세포, 항원-제시 세포, 대식세포, 수지상 세포, 자연 살해 세포, T 림프구, 및 B 림프구로 구성된 군으로부터 선택된 세포 집단의 회복을 야기하는 방법.

청구항 199

제169항 내지 제198항 중 어느 한 항에 있어서, 환자가 줄기 세포 장애로 고통받는 방법.

청구항 200

제169항 내지 제199항 중 어느 한 항에 있어서, 환자가 혈색소병증 장애로 고통받는 방법.

청구항 201

제200항에 있어서, 혈색소병증 장애가 겸상 적혈구 빈혈, 지중해 빈혈, 판코니 빈혈, 재생불량 빈혈, 및 위스콧-알드리치 증후군으로 구성된 군으로부터 선택되는 방법.

청구항 202

제200항에 있어서, 혈색소병증 장애가 판코니 빈혈, 재생불량 빈혈, 겸상 적혈구 빈혈, 및 지중해 빈혈로 구성된 군으로부터 선택되는 방법.

청구항 203

제169항 내지 제174항 중 어느 한 항에 있어서, 환자가 골수형성이상 장애 또는 면역결핍 장애로 고통받는 방법.

청구항 204

제203항에 있어서, 면역결핍 장애가 선천성 면역결핍 또는 후천성 면역결핍인 방법.

청구항 205

제204항에 있어서, 후천성 면역결핍이 인간 면역결핍 바이러스 또는 후천성 면역 결핍 증후군인 방법.

청구항 206

제169항 내지 제205항 중 어느 한 항에 있어서, 환자가 대사 장애로 고통받는 방법.

청구항 207

제206항에 있어서, 대사 장애가 글리코겐 축적병, 뮤코다당질축적증, 고체병, 후플러병, 스펅고지질증, 및 이염색백색질 장애로 구성된 군으로부터 선택되는 방법.

청구항 208

제169항 내지 제207항 중 어느 한 항에 있어서, 환자가 암으로 고통받는 방법.

청구항 209

제208항에 있어서, 암이 백혈병, 림프종, 다발성 골수종, 및 신경모세포종으로 구성된 군으로부터 선택되는 방법.

청구항 210

제208항에 있어서, 암이 혈액학적 암인 방법.

청구항 211

제208항에 있어서, 암이 급성 골수 백혈병인 방법.

청구항 212

제208항에 있어서, 암이 급성 림프 백혈병인 방법.

청구항 213

제208항에 있어서, 암이 만성 골수 백혈병인 방법.

청구항 214

제208항에 있어서, 암이 만성 림프 백혈병인 방법.

청구항 215

제208항에 있어서, 암이 다발성 골수종인 방법.

청구항 216

제208항에 있어서, 암이 광범위 큰 B-세포 림프종인 방법.

청구항 217

제208항에 있어서, 암이 비호지킨 림프종인 방법.

청구항 218

제169항 내지 제174항 중 어느 한 항에 있어서, 환자가 아데노신 데아미나제 결핍증 및 중증 복합형 면역결핍증, 고면역글로불린 M 증후군, 체디악-히가시 질병, 유전성 림프조직구증, 골석화증, 골형성 부전증, 축적병, 중증성 지중해 빈혈, 전신 경화증, 전신 홍반 루푸스, 다발성 경화증, 및 소아 류마티스 관절염으로 구성된 군으로부터 선택된 장애로 고통받는 방법.

청구항 219

제169항 내지 제174항 중 어느 한 항에 있어서, 환자가 자가면역 질환으로 고통받는 방법.

청구항 220

제219항에 있어서, 자가면역 질환이 다발성 경화증, 인간 전신 루푸스, 류마티스 관절염, 염증성 장질환, 치료 중인 건선, 타입 1 당뇨병, 급성 산재성 뇌척수염, 애디슨병, 전신 탈모증, 강직성 척추염, 항인지질 항체 증후군, 무형성 빈혈, 자가면역 용혈 빈혈, 자가면역 간염, 자가면역 내이 질환, 자가면역 림프세포증식 증후군, 자가면역 난소염, 발로병, 베체트병, 물집 유사천포창, 심근병증, 샤가스병, 만성 피로 면역 기능이상 증후군, 만성 염증성 탈수초성 다발성 신경병증, 크론병, 반흔성 유사천포창, 복강 스프루-포진성 피부염, 저온응집병, CREST 증후군, Degos병, 원반모양 루푸스, 자율신경 기능이상, 자궁 내막증, 본태성 혼합 한랭 글로불린혈증, 섬유근통-섬유근염, 굿파스처 증후군, 그레이브스병, 길랭-바레 증후군, 하시모토 갑상선염, 화농땀샘염, 특발성 및/또는 급성 혈소판감소성 자반병, 특발성 폐섬유증, IgA 신경병증, 간질성 방광염, 소아 관절염, 가와사키 병, 편평태선, 라임병, 메니에르병, 혼합결합조직병, 중증 근무력증, 신경근긴장증, 안구간대경련-근간대경련

증후군, 시신경염, 오드 갑상선염, 보통 천포창, 악성 빈혈, 다발연골염, 다발성 근염 및 피부근염, 원발성 쓸개관 간경화증, 결절다발동맥염, 다분비선 증후군, 류마티스 다발근육통증, 원발성 무감마글로불린혈증, 레이노 현상, 라이터 증후군, 류마티스성 열, 사르코이드증, 공피증, 쇼그렌 증후군, 강직 인간 증후군, 타카야수 동맥염, 관자 동맥염, 켈양성 대장염, 포도막염, 맥관염, 백반증, 외음부 통증, 및 베게너 육아종증으로 구성된 군 으로부터 선택되는 방법.

청구항 221

제219항에 있어서, 자가면역 질환이 공피증인 방법.

청구항 222

제219항에 있어서, 자가면역 질환이 다발성 경화증인 방법.

청구항 223

제219항에 있어서, 자가면역 질환이 켈양성 대장염인 방법.

청구항 224

제219항에 있어서, 자가면역 질환이 크론병인 방법.

청구항 225

제219항에 있어서, 자가면역 질환이 타입 1 당뇨병인 방법.

청구항 226

제169항 내지 제174항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 방법이 장애 또는 암을 치료하는 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 관련 출원

[0002] 본 출원은 2017년 11월 29일에 출원된 미국 가특허출원 번호 62/592,169호에 대한 우선권의 이익을 주장하며, 이의 내용은 본원에 참조로서 포함된다.

배경 기술

[0003] 발명의 배경

[0004] 의학 기술의 진보에도 불구하고, 특히, 특정 혈액 세포의 질병, 대사 장애, 암, 및 자가면역 질환과 같은 조혈 계의 병리를 치료할 필요성이 남아있다.

[0005] 조혈 줄기 세포는 상당한 치료 잠재력을 갖지만, 임상에서 이들의 사용을 방해하는 한계는 숙주에서 조혈 줄기 세포 이식물의 생착을 보장하는 것과 관련된 어려움이었다. 환자 자신의 면역계는 종종 이식된 세포를 공격하고 이식된 조혈 줄기 세포의 거부를 매개한다. 거부를 피하기 위해, 환자는 조혈 줄기 세포 이식 전에 면역계 파괴 제, 예를 들어, 화학요법제 또는 방사선으로 처리된다. 불행하게도 환자에서 조혈 줄기 세포 이식의 허용을 유도하려는 노력은 종종 심각한 합병증을 초래한다. 따라서, 조혈 줄기 세포 이식을 개선하기 위한 새로운 조성물 및 방법이 필요하다.

발명의 내용

[0006] 발명의 개요

[0007] 현재 자가면역 장애와 같은 조혈계의 장애를 치료하기 위한 조성물 및 방법, 뿐만 아니라 외인성 조혈 줄기 세포 이식편의 생착을 촉진하여 이들 세포의 다능성 및 조혈 기능성이 이식 후에 보존되도록 하는 조성물 및 방법이 필요하다.

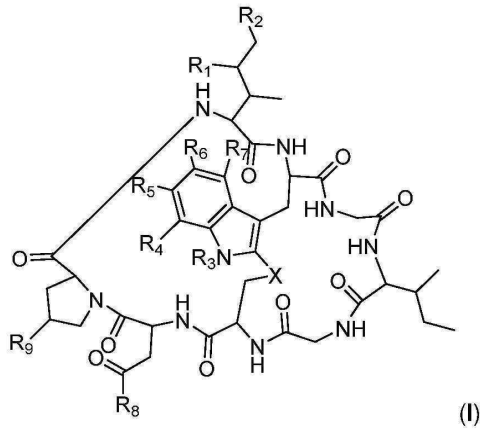
[0008] 특히, 조혈계의 다양한 장애, 대사 장애, 암, 및 자가면역 질환의 직접적인 치료를 위한 조성물 및 방법이 본원

에 제공된다. 본원에 개시된 조성물 및 방법은 혈액암 또는 자가면역 질환과 같은 질병의 치료를 위해 조혈 줄기 세포 이식을 위해 인간 환자를 조건화하기 위해 면역 세포를 표적으로 한다.

- [0009] 한 양태에서, 본 발명은 추가로 조혈 줄기 세포 이식 요법을 받기 전에 조혈 줄기 세포 이식편의 생착을 촉진하기 위해 환자, 예를 들어, 인간 환자를 조건화하기 위한 조성물 및 방법을 특징으로 한다. 환자는 자가면역 질환 또는 하나 이상의 혈액 장애, 예를 들어, 암, 혈액소병증, 또는 다른 조혈 병리로 고통받는 사람일 수 있으며, 따라서 조혈 줄기 세포 이식을 필요로 한다.
- [0010] 본원에 기술된 바와 같이, 조혈 줄기 세포는 조혈 계통의 다수의 세포 유형으로 분화될 수 있으며, 환자에서 결핍된 세포 유형을 채우거나 다시 채우기 위해 환자에게 투여될 수 있다.
- [0011] 특정 양태에서, 본 발명은 (i) CD2를 발현하는 면역 세포 집단, 예를 들어, 자가반응성 T 세포 또는 자연 살해(NK) 세포를 선택적으로 고갈시킴으로써, 자가면역 질환과 같은 혈액 장애를 직접 치료하고/하거나 (ii) 조혈 줄기 세포 이식물을 환자에게 투여하기 전에 T 세포 또는 NK 세포 집단을 고갈시켜, 조혈 줄기 세포 이식 거부 가능성의 가능성을 감소시키기 위한 CD2에 결합하는 항체 및 항체-약물 컨쥬게이트, 및 이를 환자에게 투여하는 방법을 특징으로 한다. 전자의 활성화는 광범위한 자가면역 장애의 직접적인 치료를 가능하게 하는데, 이는 CD2가 자기 항원(self antigen)과 교차 반응하여 이에 대한 부적절한 면역 반응을 일으키는 T 세포 또는 NK 세포에 의해 발현될 수 있기 때문이다. 이 경우에 환자에게 항-CD2 항체 또는 항체-약물 컨쥬게이트를 투여하는 것은 하나 이상의 자기 항원과 교차 반응하는 T 세포 또는 NK 세포와 같은 CD2+ 자가면역 세포 집단을 고갈시켜, 자가 면역 병리를 치료할 수 있다. 후자의 활성화는 조혈 줄기 세포 생착에 도움이 되는 환경의 생성을 촉진하는데, 조혈 줄기 세포에 의해 발현되는 하나 이상의 비-자기 항원(예를 들어, 비-자기 MHC 항원)과 교차 반응하는 T 세포 및/또는 NK 세포가 이식된 조혈 줄기 세포에 대한 면역 반응을 일으켜 이식 거부를 촉진할 수 있기 때문이다. 이 후자의 경우에, 암, 자가면역 질환, 또는 조혈계의 다른 질환으로 고통받는 환자는, 예를 들어, 환자에서 결함이 있거나 고갈된 혈액 세포의 하나 이상의 집단을 다시 채우기 위해 조혈 줄기 세포 이식물을 후속적으로 투여받을 수 있다. 특히 겸상 적혈구 빈혈, 지중해 빈혈, 판코니 빈혈, 위스코트-알드리치(Wiskott-Aldrich) 증후군, 아데노신 데아미나제 결핍-중증 복합형 면역결핍증, 이염색백색질 장애, 다이아몬드-블랙판 빈혈 및 슈마크만-다이아몬드 증후군, 인간 면역결핍 바이러스 감염, 및 후천성 면역결핍 증후군과 같은 다양한 조혈 질환, 뿐만 아니라 암 및 자가면역 질환을 치료하는 방법이 본원에 제공된다.
- [0012] 한 양태에서, 본 발명은 CD2에 결합하는 유효량의 항체, 또는 이의 항원-결합 단편, 또는 항체-약물 컨쥬게이트를 환자에게 투여함으로써, 예를 들어, 인간 환자에서 CD2+ 세포 집단, 예를 들어, 인간 환자에서 CD2+ T 세포 및/또는 CD2+ NK 세포 집단을 고갈시키는 방법을 제공한다.
- [0013] 또 다른 양태에서, 본 발명은, 예를 들어, 환자가 조혈 줄기 세포를 포함하는 이식을 받기 전에, CD2에 결합하는 유효량의 항체, 이의 항원-결합 단편, 또는 항체-약물 컨쥬게이트를 환자에게 투여함으로써, 조혈 줄기 세포 이식을 필요로 하는 인간 환자에서 CD2+ 세포 집단, 예를 들어, 조혈 줄기 세포 이식을 필요로 하는 인간 환자에서 CD2+ T 세포 및/또는 CD2+ NK 세포 집단을 고갈시키는 방법을 제공한다.
- [0014] 추가의 양태에서, 환자가 조혈 줄기 세포를 포함하는 이식을 받기 전에 CD2에 결합하는 유효량의 항체, 이의 항원-결합 단편, 또는 항체-약물 컨쥬게이트를 투여함으로써, 조혈 줄기 세포 이식 요법을 필요로 하는 인간 환자에서 조혈 줄기 세포 이식편의 거부 가능성을 예방하거나 감소시키는 방법이 본원에 제공된다.
- [0015] 또 다른 양태에서, 본 발명은 환자가 조혈 줄기 세포를 포함하는 이식을 받기 전에 CD2에 결합하는 유효량의 항체, 이의 항원-결합 단편, 또는 항체-약물 컨쥬게이트를 투여함으로써 조혈 줄기 세포 이식 요법을 필요로 하는 인간 환자에서 내인성 T 세포 집단을 고갈시키는 방법을 제공한다.
- [0016] 또 다른 양태에서, 본 발명은, 예를 들어, 조혈 줄기 세포를 포함하는 이식물을 인간 환자에게 투여하는 단계를 포함하는 조혈 줄기 세포 이식을 필요로 하는 인간 환자를 치료하는 방법을 특징으로 하며, 여기서 환자의 CD2에 결합하는 항체, 이의 항원-결합 단편, 또는 항체-약물 컨쥬게이트를 이전에 투여받았다. 항체, 이의 항원-결합 단편, 또는 항체-약물 컨쥬게이트는 환자에서 CD2+ 세포 집단, 예를 들어, 인간 환자에서 CD2+ T 세포 및/또는 CD2+ NK 세포 집단을 고갈시키기에 충분한 양으로 환자에게 투여될 수 있다.
- [0017] 추가적인 양태에서, 본 발명은, 예를 들어, 환자에서 CD2+ 세포 집단, 예를 들어, 환자에서 CD2+ T 세포 및/또는 CD2+ NK 세포 집단을 고갈시키기에 충분한 양의 CD2에 결합하는 항체, 이의 항원-결합 단편, 또는 항체-약물 컨쥬게이트를 인간 환자에게 투여하고, 이어서 조혈 줄기 세포를 포함하는 이식물을 상기 환자에게 투여하는 단계를 포함하는 조혈 줄기 세포 이식을 필요로 하는 인간 환자를 치료하는 방법을 특징으로 한다.

- [0018] 임의의 상기 양태의 일부 구체예에서, 항-CD2 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 하이브리도마 세포주 ATCC HB 11423에 의해 생산된다. 일부 구체예에서, 항-CD2 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 하이브리도마 세포주 ATCC HB 11423에 의해 생산된 항-CD2 항체 또는 이의 항원-결합 단편에 대한 CD2의 결합을 경쟁적으로 억제한다.
- [0019] 일부 구체예에서, 항-CD2 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 다음 상보성 결정 영역(CDR)을 함유한다:
- [0020] 아미노산 서열 EYYMY(SEQ ID NO: 1)를 갖는 CDR-H1;
- [0021] 아미노산 서열 RIDPEDGSIDYVEKFKK(SEQ ID NO: 2)를 갖는 CDR-H2;
- [0022] 아미노산 서열 GKFNYRFAY(SEQ ID NO: 3)를 갖는 CDR-H3;
- [0023] 아미노산 서열 RSSQSLHSSGNTYLN(SEQ ID NO: 4)를 갖는 CDR-L1;
- [0024] 아미노산 서열 LVSKLES(SEQ ID NO: 5)를 갖는 CDR-L2; 및
- [0025] 아미노산 서열 MQFTHYPYT(SEQ ID NO: 6)를 갖는 CDR-L3.
- [0026] 일부 구체예에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 다음 CDR을 포함하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편에 대한 CD2의 결합을 경쟁적으로 억제한다:
- [0027] 아미노산 서열 EYYMY(SEQ ID NO: 1)를 갖는 CDR-H1;
- [0028] 아미노산 서열 RIDPEDGSIDYVEKFKK(SEQ ID NO: 2)를 갖는 CDR-H2;
- [0029] 아미노산 서열 GKFNYRFAY(SEQ ID NO: 3)를 갖는 CDR-H3;
- [0030] 아미노산 서열 RSSQSLHSSGNTYLN(SEQ ID NO: 4)를 갖는 CDR-L1;
- [0031] 아미노산 서열 LVSKLES(SEQ ID NO: 5)를 갖는 CDR-L2; 및
- [0032] 아미노산 서열 MQFTHYPYT(SEQ ID NO: 6)를 갖는 CDR-L3.
- [0033] 일부 구체예에서, 항-CD2 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 i) SEQ ID NO: 1에 제시된 CDR-H1; SEQ ID NO: 2에 제시된 CDR-H2; SEQ ID NO: 3에 제시된 CDR-H3을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함하고; SEQ ID NO: 4에 제시된 CDR-L1; SEQ ID NO: 5에 제시된 CDR-L2; 및 SEQ ID NO: 6에 제시된 CDR-L3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항-CD2 항체 또는 이의 항원 결합 부분; ii) SEQ ID NO: 14에 제시된 CDR-H1; SEQ ID NO: 15에 제시된 CDR-H2; SEQ ID NO: 16 또는 17에 제시된 CDR-H3을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함하고; SEQ ID NO: 18에 제시된 CDR-L1; SEQ ID NO: 19에 제시된 CDR-L2; 및 SEQ ID NO: 20에 제시된 CDR-L3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항-CD2 항체 또는 이의 항원 결합 부분; iii) SEQ ID NO: 7에 제시된 중쇄 가변 영역을 포함하고 SEQ ID NO: 8에 제시된 경쇄 가변 영역을 포함하는 항-CD2 항체 또는 이의 항원 결합 부분; iv) SEQ ID NO: 9에 제시된 중쇄 가변 영역을 포함하고 SEQ ID NO: 10에 제시된 경쇄 가변 영역을 포함하는 항-CD2 항체 또는 이의 항원 결합 부분; 또는 v) SEQ ID NO: 21 또는 22에 제시된 중쇄 가변 영역을 포함하고 SEQ ID NO: 23에 제시된 경쇄 가변 영역을 포함하는 항-CD2 항체 또는 이의 항원 결합 부분이다.
- [0034] 일부 구체예에서, 항-CD2 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 모노클로날 항체, 폴리클로날 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 인간화 항체, 이중특이적 항체, 이중-가변 면역글로불린 도메인, 단일쇄 Fv 분자(scFv), 디아바디, 트리아바디, 나노바디, 항체-유사 단백질 스캐폴드, Fv 단편, Fab 단편, F(ab')₂ 분자, 및 탠덤 디-scFv, 또는 이의 항원-결합 단편으로 구성된 군으로부터 선택된다. 일부 구체예에서, 항체는 IgG, IgA, IgM, IgD, 및 IgE로 구성된 군으로부터 선택된 아이소형을 갖는다.
- [0035] 일부 구체예에서, 항-CD2 항체 또는 항원-결합 단편은 세포독소에 컨쥬게이션된다. 일부 구체예에서, 세포독소는 아파톡신, 슈도모나스 외독소 A, 테부가닌(deBouganin), 디프테리아 독소, 사포린, 메이탄신, 메이탄시노이드, 아우리스타틴, 안트라사이클린, 칼리케아미신, 이리노테칸, SN-38, 듀오카마이신, 피롤로벤조디아제핀, 피롤로벤조디아제핀 이량체, 인돌리노벤조디아제핀, 및 인돌리노벤조디아제핀 이량체, 또는 이의 변이체로 구성된 군으로부터 선택된다.
- [0036] 또 다른 양태에서, 본 발명은 CD2에 결합하는 유효량의 항체, 이의 항원-결합 단편, 또는 항체-약물 컨쥬게이트를 환자에게 투여함으로써, 인간 환자에서 CD2+ 세포 집단, 예를 들어, 인간 환자에서 CD2+ T 세포 및/또는 CD2+ NK 세포 집단을 고갈시키는 방법을 제공한다.

- [0037] 추가적인 양태에서, 본 발명은 환자가 조혈 줄기 세포를 포함하는 이식을 받기 전에, 유효량의 항-CD2 항체, 이의 항원-결합 단편, 또는 항체-약물 컨쥬게이트를 투여함으로써, 조혈 줄기 세포 이식을 필요로 하는 인간 환자에서 CD2+ 세포 집단, 예를 들어, 조혈 줄기 세포 이식을 필요로 하는 인간 환자에서 CD2+ T 세포 및/또는 CD2+ NK 세포 집단을 고갈시키는 방법을 제공한다.
- [0038] 또 다른 양태에서, 본 발명은, 예를 들어, 조혈 줄기 세포를 포함하는 이식물을 인간 환자에게 투여하는 단계를 포함하는 조혈 줄기 세포 이식을 필요로 하는 인간 환자를 치료하는 방법을 특징으로 하며, 여기서 환자는 환자에서 CD2+ 세포 집단, 예를 들어, 인간 환자에서 CD2+ T 세포 및/또는 CD2+ NK 세포 집단을 고갈시키기에 충분한 양의 CD2에 결합하는 항체, 이의 항원-결합 단편, 또는 항체-약물 컨쥬게이트를 이전에 투여받았다.
- [0039] 추가적인 양태에서, 본 발명은, 예를 들어, 환자에서 CD2+ 세포 집단, 예를 들어, 환자에서 CD2+ T 세포 및/또는 CD2+ NK 세포 집단을 고갈시키기에 충분한 양의 CD2에 결합하는 항체, 이의 단편, 또는 항체-약물 컨쥬게이트를 인간 환자에게 투여하고, 이어서 조혈 줄기 세포를 포함하는 이식물을 상기 환자에게 투여하는 단계를 포함하는 조혈 줄기 세포 이식을 필요로 하는 인간 환자를 치료하는 방법을 특징으로 한다.
- [0040] 전술한 4개의 양태 중 어느 것의 일부 구체예에서, CD2에 결합하는 항체 또는 이의 단편(예를 들어, CD2+ T 세포 또는 CD2+ NK 세포의 표면에서)은 인간 항체로부터 분리된(예를 들어, IgG1, IgG2, IgG3, 또는 IgG4 아이소형 인간 항체로부터 분리된) 이량체 Fc 도메인과 같은 Fc 도메인에 공유적으로 결합한다. 일부 구체예에서, Fc 도메인은 단일 폴리펩티드 가닥을 함유하는 단량체 Fc 도메인이다. 일부 구체예에서, 항체 또는 이의 단편의 N-말단은 Fc 도메인에 결합한다. 일부 구체예에서, 항체 또는 이의 단편의 C-말단은 Fc 도메인에 결합한다. Fc 도메인은 항체 또는 이의 단편의 하나 이상의 복사체에 컨쥬게이션될 수 있다. 예를 들어, 본원에 기재된 방법과 함께 사용될 수 있는 컨쥬게이트는 Fc 도메인의 각 폴리펩티드 가닥이 항체 또는 이의 단편에 컨쥬게이션된 이량체 Fc 도메인을 포함한다. Fc 도메인은 차례로 본원에 기재된 세포독소와 같은 세포독소(예를 들어, 아파톡신, 예를 들어, α-아파니틴, 슈도모나스 외독소 A, 테부가닌, 디프테리아 독소, 사포린, 메이탄신, 메이트시노이드, 아우리스타틴, 안트라사이클린, 칼리케아미신, 이리노테칸, SN-38, 듀오카마이신, 피롤로벤조디아제핀, 피롤로벤조디아제핀 이량체, 인돌리노벤조디아제핀, 및 인돌리노벤조디아제핀 이량체, 또는 이의 변이체)에 컨쥬게이션될 수 있다.
- [0041] 일부 구체예에서, 항-CD2 항체 또는 이의 단편은 본원에 기재된 세포독소와 같은 세포독소(예를 들어, 아파톡신, 예를 들어, α-아파니틴, 슈도모나스 외독소 A, 테부가닌, 디프테리아 독소, 사포린, 메이탄신, 메이트시노이드, 아우리스타틴, 안트라사이클린, 칼리케아미신, 이리노테칸, SN-38, 듀오카마이신, 피롤로벤조디아제핀, 피롤로벤조디아제핀 이량체, 인돌리노벤조디아제핀, 및 인돌리노벤조디아제핀 이량체, 또는 이의 변이체)에 공유적으로 결합된다. 일부 구체예에서, 항체 또는 이의 단편의 N-말단은 세포독소에 결합한다. 일부 구체예에서, 항체 또는 이의 단편의 C-말단은 세포독소에 결합한다. 세포독소는 차례로 Fc 도메인에 컨쥬게이션될 수 있다.
- [0042] 일부 구체예에서, 항-CD2 항체 또는 이의 단편은 항체 또는 이의 단편의 한 부위(예를 들어, 항체 또는 이의 단편의 N- 또는 C-말단)에서 세포독소에 공유적으로 결합되고, 항체 또는 이의 단편의 다른 부위(예를 들어, 항체 또는 이의 단편의 반대 말단)에서 Fc 도메인에 공유적으로 결합된다.
- [0043] 일부 구체예에서, Fc 도메인은 인간 IgG1 아이소형 Fc 도메인이다. 일부 구체예에서, Fc 도메인은 인간 IgG2 아이소형 Fc 도메인이다. 일부 구체예에서, Fc 도메인은 인간 IgG3 아이소형 Fc 도메인이다. 일부 구체예에서, Fc 도메인은 인간 IgG4 아이소형 Fc 도메인이다.
- [0044] 임의의 상기 양태의 일부 구체예에서, 세포독소는 아파톡신 또는 이의 유도체, 예를 들어, α-아파니틴, β-아파니틴, γ-아파니틴, ε-아파니틴, 아파닌, 아파닌아미드, 아파놀린, 아파놀린산, 및 프로아파놀린이다. 한 구체예에서, 세포독소는 아파니틴이다. 임의의 상기 양태의 일부 구체예에서, 세포독소는 아파톡신이고, 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 또는 세포독소에 컨쥬게이션된 항체는 화학식 Ab-Z-L-Am으로 표현되며, 여기서 Ab는 항체 또는 이의 항원-결합 단편이고, L은 링커이고, Z는 화학적 모이어티이고, Am은 아파톡신이다. 일부 구체예에서, 아파톡신은 링커에 컨쥬게이션된다. 일부 구체예에서, 아파톡신-링커 컨쥬게이트 Am-L-Z는 하기 화학식 (I)로 표현된다:



[0045]

[0046]

[0047]

[0048]

[0049]

[0050]

[0051]

[0052]

[0053]

[0054]

[0055]

[0056]

[0057]

[0058]

[0059]

[0060]

상기 식에서, R₁은 H, OH, OR_A, 또는 OR_C이고;

R₂는 H, OH, OR_B, 또는 OR_C이고;

R_A 및 R_B는 존재하는 경우 이들이 결합된 산소 원자와 함께 조합되어 임의로 치환된 5원 헤테로사이클로알킬 기를 형성하고;

R₃은 H, R_C, 또는 R_D이고;

R₄는 H, OH, OR_C, OR_D, R_C, 또는 R_D이고;

R₅는 H, OH, OR_C, OR_D, R_C, 또는 R_D이고;

R₆은 H, OH, OR_C, OR_D, R_C, 또는 R_D이고;

R₇은 H, OH, OR_C, OR_D, R_C, 또는 R_D이고;

R₈은 OH, NH₂, OR_C, OR_D, NHR_C, 또는 NR_CR_D이고;

R₉는 H, OH, OR_C, 또는 OR_D이고;

X는 -S-, -S(O)-, 또는 -SO₂-이고;

R_C는 -L-Z이고;

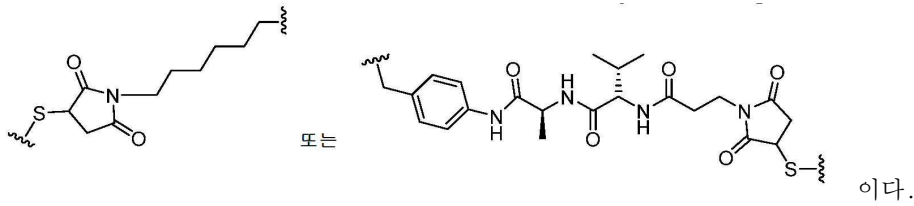
R_D는 임의로 치환된 알킬(예를 들어, C₁-C₆ 알킬), 임의로 치환된 헤테로알킬(예를 들어, C₁-C₆ 헤테로알킬), 임의로 치환된 알케닐(예를 들어, C₂-C₆ 알케닐), 임의로 치환된 헤테로알케닐(예를 들어, C₂-C₆ 헤테로알케닐), 임의로 치환된 알키닐(예를 들어, C₂-C₆ 알키닐), 임의로 치환된 헤테로알키닐(예를 들어, C₂-C₆ 헤테로알키닐), 임의로 치환된 사이클로알킬, 임의로 치환된 헤테로사이클로알킬, 임의로 치환된 아릴, 또는 임의로 치환된 헤테로아릴이고;

L은 링커, 예를 들어, 임의로 치환된 알킬렌(예를 들어, C₁-C₆ 알킬렌), 임의로 치환된 헤테로알킬렌(C₁-C₆ 헤테로알킬렌), 임의로 치환된 알케닐렌(예를 들어, C₂-C₆ 알케닐렌), 임의로 치환된 헤테로알케닐렌(예를 들어, C₂-C₆ 헤테로알케닐렌), 임의로 치환된 알키닐렌(예를 들어, C₂-C₆ 알키닐렌), 임의로 치환된 헤테로알키닐렌(예를 들어, C₂-C₆ 헤테로알키닐렌), 임의로 치환된 사이클로알킬렌, 임의로 치환된 헤테로사이클로알킬렌, 임의로 치환된 아릴렌, 또는 임의로 치환된 헤테로아릴렌, 디펩티드, -(C=O)-, 펩티드, 또는 이의 조합이고;

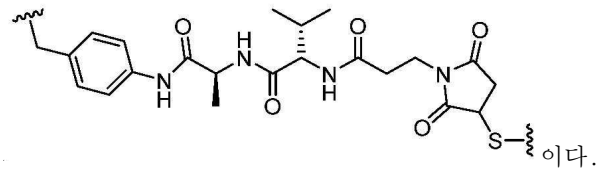
Z는 L 상에 존재하는 반응성 치환기와, 예를 들어, CD2+ T 세포 또는 CD2+ NK 세포의 표면 상에서 CD2에 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편 내에 존재하는 반응성 치환기 사이의 커플링 반응으로부터 형성된 화학적 모이어티이다.

[0061] 일부 구체예에서, Am은 정확히 하나의 R_C 치환기를 포함한다.

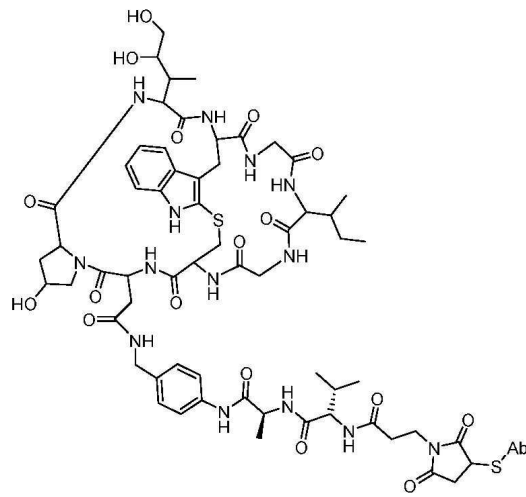
[0062] 일부 구체예에서, 링커 L 및 화학적 모이어티 Z는 L-Z로서 함께 취해져서



[0063] 상기 식에서, S는 (예를 들어, 시스테인 잔기의 -SH 기로부터) CD117에 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편 내에 존재하는 반응성 치환기를 나타내는 황 원자이다.

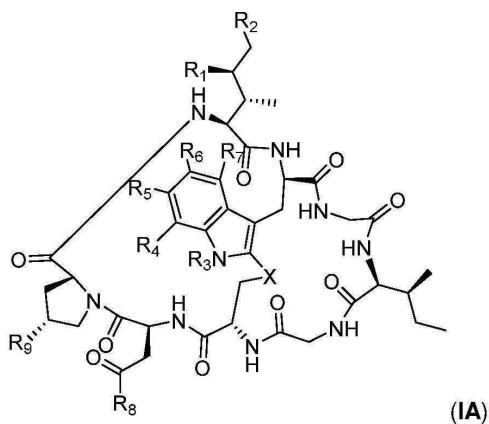


[0064] 일부 구체예에서, L-Z는



[0065] 일부 구체예에서, Am-L-Z-Ab는

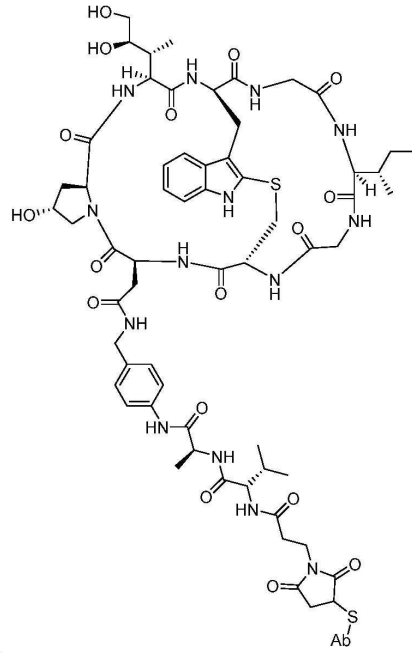
[0066] 일부 구체예에서, Am-L-Z는 하기 화학식 (IA)로 표현된다:



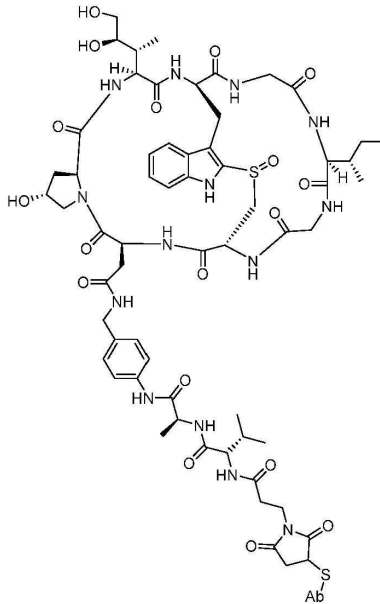
[0067] 상기 식에서, R_1 은 H, OH, OR_A , 또는 OR_C 이고;

[0069] R_2 는 H, OH, OR_B , 또는 OR_C 이고;

[0070] R_A 및 R_B 는 존재하는 경우 이들이 결합된 산소 원자와 함께 조합되어 임의로 치환된 5원 헤테로사이클로알킬기를 형성하고;

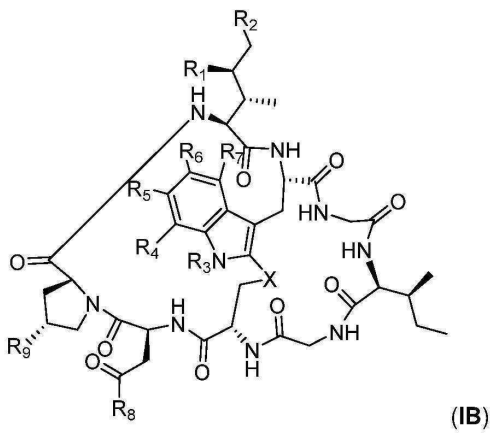


[0086] 일부 구체예에서, Am-L-Z-Ab는 이다.



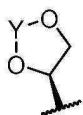
[0087] 일부 구체예에서, Am-L-Z-Ab는 이다.

[0088] 일부 구체예에서, Am-L-Z는 하기 화학식 (IB)로 표현된다:



[0089]

- [0090] 상기 식에서, R_1 은 H, OH, OR_A , 또는 OR_C 이고;
- [0091] R_2 는 H, OH, OR_B , 또는 OR_C 이고;
- [0092] R_A 및 R_B 는 존재하는 경우 이들이 결합된 산소 원자와 함께 조합되어 임의로 치환된 5원 헤테로사이클로알킬 기를 형성하고;
- [0093] R_3 은 H, R_C , 또는 R_D 이고;
- [0094] R_4 는 H, OH, OR_C , OR_D , R_C , 또는 R_D 이고;
- [0095] R_5 는 H, OH, OR_C , OR_D , R_C , 또는 R_D 이고;
- [0096] R_6 은 H, OH, OR_C , OR_D , R_C , 또는 R_D 이고;
- [0097] R_7 은 H, OH, OR_C , OR_D , R_C , 또는 R_D 이고;
- [0098] R_8 은 OH, NH_2 , OR_C , OR_D , NHR_C , 또는 $NR_C R_D$ 이고;
- [0099] R_9 는 H, OH, OR_C , 또는 OR_D 이고;
- [0100] X는 $-S-$, $-S(O)-$, 또는 $-SO_2-$ 이고;
- [0101] R_C 는 $-L-Z$ 이고;
- [0102] R_D 는 임의로 치환된 알킬(예를 들어, C_1-C_6 알킬), 임의로 치환된 헤테로알킬(예를 들어, C_1-C_6 헤테로알킬), 임의로 치환된 알케닐(예를 들어, C_2-C_6 알케닐), 임의로 치환된 헤테로알케닐(예를 들어, C_2-C_6 헤테로알케닐), 임의로 치환된 알키닐(예를 들어, C_2-C_6 알키닐), 임의로 치환된 헤테로알키닐(예를 들어, C_2-C_6 헤테로알키닐), 임의로 치환된 사이클로알킬, 임의로 치환된 헤테로사이클로알킬, 임의로 치환된 아릴, 또는 임의로 치환된 헤테로아릴이고;
- [0103] L은 링커, 예를 들어, 임의로 치환된 알킬렌(예를 들어, C_1-C_6 알킬렌), 임의로 치환된 헤테로알킬렌(C_1-C_6 헤테로알킬렌), 임의로 치환된 알케닐렌(예를 들어, C_2-C_6 알케닐렌), 임의로 치환된 헤테로알케닐렌(예를 들어, C_2-C_6 헤테로알케닐렌), 임의로 치환된 알키닐렌(예를 들어, C_2-C_6 알키닐렌), 임의로 치환된 헤테로알키닐렌(예를 들어, C_2-C_6 헤테로알키닐렌), 임의로 치환된 사이클로알킬렌, 임의로 치환된 헤테로사이클로알킬렌, 임의로 치환된 아릴렌, 임의로 치환된 헤테로아릴렌, 디펩티드, $-(C=O)-$, 펩티드, 또는 이의 조합이고;
- [0104] Z는 L 상에 존재하는 반응성 치환기와, 예를 들어, CD2+ T 세포 또는 CD2+ NK 세포의 표면 상에서 CD2에 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편 내에 존재하는 반응성 치환기 사이의 커플링 반응으로부터 형성된 화학적 모이어티이고;
- [0105] 여기서 Am은 정확히 하나의 R_C 치환기를 포함한다.
- [0106] 일부 구체예에서, R_A 및 R_B 는 이들이 결합된 산소 원자와 함께 조합되어 하기 화학식의 5원 헤테로사이클로알킬 기를 형성한다:



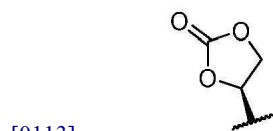
- [0107]
- [0108] 상기 식에서, Y는 $-C(=O)-$, $-C(=S)-$, $-C(=NR_E)-$, 또는 $-C(R_E R_{E'})-$ 이고;
- [0109] R_E 및 $R_{E'}$ 는 각각 독립적으로 임의로 치환된 C_1-C_6 알킬렌- R_C , 임의로 치환된 C_1-C_6 헤테로알킬렌- R_C , 임의로 치환된 C_2-C_6 알케닐렌- R_C , 임의로 치환된 C_2-C_6 헤테로알케닐렌- R_C , 임의로 치환된 C_2-C_6 알키닐렌- R_C , 임의로 치환된

C₂-C₆ 헤테로알킬닐렌-R_C, 임의로 치환된 사이클로알킬렌-R_C, 임의로 치환된 헤테로사이클로알킬렌-R_C, 임의로 치환된 아릴렌-R_C, 또는 임의로 치환된 헤테로아릴렌-R_C이다.

[0110] 일부 구체예에서, Am-L-Z는 화학식 (IA) 또는 화학식 (IB)로 표현되며, 여기서 R₁은 H, OH, OR_A, 또는 OR_C이고;

[0111] R₂는 H, OH, OR_B, 또는 OR_C이고;

[0112] R_A 및 R_B는 존재하는 경우 이들이 결합된 산소 원자와 함께 조합되어 다음을 형성하고:



[0114] R₃은 H 또는 R_C이고;

[0115] R₄는 H, OH, OR_C, OR_D, R_C, 또는 R_D이고;

[0116] R₅는 H, OH, OR_C, OR_D, R_C, 또는 R_D이고;

[0117] R₆은 H, OH, OR_C, OR_D, R_C, 또는 R_D이고;

[0118] R₇은 H, OH, OR_C, OR_D, R_C, 또는 R_D이고;

[0119] R₈은 OH, NH₂, OR_C, 또는 NHR_C이고;

[0120] R₉는 H 또는 OH이고;

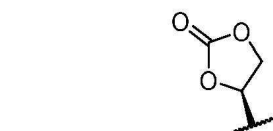
[0121] 여기서 X, R_C 및 R_D는 각각 상기 정의된 바와 같다.

[0122] 일부 구체예에서, Am-L-Z는 화학식 (IA) 또는 화학식 (IB)로 표현되며,

[0123] 여기서, R₁은 H, OH, OR_A, 또는 OR_C이고;

[0124] R₂는 H, OH, OR_B, 또는 OR_C이고;

[0125] R_A 및 R_B는 이들이 결합된 산소 원자와 함께 조합되어 다음을 형성하고:



[0127] R₃은 H 또는 R_C이고;

[0128] R₄ 및 R₅는 각각 독립적으로 H, OH, OR_C, R_C, 또는 OR_D이고;

[0129] R₆ 및 R₇은 각각 H이고;

[0130] R₈은 OH, NH₂, OR_C, 또는 NHR_C이고;

[0131] R₉는 H 또는 OH이고;

[0132] 여기서 X 및 R_C는 상기 정의된 바와 같다.

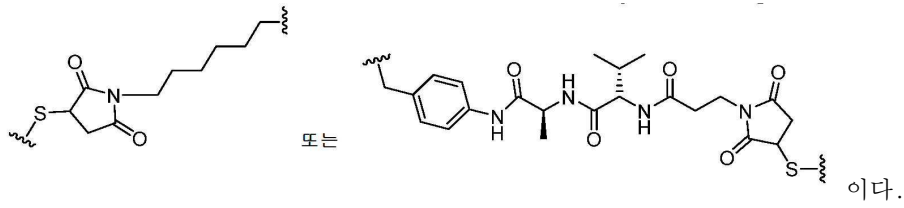
[0133] 일부 구체예에서, Am-L-Z는 화학식 (IA) 또는 화학식 (IB)로 표현되며,

[0134] 여기서, R₁은 H, OH, 또는 OR_A이고;

- [0135] R_2 는 H, OH, 또는 OR_B 이고;
- [0136] R_A 및 R_B 는 이들이 결합된 산소 원자와 함께 조합되어 다음을 형성하고:
-
- [0137]
- [0138] R_3 , R_4 , R_6 , 및 R_7 은 각각 H이고;
- [0139] R_5 는 OR_C 이고;
- [0140] R_8 은 OH 또는 NH_2 이고;
- [0141] R_9 는 H 또는 OH이고;
- [0142] 여기서 X 및 R_C 는 상기 정의된 바와 같다.
- [0143] 일부 구체예에서, Am-L-Z는 화학식 (IA) 또는 화학식 (IB)로 표현되며,
- [0144] 여기서, R_1 및 R_2 는 각각 독립적으로 H 또는 OH이고;
- [0145] R_3 은 R_C 이고;
- [0146] R_4 , R_6 , 및 R_7 은 각각 H이고;
- [0147] R_5 는 H, OH, 또는 OC_1-C_6 알킬이고;
- [0148] R_8 은 OH 또는 NH_2 이고;
- [0149] R_9 는 H 또는 OH이고;
- [0150] 여기서 X 및 R_C 는 상기 정의된 바와 같다.
- [0151] 일부 구체예에서, Am-L-Z는 화학식 (IA) 또는 화학식 (IB)로 표현되며,
- [0152] 여기서, R_1 및 R_2 는 각각 독립적으로 H 또는 OH이고;
- [0153] R_3 , R_6 , 및 R_7 은 각각 H이고;
- [0154] R_4 및 R_5 는 각각 독립적으로 H, OH, OR_C , 또는 R_C 이고;
- [0155] R_8 은 OH 또는 NH_2 이고;
- [0156] R_9 는 H 또는 OH이고;
- [0157] 여기서 X 및 R_C 는 상기 정의된 바와 같다.
- [0158] 일부 구체예에서, Am-L-Z는 화학식 (IA) 또는 화학식 (IB)로 표현되며,
- [0159] 여기서, R_1 및 R_2 는 각각 독립적으로 H 또는 OH이고;
- [0160] R_3 , R_6 , 및 R_7 은 각각 H이고;
- [0161] R_4 및 R_5 는 각각 독립적으로 H 또는 OH이고;
- [0162] R_8 은 OH, NH_2 , OR_C , 또는 NHR_C 이고;
- [0163] R_9 는 H 또는 OH이고;

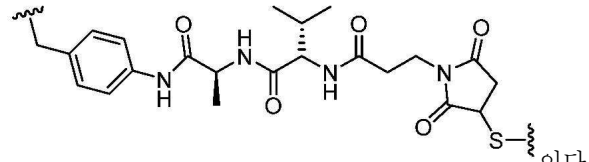
[0164] 여기서 X 및 R_C는 상기 정의된 바와 같다.

[0165] 일부 구체예에서, 링커 L 및 화학적 모이어티 Z는 L-Z로서 함께 취해져서



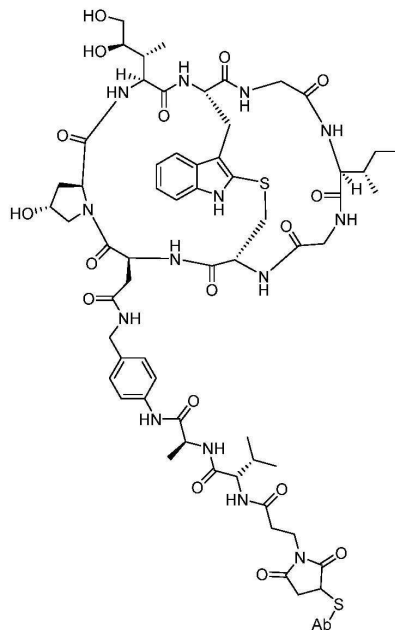
이다.

[0166] 일부 구체예에서, L-Z는



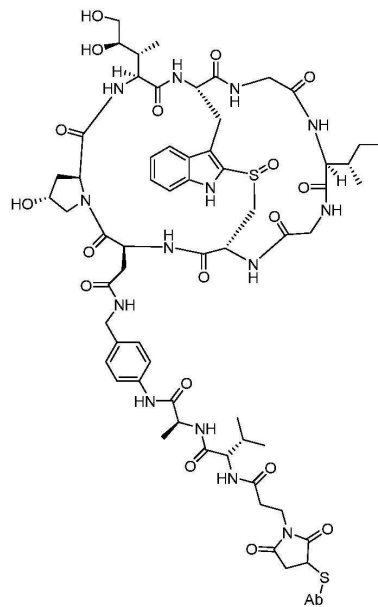
이다.

[0167] 일부 구체예에서, Am-L-Z-Ab는



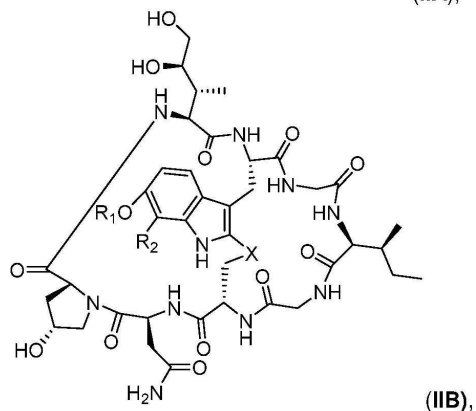
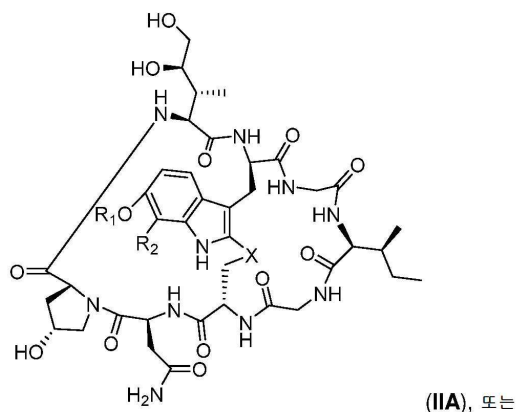
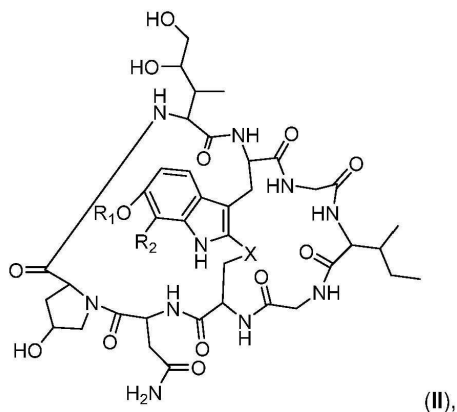
이다.

[0168] 일부 구체예에서, Am-L-Z-Ab는



이다.

[0169] 일부 구체예에서, Am-L-Z는 하기 화학식 (II), 화학식 (IIA), 또는 화학식 (IIB)로 표현된다:

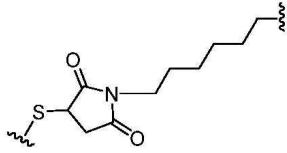


[0170]

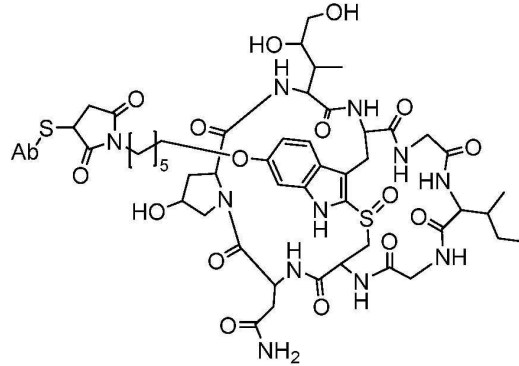
[0171] 상기 식에서, X는 S, SO, 또는 SO₂이고; R₁은 H 또는 링커 상에 존재하는 반응성 치환기와 항체 또는 이의 항원-결합 단편 내에 존재하는 반응성 치환기 사이의 커플링 반응으로부터 형성된 화학적 모이어티 Z를 통해 항체 또는 이의 항원-결합 단편에 공유적으로 결합된 링커이고; R₂는 H 또는 링커 상에 존재하는 반응성 치환기와 항체 또는 이의 항원-결합 단편 내에 존재하는 반응성 치환기 사이의 커플링 반응으로부터 형성된 화학적 모이어티 Z를 통해 항체 또는 이의 항원-결합 단편에 공유적으로 결합된 링커이고; 여기서 R₁이 H인 경우, R₂는 링커이고, R₂가 H인 경우, R₁은 링커이다.

[0172] 일부 구체예에서, 링커는 -(CH)_{2n}- 단위를 포함하며, 여기서 n은 2-6의 정수이다.

[0173] 일부 구체예에서, R₁은 링커이고 R₂는 H이며, 링커 및 화학적 모이어티는 L-Z로서 함께

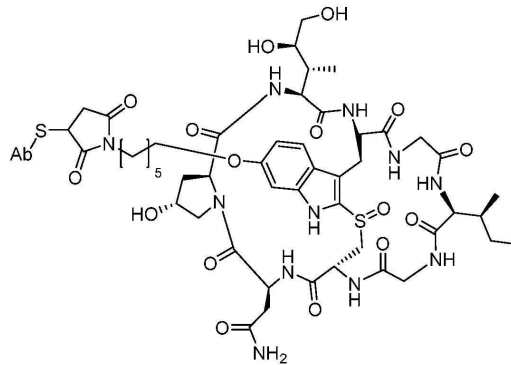


이다.



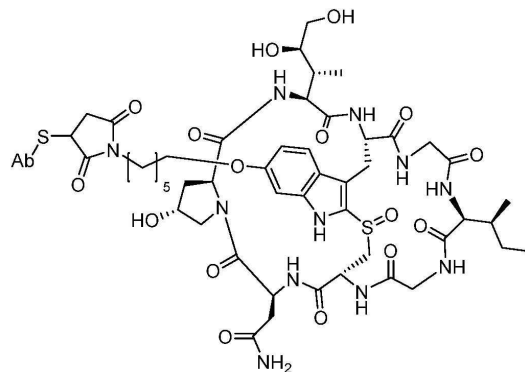
[0174] 일부 구체예에서, Am-L-Z-Ab는

이다.



[0175] 일부 구체예에서, Am-L-Z-Ab는

이다.

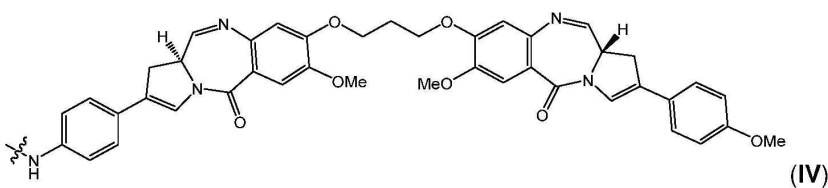


[0176] 일부 구체예에서, Am-L-Z-Ab는

이다.

[0177] 임의의 상기 양태의 일부 구체예에서, 세포독소는 DM1 및 DM4로 구성된 군으로부터 선택된 메이탄시노이드이다. 일부 구체예에서, 세포독소는 모노메틸 아우리스타틴 E 및 모노메틸 아우리스타틴 F로 구성된 군으로부터 선택된 아우리스타틴이다. 일부 구체예에서, 세포독소는 다우노루비신, 독소루비신, 에피루비신, 및 이다루비신으로 구성된 군으로부터 선택된 안트라사이클린이다.

[0178] 일부 구체예에서, 세포독소는 하기 화학식 (IV)로 표현되는 피롤로벤조디아제핀 이량체이다:



[0179]

- [0180] 일부 구체예에서, 세포독소는 말레이미도카프로일 링커를 통해 항체 또는 이의 항원-결합 단편에 컨쥬게이션된다.
- [0181] 일부 구체예에서, 세포독소는 모노메틸 아우리스타틴 E 및 모노메틸 아우리스타틴 F로 구성된 군으로부터 선택된 아우리스타틴이다.
- [0182] 일부 구체예에서, 세포독소는 다우노루비신, 독소루비신, 에피루비신, 및 이다루비신으로 구성된 군으로부터 선택된 안트라사이클린이다.
- [0183] 일부 구체예에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 환자에게 투여된 후 T 세포 또는 NK 세포(예를 들어, CD2+ T 세포 또는 CD2+ NK 세포)와 같은 면역 세포에 의해 내재화된다. 예를 들어, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 수용체 매개 세포내이입(예를 들어, 세포-표면 CD2에 결합시)에 의해 T 세포에 의해 내재화될 수 있다. 일부 구체예에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편에 공유적으로 결합된 세포독소는 화학적 절단에 의해(예를 들어, 본원에 기재된 링커의 효소적 또는 비특이적 절단에 의해) 세포내로 방출될 수 있다. 이후, 세포독소는 조혈 줄기 세포 이식 요법 이전에 내인성 면역 세포(예를 들어, CD2+ T 세포 또는 CD2+ NK 세포)의 사멸을 촉진하기 위해 이의 세포내 표적(예를 들어, 특히, RNA 중합효소, 유사분열 방추 장치, 핵 DNA, 리보솜 RNA, 또는 토포아이스머라제)에 접근할 수 있다.
- [0184] 일부 구체예에서, 항체, 이의 항원-결합 단편, 또는 항체-약물 컨쥬게이트는 T 세포 또는 NK 세포(예를 들어, CD2+ T 세포 또는 CD2+ NK 세포)와 같은 면역 세포의 괴사를 촉진할 수 있다. 일부 구체예에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 환자에게 투여시 하나 이상의 보체 단백질, NK 세포, 대식세포, 호중구, 및/또는 호산구를 면역 세포로 동원함으로써 이식 요법 이전에 내인성 면역 세포(예를 들어, CD2+ T 세포 또는 CD2+ NK 세포)의 사멸을 촉진할 수 있다.
- [0185] 일부 구체예에서, 조혈 줄기 세포를 함유하는 자가 이식물이 환자에게 투여된다. 예를 들어, 자가 조혈 줄기 세포는 환자, 예를 들어, 조혈 줄기 세포 이식 요법을 필요로 하는 환자로부터 제거될 수 있고, 이어서 세포는 조혈 계통의 하나 이상의 세포 유형을 다시 채우기 위해 환자에게 투여(예를 들어, 주입)될 수 있다. 회수된 조혈 줄기 세포는, 예를 들어, 생체 외에서 1시간 이상, 수일 또는 수주 동안 유지된 후 대상체에 새롭게 재주입될 수 있다. 예를 들어, 회수된 조혈 줄기 세포는 환자로부터 회수된지 1시간 내지 약 1주, 1시간 내지 약 72시간, 약 1시간 내지 약 48시간, 또는 약 1시간 내지 약 24시간 후에 환자에게 재주입될 수 있다. 일부 구체예에서, 회수된 조혈 줄기 세포는 환자에게 재주입되기 전에 장기간 저장을 위해 동결된다. 예를 들어, 회수된 조혈 줄기 세포는 환자에게 재주입되기 전에 약 1주 내지 약 1년, 또는 더 길게 동결 및 저온보존될 수 있다.
- [0186] 일부 구체예에서, 조혈 줄기 세포를 함유하는 동종이체 이식물이 환자에게 투여된다. 예를 들어, 동종이체 조혈 줄기 세포는 환자, 예를 들어, 환자의 밀접하게 관련된 가족 구성원과 관련하여 HLA-매칭된 공여자와 같은 공여자로부터 제거될 수 있다. 일부 구체예에서, 동종이체 조혈 줄기 세포는 환자와 관련하여 HLA-미스매칭된다. 공여자로부터 동종이체 조혈 줄기 세포의 회수 후, 세포는 이어서 조혈 계통의 하나 이상의 세포 유형을 다시 채우기 위해 환자에게 투여될 수 있다(예를 들어, 환자에게 주입). 회수된 조혈 줄기 세포는, 예를 들어, 생체 외에서 1시간 이상, 수일 또는 수주 동안 유지된 후 대상체에 새롭게 주입될 수 있다. 예를 들어, 회수된 조혈 줄기 세포는 공여자로부터 회수된지 1시간 내지 약 1주, 1시간 내지 약 72시간, 약 1시간 내지 약 48시간, 또는 약 1시간 내지 약 24시간 후에 환자에게 주입될 수 있다. 일부 구체예에서, 회수된 조혈 줄기 세포는 환자에게 주입되기 전에 장기간 저장을 위해 동결된다. 예를 들어, 회수된 조혈 줄기 세포는 환자에게 주입되기 전에 약 1주 내지 약 1년, 또는 더 길게 동결 및 저온보존될 수 있다.
- [0187] 일부 구체예에서, 조혈 줄기 세포를 함유하는 이식물은 항-CD2 항체, 이의 항원-결합 단편, 또는 항체-약물 컨쥬게이트의 농도가 환자의 혈액으로부터 실질적으로 제거된 후에 환자에게 투여된다.
- [0188] 일부 구체예에서, 조혈 줄기 세포를 함유하는 이식물은 항-CD2 항체, 항원-결합 단편, 또는 항체-약물 컨쥬게이트의 농도가 환자의 혈액으로부터 실질적으로 제거된지 약 1시간 내지 약 7일(예를 들어, 약 6시간 내지 약 3일, 약 12시간 내지 약 36시간, 또는 약 24시간) 후에 환자에게 투여된다.
- [0189] 일부 구체예에서, 조혈 줄기 세포 또는 이의 자손은 조혈 줄기 세포를 환자에게 이식한 후 2일 이상(예를 들어, 약 2 내지 약 5일, 약 2 내지 약 7일, 약 2 내지 약 20일, 약 2 내지 약 30일, 예를 들어, 약 2일, 약 3일, 약 4일, 약 5일, 약 6일, 약 7일, 약 8일, 약 9일, 약 10일, 약 11일, 약 12일, 약 13일, 약 14일, 약 15일, 약 16일, 약 17일, 약 18일, 약 19일, 약 20일, 약 21일, 약 22일, 약 23일, 약 24일, 약 25일, 약 26일, 약 27일, 약 28일, 약 29일, 약 30일, 또는 그 이상) 후에 조혈 줄기 세포 기능 잠재력을 유지한다.

- [0190] 일부 구체예에서, 조혈 줄기 세포 또는 이의 자손은 조혈 줄기 세포를 환자에게 이식한 후 골수와 같은 조혈 조직에 국소화되고/되거나 조혈을 재확립할 수 있다.
- [0191] 일부 구체예에서, 환자에게 이식시, 조혈 줄기 세포는 거핵세포, 혈전구, 혈소판, 적혈구, 비만 세포, 골수모세포(myeloblast), 호염기구, 호중구, 호산구, 미세아교세포, 과립구, 단핵구, 과골세포, 항원-제시 세포, 대식세포, 수지상 세포, 자연 살해 세포, T 림프구, 및 B 림프구로 구성된 군으로부터 선택된 세포 집단의 회복을 야기한다.
- [0192] 일부 구체예에서, 환자는 암으로 고통받는다. 암은 급성 골수 백혈병, 급성 림프 백혈병, 만성 골수 백혈병, 또는 만성 림프 백혈병과 같은 혈액암 또는 백혈병의 유형일 수 있다.
- [0193] 일부 구체예에서, CD2+ 세포는 암 세포를 포함한다.
- [0194] 일부 구체예에서, 항-CD2 항체, 이의 항원-결합 단편, 또는 항체-약물 컨쥬게이트는 환자에서 암 세포를 고갈시킨다. 예를 들어, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 환자에서 암 세포의 약 10%, 약 20%, 약 30%, 약 40%, 약 50%, 약 60%, 약 70%, 약 80%, 약 90%, 또는 실질적으로 전부를 고갈시킬 수 있다.
- [0195] 일부 구체예에서, 항-CD2 항체, 이의 항원-결합 단편, 또는 항체-약물 컨쥬게이트는 환자에서 혈액암 세포(예를 들어, 백혈병 세포)를 고갈시킨다. 일부 구체예에서, 혈액암 세포는 급성 골수 백혈병 세포, 급성 림프 백혈병 세포, 만성 골수 백혈병 세포, 또는 만성 림프 백혈병 세포이다. 일부 구체예에서, 혈액암 세포는 거핵세포, 혈전구, 혈소판, 적혈구, 비만 세포, 골수모세포, 호염기구, 호중구, 호산구, 미세아교세포, 과립구, 단핵구, 과골세포, 항원-제시 세포, 대식세포, 수지상 세포, 자연 살해 세포, T 림프구, 또는 B 림프구이다.
- [0196] 일부 구체예에서, CD2+ 세포 집단은 면역 세포, 예를 들어, CD2+ T 세포 및/또는 CD2+ NK 세포를 포함한다.
- [0197] 임의의 상기 양태의 일부 구체예에서, 방법은, 예를 들어, 이를 테면, 조혈 줄기 세포 이식 요법 이전에 환자에서 면역 세포 집단을 고갈시켜 조혈 줄기 세포 이식편과 교차 반응하는(예를 들어, 조혈 줄기 세포 이식편에 의해 발현된 비-자기 MHC 항원과 교차 반응함에 의해) 면역 세포 집단에 의해 달리 야기될 수 있는 조혈 줄기 세포 이식 거부 가능성을 예방 또는 감소시킴으로써 하나 이상의 장애를 치료하는데 사용된다. 이식 후, 조혈 줄기 세포는 생산적 조혈을 확립하여, 환자에서 결핍 세포 유형 또는 능동적으로 사멸되거나, 예를 들어, 화학 치료 방법에 의해 사멸된 세포 유형을 보충할 수 있다. 예를 들어, 환자는 줄기 세포 장애로 고통받는 환자일 수 있다. 일부 구체예에서, 환자는 겸상 적혈구 빈혈, 지중해 빈혈, 판코니 빈혈, 재생불량 빈혈, 및 위스코트-알드리치 증후군과 같은 혈액소병증 장애로 고통받는다. 환자는 선천성 면역결핍 장애 또는 후천성 면역결핍 장애(예를 들어, 인간 면역결핍 바이러스 또는 후천성 면역결핍 증후군)와 같은 면역결핍 장애로 고통받을 수 있다. 일부 구체예에서, 환자는 글리코겐 축적병, 뮤코다당질축적증, 고체병(Gaucher's Disease), 후틀러병(Hurlers Disease), 스펅고지질증, 및 이염색백색질 장애와 같은 대사 장애로 고통받는다. 일부 구체예에서, 환자는 아데노신 데아미나제 결핍증 및 중증 복합형 면역결핍증, 고면역글로불린 M 증후군, 체디아크-히가시 질병(Chediak-Higashi disease), 유전성 림프조직구증, 골석화증, 골형성 부전증, 축적병, 중증성 지중해 빈혈, 전신 경화증, 전신 홍반 루푸스, 및 소아 류마티스 관절염으로 구성된 군으로부터 선택된 장애로 고통받는다. 일부 구체예에서, 환자는 공피증, 다발성 경화증, 궤양성 대장염, 크론병, 및 타입 1 당뇨병과 같은 자가면역 질환으로 고통받는다. 일부 구체예에서, 환자는 암 또는 골수증식 질병, 예를 들어, 혈액학적 암으로 고통받는다. 일부 구체예에서, 환자는 급성 골수 백혈병, 급성 림프 백혈병, 만성 골수 백혈병, 만성 림프 백혈병, 다발성 골수종, 광범위 큰 B-세포 림프종, 또는 비호지킨 림프종으로 고통받는다. 일부 구체예에서, 환자는 골수형성이상 질병, 예를 들어, 골수형성이상 증후군으로 고통받는다.
- [0198] 임의의 상기 양태의 일부 구체예에서, 방법은 환자에서 CD2+ 암 세포 집단을 고갈시키는 항체, 이의 항원-결합 단편, 또는 이의 컨쥬게이트를 투여함으로써 및/또는 조혈 줄기 세포 이식 요법 이전에, 조혈 줄기 세포 이식편과 교차 반응하는(예를 들어, 조혈 줄기 세포 이식편에 의해 발현된 비-자기 MHC 항원과 교차 반응하는) 면역 세포 집단에 의해 달리 야기될 수 있는 조혈 줄기 세포 이식 거부 가능성을 예방 또는 감소시키기 위해 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 투여함으로써 암, 예를 들어, CD2+ 세포를 특징으로 하는 암(예를 들어, CD2+ 세포를 특징으로 하는 백혈병)을 직접 치료하는데 사용된다. 후자의 경우, 이식은 차례로, 예를 들어, 암 세포를 근절하는 과정에서 고갈된 세포 집단을 재구성할 수 있다. 암은 급성 골수 백혈병, 급성 림프 백혈병, 만성 골수 백혈병, 만성 림프 백혈병, 다발성 골수종, 광범위 큰 B-세포 림프종, 또는 비호지킨 림프종과 같은 혈액학적 암일 수 있다.
- [0199] 임의의 상기 양태의 일부 구체예에서, 방법은, 예를 들어, CD2+ 자가면역 세포의 집단(예를 들어, 자가반응성

CD2+ T 세포 및/또는 NK 세포의 집단)을 고갈시키기 위해 항-CD2 항체, 이의 항원-결합 단편, 또는 이의 컨쥬게이트를 투여함으로써 및/또는 조혈 줄기 세포 이식 요법 이전에, 조혈 줄기 세포 이식편과 교차 반응하는(예를 들어, 조혈 줄기 세포 이식편에 의해 발현된 비-자기 MHC 항원과 교차 반응하는) 면역 세포 집단에 의해 달리아기될 수 있는 조혈 줄기 세포 이식 거부 가능성을 예방 또는 감소시키기 위해 항-CD2 항체, 이의 항원-결합 단편, 또는 이의 컨쥬게이트를 투여함으로써 자가면역 질환을 치료하는데 사용된다. 후자의 경우, 이식은 차례로, 예를 들어, 자가면역 세포를 근절하는 과정에서 고갈된 세포 집단을 재구성할 수 있다. 자가면역 질환은, 예를 들어, 공피증, 다발성 경화증(MS), 인간 전신 루푸스(SLE), 류마티스 관절염(RA), 염증성 장질환(IBD), 치료 중인 건선, 타입 1 진성 당뇨병(타입 1 당뇨병), 급성 산재성 뇌척수염(ADEM), 애디슨병, 전신 탈모증, 강직성 척추염, 항인지질 항체 증후군(APS), 재생불량 빈혈, 자가면역 용혈 빈혈, 자가면역 간염, 자가면역 내이 질환(AIED), 자가면역 림프세포종식 증후군(ALPS), 자가면역 난소염, 발로병, 베체트병, 물질 유사천포창, 심근병증, 샤가스병, 만성 피로 면역 기능이상 증후군(CFIDS), 만성 염증성 탈수초성 다발성 신경병증, 크론병, 반흔성 유사천포창, 복강 스프루-포진성 피부염, 저온응집병, CREST 증후군, Degos병, 원반모양 루푸스, 자율신경 기능이상, 자궁 내막증, 본태성 혼합 한랭 글로불린혈증, 섬유근통-섬유근염, 굿파스처 증후군, 그레이브스병, 길랭-바레 증후군(GBS), 하시모토 갑상선염, 화농땀샘염, 특발성 및/또는 급성 혈소판감소성 자반병, 특발성 폐섬유증, IgA 신경병증, 간질성 방광염, 소아 관절염, 가와사키병, 편평태선, 라임병, 메니에르병, 혼합결합조직병(MCTD), 중증 근무력증, 신경근긴장증, 안구간대경련-근간대경련 증후군(OMS), 시신경염, 오프 갑상선염, 보통 천포창, 악성 빈혈, 다발연골염, 다발성 근염 및 피부근염, 원발성 췌장관 간경화증, 결절다발동맥염, 다분비선 증후군, 류마티스 다발근육통증, 원발성 무감마글로불린혈증, 레이노 현상, 라이터 증후군, 류마티스성 열, 사르코이드증, 공피증, 쇼그렌 증후군, 강직 인간 증후군, 타카야수 동맥염, 관자 동맥염("거대 세포 동맥염"으로도 공지됨), 궤양성 대장염, 포도막염, 맥관염, 백반증, 외음부 통증("음문 전정염"), 및 베게너 육아종증일 수 있다.

[0200] 따라서, 임의의 상기 양태의 일부 구체예에서, 본 발명은 겸상 적혈구 빈혈, 지중해 빈혈, 판코니 빈혈, 재생불량 빈혈, 및 위스코트-알드리치 증후군과 같은 혈색소병증 장애를 치료하는 방법을 특징으로 한다. 일부 구체예에서, 본 발명은 선천성 면역결핍 장애 또는 후천성 면역결핍 장애(예를 들어, 인간 면역결핍 바이러스 또는 후천성 면역결핍 증후군)와 같은 면역결핍 장애를 치료하는 방법을 특징으로 한다. 일부 구체예에서, 본 발명은 글리코겐 축적병, 뮤코다당질축적증, 고체병, 후를러병, 스펅고지질증, 및 이염색백색질 장애와 같은 대사 장애를 치료하는 방법을 특징으로 한다. 일부 구체예에서, 본 발명은 아데노신 데아미나제 결핍증 및 중증 복합형 면역결핍증, 고면역글로불린 M 증후군, 체디아-히가시 질병, 유전성 림프조직구증, 골석화증, 골형성 부전증, 축적병, 중증성 지중해 빈혈, 전신 경화증, 전신 홍반 루푸스, 및 소아 류마티스 관절염으로 구성된 군으로부터 선택된 장애를 치료하는 방법을 특징으로 한다. 일부 구체예에서, 본 발명은 공피증, 다발성 경화증, 궤양성 대장염, 크론병, 및 타입 1 당뇨병과 같은 자가면역 질환을 치료하는 방법을 특징으로 한다. 일부 구체예에서, 본 발명은 암 또는 골수증식 질병, 예를 들어, 혈액학적 암을 치료하는 방법을 특징으로 한다. 일부 구체예에서, 본 발명은 급성 골수 백혈병, 급성 림프 백혈병, 만성 골수 백혈병, 만성 림프 백혈병, 다발성 골수종, 광범위 큰 B-세포 림프종, 또는 비호지킨 림프종을 치료하는 방법을 특징으로 한다. 일부 구체예에서, 환자는 골수형성 이상 질병, 예를 들어, 골수형성이상 증후군으로 고통받는다. 이러한 구체예에서, 방법은 환자에게 CD2에 결합하는 항체, 또는 이의 항원-결합 단편, 또는 이의 컨쥬게이트, 예를 들어, 본 발명의 임의의 양태 또는 구체예의 항체, 이의 항원-결합 단편, 또는 이의 컨쥬게이트를 투여하는 단계를 포함할 수 있다. 방법은, 예를 들어, 본 발명의 임의의 양태 또는 구체예의 방법에 따라 조혈 줄기 세포 이식물을 환자에게 투여하는 단계를 추가로 포함할 수 있다.

[0201] 유사하게, 임의의 상기 양태의 일부 구체예에서, 본 발명은 암, 예를 들어, CD2+ 세포를 특징으로 하는 암(예를 들어, CD2+ 세포를 특징으로 하는 백혈병)을 직접 치료하는 방법을 제공한다. 이러한 구체예에서, 방법은 환자에게 본원에 기재된 것들과 같은 CD2에 결합하는 항체, 이의 항원-결합 단편, 또는 이의 컨쥬게이트를 투여하는 단계를 포함할 수 있다. 암은 급성 골수 백혈병, 급성 림프 백혈병, 만성 골수 백혈병, 만성 림프 백혈병, 다발성 골수종, 광범위 큰 B-세포 림프종, 또는 비호지킨 림프종과 같은 혈액학적 암일 수 있다.

[0202] 또한, 임의의 상기 양태의 일부 구체예에서, 본 발명은 자가면역 질환, 예를 들어, MS, SLE, RA, IBD, 건선, 타입 1 당뇨병, ADEM, 애디슨병, 전신 탈모증, 강직성 척추염, APS, 재생불량 빈혈, 자가면역 용혈 빈혈, 자가면역 간염, AIED, ALPS, 자가면역 난소염, 발로병, 베체트병, 물질 유사천포창, 심근병증, 샤가스병, CFIDS, 만성 염증성 탈수초성 다발성 신경병증, 크론병, 반흔성 유사천포창, 복강 스프루-포진성 피부염, 저온응집병, CREST 증후군, Degos병, 원반모양 루푸스, 자율신경 기능이상, 자궁 내막증, 본태성 혼합 한랭 글로불린혈증, 섬유근통-섬유근염, 굿파스처 증후군, 그레이브스병, GBS, 하시모토 갑상선염, 화농땀샘염, 특발성 및/또는 급성 혈소

관감소성 자반병, 특발성 폐섬유증, IgA 신경병증, 간질성 방광염, 소아 관절염, 가와사키병, 편평태선, 라임병, 메니에르병, MCTD, 중증 근무력증, 신경근긴장증, OMS, 시신경염, 오드 갑상선염, 보통 천포창, 악성 빈혈, 다발연골염, 다발성 근염 및 피부근염, 원발성 쓸개관 간경화증, 결절다발동맥염, 다분비선 증후군, 류마티스 다발근육통증, 원발성 무감마글로불린혈증, 레이노 현상, 라이터 증후군, 류마티스성 열, 사르코이드증, 공피증, 쇼그렌 증후군, 강직 인간 증후군, 타카야수 동맥염, 관자 동맥염("거대 세포 동맥염"으로도 공지됨), 폐양성 대장염, 포도막염, 맥관염, 백반증, 외음부 통증("음문 전정염"), 및 베게너 육아종증을 치료하는 방법을 제공한다. 이러한 구체예에서, 방법은 환자에게 본원에 기재된 것들과 같은 CD2에 결합하는 항체, 이의 항원-결합 단편, 또는 이의 컨주게이트를 투여하는 단계를 포함할 수 있다.

[0203] 다른 양태에서, 본원에 개시된 조성물 및 방법은 CD2에 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 특징으로 하며, 여기서 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 독소에 컨주게이션된다. 일부 구체예에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 하이브리도마 세포주 ATCC HB 11423에 의해 생산된다. 일부 구체예에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 하이브리도마 세포주 ATCC HB 11423에 의해 생산된 항체 또는 이의 항원-결합 단편에 대한 CD2의 결합을 경쟁적으로 억제한다. 일부 구체예에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 다음 CDR을 포함한다:

[0204] 아미노산 서열 EYYMY(SEQ ID NO: 1)를 갖는 CDR-H1;

[0205] 아미노산 서열 RIDPEDGSIDYVEKFKK(SEQ ID NO: 2)를 갖는 CDR-H2;

[0206] 아미노산 서열 GKFNYRFAY(SEQ ID NO: 3)를 갖는 CDR-H3;

[0207] 아미노산 서열 RSSQSLHSSGNTYLN(SEQ ID NO: 4)를 갖는 CDR-L1;

[0208] 아미노산 서열 LVSKLES(SEQ ID NO: 5)를 갖는 CDR-L2; 및

[0209] 아미노산 서열 MQFTHYPYT(SEQ ID NO: 6)를 갖는 CDR-L3.

[0210] 일부 구체예에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 다음 CDR을 포함하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편에 대한 CD2의 결합을 경쟁적으로 억제한다:

[0211] 아미노산 서열 EYYMY(SEQ ID NO: 1)를 갖는 CDR-H1;

[0212] 아미노산 서열 RIDPEDGSIDYVEKFKK(SEQ ID NO: 2)를 갖는 CDR-H2;

[0213] 아미노산 서열 GKFNYRFAY(SEQ ID NO: 3)를 갖는 CDR-H3;

[0214] 아미노산 서열 RSSQSLHSSGNTYLN(SEQ ID NO: 4)를 갖는 CDR-L1;

[0215] 아미노산 서열 LVSKLES(SEQ ID NO: 5)를 갖는 CDR-L2; 및

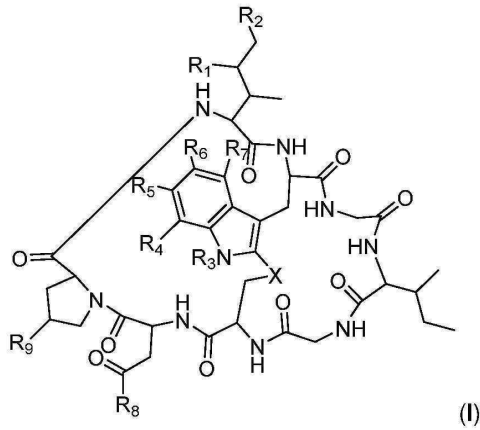
[0216] 아미노산 서열 MQFTHYPYT(SEQ ID NO: 6)를 갖는 CDR-L3.

[0217] 일부 구체예에서, 독소에 컨주게이션된 항-CD2 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 모노클로날 항체, 폴리클로날 항체, 인간화 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 이중특이적 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 이중-가변 면역글로불린 도메인, scFv, 디아바디, 트리아바디, 나노바디, 항체-유사 단백질 스캐폴드, Fv 단편, Fab 단편, F(ab')₂ 분자, 및 탠덤 디-scFv로 구성된 군으로부터 선택된다.

[0218] 일부 구체예에서, 항-CD2 항체는 IgG, IgA, IgM, IgD, 및 IgE로 구성된 군으로부터 선택된 아이소형을 갖는다.

[0219] 일부 구체예에서, 세포독소에 컨주게이션된 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 화학식 Ab-Cy로 표현되며, 여기서 Ab는 항-CD2 항체 또는 이의 항원-결합 단편이고, Cy는 세포독소이다. 일부 구체예에서, 세포독소는 아마톡신, 슈도모나스 외독소 A, 테부가닌, 디프테리아 독소, 사포린, 메이탄신, 메이탄시노이드, 아우리스타틴, 안트라사이클린, 칼리케아미신, 이리노테칸, SN-38, 듀오카마이신, 피롤로벤조디아제핀, 피롤로벤조디아제핀 이량체, 인돌리노벤조디아제핀, 및 인돌리노벤조디아제핀 이량체, 또는 이의 변이체로 구성된 군으로부터 선택된다.

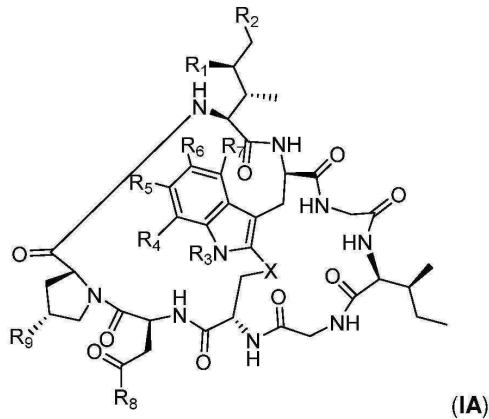
[0220] 일부 구체예에서, 세포독소는 아마톡신 또는 이의 유도체, 예를 들어, α-아마니틴, β-아마니틴, γ-아마니틴, ε-아마니틴, 아마닌, 아마닌아미드, 아마놀린, 아마놀린산, 및 프로아마놀린이다. 일부 구체예에서, 세포독소는 아마톡신이고, 세포독소에 컨주게이션된 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 화학식 Ab-Z-L-Am으로 표현되며, 여기서 Ab는 항체 또는 이의 항원-결합 단편이고, Z는 화학적 모이어티이고, L은 링커이고, Am은 아마톡신이다. 일부 구체예에서, Am-L-Z는 하기 화학식 (I)로 표현된다:



- [0221]
- [0222] 상기 식에서, R₁은 H, OH, OR_A, 또는 OR_C이고;
- [0223] R₂는 H, OH, OR_B, 또는 OR_C이고;
- [0224] R_A 및 R_B는 존재하는 경우 이들이 결합된 산소 원자와 함께 조합되어 임의로 치환된 5원 헤테로사이클로알킬 기를 형성하고;
- [0225] R₃은 H, R_C, 또는 R_D이고;
- [0226] R₄는 H, OH, OR_C, OR_D, R_C, 또는 R_D이고;
- [0227] R₅는 H, OH, OR_C, OR_D, R_C, 또는 R_D이고;
- [0228] R₆은 H, OH, OR_C, OR_D, R_C, 또는 R_D이고;
- [0229] R₇은 H, OH, OR_C, OR_D, R_C, 또는 R_D이고;
- [0230] R₈은 OH, NH₂, OR_C, OR_D, NHR_C, 또는 NR_CR_D이고;
- [0231] R₉는 H, OH, OR_C, 또는 OR_D이고;
- [0232] X는 -S-, -S(O)-, 또는 -SO₂-이고;
- [0233] R_C는 -L-Z이고;
- [0234] R_D는 임의로 치환된 알킬(예를 들어, C₁-C₆ 알킬), 임의로 치환된 헤테로알킬(예를 들어, C₁-C₆ 헤테로알킬), 임의로 치환된 알케닐(예를 들어, C₂-C₆ 알케닐), 임의로 치환된 헤테로알케닐(예를 들어, C₂-C₆ 헤테로알케닐), 임의로 치환된 알키닐(예를 들어, C₂-C₆ 알키닐), 임의로 치환된 헤테로알키닐(예를 들어, C₂-C₆ 헤테로알키닐), 임의로 치환된 사이클로알킬, 임의로 치환된 헤테로사이클로알킬, 임의로 치환된 아릴, 또는 임의로 치환된 헤테로아릴이고;
- [0235] L은 링커, 예를 들어, 임의로 치환된 알킬렌(예를 들어, C₁-C₆ 알킬렌), 임의로 치환된 헤테로알킬렌(C₁-C₆ 헤테로알킬렌), 임의로 치환된 알케닐렌(예를 들어, C₂-C₆ 알케닐렌), 임의로 치환된 헤테로알케닐렌(예를 들어, C₂-C₆ 헤테로알케닐렌), 임의로 치환된 알키닐렌(예를 들어, C₂-C₆ 알키닐렌), 임의로 치환된 헤테로알키닐렌(예를 들어, C₂-C₆ 헤테로알키닐렌), 임의로 치환된 사이클로알킬렌, 임의로 치환된 헤테로사이클로알킬렌, 임의로 치환된 아릴렌, 또는 임의로 치환된 헤테로아릴렌, 디펩티드, -(C=O)-, 펩티드, 또는 이의 조합이고;
- [0236] Z는 L 상에 존재하는 반응성 치환기와, 예를 들어, CD2+ T 세포 또는 CD2+ NK 세포의 표면 상에서 CD2에 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편 내에 존재하는 반응성 치환기 사이의 커플링 반응으로부터 형성된 화학적 모이어티이다.

[0237] 일부 구체예에서, Am은 정확히 하나의 R_C 치환기를 포함한다.

[0238] 일부 구체예에서, Am-L-Z는 하기 화학식 (IA)로 표현된다:



[0239]

[0240] 상기 식에서, R₁은 H, OH, OR_A, 또는 OR_C이고;

[0241] R₂는 H, OH, OR_B, 또는 OR_C이고;

[0242] R_A 및 R_B는 존재하는 경우 이들이 결합된 산소 원자와 함께 조합되어 임의로 치환된 5원 헤테로사이클로알킬 기를 형성하고;

[0243] R₃은 H, R_C, 또는 R_D이고;

[0244] R₄는 H, OH, OR_C, OR_D, R_C, 또는 R_D이고;

[0245] R₅는 H, OH, OR_C, OR_D, R_C, 또는 R_D이고;

[0246] R₆은 H, OH, OR_C, OR_D, R_C, 또는 R_D이고;

[0247] R₇은 H, OH, OR_C, OR_D, R_C, 또는 R_D이고;

[0248] R₈은 OH, NH₂, OR_C, OR_D, NHR_C, 또는 NR_CR_D이고;

[0249] R₉는 H, OH, OR_C, 또는 OR_D이고;

[0250] X는 -S-, -S(O)-, 또는 -SO₂-이고;

[0251] R_C는 -L-Z이고;

[0252] R_D는 임의로 치환된 알킬(예를 들어, C₁-C₆ 알킬), 임의로 치환된 헤테로알킬(예를 들어, C₁-C₆ 헤테로알킬), 임의로 치환된 알케닐(예를 들어, C₂-C₆ 알케닐), 임의로 치환된 헤테로알케닐(예를 들어, C₂-C₆ 헤테로알케닐), 임의로 치환된 알키닐(예를 들어, C₂-C₆ 알키닐), 임의로 치환된 헤테로알키닐(예를 들어, C₂-C₆ 헤테로알키닐), 임의로 치환된 사이클로알킬, 임의로 치환된 헤테로사이클로알킬, 임의로 치환된 아릴, 또는 임의로 치환된 헤테로아릴이고;

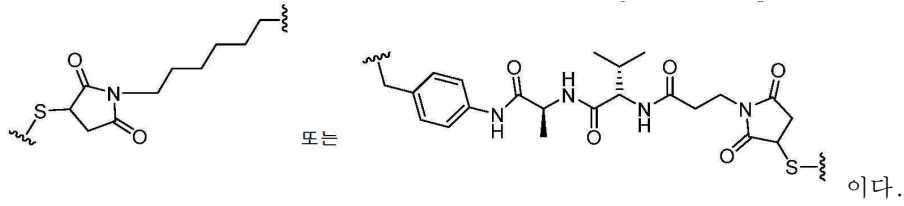
[0253] L은 링커, 예를 들어, 임의로 치환된 알킬렌(예를 들어, C₁-C₆ 알킬렌), 임의로 치환된 헤테로알킬렌(C₁-C₆ 헤테로알킬렌), 임의로 치환된 알케닐렌(예를 들어, C₂-C₆ 알케닐렌), 임의로 치환된 헤테로알케닐렌(예를 들어, C₂-C₆ 헤테로알케닐렌), 임의로 치환된 알키닐렌(예를 들어, C₂-C₆ 알키닐렌), 임의로 치환된 헤테로알키닐렌(예를 들어, C₂-C₆ 헤테로알키닐렌), 임의로 치환된 사이클로알킬렌, 임의로 치환된 헤테로사이클로알킬렌, 임의로 치환된 아릴렌, 임의로 치환된 헤테로아릴렌, 디펩티드, -(C=O)-, 펩티드, 또는 이의 조합이고;

[0254] Z는 L 상에 존재하는 반응성 치환기와, 예를 들어, CD2+ T 세포 또는 CD2+ NK 세포의 표면 상에서 CD2에 결합하

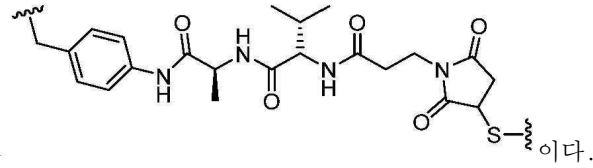
는 항체 또는 이의 항원-결합 단편 내에 존재하는 반응성 치환기 사이의 커플링 반응으로부터 형성된 화학적 모이어티이고;

[0255] 여기서 Am은 정확히 하나의 R_C 치환기를 포함한다.

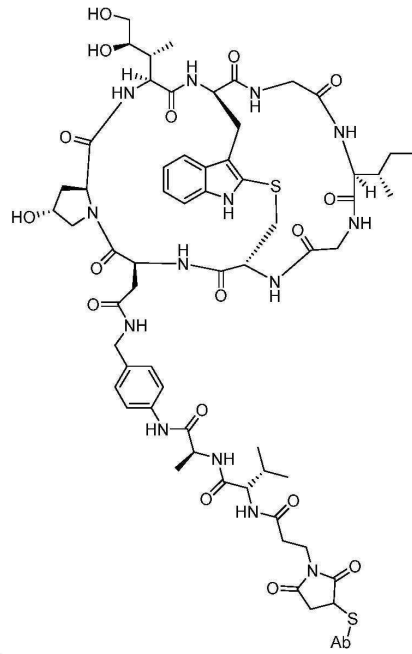
[0256] 일부 구체예에서, 링커 L 및 화학적 모이어티 Z는 L-Z로서 함께 취해져서

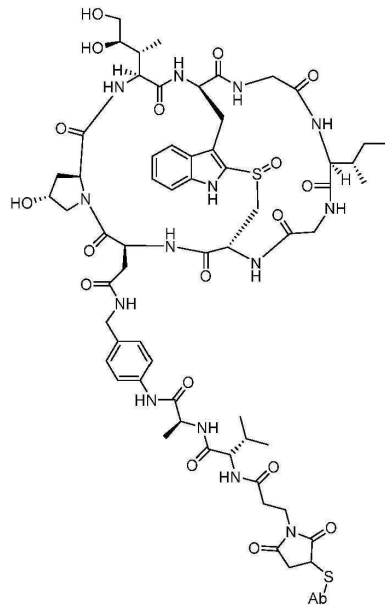


[0257] 일부 구체예에서, L-Z는



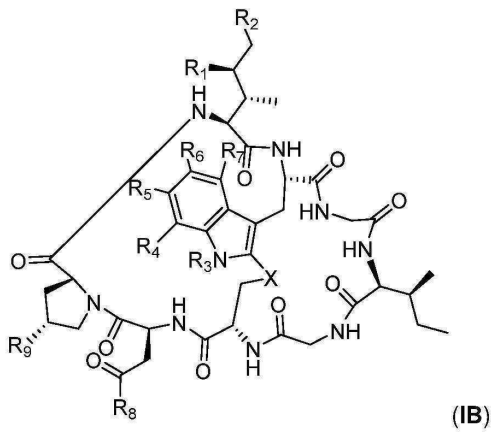
[0258] 일부 구체예에서, Am-L-Z-Ab는





[0259] 일부 구체예에서, Am-L-Z-Ab는 이다.

[0260] 일부 구체예에서, Am-L-Z는 하기 화학식 (IB)로 표현된다:



[0261]

[0262] 상기 식에서, R₁은 H, OH, OR_A, 또는 OR_C이고;

[0263] R₂는 H, OH, OR_B, 또는 OR_C이고;

[0264] R_A 및 R_B는 존재하는 경우 이들이 결합된 산소 원자와 함께 조합되어 임의로 치환된 5원 헤테로사이클로알킬 기를 형성하고;

[0265] R₃은 H, R_C, 또는 R_D이고;

[0266] R₄는 H, OH, OR_C, OR_D, R_C, 또는 R_D이고;

[0267] R₅는 H, OH, OR_C, OR_D, R_C, 또는 R_D이고;

[0268] R₆은 H, OH, OR_C, OR_D, R_C, 또는 R_D이고;

[0269] R₇은 H, OH, OR_C, OR_D, R_C, 또는 R_D이고;

[0270] R₈은 OH, NH₂, OR_C, OR_D, NHR_C, 또는 NR_CR_D이고;

[0271] R₉는 H, OH, OR_C, 또는 OR_D이고;

[0272] X는 -S-, -S(O)-, 또는 -SO₂-이고;

[0273] R_C 는 $-L-Z$ 이고;

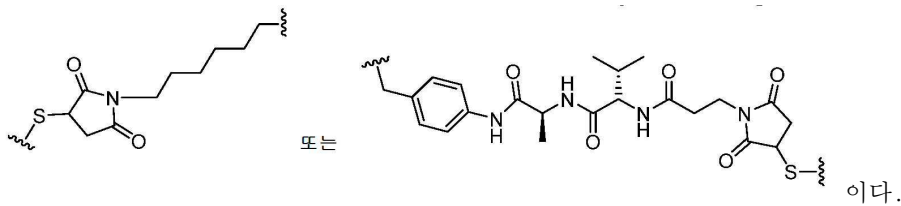
[0274] R_D 는 임의로 치환된 알킬(예를 들어, C_1-C_6 알킬), 임의로 치환된 헤테로알킬(예를 들어, C_1-C_6 헤테로알킬), 임의로 치환된 알케닐(예를 들어, C_2-C_6 알케닐), 임의로 치환된 헤테로알케닐(예를 들어, C_2-C_6 헤테로알케닐), 임의로 치환된 알키닐(예를 들어, C_2-C_6 알키닐), 임의로 치환된 헤테로알키닐(예를 들어, C_2-C_6 헤테로알키닐), 임의로 치환된 사이클로알킬, 임의로 치환된 헤테로사이클로알킬, 임의로 치환된 아릴, 또는 임의로 치환된 헤테로아릴이고;

[0275] L 은 링커, 예를 들어, 임의로 치환된 알킬렌(예를 들어, C_1-C_6 알킬렌), 임의로 치환된 헤테로알킬렌(C_1-C_6 헤테로알킬렌), 임의로 치환된 알케닐렌(예를 들어, C_2-C_6 알케닐렌), 임의로 치환된 헤테로알케닐렌(예를 들어, C_2-C_6 헤테로알케닐렌), 임의로 치환된 알키닐렌(예를 들어, C_2-C_6 알키닐렌), 임의로 치환된 헤테로알키닐렌(예를 들어, C_2-C_6 헤테로알키닐렌), 임의로 치환된 사이클로알킬렌, 임의로 치환된 헤테로사이클로알킬렌, 임의로 치환된 아릴렌, 임의로 치환된 헤테로아릴렌, 디펩티드, $-(C=O)-$, 펩티드, 또는 이의 조합이고;

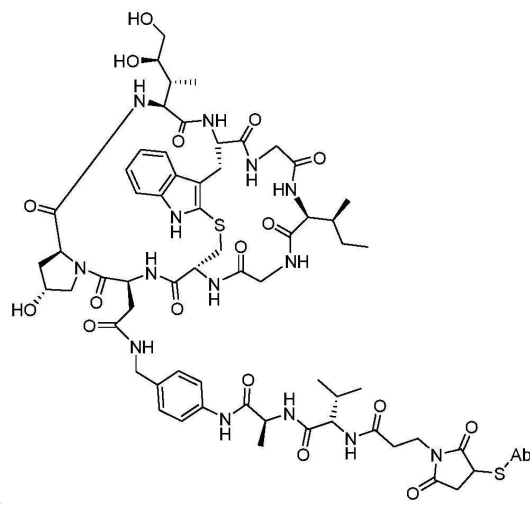
[0276] Z 는 L 상에 존재하는 반응성 치환기와, 예를 들어, CD2+ T 세포 또는 CD2+ NK 세포의 표면 상에서 CD2에 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편 내에 존재하는 반응성 치환기 사이의 커플링 반응으로부터 형성된 화학적 모이어티이고;

[0277] 여기서 Am 은 정확히 하나의 R_C 치환기를 포함한다.

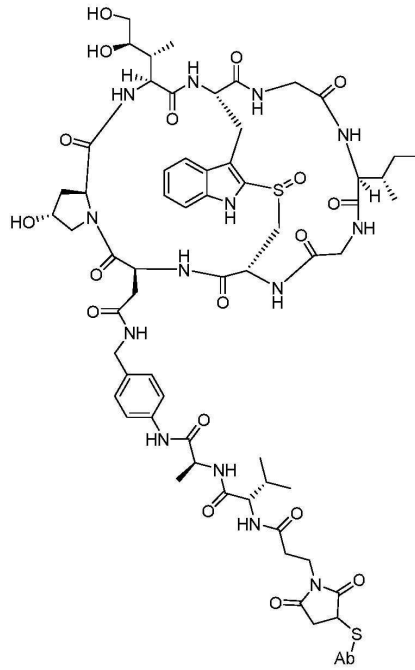
[0278] 일부 구체예에서, 링커 L 및 화학적 모이어티 Z 는 $L-Z$ 로서 함께 취해져서



[0279] 일부 구체예에서, $L-Z$ 는

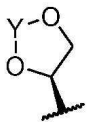


[0280] 일부 구체예에서, $Am-L-Z-Ab$ 는



[0281] 일부 구체예에서, Am-L-Z-Ab는 이다.

[0282] 일부 구체예에서, R_A 및 R_B 는 이들이 결합된 산소 원자와 함께 조합되어 하기 화학식의 5원 헤테로사이클로알킬기를 형성한다:



[0283]

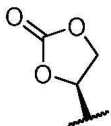
[0284] 상기 식에서, Y는 $-C(=O)-$, $-C(=S)-$, $-C(=NR_E)-$, 또는 $-C(R_E R_{E'})-$ 이고;

[0285] R_E 및 $R_{E'}$ 는 각각 독립적으로 임의로 치환된 C_1-C_6 알킬렌- R_C , 임의로 치환된 C_1-C_6 헤테로알킬렌- R_C , 임의로 치환된 C_2-C_6 알케닐렌- R_C , 임의로 치환된 C_2-C_6 헤테로알케닐렌- R_C , 임의로 치환된 C_2-C_6 알키닐렌- R_C , 임의로 치환된 C_2-C_6 헤테로알키닐렌- R_C , 임의로 치환된 사이클로알킬렌- R_C , 임의로 치환된 헤테로사이클로알킬렌- R_C , 임의로 치환된 아릴렌- R_C , 또는 임의로 치환된 헤테로아릴렌- R_C 이다.

[0286] 일부 구체예에서, Am-L-Z는 화학식 (IA) 또는 화학식 (IB)로 표현되며, 여기서 R_1 은 H, OH, OR_A , 또는 OR_C 이고;

[0287] R_2 는 H, OH, OR_B , 또는 OR_C 이고;

[0288] R_A 및 R_B 는 이들이 결합된 산소 원자와 함께 조합되어 다음을 형성하고:



[0289]

[0290] R_3 은 H 또는 R_C 이고;

[0291] R_4 는 H, OH, OR_C , OR_D , R_C , 또는 R_D 이고;

[0292] R_5 는 H, OH, OR_C , OR_D , R_C , 또는 R_D 이고;

[0293] R_6 은 H, OH, OR_C , OR_D , R_C , 또는 R_D 이고;

[0294] R_7 은 H, OH, OR_C , OR_D , R_C , 또는 R_D 이고;

[0295] R_8 은 OH, NH_2 , OR_C , 또는 NHR_C 이고;

[0296] R_9 는 H 또는 OH이고;

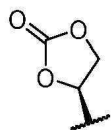
[0297] 여기서 X, R_C 및 R_D 는 각각 상기 정의된 바와 같다.

[0298] 일부 구체예에서, Am-L-Z는 화학식 (IA) 또는 화학식 (IB)로 표현되며,

[0299] 여기서, R_1 은 H, OH, OR_A , 또는 OR_C 이고;

[0300] R_2 는 H, OH, OR_B , 또는 OR_C 이고;

[0301] R_A 및 R_B 는 이들이 결합된 산소 원자와 함께 조합되어 다음을 형성하고:



[0302]

[0303] R_3 은 H 또는 R_C 이고;

[0304] R_4 및 R_5 는 각각 독립적으로 H, OH, OR_C , R_C , 또는 OR_D 이고;

[0305] R_6 및 R_7 은 각각 H이고;

[0306] R_8 은 OH, NH_2 , OR_C , 또는 NHR_C 이고;

[0307] R_9 는 H 또는 OH이고;

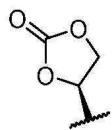
[0308] 여기서 X 및 R_C 는 상기 정의된 바와 같다.

[0309] 일부 구체예에서, Am은 화학식 (IA) 또는 화학식 (IB)로 표현되며,

[0310] 여기서, R_1 은 H, OH, 또는 OR_A 이고;

[0311] R_2 는 H, OH, 또는 OR_B 이고;

[0312] R_A 및 R_B 는 이들이 결합된 산소 원자와 함께 조합되어 다음을 형성하고:



[0313]

[0314] R_3 , R_4 , R_6 , 및 R_7 은 각각 H이고;

[0315] R_5 는 OR_C 이고;

[0316] R_8 은 OH 또는 NH_2 이고;

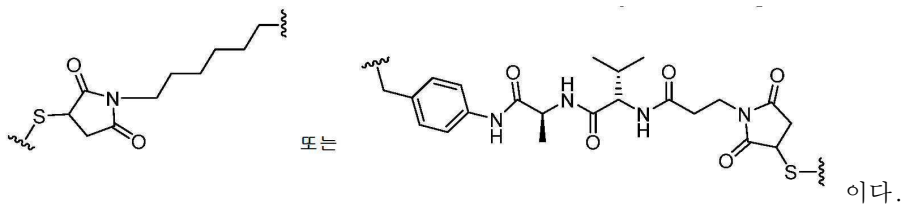
[0317] R_9 는 H 또는 OH이고;

[0318] 여기서 X 및 R_C 는 상기 정의된 바와 같다.

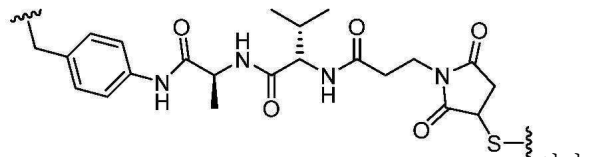
[0319] 일부 구체예에서, Am-L-Z는 화학식 (IA) 또는 화학식 (IB)로 표현되며,

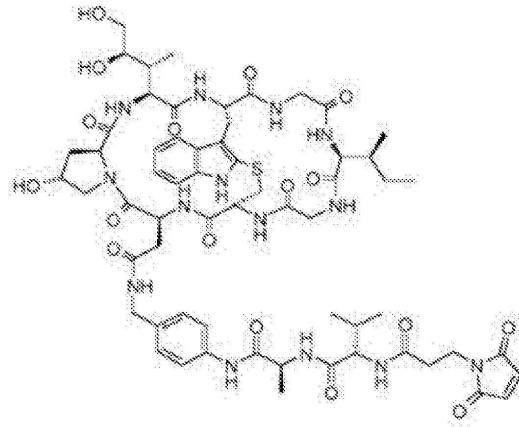
[0320] 여기서, R_1 및 R_2 는 각각 독립적으로 H 또는 OH이고;

- [0321] R_3 은 R_C 이고;
- [0322] R_4 , R_6 , 및 R_7 은 각각 H이고;
- [0323] R_5 는 H, OH, 또는 OC_1-C_6 알킬이고;
- [0324] R_8 은 OH 또는 NH_2 이고;
- [0325] R_9 는 H 또는 OH이고;
- [0326] 여기서 X 및 R_C 는 상기 정의된 바와 같다.
- [0327] 일부 구체예에서, Am-L-Z는 화학식 (IA) 또는 화학식 (IB)로 표현되며,
- [0328] 여기서, R_1 및 R_2 는 각각 독립적으로 H 또는 OH이고;
- [0329] R_3 , R_6 , 및 R_7 은 각각 H이고;
- [0330] R_4 및 R_5 는 각각 독립적으로 H, OH, OR_C , 또는 R_C 이고;
- [0331] R_8 은 OH 또는 NH_2 이고;
- [0332] R_9 는 H 또는 OH이고;
- [0333] 여기서 X 및 R_C 는 상기 정의된 바와 같다.
- [0334] 일부 구체예에서, Am-L-Z는 화학식 (IA) 또는 화학식 (IB)로 표현되며,
- [0335] 여기서, R_1 및 R_2 는 각각 독립적으로 H 또는 OH이고;
- [0336] R_3 , R_6 , 및 R_7 은 각각 H이고;
- [0337] R_4 및 R_5 는 각각 독립적으로 H 또는 OH이고;
- [0338] R_8 은 OH, NH_2 , OR_C , 또는 NHR_C 이고;
- [0339] R_9 는 H 또는 OH이고;
- [0340] 여기서 X 및 R_C 는 상기 정의된 바와 같다.
- [0341] 일부 구체예에서, 링커 L 및 화학적 모이어티 Z는 L-Z로서 함께 취해져서



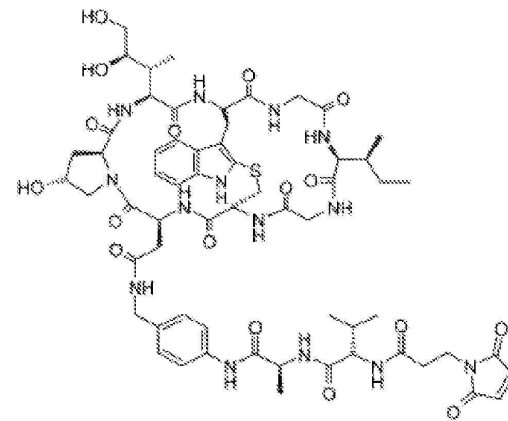
- [0342] 일부 구체예에서, L-Z는





[0343] 일부 구체예에서, Am-L-Z 전구체는 이다.

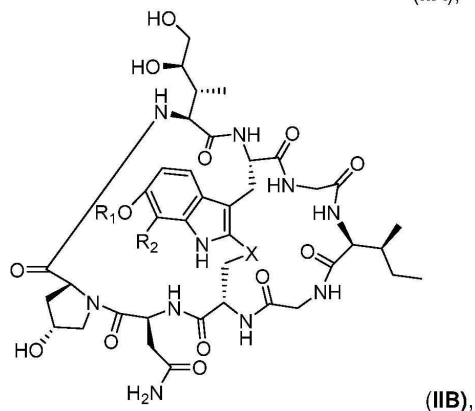
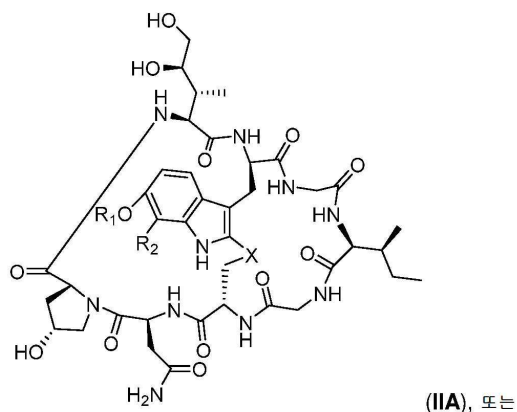
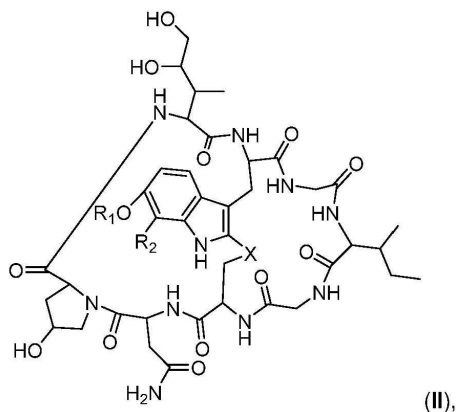
[0344] 상기 식에서, 말레이미드는 항체의 시스테인 상에서 발견된 티올 기와 반응한다.



[0345] 일부 구체예에서, Am-L-Z 전구체는 이다.

[0346] 상기 식에서, 말레이미드는 항체의 시스테인 상에서 발견된 티올 기와 반응한다.

[0347] 일부 구체예에서, Am-L-Z는 하기 화학식 (II), 화학식 (IIA), 또는 화학식 (IIB)로 표현된다:

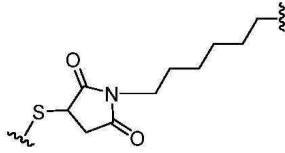


[0348]

[0349] 상기 식에서, X는 S, SO, 또는 SO₂이고; R₁은 H 또는 링커 상에 존재하는 반응성 치환기와 항체 또는 이의 항원-결합 단편 내에 존재하는 반응성 치환기 사이의 커플링 반응으로부터 형성된 화학적 모이어티 Z를 통해 항체 또는 이의 항원-결합 단편에 공유적으로 결합된 링커이고; R₂는 H 또는 링커 상에 존재하는 반응성 치환기와 항체 또는 이의 항원-결합 단편 내에 존재하는 반응성 치환기 사이의 커플링 반응으로부터 형성된 화학적 모이어티 Z를 통해 항체 또는 이의 항원-결합 단편에 공유적으로 결합된 링커이고; 여기서 R₁이 H인 경우, R₂는 링커이고, R₂가 H인 경우, R₁은 링커이다.

[0350] 일부 구체예에서, 링커는 -(CH)_{2n}- 단위를 포함하며, 여기서 n은 2-6의 정수이다.

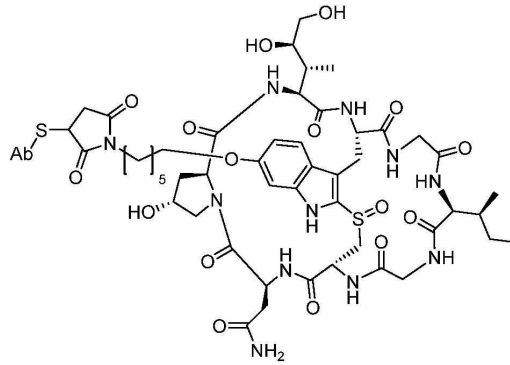
[0351] 일부 구체예에서, R₁은 링커이고 R₂는 H이며, 링커 및 화학적 모이어티는 L-Z로서 함께



이다.

[0352]

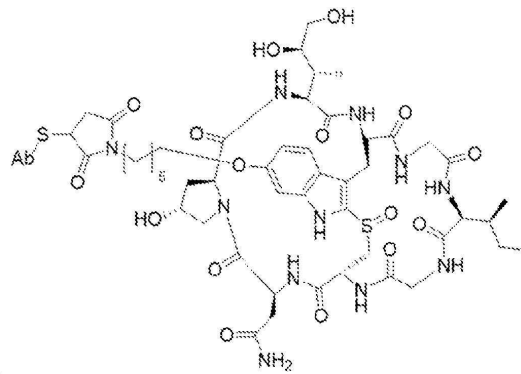
일부 구체예에서, Ab-Z-L-Am은



이다.

[0353]

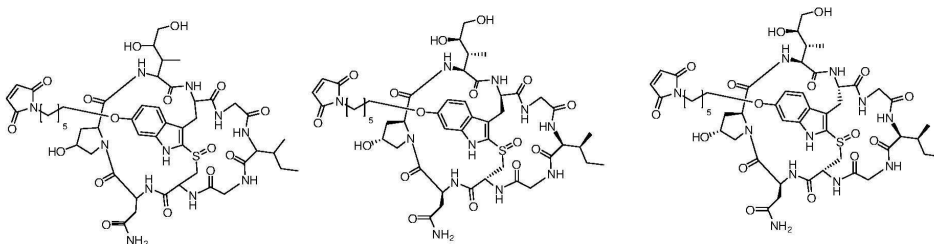
일부 구체예에서, Ab-Z-L-Am은



이다.

[0354]

일부 구체예에서, Am-L-Z 전구체는 다음 중 하나이다:



[0355]

[0356]

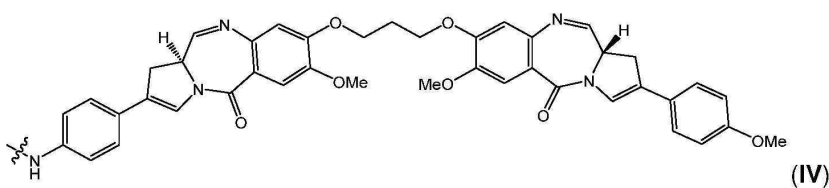
상기 식에서, 말레이미드는 항체의 시스테인 상에서 발견된 티올 기와 반응한다.

[0357]

일부 구체예에서, 세포독소는 DM1 및 DM4로 구성된 군으로부터 선택된 메이탄시노이드이다. 일부 구체예에서, 세포독소는 모노메틸 아우리스타틴 E 및 모노메틸 아우리스타틴 F로 구성된 군으로부터 선택된 아우리스타틴이다. 일부 구체예에서, 세포독소는 다우노루비신, 독소루비신, 에피루비신, 및 이다루비신으로 구성된 군으로부터 선택된 안트라사이클린이다.

[0358]

일부 구체예에서, 세포독소는 하기 화학식 (IV)로 표현되는 피롤로벤조디아제핀 이량체이다:



[0359]

[0360]

일부 구체예에서, 세포독소는 말레이미도카프로일 링커를 통해 항체 또는 이의 항원-결합 단편에 컨쥬게이션된

다.

- [0361] 일부 구체예에서, 세포독소는 모노메틸 아우리스타틴 E 및 모노메틸 아우리스타틴 F로 구성된 군으로부터 선택된 아우리스타틴이다.
- [0362] 일부 구체예에서, 세포독소는 다우노루비신, 독소루비신, 에피루비신, 및 이다루비신으로 구성된 군으로부터 선택된 안트라사이클린이다.
- [0363] 다른 양태에서, 본 발명은 본 발명의 임의의 상기 양태 또는 구체예의 항체 또는 이의 항원-결합 단편 및 약학적으로 허용되는 부형제를 포함하는 약학적 조성물을 특징으로 한다.
- [0364] 일부 구체예에서, 약학적 조성물은 인간 환자에게 경피, 피하, 비내, 정맥내, 근육내, 안내, 종양내, 비경구, 국소, 경막내 또는 뇌실내 투여용으로 제형화된다.

도면의 간단한 설명

[0365] 도면의 간단한 설명

도 1은 표시된 항-CD2 항체 또는 음성 대조군(즉, mIgG1) 각각을 MOLT-4 세포(즉, 인간 T 림프모구 세포주)와 인큐베이션한 다음 형광단-컨쥬게이션된 항-IgG 항체를 인큐베이션한 시험관내 세포주 결합 검정의 결과를 그래프로 도시한다. 신호는 유세포분석을 통해 검출되었고 기하 평균 형광 강도(y-축)로서 항-CD2 항체 농도(x-축)의 함수로서 표시된다.

도 2는 표시된 항-CD2 항체(RPA-2.10) 또는 음성 대조군(즉, mIgG1)을 일차 인간 T-세포와 인큐베이션한 다음 형광단-컨쥬게이션된 항-IgG 항체를 인큐베이션한 시험관내 일차 세포 결합 검정의 결과를 그래프로 도시한다. 신호는 유세포분석을 통해 검출되었고 기하 평균 형광 강도(y-축)로서 항-CD2 항체 농도(x-축)의 함수로서 표시된다.

도 3a 및 3b는 평균 약물-대-항체 비율이 6인 사슬간 컨쥬게이션된 아마니틴(도 3a) 또는 부위-특이적 컨쥬게이션된 아마니틴 약물-대-항체 비율 2(도 3b)를 갖는 항-CD2-아마니틴 ADC(즉, RPA-2.10-AM 또는 "CD2 AM")을 포함하는 시험관내 T 세포 사멸 검정의 결과를 그래프로 도시한다. 도 3a에서, 항-CD2-ADC T-세포 사멸 분석은 컨쥬게이션되지 않은 항-CD2 항체(즉, "CD2 네이키드")와 비교하여 도시된다. 도 3b에서, 항-CD2 항체 결과는 항체의 반감기를 감소시키는 H435A 돌연변이를 갖는 항-CD2 항체와 비교하여 도시된다. 결과는 유세포분석을 사용하여 평가시 ADC(CD2 RPA-2.10 AM, CD2 D265C.H435A AM) 또는 컨쥬게이션되지 않은 항체(CD2 RPA-2.10) 농도(x-축)의 함수로서 생육성 T-세포의 수(y-축)를 나타낸다.

도 4는 약물-대-항체 비율이 6인 사슬간 컨쥬게이션된 아마니틴을 갖는 항-CD2-아마니틴 ADC(즉, RPA-2.10-AM 또는 "CD2 AM")를 포함하는 시험관내 자연 살해(NK) 세포 사멸 검정의 결과를 그래프로 도시한다. 결과는 CellTiter Glo 검정을 사용하여 평가시 ADC(CD2-AM) 또는 대조군 항체(즉, hIgG1, hIgG1-아마니틴("hIgG1-AM")) 농도(x-축)의 함수로서 생육성 NK-세포(y-축)의 수준을 나타낸다.

도 5a 및 5b는 사슬간 약물-대-항체 비율이 6인 0.3 mg/kg, 1 mg/kg, 또는 3 mg/kg의 항-CD2-아마니틴 ADC(즉, RPA-2.10-AM)의 단일 투여 7일 후 인간화 NSG 마우스의 말초 혈액(도 5a) 및 골수(도 5b)에서 T-세포의 절대 수준(CD3+ 세포; y-축)을 나타내는 생체내 T-세포 고갈 검정의 결과를 그래프로 도시한다. 비교를 위해, 도 5a 및 5b는 또한 25 mg/kg Ab1(컨쥬게이션되지 않은 항-CD2 항체) 또는 지시된 대조군(즉, 25 mg/kg 항-CD52 항체(클론 YTH34.5); 3 mg/kg hIgG1-아마니틴 ADC("hIgG1-AM"), 25 mg/kg hIgG1, 또는 PBS)으로 인간화 NSG 마우스를 처리한 후 T-세포 고갈 수준을 보여준다.

도 6a-6c는 부위-특이적 약물-대-항체 비율이 약 2인 1 mg/kg 또는 3 mg/kg 의 항-CD2-아마니틴 ADC(즉, RPA-2.10-AM)의 단일 투여 7일 후 인간화 NSG 마우스의 말초 혈액(도 6a), 골수(도 6b), 및 흉선(도 6c)에서 T-세포의 절대 수준(CD3+ 세포; y-축)을 나타내는 생체내 T-세포 고갈 검정의 결과를 그래프로 도시한다. 비교를 위해, 도 6a-6c는 또한 3 mg/kg의 컨쥬게이션되지 않은 항-CD2 항체 또는 지시된 대조군(즉, 3mg/kg hIgG1-아마니틴-ADC("hIgG1-AMC") 또는 PBS)로 인간화 NSG 마우스를 처리한 후 T-세포 고갈 수준을 보여준다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0366] 상세한 설명

- [0367] 본 발명은 CD2(T 세포 표면 항원, LFA-2, 및 LFA-3 수용체로도 지칭됨)에 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합

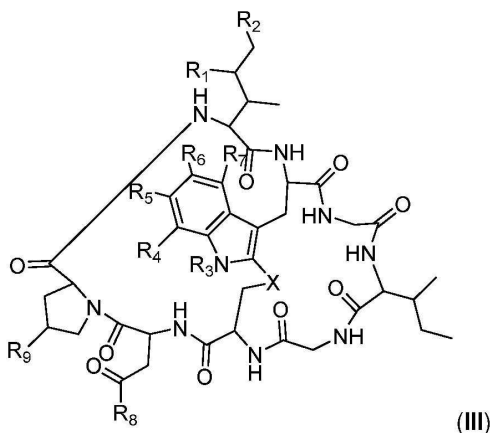
단편이 (i) CD2+ 세포를 특징으로 하는 암 및 자가면역 질환을 직접 치료하고 (ii) 조혈 줄기 세포 이식편과 교차 반응하고(예를 들어, 조혈 줄기 세포 이식편에 의해 발현된 비-자기 MHC 항원과 교차 반응함으로써) 이에 대한 면역 반응을 일으키는 면역 세포 집단을 고갈시킴으로써 이식 요법을 필요로 하는 환자에서 이식된 조혈 줄기 세포의 생착을 촉진하는 치료제로서 사용될 수 있다는 발견에 부분적으로 기초한다. 이러한 치료 활성은, 예를 들어, 항-CD2 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 비-자기 조혈 줄기 세포 항원(예를 들어, 비-자기 MHC 항원)과 교차 반응하는 세포, 예를 들어, 암 세포, 자가면역 세포, 또는 면역 세포의 표면에서 발현되는 CD2에 결합하여, 결합된 세포의 사멸을 유도함으로써 일어날 수 있다. 암 세포 또는 자가면역 세포 집단을 고갈시키는 경우, 항-CD2 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 암 또는 자가면역 질환, 예를 들어, 본원에 기재된 암 또는 자가면역 질환을 직접 치료하는데 사용될 수 있다. 비-자기 조혈 줄기 세포 항원과 교차 반응하는 면역 세포 집단을 고갈시키는 경우, 항-CD2 항체, 이의 항원-결합 단편은 줄기 세포 장애, 암, 또는 자가면역 질환으로 고통받고 조혈 줄기 세포 이식 요법을 받고 있는 환자에서 이식편 거부 가능성을 예방 또는 감소시키는데 사용될 수 있다. 이러한 경우에, 하나 이상의 비-자기 조혈 줄기 세포 항원(예를 들어, 하나 이상의 비-자기 MHC 항원)과 교차 반응하는 CD2+ 면역 세포의 고갈은 이식 수용자 내에서 이식된 조혈 줄기 세포의 성공적인 생착을 가능하게 한다. 이식된 세포가 생착됨에 따라, 이들은 조혈 조직이 안착하여, 이후 생산적인 조혈이 이어질 수 있다. 이식된 조혈 줄기 세포는 이어서 이식 수용자에서 결핍 또는 결함이 있는 세포 집단, 예를 들어, 거핵세포, 혈전구, 혈소판, 적혈구, 비만 세포, 골수모세포, 호염기구, 호중구, 호산구, 미세아교세포, 과립구, 단핵구, 과골세포, 항원-제시 세포, 대식세포, 수지상 세포, 자연 살해 세포, T 림프구, 및 B 림프구를 생성할 수 있다. 이러한 방식으로, 항-CD2 항체 또는 이의 단편은 본원에 기재된 줄기 세포 장애로 고통받는 인간 환자와 같은 환자에서 조혈 줄기 세포의 성공적인 생착을 촉진하기 위해 사용될 수 있다.

[0368] 정의

[0369] 본원에서 사용되는 용어 "약"은 기술된 값보다 10% 높거나 낮은 범위 내의 값을 지칭한다. 예를 들어, 용어 "약 5 nM"은 4.5 nM 내지 5.5 nM의 범위를 나타낸다.

[0370] 본원에서 사용되는 용어 "아마톡신"은 아마니타 팔로이데스 머쉬룸(*Amanita phalloides* mushroom)에 의해 생산된 아마톡신 과 펩티드의 구성원, 합성 아마톡신, 변이 아마톡신, 또는 이의 유도체, 예를 들어, RNA 중합효소 II 활성을 억제할 수 있는 이의 변이체 또는 유도체를 지칭한다. 또한 합성 아마톡신이 포함된다(예를 들어, 본원에 참조로서 포함된 US 특허 번호 9676702 참조). 본원에 기재된 바와 같이, 아마톡신은, 예를 들어, 링커 모이어티(L)를 통해 항체 또는 이의 항원-결합 단편에 컨쥬게이션될 수 있다(따라서 컨쥬게이트(항체 약물 컨쥬게이트(ADC)로도 지칭됨)를 형성함). 아마톡신 컨쥬게이션의 예시적인 방법 및 이러한 공정에 유용한 링커는 하기에 기술된다. 조성물 및 방법에 따라, 항체 또는 항원-결합 단편과의 컨쥬게이션에 유용한 예시적인 링커-함유 아마톡신이 또한 본원에 기재되어 있다.

[0371] 특정 구체예에서, 본원에 기술된 조성물 및 방법과 관련하여 유용한 아마톡신은 하기 화학식 (III)에 따른 화합물, α -아마니틴, β -아마니틴, γ -아마니틴, ϵ -아마니틴, 아마닌, 아마닌아미드, 아마놀린, 아마놀린산, 또는 프로아마놀린을 포함한다. 화학식 (III)은 다음과 같다:

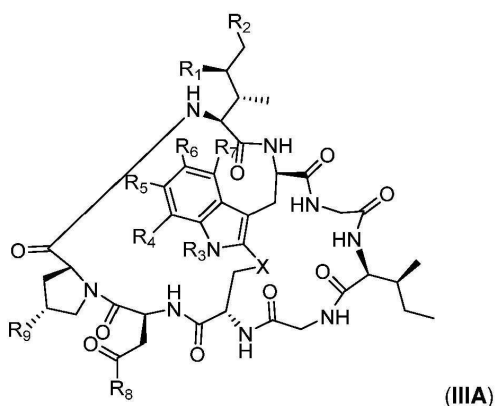


[0372]

[0373] 상기 식에서, R₁은 H, OH, 또는 OR_A이고;

[0374] R₂는 H, OH, 또는 OR_B이고;

- [0375] R_A 및 R_B 는 존재하는 경우 이들이 결합된 산소 원자와 함께 조합되어 임의로 치환된 5원 헤테로사이클로알킬 기를 형성하고;
- [0376] R_3 은 H 또는 R_D 이고;
- [0377] R_4 는 H, OH, OR_D , 또는 R_D 이고;
- [0378] R_5 는 H, OH, OR_D , 또는 R_D 이고;
- [0379] R_6 은 H, OH, OR_D , 또는 R_D 이고;
- [0380] R_7 은 H, OH, OR_D , 또는 R_D 이고;
- [0381] R_8 은 OH, NH_2 , 또는 OR_D 이고;
- [0382] R_9 는 H, OH, 또는 OR_D 이고;
- [0383] X는 $-S-$, $-S(O)-$, 또는 $-SO_2-$ 이고;
- [0384] R_D 는 임의로 치환된 알킬(예를 들어, C_1-C_6 알킬), 임의로 치환된 헤테로알킬(예를 들어, C_1-C_6 헤테로알킬), 임의로 치환된 알케닐(예를 들어, C_2-C_6 알케닐), 임의로 치환된 헤테로알케닐(예를 들어, C_2-C_6 헤테로알케닐), 임의로 치환된 알키닐(예를 들어, C_2-C_6 알키닐), 임의로 치환된 헤테로알키닐(예를 들어, C_2-C_6 헤테로알키닐), 임의로 치환된 사이클로알킬, 임의로 치환된 헤테로사이클로알킬, 임의로 치환된 아릴, 또는 임의로 치환된 헤테로아릴이다.
- [0385] 예를 들어, 한 구체예에서, 본원에 기재된 조성물 및 방법과 관련하여 유용한 아마톡신은 하기 화학식 (IIIA)에 따른 화합물을 포함한다:



- [0386]
- [0387] 상기 식에서, R_1 은 H, OH, 또는 OR_A 이고;
- [0388] R_2 는 H, OH, 또는 OR_B 이고;
- [0389] R_A 및 R_B 는 존재하는 경우 이들이 결합된 산소 원자와 함께 조합되어 임의로 치환된 5원 헤테로사이클로알킬 기를 형성하고;
- [0390] R_3 은 H 또는 R_D 이고;
- [0391] R_4 는 H, OH, OR_D , 또는 R_D 이고;
- [0392] R_5 는 H, OH, OR_D , 또는 R_D 이고;
- [0393] R_6 은 H, OH, OR_D , 또는 R_D 이고;
- [0394] R_7 은 H, OH, OR_D , 또는 R_D 이고;

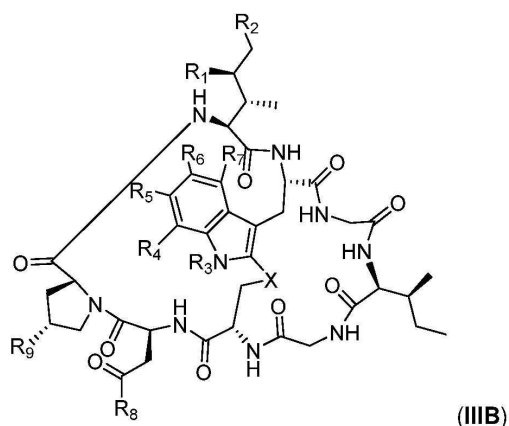
[0395] R_8 은 OH, NH_2 , 또는 OR_D 이고;

[0396] R_9 는 H, OH, 또는 OR_D 이고;

[0397] X는 $-S-$, $-S(O)-$, 또는 $-SO_2-$ 이고;

[0398] R_D 는 임의로 치환된 알킬(예를 들어, C_1-C_6 알킬), 임의로 치환된 헤테로알킬(예를 들어, C_1-C_6 헤테로알킬), 임의로 치환된 알케닐(예를 들어, C_2-C_6 알케닐), 임의로 치환된 헤테로알케닐(예를 들어, C_2-C_6 헤테로알케닐), 임의로 치환된 알키닐(예를 들어, C_2-C_6 알키닐), 임의로 치환된 헤테로알키닐(예를 들어, C_2-C_6 헤테로알키닐), 임의로 치환된 사이클로알킬, 임의로 치환된 헤테로사이클로알킬, 임의로 치환된 아릴, 또는 임의로 치환된 헤테로아릴이다.

[0399] 한 구체예에서, 본원에 기재된 조성물 및 방법과 관련하여 유용한 아마톡신은 또한 하기 화학식 (IIIB)에 따른 화합물을 포함한다:



[0400]

[0401] 상기 식에서, R_1 은 H, OH, 또는 OR_A 이고;

[0402] R_2 는 H, OH, 또는 OR_B 이고;

[0403] R_A 및 R_B 는 존재하는 경우 이들이 결합된 산소 원자와 함께 조합되어 임의로 치환된 5원 헤테로사이클로알킬 기를 형성하고;

[0404] R_3 은 H 또는 R_D 이고;

[0405] R_4 는 H, OH, OR_D , 또는 R_D 이고;

[0406] R_5 는 H, OH, OR_D , 또는 R_D 이고;

[0407] R_6 은 H, OH, OR_D , 또는 R_D 이고;

[0408] R_7 은 H, OH, OR_D , 또는 R_D 이고;

[0409] R_8 은 OH, NH_2 , 또는 OR_D 이고;

[0410] R_9 는 H, OH, 또는 OR_D 이고;

[0411] X는 $-S-$, $-S(O)-$, 또는 $-SO_2-$ 이고;

[0412] R_D 는 임의로 치환된 알킬(예를 들어, C_1-C_6 알킬), 임의로 치환된 헤테로알킬(예를 들어, C_1-C_6 헤테로알킬), 임의로 치환된 알케닐(예를 들어, C_2-C_6 알케닐), 임의로 치환된 헤테로알케닐(예를 들어, C_2-C_6 헤테로알케닐), 임의로 치환된 알키닐(예를 들어, C_2-C_6 알키닐), 임의로 치환된 헤테로알키닐(예를 들어, C_2-C_6 헤테로알키닐), 임의로 치환된 사이클로알킬, 임의로 치환된 헤테로사이클로알킬, 임의로 치환된 아릴, 또는 임의로 치환된 헤테로아릴이다.

테로아틸이다.

- [0413] 본원에 기재된 바와 같이, 아마톡신은, 예를 들어, 링커 모이어티를 통해 항체 또는 이의 항원-결합 단편에 컨쥬게이션될 수 있다. 아마톡신 컨쥬게이션의 예시적인 방법 및 이러한 공정에 유용한 링커는 "화학적 컨쥬게이션을 위한 링커" 섹션 및 하기 표 1에 기재되어 있다. 본원에 기재된 조성물 및 방법에 따른 항-CD2 항체, 항원-결합 단편에 대한 컨쥬게이션에 유용한 예시적인 링커-함유 아마톡신은 본원에 언급된 구조식 (I), (IA), (IB), (II), (IIA), 및 (IIB)에 도시되어 있다.
- [0414] 본원에서 사용되는 용어 "항체"는 특정 항원에 특이적으로 결합하거나 이와 면역학적으로 반응성인 면역글로불린 분자를 지칭한다. 항체의 예는 키메라 항체, 인간화 항체, 헤테로컨쥬게이트 항체(예를 들어, 이중-, 삼중- 및 사중-특이적 항체, 디아바디, 트리아바디, 및 테트라바디)를 포함하지만 이에 제한되지 않는 폴리클로날, 모노클로날, 유전적으로 조작되고, 달리 변형된 항체 형태, 및 예를 들어, Fab', F(ab')₂, Fab, Fv, rlgG, 및 scFv 단편을 포함하는 항체의 항원 결합 단편을 포함한다. 본원에서 사용되는 Fab 및 F(ab')₂ 단편은 무손상 항체의 Fc 단편이 없는 항체 단편을 지칭한다. 이러한 항체 단편의 예는 본원에 기재되어 있다.
- [0415] 일반적으로, 항체는 항원 결합 영역을 함유하는 중쇄 및 경쇄를 포함한다. 각각의 중쇄는 중쇄 가변 영역(본원에서 HCVR 또는 VH로 약칭됨) 및 중쇄 불변 영역으로 구성된다. 중쇄 불변 영역은 CH1, CH2 및 CH3의 3개의 도메인으로 구성된다. 각각의 경쇄는 경쇄 가변 도메인 영역(본원에서 LCVR 또는 VL로 약칭됨) 및 경쇄 불변 도메인으로 구성된다. 경쇄 불변 영역은 하나의 도메인 CL로 구성된다. VH 및 VL 영역은 프레임워크 영역(FR)으로 불리는 보다 보존된 영역에 산재된 상보성 결정 영역(CDR)으로 불리는 초가변성 영역으로 추가로 세분될 수 있다. 각각의 VH 및 VL은 아미노-말단에서 카르복실-말단으로 하기 순서로 배열된 3개의 CDR 및 4개의 FR로 구성된다: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. 중쇄 및 경쇄의 가변 영역은 항원과 상호작용하는 결합 도메인을 함유한다. 항체의 불변 영역은 면역 시스템의 다양한 세포(예를 들어, 이펙터 세포) 및 전통적인 보체 시스템의 제1 성분(C1q)을 포함하는, 숙주 조직 또는 인자에 대한 면역글로불린의 결합을 매개할 수 있다.
- [0416] 본원에서 사용되는 용어 "항원-결합 단편"은 무손상 항체의 일부를 포함하고 무손상 항체가 결합하는 항원에 결합하는 무손상 항체 이외의 분자를 지칭한다. 항체의 항원-결합 기능은 전장 항체의 단편에 의해 수행될 수 있다. 항체 단편은, 예를 들어, Fv, Fab, Fab', F(ab')₂, scFv, 디아바디, 트리아바디, 단일쇄 항체 분자(예를 들어, scFv), 어피바디(affibody), 나노바디, 앵타머, 또는 도메인 항체일 수 있다. 항체의 "항원-결합 단편"이라는 용어를 포함하는 결합 단편의 예는 (i) Fab 단편, V_L, V_H, C_L, 및 C_H1 도메인으로 구성된 일가 단편; (ii) F(ab')₂ 단편, 힌지 영역에서 디설파이드 브릿지에 의해 연결된 2개의 Fab 단편을 포함하는 이가 단편; (iii) V_H 및 C_H1 도메인으로 구성된 Fd 단편; (iv) 항체의 단일 아암의 V_L 및 V_H 도메인으로 구성된 Fv 단편; (v) V_H 및 V_L 도메인을 포함하는 dAb; (vi) V_H 도메인으로 구성된 dAb 단편(예를 들어, Ward et al., Nature 341:544-546, 1989 참조); (vii) V_H 또는 V_L 도메인으로 구성된 dAb; (viii) 분리된 상보성 결정 영역(CDR); 및 (ix) 합성 링커에 의해 선택적으로 결합될 수 있는 2개 이상의(예를 들어, 2, 3, 4, 5 또는 6개의) 분리된 CDR의 조합을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 또한, Fv 단편의 2개의 도메인인 V_L 및 V_H는 별도의 유전자에 의해 코딩되지만, 이들은 일가 분자(단일쇄 Fv(scFv)로서 공지됨)를 형성하기 위해 V_L 및 V_H 영역이 쌍을 이루는 단일 단백질 사슬로서 만들어질 수 있게 하는 링커에 의해 재조합 방법을 이용하여 결합될 수 있다[예를 들어, Bird et al., Science 242:423-426, 1988 and Huston et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883, 1988 참조]. 이들 항체 단편은 당업자에게 공지된 통상적인 기술을 사용하여 수득될 수 있고, 단편은 무손상 항체와 동일한 방식으로 유용성에 대해 스크리닝될 수 있다. 항원-결합 단편은 재조합 DNA 기술, 무손상 면역 글로불린의 효소적 또는 화학적 절단, 또는 경우에 따라, 당 분야에 공지된 화학적 펩티드 합성 절차에 의해 생산될 수 있다.
- [0417] 본원에서 사용되는 용어 "항-CD2 항체" 또는 "CD2에 결합하는 항체"는 CD2에 특이적으로 결합하는 항체를 지칭한다. 관심 항원, 즉, CD2에 "결합하는" 항체는 항체가 항원을 발현하는 세포를 표적화하는데 유용하도록 충분한 친화성으로 항원에 결합할 수 있는 항체이다. 바람직한 구체예에서, 항체는 인간 CD2(hCD2)에 특이적으로 결합한다. CD2는 T 세포와 같은 면역 세포의 세포 표면에서 발견된다. 항-CD2 항체(또는 항-CD2 컨쥬게이트)가 결합할 인간 CD2의 아미노산 서열은 하기 SEQ ID NO: 13에 기재되어 있다.
- [0418] 본원에서 사용되는 용어 "이중특이적 항체"는 2개의 상이한 항원 결합 부위를 갖는 하이브리드 항체를 지칭한다. 이중특이적 항체는 다중특이적 항체의 종류이며, 하이브리도마의 융합 또는 Fab' 단편의 연결을 포함

하지만 이에 제한되지 않는 다양한 방법에 의해 생산될 수 있다. 예를 들어, Songsivilai and Lachmann, 1990, Clin. Exp. Immunol. 79:315-321; Kostelny et al., 1992, J. Immunol. 148:1547-1553 참조. 이중특이적 항체의 2개의 결합 부위는 동일하거나 상이한 단백질 표적 상에 존재할 수 있는 2개의 상이한 에피토프에 결합할 것이다. 예를 들어, 결합 특이성 중 하나는 CD2와 같은 T 세포 표면 항원을 향해 유도될 수 있고, 다른 하나는, 특히, 상이한 T 세포 표면 항원 또는 또 다른 세포 표면 단백질, 예를 들어, 세포 성장을 강화시키는 신호 전달 경로에 관여하는 수용체 또는 수용체 서브유닛에 대한 것일 수 있다.

[0419] 본원에서 사용되는 용어 "상보성 결정 영역"(CDR)은 항체의 경쇄 및 중쇄 가변 도메인 둘 모두에서 발견되는 초가변 영역을 지칭한다. 가변 도메인의 보다 고도로 보존된 부분을 프레임워크 영역(FR)으로 지칭한다. 항체의 초가변 영역을 나타내는 아미노산 위치는 당 분야에 공지된 다양한 정의 및 상황에 따라 달라질 수 있다. 가변 도메인 내의 일부 위치는 이러한 위치가 하나의 기준 세트 하에서 초가변 영역 내에 있는 것으로 간주될 수 있고 다른 기준 세트 하에서는 초가변 영역 외부에 있는 것으로 간주될 수 있다는 점에서 하이브리드 초가변 위치로 볼 수 있다. 이러한 위치 중 하나 이상은 또한 확장된 초가변 영역에서 발견될 수 있다. 본원에 기재된 항체는 이러한 하이브리드 초가변 위치에 변형을 함유할 수 있다. 천연 중쇄 및 경쇄의 가변 도메인은 3개의 CDR에 의해 연결된 β -시트 구조를 주로 채택하는 4개의 프레임워크 영역을 각각 포함하고, 이는 β -시트 구조를 연결하는 루프를 형성하고, 일부 경우에 β -시트 구조의 부분을 형성한다. 각 사슬의 CDR은 FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4의 순서로 프레임워크 영역에 의해 서로 밀접하게 함께 유지되며, 다른 항체 사슬로부터의 CDR과 함께 항체의 표적 결합 부위의 형성에 기여한다(Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, National Institute of Health, Bethesda, MD., 1987 참조). 본원에 사용된 바와 같이, 번역글로불린 아미노산 잔기의 넘버링은 달리 지시되지 않는 한, Kabat 등의 번역글로불린 아미노산 잔기 넘버링 시스템에 따라 수행된다.

[0420] 본원에서 사용되는 용어 "조건" 및 "조건화"는 조혈 줄기 세포를 함유하는 이식물의 수용을 위해 환자가 준비되는 과정을 지칭한다. 이러한 절차는 조혈 줄기 세포 이식물의 생착을 촉진한다(예를 들어, 조건화 절차 및 후속 조혈 줄기 세포 이식 후 환자로부터 분리된 혈액 샘플 내에서 생육성 조혈 줄기 세포의 양의 지속적인 증가로부터 추론됨). 본원에 기재된 방법에 따르면, 환자는 CD2와 같은 T 세포에 의해 발현된 항원에 결합할 수 있는 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 환자에게 투여함에 의해 조혈 줄기 세포 이식 요법을 위해 조건화될 수 있다. 본원에 기재된 바와 같이, 항-CD2 항체는 세포독소에 공유적으로 컨쥬게이션되어 항체-약물 컨쥬게이트를 형성할 수 있다. 조혈 줄기 세포 이식 요법을 필요로 하는 환자에게 상기 항원 중 하나 이상에 결합할 수 있는 항체, 이의 항원-결합 단편, 또는 항체-약물 컨쥬게이트의 투여는, 예를 들어, 조혈 줄기 세포에 의해 발현되는 하나 이상의 비-자기 항원(예를 들어, 하나 이상의 비-자기 MHC 항원)과 교차 반응하는 CD2+ T 세포(예를 들어, CD4+ 및/또는 CD8+ T 세포) 및/또는 CD2+ NK 세포와 같은 내인성 면역 세포를 선택적으로 고갈시킴으로써, 조혈 줄기 세포 이식편의 생착을 촉진할 수 있다. 면역 세포의 이러한 선택적 고갈은 결국 외인성(예를 들어, 자가, 동종이계, 또는 동계) 조혈 줄기 세포 이식편의 이식 후 이식편 거부 가능성을 예방하거나 감소시킨다.

[0421] 본원에서 사용되는 용어 "컨쥬게이트"는 항체 또는 이의 항원-결합 단편과 같은 한 분자의 반응성 작용기와 본원에 기재된 세포독소와 같은 또 다른 분자의 적절하게 반응성인 작용기의 화학적 결합에 의해 형성된 화합물을 지칭한다. 컨쥬게이트는 서로 결합된 2개의 분자(예를 들어, 항-CD2 항체 및 세포독소) 사이에 링커를 포함할 수 있다. 컨쥬게이트의 형성에 사용될 수 있는 링커의 예는 펩티드-함유 링커, 예를 들어, D-아미노산과 같은 자연 발생 또는 비자연 발생 아미노산을 함유하는 것들을 포함한다. 링커는 본원에 기술되고 당 분야에 공지된 다양한 전략을 사용하여 제조될 수 있다. 내부의 반응성 성분에 따라, 링커는, 예를 들어, 효소적 가수 분해, 광분해, 산성 조건 하에서의 가수분해, 염기성 조건 하에서의 가수분해, 산화, 디설파이드 환원, 친핵성 절단, 또는 유기금속 절단에 의해 절단될 수 있다(예를 들어, Leriche et al., Bioorg. Med. Chem., 20:571-582, 2012 참조).

[0422] 본원에서 사용되는 용어 "커플링 반응"은 서로와의 반응에 적합한 2개 이상의 치환기가 반응하여 각 치환기에 결합된 분자 단편을 연결하는(예를 들어, 공유적으로) 화학적 모이어티를 형성하는 화학적 반응을 지칭한다. 커플링 반응은 당 분야에 공지되거나 본원에 기재된 세포독소와 같은 세포독소인 단편에 결합된 반응성 치환기가 항체, 이의 항원-결합 단편, 또는 항체, 예를 들어, 항체, 이의 항원-결합 단편, 또는 당 분야에 공지되거나 본원에 기재된 CD2에 특이적인 항체인 단편에 결합된 적합하게 반응성인 치환기와 반응하는 것을 포함한다. 적합하게 반응성인 치환기의 예는 친핵체/친전자체 쌍(예를 들어, 특히, 티올/할로알킬 쌍, 아민/카르보닐 쌍, 또는 티올/ α , β -불포화된 카르보닐 쌍), 디엔/친디엔체 쌍(예를 들어, 특히, 아지드/알킨 쌍) 등을 포함한다. 커플링 반응은 티올 알킬화, 하이드록실 알킬화, 아민 알킬화, 아민 축합, 아마이드화, 에스테르화, 디설파이드 형성,

고리첨가(예를 들어, 특히, [4+2] 디엘스-알더(Diels-Alder) 고리첨가, [3+2] 휴이스겐(Huisgen) 고리첨가), 친핵성 방향족 치환, 친전자성 방향족 치환, 및 당 분야에 공지되거나 본원에 기술된 다른 반응성 방식을 포함한다.

- [0423] 본원에서 사용되는 "CRU(경쟁적 재집단화 단위)"은 생체내 이식 후 검출될 수 있는 장기간 생착 줄기 세포의 측정 단위를 지칭한다.
- [0424] 본원에서 사용되는 "약물-대-항체 비율" 또는 "DAR"은 ADC의 항체에 부착된 세포독소, 예를 들어, 아미톡신의 수를 지칭한다. ADC의 DAR은 1 내지 8의 범위일 수 있지만, 항체 상의 연결 부위의 수에 따라 더 높은 부하가 또한 가능하다. 따라서, 특정 구체예에서, 본원에 기재된 ADC는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 또는 8의 DAR을 갖는다.
- [0425] 본원에서 사용되는 용어 "공여자"는 세포 또는 이의 자손이 수용자에게 투여되기 전에 하나 이상의 세포가 분리되는 인간 또는 동물을 지칭한다. 하나 이상의 세포는, 예를 들어, 조혈 줄기 세포의 집단일 수 있다.
- [0426] 본원에서 사용되는 용어 "디아바디"는 2개의 폴리펩티드 사슬을 함유하는 이가 항체를 지칭하며, 여기서 각각의 폴리펩티드 사슬은 동일한 펩티드 사슬 상의 V_H 및 V_L 도메인의 분자내 회합을 허용하기에 너무 짧은 링커(예를 들어, 5개의 아미노산으로 구성된 링커)에 의해 연결된 V_H 및 V_L 도메인을 포함한다. 이러한 구성은 각 도메인이 다른 폴리펩티드 사슬 상의 상보적인 도메인과 쌍을 이루어 호모이량체 구조를 형성하게 한다. 따라서, 용어 "트리아바디"는 3개의 펩티드 사슬을 포함하는 삼가 항체를 지칭하며, 이들 각각은 동일한 펩티드 사슬 내에서 V_H 및 V_L 도메인의 분자내 회합을 허용하기 위해 극도로 짧은 링커(예를 들어, 1-2개의 아미노산으로 구성된 링커)에 의해 연결된 하나의 V_H 도메인 및 하나의 V_L 도메인을 함유한다. 이들의 고유 구조로 접히기 위해, 이러한 방식으로 구성된 펩티드는 통상적으로 이웃 펩티드 사슬의 V_H 및 V_L 도메인을 서로 공간적으로 인접하게 정위하도록 삼량체화된다(예를 들어, Holliger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:6444-48, 1993 참조).
- [0427] 본원에서 사용되는 "이중 가변 도메인 면역글로불린("DVD-Ig")은 링커를 통해 2개의 항체의 표적-결합 가변 도메인을 조합하여 사가의 이중-표적화 단일 제제를 생성하는 항원 결합 단백질을 지칭한다(예를 들어, Gu et al., Meth. Enzymol., 502:25-41, 2012 참조).
- [0428] 본원에서 사용되는 용어 "내인성"은 특정 유기체, 예를 들어, 인간 환자, 예를 들어, 본원에 기재된 조혈 줄기 세포 이식 요법을 받고 있는 인간 환자에서 자연적으로 발견되는 물질, 예를 들어, 분자, 세포, 조직, 또는 장기(예를 들어, 조혈 줄기 세포 또는 조혈 계통의 세포, 예를 들어, 거핵세포, 혈전구, 혈소판, 적혈구, 비만 세포, 골수모세포, 호염기구, 호중구, 호산구, 미세아교세포, 과립구, 단핵구, 파골세포, 항원-제시 세포, 대식세포, 수지상 세포, 자연 살해 세포, T 림프구(예를 들어, CD4+ 또는 CD8+ T 림프구), 또는 B 림프구)를 기술한다.
- [0429] 본원에서 사용되는 용어 "생착 가능성"은 세포가 자연적으로 순환하거나 이식에 의해 제공되든지 간에, 조혈 줄기 및 전구 세포가 조직을 다시 채울 수 있는 능력을 지칭하는데 사용된다. 이러한 용어는 세포의 조직 안착 및 관심 조직 내에서 세포의 집락화와 같은 생착을 둘러싼 또는 생착에 이르게 하는 모든 사건을 포함한다. 생착 효율 또는 생착률은 당업자에게 공지된 바와 같은 임의의 임상적으로 허용되는 파라미터를 사용하여 평가되거나 정량화될 수 있으며, 예를 들어, 경쟁적 재집단화 단위(CRU)의 평가; 줄기 세포가 안착되거나 집락화되거나 생착되는 조직(들)에 마커의 도입 또는 발현; 또는 질병 진행, 조혈 줄기 및 전구 세포의 생존, 또는 수용자의 생존을 통한 대상체의 진행의 평가에 의한 것을 포함할 수 있다. 생착은 또한 이식 후 기간 동안 말초 혈액에서 백혈구 수를 측정함으로써 결정될 수 있다. 생착은 또한 골수 흡인물 샘플에서 공여자 세포에 의한 골수 세포의 회복을 측정함으로써 평가될 수 있다.
- [0430] 본원에서 사용되는 용어 "부형제"는 약물의 활성 성분과 함께 제형화된 물질을 지칭한다. 이들은, 예를 들어, 장기간 안정화의 목적으로, 또는 최종 투여 형태에서 활성 성분에 대한 치료적 향상을 제공하기 위해 포함될 수 있다.
- [0431] 본원에서 사용되는 용어 "외인성"은 인간 환자와 같은 특정 유기체에서 자연적으로 발견되지 않는 물질, 예를 들어, 분자, 세포, 조직, 또는 장기(예를 들어, T 세포, 조혈 줄기 세포 또는 조혈 계통의 세포, 예를 들어, 거핵세포, 혈전구, 혈소판, 적혈구, 비만 세포, 골수모세포, 호염기구, 호중구, 호산구, 미세아교세포, 과립구, 단핵구, 파골세포, 항원-제시 세포, 대식세포, 수지상 세포, 자연 살해 세포, T 림프구, 또는 B 림프구)를 기술한다. 외인성 물질은 외부 공급원으로부터 유기체로 또는 이로부터 추출된 배양된 물질로 제공되는 것을 포함한다.

다.

- [0432] 본원에서 사용되는 용어 "프레임워크 영역" 또는 "FW 영역"은 항체 또는 이의 항원-결합 단편의 CDR에 인접한 아미노산 잔기를 포함한다. FW 영역 잔기는, 예를 들어, 특히, 인간 항체, 인간화 항체, 모노클로날 항체, 항체 단편, Fab 단편, 단일쇄 항체 단편, scFv 단편, 항체 도메인, 및 이중특이적 항체에 존재할 수 있다.
- [0433] 용어 "전장 항체", "무손상 항체", 및 "전체 항체"는 일반적으로 적어도 2개의 전장 중쇄 및 2개의 전장 경쇄를 포함하는 항체를 지칭하기 위해 본원에서 상호교환적으로 사용되지만, 일부 경우에 중쇄만을 포함할 수 있는 낙타과에서 자연적으로 발생하는 항체와 같은 더 적은 사슬을 포함할 수 있다.
- [0434] 본원에서 사용되는 용어 "조혈 줄기 세포"("HSC")는 자기-재생되고 과립구(예를 들어, 전골수구, 호중구, 호산구, 호염기구), 적혈구(예를 들어, 망상 적혈구, 적혈구), 혈전구(예를 들어, 거핵모구, 혈소판 생산 거핵세포, 혈소판), 단핵구(예를 들어, 단핵구, 대식세포), 수지상 세포, 미세아교세포, 파골세포, 및 림프구(예를 들어, NK 세포, B-세포 및 T-세포)를 비제한적으로 포함하는 다양한 계통을 포함하는 성숙한 혈액 세포로 분화하는 능력을 갖는 미성숙 혈액 세포를 지칭한다. 추가로 HSC는 또한 장기간 재집단화(LT-HSC) 및 단기간 재집단화(ST-HSC)를 지칭한다. LT-HSC 및 ST-HSC는 기능적 잠재력 및 세포 표면 마커 발현을 기초로 하여 분화된다. 예를 들어, 인간 HSC는 CD34+, CD38-, CD45RA-, CD90+, CD49F+, 및 lin- (CD2, CD3, CD4, CD7, CD8, CD10, CD11B, CD19, CD20, CD56, 및 CD235A를 포함하는 성숙한 계통 마커에 대해 음성임)이다. 마우스에서 골수 LT-HSC는 CD34-, SCA-1+, C-kit+, CD135-, Slamf1/CD150+, CD48-, 및 lin- (Ter119, CD11b, Gr1, CD3, CD4, CD8, B220, 및 IL7ra를 포함하는 성숙한 계통 마커에 대해 음성임)이며, ST-HSC는 CD34+, SCA-1+, C-kit+, CD135-, Slamf1/CD150+, 및 lin- (Ter119, CD11b, Gr1, CD3, CD4, CD8, B220, 및 IL7ra를 포함하는 성숙한 계통 마커에 대해 음성임)이다. 또한, ST-HSC는 항상성 조건 하에서 LT-HSC보다 덜 휴지성이고 더욱 증식성이다. 그러나, LT-HSC는 자기-재생 가능성이 더 높으며(즉, 이들은 성인기 내내 생존하고, 연속적인 수용자를 통해 연속하여 이식될 수 있음), ST-HSC는 자기-재생이 제한적이다(즉, 이들은 제한된 기간 동안만 생존하고, 연속적인 이식 가능성이 없음). 임의의 이러한 HSC는 본원에 기재된 방법에 사용될 수 있다. ST-HSC는 고도로 증식성이어서, 분화된 자손을 보다 빠르게 유발할 수 있기 때문에 특히 유용하다.
- [0435] 본원에서 사용되는 용어 "조혈 줄기 세포 기능 잠재력"은 1) 다능성(과립구(예를 들어, 전골수구, 호중구, 호산구, 호염기구), 적혈구(예를 들어, 망상 적혈구, 적혈구), 혈전구(예를 들어, 거핵모구, 혈소판 생산 거핵세포, 혈소판), 단핵구(예를 들어, 단핵구, 대식세포), 수지상 세포, 미세아교세포, 파골세포, 및 림프구(예를 들어, NK 세포, B-세포 및 T-세포)를 포함하지만 이에 제한되지 않는 다수의 상이한 혈액 계통으로 분화하는 능력을 지칭함), 2) 자기-재생(모 세포와 동등한 잠재력을 갖는 딸 세포를 생성시키는 조혈 줄기 세포의 능력을 지칭하며, 또한, 이러한 능력은 고갈 없이 개체의 수명 내내 반복적으로 발생할 수 있음), 및 3) 이식 수용자에게 재도입되고 그 결과 조혈 줄기 세포 nich에 안착하여 생산적이고 지속적인 조혈을 재확립하는 조혈 줄기 세포 또는 이의 자손의 능력을 포함하는 조혈 줄기 세포의 기능적 성질을 지칭한다.
- [0436] 본원에서 사용되는 용어 "구조적합성 복합체 항원"("MHC", 또한 인간의 맥락에서 "인간 백혈구 항원"("HLA")으로도 지칭됨)은 세포에 독특한 항원 주체성을 부여하는 세포 표면 상에 발현된 단백질을 지칭한다. MHC/HLA 항원은 면역 이펙터 세포와 동일한 공급원의 조혈 줄기 세포로부터 유래되거나("자기") 다른 공급원의 조혈 재구성 세포로부터 유래되는("비-자기") T 세포 및 NK 세포에 의해 인지되는 표적 분자이다. HLA 항원의 두 주요 부류가 인식된다: HLA 클래스 I 및 HLA 클래스 II. HLA 클래스 I 항원(인간에서 A, B 및 C)은 각 세포를 "자기"로 인지할 수 있는 반면, HLA 클래스 II 항원(인간에서 DR, DP 및 DQ)은 림프구와 항원 제시 세포 사이의 반응에 관여한다. 둘 모두는 이식된 장기의 거부와 관련되었다. HLA 유전자 시스템의 중요한 양태는 이의 다형성이다. 각각의 유전자, MHC 클래스 I(A, B 및 C) 및 MHC 클래스 II(DP, DQ 및 DR)는 상이한 대립유전자에 존재한다. HLA 대립유전자는 숫자와 아래첨자로 지정된다. 예를 들어, 관련이 없는 두 개체는 각각 클래스 I HLA-B, 유전자 B5, 및 Bw41을 보유할 수 있다. 대립유전자 유전자 생성물은 α 및/또는 β 도메인(들)에서 하나 이상의 아미노산이 상이하다. 클래스 I 및 클래스 II 분자를 발현하는 백혈구를 사용하여, 특정 항체 또는 핵산 시약의 큰 패널을 사용하여 개체의 HLA 일배체형을 유형화한다. HLA 유형화에 일반적으로 사용되는 유전자는 6개의 MHC 클래스 I 및 클래스 II 단백질, 각각의 HLA-A에 대한 2개의 대립유전자; HLA-B 및 HLA-DR이다. HLA 유전자는 염색체 위치 6p21에 존재하는 "슈퍼-유전자좌"에 클러스터링되는데, 이는 6개의 고전 이식 HLA 유전자 및 면역 시스템 뿐만 아니라 일부 다른 기본 분자 및 세포 과정의 조절에 중요한 역할을 하는 적어도 132개의 단백질 코딩 유전자를 인코딩한다. 완전한 유전자좌는 적어도 224개의 유전자좌를 갖는 대략 3.6 Mb를 측정한다. 이러한 클러스터링의 한 가지 효과는 한 부모로부터 물려받은 단일 염색체에 존재하는 "일배체형", 즉, 대립유전자의 세트가 그룹으로 물려받는 경향이 있다는 것이다. 각각의 부모로부터 물려받은 대립유전자의 세트는 일부 대립유

전자가 서로 회합되는 경향이 있는 일배체형을 형성한다. 일부 대립유전자 및 일배체형은 다른 것보다 더 일반적이고 이들은 상이한 인종 및 민족에 따라 다른 빈도로 분포되기 때문에, 환자의 일배체형을 식별하는 것은 매칭되는 공여자를 찾을 확률을 예측하고 검색 전략을 개발하는데 도움이 될 수 있다.

[0437] 본원에서 사용되는 용어 "HLA-매칭된"은, 예를 들어, 공여자가 조혈 줄기 세포 이식 요법을 필요로 하는 수용자에게 조혈 줄기 세포 이식편을 제공할 때, 공여자와 수용자 사이에 일치하지 않는 HLA 항원이 없는 공여자-수용자 쌍을 지칭한다. HLA-매칭된(즉, 6개의 대립유전자 모두가 일치하는) 공여자-수용자 쌍은 내인성 T 세포 및 NK 세포가 들어오는 이식편을 외래로 인식할 가능성이 적고, 따라서 이식에 대한 면역 반응을 일으킬 가능성이 낮으므로 감소된 이식편 거부 위험을 갖는다.

[0438] 본원에서 사용되는 용어 "HLA-미스매칭된"은, 예를 들어, 공여자가 조혈 줄기 세포 이식 요법을 필요로 하는 수용자에게 조혈 줄기 세포 이식편을 제공할 때, 특히 HLA-A, HLA-B 및 HLA-DR과 관련하여 적어도 하나의 HLA 항원이 공여자와 수용자 사이에서 일치하지 않는 공여자-수용자 쌍을 지칭한다. 일부 구체예에서, 하나의 일배체형은 매칭되고 다른 일배체형은 미스매칭된다. HLA-미스매칭된 공여자-수용자 쌍은, 내인성 T 세포 및 NK 세포가 HLA-미스매칭된 공여자-수용자 쌍의 경우에 들어오는 이식편을 외래로 인식할 가능성이 더 높기 때문에 HLA-매칭된 공여자-수용자 쌍에 비해 증가된 이식편 거부 위험을 갖고, 이러한 T 세포 및 NK 세포는 이식에 대한 면역 반응을 일으킬 가능성이 더 높다.

[0439] 본원에서 사용되는 용어 "인간 항체"는 단백질의 실질적으로 모든 부분(예를 들어, 모든 CDR, 프레임워크 영역, C_L , C_H 도메인(예를 들어, C_{H1} , C_{H2} , C_{H3}), 힌지, 및 V_L 및 V_H 도메인)이 인간에서 실질적으로 비-면역원성이고, 단지 약간의 서열 변화 또는 변동을 갖는 항체를 지칭한다. 인간 항체는 인간 세포에서(예를 들어, 재조합 발현에 의해) 또는 비인간 동물 또는 기능적으로 재배열된 인간 면역글로불린(예를 들어, 중쇄 및/또는 경쇄) 유전자를 발현할 수 있는 원핵생물 또는 진핵생물 세포에 의해 시험관내에서 생산될 수 있다. 인간 항체가 단일쇄 항체인 경우, 이는 천연 인간 항체에서 발견되지 않는 링커 펩티드를 포함할 수 있다. 예를 들어, Fv는 중쇄의 가변 영역과 경쇄의 가변 영역을 연결시키는 링커 펩티드, 예를 들어, 2 내지 약 8개의 글리신 또는 다른 아미노산 잔기를 함유할 수 있다. 이러한 링커 펩티드는 인간 기원인 것으로 간주된다. 인간 항체는 인간 면역글로불린 서열로부터 유래된 항체 라이브러리를 사용하는 파지 디스플레이 방법을 포함하는 당 분야에 공지된 다양한 방법에 의해 제조될 수 있다. 인간 항체는 또한 기능적 내인성 면역글로불린을 발현할 수 없지만 인간 면역글로불린 유전자를 발현할 수 있는 트랜스제닉 마우스를 사용하여 생산될 수 있다(예를 들어, PCT 공개 번호 WO1998/24893; WO1992/01047; WO1996/34096; WO1996/33735; U.S. 특허 번호 5,413,923; 5,625,126; 5,633,425; 5,569,825; 5,661,016; 5,545,806; 5,814,318; 5,885,793; 5,916,771; 및 5,939,598 참조). 한 구체예에서, 인간 항체는 항체의 당화 패턴이 이것이 자연적으로 존재했을 경우에 동일한 서열을 갖는 항체와 상이해지도록 재조합 방법을 사용하여 제조된다.

[0440] 본원에서 사용되는 용어 "인간화" 항체는 일반적으로 비인간 CDR 및 인간 프레임워크 영역으로부터의 아미노산 서열을 포함하는 키메라 항체를 지칭한다. 한 구체예에서, 인간화 항체는 수용자의 CDR로부터의 잔기가 비인간 중(공여자 항체), 예를 들어, 마우스, 래트, 토끼, 또는 요망되는 특이성, 친화성, 및/또는 능력을 갖는 비인간 영장류의 CDR로부터의 잔기로 대체된 인간 항체(수용자 항체)이다. 일반적으로, 인간화 항체는 CDR 영역의 전부 또는 실질적으로 전부가 비인간 면역글로불린의 것들과 일치하는 적어도 하나, 및 통상적으로 2개의 가변 도메인의 실질적으로 전부를 함유한다. 모든 또는 실질적으로 모든 FW 영역은 또한 인간 면역글로불린 서열의 것일 수 있다. 인간화 항체는 또한 면역글로불린 불변 영역(Fc)의 적어도 일부, 통상적으로 인간 면역글로불린 컨센서스 서열의 일부를 포함할 수 있다. 항체 인간화 방법은 당 분야에 공지되어 있고, 예를 들어, 문헌[Riechmann et al., Nature 332:323-327, 1988; U.S. Patent Nos: 5,530,101; 5,585,089; 5,693,761; 5,693,762; and 6,180,370]에 기술되어 있다.

[0441] 본원에서 사용되는 용어 "면역 세포"는 선천 또는 적응 면역 반응의 장착 및 유지에 참여하는 면역 시스템의 세포를 지칭한다. 면역 세포는 자가면역 세포의 경우에 자기 항원과 같은 관심 항원에 특이적으로 결합하고 이에 대한 면역 반응을 일으키는 수용체를 함유하는 림프구를 포함한다. 예시적인 면역 세포는 비만 세포, 호염기구, 호중구, 호산구, 미세아교세포, 과립구, 단핵구, 항원-제시 세포, 대식세포, 수지상 세포, 자연 살해 세포, T 림프구, 및 B 림프구를 포함한다.

[0442] 본원에서 사용되는 조혈 줄기 세포 이식을 "필요로 하는" 환자는 줄기 세포 장애를 갖는 환자 뿐만 아니라 하나 이상의 혈액 세포 유형에서 결함 또는 결핍을 나타내는 환자를 포함한다. 조혈 줄기 세포는 일반적으로 1) 다능성을 나타내어, 과립구(예를 들어, 전골수구, 호중구, 호산구, 호염기구), 적혈구(예를 들어, 망상 적혈구, 적

혈구), 혈전구(예를 들어, 거핵모구, 혈소판 생산 거핵세포, 혈소판), 단핵구(예를 들어, 단핵구, 대식세포), 수지상 세포, 미세아교세포, 과골세포, 및 림프구(예를 들어, NK 세포, B-세포 및 T-세포)를 포함하지만 이에 제한되지 않는 다수의 상이한 혈액 계통으로 분화될 수 있고, 2) 자기-재생을 나타내어, 모 세포와 동등한 잠재력을 갖는 딸 세포를 생성시킬 수 있고, 3) 이식 수용자에게 재도입되고 그 결과 조혈 줄기 세포 nich에 안착하여 생산적이고 지속적인 조혈을 재확립하는 능력을 나타낸다. 따라서, 조혈 줄기 세포는 생체내 결합 또는 결합 세포 집단을 재구성하기 위해 조혈 계통의 하나 이상의 세포 유형에 결합 또는 결합이 있는 환자에게 투여될 수 있다. 예를 들어, 환자는 암으로 고통받을 수 있고, 결합은 암성 세포 집단을 선택적으로 또는 비특이적으로 고갈시키는 화학치료제 또는 다른 약제의 투여에 의해 야기될 수 있다. 추가로 또는 대안적으로, 환자는 겸상 적혈구 빈혈, 지중해 빈혈, 판코니 빈혈, 및 위스코트-알드리치 증후군과 같은 하나 이상의 혈액 세포 유형에서 결합 또는 결합을 야기할 수 있는 비악성 혈액소병증으로 고통받을 수 있다. 대상체는 아데노신 데아미나제 중증 복합형 면역결핍증(ADA SCID), HIV/AIDS, 이염색백색질 장애, 다이아몬드-블랙판 빈혈, 및 슈바르만-다이아몬드 증후군으로 고통받는 대상체일 수 있다. 대상체는 유전적 혈액 장애(예를 들어, 겸상 적혈구 빈혈) 또는 자가면역 질환을 갖거나 이에 의해 영향을 받을 수 있다. 추가로 또는 대안적으로, 대상체는 악성 종양, 예를 들어, 혈액학적 암(예를 들어, 백혈병, 림프종, 다발성 골수종, 또는 골수형성이상 증후군) 및 신경모세포종으로 구성된 군으로부터 선택된 악성 종양을 갖거나 이에 의해 영향을 받을 수 있다. 일부 구체예에서, 대상체는 대사 장애를 갖거나 이에 의해 달리 영향을 받는다. 예를 들어, 대상체는 글리코겐 축적병, 뮤코다당질축적증, 고체병, 후롤리병, 스펅고지질증, 이염색백색질 장애로 구성된 군으로부터 선택된 대사 장애, 또는 본원에 기재된 치료 및 요법으로부터 이익을 얻을 수 있는 임의의 다른 질병 또는 장애 및 예를 들어, 비제한적으로, 중증 복합형 면역결핍증, 위스코트-알드리치 증후군, 고면역글로불린 M(IgM) 증후군, 체디악-히가시 질병, 유전성 림프조직구증, 골석화증, 골형성 부전증, 축적병, 중증성 지중해 빈혈, 겸상 적혈구 질병, 전신 경화증, 전신 홍반 루푸스, 다발성 경화증, 소아 류마티스 관절염 및 문헌["Bone Marrow Transplantation for Non-Malignant Disease," ASH Education Book, 1:319-338 (2000), 이의 개시는 조혈 줄기 세포 이식 요법의 투여에 의해 치료될 수 있는 병리에 관한 것으로 전문이 본원에 참조로서 포함된다]에 기재된 질병 또는 장애를 갖거나 이에 의해 달리 영향을 받을 수 있다. 추가로 또는 대안적으로, 조혈 줄기 세포 이식을 "필요로 하는" 환자는 상기 병리 중 하나로 고통받거나 고통받고 있지 않지만, 그럼에도 불구하고 조혈 계통 내의 하나 이상의 내인성 세포 유형, 예를 들어, 거핵세포, 혈전구, 혈소판, 적혈구, 비만 세포, 골수모세포, 호염기구, 호중구, 호산구, 미세아교세포, 과립구, 단핵구, 과골세포, 항원-제시 세포, 대식세포, 수지상 세포, 자연 살해 세포, T 림프구, 및 B 림프구의 감소된 수준(예를 들어, 다른 건강한 대상체와 비교하여)을 나타내는 환자일 수 있다. 당업자는, 예를 들어, 당 분야에 공지된 다른 절차 중에서 유세포분석 및 형광 활성화된 세포 분류(FACS) 방법에 의해, 상기 세포 유형 중 하나 이상 또는 다른 혈액 세포 유형의 수준이 다른 건강한 대상체와 관련하여 감소되는지 여부를 용이하게 결정할 수 있다.

[0443] 항체와 같은 단백질과 관련하여 사용될 때 용어 "분리된"은, 예를 들어, 이의 기원 또는 유래원에 의해 천연 상태에서 이를 수반하는 자연적으로 회합된 성분과 회합되지 않거나; 동일한 종으로부터의 다른 단백질이 실질적으로 없거나; 상이한 종으로부터의 세포에 의해 발현되거나; 자연에서 발생하지 않는 단백질을 지칭한다. 따라서, 화학적으로 합성되거나 이것이 자연적으로 유래하는 세포와 상이한 세포 시스템에서 합성되는 폴리펩티드는 이의 자연적으로 회합된 성분으로부터 "분리"된 것일 것이다. 단백질은 또한 당 분야에 널리 공지된 단백질 정제 기술을 이용하여, 분리에 의해 자연적으로 회합된 성분들이 실질적으로 없어질 수 있다.

[0444] 용어 "모노클로날 항체" 또는 "mAb"는 실질적으로 동종의 항체 집단으로부터 획득된 항체를 지칭하고, 즉, 집단을 구성하는 개별 항체는 가능한 변이체 항체, 예를 들어, 모노클로날 항체 제조물의 제조 동안 발생하는 자연 발생 돌연변이 또는 변이체(이러한 변이체는 소량으로 존재할 수 있다)를 제외하고는 동일하고/하거나 동일한 에피토프에 결합한다. 통상적으로 상이한 결정인자(에피토프)에 대해 유도된 상이한 항체를 포함하는 폴리클로날 항체 제조물과 대조적으로, 각각의 mAb는 항원 상의 단일 결정인자에 대해 유도된다. 수식어 "모노클로날"은 임의의 특정 방법에 의한 항체의 생산을 요구하는 것으로 해석되지 않아야 한다.

[0445] 본원에서 사용되는 용어 "약학적으로 허용되는"은 과도한 독성, 자극, 알레르기 반응 및 합리적인 이익/위험 비에 상응하는 다른 문제가 되는 합병증 없이 대상체, 예를 들어, 포유동물(예를 들어, 인간)의 조직과의 접촉에 적합한 화합물, 물질, 조성물 및/또는 투여 형태를 지칭한다.

[0446] 본원에서 사용되는 용어 "약학적 조성물"은 포유동물에 영향을 미치는 특정 질환 또는 상태, 예를 들어, 특히, 이를 테면, 본원에 기술된 바와 같은 자가면역 질환, 암, 또는 혈액 장애를 예방, 치료 또는 제어하기 위해, 대상체, 예를 들어, 포유동물, 예를 들어, 인간에게 투여되는 치료적 화합물을 함유하는 혼합물을 의미한다.

- [0447] 본원에서 사용되는 용어 "수용자"는 조혈 줄기 세포 집단을 함유하는 이식물과 같은 이식물을 수용하는 환자를 지칭한다. 수용자에게 투여된 이식된 세포는, 예를 들어, 자가, 동계, 또는 동종이계 세포일 수 있다.
- [0448] 조혈 줄기 세포 이식편과 같은 이식물과 관련하여 본원에서 사용되는 용어 "거부"는 수용자가 들어오는 이식물에 대해 면역 반응을 일으켜, 이식된 물질(예를 들어, 조혈 줄기 세포)이 수용자에서 유지되는 능력을 감소시키는 과정을 지칭한다. 조혈 줄기 세포 이식편과 같은 이식된 이식편의 거부는, 예를 들어, 이식 후 별개의 시점에 환자로부터 분리된 다양한 샘플에서 이식된 세포의 양 또는 농도를 측정함으로써 정량화될 수 있다. 환자로부터 분리된 샘플에서 이식된 세포의 양 또는 농도가 시간이 지남에 따라, 예를 들어, 약 20%, 약 25%, 약 30%, 약 35%, 약 40%, 약 56%, 약 50%, 약 55%, 약 60%, 약 65%, 약 70%, 약 75%, 약 80%, 약 85%, 약 90%, 약 95% 이상 감소하다는 발견은 환자가 이식 거부로 고통받는 것을 나타낸다. 반대로, 환자로부터 분리된 샘플에서 이식된 세포의 양 또는 농도가 시간이 지남에 따라, 예를 들어, 약 20%, 약 15%, 약 10%, 약 5% 이하 아래로 안정하게 유지된다는 발견은 환자가 이식 거부로 고통받지 않음을 나타낸다. 대안적으로, 이식편 거부는 이식 후 개별 시점에 환자로부터 분리된 다양한 샘플에서 이식된 세포에 의해 발현되는 MHC 항원과 교차 반응하는 면역 세포, 예를 들어, T 세포 및/또는 NK 세포의 양 또는 농도를 측정함으로써 정량화될 수 있다. 환자로부터 분리된 샘플에서 이식된 세포에 의해 발현되는 MHC 항원과 교차 반응하는 면역 세포, 예를 들어, T 세포 및/또는 NK 세포의 양 또는 농도가 시간이 지남에 따라, 예를 들어, 약 10%, 약 15%, 약 20%, 약 25%, 약 30%, 약 35%, 약 40%, 약 56%, 약 50%, 약 55%, 약 60%, 약 65%, 약 70%, 약 75%, 약 80%, 약 85%, 약 90%, 약 95%, 약 100%, 약 200%, 약 300% 이상 증가한다는 발견은 환자가 이식 거부로 고통받는 것을 나타낸다. 반대로, 환자로부터 분리된 샘플에서 이식된 세포에 의해 발현되는 MHC 항원과 교차 반응하는 면역 세포, 예를 들어, T 세포 및/또는 NK 세포의 양 또는 농도가 시간이 지남에 따라, 예를 들어, 약 20%, 약 25%, 약 30%, 약 35%, 약 40%, 약 56%, 약 50%, 약 55%, 약 60%, 약 65%, 약 70%, 약 75%, 약 80%, 약 85%, 약 90%, 약 95% 이상 감소한다는 발견은 환자가 이식 거부로 고통받지 않음을 나타낸다.
- [0449] 본원에서 사용되는 용어 "샘플"은 대상체로부터 취해진 검체(예를 들어, 혈액, 혈액 성분(예를 들어, 혈청 또는 혈장), 소변, 타액, 양수, 뇌척수액, 조직(예를 들어, 태반 또는 피부), 체장액, 용모막 용모 샘플, 및 세포)를 지칭한다.
- [0450] 본원에서 사용되는 용어 "scFv"는 항체로부터의 중쇄 및 경쇄의 가변 도메인이 연결되어 하나의 사슬을 형성한 단일쇄 Fv 항체를 지칭한다. ScFv 단편은 링커에 의해 분리된 항체 경쇄(V_L)의 가변 영역(예를 들어, CDR-L1, CDR-L2, 및/또는 CDR-L3) 및 항체 중쇄(V_H)의 가변 영역(예를 들어, CDR-H1, CDR-H2, 및/또는 CDR-H3)을 포함하는 단일 폴리펩티드 사슬을 함유한다. ScFv 단편의 V_L 및 V_H 영역을 연결하는 링커는 단백질생성 아미노산으로 구성된 펩티드 링커일 수 있다. 단백질 분해에 대한 scFv 단편의 내성을 증가시키기 위해(예를 들어, D-아미노산을 함유하는 링커), scFv 단편의 용해도를 향상시키기 위해(예를 들어, 친수성 링커, 예를 들어, 폴리에틸렌 글리콜-함유 링커 또는 반복되는 글리신 및 세린 잔기를 함유하는 폴리펩티드), 분자의 생물물리학적 안정성을 개선시키기 위해(예를 들어, 분자내 또는 분자간 디설파이드 결합을 형성하는 시스테인 잔기를 함유하는 링커), 또는 scFv 단편의 면역원성을 약화시키기 위해(예를 들어, 당화 부위를 함유하는 링커) 대안적인 링커가 사용될 수 있다. 또한, 본원에 기재된 scFv 분자의 가변 영역은 아미노산 서열이 이들이 유래된 항체 분자와 달라지도록 변형될 수 있음이 당업자에게 이해될 것이다. 예를 들어, 아미노산 잔기에서 보존적 치환 또는 변화를 초래하는 뉴클레오티드 또는 아미노산 치환은 상응하는 항체에 의해 인지되는 항원에 결합하는 scFv의 능력을 보존하거나 향상시키기 위해 이루어질 수 있다(예를 들어, CDR 및/또는 프레임워크 잔기에서).
- [0451] 항체 또는 항체 단편과 제2 화학 종의 상호작용과 관련하여 용어 "특이적 결합" 또는 "특이적으로 결합하는"은 상호작용이 화학 종 상의 특정 구조(예를 들어, 항원성 결정인자 또는 에피토프)의 존재에 의존하는 것을 의미하고; 예를 들어, 항체는 일반적으로 단백질이 아닌 특정 단백질 구조를 인지하고 이에 결합한다. 항체가 에피토프 "A"에 특이적인 경우, 표지된 "A" 및 항체를 함유하는 반응에서, 에피토프 A(또는 자유, 비표지된 A)를 함유하는 분자의 존재는 항체에 결합된 표지된 A의 양을 감소시킬 것이다. 한 구체예에서, 항체가 적어도 약 10^{-4} M, 약 10^{-5} M, 약 10^{-6} M, 약 10^{-7} M, 약 10^{-8} M, 약 10^{-9} M, 약 10^{-10} M, 약 10^{-11} M, 약 10^{-12} M 또는 그 미만(미만은 10^{-12} 보다 작은 수, 예를 들어, 10^{-13} 을 의미함)의 표적에 대한 K_D 를 갖는 경우, 항체는 CD2와 같은 표적에 특이적으로 결합한 것이다. 한 구체예에서, 본원에서 사용되는 용어 "CD2에 대한 특이적 결합" 또는 "CD2에 특이적으로 결합하는"은 표면 플라즈몬 공명에 의해 측정시, 1.0×10^{-7} M 이하의 해리 상수(K_D)를 갖고 CD2에 결합

하는 항체를 지칭한다. 한 구체예에서, K_b 는 표준 생체-층 간섭계(BLI)에 따라 측정된다. 그러나, 항체는 서열과 관련된 2개 이상의 항원에 특이적으로 결합할 수 있음이 이해되어야 한다. 예를 들어, 한 구체예에서, 항체는 CD2의 인간 및 비인간(예를 들어, 마우스 또는 비인간 영장류) 둘 모두의 오르쏘로그에 특이적으로 결합할 수 있다.

[0452] 본원에서 사용되는 용어 "대상체" 및 "환자"는 본원에 기술된 특정 질환 또는 상태에 대한 치료를 받는 인간과 같은 포유동물을 지칭한다. 예를 들어, 인간 환자와 같은 환자는 본원에 기재된 자가면역 질환으로 고통받는 환자일 수 있고, (i) 자가면역 세포 집단(예를 들어, 자가면역 CD2+ T 세포 및/또는 NK 세포 집단)을 고갈시키고/시키거나 (ii) 조혈 줄기 세포에 의해 발현되는 비-자기 항원(예를 들어, 비-자기 MHC 항원)과 교차 반응하는 CD2+ 면역 세포 집단(예를 들어, CD2+ T 세포 및/또는 NK 세포)를 고갈시켜, 조혈 줄기 세포 이식 요법 전에 이식 거부의 가능성을 예방하거나 감소시키기 위해 본원에 기재된 항-CD2 항체 또는 항체-약물 컨쥬게이트를 투여받을 수 있다.

[0453] 본원에서 사용되는 어구 "혈액으로부터 실질적으로 제거된"은 환자로부터 분리된 혈액 샘플에서의 치료제의 농도가 치료제가 통상적인 수단에 의해 검출될 수 없게 되었을 때(예를 들어, 치료제가 치료제를 검출하기 위해 사용되는 장치 또는 검정의 노이즈 임계값 이상으로 검출될 수 없게 되었을 때) 환자로의 치료제(예를 들어, 항-CD2 항체 또는 이의 항원-결합 단편)의 투여 후 시점을 지칭한다. 당 분야에 공지되거나 본원에 기술된 ELISA-기반 검출 검정과 같은 당 분야에 공지된 다양한 기술을 사용하여 항체 또는 항체 단편을 검출할 수 있다. 항체 및 항체 단편을 검출하기 위해 사용될 수 있는 추가적인 검정은 당 분야에 공지된 다른 것들 중에서 면역침전 기술 및 면역블롯 검정을 포함한다.

[0454] 본원에서 사용되는 어구 "줄기 세포 장애"는 대상체의 표적 조직을 조건화함으로써, 예를 들어, 표적 조직에서 내인성 T 세포 집단을 절제함으로써 및/또는 대상체의 표적 조직에서 줄기 세포를 생착 또는 이식함으로써 치료 또는 치유될 수 있는 임의의 질병, 장애, 또는 질환을 광범위하게 지칭한다. 예를 들어, 타입 I 당뇨병 환자는 조혈 줄기 세포 이식에 의해 치료되는 것으로 나타났으며, 본원에 기재된 조성물 및 방법에 따른 조건화로부터 이익을 얻을 수 있다. 본원에 기재된 조성물 및 방법을 사용하여 치료될 수 있는 추가적인 장애는 겸상 적혈구 빈혈, 지중해 빈혈, 판코니 빈혈, 위스코트-알드리치 증후군, ADA SCID, HIV/AIDS, 이염색백색질 장애, 다이아몬드-블랙판 빈혈, 및 슈바크만-다이아몬드 증후군을 비제한적으로 포함한다. 대상체는 유전적 혈액 장애(예를 들어, 겸상 적혈구 빈혈) 또는 자가면역 질환을 갖거나 이에 의해 영향을 받을 수 있다. 추가로 또는 대안적으로, 대상체는 악성 종양, 예를 들어, 혈액학적 암(예를 들어, 백혈병, 림프종, 다발성 골수종, 또는 골수형성 이상 증후군) 및 신경모세포종으로 구성된 군으로부터 선택된 악성 종양을 갖거나 이에 의해 영향을 받을 수 있다. 일부 구체예에서, 대상체는 대사 장애를 갖거나 이에 의해 달리 영향을 받는다. 예를 들어, 대상체는 글리코겐 축적병, 뮤코다당질축적증, 고체병, 후롤러병, 스팅고지질증, 이염색백색질 장애로 구성된 군으로부터 선택된 대사 장애, 또는 본원에 기재된 치료 및 요법으로부터 이익을 얻을 수 있는 임의의 다른 질병 또는 장애 및 예를 들어, 비제한적으로, 중증 복합형 면역결핍증, 위스코트-알드리치 증후군, 고면역글로불린 M(IgM) 증후군, 체디아-히가시 질병, 유전성 림프조직구증, 골석화증, 골형성 부전증, 축적병, 중증성 지중해 빈혈, 겸상 적혈구 질병, 전신 경화증, 전신 홍반 루푸스, 다발성 경화증, 소아 류마티스 관절염 및 문헌["Bone Marrow Transplantation for Non-Malignant Disease," ASH Education Book, 1:319-338 (2000), 이의 개시는 조혈 줄기 세포 이식 요법의 투여에 의해 치료될 수 있는 병리에 관한 것으로 전문이 본원에 참조로서 포함된다]에 기재된 질병 또는 장애를 갖거나 이에 의해 달리 영향을 받을 수 있다.

[0455] 본원에서 사용되는 용어 "트랜스펙션"은 원핵생물 또는 진핵생물 숙주 세포에 외인성 DNA의 도입을 위해 일반적으로 사용되는 임의의 광범위한 기술, 예를 들어, 전기천공, 리포펙션, 칼슘-포스페이트 침전, DEAE-텍스트란 트랜스펙션 등을 지칭한다.

[0456] 본원에서 사용되는 용어 "치료하다" 또는 "치료"는 치료학적 치료를 지칭하며, 여기서 목적은 바람직하지 않은 생리학적 변화 또는 장애를 예방하거나 늦추거나(줄이거나) 치료 중인 환자에서 유리한 표현형을 촉진하는 것이다. 유리하거나 요망되는 임상적 결과는 환자로부터 분리된 샘플에 존재하는 자가면역 세포의 양의 감소, 예를 들어, 자가면역 질환을 직접 치료하는 경우에 자기 항원, 또는 항-CD2 항체, 이의 항원-결합 단편, 및 조혈 줄기 세포 이식편의 투여에 의해 자가면역 질환을 치료하는 경우에 조혈 줄기 세포 이식 전에 조혈 줄기 세포에 의해 발현되는 비-자기 항원(예를 들어, 비-자기 MHC 항원)과 교차 반응하는 CD2+ T 세포 및/또는 NK 세포 집단의 양의 감소를 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 추가적인 유리한 결과는 조건화 요법 및 외인성 조혈 줄기 세포 이식편을 환자에게 후속 투여한 후 조혈 줄기 세포 이식을 필요로 하는 환자에서 조혈 줄기 세포의 세포

수 또는 상대 농도의 증가를 포함한다. 본원에 기술된 요법의 유리한 결과는 또한 조건화 요법 및 후속 조절 줄기 세포 이식 요법 후에 거핵세포, 혈전구, 혈소판, 적혈구, 비만 세포, 골수모세포, 호염기구, 호중구, 호산구, 미세아교세포, 과립구, 단핵구, 과골세포, 항원-제시 세포, 대식세포, 수지상 세포, 자연 살해 세포, T 림프구, 또는 B 림프구와 같은 조절 계통의 하나 이상의 세포의 세포 수 또는 상대 농도의 증가를 포함할 수 있다.

- [0457] 본원에서 사용되는 용어 "변이체" 및 "유도체"는 상호교환적으로 사용되며 본원에 기재된 화합물, 펩티드, 단백질, 또는 다른 물질의 자연 발생, 합성, 및 반합성 유사체를 지칭한다. 본원에 기재된 화합물, 펩티드, 단백질, 또는 다른 물질의 변이체 또는 유도체는 원래 물질의 생물학적 활성을 유지하거나 개선시킬 수 있다.
- [0458] 본원에서 사용되는 용어 "벡터"는 핵산 벡터, 예를 들어, 플라스미드, DNA 벡터, 플라스미드, RNA 벡터, 바이러스, 또는 다른 적합한 레플리콘을 포함한다. 본원에 기재된 발현 벡터는 폴리뉴클레오티드 서열 뿐만 아니라, 예를 들어, 단백질의 발현 및/또는 이러한 폴리뉴클레오티드 서열의 포유동물 세포의 계놈으로의 통합에 사용되는 추가적인 서열 요소를 함유할 수 있다. 본 발명의 항체 및 항체 단편의 발현에 사용될 수 있는 특정 벡터는 유전자 전사를 지시하는 조절 서열, 예를 들어, 프로모터 및 인핸서 영역을 함유하는 플라스미드를 포함한다. 항체 및 항체 단편의 발현을 위한 다른 유용한 벡터는 이러한 유전자의 번역 속도를 향상시키거나 유전자 전사로부터 초래되는 mRNA의 안정성 또는 핵 배출을 개선시키는 폴리뉴클레오티드 서열을 함유한다. 이들 서열 요소는, 예를 들어, 발현 벡터 상에 운반되는 유전자의 효율적인 전사를 지시하기 위해 5' 및 3' 비번역 영역 및 폴리아데닐화 신호 부위를 포함할 수 있다. 본원에 기재된 발현 벡터는 또한 이러한 벡터를 함유하는 세포의 선택을 위한 마커를 인코딩하는 폴리뉴클레오티드를 함유할 수 있다. 적합한 마커의 예는 암피실린, 클로람페니콜, 카나마이신, 및 노르세오트리신(nourseothricin)과 같은 항생제에 대한 내성을 인코딩하는 유전자를 포함한다.
- [0459] 본원에서 사용되는 용어 "알킬"은, 예를 들어, 사슬에 1 내지 20개의 탄소 원자를 갖는 직쇄 또는 분지쇄 알킬기를 지칭한다. 알킬 기의 예는 메틸, 에틸, n-프로필, 이소프로필, 부틸, 이소부틸, 2차-부틸, 3차-부틸, 펜틸, 이소펜틸, 3차-펜틸, 헥실, 이소헥실 등을 포함한다.
- [0460] 본원에서 사용되는 용어 "알킬렌"은 직쇄 또는 분지쇄 이가 알킬기를 지칭한다. 이가 위치는 알킬 사슬 내에서 동일하거나 상이한 원자 상에 있을 수 있다. 알킬렌의 예는 메틸렌, 에틸렌, 프로필렌, 이소프로필렌 등을 포함한다.
- [0461] 본원에서 사용되는 용어 "헤테로알킬"은, 예를 들어, 사슬 내에 1 내지 20개의 탄소 원자를 갖고 하나 이상의 헤테로원자(예를 들어, 특히, 산소, 질소 또는 황)를 사슬에 추가로 함유하는 직쇄 또는 분지쇄 알킬기를 지칭한다.
- [0462] 본원에서 사용되는 용어 "헤테로알킬렌"은 직쇄 또는 분지쇄 이가 헤테로알킬기를 지칭한다. 이가 위치는 헤테로알킬 사슬 내에서 동일하거나 상이한 원자 상에 있을 수 있다. 이가 위치는 하나 이상의 헤테로원자일 수 있다.
- [0463] 본원에서 사용되는 용어 "알케닐"은, 예를 들어, 사슬에 2 내지 20개의 탄소 원자를 갖는 직쇄 또는 분지쇄 알케닐기를 지칭한다. 알케닐 기의 예는 비닐, 프로페닐, 이소프로페닐, 부테닐, 3차-부틸레닐, 헥세닐 등을 포함한다.
- [0464] 본원에서 사용되는 용어 "알케닐렌"은 직쇄 또는 분지쇄 이가 알케닐기를 지칭한다. 이가 위치는 알케닐 사슬 내에서 동일하거나 상이한 원자 상에 있을 수 있다. 알케닐렌의 예는 에테닐렌, 프로페닐렌, 이소프로페닐렌, 부테닐렌 등을 포함한다.
- [0465] 본원에서 사용되는 용어 "헤테로알케닐"은, 예를 들어, 사슬 내에 2 내지 20개의 탄소 원자를 갖고 하나 이상의 헤테로원자(예를 들어, 특히, 산소, 질소 또는 황)를 사슬에 추가로 함유하는 직쇄 또는 분지쇄 알케닐기를 지칭한다.
- [0466] 본원에서 사용되는 용어 "헤테로알케닐렌"은 직쇄 또는 분지쇄 이가 헤테로알케닐기를 지칭한다. 이가 위치는 헤테로알케닐 사슬 내에서 동일하거나 상이한 원자 상에 있을 수 있다. 이가 위치는 하나 이상의 헤테로원자일 수 있다.
- [0467] 본원에서 사용되는 용어 "알킬닐"은, 예를 들어, 사슬에 2 내지 20개의 탄소 원자를 갖는 직쇄 또는 분지쇄 알킬닐기를 지칭한다. 알킬닐 기의 예는 프로파길, 부티닐, 펜티닐, 헥시닐 등을 포함한다.
- [0468] 본원에서 사용되는 용어 "알킬닐렌"은 직쇄 또는 분지쇄 이가 알킬닐기를 지칭한다. 이가 위치는 알킬닐 사슬

내에서 동일하거나 상이한 원자 상에 있을 수 있다.

- [0469] 본원에서 사용되는 용어 "헤테로알킬닐"은, 예를 들어, 사슬 내에 2 내지 20개의 탄소 원자를 갖고 하나 이상의 헤테로원자(예를 들어, 특히, 산소, 질소 또는 황)를 사슬에 추가로 함유하는 직쇄 또는 분지쇄 알킬닐 기를 지칭한다.
- [0470] 본원에서 사용되는 용어 "헤테로알킬닐렌"은 직쇄 또는 분지쇄 이가 헤테로알킬닐 기를 지칭한다. 이가 위치는 헤테로알킬닐 사슬 내에서 동일하거나 상이한 원자 상에 있을 수 있다. 이가 위치는 하나 이상의 헤테로원자일 수 있다.
- [0471] 본원에서 사용되는 용어 "사이클로알킬"은, 예를 들어, 3 내지 12개의 탄소 고리 원자를 갖는 포화된 모노사이클릭, 또는 융합된, 브릿징된, 또는 스피로 폴리사이클릭 고리 구조를 지칭한다. 사이클로알킬 기의 예는 사이클로프로필, 사이클로부틸, 사이클로펜틸, 사이클로헥실, 사이클로헵틸, 사이클로옥틸, 바이사이클로[3.1.0]헥산 등을 포함한다.
- [0472] 본원에서 사용되는 용어 "사이클로알킬렌"은 이가 사이클로알킬 기를 지칭한다. 이가 위치는 고리 구조 내에서 동일하거나 상이한 원자 상에 있을 수 있다. 사이클로알킬렌의 예는 사이클로프로필렌, 사이클로부틸렌, 사이클로펜틸렌, 사이클로헥실렌 등을 포함한다.
- [0473] 본원에서 사용되는 용어 "헤테로사이클로알킬"은, 예를 들어, 고리 구조 당 탄소 원자 및, 특히, 예를 들어, 질소, 산소, 및 황으로부터 선택된 헤테로원자로부터 선택되는 3 내지 12개의 고리 원자를 갖는 포화된 모노사이클릭, 또는 융합된, 브릿징된, 또는 스피로 폴리사이클릭 고리 구조를 지칭한다. 고리 구조는, 예를 들어, 탄소, 질소, 또는 황 고리 구성원 상에 하나 이상의 옥소 기를 함유할 수 있다. 헤테로사이클로알킬의 예는 일례로써 그리고 비제한적으로, 디하이드로피리딘, 테트라하이드로피리딘(피페리딘), 테트라하이드로티오펜, 피페리디닐, 4-피페리도닐, 피롤리디닐, 2-피롤리도닐, 테트라하이드로푸라닐, 테트라하이드로피라닐, 비스-테트라하이드로피라닐, 테트라하이드로퀴놀리닐, 테트라하이드로이소퀴놀리닐, 데카하이드로퀴놀리닐, 옥타하이드로이소퀴놀리닐, 피페라지닐, 퀴누클리디닐, 및 모르폴리닐을 포함한다.
- [0474] 본원에서 사용되는 용어 "헤테로사이클로알킬렌"은 이가 헤테로사이클로알킬 기를 지칭한다. 이가 위치는 고리 구조 내에서 동일하거나 상이한 원자 상에 있을 수 있다.
- [0475] 본원에서 사용되는 용어 "아릴"은, 예를 들어, 6 내지 19개의 탄소 원자를 함유하는 모노사이클릭 또는 멀티사이클릭 방향족 고리 시스템을 지칭한다. 아릴 기는 페닐, 플루오레닐, 나프틸 등을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 이가 위치는 하나 이상의 헤테로원자일 수 있다.
- [0476] 본원에서 사용되는 용어 "아릴렌"은 이가 아릴 기를 지칭한다. 이가 위치는 동일하거나 상이한 원자 상에 있을 수 있다.
- [0477] 본원에서 사용되는 용어 "헤테로아릴"은 하나 이상의 고리 원자가 헤테로원자, 예를 들어, 질소, 산소 또는 황인 모노사이클릭 헤테로방향족, 또는 바이사이클릭 또는 트리사이클릭 융합 고리 헤테로방향족 기를 지칭한다. 헤테로아릴 기는 피리딘, 피롤릴, 푸릴, 티에닐, 이미다졸릴, 옥사졸릴, 이속사졸릴, 티아졸릴, 이소티아졸릴, 피라졸릴, 1,2,3-트리아졸릴, 1,2,4-트리아졸릴, 1,2,3-옥사디아졸릴, 1,2,4-옥사디아졸릴, 1,2,5-옥사디아졸릴, 1,3,4-옥사디아졸릴, 1,3,4-트리아지닐, 1,2,3-트리아지닐, 벤조푸릴, [2,3-디하이드로]벤조푸릴, 이소벤조푸릴, 벤조티에닐, 벤조트리아졸릴, 이소벤조티에닐, 인돌릴, 이소인돌릴, 3H-인돌릴, 벤즈이미다졸릴, 이미다조[1,2-a]피리딘, 벤조티아졸릴, 벤즈옥사졸릴, 퀴놀리지닐, 퀴나졸리닐, 프탈라지닐, 퀴녹살리닐, 신놀리닐, 나프티리디닐, 피리도[3,4-b]피리딘, 피리도[3,2-b]피리딘, 피리도[4,3-b]피리딘, 퀴놀릴, 이소퀴놀릴, 테트라졸릴, 5,6,7,8-테트라하이드로퀴놀릴, 5,6,7,8-테트라하이드로이소퀴놀릴, 퓨리닐, 프테리디닐, 카르바졸릴, 크산테닐, 벤조퀴놀릴 등을 포함한다.
- [0478] 본원에서 사용되는 용어 "헤테로아릴렌"은 이가 헤테로아릴 기를 지칭한다. 이가 위치는 동일하거나 상이한 원자 상에 있을 수 있다. 이가 위치는 하나 이상의 헤테로원자일 수 있다.
- [0479] 개별 치환기의 정의에 의해 달리 제한하지 않는 한, 상기 화학적 모이어티, 예를 들어, "알킬", "알킬렌", "헤테로알킬", "헤테로알킬렌", "알케닐", "알케닐렌", "헤테로알케닐", "헤테로알케닐렌", "알킬닐", "알킬닐렌", "헤테로알킬닐", "헤테로알킬닐렌", "사이클로알킬", "사이클로알킬렌", "헤테로사이클로알킬", "헤테로사이클로알킬렌", "아릴", "아릴렌", "헤테로아릴", 및 "헤테로아릴렌" 기는, 예를 들어, 알킬, 알케닐, 알킬닐, 사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬, 알킬 아릴, 알킬 헤테로아릴, 알킬 사이클로알킬, 알킬 헤테로사이클로알킬, 아미

노, 암모늄, 아실, 아실옥시, 아실아미노, 아미노카르보닐, 알콕시카르보닐, 우레이도, 카르바메이트, 아릴, 헤테로아릴, 설퍼닐, 설포닐, 알콕시, 설퍼닐, 할로젠, 카르복시, 트리할로메틸, 시아노, 하이드록시, 메르캅토, 니트로 등으로 구성된 군으로부터 선택된 1 내지 5개의 치환기로 임의로 치환될 수 있다. 통상적인 치환기는 $-X$, $-R$, $-OH$, $-OR$, $-SH$, $-SR$, NH_2 , $-NHR$, $-N(R)_2$, $-N^+(R)_3$, $-CX_3$, $-CN$, $-OCN$, $-SCN$, $-NCO$, $-NCS$, $-NO$, $-NO_2$, $-N_3$, $-NC(=O)H$, $-NC(=O)R$, $-C(=O)H$, $-C(=O)R$, $-C(=O)NH_2$, $-C(=O)N(R)_2$, $-SO_3^-$, $-SO_3H$, $-S(=O)_2R$, $-OS(=O)_2OR$, $-S(=O)_2NH_2$, $-S(=O)_2N(R)_2$, $-S(=O)R$, $-OP(=O)(OH)_2$, $-OP(=O)(OR)_2$, $-P(=O)(OR)_2$, $-PO_3$, $-PO_3H_2$, $-C(=O)X$, $-C(=S)R$, $-CO_2H$, $-CO_2R$, $-CO_2^-$, $-C(=S)OR$, $-C(=O)SR$, $-C(=S)SR$, $-C(=O)NH_2$, $-C(=O)N(R)_2$, $-C(=S)NH_2$, $-C(=S)N(R)_2$, $-C(=NH)NH_2$, 및 $-C(=NR)N(R)_2$ 를 포함하지만 이에 제한되지 않으며; 여기서 각각의 X는 각 경우에 F, Cl, Br 및 I로부터 독립적으로 선택되고; 각각의 R은 알킬, 아릴, 헤테로사이클로알킬 또는 헤테로아릴, 보호기 및 프로드럭 모이어티로부터 독립적으로 선택된다. 기가 "임의로 치환된" 것으로 기술된 경우, 그 기는 각 경우에 독립적으로 상기 치환기 중 하나 이상으로 치환될 수 있다. 치환은 이웃한 치환기들이 고리 폐쇄를 겪는 상황, 예를 들어, 인접한 작용성 치환기의 고리 폐쇄를 포함하여, 고리 폐쇄에 의해 형성된, 이를 테면, 락탐, 락톤, 사이클릭 무수물, 아세탈, 헤미아세탈, 티오아세탈, 아미날, 및 헤미아미날을 형성하여, 예를 들어, 보호기를 제공할 수 있다.

[0480] 특정 라디칼 명명 규칙은 상황에 따라 모노-라디칼 또는 디-라디칼을 포함할 수 있음이 이해되어야 한다. 예를 들어, 치환기가 분자의 나머지에 2개의 부착점을 필요로 하는 경우, 치환기는 디-라디칼인 것으로 이해된다. 예를 들어, 2개의 부착점을 필요로 하는 알킬로서 확인된 치환기는 $-CH_2-$, $-CH_2CH_2-$, $-CH_2CH(CH_3)CH_2-$ 등과 같은 디-라디칼을 포함한다. 다른 라디칼 명명 규칙은 라디칼이 "알킬렌", "알케닐렌", "아릴렌", "헤테로사이클로알킬렌" 등과 같은 디-라디칼임을 명확하게 나타낸다.

[0481] 치환기가 디-라디칼(즉, 분자의 나머지에 2개의 부착점을 가짐)로 묘사된 경우, 치환기는 달리 지시되지 않는 한 임의의 방향 구성으로 부착될 수 있는 것으로 이해되어야 한다.

[0482] 항-CD2 항체

[0483] 본 발명은 항-CD2 항체 또는 이의 항원-결합 단편이, 예를 들어, CD2+ 암 세포(예를 들어, CD2+ 백혈병 세포) 및 CD2+ 자가면역 세포(예를 들어, CD2+ 자가면역 T 세포 및/또는 NK 세포)를 사멸시키는 이러한 체제의 능력으로 인해, 암 및 자가면역 질환을 직접 치료하는데 사용될 수 있다는 발견에 부분적으로 기초한다. 특히, 본원에 기재된 항-CD2 항체는 링커를 통해 세포독소에 컨쥬게이션된다. 따라서, 항-CD2 항체가 기술된 경우, 달리 지시되지 않는 한 이의 컨쥬게이트도 고려된다.

[0484] 본 발명은 추가로 CD2에 결합할 수 있는 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 면역 세포-매개 이식편 거부 가능성 예방하거나 감소시킴으로써 이식 요법을 필요로 하는 환자에서 이식된 조혈 줄기 세포의 생착을 촉진하는 치료제로서 사용될 수 있다는 발견에 부분적으로 기초한다. 예를 들어, 항-CD2 항체 및 항원 결합 단편은 하나 이상의 비-자기 조혈 줄기 세포 항원, 예를 들어, 조혈 줄기 세포에 의해 발현되는 하나 이상의 비-자기 MHC 항원과 교차 반응하고 이에 대한 면역 반응을 일으키는 T 세포 또는 NK 세포와 같은 면역 세포에 의해 발현되는 세포-표면 CD2에 결합할 수 있다. 이러한 항체 및 항원-결합 단편의 조혈 줄기 세포-특이적 CD2+ 면역 세포에 대한 결합은, 예를 들어, 항체-의존적 세포-매개 세포독성에 의해 또는 항체 또는 이의 항원-결합 단편에 컨쥬게이션된 세포독성제의 작용에 의해, 결합된 면역 세포의 사멸을 유도할 수 있다. 따라서, 비-자기 조혈 줄기 세포와 교차 반응하는 CD2+ 면역 세포 집단의 고갈은 들어오는 이식편에 대한 면역 반응을 일으키는 수용자의 면역 시스템의 능력을 약화시킴으로써 이를 필요로 하는 환자에서 조혈 줄기 세포 이식물의 생착을 용이하게 할 수 있다. 이러한 방식으로, 조혈 줄기 세포 이식이 대상체에서 결합 및/또는 결핍이 있는 세포 계통을 다시 채우기 위해 대상체에게 제공될 수 있으므로, 본원에 기재된 줄기 세포 장애, 암, 자가면역 질환, 또는 다른 혈액 장애로 고통받는 환자를 치료할 수 있다. 대상체는, 예를 들어, 암성 세포를 근절하기 위해 대상체에게 투여되었지만 그 과정에서 건강한 조혈 세포도 고갈시킨 화학요법으로 인해, 세포 집단이 결핍될 수 있다.

[0485] 예를 들어, 본 발명은 따라서 T 세포에 의해 발현된 항원에 결합할 수 있는 항체 또는 이의 항원-결합 단편의 투여에 의해 이식된 조혈 줄기 세포의 생착을 촉진하는 조성물 및 방법을 제공한다. 이러한 투여는 내인성 T 세포 집단, 예를 들어, CD4+ 및 CD8+ T 세포의 선택적인 고갈을 야기할 수 있다. T 세포의 이러한 선택적인 고갈은 결국 외인성(예를 들어, 자가, 동종이계, 또는 동계) 조혈 줄기 세포 이식편의 이식 후 이식편 거부를 예방할 수 있다. 예를 들어, 항-CD2 항체, 항원-결합 단편, 항체-약물 컨쥬게이트, 또는 본원에 기재된 항체-약물

컨쥬게이트를 사용한 CD4+ 및/또는 CD8+ T 세포의 선택적인 고갈은 이식된 조혈 줄기 세포 이식편에 대해 발생할 수 있는 T 세포-매개 면역 반응을 약화시킬 수 있다. 본 발명은 CD2에 결합할 수 있는 항체 및 이의 항원-결합 단편이 이식된 조혈 줄기 세포의 생존 및 생착 가능성을 증진시키기 위해 조혈 줄기 세포 이식 요법을 필요로 하는 환자에게 투여될 수 있다는 발견에 부분적으로 기초한다.

[0486] 항-CD2 항체 또는 이의 항원-결합 단편의 투여로 인한 조혈 줄기 세포 이식물의 생착은 다양한 경험적 측정에서 분명해질 수 있다. 예를 들어, 이식된 조혈 줄기 세포의 생착은 CD2에 결합할 수 있는 항체 또는 이의 항원-결합 단편의 투여 및 조혈 줄기 세포 이식물의 후속 투여 후 환자의 골수 내에 존재하는 경쟁적 재집단화 단위(CRU)의 양을 평가함으로써 평가될 수 있다. 추가로, 형광, 발색, 또는 발광 생성물을 생성하는 화학적 반응을 촉매화하는 효소와 같은 리포터 유전자를 공여자 조혈 줄기 세포가 트랜스펙션된 벡터에 도입하고, 후속하여 골수와 같은 조혈 줄기 세포가 안착된 조직에서 상응하는 신호를 모니터링함으로써 조혈 줄기 세포 이식물의 생착을 관찰할 수 있다. 예를 들어, 당 분야에 공지된 형광 활성화 세포 분류(FACS) 분석 방법에 의해 결정된 바와 같이 조혈 줄기 및 전구 세포의 양 및 생존을 평가함에 의해 조혈 줄기 세포 생착을 또한 관찰할 수 있다. 생착은 이식 후 기간 동안 말초 혈액에서 백혈구 수를 측정하고/하거나 골수 흡인물 샘플에서 공여자 세포에 의한 골수 세포의 회복을 측정함으로써 또한 결정될 수 있다.

[0487] 하기 섹션은 조혈 줄기 세포 이식편의 생착을 촉진하기 위해 조혈 줄기 세포 이식 요법을 필요로 하는 환자에게 투여될 수 있는 항체 또는 이의 항원-결합 단편에 대한 설명, 뿐만 아니라 조혈 줄기 세포 이식 전에 환자에게 이러한 치료제를 투여하는 방법을 제공한다.

[0488] 예시적인 항체

[0489] 본원에 기재된 조성물 및 방법은 인간 CD2에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 단편을 포함한다. 인간 CD2는 또한 T-세포 표면 항원 T11/Leu-5, T11, CD2 항원(p50), 및 양 적혈구 수용체(SRBC)로도 지칭된다. CD2는 T 세포에서 발현된다. 인간 CD2의 2개의 아이소형이 확인되었다. 아이소형 1은 351개의 아미노산을 함유하며, 문헌 [Seed, B. et al. (1987) Nat.Acad.84: 3365-69 (또한 Sewell et al. (1986) Nat.Acad.83: 8718-22 참조) 및 하기 (NCBI 참조 서열: NP_001758.2)]에 기술되어 있다:

```
msfpckfvas fllifnvssk gavskeitna letwgalgqd inldipsfqn sddiddikwe
ktsdkkkiaq frkeketfke kdtlyklfkng tlkikhklt ddiykvsy dtkgknvlek
ifdlkigerv skpkiswtci nttltcevnm gtdpelnyq dgkhlklsqr vithkwttsl
sakfkctagn kvskevssvep vscpekgldi yliigicggg slmvfvall vfyitkrkkq
rsrrndelee trahrivatee rgrkphqipa stpqnatsq hpppppghrs qapshrprrp
ghrvqhqpqk rppapsqtqv hqkqgpplpr prvpqkpphg aaenslspss n (SEQ ID NO: 13)
```

[0490] CD2의 제2 아이소형은 377개 아미노산이고 본원에서 NCBI 참조 서열: NP_001315538.1로 확인된다.

[0492] T 세포 및 NK 세포는 세포 부착 분자이며 이러한 림프구에 특이적인 마커인 CD2를 발현하는 것으로 나타났다. 예를 들어, CD2는 림프구 기능-관련 항원-3(LFA-3/CD58)과 같은 다른 부착 분자와 상호작용하여 T 세포 활성화를 강화시킨다. CD2에 결합할 수 있는 항체 및 이의 항원-결합 단편은, 예를 들어, CD2와 LFA-3 사이의 상호작용을 억제함으로써 조혈 줄기 세포 이식편에 대한 T 세포 활성화 및 T 세포-매개 면역 반응을 억제할 수 있다. 이러한 세포-표면 항원에 결합하는 항체 및 이의 항원-결합 단편은 면역화, 전산 모델링 기술, 및 하기 기술된 파지 디스플레이 및 세포-기반 디스플레이 플랫폼과 같은 시험관내 선택 방법을 포함하는 당 분야에 공지되고 본원에 설명된 기술을 사용하여 확인될 수 있다.

[0493] 본 발명은 CD2 폴리펩티드, 예를 들어, 인간 CD2 폴리펩티드에 특이적으로 결합하는 항체 및 이의 항원-결합 단편, 및 이의 용도를 포함한다. 예시적인 구체예에서, CD2 폴리펩티드에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함한다.

[0494] 한 구체예에서, 중쇄 가변 영역은 하나 이상의 상보성 결정 영역(CDR)을 포함한다. 한 구체예에서, 중쇄 가변 영역은 SEQ ID NO:1의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1을 포함한다. 한 구체예에서, 중쇄 가변 영역은 SEQ ID NO:2의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2를 포함한다. 한 구체예에서, 중쇄 가변 영역은 SEQ ID NO:3의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함한다. 한 구체예에서, 중쇄 가변 영역은 SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, 및 SEQ ID NO:3으로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 VH CDR을 포함한다. 한 구체예에서, 중쇄 가변 영역은 SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, 및 SEQ ID NO:3으로 구성된 군으로부터 선택된 2개 이상의 VH CDR을 포함한다. 한 구체예에서, 중쇄 가변 영역은 SEQ ID NO:1을 포함하는 VH CDR1, SEQ ID NO:2를 포함하는 VH CDR2, 및 SEQ ID NO:3

을 포함하는 VH CDR3을 포함한다.

- [0495] 한 구체예에서, 경쇄 가변 영역은 하나 이상의 상보성 결정 영역(CDR)을 포함한다. 한 구체예에서, 경쇄 가변 영역은 SEQ ID NO:4의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1을 포함한다. 한 구체예에서, 경쇄 가변 영역은 SEQ ID NO:5의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2를 포함한다. 한 구체예에서, 경쇄 가변 영역은 SEQ ID NO:6의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함한다. 한 구체예에서, 경쇄 가변 영역은 SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:5, 및 SEQ ID NO:6으로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 VL CDR을 포함한다. 한 구체예에서, 경쇄 가변 영역은 SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:5, 및 SEQ ID NO:6으로 구성된 군으로부터 선택된 2개 이상의 VL CDR을 포함한다. 한 구체예에서, 경쇄 가변 영역은 SEQ ID NO:4를 포함하는 VL CDR1, SEQ ID NO:5를 포함하는 VL CDR2, 및 SEQ ID NO:6을 포함하는 VL CDR3을 포함한다.
- [0496] 예시적인 구체예에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 SEQ ID NO:1을 포함하는 VH CDR1, SEQ ID NO:2를 포함하는 VH CDR2, 및 SEQ ID NO:3을 포함하는 VH CDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및 SEQ ID NO:4를 포함하는 VL CDR1, SEQ ID NO:5를 포함하는 VL CDR2, 및 SEQ ID NO:6을 VL CDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다.
- [0497] 특정 구체예에서, CDR 중 하나 이상(즉, SEQ ID NO: 1-3을 갖는 하나 이상의 중쇄 CDR, 및/또는 SEQ ID NO: 4-6을 하나 이상의 경쇄 CDR)은 항체의 CD2 특이성(즉, SEQ ID NO: 1 내지 3의 중쇄 CDR 및 SEQ ID NO: 4 내지 6의 경쇄 CDR을 포함하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편과 유사한 특이성)을 유지하면서 보존적 아미노산 치환(또는 2, 3, 4, 또는 5개의 아미노산 치환)을 포함할 수 있다.
- [0498] 한 구체예에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 SEQ ID NO: 7에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함한다. 다른 구체예에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 SEQ ID NO: 7과 적어도 95% 동일성, 예를 들어, SEQ ID NO: 7과 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함한다. 특정 구체예에서, 항체는 SEQ ID NO: 7을 포함하는 HC 가변 도메인 또는 SEQ ID NO: 7의 변이체를 포함하는 변형된 중쇄(HC) 가변 영역을 포함하고, 변이체는 (i) 1, 2, 3, 4, 또는 5개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실에 있어 SEQ ID NO: 7과 상이하고/하거나; (ii) 최대 5, 4, 3, 2, 또는 1개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실에 있어 SEQ ID NO: 7과 상이하고/하거나; (iii) 1-5, 1-3, 1-2, 2-5 또는 3-5개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실에 있어 SEQ ID NO: 7과 상이하고/하거나 (iv) SEQ ID NO: 7과 적어도 약 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하고, 임의의 (i)-(iv)에서, 아미노산 치환은 보존적 아미노산 치환 또는 비보존적 아미노산 치환일 수 있고; 여기서 변형된 중쇄 가변 영역은 항체의 CD2 결합 특이성을 유지하면서, 즉, SEQ ID NO: 7을 포함하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편과 유사한 결합 특이성을 가지며, SEQ ID NO: 7의 중쇄 가변 영역에 비해 향상된 생물학적 활성을 가질 수 있다. 한 구체예에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 1, 2, 3 또는 4개의 아미노산에서 SEQ ID NO: 7에 제시된 아미노산 서열과 상이한 중쇄 가변 영역을 포함한다. 예를 들어, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 위치 12, 13, 28, 및/또는 48 중 1, 2, 3 또는 4개에서 SEQ ID NO: 7에 제시된 아미노산 서열과 상이한 중쇄 가변 영역을 포함한다. 한 구체예에서, 중쇄 가변 영역은 위치 12, 13, 28, 및 48에서 SEQ ID NO:7에 제시된 아미노산 서열과 상이하다. 한 구체예에서, 중쇄 가변 영역은 SEQ ID NO:7에 제시된 서열과 관련하여 다음 치환 중 1, 2, 3, 또는 4개를 포함한다: K12Q; K13R; T28I; 및 M48V. 한 구체예에서, 중쇄 가변 영역은 SEQ ID NO:7과 관련하여 치환 K12Q; K13R; T28I; 및 M48V를 포함한다.
- [0499] 한 구체예에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 SEQ ID NO: 8에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 다른 구체예에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 SEQ ID NO: 8과 적어도 95% 동일성, 예를 들어, SEQ ID NO: 8과 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 특정 구체예에서, 항체는 SEQ ID NO: 8을 포함하는 LC 가변 도메인 또는 SEQ ID NO: 8의 변이체를 포함하는 변형된 경쇄(LC) 가변 영역을 포함하고, 변이체는 (i) 1, 2, 3, 4, 또는 5개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실에 있어 SEQ ID NO: 8과 상이하고/하거나; (ii) 최대 5, 4, 3, 2, 또는 1개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실에 있어 SEQ ID NO: 8과 상이하고/하거나; (iii) 1-5, 1-3, 1-2, 2-5 또는 3-5개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실에 있어 SEQ ID NO: 8과 상이하고/하거나 (iv) SEQ ID NO: 8과 적어도 약 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하고, 임의의 (i)-(iv)에서, 아미노산 치환은 보존적 아미노산 치환 또는 비보존적 아미노산 치환일 수 있고; 여기서 변형된 경쇄 가변 영역은 항체의 CD2 결합 특이성을 유지하면서, 즉, SEQ ID NO: 8을 포함하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편과 유사한 결합 특이성을 가지며, SEQ ID NO: 8의 경쇄 가변 영역에 비해 향상된 생물학적 활성을 가질 수 있다.
- [0500] 예시적인 구체예에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 SEQ ID NO: 7과 적어도 95% 동일성, 예를 들어, SEQ ID

NO: 7과 적어도 약 95%, 약 96%, 약 97%, 약 98%, 약 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및 SEQ ID NO: 8과 적어도 약 95% 동일성, 예를 들어, SEQ ID NO: 8과 적어도 약 95%, 약 96%, 약 97%, 약 98%, 약 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 한 구체예에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 SEQ ID NO:7을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및 SEQ ID NO:8을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 한 구체예에서, 항체는 SEQ ID NO:7을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및 SEQ ID NO:8을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 Ab1 항체이다.

[0501] 한 구체예에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 SEQ ID NO: 9에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함한다. 다른 구체예에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 SEQ ID NO: 9와 적어도 95% 동일성, 예를 들어, SEQ ID NO: 9와 적어도 약 95%, 약 96%, 약 97%, 약 98%, 약 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함한다. 예시적인 구체예에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 SEQ ID NO: 9와 적어도 95% 동일성, 예를 들어, SEQ ID NO: 9와 적어도 약 95%, 약 96%, 약 97%, 약 98%, 약 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및 SEQ ID NO: 10과 적어도 약 95% 동일성, 예를 들어, SEQ ID NO: 10과 적어도 약 95%, 약 96%, 약 97%, 약 98%, 약 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 한 구체예에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 SEQ ID NO:9를 포함하는 중쇄 가변 영역, 및 SEQ ID NO:10을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 한 구체예에서, 항체는 SEQ ID NO:9를 포함하는 중쇄 가변 영역, 및 SEQ ID NO:10을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 Ab1a 항체이다.

[0502] 한 구체예에서, 중쇄 가변 영역은 하나 이상의 상보성 결정 영역(CDR)을 포함한다. 한 구체예에서, 중쇄 가변 영역은 SEQ ID NO:14의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1을 포함한다. 한 구체예에서, 중쇄 가변 영역은 SEQ ID NO:15의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2를 포함한다. 한 구체예에서, 중쇄 가변 영역은 SEQ ID NO:16의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함한다. 한 구체예에서, 중쇄 가변 영역은 SEQ ID NO:14, SEQ ID NO:15, 및 SEQ ID NO:16으로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 VH CDR을 포함한다. 한 구체예에서, 중쇄 가변 영역은 SEQ ID NO:14, SEQ ID NO:15, 및 SEQ ID NO:16으로 구성된 군으로부터 선택된 2개 이상의 VH CDR을 포함한다. 한 구체예에서, 중쇄 가변 영역은 SEQ ID NO:14를 포함하는 VH CDR1, SEQ ID NO:15를 포함하는 VH CDR2, 및 SEQ ID NO:16을 포함하는 VH CDR3을 포함한다.

[0503] 한 구체예에서, 중쇄 가변 영역은 하나 이상의 상보성 결정 영역(CDR)을 포함한다. 한 구체예에서, 중쇄 가변 영역은 SEQ ID NO:14의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1을 포함한다. 한 구체예에서, 중쇄 가변 영역은 SEQ ID NO:15의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2를 포함한다. 한 구체예에서, 중쇄 가변 영역은 SEQ ID NO:17의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함한다. 한 구체예에서, 중쇄 가변 영역은 SEQ ID NO:14, SEQ ID NO:15, 및 SEQ ID NO:17로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 VH CDR을 포함한다. 한 구체예에서, 중쇄 가변 영역은 SEQ ID NO:14, SEQ ID NO:15, 및 SEQ ID NO:17로 구성된 군으로부터 선택된 2개 이상의 VH CDR을 포함한다. 한 구체예에서, 중쇄 가변 영역은 SEQ ID NO:14를 포함하는 VH CDR1, SEQ ID NO:15를 포함하는 VH CDR2, 및 SEQ ID NO:17을 포함하는 VH CDR3을 포함한다.

[0504] 한 구체예에서, 경쇄 가변 영역은 하나 이상의 상보성 결정 영역(CDR)을 포함한다. 한 구체예에서, 경쇄 가변 영역은 SEQ ID NO:18의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1을 포함한다. 한 구체예에서, 경쇄 가변 영역은 SEQ ID NO:19의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2를 포함한다. 한 구체예에서, 경쇄 가변 영역은 SEQ ID NO:20의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함한다. 한 구체예에서, 경쇄 가변 영역은 SEQ ID NO:18, SEQ ID NO:19, 및 SEQ ID NO:20으로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 VL CDR을 포함한다. 한 구체예에서, 경쇄 가변 영역은 SEQ ID NO:18, SEQ ID NO:19, 및 SEQ ID NO:20으로 구성된 군으로부터 선택된 2개 이상의 VL CDR을 포함한다. 한 구체예에서, 경쇄 가변 영역은 SEQ ID NO:18을 포함하는 VL CDR1, SEQ ID NO:19를 포함하는 VL CDR2, 및 SEQ ID NO:20을 포함하는 VL CDR3을 포함한다.

[0505] 예시적인 구체예에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 SEQ ID NO:14를 포함하는 VH CDR1, SEQ ID NO:15를 포함하는 VH CDR2, 및 SEQ ID NO:16을 포함하는 VH CDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및 SEQ ID NO:18을 포함하는 VL CDR1, SEQ ID NO:19를 포함하는 VL CDR2, 및 SEQ ID NO:20을 VL CDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다.

[0506] 예시적인 구체예에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 SEQ ID NO:14를 포함하는 VH CDR1, SEQ ID NO:15를 포함하는 VH CDR2, 및 SEQ ID NO:17을 포함하는 VH CDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및 SEQ ID NO:18을 포함하는 VL CDR1, SEQ ID NO:19를 포함하는 VL CDR2, 및 SEQ ID NO:20을 VL CDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다.

한다.

- [0507] 특정 구체예에서, CDR 중 하나 이상(즉, SEQ ID NO: 14-17을 갖는 하나 이상의 중쇄 CDR, 및/또는 SEQ ID NO: 18-19를 하나 이상의 경쇄 CDR)은 항체의 CD2 특이성(즉, SEQ ID NO: 14 내지 16의 중쇄 CDR 및 SEQ ID NO: 18 내지 20의 경쇄 CDR을 포함하거나; SEQ ID NO: 14, 15, 17의 중쇄 CDR 및 SEQ ID NO: 18 내지 20의 경쇄 CDR을 포함하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편과 유사한 특이성)을 유지하면서 보존적 아미노산 치환(또는 2, 3, 4, 또는 5개의 아미노산 치환)을 포함할 수 있다.
- [0508] 한 구체예에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 SEQ ID NO: 21에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함한다. 다른 구체예에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 SEQ ID NO: 21과 적어도 약 95% 동일성, 예를 들어, SEQ ID NO: 21과 적어도 약 95%, 약 96%, 약 97%, 약 98%, 약 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함한다. 특정 구체예에서, 항체는 SEQ ID NO: 21을 포함하는 HC 가변 도메인 또는 SEQ ID NO: 21의 변이체를 포함하는 변형된 중쇄(HC) 가변 영역을 포함하고, 변이체는 (i) 1, 2, 3, 4, 또는 5개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실에 있어 SEQ ID NO: 21과 상이하고/하거나; (ii) 최대 5, 4, 3, 2, 또는 1개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실에 있어 SEQ ID NO: 21과 상이하고/하거나; (iii) 1-5, 1-3, 1-2, 2-5 또는 3-5개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실에 있어 SEQ ID NO: 21과 상이하고/하거나 (iv) SEQ ID NO: 21과 적어도 약 75%, 약 80%, 약 85%, 약 90%, 약 95%, 약 96%, 약 97%, 약 98% 또는 약 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하고, 임의의 (i)-(iv)에서, 아미노산 치환은 보존적 아미노산 치환 또는 비보존적 아미노산 치환일 수 있고; 여기서 변형된 중쇄 가변 영역은 항체의 CD2 결합 특이성을 유지하면서, 즉, SEQ ID NO: 21을 포함하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편과 유사한 결합 특이성을 가지며, SEQ ID NO: 21의 중쇄 가변 영역에 비해 향상된 생물학적 활성을 가질 수 있다.
- [0509] 한 구체예에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 SEQ ID NO: 22에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함한다. 다른 구체예에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 SEQ ID NO: 22와 적어도 약 95% 동일성, 예를 들어, SEQ ID NO: 22와 적어도 약 95%, 약 96%, 약 97%, 약 98%, 약 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함한다. 특정 구체예에서, 항체는 SEQ ID NO: 21을 포함하는 HC 가변 도메인 또는 SEQ ID NO: 22의 변이체를 포함하는 변형된 중쇄(HC) 가변 영역을 포함하고, 변이체는 (i) 1, 2, 3, 4, 또는 5개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실에 있어 SEQ ID NO: 22와 상이하고/하거나; (ii) 최대 5, 4, 3, 2, 또는 1개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실에 있어 SEQ ID NO: 22와 상이하고/하거나; (iii) 1-5, 1-3, 1-2, 2-5 또는 3-5개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실에 있어 SEQ ID NO: 22와 상이하고/하거나 (iv) SEQ ID NO: 22와 적어도 약 75%, 약 80%, 약 85%, 약 90%, 약 95%, 약 96%, 약 97%, 약 98% 또는 약 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하고, 임의의 (i)-(iv)에서, 아미노산 치환은 보존적 아미노산 치환 또는 비보존적 아미노산 치환일 수 있고; 여기서 변형된 중쇄 가변 영역은 항체의 CD2 결합 특이성을 유지하면서, 즉, SEQ ID NO: 22를 포함하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편과 유사한 결합 특이성을 가지며, SEQ ID NO: 22의 중쇄 가변 영역에 비해 향상된 생물학적 활성을 가질 수 있다.
- [0510] 한 구체예에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 SEQ ID NO: 23에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 다른 구체예에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 SEQ ID NO: 23과 적어도 약 95% 동일성, 예를 들어, SEQ ID NO: 23과 적어도 약 95%, 약 96%, 약 97%, 약 98%, 약 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 특정 구체예에서, 항체는 SEQ ID NO: 23을 포함하는 LC 가변 도메인 또는 SEQ ID NO: 23의 변이체를 포함하는 변형된 경쇄(LC) 가변 영역을 포함하고, 변이체는 (i) 1, 2, 3, 4, 또는 5개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실에 있어 SEQ ID NO: 23과 상이하고/하거나; (ii) 최대 5, 4, 3, 2, 또는 1개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실에 있어 SEQ ID NO: 23과 상이하고/하거나; (iii) 1-5, 1-3, 1-2, 2-5 또는 3-5개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실에 있어 SEQ ID NO: 23과 상이하고/하거나 (iv) SEQ ID NO: 23과 적어도 약 75%, 약 80%, 약 85%, 약 90%, 약 95%, 약 96%, 약 97%, 약 98% 또는 약 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하고, 임의의 (i)-(iv)에서, 아미노산 치환은 보존적 아미노산 치환 또는 비보존적 아미노산 치환일 수 있고; 여기서 변형된 경쇄 가변 영역은 항체의 CD2 결합 특이성을 유지하면서, 즉, SEQ ID NO: 23을 포함하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편과 유사한 결합 특이성을 가지며, SEQ ID NO: 23의 경쇄 가변 영역에 비해 향상된 생물학적 활성을 가질 수 있다.
- [0511] 예시적인 구체예에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 SEQ ID NO: 21과 적어도 95% 동일성, 예를 들어, SEQ ID NO: 21과 적어도 약 95%, 약 96%, 약 97%, 약 98%, 약 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및 SEQ ID NO: 23과 적어도 약 95% 동일성, 예를 들어, SEQ ID NO: 23과 적어도 약 95%, 약 96%, 약 97%, 약 98%, 약 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다.

다. 한 구체예에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 SEQ ID NO:21을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및 SEQ ID NO:23을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다.

[0512] 예시적인 구체예에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 SEQ ID NO: 22와 적어도 약 95% 동일성, 예를 들어, SEQ ID NO: 22와 적어도 약 95%, 약 96%, 약 97%, 약 98%, 약 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및 SEQ ID NO: 23과 적어도 약 95% 동일성, 예를 들어, SEQ ID NO: 23과 적어도 약 95%, 약 96%, 약 97%, 약 98%, 약 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 한 구체예에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 SEQ ID NO:22를 포함하는 중쇄 가변 영역, 및 SEQ ID NO:23을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다.

[0513] 본원에 기재된 조성물 및 방법과 함께 사용될 수 있는 항-CD2 항체는 다음 CDR 중 하나 이상 또는 전부를 갖는 항체를 포함한다:

[0514] a. 아미노산 서열 EYYMY(SEQ ID NO: 1)를 갖는 CDR-H1;

[0515] b. 아미노산 서열 RIDPEDGSIDYVEKFKK(SEQ ID NO: 2)를 갖는 CDR-H2;

[0516] c. 아미노산 서열 GKFNYRFAY(SEQ ID NO: 3)를 갖는 CDR-H3;

[0517] d. 아미노산 서열 RSSQSLHSSGNTYLN(SEQ ID NO: 4)를 갖는 CDR-L1;

[0518] e. 아미노산 서열 LVSKLES(SEQ ID NO: 5)를 갖는 CDR-L2; 및

[0519] f. 아미노산 서열 MQFTHYPYT(SEQ ID NO: 6)를 갖는 CDR-L3.

[0520] 상기 CDR 서열을 함유하는 항체 및 이의 항원-결합 단편은, 예를 들어, US 특허 번호 6,849,258에 기재되어 있으며, 이의 개시는 항-CD2 항체 및 이의 항원-결합 단편에 관한 것으로 본원에 참조로서 포함된다.

[0521] US 특허 번호 5,730,979; 5,817,311; 5,951,983; 및 7,592,006에 개시된 항체 및 이의 단편; 예를 들어, LO-CD2a, BTI-322, 및 ATCC 기탁 번호 HB 11423으로 기탁된 하이브리도마 세포주에 의해 생산된 항체(예를 들어, ATCC 기탁 번호 HB 11423으로 기탁된 하이브리도마 세포주로부터 분리된 항체 LO-CD2a의 CDR 서열 중 하나 이상 또는 전부를 함유하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편)은 본원에 개시된 조성물 및 방법과 함께 사용될 수 있다. 본원에 기재된 조성물 및 방법과 함께 사용될 수 있는 예시적인 항체는 ATCC 기탁 번호 HB 11423으로 기탁된 하이브리도마 세포주로부터 분리된 항체의 CDR 서열 중 하나 이상 또는 전부를 함유하는 인간화 항체, 예를 들어, MEDI-507을 포함한다. MEDI-507은 상기 (a) 내지 (f)의 CDR-H 및 CDR-L 서열을 함유하는 인간화 항-CD2 모노클로날 항체이며, 문헌[Branco et al., Transplantation 68:1588-1596 (1999)]에 기재되어 있다. MEDI-507은 문헌[W099/03502A1 and W01994/020619A1; U.S. Patent Nos. US7,592,006, US6,849,258, US5,951,983, US5,817,311, and US5,730,979; and U.S. Patent Publication Nos. US2011/0280868, US2004/0265315 and 2011/0091453]에 추가로 기재되어 있으며, 이들 각각의 개시는 항-CD2 항체 및 이의 항원-결합 단편, 예를 들어, 항-CD2 항체 MEDI-507에 관한 것으로 본원에 참조로서 포함된다. 한 구체예에서, 항-CD2 항체는 시플리주맙(Siplizumab) 또는 이의 항원-결합 단편이다.

[0522] 상기 과학 저널 논문 및 US 특허의 개시는 항-CD2 항체 및 이의 항원-결합 단편에 관한 것으로 본원에 참조로서 포함된다.

[0523] 본원에 기재된 조성물 및 방법과 함께 사용될 수 있는 다른 항-CD2 항체는, 예를 들어, US 특허 번호 6,541,611 및 7,250,167에 기재된 항-CD2 항체를 포함하며, 이들 각각의 개시는 항-CD2 항체 LO-CD2b 및 ATCC 기탁 번호 PTA-802로 기탁된 하이브리도마 세포주에 의해 생산된 항체와 같은 항-CD2 항체 및 이의 항원-결합 단편에 관한 것으로 본원에 참조로서 포함된다. 본원에 기재된 조성물 및 방법과 함께 사용될 수 있는 예시적인 항체는 ATCC 기탁 번호 PTA-802로 기탁된 하이브리도마 세포주로부터 분리된 항체의 CDR 서열 중 하나 이상 또는 전부를 함유하는 인간화 항체를 포함한다.

[0524] 본원에 기재된 조성물 및 방법과 함께 사용될 수 있는 다른 항-CD2 항체는, 예를 들어, US 특허 번호 5,795,572 및 5,807,734에 기재된 항-CD2 항체를 포함하며, 이들 각각의 개시는 ATCC 기탁 번호 HB 69277로 기탁된 하이브리도마 세포주에 의해 생산된 항-CD2 항체와 같은 항-CD2 항체 및 이의 항원-결합 단편에 관한 것으로 본원에 참조로서 포함된다. 예를 들어, 본원에 기재된 조성물 및 방법과 함께 사용될 수 있는 항-CD2 항체 및 이의 항원-결합 단편은 아미노산 서열 EPKSSDKTHTSPSP(SEQ ID NO: 17)를 갖는 힌지 영역을 함유하는 것들, 예를 들어, EPKSSDKTHTSPSP(SEQ ID NO: 17)의 아미노산 서열을 갖는 힌지 영역을 함유하는 scFv 단편을 포함한다. SEQ ID

NO: 17의 아미노산 서열을 갖는 힌지 영역의 혼입은 단일쇄 항체 단편, 예를 들어, scFv 단편의 바람직하지 않은 산화 이량체화를 촉진할 수 있는 잠재적으로 반응성인 시스테인 잔기를 제거하기 위해 이러한 힌지 모티프가 야생형 힌지 영역 서열에 대해 돌연변이되었기 때문에 유리할 수 있다.

[0525] 본원에 기재된 조성물 및 방법과 함께 사용될 수 있는 다른 항-CD2 항체는, 예를 들어, US 특허 번호 6,764,688에 기재된 항-CD2 항체, 예를 들어, 항-CD2 항체 TS2/18 및 ATCC 기탁 번호 HB-195로 기탁된 하이브리도마 세포주에 의해 생산된 항체를 포함한다. US 특허 번호 6,764,688의 개시는 항-CD2 항체 및 이의 항원-결합 단편에 관한 것으로 본원에 참조로서 포함된다.

[0526] 본원에 기재된 조성물 및 방법과 함께 사용될 수 있는 다른 항-CD2 항체는, 예를 들어, 문헌[US Patent Nos. 6,162,432, 6,558,662, 7,408,039, 7,332,157, 7,638,121, 7,939,062, and 7,115,259, US Patent Application Publication No. 2006/0084107, 2014/0369974, 2002/0051784, and 2013/0183322, and PCT Publication No. W01992/016563]에 기재된 항-CD2 항체를 포함하고, 이들 각각의 개시는 항-CD2 항체 및 이의 항원 결합 단편에 관한 것으로 본원에 참조로서 포함된다.

[0527] 본원에 기재된 방법과 함께 사용하기 위한 항체 및 이의 단편은 Fc 도메인을 함유하거나 갖지 않는 항체 단편, 뿐만 아니라 본원에 기재된 비인간 항체의 인간화 변이체 및 본원에 기재된 항체 또는 항체 단편의 CDR 또는 이의 등가 영역 중 하나 이상 또는 전부를 함유하는 항체-유사 단백질 스캐폴드(예를 들어, ¹⁰Fn3 도메인)와 같은 상기 기술된 항체의 변이체를 포함한다. 상기 항체의 예시적인 항원-결합 단편은, 특히, 이중-가변 면역글로불린 도메인, 단일쇄 Fv 분자(scFv), 디아바디, 트리아바디, 나노바디, 항체-유사 단백질 스캐폴드, Fv 단편, Fab 단편, F(ab')₂ 분자, 및 탠덤 디-scFv를 포함한다.

[0528] 한 구체예에서, 항-CD2 항체 또는 이의 결합 단편은 변형된 Fc 영역을 포함하고, 상기 변형된 Fc 영역은 야생형 Fc 영역에 비해 적어도 하나의 아미노산 변형을 포함하여, 상기 분자가 FcγR(FcγR)에 대해 변경된 친화성 또는 결합을 갖도록 한다. Fc 영역 내의 특정 아미노산 위치는 결정학 연구를 통해 FcγR과 직접 접촉하는 것으로 알려져 있다. 구체적으로 아미노산 234-239(힌지 영역), 아미노산 265-269(B/C 루프), 아미노산 297-299(C'/E 루프), 및 아미노산 327-332(F/G) 루프. (Sondermann et al., 2000 Nature, 406: 267-273 참조). 본원에 기재된 항체는 구조적 및 결정학적 분석에 기초하여 FcγR과 직접 접촉하는 적어도 하나의 잔기의 변형을 포함하는 변이체 Fc 영역을 포함할 수 있다. 한 구체예에서, 항-CD2 항체(또는 이의 단편)의 Fc 영역은 문헌 [Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, NIH, MD (1991), 분명히 본원에 참조로서 포함된다]에서와 같이 EU 지수에 따라 아미노산 265에 아미노산 치환을 포함한다. "Kabat에서와 같은 EU 지수"는 인간 IgG1 EU 항체의 넘버링을 지칭한다. 한 구체예에서, Fc 영역은 D265A 돌연변이를 포함한다. 한 구체예에서, Fc 영역은 D265C 돌연변이를 포함한다. 일부 구체예에서, 항체(또는 이의 단편)의 Fc 영역은 Kabat에서와 같은 EU 지수에 따라 아미노산 234에 아미노산 치환을 포함한다. 한 구체예에서, Fc 영역은 L234A 돌연변이를 포함한다. 일부 구체예에서, 항-CD2 항체(또는 이의 단편)의 Fc 영역은 Kabat에서와 같은 EU 지수에 따라 아미노산 235에 아미노산 치환을 포함한다. 한 구체예에서, Fc 영역은 L235A 돌연변이를 포함한다. 또 다른 구체예에서, Fc 영역은 L234A 및 L235A 돌연변이를 포함한다. 추가 구체예에서, Fc 영역은 D265C, L234A, 및 L235A 돌연변이를 포함한다. 또한 추가 구체예에서, Fc 영역은 D265C, L234A, L235A, 및 H435A 돌연변이를 포함한다. 추가 구체예에서, Fc 영역은 D265C 및 H435A 돌연변이를 포함한다.

[0529] 본 발명의 항체는, 예를 들어, (Dall'Acqua et al. (2006) J Biol Chem 281: 23514-24), (Zalevsky et al. (2010) Nat Biotechnol 28: 157-9), (Hinton et al. (2004) J Biol Chem 279: 6213-6), (Hinton et al. (2006) J Immunol 176: 346-56), (Shields et al. (2001) J Biol Chem 276: 6591-604), (Petkova et al. (2006) Int Immunol 18: 1759-69), (Datta-Mannan et al. (2007) Drug Metab Dispos 35: 86-94), (Vaccaro et al. (2005) Nat Biotechnol 23: 1283-8), (Yeung et al. (2010) Cancer Res 70: 3269-77) and (Kim et al. (1999) Eur J Immunol 29: 2819-25)에 기재된 것들과 같이, 추가적인 Fc 돌연변이를 도입함으로써 항체 반감기를 추가로 조정하도록 추가로 조작될 수 있고, 위치 250, 252, 253, 254, 256, 257, 307, 376, 380, 428, 434 및 435를 포함한다. 단독으로 또는 조합하여 만들 수 있는 예시적인 돌연변이는 T250Q, M252Y, I253A, S254T, T256E, P257I, T307A, D376V, E380A, M428L, H433K, N434S, N434A, N434H, N434F, H435A 및 H435R 돌연변이이다.

[0530] 일부 구체예에서, 항-CD2 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 항체 또는 이의 항원-결합 단편의 Fc 도메인에서 시스테인 잔기를 통해 세포독소(예를 들어, 아파톡신)에 컨쥬게이션된다. 일부 구체예에서, 시스테인 잔기는 항체

또는 이의 항원-결합 단편의 Fc 도메인에서 돌연변이에 의해 도입된다. 예를 들어, 시스테인 잔기는 Cys118, Cys239, 및 Cys265로 구성된 군으로부터 선택될 수 있다. 한 구체예에서, 항-CD2 항체(또는 이의 단편)의 Fc 영역은 Kabat에서와 같은 EU 지수에 따라 아미노산 265에 아미노산 치환을 포함한다. 한 구체예에서, Fc 영역은 D265C 돌연변이를 포함한다. 한 구체예에서, Fc 영역은 D265C 및 H435A 돌연변이를 포함한다.

[0531] 따라서, 한 구체예에서, Fc 영역은 반감기를 감소시키는 돌연변이를 포함한다. 반감기가 짧은 항체는 항체가 단기 치료제로서 기능할 것으로 예상되는 특정 경우에, 예를 들어, 항체가 투여되고 이어서 HSC가 후속되는 본원에 기재된 조건화 단계에 유리할 수 있다. 이상적으로는, 내인성 줄기 세포와 달리, 일반적으로 CD2를 발현할 수 있지만 항-CD2 항체의 표적이 아닌 HSC의 전달 전에 항체가 실질적으로 제거될 것이다. 한 구체예에서, Fc 영역은 위치 435(Kabat에 따른 EU 지수)에 돌연변이를 포함한다. 한 구체예에서, 돌연변이는 H435A 돌연변이이다.

[0532] 상기 항-CD2 항체 또는 이의 항원 결합 단편은, 예를 들어, 인간 대상체에서 CD2+ 세포를 고갈시키는 방법을 포함하는 본원에 제시된 본 발명의 다양한 양태에서 사용될 수 있다. 상기 항-CD2 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 또한 본원에 기재된 바와 같은 세포독소와 같은 제제, 예를 들어, 아파톡신에 컨쥬게이션될 수 있다.

[0533] **항-CD2 항체를 확인하는 방법**

[0534] CD2에 결합하는 항체 또는 항체 단편의 라이브러리의 고 처리량 스크리닝 방법은 조혈 줄기 세포 요법을 필요로 하는 환자(예를 들어, 인간 환자)를 조건화하고/하거나 본원에 기술된 바와 같은 암 또는 자가면역 질환을 직접 치료하는데 유용한 성숙한 제제를 확인하고 선호하는데 사용될 수 있다. 이러한 방법은, 특히, 파지 디스플레이, 박테리아 디스플레이, 효모 디스플레이, 포유동물 세포 디스플레이, 리보솜 디스플레이, mRNA 디스플레이, 및 cDNA 디스플레이와 같은 당 분야에 공지된 시험관내 디스플레이 기술을 포함한다. 생물학적 관련 분자에 결합하는 항체 또는 항원-결합 단편을 분리하기 위한 파지 디스플레이의 사용은, 예를 들어, 문헌[Felici et al., *Biotechnol. Annual Rev.* 1:149-183, 1995; Katz, *Annual Rev. Biophys. Biomol. Struct.* 26:27-45, 1997; and Hoogenboom et al., *Immunotechnology* 4:1-20, 1998]에서 검토되었고, 이들 각각의 개시는 시험관내 디스플레이 기술에 관한 것으로 본원에 참조로서 포함된다. 무작위 조합 펩티드 라이브러리는 문헌[Kay, *Perspect. Drug Discovery Des.* 2:251-268, 1995 and Kay et al., *Mol. Divers.* 1:139-140, 1996]에 기술된 바와 같이 세포 표면 항원에 결합하는 폴리펩티드를 선택하도록 작제되었으며, 이들 각각의 개시는 항원-결합 분자의 발견에 관한 것으로 본원에 참조로서 포함된다. 다량체 단백질과 같은 단백질은 기능성 분자로서 성공적으로 파지-디스플레이되었다(예를 들어, EP 0349578; EP 4527839; 및 EP 0589877, 뿐만 아니라 Chiswell and McCafferty, *Trends Biotechnol.* 10:80-84 1992 참조, 이들 각각의 개시는 항원 결합 분자의 발견을 위한 시험관내 디스플레이 기술의 사용에 관한 것으로 본원에 참조로서 포함된다). 또한, Fab 및 scFv 단편과 같은 기능성 항체 단편은 시험관내 디스플레이 포맷으로 발현되었다(예를 들어, McCafferty et al., *Nature* 348:552-554, 1990; Barbas et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88:7978-7982, 1991; and Clackson et al., *Nature* 352:624-628, 1991 참조, 이들 각각의 개시는 항원-결합 분자의 발견을 위한 시험관내 디스플레이 플랫폼에 관한 것으로 본원에 참조로서 포함된다). 이러한 기술은 무엇보다도 조혈 줄기 세포 이식 요법을 필요로 하고/하거나 본원에 기재된 암 또는 자가면역 질환으로 고통받는 환자(예를 들어, 인간 환자)에서 차례로 CD2+ T 세포 및/또는 NK 세포를 고갈시키는데 사용될 수 있는 CD2에 결합하는 항체 또는 항체 단편의 친화성을 확인하고 개선하는데 사용될 수 있다.

[0535] 추가적인 기술을 사용하여 세포(예를 들어, T 세포 또는 NK 세포)의 표면에서 CD2에 결합하고 세포에 의해, 예를 들어 수용체-매개 세포내이입에 의해 내재화되는 항체 및 이의 항원-결합 단편을 확인할 수 있다. 예를 들어, 상기 기재된 시험관내 디스플레이 기술은 T 세포 또는 NK 세포의 표면에서 CD2에 결합하고 이어서 내재화되는 항체 및 이의 항원-결합 단편을 스크리닝하도록 구성될 수 있다. 파지 디스플레이는 이러한 스크리닝 패러다임과 함께 사용될 수 있는 기술 중 하나를 나타낸다. CD2에 결합하고 이어서 T 세포 및/또는 NK 세포에 의해 내재화되는 항-CD2 항체 및 이의 단편을 확인하기 위해, 당업자는 문헌[Williams et al., *Leukemia* 19:1432-1438, 2005, 이의 개시는 전문이 본원에 참조로서 포함된다]에 개시된 파지 디스플레이 기술을 사용할 수 있다. 예를 들어, 당 분야에 공지된 돌연변이유발 방법을 사용하여, 항체, 항체 단편, 예를 들어, 특히, scFv 단편, Fab 단편, 디아바디, 트리아바디, 및 ¹⁰Fn3 도메인, 또는 무작위 아미노산 카세트를 함유하는 항체(예를 들어, CDR 또는 이의 등가 영역 중 하나 이상 또는 전부에서 또는 항체 또는 항체 단편)를 인코딩하는 재조합 파지 라이브러리가 생산될 수 있다. 항체 또는 항체 단편의 프레임워크 영역, 힌지, Fc 도메인, 및 다른 영역은 이들이, 예를 들어, 인간 생식선 항체 서열, 또는 인간 생식선 항체에 대해 작은 변이만을 나타내는 서열을 가

짐으로써, 인간에서 비-면역원성이라도 설계될 수 있다.

- [0536] 본원에 기술되거나 당 분야에 공지된 파지 디스플레이 기술을 사용하여, 파지 입자에 공유 결합된 무작위 항체 또는 항체 단편을 함유하는 파지 라이브러리를 CD2 항원과 함께 인큐베이션할 수 있고, 예를 들어, 먼저 파지 라이브러리를 차단제(예를 들어, 이를 태면, Fc 도메인에 결합하는 항체 또는 이의 단편을 인코딩하는 비-특이적 단백질 결합 및 파지를 나타내는, 항체 또는 이의 단편을 인코딩하는 파지를 제거하기 위한 유단백질, 소 혈청 알부민, 및/또는 IgG)와 함께 인큐베이션하고, 이후 파지 라이브러리를 CD2+인 T 세포 또는 NK 세포 집단과 함께 인큐베이션할 수 있다. 파지 라이브러리는 CD2-특이적 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 세포-표면 CD2에 결합하고 이어서 T 세포 또는 NK 세포에 의해 내재화되기에 충분한 시간 동안 T 세포 또는 NK 세포와 함께 인큐베이션될 수 있다(예를 들어, 4℃에서 30분 내지 6시간, 예를 들어, 4℃에서 1시간). T 세포 또는 NK 세포에 결합 및 이들에 의한 내재화를 허용할 정도로 CD2에 대해 충분한 친화성을 나타내지 않는 항체 또는 이의 단편을 함유하는 파지는 이어서 세포를, 예를 들어, pH 2.8에서 차가운(4℃) 0.1 M 글리신 완충액으로 세척함으로써 제거될 수 있다. T 세포 및/또는 NK 세포에 의해 내재화된 항체 또는 이의 단편에 결합된 파지는, 예를 들어, 세포를 용해시키고 세포 배양 배지로부터 내재화된 파지를 회수함으로써 확인될 수 있다. 이후, 파지는, 예를 들어, 박테리아 세포를 회수된 파지와 함께 2xYT 배지에서 당 분야에 공지된 방법을 사용하여 인큐베이션함으로써 박테리아 세포에서 증폭될 수 있다. 이후, 이러한 배지로부터 회수된 파지는, 예를 들어, 파지 게놈 내에 삽입된 항체 또는 이의 단편을 인코딩하는 유전자(들)의 핵산 서열을 결정함으로써 특성화될 수 있다. 인코딩된 항체, 이의 단편은 이어서 (예를 들어, scFv 단편과 같은 항체 단편의) 화학적 합성 또는 (예를 들어, 전장 항체의) 재조합 발현에 의해 새롭게 제조될 수 있다.
- [0537] 본원에 기재된 조성물 및 방법에 사용하기 위한 항-CD2 항체의 시험관내 진화를 위한 예시적인 방법은 파지 디스플레이이다. 파지 디스플레이 라이브러리는 항체의 CDR 또는 항체-유사 스캐폴드의 유사 영역(예를 들어, ¹⁰Fn3 도메인의 BC, CD 및 DE 루프)에 대한 코딩 서열 내에서 일련의 돌연변이 또는 변이를 설계함으로써 생성될 수 있다. 이들 돌연변이가 도입되는 주형 항체-인코딩 서열은, 예를 들어, 순수한 인간 생식선 서열일 수 있다. 이들 돌연변이는 당 분야에 공지된 표준 돌연변이유발 기술을 사용하여 수행될 수 있다. 따라서, 각각의 돌연변이체 서열은 하나 이상의 아미노산 변이를 제외하고는 주형에 상응하는 항체를 인코딩한다. 레트로바이러스 및 파지 디스플레이 벡터는 당 분야에 공지된 표준 벡터 작제 기술을 사용하여 조작될 수 있다. 상용성 단백질 발현 벡터와 함께 P3 파지 디스플레이 벡터를 사용하여 항체 다양화를 위한 파지 디스플레이 벡터를 생성할 수 있다.
- [0538] 돌연변이된 DNA는 서열 다양성을 제공하고, 각각의 형질전환 파지는 DNA에 의해 인코딩된 초기 주형 아미노산 서열의 하나의 변이체를 나타내어, 다수의 상이하지만 구조적으로 관련된 아미노산 서열을 나타내는 파지 집단(라이브러리)을 발생시킨다. 항체 추가변 영역의 잘 정의된 구조로 인해, 파지 디스플레이 스크린에 도입된 아미노산 변이는 이의 전체 분자 구조를 크게 변경시키지 않으면서 결합 펩티드 또는 도메인의 결합 특성을 변경시킬 것으로 예상된다.
- [0539] 통상적인 스크린에서, 파지 라이브러리는 CD2 또는 이의 에피토프와 접촉하여 이에 대한 결합을 허용할 수 있다. 결합체 및 비-결합체의 분리를 용이하게 하기 위해, 고체 지지체 상에 표적을 고정시키는 것이 편리하다. CD2-결합 모이어티를 갖는 파지는 고체 지지체 상의 표적과 복합체를 형성할 수 있는 반면, 비-결합 파지는 용액에 남아 있고 과량의 완충액으로 세척될 수 있다. 이후, 완충액을 극심한 pH(pH 2 또는 pH 10)로 변화시키거나, 완충액의 이온 강도를 변화시키거나, 변성제를 첨가하거나, 또는 다른 공지된 수단에 의해 결합된 파지를 표적으로부터 유리시킬 수 있다.
- [0540] 이후, 회수된 파지는 박테리아 세포의 감염을 통해 증폭될 수 있고, 스크리닝 과정은 현재 비-결합 항체에서 고갈되고 CD2에 결합하는 항체에 대해 풍부해진 새로운 풀로 반복될 수 있다. 심지어 적은 수의 결합 파지의 회수도 후속 스크리닝 반복을 위해 파지를 증폭시키기에 충분하다. 몇 회의 선택 후에, 결합 풀에서 선택된 파지 클론으로부터 유래된 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 인코딩하는 유전자 서열은 통상적인 방법에 의해 결정되며, 이에 따라 표적에 대한 파지의 결합 친화성을 부여하는 펩티드 서열이 드러난다. 패닝(panning) 과정 동안, 바람직한 펩티드-결합 항체가 남을 때까지 집단의 서열 다양성은 각 회의 선택마다 감소한다. 서열은 적은 수의 관련 항체 또는 이의 항원-결합 단편에 수렴될 수 있다. 각 회의 선택에서 회수되는 파지 수의 증가는 라이브러리의 수렴이 스크린에서 발생하였음을 나타낸다.
- [0541] 항-CD2 항체를 확인하는 다른 방법은, 예를 들어, 다음 절차에 따라 CD2에 결합하는 인간화 비인간 항체를 사용하는 것을 포함한다. CD2에 결합하는 비인간 항체는, 예를 들어, 다음 절차에 따라 인간화될 수 있다. 컨센서스

인간 항체 중쇄 및 경쇄 서열은 당 분야에 공지되어 있다(예를 들어, "VBASE" 인간 생식선 서열 데이터베이스; Kabat et al. Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242, 1991; Tomlinson et al., J. Mol. Biol. 227:776-798, 1992; and Cox et al., Eur. J. Immunol. 24:827-836, 1994 참조, 이들 각각의 개시는 컨센서스 인간 항체 중쇄 및 경쇄 서열에 관한 것으로 본원에 참조로서 포함된다). 확립된 절차를 사용하여, 당업자는 컨센서스 항체 서열의 가변 도메인 프레임워크 잔기 및 CDR을 확인할 수 있다(예를 들어, 서열 정렬에 의해). 인간화 항체를 생산하기 위해 컨센서스 인간 항체의 중쇄 및/또는 경쇄 가변 도메인의 하나 이상의 CDR을 CD2에 결합하는 비인간 항체의 하나 이상의 상응하는 CDR로 대신할 수 있다. 이러한 CDR 교환은 본원에 기술되거나 당 분야에 공지된 유전자 편집 기술을 사용하여 수행될 수 있다.

[0542] 컨센서스 인간 항체의 가변 도메인의 한 예는 US 특허 번호 6,054,297에서 확인된 중쇄 가변 도메인

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS~~SDY~~AMSWVRQAPGKGLEWVAVISENGSD~~TY~~YADS
VKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARD~~RG~~GA~~VSY~~FDVWGQGLTVTVSS (SEQ ID
NO: 18)

[0543]

[0544] 및 경쇄 가변 도메인

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSSYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLES~~GV~~PSR~~FGS~~
GSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ~~QYN~~SLPYTFGGQGTKVEIKRT (SEQ ID NO: 19)

[0545]

[0546] 을 함유하며, 이의 개시는 인간 항체 컨센서스 서열에 관한 것으로 본원에 참조로서 포함된다. 상기 서열에서 CDR은 굵게 표시되어 있다.

[0547] 인간화 항체를 생산하기 위해, 하나 이상의 가변 영역 CDR이 CD2에 결합하는 비인간 항체의 하나 이상의 가변 영역 CDR 서열로 대체된 상기 컨센서스 서열을 인코딩하는 폴리뉴클레오티드를 재조합적으로 발현시킬 수 있다. CD2에 대한 항체의 친화성은 주로 CDR 서열에 의해 결정되므로, 생성된 인간화 항체는 인간화 항체가 유래된 비인간 항체의 것과 거의 동일한 CD2에 대한 친화성을 나타낼 것으로 예상된다. 표적 항원에 대한 항체의 친화성을 결정하는 방법은, 예를 들어, 본원에 기술되고 당 분야에 공지된 ELISA-기반 기술 뿐만 아니라, 특히, 표면 플라즈마 공명, 형광 이방성, 및 등은 적정 열량측정법을 포함한다.

[0548] 제조된 항체 또는 이의 단편의 내재화 능력은, 예를 들어, 당 분야에 공지된 방사성핵종 내재화 검정을 사용하여 평가될 수 있다. 예를 들어, 본원에 기술되거나 당 분야에 공지된 시험관내 디스플레이 기술을 사용하여 확인된 항-CD2 항체 또는 이의 단편은 ¹⁸F, ⁷⁵Br, ⁷⁷Br, ¹²²I, ¹²³I, ¹²⁴I, ¹²⁵I, ¹²⁹I, ¹³¹I, ²¹¹At, ⁶⁷Ga, ¹¹¹In, ⁹⁹Tc, ¹⁶⁹Yb, ¹⁸⁶Re, ⁶⁴Cu, ⁶⁷Cu, ¹⁷⁷Lu, ⁷⁷As, ⁷²As, ⁸⁶Y, ⁹⁰Y, ⁸⁹Zr, ²¹²Bi, ²¹³Bi, 또는 ²²⁵Ac와 같은 방사성 동위원소의 혼입에 의해 작용기화될 수 있다. 예를 들어, ¹⁸F, ⁷⁵Br, ⁷⁷Br, ¹²²I, ¹²³I, ¹²⁴I, ¹²⁵I, ¹²⁹I, ¹³¹I, ²¹¹At와 같은 방사성 할로젠은 친전자성 할로젠 시약을 함유하는 폴리스티렌 비드와 같은 비드(예를 들어, 요오드화 비드, Thermo Fisher Scientific, Inc., Cambridge, MA)를 사용하여 항체 또는 이의 단편에 통합될 수 있다. 방사성표지된 항체 또는 이의 단편은 내재화를 가능하게 하기에 충분한 시간 동안(예를 들어, 4℃에서 30분 내지 6시간, 예를 들어 4℃에서 1시간) T 세포 및/또는 NK 세포와 함께 인큐베이션될 수 있다. 이후, 세포를 세척하여 비-내재화된 항체 또는 이의 단편을 제거할 수 있다(예를 들어, pH 2.8에서 차가운(4℃) 0.1 M 글리신 완충액을 사용함). 생성된 T 세포 및/또는 NK 세포의 방출된 방사선(예를 들어, γ-방사선)을 회수된 세척 완충액의 방출된 방사선(예를 들어, γ-방사선)과 비교하여 검출함으로써 내재화된 항체 또는 이의 단편을 확인할 수 있다.

[0549] 항-CD2 항체의 재조합 생산을 위해, 예를 들어, 상기 기재된 바와 같은 항체를 인코딩하는 핵산을 분리하고 숙주 세포에서의 추가 클로닝 및/또는 발현을 위해 하나 이상의 벡터에 삽입한다. 이러한 핵산은 통상적인 절차를 사용하여(예를 들어, 항체의 중쇄 및 경쇄를 인코딩하는 유전자에 특이적으로 결합할 수 있는 올리고뉴클레오티드 프로브를 사용하여) 쉽게 분리되고 서열화될 수 있다.

[0550] 항체-인코딩 벡터의 클로닝 또는 발현에 적합한 숙주 세포는 본원에 기재된 원핵생물 또는 진핵생물 세포를 포함한다. 예를 들어, 항체는, 특히, 당화 및 Fc 이펙터 기능이 필요하지 않은 경우, 박테리아에서 생산될 수 있다. 박테리아에서 항체 단편 및 폴리펩티드의 발현을 위해, 예를 들어, U.S. 특허 번호 5,648,237, 5,789,199 및 5,840,523을 참조한다(또한 E. 콜리(*E. coli*)에서 항체 단편의 발현을 기술하는 문헌[Charlton, Methods in Molecular Biology, Vol. 248 (B.K.C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, N.J., 2003), pp. 245-254] 참조). 발

현 후, 항체는 박테리아 세포 페이스트로부터 가용성 분획으로 분리될 수 있고 추가로 정제될 수 있다.

[0551] 척추동물 세포도 숙주로서 사용될 수 있다. 예를 들어, 현탁액에서 성장하도록 적응된 포유동물 세포주가 유용할 수 있다. 유용한 포유동물 숙주 세포주의 다른 예는 SV40에 의해 형질전환된 원숭이 신장 CV1 주(COS-7); 인간 배아 신장 주(예를 들어, 문헌[Graham et al., J. Gen Virol. 36:59 (1977)]에 기술된 293 또는 293 세포들); 새끼 햄스터 신장 세포(BHK); 마우스 세르틀리 세포(예를 들어, 문헌[Mather, Biol. Reprod. 23:243-251 (1980)]에 기술된 TM4 세포); 원숭이 신장 세포(CV1); 아프리카 그린 원숭이 신장 세포(VERO-76); 인간 자궁경부 암종 세포(HELA); 개 신장 세포(MDCK); 버팔로 래트 간 세포(BRL 3A); 인간 폐 세포(W138); 인간 간 세포(Hep G2); 마우스 유선 종양(MMT 060562); 예를 들어, 문헌[Mather et al., Annals N.Y. Acad. Sci. 383:44-68 (1982)]에 기술된 TRI 세포; MRC 5 세포; 및 FS4 세포이다. 다른 유용한 포유동물 숙주 세포주는 DHFR-CHO 세포(Urlaub et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4216 (1980))를 포함하는 중국 햄스터 난소(CHO) 세포; 및 골수종 세포주, 예를 들어, Y0, NS0 및 Sp2/0을 포함한다. 항체 생산에 적합한 특정 포유동물 숙주 세포주의 검토를 위해, 예를 들어, 문헌[Yazaki and Wu, Methods in Molecular Biology, Vol. 248 (B. K. C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, N.J.), pp. 255-268 (2003)]을 참조한다. 한 구체예에서, 숙주 세포는 진핵생물, 예를 들어, 중국 햄스터 난소(CHO) 세포 또는 림프모양 세포(예를 들어, Y0, NS0, Sp20 세포)이다.

[0552] **항체-약물 컨쥬게이트(ADC)**

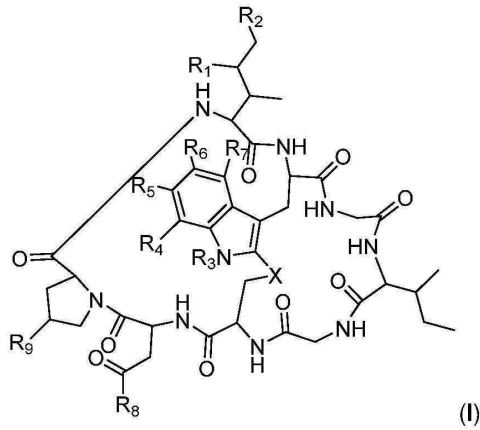
[0553] 세포독소

[0554] 본원에 기술된 항체 및 이의 항원-결합 단편(예를 들어, CD2를 인지하고 이에 결합하는 항체, 항원-결합 단편)은 (i) 본원에 기재된 암 또는 자가면역 질환을 직접 치료하거나 (ii) 내인성 면역 세포를 고갈시켜 조혈 줄기 세포 이식 요법을 필요로 하는 환자(예를 들어, 인간 환자)에게 이식시 조혈 줄기 세포의 거부 가능성을 예방하거나 감소시키기 위해 세포독소, 예를 들어, 슈도모나스 외독소 A, 데부가닌, 디프테리아 독소, 아마톡신, 예를 들어, α-아마니틴, 사포린, 메이탄신, 메이탄시노이드, 아우리스타틴, 안트라사이클린, 칼리케아미신, 이리노테칸, SN-38, 듀오카마이신, 피롤로벤조디아제핀, 피롤로벤조디아제핀 이량체, 인돌리노벤조디아제핀, 및 인돌리노벤조디아제핀 이량체, 또는 이의 변이체, 또는 본원에 기술되거나 당 분야에 공지된 다른 세포독성 화합물에 컨쥬게이션될 수 있다. 일부 구체예에서, 세포독성 분자는 내재화 항체 또는 이의 항원-결합 단편에 컨쥬게이션되어, 항체 또는 항원-결합 단편의 세포 흡수 후, 세포독소가 이의 세포내 표적에 접근하여 내인성 T 세포 및/또는 NK 세포를 사멸시키도록 할 수 있다. 본원에 기재된 조성물 및 방법과 함께 사용하기에 적합한 적절한 세포독소는, 당 분야에 공지된 다른 것들 중에서, DNA-삽입제(예를 들어, 안트라사이클린), 유사분열 방추 장치를 방해할 수 있는 제제(예를 들어, 빈카 알칼로이드, 메이탄신, 메이탄시노이드, 및 이의 유도체), RNA 중합효소 억제제(예를 들어, 아마톡신, 예를 들어, α-아마니틴, 및 이의 유도체), 단백질 생합성을 방해할 수 있는 제제(예를 들어, rRNA N-글리코시다제 활성을 나타내는 제제, 예를 들어, 사포린 및 리신 A-사슬)을 포함한다.

[0555] 일부 구체예에서, 항체-약물 컨쥬게이트의 세포독소는 RNA 중합효소 억제제이다. 일부 구체예에서, RNA 중합효소 억제제는 아마톡신 또는 이의 유도체이다.

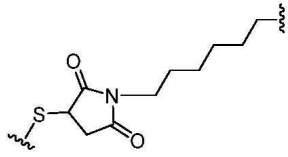
[0556] 일부 구체예에서, 세포독소는 아마톡신 또는 이의 유도체, 예를 들어, α-아마니틴, β-아마니틴, γ-아마니틴, ε-아마니틴, 아마닌, 아마닌아미드, 아마놀린, 아마놀린산, 및 프로아마놀린이다. 다양한 자연 발생 아마톡신의 구조는 화학식 III으로 표현되며, 예를 들어, 문헌[Zanotti et al., Int. J. Peptide Protein Res. 30, 1987, 450-459]에 기재되어 있다.

[0557] 한 구체예에서, 세포독소는 아마니틴이다. 예를 들어, 본원에 기재된 항체 또는 항원-결합 단편은 화학식 Ab-Z-L-Am으로 표현되는 컨쥬게이트를 형성하기 위해 아마톡신에 결합될 수 있으며, 여기서 Ab는 항체 또는 이의 항원-결합 단편이고, L은 링커이고, Z는 화학적 모이어티이고, Am은 아마톡신이다. 아마톡신 또는 이의 유도체 상의 많은 위치는 연결 모이어티 L, 및 이에 따라 항체 또는 이의 항원-결합 단편에 공유적으로 결합하는 위치로서 작용할 수 있다. 일부 구체예에서, Am-L-Z는 하기 화학식 (I)로 표현된다:



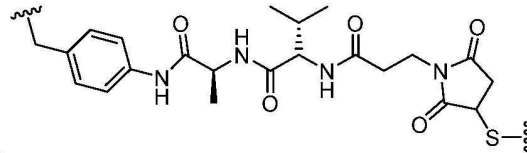
- [0558]
- [0559] 상기 식에서, R_1 은 H, OH, OR_A , 또는 OR_C 이고;
- [0560] R_2 는 H, OH, OR_B , 또는 OR_C 이고;
- [0561] R_A 및 R_B 는 존재하는 경우 이들이 결합된 산소 원자와 함께 조합되어 임의로 치환된 5원 헤테로사이클로알킬 기를 형성하고;
- [0562] R_3 은 H, R_C , 또는 R_D 이고;
- [0563] R_4 는 H, OH, OR_D , 또는 R_D 이고;
- [0564] R_5 는 H, OH, OR_D , 또는 R_D 이고;
- [0565] R_6 은 H, OH, OR_D , 또는 R_D 이고;
- [0566] R_7 은 H, OH, OR_D , 또는 R_D 이고;
- [0567] R_8 은 OH, NH_2 , OR_C , OR_D , NHR_C , 또는 $NR_C R_D$ 이고;
- [0568] R_9 는 H, OH, OR_C , 또는 OR_D 이고;
- [0569] X는 $-S-$, $-S(O)-$, 또는 $-SO_2-$ 이고;
- [0570] R_C 는 $-L-Z$ 이고;
- [0571] R_D 는 임의로 치환된 알킬(예를 들어, C_1-C_6 알킬), 임의로 치환된 헤테로알킬(예를 들어, C_1-C_6 헤테로알킬), 임의로 치환된 알케닐(예를 들어, C_2-C_6 알케닐), 임의로 치환된 헤테로알케닐(예를 들어, C_2-C_6 헤테로알케닐), 임의로 치환된 알키닐(예를 들어, C_2-C_6 알키닐), 임의로 치환된 헤테로알키닐(예를 들어, C_2-C_6 헤테로알키닐), 임의로 치환된 사이클로알킬, 임의로 치환된 헤테로사이클로알킬, 임의로 치환된 아릴, 또는 임의로 치환된 헤테로아릴이고;
- [0572] L은 링커, 예를 들어, 임의로 치환된 알킬렌(예를 들어, C_1-C_6 알킬렌), 임의로 치환된 헤테로알킬렌(C_1-C_6 헤테로알킬렌), 임의로 치환된 알케닐렌(예를 들어, C_2-C_6 알케닐렌), 임의로 치환된 헤테로알케닐렌(예를 들어, C_2-C_6 헤테로알케닐렌), 임의로 치환된 알키닐렌(예를 들어, C_2-C_6 알키닐렌), 임의로 치환된 헤테로알키닐렌(예를 들어, C_2-C_6 헤테로알키닐렌), 임의로 치환된 사이클로알킬렌, 임의로 치환된 헤테로사이클로알킬렌, 임의로 치환된 아릴렌, 또는 임의로 치환된 헤테로아릴렌, 디펩티드, $-(C=O)-$, 펩티드, 또는 이의 조합이고;
- [0573] Z는 L 상에 존재하는 반응성 치환기와 CD2에 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편 내에 존재하는 반응성 치환기 사이의 커플링 반응으로부터 형성된 화학적 모이어티이다.
- [0574] 일부 구체예에서, Am 은 정확히 하나의 R_C 치환기를 함유한다. 일부 구체예에서, 링커는 $-(CH)_{2n}-$ 단위를 포함하

며, 여기서 n 은 2-6의 정수이다. 일부 구체예에서, 링커는 $-(CH_2)_n$ 을 포함하고, 여기서 n 은 6이다. 일부 구체예

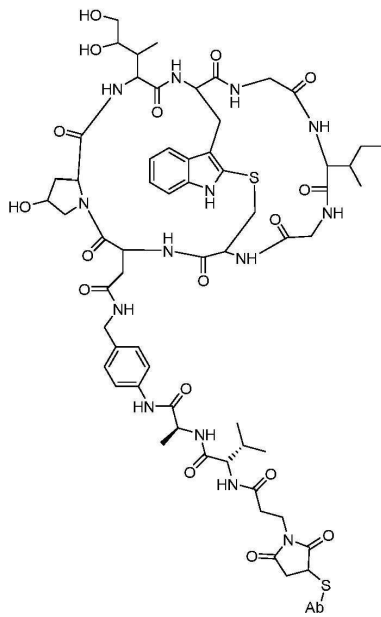


에서, L-Z는 이다.

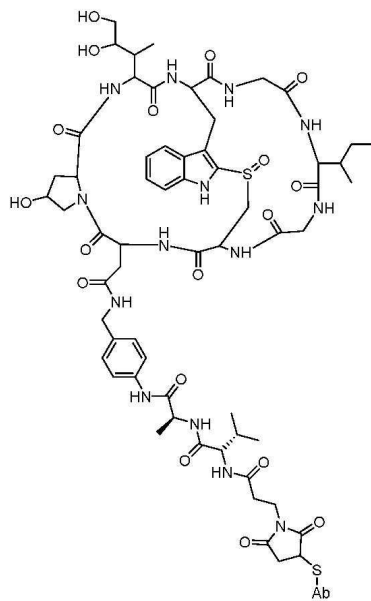
[0575] 상기 식에서, S는 (예를 들어, 시스테인 잔기의 $-SH$ 기로부터) CD117에 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편 내에 존재하는 반응성 치환기를 나타내는 황 원자이다.



[0576] 일부 구체예에서, L-Z는 이다.

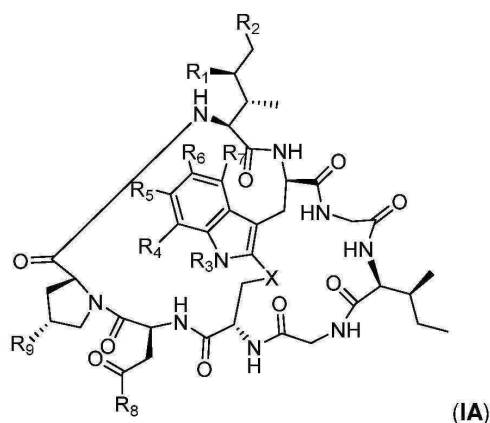


[0577] 일부 구체예에서, Am-L-Z-Ab는 이다.



[0578] 일부 구체예에서, Am-L-Z-Ab는 이다.

[0579] 일부 구체예에서, Am-L-Z는 하기 화학식 (IA)로 표현된다:



[0580]

[0581] 상기 식에서, R₁은 H, OH, OR_A, 또는 OR_C이고;

[0582] R₂는 H, OH, OR_B, 또는 OR_C이고;

[0583] R_A 및 R_B는 존재하는 경우 이들이 결합된 산소 원자와 함께 조합되어 임의로 치환된 5원 헤테로사이클로알킬 기를 형성하고;

[0584] R₃은 H, R_C, 또는 R_D이고;

[0585] R₄는 H, OH, OR_C, OR_D, R_C, 또는 R_D이고;

[0586] R₅는 H, OH, OR_C, OR_D, R_C, 또는 R_D이고;

[0587] R₆은 H, OH, OR_C, OR_D, R_C, 또는 R_D이고;

[0588] R₇은 H, OH, OR_C, OR_D, R_C, 또는 R_D이고;

[0589] R₈은 OH, NH₂, OR_C, OR_D, NHR_C, 또는 NR_CR_D이고;

[0590] R₉는 H, OH, OR_C, 또는 OR_D이고;

[0591] X는 -S-, -S(O)-, 또는 -SO₂-이고;

[0592] R_C는 -L-Z이고;

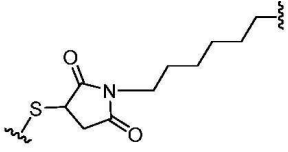
[0593] R_D는 임의로 치환된 알킬(예를 들어, C₁-C₆ 알킬), 임의로 치환된 헤테로알킬(예를 들어, C₁-C₆ 헤테로알킬), 임의로 치환된 알케닐(예를 들어, C₂-C₆ 알케닐), 임의로 치환된 헤테로알케닐(예를 들어, C₂-C₆ 헤테로알케닐), 임의로 치환된 알키닐(예를 들어, C₂-C₆ 알키닐), 임의로 치환된 헤테로알키닐(예를 들어, C₂-C₆ 헤테로알키닐), 임의로 치환된 사이클로알킬, 임의로 치환된 헤테로사이클로알킬, 임의로 치환된 아릴, 또는 임의로 치환된 헤테로아릴이고;

[0594] L은 링커, 예를 들어, 임의로 치환된 알킬렌(예를 들어, C₁-C₆ 알킬렌), 임의로 치환된 헤테로알킬렌(C₁-C₆ 헤테로알킬렌), 임의로 치환된 알케닐렌(예를 들어, C₂-C₆ 알케닐렌), 임의로 치환된 헤테로알케닐렌(예를 들어, C₂-C₆ 헤테로알케닐렌), 임의로 치환된 알키닐렌(예를 들어, C₂-C₆ 알키닐렌), 임의로 치환된 헤테로알키닐렌(예를 들어, C₂-C₆ 헤테로알키닐렌), 임의로 치환된 사이클로알킬렌, 임의로 치환된 헤테로사이클로알킬렌, 임의로 치환된 아릴렌, 임의로 치환된 헤테로아릴렌, 디펩티드, -(C=O)-, 펩티드, 또는 이의 조합이고;

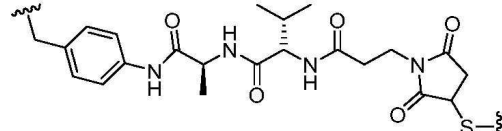
[0595] Z는 L 상에 존재하는 반응성 치환기와 CD2에 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편 내에 존재하는 반응성 치환기 사이의 커플링 반응으로부터 형성된 화학적 모이어티이고;

[0596] 여기서 Am은 정확히 하나의 R_C 치환기를 포함한다.

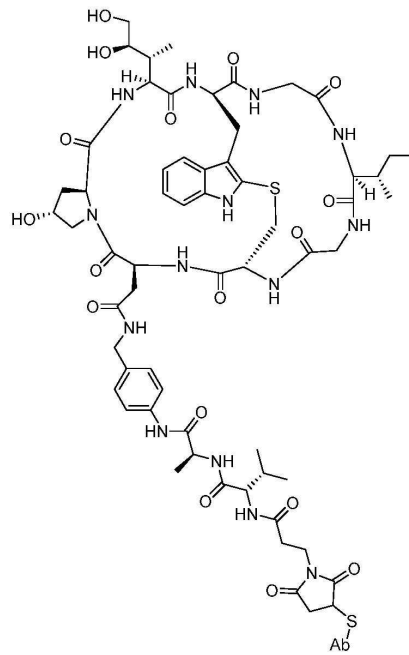
[0597] 일부 구체예에서, 링커는 $-(CH_2)_n$ 을 포함하고, 여기서 n은 6이다. 일부 구체예에서, L-Z는



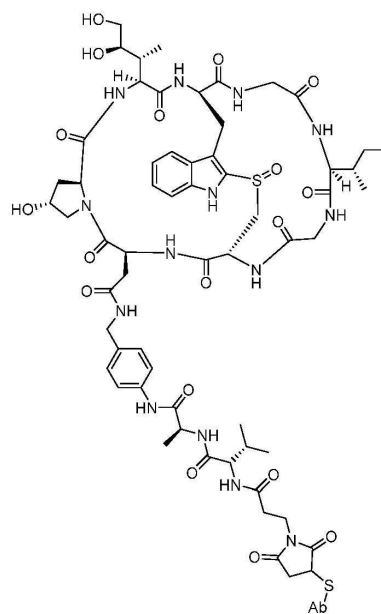
이다.



[0598] 일부 구체예에서, L-Z는

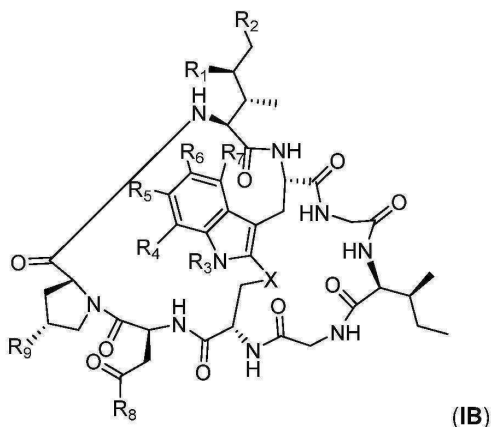


[0599] 일부 구체예에서, Am-L-Z-Ab는



[0600] 일부 구체예에서, Am-L-Z-Ab는

[0601] 일부 구체예에서, Am-L-Z는 하기 화학식 (IB)로 표현된다:



[0602]

[0603] 상기 식에서, R₁은 H, OH, OR_A, 또는 OR_C이고;

[0604] R₂는 H, OH, OR_B, 또는 OR_C이고;

[0605] R_A 및 R_B는 존재하는 경우 이들이 결합된 산소 원자와 함께 조합되어 임의로 치환된 5원 헤테로사이클로알킬 기를 형성하고;

[0606] R₃은 H, R_C, 또는 R_D이고;

[0607] R₄는 H, OH, OR_C, OR_D, R_C, 또는 R_D이고;

[0608] R₅는 H, OH, OR_C, OR_D, R_C, 또는 R_D이고;

[0609] R₆은 H, OH, OR_C, OR_D, R_C, 또는 R_D이고;

[0610] R₇은 H, OH, OR_C, OR_D, R_C, 또는 R_D이고;

[0611] R₈은 OH, NH₂, OR_C, OR_D, NHR_C, 또는 NR_CR_D이고;

[0612] R₉는 H, OH, OR_C, 또는 OR_D이고;

[0613] X는 -S-, -S(O)-, 또는 -SO₂-이고;

[0614] R_C는 -L-Z이고;

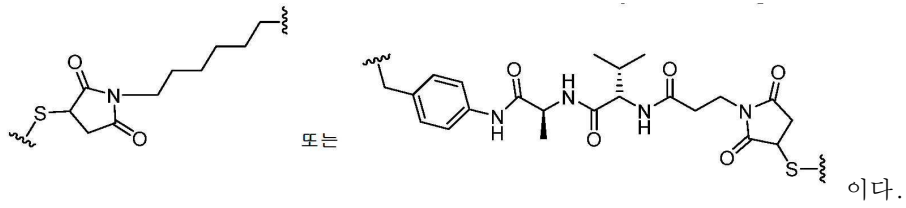
[0615] R_D는 임의로 치환된 알킬(예를 들어, C₁-C₆ 알킬), 임의로 치환된 헤테로알킬(예를 들어, C₁-C₆ 헤테로알킬), 임의로 치환된 알케닐(예를 들어, C₂-C₆ 알케닐), 임의로 치환된 헤테로알케닐(예를 들어, C₂-C₆ 헤테로알케닐), 임의로 치환된 알키닐(예를 들어, C₂-C₆ 알키닐), 임의로 치환된 헤테로알키닐(예를 들어, C₂-C₆ 헤테로알키닐), 임의로 치환된 사이클로알킬, 임의로 치환된 헤테로사이클로알킬, 임의로 치환된 아릴, 또는 임의로 치환된 헤테로아릴이고;

[0616] L은 링커, 예를 들어, 임의로 치환된 알킬렌(예를 들어, C₁-C₆ 알킬렌), 임의로 치환된 헤테로알킬렌(C₁-C₆ 헤테로알킬렌), 임의로 치환된 알케닐렌(예를 들어, C₂-C₆ 알케닐렌), 임의로 치환된 헤테로알케닐렌(예를 들어, C₂-C₆ 헤테로알케닐렌), 임의로 치환된 알키닐렌(예를 들어, C₂-C₆ 알키닐렌), 임의로 치환된 헤테로알키닐렌(예를 들어, C₂-C₆ 헤테로알키닐렌), 임의로 치환된 사이클로알킬렌, 임의로 치환된 헤테로사이클로알킬렌, 임의로 치환된 아릴렌, 임의로 치환된 헤테로아릴렌, 디펩티드, -(C=O)-, 펩티드, 또는 이의 조합이고;

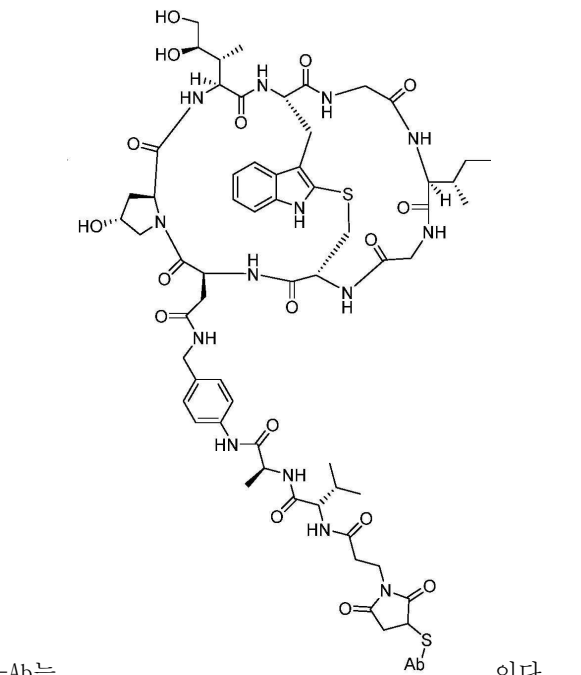
[0617] Z는 L 상에 존재하는 반응성 치환기와 CD2에 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편 내에 존재하는 반응성 치환기 사이의 커플링 반응으로부터 형성된 화학적 모이어티이고;

[0618] 여기서 Am은 정확히 하나의 R_C 치환기를 포함한다.

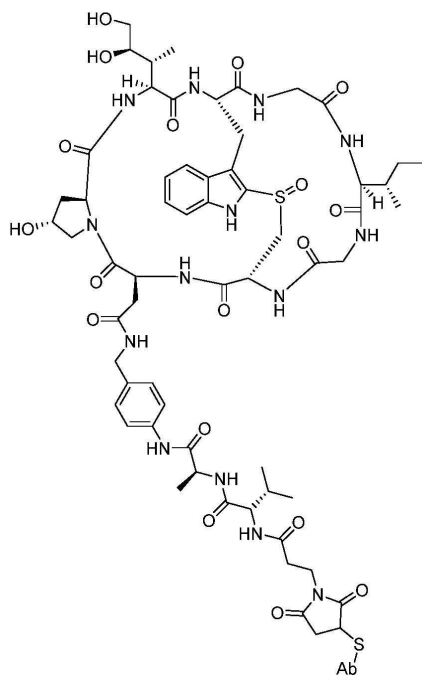
[0619] 일부 구체예에서, 링커 L 및 화학적 모이어티 Z는 L-Z로서 함께 취해져서



[0620] 일부 구체예에서, L-Z는

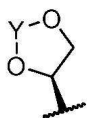


[0621] 일부 구체예에서, Am-L-Z-Ab는



[0622] 일부 구체예에서, Am-L-Z-Ab는 이다.

[0623] 일부 구체예에서, R_A 및 R_B 는 이들이 결합된 산소 원자와 함께 조합되어 하기 화학식의 5원 헤테로사이클로알킬기를 형성한다:



[0624]

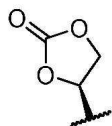
[0625] 상기 식에서, Y는 $-C(=O)-$, $-C(=S)-$, $-C(=NR_E)-$, 또는 $-C(R_E R_{E'})-$ 이고; R_E 및 $R_{E'}$ 는 각각 독립적으로 임의로 치환된 C_1-C_6 알킬렌- R_C , 임의로 치환된 C_1-C_6 헤테로알킬렌- R_C , 임의로 치환된 C_2-C_6 알케닐렌- R_C , 임의로 치환된 C_2-C_6 헤테로알케닐렌- R_C , 임의로 치환된 C_2-C_6 알키닐렌- R_C , 임의로 치환된 C_2-C_6 헤테로알키닐렌- R_C , 임의로 치환된 사이클로알킬렌- R_C , 임의로 치환된 헤테로사이클로알킬렌- R_C , 임의로 치환된 아릴렌- R_C , 또는 임의로 치환된 헤테로아릴렌- R_C 이다.

[0626] 일부 구체예에서, Am-L-Z는 화학식 (IA) 또는 화학식 (IB)로 표현되며,

[0627] 여기서, R_1 은 H, OH, OR_A , 또는 OR_C 이고;

[0628] R_2 는 H, OH, OR_B , 또는 OR_C 이고;

[0629] R_A 및 R_B 는 이들이 결합된 산소 원자와 함께 조합되어 다음을 형성하고:



[0630]

[0631] R_3 은 H 또는 R_C 이고;

[0632] R_4 는 H, OH, OR_C , OR_D , R_C , 또는 R_D 이고;

[0633] R_5 는 H, OH, OR_C , OR_D , R_C , 또는 R_D 이고;

[0634] R_6 은 H, OH, OR_C , OR_D , R_C , 또는 R_D 이고;

[0635] R_7 은 H, OH, OR_C , OR_D , R_C , 또는 R_D 이고;

[0636] R_8 은 OH, NH_2 , OR_C , 또는 NHR_C 이고;

[0637] R_9 는 H 또는 OH이고;

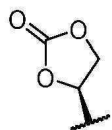
[0638] 여기서 X, R_C 및 R_D 는 각각 상기 정의된 바와 같다.

[0639] 일부 구체예에서, Am-L-Z는 화학식 (IA) 또는 화학식 (IB)로 표현되며,

[0640] 여기서, R_1 은 H, OH, OR_A , 또는 OR_C 이고;

[0641] R_2 는 H, OH, OR_B , 또는 OR_C 이고;

[0642] R_A 및 R_B 는 이들이 결합된 산소 원자와 함께 조합되어 다음을 형성하고:



[0643]

[0644] R_3 은 H 또는 R_C 이고;

[0645] R_4 및 R_5 는 각각 독립적으로 H, OH, OR_C , R_C , 또는 OR_D 이고;

[0646] R_6 및 R_7 은 각각 H이고;

[0647] R_8 은 OH, NH_2 , OR_C , 또는 NHR_C 이고;

[0648] R_9 는 H 또는 OH이고;

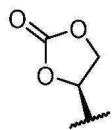
[0649] 여기서 X 및 R_C 는 상기 정의된 바와 같다.

[0650] 일부 구체예에서, Am-L-Z는 화학식 (IA) 또는 화학식 (IB)로 표현되며,

[0651] 여기서, R_1 은 H, OH, 또는 OR_A 이고;

[0652] R_2 는 H, OH, 또는 OR_B 이고;

[0653] R_A 및 R_B 는 이들이 결합된 산소 원자와 함께 조합되어 다음을 형성하고:



[0654]

[0655] R_3 , R_4 , R_6 , 및 R_7 은 각각 H이고;

[0656] R_5 는 OR_C 이고;

[0657] R_8 은 OH 또는 NH_2 이고;

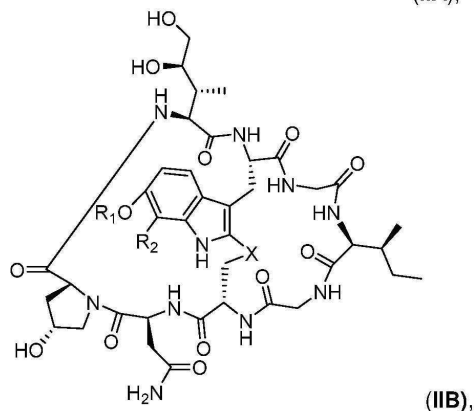
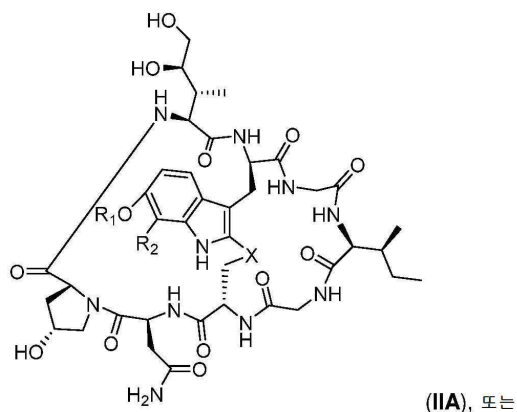
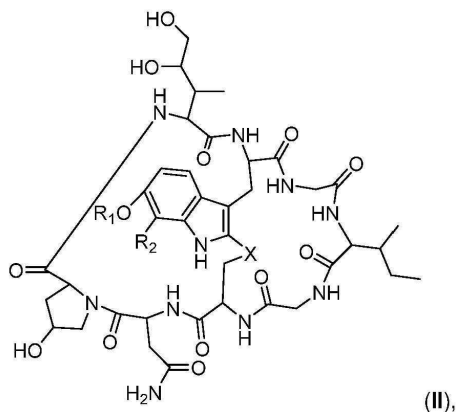
[0658] R_9 는 H 또는 OH이고;

[0659] 여기서 X 및 R_C 는 상기 정의된 바와 같다. 이러한 아마톡신 컨쥬게이트는, 예를 들어, US 특허 출원 공개 번호 2016/0002298에 기재되어 있으며, 이의 개시는 전문이 본원에 참조로서 포함된다.

[0660] 일부 구체예에서, Am-L-Z는 화학식 (IA) 또는 화학식 (IB)로 표현되며,

- [0661] 여기서, R_1 및 R_2 는 각각 독립적으로 H 또는 OH이고;
- [0662] R_3 은 R_C 이고;
- [0663] R_4 , R_6 , 및 R_7 은 각각 H이고;
- [0664] R_5 는 H, OH, 또는 OC_1-C_6 알킬이고;
- [0665] R_8 은 OH 또는 NH_2 이고;
- [0666] R_9 는 H 또는 OH이고;
- [0667] 여기서 X 및 R_C 는 상기 정의된 바와 같다. 이러한 아마톡신 컨쥬게이트는, 예를 들어, US 특허 출원 공개 번호 2014/0294865에 기재되어 있으며, 이의 개시는 전문이 본원에 참조로서 포함된다.
- [0668] 일부 구체예에서, Am-L-Z는 화학식 (IA) 또는 화학식 (IB)로 표현되며,
- [0669] 여기서, R_1 및 R_2 는 각각 독립적으로 H 또는 OH이고;
- [0670] R_3 , R_6 , 및 R_7 은 각각 H이고;
- [0671] R_4 및 R_5 는 각각 독립적으로 H, OH, OR_C , 또는 R_C 이고;
- [0672] R_8 은 OH 또는 NH_2 이고;
- [0673] R_9 는 H 또는 OH이고;
- [0674] 여기서 X 및 R_C 는 상기 정의된 바와 같다. 이러한 아마톡신 컨쥬게이트는, 예를 들어, US 특허 출원 공개 번호 2015/0218220에 기재되어 있으며, 이의 개시는 전문이 본원에 참조로서 포함된다.
- [0675] 일부 구체예에서, Am-L-Z는 화학식 (IA) 또는 화학식 (IB)로 표현되며,
- [0676] 여기서, R_1 및 R_2 는 각각 독립적으로 H 또는 OH이고;
- [0677] R_3 , R_6 , 및 R_7 은 각각 H이고;
- [0678] R_4 및 R_5 는 각각 독립적으로 H 또는 OH이고;
- [0679] R_8 은 OH, NH_2 , OR_C , 또는 NHR_C 이고;
- [0680] R_9 는 H 또는 OH이고;
- [0681] 여기서 X 및 R_C 는 상기 정의된 바와 같다. 이러한 아마톡신 컨쥬게이트는, 예를 들어, US 특허 번호 9,233,173 및 9,399,681, 뿐만 아니라 US 2016/0089450에 기재되어 있으며, 이들 각각의 개시는 전문이 본원에 참조로서 포함된다.
- [0682] 본원에 기재된 조성물 및 방법에 따라 항체 또는 이의 항원-결합 단편과의 컨쥬게이션에 사용될 수 있는 추가적인 아마톡신은, 예를 들어, WO 2016/142049; WO 2016/071856; 및 WO 2017/046658에 개시되어 있으며, 이들 각각의 개시는 전문이 본원에 참조로서 포함된다.

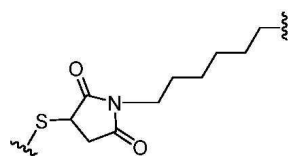
[0683] 일부 구체예에서, Am-L-Z는 하기 화학식 (II), 화학식 (IIA), 또는 화학식 (IIB)로 표현된다:



[0684]

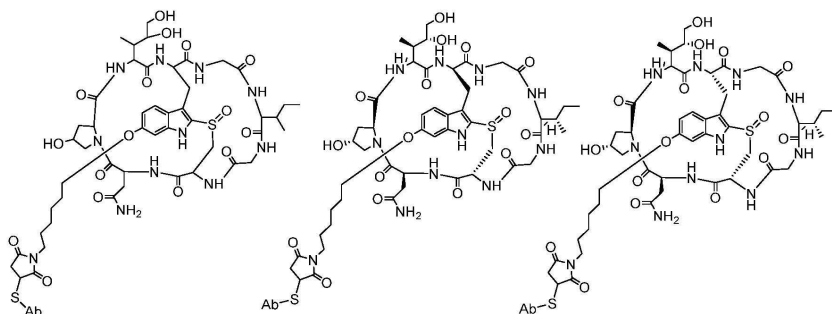
[0685] 상기 식에서, X는 S, SO, 또는 SO₂이고; R₁은 H 또는 링커 상에 존재하는 반응성 치환기와 항체 또는 이의 항원-결합 단편 내에 존재하는 반응성 치환기 사이의 커플링 반응으로부터 형성된 화학적 모이어티 Z를 통해 항체 또는 이의 항원-결합 단편에 공유적으로 결합된 링커이고; R₂는 H 또는 링커 상에 존재하는 반응성 치환기와 항체 또는 이의 항원-결합 단편 내에 존재하는 반응성 치환기 사이의 커플링 반응으로부터 형성된 화학적 모이어티 Z를 통해 항체 또는 이의 항원-결합 단편에 공유적으로 결합된 링커이고; 여기서 R₁이 H인 경우, R₂는 링커이고, R₂가 H인 경우, R₁은 링커이다.

[0686] 일부 구체예에서, 링커는 -(CH₂)_n- 단위를 포함하며, 여기서 n은 2-6의 정수이다. 일부 구체예에서, R₁은 링커이



고 R₂는 H이며, 링커 및 화학적 모이어티는 L-Z로서 함께 이다.

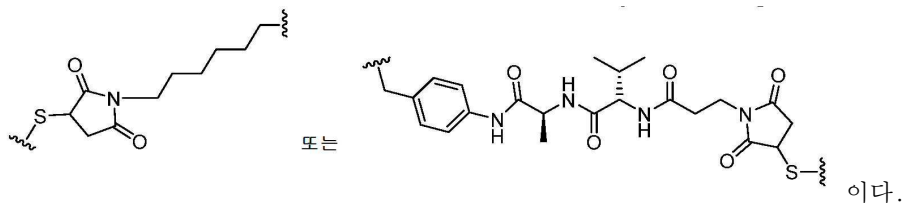
[0687] 일부 구체예에서, Am-L-Z-Ab는 다음 중 하나이다:



[0688]

[0689] 일부 구체예에서, 세포독소는 α -아마니틴이다. 일부 구체예에서, α -아마니틴은 화학식 III의 화합물이다. 일부 구체예에서, 화학식 III의 α -아마니틴은 링커 L을 통해 CD2에 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편에 부착된다. 링커 L은 화학식 I, IA, IB, II, IIA, 또는 IIB의 α -아마니틴-링커 컨주게이트를 제공하기 위해 여러 가능한 위치 중 임의의 하나(예를 들어, R^1 - R^9 중 임의의 위치)에서 화학식 III의 α -아마니틴에 부착될 수 있다. 일부 구체예에서, 링커는 위치 R^1 에 부착된다. 일부 구체예에서, 링커는 위치 R^2 에 부착된다. 일부 구체예에서, 링커는 위치 R^3 에 부착된다. 일부 구체예에서, 링커는 위치 R^4 에 부착된다. 일부 구체예에서, 링커는 위치 R^5 에 부착된다. 일부 구체예에서, 링커는 위치 R^6 에 부착된다. 일부 구체예에서, 링커는 위치 R^7 에 부착된다. 일부 구체예에서, 링커는 위치 R^8 에 부착된다. 일부 구체예에서, 링커는 위치 R^9 에 부착된다. 일부 구체예에서, 링커는 하이드라진, 디설파이드, 티오에테르 또는 디펩티드를 포함한다. 일부 구체예에서, 링커는 Val-Ala 및 Val-Cit로부터 선택된 디펩티드를 포함한다. 일부 구체예에서, 링커는 파라-아미노벤질 기(PAB)를 포함한다. 일부 구체예에서, 링커는 모이어티 PAB-Cit-Val을 포함한다. 일부 구체예에서, 링커는 모이어티 PAB-Ala-Val을 포함한다. 일부 구체예에서, 링커는 $-((C=O)(CH_2)_n-$ 단위를 포함하며, 여기서 n은 1-6의 정수이다.

[0690] 일부 구체예에서, 링커는 $-(CH_2)_n-$ 단위를 포함하며, 여기서 n 은 2-6의 정수이다. 일부 구체예에서, 링커는 $-PAB-Cit-Val-((C=O)(CH_2)_n)-$ 이다. 일부 구체예에서, 링커는 $-PAB-Ala-Val-((C=O)(CH_2)_n)-$ 이다. 일부 구체예에서, 링커 L 및 화학적 모이어티 Z는 L-Z로서 함께 취해져서



[0691] 본원에 기재된 조성물 및 방법과 함께 사용하기 위한 항체 및 항원-결합 단편은 당 분야에 공지되거나 본원에 기재된 컨쥬게이션 기술을 사용하여 α -아마니틴 또는 이의 변이체와 같은 아마톡신에 컨쥬게이션될 수 있다. 예를 들어, CD2를 인지하고 이에 결합하는 항체 및 이의 항원-결합 단편은 US 2015/0218220에 기술된 바와 같이 아마톡신, 예를 들어, α -아마니틴 또는 이의 변이체에 컨쥬게이션될 수 있으며, 이의 개시는, 예를 들어, 아마톡신, 예를 들어, α -아마니틴 및 이의 변이체, 뿐만 아니라 공유 컨쥬게이션에 사용될 수 있는 공유 링커에 관한 것으로 본원에 참조로서 포함된다. 아마톡신을 제조하는 합성 방법은, 예를 들어, U.S. 특허 번호 9,676,702에 기술되어 있으며, 이는 그 안에 개시된 합성 방법과 관련하여 본원에 참조로서 포함된다.

[0692] 본원에 기재된 조성물 및 방법과 함께 사용하기 위한 항체 또는 항원-결합 단편은 당 분야에 공지되거나 본원에 기재된 컨쥬게이션 기술을 사용하여 α -아마니틴 또는 이의 변이체와 같은 아마톡신에 컨쥬게이션될 수 있다. 예를 들어, CD2를 인지하고 이에 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 US 2015/0218220에 기술된 바와 같이 아마톡신, 예를 들어, α -아마니틴 또는 이의 변이체에 컨쥬게이션될 수 있으며, 이의 개시는, 예를 들어, 아마톡신, 예를 들어, α -아마니틴 및 이의 변이체, 뿐만 아니라 공유 컨쥬게이션에 사용될 수 있는 공유 링커에 관한 것으로 본원에 참조로서 포함된다.

[0693] 본원에 기술된 방법과 관련하여 유용한 예시적인 항체-약물 컨쥬게이트는 항체 또는 이의 항원-결합 단편과, 항체 또는 이의 항원-결합 단편 상의 반응성 잔기와 반응에 적합한 치환기를 함유하는 링커에 컨쥬게이션된 아

마톡신과의 반응에 의해 형성될 수 있다. 본원에 기재된 항체 또는 이의 항원-결합 단편 상의 반응성 잔기와
 반응에 적합한 치환기를 함유하는 링커에 컨주게이션된 아톡신은, 비제한적으로, 7'C-(4-(6-(말레이미도)헥사
 노일)피페라진-1-일)-아톡신; 7'C-(4-(6-(말레이미도)헥산아미도)피페리딘-1-일)-아톡신; 7'C-(4-(6-(말
 레이미도)헥산아미도)헥사노일)피페라진-1-일)-아톡신; 7'C-(4-(4-((말레이미도)메틸)사이클로헥산카르보닐)
 피페라진-1-일)-아톡신; 7'C-(4-(6-(4-((말레이미도)메틸)사이클로헥산카르복사미도)헥사노일)피페라진-1-
 일)-아톡신; 7'C-(4-(2-(6-(말레이미도)헥산아미도)에틸)피페리딘-1-일)-아톡신; 7'C-(4-(2-(6-(6-(말레이
 미도)헥산아미도)헥산아미도)에틸)피페리딘-1-일)-아톡신; 7'C-(4-(2-(4-((말레이미도)메틸)사이클로헥산카르
 복사미도)에틸)피페리딘-1-일)-아톡신; 7'C-(4-(2-(6-(4-((말레이미도)메틸)사이클로헥산카르복사미도)헥산아
 미도)에틸)피페리딘-1-일)-아톡신; 7'C-(4-(2-(3-카르복시프로판아미도)에틸)피페리딘-1-일)-아톡신; 7'C-
 (4-(2-(2-브로모아세트아미도)에틸)피페리딘-1-일)-아톡신;
 7'C-(4-(2-(3-(피리딘-2-일디설파닐)프로판아미도)에틸)피페리딘-1-일)-아톡신; 7'C-(4-(2-(4-(말레이미도)부
 탄아미도)에틸)피페리딘-1-일)-아톡신; 7'C-(4-(2-(말레이미도)아세트)피페라진-1-일)-아톡신; 7'C-(4-
 (3-(말레이미도)프로파노일)피페라진-1-일)-아톡신; 7'C-(4-(4-(말레이미도)부타노일)피페라진-1-일)-아톡
 신; 7'C-(4-(2-(6-(4-((말레이미도)메틸)사이클로헥산카르복사미도)헥산아미도)에틸)피페리딘-1-일)-아톡
 신; 7'C-(3-(6-(말레이미도)헥산아미도)메틸)피롤리딘-1-일)-아톡신; 7'C-(3-(6-(6-(말레이미도)헥산아미도)헥
 산아미도)메틸)피롤리딘-1-일)-아톡신; 7'C-(3-(4-((말레이미도)메틸)사이클로헥산카르복사미도)메틸)피롤리
 딤-1-일)-아톡신; 7'C-(3-(6-(4-((말레이미도)메틸)사이클로헥산카르복사미도)헥산아미도)메틸)피롤리딘-
 1-일)-아톡신; 7'C-(4-(2-(6-(2-(아미노옥시)아세트아미도)헥산아미도)에틸)피페리딘-1-일)-아톡신; 7'C-
 (4-(2-(4-(2-(아미노옥시)아세트아미도)부탄아미도)에틸)피페리딘-1-일)-아톡신; 7'C-(4-(4-(2-(아미노옥시)
 아세트아미도)부타노일)피페라진-1-일)-아톡신; 7'C-(4-(6-(2-(아미노옥시)아세트아미도)헥사노일)피페라진-
 1-일)-아톡신; 7'C-((4-(6-(말레이미도)헥산아미도)피페리딘-1-일)메틸)-아톡신; 7'C-((4-(2-(6-(말레이미
 도)헥산아미도)에틸)피페리딘-1-일)메틸)-아톡신; 7'C-((4-(6-(말레이미도)헥사노일)피페라진-1-일)메틸)-아
 톡신; (R)-7'C-((3-((6-(말레이미도)헥산아미도)메틸)피롤리딘-1-일)메틸)-아톡신; (S)-7'C-((3-((6-(말레이
 미도)헥산아미도)메틸)피롤리딘-1-일)메틸)-아톡신; 7'C-((4-(2-(6-(6-(말레이미도)헥산아미도)헥산아미
 도)에틸)피페리딘-1-일)메틸)-아톡신; 7'C-((4-(2-(4-((말레이미도)메틸)사이클로헥산카르복사미도)에틸)피페
 리딘-1-일)메틸)-아톡신; 7'C-((4-(2-(6-(4-((말레이미도)메틸)사이클로헥산카르복사미도)헥산아미도)에틸)피
 페리딘-1-일)메틸)-아톡신; 7'C-((4-(2-(6-(말레이미도)헥산아미도)에틸)피페라진-1-일)메틸)-아톡신; 7'C-
 ((4-(2-(6-(6-(말레이미도)헥산아미도)헥산아미도)에틸)피페라진-1-일)메틸)-아톡신; 7'C-((4-(2-(4-((말레이
 미도)메틸)사이클로헥산카르복사미도)에틸)피페라진-1-일)메틸)-아톡신;
 7'C-((4-(2-(6-(4-((말레이미도)메틸)사이클로헥산카르복사미도)헥산아미도)에틸)피페라진-1-일)메틸)-아톡
 신; 7'C-((3-((6-(6-(말레이미도)헥산아미도)헥산아미도)-S-메틸)피롤리딘-1-일)메틸)-아톡신; 7'C-((3-((6-
 (6-(말레이미도)헥산아미도)헥산아미도)-R-메틸)피롤리딘-1-일)메틸)-아톡신;
 7'C-((3-((4-((말레이미도)메틸)사이클로헥산카르복사미도)-S-메틸)피롤리딘-1-일)메틸)-아톡신; 7'C-((3-
 ((4-((말레이미도)메틸)사이클로헥산카르복사미도)-R-메틸)피롤리딘-1-일)메틸)-아톡신; 7'C-((3-((6-(4-((말
 레이미도)메틸)사이클로헥산카르복사미도)헥산아미도)메틸)피롤리딘-1-일)메틸)-아톡신; 7'C-((4-(2-(3-카르
 복시프로판아미도)에틸)피페라진-1-일)메틸)-아톡신; 7'C-((4-(6-(6-(말레이미도)헥산아미도)헥사노일)피페라
 진-1-일)메틸)-아톡신; 7'C-((4-(6-(4-((말레이미도)메틸)사이클로헥산카르복사미도)헥사노일)피페라진-1-
 일)메틸)-아톡신; 7'C-((4-(2-(말레이미도)아세트)피페라진-1-일)메틸)-아톡신; 7'C-((4-(3-(말레이미도)프
 로파노일)피페라진-1-일)메틸)-아톡신; 7'C-((4-(4-(말레이미도)부타노일)피페라진-1-일)메틸)-아톡신;
 7'C-((4-(2-(2-(말레이미도)아세트아미도)에틸)피페리딘-1-일)메틸)-아톡신; 7'C-((4-(2-(4-(말레이미도)부탄
 아미도)에틸)피페리딘-1-일)메틸)-아톡신; 7'C-((4-(2-(6-(4-((말레이미도)메틸)사이클로헥산카르복사미도)헥
 산아미도)에틸)피페리딘-1-일)메틸)-아톡신; 7'C-((3-((6-(말레이미도)헥산아미도)메틸)아제티딘-1-일)메틸)-
 아톡신; 7'C-((3-(2-(6-(말레이미도)헥산아미도)에틸)아제티딘-1-일)메틸)-아톡신; 7'C-((3-((4-((말레이미
 도)메틸)사이클로헥산카르복사미도)메틸)아제티딘-1-일)메틸)-아톡신; 7'C-((3-(2-(4-((말레이미도)메틸)사이
 클로헥산카르복사미도)에틸)아제티딘-1-일)메틸)-아톡신; 7'C-((3-(2-(6-(4-((말레이미도)메틸)사이클로헥산카
 르복사미도)헥산아미도)에틸)아제티딘-1-일)메틸)-아톡신; 7'C-((2-(6-(말레이미도)-N-메틸헥산아미도)에
 틸)(메틸)아미노)메틸)-아톡신; 7'C-(((4-(6-(말레이미도)-N-메틸헥산아미도)부틸(메틸)아미노)메틸)-아톡
 신; 7'C-((2-(2-(6-(말레이미도)헥산아미도)에틸)아지리딘-1-일)메틸)-아톡신; 7'C-((2-(2-(6-(4-((말레이미
 도)메틸)사이클로헥산카르복사미도)헥산아미도)에틸)아지리딘-1-일)메틸)-아톡신; 7'C-((4-(6-(6-(2-(아미노
 옥시)아세트아미도)헥산아미도)헥사노일)피페라진-1-일)메틸)-아톡신; 7'C-((4-(1-(아미노옥시)-2-옥소-
 6,9,12,15-테트라옥사-3-아자헵타데칸-17-오일)피페라진-1-일)메틸)-아톡신; 7'C-((4-(2-(2-(아미노옥시)아세

트아미도)아세틸)피페라진-1-일)메틸)-아마톡신; 7'C-((4-(3-(2-(아미노옥시)아세트아미도)프로파노일)피페라진-1-일)메틸)-아마톡신; 7'C-((4-(4-(2-(아미노옥시)아세트아미도)부타노일)피페라진-1-일)메틸)-아마톡신; 7'C-((4-(2-(6-(2-(아미노옥시)아세트아미도)헥산아미도)에틸)피페리딘-1-일)메틸)-아마톡신; 7'C-((4-(2-(2-(2-(아미노옥시)아세트아미도)아세트아미도)에틸)피페리딘-1-일)메틸)-아마톡신; 7'C-((4-(2-(4-(2-(아미노옥시)아세트아미도)부타아미도)에틸)피페리딘-1-일)메틸)-아마톡신; 7'C-((4-(20-(아미노옥시)-4,19-디옥소-6,9,12,15-테트라옥사-3,18-디아자아이코실)피페리딘-1-일)메틸)-아마톡신; 7'C-((2-(6-(2-(아미노옥시)아세트아미도)-N-메틸헥산아미도)에틸)(메틸)아미노)메틸)-아마톡신;

7'C-((4-(6-(2-(아미노옥시)아세트아미도)-N-메틸헥산아미도)부틸)(메틸)아미노)메틸)-아마톡신; 7'C-((3-((6-(4-((말레이미도)메틸)사이클로헥산카르복사미도)헥산아미도)메틸)피롤리딘-1-일)-S-메틸)-아마톡신; 7'C-((3-((6-(4-((말레이미도)메틸)사이클로헥산카르복사미도)헥산아미도)-R-메틸)피롤리딘-1-일)메틸)-아마톡신; 7'C-((4-(2-(2-브로모아세트아미도)에틸)피페라진-1-일)메틸)-아마톡신; 7'C-((4-(2-(2-브로모아세트아미도)에틸)피페리딘-1-일)메틸)-아마톡신; 7'C-((4-(2-(3-(피리딘e-2-일디설파닐)프로판아미도)에틸)피페리딘-1-일)메틸)-아마톡신; 6'O-(6-(6-(말레이미도)헥산아미도)헥실)-아마톡신; 6'O-(5-(4-((말레이미도)메틸)사이클로헥산카르복사미도)펜틸)-아마톡신; 6'O-(2-((6-(말레이미도)헥실)옥시)-2-옥소에틸)-아마톡신; 6'O-((6-(말레이미도)헥실)카르바모일)-아마톡신;

6'O-((6-(4-((말레이미도)메틸)사이클로헥산카르복사미도)헥실)카르바모일)-아마톡신; 6'O-(6-(2-브로모아세트아미도)헥실)-아마톡신; 7'C-(4-(6-(아지도)헥산아미도)피페리딘-1-일)-아마톡신;

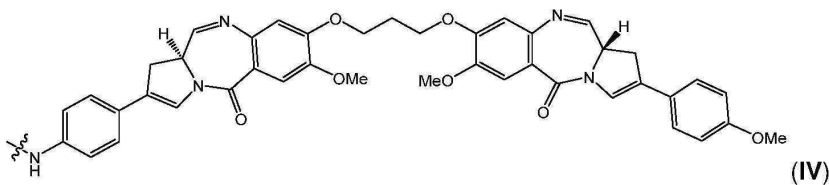
7'C-(4-(헥스-5-이노일아미노)피페리딘-1-일)-아마톡신; 7'C-(4-(2-(6-(말레이미도)헥산아미도)에틸)피페라진-1-일)-아마톡신; 7'C-(4-(2-(6-(6-(말레이미도)헥산아미도)헥산아미도)에틸)피페라진-1-일)-아마톡신; 6'O-(6-(6-(11,12-디데하이드로-5,6-디하이드로-디벤즈[b,f]아조신-5-일)-6-옥소헥산아미도)헥실)-아마톡신; 6'O-(6-(헥스-5-이노일아미노)헥실)-아마톡신; 6'O-(6-(2-(아미노옥시)아세트아미도)헥실)-아마톡신; 6'O-((6-아미노옥시)헥실)-아마톡신; 및 6'O-(6-(2-요오도아세트아미도)헥실)-아마톡신을 포함한다. 본원에 기재된 조성물 및 방법과 관련하여 특히 유용한 상기 링커는, 예를 들어, US 특허 출원 공개 번호 2015/0218220에 기재되어 있으며, 이의 개시는 본원에 참조로서 포함된다.

[0694]

암, 자가면역 질환을 직접 치료하거나 조절 줄기 세포 이식 요법을 위한 준비에서 환자(예를 들어, 인간 환자)를 조건화하기 위해 CD2를 인지하고 이에 결합하는 항원 또는 이의 항원-결합 단편에 건주계이션될 수 있는 추가적인 세포독소는 비제한적으로, 특히, 5-에티닐우라실, 아비라테론, 아실폴벤, 아데시페놀, 아도젤레신, 알테슬류킨, 알트레타민, 암바무스틴, 아미독스, 아미포스틴, 아미노레볼린산, 암루비신, 암사크린, 아나그렐리드, 아나스트로졸, 안드로그라폴리드, 혈관형성 억제제, 안타렐릭스, 항-등쪽결정화 형태형성 단백질-1, 항안드로젠, 전립선 암종, 항에스트로젠, 안티네오폴라스톤, 안티센스 올리고뉴클레오타이드, 아피디콜린 글리시네이트, 아폼토시스 유전자 조절제, 아폼토시스 조절제, 아프린산, 아술라크린, 아타메스탄, 아트리무스틴, 악시나스타틴 1, 악시나스타틴 2, 악시나스타틴 3, 아자세트론, 아자톡신, 아자티로신, 박카틴 III 유도체, 발라놀, 바티마스타트, BCR/ABL 길항제, 벤조클로린, 벤조일스타우로스포린, 베타 락탐 유도체, 베타-알레틴, 베타 클라마이신 B, 베틀린산, bFGF 억제제, 비칼루타미드, 비산트렌, 비스아지리디닐스페르민, 비스나피드, 비스트라텐 A, 비젤레신, 브레플레이트, 블레오마이신 A2, 블레오마이신 B2, 브로피리민, 부도티탄, 부티오닌 설포시민, 칼시포트리올, 칼포스틴 C, 캄프토테신 유도체(예를 들어, 10-하이드록시-캄프토테신), 카페시타빈, 카르복사미드-아미노-트리아졸, 카르복시아미도트리아졸, 카르젤레신, 카제인 키나제 억제제, 카스타노스페르민, 세크로핀 B, 세트로렐릭스, 클로린, 클로로퀴놀살린 설포아미드, 시카프로스트, 시스-포르피린, 클라드리빈, 클로미펜 및 이의 유사체, 클로트리마졸, 콜리스마이신 A, 콜리스마이신 B, 콤브레타스타틴 A4, 콤브레타스타틴 유사체, 코나게닌, 크람베시딘 816, 크리스나톨, 크립토피신 8, 크립토피신 A 유도체, 쿠라신 A, 사이클로펜트안트라퀴논, 사이클로플라탐, 시페마이신, 시타라빈 옥스포스페이트, 세포질 인자, 시토스타틴, 다클릭시탐, 데시타빈, 데하이드로디렘 B, 2' 데옥시코포르마이신(DCF), 데슬로렐린, 텍스포스파미드, 텍스라족산, 텍스베라파밀, 디아지쿠온, 디렘 B, 디독스, 디에틸도르스페르민, 디하이드로-5-아자시티딘, 디하이드로탁솔, 디옥사마이신, 디페닐 스피로무스틴, 디스코데르몰리드, 도코사놀, 돌라세트론, 독시플루리딘, 드롤록시펜, 드로나비롤, 듀오카마이신 SA, 엡셀렌, 예코무스틴, 에텔포신, 에드레콜로맘, 에플로르니틴, 엘레벤, 에미테푸르, 에포틸론, 에피틸론, 에프리스테리드, 에스트라무스틴 및 이의 유사체, 에토포시드, 에토포시드 4'-포스페이트(에토포포스로도 지칭됨), 엑세메스탄, 파드로졸, 파자라빈, 펜테티나이드, 필그라스탐, 피나스테리드, 플라보피리돌, 플레젤라스틴, 플루아스테론, 플루다라빈, 플루오로다우노루비신 하이드로클로라이드, 포르페니맥스, 포르메스탄, 포스트리예신, 포테무스틴, 가돌리늄 텍사피린, 갈륨 니트레이트, 갈로시타빈, 가니렐릭스, 겔라티나제 억제제, 겐시타빈, 글루타티온 억제제, 헵실팜, 호모해링토닌(HHT), 하이퍼리신, 이반드론산, 이독시펜, 이드라

만톤, 일모포신, 일로마스타트, 이미다조아크리돈, 이미퀴모드, 면역자극제 펩티드, 이오벤구안, 요오도독소루비신, 이포메아놀, 이리노테칸, 이로플라트, 이르소글라딘, 이소벤가졸, 자스플라키놀리드, 카할라리드 F, 라멜라린-N 트리아세테이트, 란레오티드, 레이나마이신, 레노그라스티, 렌티난 설페이트, 램플스타틴, 레트로졸, 친지성 백금 화합물, 리소클린아미드 7, 로바플라틴, 로메트렉솔, 로니다민, 로속산트론, 록소리빈, 루르토테칸, 루테튬 텍사피린, 리소필린, 마소프로콜, 마스핀, 기질 금속단백질분해효소 억제제, 메노가릴, 르네르바론, 메테렐린, 메티오나제, 메토클로프라미드, MIF 억제제, 이페프리스톤, 미테포신, 미리모스틴, 미트라신, 미토구아존, 미톨라톨, 미토마이신 및 이의 유사체, 미토나피드, 미톡산트론, 모파로텐, 몰그라모스틴, 미카퍼옥사이드 B, 미리아포론, N-아세틸디날린, N-치환된 벤즈아미드, 나파렐린, 나그레스틴, 나파빈, 나프테르핀, 나르토그라스틴, 네다플라틴, 네모루비신, 네리드론산, 닐루타미드, 니사마이신, 니트롤린, 옥트레오티드, 옥키세논, 오나프리스톤, 온단세트론, 오라신, 아르마플라틴, 옥살리플라틴, 옥사우노마이신, 파클리탁셀 및 이의 유사체, 팔라우아민, 팔미토일리족신, 파미드론산, 파낙시트리올, 파노미펜, 파라박틴, 파젤립틴, 페가스파르가제, 펠테신, 펜토산 폴리설페이트 소듐, 펜토스타틴, 펜트로졸, 페르플루브론, 페르포스파미드, 페나지노마이신, 피시바닐, 피라루비신, 피리트렉심, 포도필로톡신, 포르피로마이신, 퓨린 뉴클레오시드 포스포릴라제 억제제, 랄티트렉시드, 리족신, 로글레티미드, 로히투킨, 루비기논 B1, 루복실, 사핀골, 사인토펜, 사르코피톨 A, 사르그라모스틴, 소부족산, 소네르민, 스파르포산, 스피카마이신 D, 스피로무스틴, 스티피아미드, 설페노신, 탈리무스틴, 테가푸르, 테모줄로미드, 테니포시드, 탈리블라스틴, 티오코칼린, 티라파자민, 토포테칸, 토프센틴, 트리스리빈, 트리메트렉세이트, 베라민, 비노렐빈, 빈살틴, 보로졸, 제니플라틴, 및 질라스코르브를 포함한다.

[0695] 일부 구체예에서, 세포독소는 하기 화학식 (IV)로 표현되는 피롤로벤조디아제핀 이량체이다:



[0696]

[0697] CD2를 인지하고 이에 결합하는 본원에 기재된 항체 및 항원-결합 단편을 세포독성 분자와 컨쥬게이션하기 위해 다양한 링커가 사용될 수 있다.

[0698] 본원에서 사용되는 용어 "링커"는 본 개시의 항체-약물 컨쥬게이트(ADC; Ab-Z-L-D, 여기서 D는 세포독소임)를 형성하기 위해 항체 또는 이의 단편(Ab)을 약물 모이어티(D)에 공유적으로 결합시키는 공유 결합 또는 원자의 사슬을 포함하는 이가 화학적 모이어티를 의미한다. 적합한 링커는 2개의 반응성 말단을 가지며, 하나는 항체와 컨쥬게이션하기 위한 것이고 다른 하나는 세포독소와 컨쥬게이션하기 위한 것이다. 링커의 항체 컨쥬게이션 반응성 말단(반응성 모이어티, Z)은 통상적으로 항체 상의 시스테인 티올 또는 리신 아민 기를 통해 항체에 컨쥬게이션할 수 있는 부위이고, 따라서, 통상적으로, 티올-반응성 기, 예를 들어, 이중 결합(말레이미드에서와 같이) 또는 이탈기, 예를 들어, 클로로, 브로모, 요오도, 또는 R-설파닐 기, 또는 아민-반응성 기, 예를 들어, 카르복실 기이며; 링커의 항체 컨쥬게이션 반응성 말단은 통상적으로 세포독소 상에 염기성 아민 또는 카르복실기와 아마이드 결합을 형성함으로써 세포독소에 컨쥬게이션될 수 있는 부위이고, 따라서, 통상적으로, 카르복실 또는 염기성 아민 기이다. 용어 "링커"가 컨쥬게이션된 형태의 링커를 기술하는데 사용될 때, 반응성 말단 중 하나 또는 둘 모두는 존재하지 않거나(예를 들어, 화학적 모이어티 Z로 전환된, 반응성 모이어티 Z) 불완전할 것인데(예를 들어, 카르복실산의 단지 카르보닐임), 그 이유는 링커 및/또는 세포독소 사이, 및 링커 및/또는 항체 또는 이의 항원-결합 단편 사이에 결합이 형성되기 때문이다. 이러한 컨쥬게이션 반응은 하기에 추가로 설명된다.

[0699] 일부 구체예에서, 링커는 세포내 조건 하에서 절단 가능하며, 이로써 링커의 절단은 세포내 환경에서 항체로부터 약물 단위를 방출한다. 또 다른 구체예에서, 링커 단위는 절단될 수 없고, 약물은, 예를 들어, 항체 분해에 의해 방출된다. 본 ADC에 유용한 링커는 바람직하게는 세포외에서 안정하고, ADC 분자의 응집을 방지하고, ADC를 수성 배지 및 단량체 상태에서 자유롭게 가용성으로 유지한다. 세포 내로의 운반 또는 전달 전에, ADC는 바람직하게는 안정하고 무손상인 채로 유지되며, 즉, 항체는 약물 모이어티에 연결된 상태로 유지된다. 링커는 표적 세포의 외부에서 안정하며, 세포 내부에서 일부 효과적인 속도로 절단될 수 있다. 효과적인 링커는 (i) 항체의 특이적 결합 특성을 유지하고; (ii) 컨쥬게이트 또는 약물 모이어티의 세포내 전달을 허용하고; (iii) 컨쥬게이트가 이의 표적 부위로 전달되거나 운반될 때까지, 안정하고 무손상인 채로 유지되고, 즉, 절단되지 않고;

(iv) 세포 독성 모이어티의 세포독성, 세포-사멸 효과 또는 세포정지 효과를 유지할 것이다. ADC의 안정성은 질량 분석법, HPLC, 및 분리/분석 기술 LC/MS와 같은 표준 분석 기술에 의해 측정될 수 있다. 항체 및 약물 모이어티의 공유 부착은 링커가 2개의 반응성 작용기, 즉, 반응성 의미에서 이가를 갖도록 요구한다. 펩티드, 핵산, 약물, 독소, 항체, 합텐 및 리포터 기와 같은 2개 이상의 작용성 또는 생물학적 활성 모이어티를 부착하는데 유용한 이가 링커 시약은 공지되어 있으며, 방법은 이들의 결과적인 컨주게이트를 기술하였다(Hermanson, G. T. (1996) Bioconjugate Techniques; Academic Press: New York, p. 234-242).

[0700] 링커는, 예를 들어, 효소적 가수 분해, 광분해, 산성 조건 하에서의 가수분해, 염기성 조건 하에서의 가수분해, 산화, 디설파이드 환원, 친핵성 절단, 또는 유기금속 절단에 의해 절단될 수 있다(예를 들어, Leriche et al., Bioorg. Med. Chem., 20:571-582, 2012 참조, 이의 개시는 공유 컨주게이션에 적합한 링커에 관한 것으로 본원에 참조로서 포함된다).

[0701] 산성 조건 하에서 가수분해 가능한 링커는, 예를 들어, 하이드라존, 세미카르바존, 티오세미카르바존, 시스-아코니틱 아마이드, 오르쏘에스테르, 아세탈, 케탈 등을 포함한다(예를 들어, U.S. 특허 번호 Nos. 5,122,368; 5,824,805; 5,622,929; Dubowchik and Walker, 1999, Pharm. Therapeutics 83:67-123; Neville et al., 1989, Biol. Chem. 264:14653-14661 참조, 이들 각각의 개시는 공유 컨주게이션에 적합한 링커에 관한 것으로 전문이 본원에 참조로서 포함된다). 이러한 링커는 혈액과 같은 중성 pH 조건 하에서는 비교적 안정하지만, 리소솜의 대략적인 pH인 pH 5.5 또는 5.0 미만에서는 불안정하다.

[0702] 환원 조건 하에서 절단 가능한 링커는, 예를 들어, 디설파이드를 포함한다. 예를 들어, SATA(N-석신이미딜-S-아세틸티오아세테이트), SPDP(N-석신이미딜-3-(2-피리딜디티오)프로피오네이트), SPDB(N-석신이미딜-3-(2-피리딜디티오)부티레이트) 및 SMPT(N-석신이미딜-옥시카르보닐-알파-메틸-알파-(2-피리딜-디티오)톨루엔), SPDB 및 SMPT를 사용하여 형성될 수 있는 것을 포함하는 다양한 디설파이드 링커가 당 분야에 공지되어 있다(예를 들어, 문헌[Thorpe et al., 1987, Cancer Res. 47:5924-5931; Wawrzynczak et al., In Immunoconjugates: Antibody Conjugates in Radioimager and Therapy of Cancer (C. W. Vogel ed., Oxford U. Press, 1987. See also U.S. Pat. No. 4,880,935] 참조, 이들 각각의 개시는 공유 컨주게이션에 적합한 링커에 관한 것으로 전문이 본원에 참조로서 포함된다).

[0703] 약물-항체 컨주게이트의 합성에 유용한 링커의 예는, 특히, 아민 및 티올 모이어티와 같이, 항체 또는 항원-결합 단편 내에 존재하는 친핵성 치환기와와의 반응에 적합한 Michael 수용체(예를 들어, 말레이미드), 활성화된 에스테르, 전자-결핍 카르보닐 화합물, 및 알데하이드와 같은 친전자체를 함유하는 것들을 포함한다. 예를 들어, 약물-항체 컨주게이트의 합성에 적합한 링커는 다른 것들 중에서도, 예를 들어, 문헌[Liu et al., 18:690-697, 1979]에 기재된 석신이미딜 4-(N-말레이미도메틸)-사이클로헥산-L-카복실레이트(SMCC), N-석신이미딜 요오도아세테이트(SIA), 설폰-SMCC, m-말레이미도벤조일-N-하이드록시석신이미딜 에스테르(MBS), 설폰-MBS, 및 석신이미딜 요오도아세테이트를 비제한적으로 포함하고, 이의 개시는 화학적 컨주게이션을 위한 링커에 관한 것으로 본원에 참조로서 포함된다. 추가적인 링커는 비-절단 가능한 말레이미도카프로일 링커를 포함하며, 이는 아우리스타틴과 같은 미세소관-붕괴제의 컨주게이션에 특히 유용하고, 이는 문헌[Doronina et al., Bioconjugate Chem. 17:14-24, 2006, 이의 개시는 화학적 컨주게이션을 위한 링커에 관한 것으로 본원에 참조로서 포함된다]에 기술되어 있다. 본원에 기술된 바와 같은 약물-항체 컨주게이트의 합성에 적합한 추가적인 링커는 1,6-제거 공정에 의해 세포독소를 방출할 수 있는 것들("자기-희생 기"), 예를 들어, p-아미노벤질 알콜(PABC), 6-말레이미도헥산산, pH-민감성 카르보네이트, 및 문헌[Jain et al., Pharm. Res. 32:3526-3540, 2015, 이의 개시는 전문이 본원에 참조로서 포함된다]에 기재된 다른 시약을 포함한다. 일부 구체예에서, 링커는, 예를 들어, 문헌[Carl et al., J. Med. Chem. (1981) 24:479-480; Chakravarty et al (1983) J. Med. Chem. 26:638-644; US 6214345; US20030130189; US20030096743; US6759509; US20040052793; US6218519; US6835807; US6268488; US20040018194; W098/13059; US20040052793; US6677435; US5621002; US20040121940; W02004/032828]]에 기재된 상기 언급된 PAB 또는 PABC(파라-아미노벤질옥시카르보닐)과 같은 자기-희생 기를 포함한다. 이러한 공정이 가능한 다른 이러한 화학적 모이어티("자기-희생 링커")는 메틸렌 카르바메이트 및 헤테로아릴 기, 예를 들어, 아미노티아졸, 아미노이미다졸, 아미노피리딘 등을 포함한다. 이러한 헤테로사이클릭 자기-희생 기를 함유하는 링커는, 예를 들어, 문헌[U.S. Patent Publication Nos. 20160303254 and 20150079114, and U.S. Patent No. 7,754,681; Hay et al. (1999) Bioorg. Med. Chem. Lett. 9:2237; US 2005/0256030; de Groot et al (2001) J. Org. Chem. 66:8815-8830; and US 7223837]에 개시되어 있다.

[0704] 효소적 가수분해에 민감한 링커는, 예를 들어, 리소솜 또는 엔도솜 프로테아제를 포함하지만 이에 제한되지 않는 세포내 펩티다제 또는 프로테아제 효소에 의해 절단되는 펩티드-함유 링커일 수 있다. 치료제의 세포내 단백질

질분해 방출을 사용하는 것의 한 가지 이점은, 컨쥬게이션될 때 제제가 통상적으로 약화되고 컨쥬게이트의 혈청 안정성이 통상적으로 높다는 것이다. 일부 구체예에서, 펩티드 링커는 적어도 2개의 아미노산 길이 또는 적어도 3개의 아미노산 길이이다. 예시적인 아미노산 링커는 디펩티드, 트리펩티드, 테트라펩티드 또는 펜타펩티드를 포함한다. 적합한 펩티드의 예는 발린, 알라닌, 시트룰린(Cit), 페닐알라닌, 리신, 류신, 및 글리신과 같은 아미노산을 함유하는 것들을 포함한다. 아미노산 링커 성분을 포함하는 아미노산 잔기는 자연 발생하는 것들, 뿐만 아니라 미량 아미노산 및 비자연 발생 아미노산 유사체, 예를 들어, 시트룰린을 포함한다. 예시적인 디펩티드는 발린-시트룰린(vc 또는 val-cit) 및 알라닌-페닐알라닌(af 또는 ala-phe)을 포함한다. 예시적인 트리펩티드는 글리신-발린-시트룰린(gly-val-cit) 및 글리신-글리신-글리신(gly-gly-gly)을 포함한다. 일부 구체예에서, 링커는 Val-Cit, Ala-Val, 또는 Phe-Lys, Val-Lys, Ala-Lys, Phe-Cit, Leu-Cit, Ile-Cit, Phe-Arg, 또는 Trp-Cit와 같은 디펩티드를 포함한다. Val-Cit 또는 Phe-Lys와 같은 디펩티드를 함유하는 링커는, 예를 들어, U.S. 특허 번호 6,214,345에 개시되어 있으며, 이의 개시는 공유 컨쥬게이션에 적합한 링커에 관한 것으로 전문이 본원에 참조로서 포함된다. 일부 구체예에서, 링커는 Val-Ala 및 Val-Cit로부터 선택된 디펩티드를 포함한다. 일부 구체예에서, 디펩티드는 자기-희생 링커와 함께 사용된다.

[0705] 본원에 사용하기에 적합한 링커는 C_1-C_6 알킬렌, C_1-C_6 헤테로알킬렌, C_2-C_6 알케닐렌, C_2-C_6 헤테로알케닐렌, C_2-C_6 알키닐렌, C_2-C_6 헤테로알키닐렌, C_3-C_6 사이클로알킬렌, 헤테로사이클로알킬렌, 아릴렌, 헤테로아릴렌, 및 이의 조합으로부터 선택된 하나 이상의 기를 추가로 포함할 수 있으며, 이들 각각은 임의로 치환될 수 있다. 이러한 기의 비제한적인 예는 $(CH_2)_n$, $(CH_2CH_2O)_n$, 및 $-(C=O)(CH_2)_n-$ 단위를 포함하며, 여기서 n 은 1 내지 6의 정수이고, 각 경우에 대해 독립적으로 선택된다.

[0706] 일부 구체예에서, 링커는 하이드라진, 디설파이드, 티오에테르, 디펩티드, p-아미노벤질(PAB) 기, 헤테로사이클릭 자기-희생 기, 임의로 치환된 C_1-C_6 알킬, 임의로 치환된 C_1-C_6 헤테로알킬, 임의로 치환된 C_2-C_6 알케닐, 임의로 치환된 C_2-C_6 헤테로알케닐, 임의로 치환된 C_2-C_6 알키닐, 임의로 치환된 C_2-C_6 헤테로알키닐, 임의로 치환된 C_3-C_6 사이클로알킬, 임의로 치환된 헤테로사이클로알킬, 임의로 치환된 아릴, 임의로 치환된 헤테로아릴, 아실, $-(C=O)-$, 또는 $-(CH_2CH_2O)_n-$ 기 중 하나 이상을 포함할 수 있으며, 여기서 n 은 1 내지 6의 정수이다. 당업자는 열거된 기 중 하나 이상이 이가(디라디칼) 종, 예를 들어, C_1-C_6 알킬렌 등의 형태로 존재할 수 있음을 인식할 것이다.

[0707] 일부 구체예에서, 링커는 p-아미노벤질 기(PAB)를 포함한다. 한 구체예에서, p-아미노벤질 기는 링커에서 세포독성 약물과 프로테아제 절단 부위 사이에 배치된다. 한 구체예에서, p-아미노벤질 기는 p-아미노벤질옥시카르보닐 단위의 일부이다. 한 구체예에서, p-아미노벤질 기는 p-아미노벤질아미도 단위의 일부이다.

[0708] 일부 구체예에서, 링커는 PAB, Val-Cit-PAB, Val-Ala-PAB, Val-Lys(Ac)-PAB, Phe-Lys-PAB, Phe-Lys(Ac)-PAB, D-Val-Leu-Lys, Gly-Gly-Arg, Ala-Ala-Asn-PAB, 또는 Ala-PAB를 포함한다.

[0709] 일부 구체예에서, 링커는 펩티드, 올리고사카라이드, $-(CH_2)_n-$, $-(CH_2CH_2O)_n-$, PAB, Val-Cit-PAB, Val-Ala-PAB, Val-Lys(Ac)-PAB, Phe-Lys-PAB, Phe-Lys(Ac)-PAB, D-Val-Leu-Lys, Gly-Gly-Arg, Ala-Ala-Asn-PAB, 또는 Ala-PAB 중 하나 이상의 조합을 포함한다.

[0710] 일부 구체예에서, 링커는 $-(C=O)(CH_2)_n-$ 단위를 포함하고, 여기서 n 은 1-6의 정수이다.

[0711] 일부 구체예에서, 링커는 $-(CH_2)_n-$ 단위를 포함하고, 여기서 n 은 2 내지 6의 정수이다.


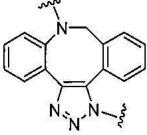
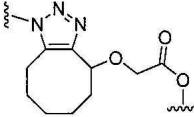
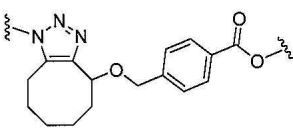
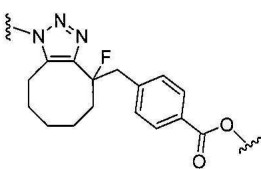
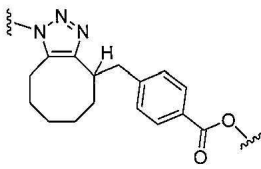
[0712] 특정 구체예에서, ADC의 링커는 N-베타-말레이미도프로필-Val-Ala-파라-아미노벤질(BMP-Val-Ala-PAB)이다.

[0713] 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 세포독성제에 컨쥬게이션하는데 사용될 수 있는 링커는 링커의 한쪽 말단에서 세포독성제에 공유 결합되고 링커의 다른 쪽 말단에서 링커 상에 존재하는 반응성 치환기와 CD2에 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편 내에 존재하는 반응성 치환기의 커플링 반응으로부터 형성된 화학적 모이어티를 함유하는 것들을 포함한다. CD2에 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편 내에 존재할 수 있는 반응성 치환기는 비제한적으로 세린, 트레오닌, 및 티로신 잔기의 하이드록실 모이어티; 리신 잔기의 아미노 모이어티; 아스파르트산 및 글루탐산 잔기의 카복실 모이어티; 및 시스테인 잔기의 티올 모이어티, 뿐만 아니라 비자연 발생 아미노산의 프로파르길, 아지도, 할로아릴(예를 들어, 플루오로아릴), 할로헤테로아릴(예를 들어, 플루오로헤테로아릴), 할로알킬, 및 할로헤테로알킬 모이어티를 포함한다.

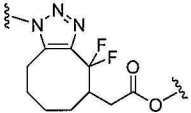
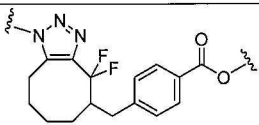
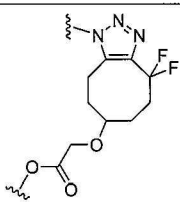
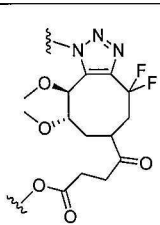
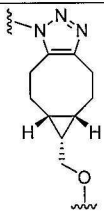
- [0714] 약물-항체 컨쥬게이트의 합성에 유용한 링커의 예는, 특히, 아민 및 티올 모이어티와 같이, 항체 또는 항원-결합 단편 내에 존재하는 친핵성 치환기와의 반응에 적합한 Michael 수용체(예를 들어, 말레이미드), 활성화된 에스테르, 전자-결핍 카르보닐 화합물, 및 알데하이드와 같은 친전자체를 함유하는 것들을 포함한다. 예를 들어, 약물-항체 컨쥬게이트의 합성에 적합한 링커는 다른 것들 중에서도, 예를 들어, 문헌[Liu et al., 18:690-697, 1979]에 기재된 석신이미드 4-(N-말레이미도메틸)-사이클로헥산-L-카복실레이트(SMCC), N-석신이미드 요오도아세테이트(SIA), 설폰-SMCC, m-말레이미도벤조일-N-하이드록시석신이미드 에스테르(MBS), 설폰-MBS, 및 석신이미드 요오도아세테이트를 비제한적으로 포함하고, 이의 개시는 화학적 컨쥬게이션을 위한 링커에 관한 것으로 본원에 참조로서 포함된다. 추가적인 링커는 비-절단 가능한 말레이미도카프로일 링커를 포함하며, 이는 아우리스타틴과 같은 미세소관-붕괴제의 컨쥬게이션에 특히 유용하고, 이는 문헌[Doronina et al., Bioconjugate Chem. 17:14-24, 2006, 이의 개시는 화학적 컨쥬게이션을 위한 링커에 관한 것으로 본원에 참조로서 포함된다]에 기술되어 있다.
- [0715] 본원에 개시된 임의의 하나 이상의 화학적 기, 모이어티 및 특징은 본원에 개시된 바와 같은 항체 및 세포독소의 컨쥬게이션에 유용한 링커를 형성하기 위해 여러 방식으로 조합될 수 있다는 것이 당업자에게 인식될 것이다. 본원에 기재된 조성물 및 방법과 관련하여 유용한 추가 링커는, 특히, 예를 들어, U.S. 특허 출원 공개 번호 2015/0218220에 기재되어 있으며, 이의 개시는 전문이 본원에 참조로서 포함된다.
- [0716] 본원에 기재된 항체-약물 컨쥬게이트와 관련하여 유용한 링커는 하기 표 1에 도시된 바와 같은 커플링 반응에 의해 형성된 화학적 모이어티를 함유하는 링커를 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 곡선은 각각 항체 또는 항원-결합 단편, 및 세포독성 분자에 대한 부착점을 나타낸다.

[0717]

표 1. 항체-약물 컨쥬게이트의 형성에서 커플링 반응에 의해 형성된 예시적인 화학적 모이어티

예시적인 커플링 반응	커플링 반응에 의해 형성된 화학적 모이어티 z
[3+2] 고리첨가	
[3+2] 고리첨가	
[3+2] 고리첨가, 에스테르화	
[3+2] 고리첨가, 에스테르화	
[3+2] 고리첨가, 에스테르화	
[3+2] 고리첨가, 에스테르화	

[0718]

<p>[3+2] 고리첨가, 에스테르화</p>	
<p>[3+2] 고리첨가, 에스테르화</p>	
<p>[3+2] 고리첨가, 에스테르화</p>	
<p>[3+2] 고리첨가, 에스테르화</p>	
<p>[3+2] 고리첨가, 에스테르화</p>	

[0719]

[3+2] 고리첨가, 에스테르화	
[3+2] 고리첨가, 에스테르화	
[3+2] 고리첨가, 에테르화	
[3+2] 고리첨가	
Michael 첨가	
Michael 첨가	
이민 축합, 아미드화	

[0720]

이민 축합	
디설파이드 형성	
티올 알킬화	
축합, Michael 첨가	

[0721]

[0722]

당업자는 링커에 부착된 반응성 치환기 Z 및 항체 또는 이의 항원 결합 단편 상의 반응성 치환기가 화학적 모이 어티 Z를 생성하기 위해 공유 커플링 반응에 관여함을 인지할 것이며, 반응성 치환기 Z를 인지할 것이다. 따라서, 본원에 기술된 방법과 관련하여 유용한 항체-약물 컨쥬게이트는 항체 또는 이의 항원-결합 단편과 본원에

기술된 바와 같은 링커 또는 세포독소-링커 컨쥬게이트, 즉, 화학적 모이어티 Z를 형성하기 위해 항체 또는 이의 항원-결합 단편 상의 반응성 치환기와의 반응에 적합한 반응성 치환기 Z를 포함하는 링커 또는 세포독소-링커 컨쥬게이트의 반응에 의해 형성될 수 있다.

[0723] 표 3에 도시된 바와 같이, 링커 및 항체 또는 이의 항원-결합 단편 상의 적합한 반응성 치환기의 예는 친핵체/친전자체 쌍(예를 들어, 티올/할로알킬 쌍, 아민/카르보닐 쌍, 또는 티올/ α, β -불포화된 카르보닐 쌍 등), 디엔/친디엔체 쌍(예를 들어, 특히, 아지드/알킨 쌍, 또는 디엔/ α, β -불포화된 카르보닐 쌍) 등을 포함한다. 화학적 모이어티 Z를 형성하기 위한 반응성 치환기 사이의 커플링 반응은 티올 알킬화, 하이드록실 알킬화, 아민 알킬화, 아민 또는 하이드록실아민 축합, 하이드라진 형성, 아미드화, 에스테르화, 디설파이드 형성, 고리첨가(예를 들어, 특히, [4+2] 디엘스-알더 고리첨가, [3+2] 휴이스겐 고리첨가), 친핵성 방향족 치환, 친전자성 방향족 치환, 및 당 분야에 공지되거나 본원에 기재된 다른 반응성 방식을 비제한적으로 포함한다. 바람직하게는, 링커는 항체 또는 이의 항원-결합 단편 상의 친핵성 작용기와 반응하기 위한 친전자성 작용기를 포함한다.

[0724] 본원에 기재된 항체 또는 이의 항원-결합 단편 내에 존재할 수 있는 반응성 치환기는 친핵성 기, 예를 들어, (i) N-말단 아민 기, (ii) 측쇄 아민 기, 예를 들어, 리신, iii) 측쇄 티올 기, 예를 들어, 시스테인, 및 (iv) 항체가 당화되는 경우 당 하이드록실 또는 아미노 기를 비제한적으로 포함한다. 본원에 기재된 항체 또는 이의 항원-결합 단편 내에 존재할 수 있는 반응성 치환기는 비제한적으로 세린, 트레오닌, 및 티로신 잔기의 하이드록실 모이어티; 리신 잔기의 아미노 모이어티; 아스파르트산 및 글루탐산 잔기의 카르복실 모이어티; 및 시스테인 잔기의 티올 모이어티, 뿐만 아니라 비자연 발생 아미노산의 프로파르길, 아지도, 할로아릴(예를 들어, 플루오로아릴), 할로헥테로아릴(예를 들어, 플루오로헥테로아릴), 할로알킬, 및 할로헥테로알킬 모이어티를 포함한다. 일부 구체예에서, 본원에 기재된 항체 또는 이의 항원-결합 단편 내에 존재하는 반응성 치환기는 아민 또는 티올 모이어티이다. 특정 항체는 환원성 사슬간 디설파이드, 즉, 시스테인 브릿지를 갖는다. 항체는 DTT(디티오트레이톨)와 같은 환원제로 처리함으로써 링커 시약과의 컨쥬게이션에 반응성이 될 수 있다. 따라서 각각의 시스테인 브릿지는 이론적으로 2개의 반응성 티올 친핵체를 형성할 것이다. 추가적인 친핵성 기가 리신과 2-이미노티올란(트라우트 시약(Traut's reagent))의 반응을 통해 항체 내에 도입되어, 아민을 티올로 전환시킬 수 있다. 반응성 티올 기는 1, 2, 3, 4, 또는 그 초과인 시스테인 잔기를 도입함으로써(예를 들어, 하나 이상의 비천연 시스테인 아미노산 잔기를 포함하는 돌연변이체 항체를 제조함으로써) 항체(또는 이의 단편) 내에 도입될 수 있다. U.S. 특허 번호 7,521,541은 반응성 시스테인 아미노산의 도입에 의한 항체 조작을 교시하고 있다.

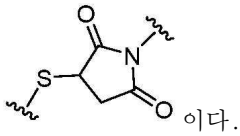
[0725] 일부 구체예에서, 링커에 부착된 반응성 모이어티 Z는 항체 상에 존재하는 친전자성 기와 반응성인 친핵성 기이다. 항체 상의 유용한 친전자성 기는 알데하이드 및 케톤 카르보닐 기를 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 친핵성 기의 헤테로원자는 항체 상의 친전자성 기와 반응하여 항체에 대한 공유 결합을 형성할 수 있다. 유용한 친핵성 기는 하이드라지드, 옥심, 아미노, 하이드록실, 하이드라진, 티오세미카르바존, 하이드라진 카르복실레이트, 및 아릴하이드라지드를 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

[0726] 일부 구체예에서, Z는 항체 또는 이의 항원-결합 단편 내에 존재하는 반응성 친핵성 치환기, 예를 들어, 아민 및 티올 모이어티와, 반응성 친전자성 치환기 Z 사이의 반응 생성물이다. 예를 들어, Z는, 특히, Michael 수용체(예를 들어, 말레이미드), 활성화된 에스테르, 전자-결핍 카르보닐 화합물, 또는 알데하이드일 수 있다.

[0727] 일부 구체예에서, ADC는 링커 및 화학적 모이어티 Z를 통해 본원에 개시된 임의의 화학식 I, IA, IB, II, IIA, 또는 IIB의 아마톡신에 컨쥬게이션된 항-CD2 항체를 포함한다. 일부 구체예에서, 링커는 디펩티드를 포함한다. 일부 구체예에서, 링커는 Val-Ala 및 Val-Cit로부터 선택된 디펩티드를 포함한다. 일부 구체예에서, 링커는 파라-아미노벤질기(PAB)를 포함한다. 일부 구체예에서, 링커는 모이어티 PAB-Cit-Val을 포함한다. 일부 구체예에서, 링커는 모이어티 PAB-Ala-Val을 포함한다. 일부 구체예에서, 링커는 $-(C=O)(CH_2)_n-$ 단위를 포함하고, 여기서 n은 1-6의 정수이다. 일부 구체예에서, 링커는 $-PAB-Cit-Val-(C=O)(CH_2)_n-$ 이다.

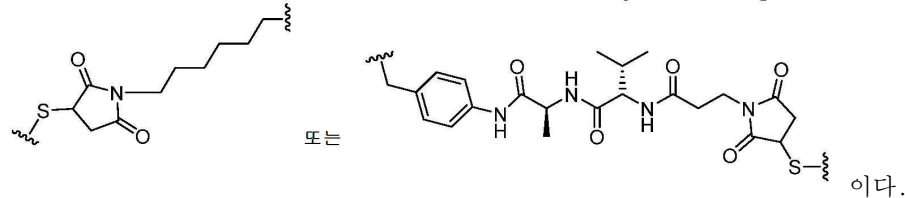
[0728] 일부 구체예에서, 링커는 $-(CH_2)_n-$ 단위를 포함하며, 여기서 n은 2-6의 정수이다. 일부 구체예에서, 링커는 $-PAB-Cit-Val-(C=O)(CH_2)_n-$ 이다. 일부 구체예에서, 링커는 $-PAB-Ala-Val-(C=O)(CH_2)_n-$ 이다. 일부 구체예에서, 링커는 $-(CH_2)_n-$ 이다. 일부 구체예에서, 링커는 $-(CH_2)_n$ 을 포함하고, 여기서 n은 6이다.

[0729] 일부 구체예에서, 화학적 모이어티 Z는 표 1로부터 선택된다. 일부 구체예에서, 화학적 모이어티 Z는



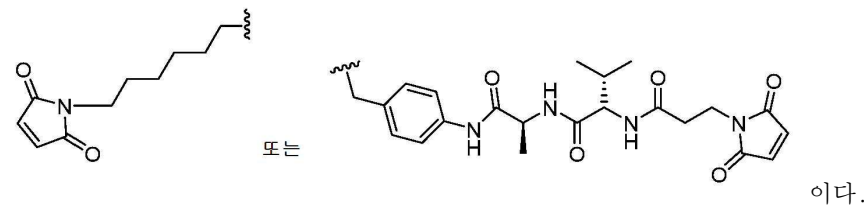
[0730] 상기 식에서, S는 (예를 들어, 시스테인 잔기의 -SH 기로부터) CD2에 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편 내에 존재하는 반응성 치환기를 나타내는 황 원자이다.

[0731] 일부 구체예에서, 링커 L 및 화학적 모이어티 Z는 L-Z로서 함께 취해져서



[0732] 당업자는 항체 또는 이의 항원 결합 단편과의 컨쥬게이션 이전에 링커-반응성 치환기 그룹 구조가 말레이미드를 Z 기로서 포함한다는 것을 인지할 것이다. 본원에 기재된 조성물 및 방법과 관련하여 특히 유용한 상기 링커 모이어티 및 아미노산-링커 컨쥬게이트는, 예를 들어, 문헌[U.S. Patent Application Publication No. 2015/0218220 and Patent Application Publication No. WO2017/149077, 이들 각각의 개시는 전문이 본원에 참조로서 포함된다]에 기술되어 있다.

[0733] 일부 구체예에서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편과의 컨쥬게이션 이전에 링커-반응성 치환기 그룹 구조는



[0734] 항체-약물 컨쥬게이트의 제조

[0735] 본원에 개시된 화학식 I의 ADC에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 본원에 개시된 링커 L 및 화학적 모이어티 Z를 통해 하나 이상의 세포독성 약물 모이어티(D), 예를 들어, 항체 당 약 1 내지 약 20개의 약물 모이어티에 컨쥬게이션된다. 본 개시의 ADC는 (1) 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 반응성 치환기와 이가 링커 시약의 반응으로 상기 본원에 기술된 바와 같은 Ab-Z-L을 형성한 후, 약물 모이어티 D와의 반응; 또는 (2) 약물 모이어티의 반응성 치환기와 이가 링커 시약의 반응으로 D-L-Z를 형성한 후, 상기 본원에 기술된 바와 같은 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 반응성 치환기와 이의 반응으로 화학식 D-L-Z-Ab, 예를 들어, Am-Z-L-Ab를 형성하는 것을 포함하는 당업자에게 공지된 유기 화학 반응, 조건, 및 시약을 이용하는 여러 경로에 의해 제조될 수 있다. ADC를 제조하기 위한 추가 방법이 본원에 기재되어 있다.

[0737] 다른 양태에서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 하나 이상의 설폰하이드릴 기를 도입하도록 화학적으로 변형될 수 있는 하나 이상의 리신 잔기를 갖는다. 이후, ADC는 상기 본원에 기술된 바와 같이 설폰하이드릴 기의 황 원자를 통한 컨쥬게이션에 의해 형성된다. 리신을 변형시키는데 사용될 수 있는 시약은 N-석신이미딜 S-아세틸티오아세테이트(SATA) 및 2-이미노티올란 하이드로클로라이드(트라우트 시약)를 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

[0738] 다른 양태에서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 하나 이상의 설폰하이드릴 기를 갖도록 화학적으로 변형될 수 있는 하나 이상의 탄수화물 기를 가질 수 있다. 이후, ADC는 상기 본원에 기술된 바와 같이 설폰하이드릴 기의 황 원자를 통한 컨쥬게이션에 의해 형성된다.

[0739] 또 다른 양태에서, 항체는 알데하이드(-CHO) 기를 제공하기 위해 산화될 수 있는 하나 이상의 탄수화물 기를 가질 수 있다(예를 들어, Laguzza, et al., J. Med. Chem. 1989, 32(3), 548-55 참조). 이후, ADC는 상기 본원에 기술된 바와 같이 상응하는 알데하이드를 통한 컨쥬게이션에 의해 형성된다. 세포독소의 부착 또는 회합을 위한 단백질 변형에 대한 다른 프로토콜은 문헌[Coligan et al., Current Protocols in Protein Science, vol. 2, John Wiley & Sons (2002), 본원에 참조로서 포함된다]에 기술되어 있다.

- [0740] 링커-약물 모이어티를 항체, 면역글로불린 또는 이의 단편과 같은 세포-표적화 단백질에 컨쥬게이션시키는 방법은, 예를 들어, U.S. 특허 번호 5,208,020; U.S. 특허 번호 6,441,163; W02005037992; W02005081711; 및 W02006/034488에서 발견되며, 이들 모두는 전문이 명백히 본원에 참조로서 포함된다.
- [0741] 대안적으로, 항체 및 세포독성제를 포함하는 융합 단백질은, 예를 들어, 재조합 기술 또는 펩티드 합성에 의해 제조될 수 있다. DNA의 길이는 서로 인접하거나 컨쥬게이트의 요망되는 성질을 파괴하지 않는 링커 펩티드를 인코딩하는 영역에 의해 분리된 컨쥬게이트의 두 부분을 인코딩하는 개개 영역을 포함할 수 있다.
- [0742] **치료 방법**
- [0743] 본원에 기재된 바와 같이, 조혈 줄기 세포 이식 요법은 하나 이상의 혈액 세포 유형을 채우거나 다시 채우기 위해 치료를 필요로 하는 대상체에게 투여될 수 있다. 조혈 줄기 세포는 일반적으로 다능성을 나타내므로, 과립구(예를 들어, 전골수구, 호중구, 호산구, 호염기구), 적혈구(예를 들어, 망상 적혈구, 적혈구), 혈전구(예를 들어, 거핵모구, 혈소판 생산 거핵세포, 혈소판), 단핵구(예를 들어, 단핵구, 대식세포), 수지상 세포, 미세아교세포, 과골세포, 및 림프구(예를 들어, NK 세포, B-세포 및 T-세포)를 포함하지만 이에 제한되지 않는 다수의 상이한 혈액 계통으로 분화될 수 있다. 조혈 줄기 세포는 추가로 자가-재생이 가능하므로, 모 세포와 동등한 잠재력을 갖는 딸 세포를 생성할 수 있고, 또한 이식 수용자에게 재도입되고 그 결과 조혈 줄기 세포 니치에 안착하여 생산적이고 지속적인 조혈을 재확립하는 능력을 특징으로 한다.
- [0744] 따라서, 조혈 줄기 세포는 생체내 결합 또는 결합 세포 집단을 재구성하여 내인성 혈액 세포 집단에서의 결합 또는 고갈과 관련된 병리를 치료하기 위해 조혈 계통의 하나 이상의 세포 유형에 결합 또는 결합이 있는 환자에게 투여될 수 있다. 따라서, 본원에 기재된 조성물 및 방법은 비-악성 혈액소병증(예를 들어, 겸상 적혈구 빈혈, 지중해 빈혈, 판코니 빈혈, 재생불량 빈혈, 및 위스코트-알드리치 증후군으로 구성된 군으로부터 선택된 혈액소병증)을 치료하는데 사용될 수 있다. 추가적으로 또는 대안적으로, 본원에 기재된 조성물 및 방법은 선천성 면역결핍과 같은 면역결핍을 치료하는데 사용될 수 있다. 추가적으로 또는 대안적으로, 본원에 기재된 조성물 및 방법은 후천성 면역결핍(예를 들어, HIV 및 AIDS로 구성된 군으로부터 선택된 후천성 면역결핍)을 치료하는데 사용될 수 있다. 본원에 기재된 조성물 및 방법은 대사 장애(예를 들어, 글리코겐 축적병, 뮤코다당질축적증, 고체병, 후롤러병, 스펅고지질증, 및 이염색백색질 장애로 구성된 군으로부터 선택된 대사 장애)를 치료하는데 사용될 수 있다.
- [0745] 추가적으로 또는 대안적으로, 본원에 기재된 조성물 및 방법은 혈액학적 암, 골수증식 질환과 같은 악성 또는 증식성 장애를 치료하는데 사용될 수 있다. 암 치료의 경우, 본원에 기재된 조성물 및 방법은 조혈 줄기 세포 이식 요법 전에 환자에게 투여되어 비-자기 조혈 줄기 세포와 교차 반응하고 이에 대한 면역 반응을 일으키는 면역 세포 집단을 고갈시킬 수 있다. 이것은 이식된 조혈 줄기 세포 이식편의 거부 가능성을 예방하거나 감소시키도록 작용하여, 이식된 조혈 줄기 세포가 줄기 세포 니치에 안착하여 생산적 조혈을 확립하게 한다. 이는 차례로, 예를 들어, 전신 화학요법과 같은 암 세포 근절 동안 고갈된 세포 집단을 재구성할 수 있다. 본원에 기재된 조성물 및 방법을 이용하여 치료될 수 있는 예시적인 혈액학적 암은 급성 골수 백혈병, 급성 림프 백혈병, 만성 골수 백혈병, 만성 림프 백혈병, 다발성 골수증, 광범위 큰 B-세포 림프종, 및 비호지킨 림프종, 뿐만 아니라 신경모세포종을 포함하는 다른 암성 질환을 포함하지만 이에 제한되지 않는다.
- [0746] 본원에 기재된 조성물 및 방법으로 치료될 수 있는 추가적인 질병은 아데노신 데아미나제 결핍증 및 중증 복합형 면역결핍증, 고면역글로불린 M 증후군, 체디악-히가시 질병, 유전성 림프조직구증, 골석화증, 골형성부전증, 축적병, 중증성 지중해 빈혈, 전신 경화증, 전신 홍반 루푸스, 다발성 경화증, 및 소아 류마티스 관절염을 비제한적으로 포함한다.
- [0747] 본원에 기재된 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 및 컨쥬게이트는 고형 장기 이식 내성을 유도하는데 사용될 수 있다. 예를 들어, 본원에 기재된 조성물 및 방법은 조혈 줄기 세포 이식 이전에 면역 세포 집단을 고갈시키거나 제거하기 위해 사용될 수 있다. 표적 조직으로부터의 이러한 세포 고갈 후, 장기 공여자로부터의 줄기 또는 전구 세포 집단(예를 들어, 장기 공여자로부터의 조혈 줄기 세포)은 이식 수용자에게 투여될 수 있고, 이러한 줄기 또는 전구 세포의 생착 후에, 일시적 또는 안정한 혼합 키메라현상이 달성될 수 있으며, 이에 의해 추가 면역억제제를 필요로 하지 않으면서 장기간 이식 장기 내성을 가능하게 한다. 이식된 이식편의 거부 가능성은 항-CD2 항체 또는 이의 항원-결합 단편의 투여에 의해 감소되거나, 거부가 아예 예방될 수 있다. 이러한 방식으로, 본원에 기재된 조성물 및 방법은 고형 장기 이식 수용자(예를 들어, 특히, 신장 이식, 폐 이식, 간 이식, 및 심장 이식)에서 이식 내성을 유도하는데 사용될 수 있다. 본원에 기재된 조성물 및 방법은, 예를 들어, 낮은 비율의 일시적 또는 안정한 공여자 생착이 이식된 장기의 장기간 내성을 유도하기에 충분하기 때문에, 고형 장기 이

식 내성의 유도과 관련하여 사용하기에 매우 적합하다.

[0748] 또한, 본원에 기재된 조성물 및 방법은 암, 예를 들어, CD2+인 세포를 특징으로 하는 암을 직접 치료하는데 사용될 수 있다. 예를 들어, 본원에 기재된 조성물 및 방법은 특히 CD2+ 백혈병 세포를 나타내는 환자에서 백혈병을 치료하는데 사용될 수 있다. 백혈병 세포와 같은 CD2+ 양성 세포를 고갈시킴으로써, 본원에 기재된 조성물 및 방법을 사용하여 다양한 암을 직접 치료할 수 있다. 이러한 방식으로 치료될 수 있는 예시적인 암은 혈액학적 암, 예를 들어, 급성 골수 백혈병, 급성 림프 백혈병, 만성 골수 백혈병, 만성 림프 백혈병, 다발성 골수종, 광범위 큰 B-세포 림프종, 및 비호지킨 림프종을 포함한다.

[0749] 또한, 본원에 기재된 조성물 및 방법은 자가면역 질환을 치료하는데 사용될 수 있다. 예를 들어, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 CD2+ 면역 세포를 사멸시키기 위해, 자가면역 질환으로 고통받는 대상체, 예를 들어, 인간 환자에게 투여될 수 있다. CD2+ 면역 세포는 자가반응성 림프구, 예를 들어, 자기 항원에 특이적으로 결합하고 면역 반응을 일으키는 T-세포 수용체를 발현하는 T-세포일 수 있다. 자기-반응성 CD2+ 세포를 고갈시킴으로써, 본원에 기재된 조성물 및 방법은 하기 기재된 것들과 같은 자가면역 병리를 치료하는데 사용될 수 있다. 추가로 또는 대안적으로, 본원에 기재된 조성물 및 방법은 조혈 줄기 세포 이식 요법 이전에 내인성 조혈 줄기 세포의 집단을 고갈시킴으로써 자가면역 질환을 치료하는데 사용될 수 있으며, 이 경우 이식된 세포는 내인성 세포 고갈 단계에 의해 생성된 니치에 안착하여 생산적 조혈을 확립할 수 있다. 이것은 차례로 자가면역 세포 근절 동안 고갈된 세포 집단을 재구성할 수 있다.

[0750] 본원에 기재된 조성물 및 방법을 사용하여 치료될 수 있는 자가면역 질환은 건선, 건선성 관절염, 타입 1 진성 당뇨병(타입 1 당뇨병), 류마티스 관절염(RA), 인간 전신 루푸스(SLE), 다발성 경화증(MS), 염증성 장질환(IBD), 림프구성 장염, 급성 산재성 뇌척수염(ADEM), 애디슨병, 전신 탈모증, 강직성 척추염, 항인지질 항체 증후군(APS), 재생불량 빈혈, 자가면역 용혈 빈혈, 자가면역 간염, 자가면역 내이 질환(AIED), 자가면역 림프세포 증식 증후군(ALPS), 자가면역 난소염, 발로병, 베체트병, 물질 유사천포창, 심근병증, 샤가스병, 만성 피로 면역 기능이상 증후군(CFIDS), 만성 염증성 탈수초성 다발성 신경병증, 크론병, 반흔성 유사천포창, 복강 스프루-포진성 피부염, 저온응집증, CREST 증후군, Degos병, 원반모양 루푸스, 자율신경 기능이상, 자궁 내막증, 본태성 혼합 한랭 글로불린혈증, 섬유근통-섬유근염, 굿파스치 증후군, 그레이브스병, 길랭-바레 증후군(GBS), 하시모토 갑상선염, 화농성염, 특발성 및/또는 급성 혈소판감소성 자반병, 특발성 폐섬유증, IgA 신경병증, 간질성 방광염, 소아 관절염, 가와사키병, 편평태선, 라임병, 메니에르병, 혼합결합조직병(MCTD), 중증 근무력증, 신경근긴장증, 안구간대경련-근간대경련 증후군(OMS), 시신경염, 오드 갑상선염, 보통 천포창, 악성 빈혈, 다발 연골염, 다발성 근염 및 피부근염, 원발성 쓸개관 간경화증, 결절다발동맥염, 다분비선 증후군, 류마티스 다발 근육통증, 원발성 무감마글로불린혈증, 레이노 현상, 라이터 증후군, 류마티스성 열, 사르코이드증, 공피증, 쇼그렌 증후군, 강직 인간 증후군, 타카야수 동맥염, 관자 동맥염("거대 세포 동맥염"으로도 공지됨), 켈양성 대장염, 콜라겐성 결장염, 포도막염, 맥관염, 백반증, 외음부 통증("음문 전정염"), 및 베게너 육아종증을 비제한적으로 포함한다.

[0751] 예를 들어, 본원에 기재된 조성물 및 방법을 사용하여, 당업자는 자가면역 병리를 치료하기에 충분한 양의 항-CD2 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 자가면역 질환으로 고통받는 대상체에게 투여할 수 있다. 예를 들어, 대상체는 공피증, 다발성 경화증, 켈양성 대장염, 크론병, 및/또는 타입 1 당뇨병으로 고통받을 수 있다. 이들 상태 중 하나 이상을 개선하기 위해, 당업계 의사는 항-CD2 항체 또는 이의 단편, 예를 들어, 세포독성제에 결합된 항체 또는 이의 단편을 대상체에게 처방하고 투여할 수 있다. 항체 또는 이의 단편은 상기 기술된 컨쥬게이션 기술 및 링커를 사용하여 세포독성제에 컨쥬게이션될 수 있다. 대상체에서 내인성, 자가반응성 CD2+ T 세포 또는 NK 세포 집단을 고갈시키기 위해, 다양한 세포독성제가 항-CD2 항체 또는 이의 항원-결합 단편에 컨쥬게이션될 수 있다. 예를 들어, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 본원에 기술된 아마톡신 또는 다른 세포독소 모이어티에 컨쥬게이션될 수 있다.

[0752] 요법을 준비하기 위해, 의사는 대상체로부터 분리된 샘플에서 자가반응성 T 세포 및/또는 NK 세포의 양 또는 농도를 평가할 수 있다. 이것은, 예를 들어, 당 분야에 알려진 FACS 분석 기술을 사용하여 수행될 수 있다. 당업자는 자가반응성 T 세포 및/또는 NK 세포 집단을 고갈시키기 위해, 단독으로 또는 세포독소에 컨쥬게이션된 항체 또는 이의 단편을 대상체에게 투여할 수 있다. 요법의 효능을 평가하기 위해, 의사는 항-CD2 항체 또는 이의 단편의 투여 후 시간에 환자로부터 분리된 샘플에서 자가반응성 T 세포 및/또는 NK 세포의 양 또는 농도를 결정할 수 있다. 요법 전 T 세포 또는 NK 세포의 양 또는 농도에 대해 요법 후 대상체로부터 분리된 샘플에서 자가반응성 T 세포 및/또는 NK 세포의 양 또는 농도의 결정은 환자가 항-CD2 항체 또는 이의 단편에 반응하는 것을

표시한다.

- [0753] 항-CD2 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 포함하는 항체 약물 컨쥬게이트는 또한 CAR T 요법과 조합하여 사용될 수 있다. 구체적으로, 천연 T 세포를 고갈시키기 위해, 유효량의 항-CD2 항체 약물 컨쥬게이트를 이를 필요로 하는 환자에게 CAR T 치료 전에 투여할 수 있다. 본원에 기재된 방법 및 조성물을 사용한 CD2를 발현하는 천연 T 세포의 고갈은 CAR T 요법에 사용된 조작된 T 세포의 보다 효과적인 전이를 제공할 수 있다.
- [0754] **투여 경로 및 투약**
- [0755] 본원에 기재된 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 다양한 투여 형태로 환자(예를 들어, 조혈 줄기 세포 이식 요법을 필요로 하는 인간 환자)에게 투여될 수 있다. 예를 들어, 본원에 기재된 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 조혈 줄기 세포 이식 요법을 필요로 하고/하거나 암 또는 자가면역 질환으로 고통받는 환자에게 수용액, 예를 들어, 하나 이상의 약학적으로 허용되는 부형제를 함유하는 수용액의 형태로 투여될 수 있다. 본원에 기재된 조성물 및 방법에 사용하기 위한 예시적인 약학적으로 허용되는 부형제는 점도-개질제이다. 수용액은 당 분야에 공지된 기술을 사용하여 멸균될 수 있다.
- [0756] 본원에 기재된 항체 및 항원-결합 단편은 경구, 경피, 피하, 비내, 정맥내, 근육내, 안구내, 또는 비경구와 같은 다양한 경로에 의해 투여될 수 있다. 임의의 주어진 경우에 투여하기에 가장 적합한 경로는 투여되는 특정 항체 또는 항원-결합 단편, 환자, 약학적 제형화 방법, 투여 방법(예를 들어, 투여 시간 및 투여 경로), 환자의 연령, 체중, 성별, 치료되는 질병의 중증도, 환자의 식이요법, 및 환자의 배설 속도에 따라 달라질 것이다.
- [0757] 본원에 기재된 항체 또는 이의 항원-결합 단편의 유효 용량은, 예를 들어, 단일(예를 들어, 볼루스) 투여, 다중 투여, 또는 연속 투여 당 약 0.001 내지 약 100 mg/체중 kg, 또는 항체 또는 이의 항원-결합 단편의 최적의 혈청 농도(예를 들어, 약 0.0001 내지 약 5000 µg/mL의 혈청 농도)를 달성하는 범위일 수 있다. 용량은 조혈 줄기 세포 이식을 받기 위한 준비로 조건화 요법을 받고 있는 대상체(예를 들어, 인간)에게 1일, 1주, 또는 1개월마다 1회 이상(예를 들어, 약 2-10회) 투여될 수 있다. 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 외인성 조혈 줄기 세포의 생장을 최적으로 촉진시키는 시간, 예를 들어, 조혈 줄기 세포 이식 전에 비-자기 조혈 줄기 세포 항원(예를 들어, 조혈 줄기 세포에 의해 발현되는 비-자기 MHC 항원)과 교차 반응하는 CD2+ T 세포 또는 NK 세포를 최적으로 고갈시키는 시간에 환자에게 투여될 수 있다. 예를 들어, 항-CD2 항체 및 이의 항원-결합 단편은 외인성 조혈 줄기 세포 이식물을 투여하기 약 1시간 내지 약 1주(예를 들어, 약 1시간, 약 2시간, 약 3시간, 약 4시간, 약 5시간, 약 6시간, 약 7시간, 약 8시간, 약 9시간, 약 10시간, 약 11시간, 약 12시간, 약 13시간, 약 14시간, 약 15시간, 약 16시간, 약 17시간, 약 18시간, 약 19시간, 20시간, 약 21시간, 약 22시간, 약 23시간, 약 24시간, 약 2일, 약 3일, 약 4일, 약 5일, 약 6일, 또는 약 7일; 또는 약 1 내지 3일; 약 1 내지 4일; 약 12시간 내지 3일) 이상 전에 조혈 줄기 세포 이식 요법을 받는 환자에게 투여될 수 있다. 항체의 반감기는 약 1시간 내지 약 24시간(예를 들어, 약 1시간, 약 2시간, 약 3시간, 약 4시간, 약 5시간, 약 6시간, 약 7시간, 약 8시간, 약 9시간, 약 10시간, 약 11시간, 약 12시간, 약 13시간, 약 14시간, 약 15시간, 약 16시간, 약 17시간, 약 18시간, 약 19시간, 약 20시간, 약 21시간, 약 22시간, 약 23시간, 또는 약 24시간)일 수 있다.
- [0758] 한 구체예에서, 항-CD2 항체(또는 이의 Fc 함유 단편)는 감소된 반감기(야생형 Fc 영역에 비해)를 가지며, 여기서 항체의 Fc 영역은 H435A 돌연변이(EU 지수에 따른 넘버링)를 포함한다.
- [0759] 본원에 기재된 방법에 따르면, 당업계의 의사는 조혈 줄기 세포 이식 요법 이전에 외인성 조혈 줄기 세포 이식편의 생장을 촉진하기 위해 인간 환자와 같은 환자를 조건화할 수 있다. 이를 위해, 당업계의 의사는 인간 환자에게 CD2에 결합할 수 있는 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 예를 들어, 본원에 기재된 항-CD2 항체를 투여할 수 있다. 항체 또는 이의 단편은 독소, 예를 들어, 본원에 기술되거나 당 분야에 공지된 세포독성 분자, 또는 Fc 도메인에 공유적으로 컨쥬게이션될 수 있다. 예를 들어, 항-CD2 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 세포독소, 예를 들어, 슈도모나스 외독소 A, 테부가닌, 디프테리아 독소, 아마톡신, 예를 들어, α-아마니틴, 사포린, 메이탄신, 메이탄시노이드, 아우리스타틴, 안트라사이클린, 칼리케아미신, 이리노테칸, SN-38, 듀오카마이신, 피롤로벤조디아제핀, 피롤로벤조디아제핀 이량체, 인돌리노벤조디아제핀, 및 인돌리노벤조디아제핀 이량체, 또는 이의 변이체에 공유적으로 컨쥬게이션될 수 있다. 이 컨쥬게이션은 본원에 기술되거나 당 분야에 공지된 공유 결합-형성 기술을 사용하여 수행될 수 있다. 항체, 이의 항원-결합 단편, 또는 항체-약물 컨쥬게이트는 이어서 환자로의 외인성 조혈 줄기 세포(예를 들어, 자가, 동계, 또는 동종이계 조혈 줄기 세포)의 이식 전에, 예를 들어, 정맥내 투여에 의해 환자에게 투여될 수 있다.
- [0760] 항-CD2 항체, 이의 항원-결합 단편, 또는 항체-약물 컨쥬게이트는 조혈 줄기 세포 이식 요법 이전에 골수 상주

T 세포와 같은 내인성 T 세포의 양을, 예를 들어, 약 10%, 약 20%, 약 30%, 약 40%, 약 50%, 약 60%, 약 70%, 약 80%, 약 90%, 약 95%, 약 10% 내지 90%, 약 10% 내지 70%, 약 10% 내지 60% 이상 감소시키기에 충분한 양으로 투여될 수 있다. T 세포 수의 감소는 당 분야에 공지된 통상적인 기술, 예를 들어, 조건화 요법 동안 다양한 간격으로 환자로부터 회수된 혈액 샘플에서 특징적인 T 세포 표면 항원을 발현하는 세포의 FACS 분석에 의해 모니터링될 수 있다. 예를 들어, 당업계의 의사는 조건화 요법 동안 다양한 시점에서 환자로부터 골수 샘플을 채취하고 FACS 분석을 수행함으로써 내인성 T 세포 감소의 정도를 결정하여 T 세포 마커 항원에 결합하는 항체를 사용하여 샘플에서 T 세포의 상대 농도를 밝힐 수 있다. 일부 구체예에 따르면, 항-CD2 항체, 이의 항원-결합 단편, 또는 항체-약물 컨쥬게이트를 사용한 조건화 요법에 대한 반응으로 T 세포의 농도가 최소값에 도달한 경우, 의사는 조건화 요법을 끝내고, 조혈 줄기 세포 이식 요법을 위해 환자를 준비하기 시작할 수 있다.

[0761] 항-CD2 항체, 이의 항원-결합 단편, 또는 항체-약물 컨쥬게이트는 하나 이상의 약학적으로 허용되는 부형제, 예를 들어, 점도-개질제를 함유하는 수용액으로 환자에게 투여될 수 있다. 수용액은 본원에 기술되거나 당 분야에 공지된 기술을 사용하여 멸균될 수 있다. 항체, 이의 항원-결합 단편, 또는 항체-약물 컨쥬게이트는 환자에게 조혈 줄기 세포 이식편의 투여 전에, 예를 들어, 약 0.001 mg/kg 내지 약 100 mg/kg의 투여량으로 환자에게 투여될 수 있다. 항체, 이의 항원-결합 단편, 또는 항체-약물 컨쥬게이트는 외인성 조혈 줄기 세포의 생착을 최적으로 촉진하는 시간에, 예를 들어, 외인성 조혈 줄기 이식물을 투여하기 약 1시간 내지 약 1주(예를 들어, 약 1시간, 약 2시간, 약 3시간, 약 4시간, 약 5시간, 약 6시간, 약 7시간, 약 8시간, 약 9시간, 약 10시간, 약 11시간, 약 12시간, 약 13시간, 약 14시간, 약 15시간, 약 16시간, 약 17시간, 약 18시간, 약 19시간, 약 20시간, 약 21시간, 약 22시간, 약 23시간, 약 24시간, 약 2일, 약 3일, 약 4일, 약 5일, 약 6일, 또는 약 7일) 이상 전에 환자에게 투여될 수 있다.

[0762] 조건화 요법을 끝낸 후, 환자는 이어서, 예를 들어, 조건화 요법을 수행한 동일한 의사 또는 다른 의사로부터 외인성 조혈 줄기 세포의 주입(예를 들어, 정맥내 주입)을 받을 수 있다. 의사는, 예를 들어, 약 1×10^3 내지 약 1×10^9 개 조혈 줄기 세포/kg의 투여량으로, 자가, 동계, 또는 동종이계 조혈 줄기 세포의 주입을 환자에게 투여할 수 있다. 의사는 이식물의 투여 후, 예를 들어, 환자로부터 혈액 샘플을 채취하고 조혈 줄기 세포 또는 조혈 계통 세포(예를 들어, 거핵세포, 혈전구, 혈소판, 적혈구 비만 세포, 골수모세포, 호염기구, 호중구, 호산구, 미세아교세포, 과립구, 단핵구, 파골세포, 항원-제시 세포, 대식세포, 수지상 세포, 자연 살해 세포, T 림프구, 및 B 림프구)의 농도의 증가를 결정함으로써 조혈 줄기 세포 이식물의 생착을 모니터링할 수 있다. 이 분석은, 예를 들어, 조혈 줄기 세포 이식 요법 후 1시간 내지 6개월, 또는 그 이후에 수행될 수 있다(예를 들어, 약 1시간, 약 2시간, 약 3시간, 약 4시간, 약 5시간, 약 6시간, 약 7시간, 약 8시간, 약 9시간, 약 10시간, 약 11시간, 약 12시간, 약 13시간, 약 14시간, 약 15시간, 약 16시간, 약 17시간, 약 18시간, 약 19시간, 약 20시간, 약 21시간, 약 22시간, 약 23시간, 24시간, 2일, 3일, 4일, 5일, 6일, 7일, 2주, 3주, 4주, 5주, 6주, 7주, 8주, 9주, 10주, 11주, 12주, 13주, 14주, 15주, 16주, 17주, 18주, 19주, 20주, 21주, 22주, 23주, 24주, 또는 그 이후). 조혈 줄기 세포 또는 조혈 계통의 세포의 농도가 이식 요법 전 상응하는 세포 유형의 농도에 비해 이식 요법 후 증가(예를 들어, 약 1%, 약 2%, 약 3%, 약 4%, 약 5%, 약 6%, 약 7%, 약 8%, 약 9%, 약 10%, 약 20%, 약 30%, 약 40%, 약 50%, 약 60%, 약 70%, 약 80%, 약 90%, 약 100%, 약 200%, 약 500% 이상)했다는 발견은 항-CD2 항체, 이의 항원-결합 단편, 항체-약물 컨쥬게이트로의 치료가 이식된 조혈 줄기 세포 이식편의 생착을 성공적으로 촉진하였다는 하나의 징후를 제공한다.

[0763] 실시예

[0764] 하기 실시예는 당업자에게 본원에 기재된 조성물 및 방법이 어떻게 사용, 제조 및 평가될 수 있는지에 대한 설명을 제공하기 위해 개시된 것이고, 단지 본 발명을 예시하기 위한 것이며 본 발명자들이 이들의 발명으로 간주하는 범위를 제한하려는 것이 아니다.

[0765] 실시예 1: 항-CD2 항체의 시험관내 결합 분석.

[0766] 항-CD2 항체 RPA-2.10 mIgG1 및 Ab1 hIgG1의 결합 특성을 결정하기 위해, 항체 결합 연구를 생물층 간섭법(BLI)을 사용하여 Pall ForteBio Octet Red96으로 0.1% w/v 소 혈청 알부민이 보충된 1x PBS에서 25°C로 수행하였다. 지시된 정제된 인간(Ab1-hIgG1) 또는 뮤린(RPA-2.10 mIgG1) 항체를 항-인간 Fc 바이오센서(AHC; Pall ForteBio 18-5063) 또는 항-뮤린 Fc 바이오센서(AMQ; Pall ForteBio 18-5090) 위에 고정하고 50nM의 정제된 인간 CD2 엑토도메인(Sigma Aldrich and Catalog #5086)과 함께 인큐베이션하였다. 정제된 인간 CD2 엑토도메인에 대한 각 IgG의 ForteBio 데이터 분석 소프트웨어 버전 10에 의해 계산된 1:1 결합 모델과의 국소 전체 핏팅

에 의해 겔보기 일가 친화성(K_D), 겔보기 회합 속도(K_{ON}), 및 겔보기 해리 속도(K_{DIS})를 결정하였고 표 2에 제시되어 있다.

[0767] 항-CD2 항체의 추가 특징은 실시예 2 내지 6에 제공된다.

[0768] 표 2: 인간 CD2 엑토도메인에 대한 지시된 IgG의 결합 동역학

항체	Conc. (nM)	반응 (nm)	K_D (M)	K_{ON} (1/Ms)	K_{DIS} (1/s)	전체 R^2
mRPA-2.10	50	0.1807	2.00E-09	8.60E+04	1.72E-04	0.9952
Ab1	50	0.0615	2.12E-09	1.36E+05	2.89E-04	0.9683

[0770] 실시예 2: 항-CD2 항체의 시험관내 세포주 결합 분석

[0771] MOLT-4 세포(즉, 무한증식 인간 T 림프모구 세포주)를 20,000개 세포/웰로 플레이팅하고 지시된 무린 항-CD2 항체(즉, RPA-2.10, TS1/8, BH1, UMC2, 1E7E8.G4, 또는 LT2)의 적정으로 4°C에서 2시간 동안 염색하였다. 이차 항-마우스 AF488 스테인을 일정한 양으로 4°C에서 30분 동안 첨가하였다. 세척 후, 플레이트를 유세포분석기에서 작동시키고, 지시된 항체(및 음성 대조군, 즉, mIgG1)의 결합을 AF-488 채널에서 기하 평균 형광 강도에 기초하여 결정하였다. 이러한 검정의 결과는 도 1에 제공된다.

[0772] 도 1에 도시된 바와 같이, 무린 항-CD2 항체 RPA-2.10, TS1/8, BH1, UMC2, 1E7E8.G4, 및 LT2는 $EC_{50} = 160$ pM(RPA-2.10), 125 pM(TS 1/8), 639 pM(BH1), 151 pM(UMC2), 134 pM(1E7E8), 및 60 pM(LT2)으로 인간 T 림프모구 세포(즉, MOLT-4 세포)에 결합한다.

[0773] 실시예 3: 항-CD2 항체의 시험관내 일차 세포 결합 분석

[0774] 일차 인간 T-세포를 8×10^4 개 세포/웰로 플레이팅하고 무린 항-CD23 항체 RPA-2.10의 적정으로 37°C에서 2시간 동안 염색하였다. 일차 항체에 대한 이차 항-마우스 또는 항-인간 AF488 스테인을 일정한 양으로 4°C에서 30분 동안 첨가하였다. 세척 후, 플레이트를 유세포분석기에서 작동시키고, 지시된 항체(및 음성 대조군, 즉, mIgG1 또는 hIgG1)의 결합을 AF488 채널에서 기하 평균 형광 강도에 기초하여 결정하였다. 이러한 검정의 결과는 도 2에 제공된다.

[0775] 도 2에 도시된 바와 같이, 무린 항-CD2 항체 RPA-2.10은 $EC_{50} = 1.84$ pM(RPA-2.10)으로 일차 인간 T-세포에 결합한다.

[0776] 실시예 4. 시험관내 T-세포 사멸 검정을 이용한 항-CD2-아마니틴 항체 약물 컨쥬게이트(ADC)의 시험관내 분석

[0777] 항-CD2 항체 RPA 2.10을 절단 가능한 링커로 아마니틴에 컨쥬게이션시켜 항-CD2-ADC를 형성하였다. 평균 사슬간 약물-대-항체 비율(DAR)이 6인 무린 항-CD2 항체 RPA-2.10으로부터 하나의 항-CD2-ADC를 제조하였다. 평균 DAR 이 2인 제2 항-CD2-ADC를 부위-특이적 컨쥬게이션을 사용하여 아마니틴에 컨쥬게이션된 RPA-2.10의 인간 키메라 변이체를 사용하여 제조하였다. 또한, H435A 돌연변이의 도입을 통해 항-CD2-ADC의 빠른 반감기 변이체가 생성되었다. 시험관내 T-세포 사멸 검정을 사용하여 각각의 항-CD2-ADC를 평가하였다.

[0778] 저온보존된 음성으로-선택된 일차 인간 T 세포를 해동시키고 항-CD3 항체 및 IL-2로 자극하였다. 검정 시작시, 2×10^4 개 T 세포를 384웰 플레이트의 웰마다 시딩하고 지시된 ADC 또는 컨쥬게이션되지 않은 항-CD2 항체를 0.003 nM 내지 30 nM의 다양한 농도로 웰에 첨가한 후 37°C 및 5% CO₂의 인큐베이터에 두었다. 배양 5일 후, 세포를 유세포분석에 의해 분석하였다. 세포를 생육성 마커 7-AAD로 염색하고 부피 유세포측정기에서 작동시켰다. 생육성 T-세포의 수(도 3a 및 3b)는 FSC 대 SSC 및 7-AAD 염색에 의해 결정되었다. 컨쥬게이션되지 않은 항-CD2 항체(RPA 2.10)는 비교예(도 3a)로 사용되었다.

[0779] 도 3a에 도시된 바와 같이, 사슬간 약물-대-항체 비율이 6인 항-CD2-ADC는 T 세포의 강력하고 특이적인 사멸을 나타내었고($IC_{50}=5.0$ pm), 반면 T 세포는 컨쥬게이션되지 않은("네이키드") 항-CD2 항체의 존재 하에 생존할 수 있었다. 도 3b에 도시된 바와 같이, 부위-특이적 약물-대-항체 비율이 2인 인간 키메라 항-CD2-ADC는 DAR 6 ADC와 유사한 강력한 T-세포 사멸 수준($IC_{50}=1.0$ pm)을 유지하였다. 또한, 항-CD2-ADC의 빠른 반감기 변이체(H435A)는 WT 반감기를 갖는 항-CD2-ADC와 유사한 T-세포 사멸 수준($IC_{50}=6.3$ pm; Fig. 3b)을 나타내었다.

- [0780] 실시예 5. 시험관내 T-세포 사멸 검정을 이용한 항-CD2-아마니틴 항체 약물 컨쥬게이트(ADC)의 시험관내 분석
- [0781] 항-CD2 항체 RPA 2.10을 절단 가능한 링커로 아마니틴에 컨쥬게이션시켜 평균 사슬간 약물-대-항체 비율(DAR)이 6인 사슬간 항-CD2-ADC를 형성하였다. 항-CD2-ADC는 시험관내 자연 살해(NK) 세포 사멸 검정을 사용하여 평가되었다.
- [0782] 일차 인간 CD56+ CD3- NK 세포를 재조합 IL-2 및 IL-15와 함께 4일 동안 배양하였다. 검정 시작시, 건강한 인간 공여자로부터 새로 분리된 30,000개의 NK 세포를 384웰 플레이트의 웰마다 시딩하고 지시된 ADC 또는 대조군(즉, IgG1 또는 IgG1-아마니틴 ADC)을 0.003 nm 내지 30 nm의 다양한 농도로 웰에 첨가한 후 37℃ 및 5% CO₂의 인큐베이터에 두었다. 배양 4일 후, NK 세포 생육성을 CellTiter-Glo 검정에 의해 분석하였다(도 4).
- [0783] 도 4에 도시된 바와 같이, 항-CD2-ADC는 5.2 pM의 IC₅₀으로 NK 세포의 강력한 사멸을 나타내었다. 항-CD2-ADC에 의한 완전한 사멸의 기여는 CD2가 NK 세포의 약 75%에서만 발현된다는 사실과 일치한다.
- [0784] 실시예 6. hNSG 마우스 모델을 이용한 T-세포 고갈 분석
- [0785] 생체내 T-세포 고갈 검정은 인간화 NSG 마우스(Jackson Laboratories)를 사용하여 수행되었다. 항-CD2 항체 RPA 2.10을 절단 가능한 링커로 아마니틴에 컨쥬게이션시켜 항-CD2-ADC를 형성하였다. 하나의 항-CD2-ADC는 평균 사슬간 약물-대-항체 비율(DAR)이 6인 퓨린 RPA 2.10으로 제조된 반면, 다른 항-CD2-ADC는 평균 부위-특이적 DAR이 2인 인간 키메라 RPA 2.10으로 제조되었다. 각각의 항-CD2-ADC(DAR6 및 DAR2)는 단일 정맥 주사(DAR6 ADC의 경우 0.3 mg/kg, 1 mg/kg, 또는 3 mg/kg, 및 DAR2 ADC의 경우 1 mg/kg 또는 3 mg/kg)로 인간화 마우스 모델에 투여되었다. 말초 혈액 세포, 골수, 또는 흉선 샘플을 7일에 수집하고, CD3+ T-세포의 절대 수를 유세포 분석에 의해 결정하였다(DAR2 ADC의 경우 도 5a 및 5b, 및 DAR6 ADC의 경우 6a-6c 참조).
- [0786] 도 5a-5b에 도시된 바와 같이, 0.3 mg/kg, 1 mg/kg, 또는 3 mg/kg 사슬간 DAR6 항-CD2-ADC로 처리된 인간화 NSG 마우스는 말초 혈액 또는 골수에서 강력한 T-세포 고갈을 나타낸 반면 흉선 T-세포는 3 mg/kg의 DAR6 항-CD2-ADC로 처리 후 고갈되었다. 비교를 위해, 도 5a 및 5b는 또한 25 mg/kg Ab1(컨쥬게이션되지 않은 항-CD2 항체) 또는 지시된 대조군(즉, 25 mg/kg 항-CD52 항체(클론 YTH34.5); 3 mg/kg hIgG1-아마니틴 ADC("hIgG1-AM"), 25 mg/kg hIgG1, 또는 PBS)으로 인간화 NSG 마우스를 처리한 후 T-세포 고갈 수준을 보여준다.
- [0787] 도 6a-6c에 도시된 바와 같이, 1 mg/kg 또는 3 mg/kg 부위-특이적 DAR2 항-CD2-ADC로 처리된 인간화 NSG 마우스는 말초 혈액 또는 골수에서 강력한 T-세포 고갈을 나타낸 반면 흉선 T-세포는 3 mg/kg의 DAR2 항-CD2-ADC로 처리 후 약 59% 고갈된 것으로 나타났다. 비교를 위해, 도 6a-6c는 또한 3 mg/kg의 컨쥬게이션되지 않은 항-CD2 항체 또는 지시된 대조군(즉, 3mg/kg hIgG1-아마니틴-ADC("hIgG1-AMC") 또는 PBS)로 인간화 NSG 마우스를 처리한 후 T-세포 고갈 수준을 보여준다.

[0788] 표 4: 서열 요약

서열 식별자	설명	서열
SEQ ID NO: 1	Ab1 CDR-H1	EYYMY
SEQ ID NO: 2	Ab1 CDR-H2	RIDPEDGSIDYVEKFKK
SEQ ID NO: 3	Ab1 CDR-H3	GKFNYRFAY
SEQ ID NO: 4	Ab1 CDR-L1	RSSQSLHSSGNTYLN
SEQ ID NO: 5	Ab1 CDR-L2	LVSKLES
SEQ ID NO: 6	Ab1 CDR-L3	MQFTHYPYT
SEQ ID NO: 7	Ab1 중쇄 가변 영역	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTEYY MYWVRQAPGQGLELMGRIDPEDGSIDYVEKFK KKVTLTADTSSSTAYMELSSLTSDDTAVYYCARGKF NYRFAYWGQGLTVTVSS
SEQ ID NO: 8	Ab1 경쇄 가변 영역	DVVMTQSPPSLLVTLGQPASISCRSSQSLHSSGN TYLNWLLQRPGQSPQPLIYLVSKLESGVPDRFSGS GSGTDFTLKISGVEAEDVGYYCMQFTHYPYTFG QGKLEIK
SEQ ID NO: 9	Ab1a 중쇄 가변 영역	QVQLVQSGAEVQRPGASVKVSCASGYIFTEYY MYWVRQAPGQGLELVGRIDPEDGSIDYVEKFKK KVTLTADTSSSTAYMELSSLTSDDTAVYYCARGKFN YRFAYWGQGLTVTVSS
SEQ ID NO: 10	Ab1a 경쇄 가변 영역	DVVMTQSPPSLLVTLGQPASISCRSSQSLHSSGN TYLNWLLQRPGQSPQPLIYLVSKLESGVPDRFSGS GSGTDFTLKISGVEAEDVGYYCMQFTHYPYTFG QGKLEIK
SEQ ID NO: 11	컨센서스 인간 Ab 중쇄 가변 도메인	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYAM SWVRQAPGKGLEWVAIVSENGSDTYADSVKG RFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDR

[0789]

서열 식별자	설명	서열
		GGAVSYFDVWGQGLTVTVSS
SEQ ID NO: 12	컨센서스 인간 Ab 경쇄 가변 도메인	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSSYLA WYQQKPGKAPKLLIYAASSLESGVPSRFGSGSG TDFTLTISLQPEDFATYYCQYNSLPYTFGQGTK VEIKRT
SEQ ID NO: 13	인간 CD2 서열	MSFPCKFVAS FLLIFNVSSK GAVSKEITNA LETWGALGQD INLDIPSFQM SDDIDDIKWE KTSDDKKIAQ FRKEKETFKE KDTYKLFKNG TLKIKHLKTD DQDIYKVSII DTKGKNVLEK IFDLKIQERV SKPKISWTCI NTTLTCEVMN GTDPELNLYQ DGKHLKLSQR VITHKWTTSL SAKFKCTAGN KVSKESSVEP VSCPEKGLDI YLIIGICGGG SLLMVFVALL VFYITKRKKQ RSRRNDEELE TRAHRVATEE RGRKPHQIPA STPQNPATSQ HPPPPPGHRS QAPSHRPPPP GHRVQHQPQK RPPAPSGTQV HQQKGPPLPR PRVQPKPPHG AAENSLSPSS N
SEQ ID NO: 14	RPA-2.10 CDR-H1	GFTFSSY
SEQ ID NO: 15	RPA-2.10 CDR-H2	SGGGF
SEQ ID NO: 16	RPA-2.10 CDR-H3 변이체 1	SSYGEIMDY
SEQ ID NO: 17	RPA-2.10 CDR-H3 변이체 2	SSYGELMDY
SEQ ID NO: 18	RPA-2.10 CDR-L1	RASQRIGTSIH
SEQ ID NO: 19	RPA-2.10 CDR-L2	YASESIS
SEQ ID NO: 20	RPA-2.10 CDR-L3	QQSHGWPFTF
SEQ ID NO: 21	RPA-2.10 중쇄 가변 영역 변이체 1	EVKLVESGGGLVKPGGSLKLSAASGFTFSSYDMS WVRQTPEKRLEWVASISGGGFLYLDVSKGRFTIS RDNARNILYHMTSLRSEDAMYYCARSSYGEIM DYWGQGTSVTVSS
SEQ ID NO: 22	RPA-2.10 중쇄 가변 영역	EVKLVESGGGLVKPGGSLKLSAASGFTFSSYDMS WVRQTPEKRLEWVASISGGGFLYLDVSKGRFTIS

[0790]

서열 식별자	설명	서열
	변이체 2	RDNARNILYLHMTSLRSEDAMYYCARSSYGELM DYWGQGTSTVTVSS
SEQ ID NO: 23	RPA-2.10 경쇄 가변 영역	DILLTQSPAILSVSPGERVSFSCRASQRIGTSIHVY QQRTTGSPRLLIKAYASESISGIPSRFSGSGSGTDFTL SINSVESEDVADYYCQQSHGWPFTEGGGKLEIE
SEQ ID NO: 24	RPA-2.10 중쇄 불변 영역	AKTTPPSVYPLAPGSAAQTNSMVTGCLVKGYFP EPVTVTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVT VPSSTWPSETVTCNVAHPASSTKVDKKIVPRDCG CKPCICTVPEVSSVFIFPPKPKDVLITLTPKVTCTV VDISKDDPEVQFSWFVDDVEVHTAQTQPREEQF NSTFRSVSELPIMHQDWLNGKEFKCRVNSAAFP APIEKTISKTKGRPKAPQVYTIPTPPKEQMAKDKVS LTCMITDFFPEDITVEWQWNGQPAENYKNTQPI MDTDGSYFVYSKLNQKSNWEAGNTFTCSVLHE GLHNHHTKSLSHSPGK
SEQ ID NO: 25	RPA-2.10 경쇄 불변 영역	RADAAPTVISIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPK DINVKWKIDGSRQNGVLNSWTDQDSKSTYS MSSTLTCLKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFN RNEC

다른 구체예

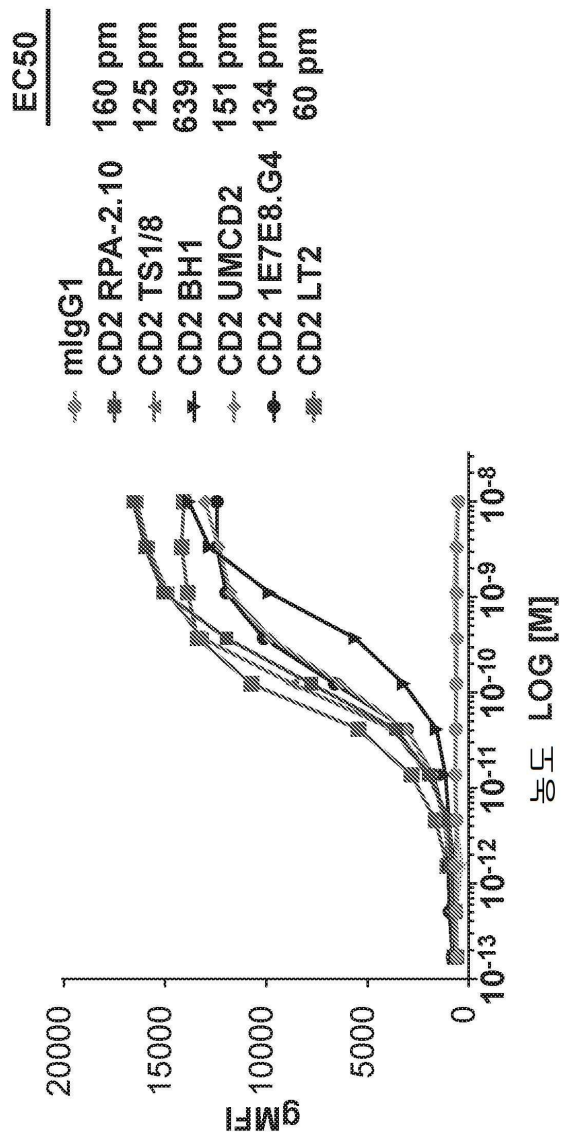
본 명세서에 언급된 모든 간행물, 특허, 및 특허 출원은 각각의 독립적인 간행물 또는 특허 출원이 구체적으로 및 개별적으로 참조로서 포함된다고 지시된 것과 동일한 정도로 본원에 참조로서 포함된다.

본 발명은 이의 특정 구체예와 관련하여 설명되었지만, 본 발명은 추가의 수정이 가능하며 본 출원은 일반적으로 본 발명의 원리에 따라 본 발명의 임의의 변형, 사용, 또는 적응을 포함하고 본 발명이 속하는 기술 분야에서 공지된 또는 통상적인 관례 내에 있고 상기 개시된 본질적인 특징에 적용될 수 있는 본 발명으로부터의 이러한 벗어남을 포함하도록 의도되며, 청구 범위의 범주에 따르는 것이 이해될 것이다.

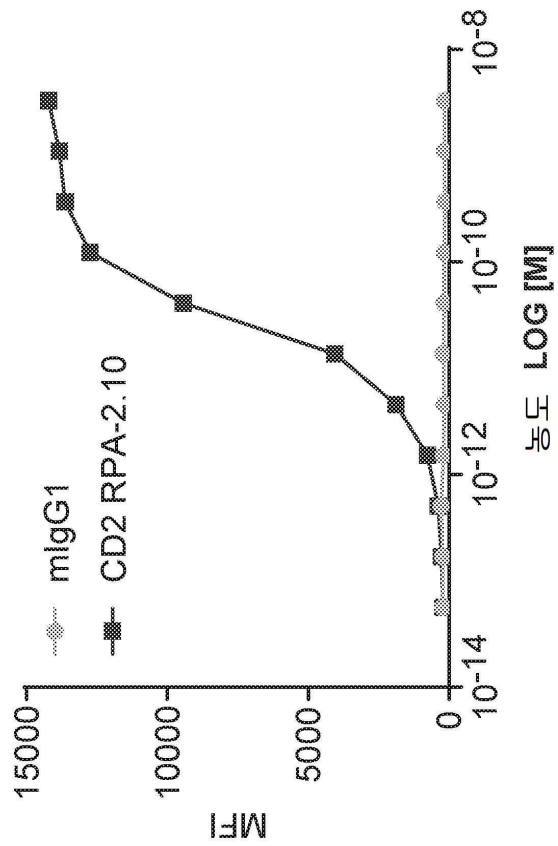
다른 구체예는 청구 범위 내에 있다.

도면

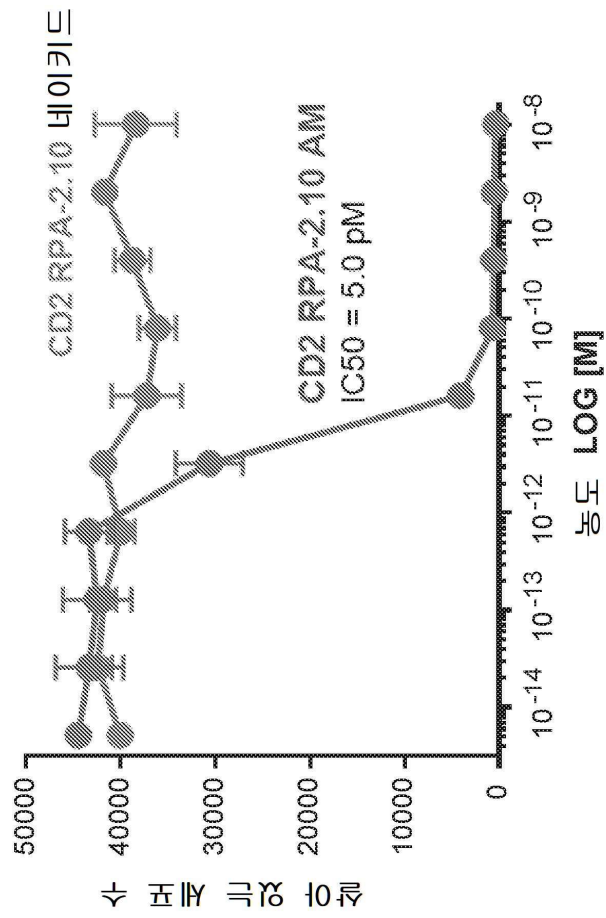
도면1



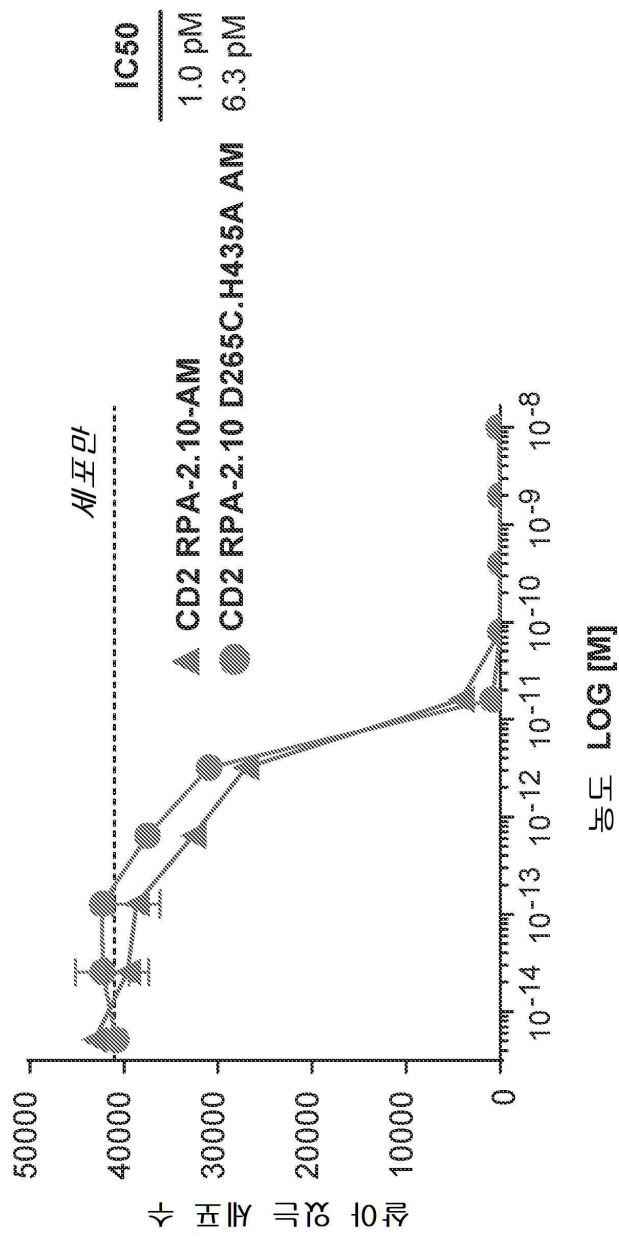
도면2



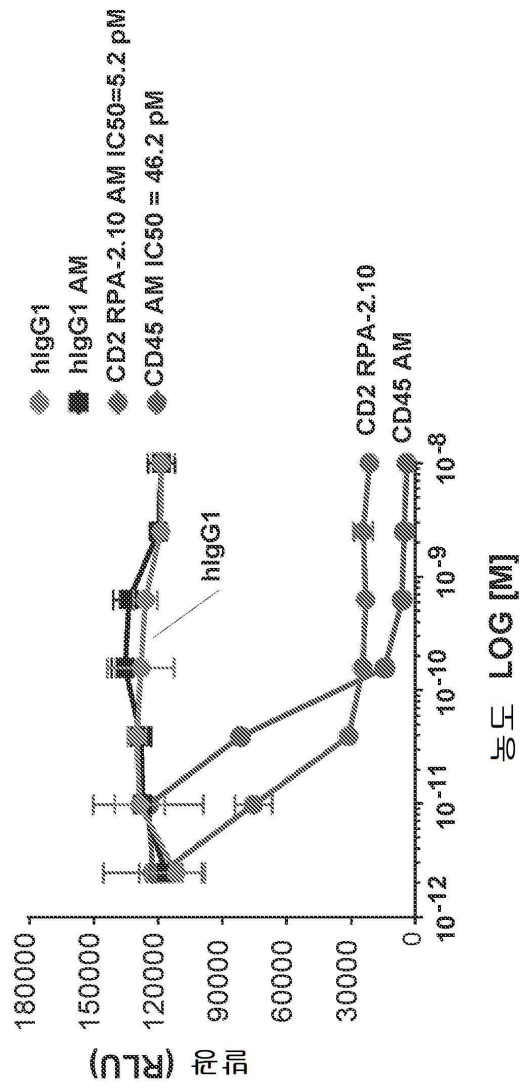
도면3a



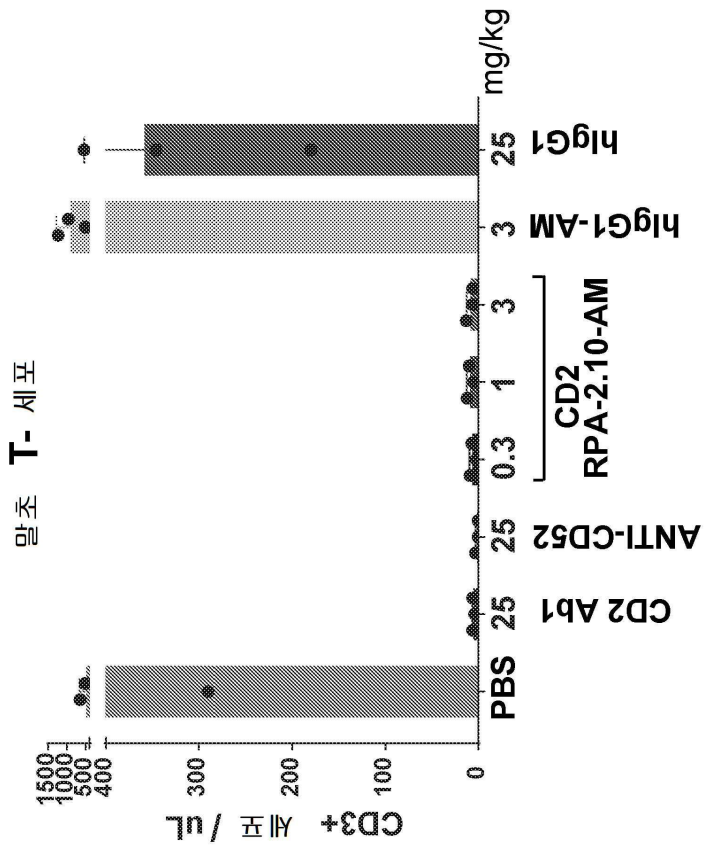
도면3b



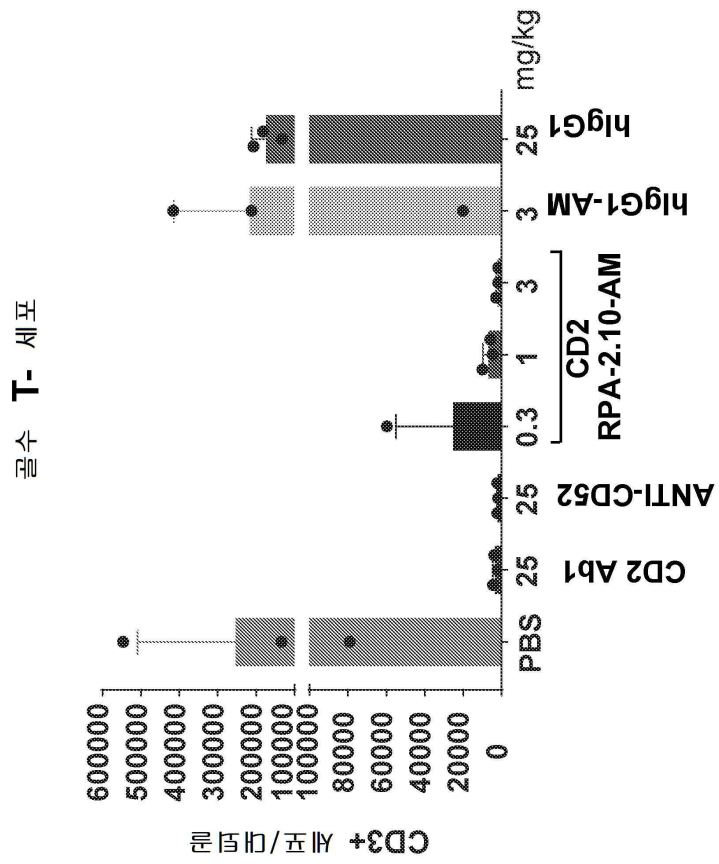
도면4



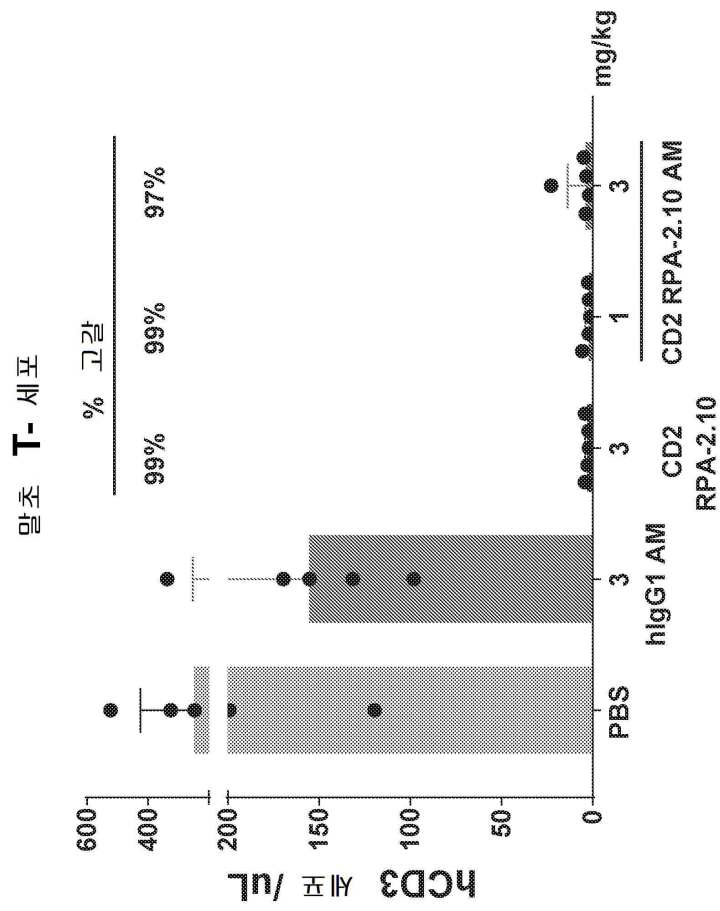
도면5a



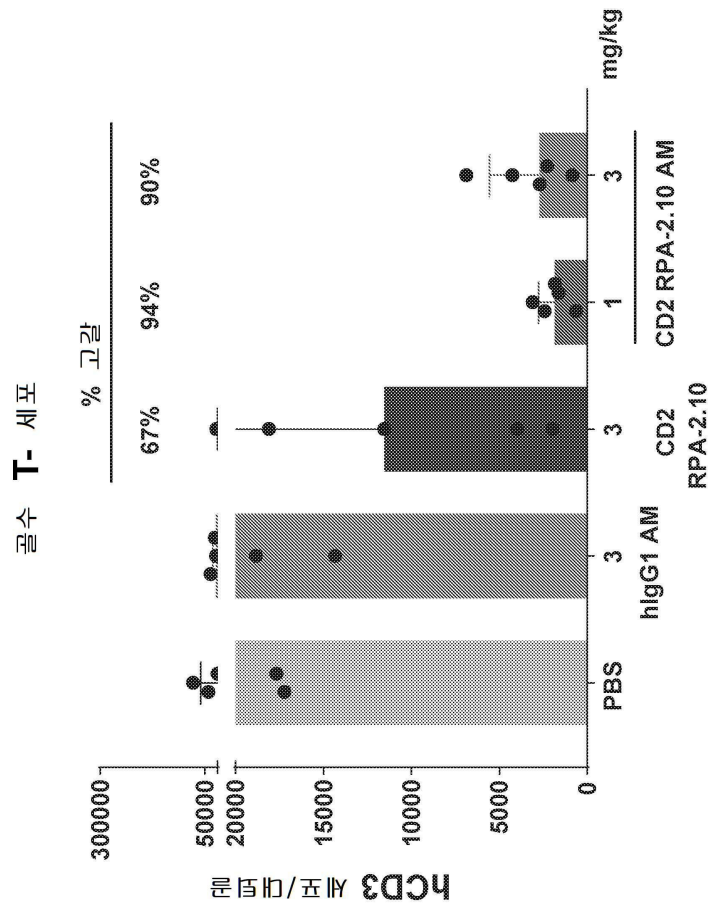
도면5b



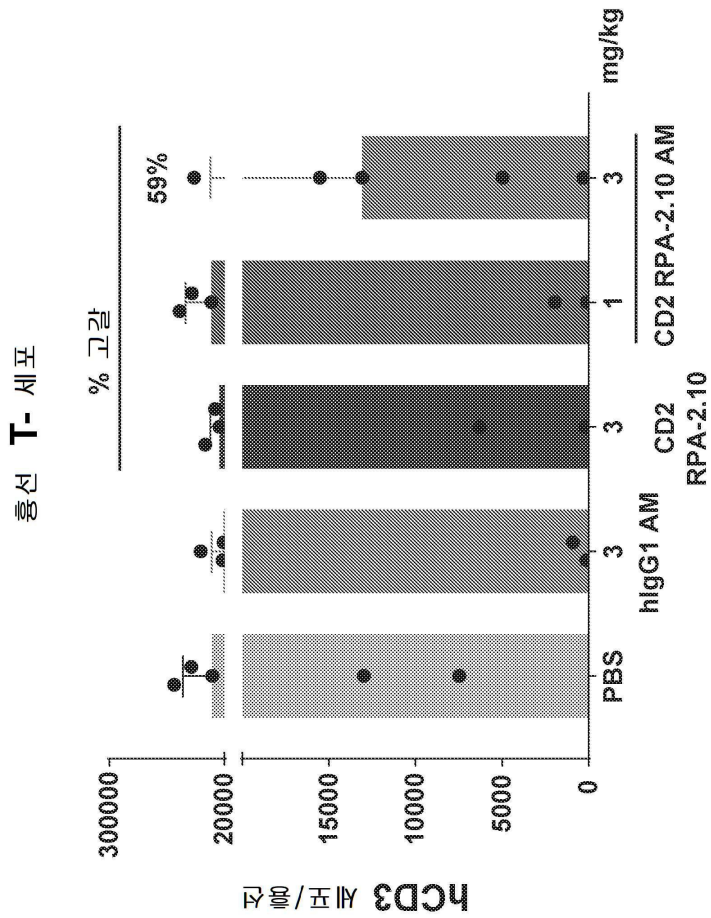
도면6a



도면6b



도면6c



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> MAGENTA THERAPEUTICS, INC.

<120> COMPOSITIONS AND METHODS FOR THE DEPLETION OF CD2+ CELLS

<130> M103034 1050W0

<150> 62/592,169

<151> 2017-11-29

<160> 25

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 1

Glu Tyr Tyr Met Tyr

1 5

<210> 2

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 2

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

1 5 10 15

Lys

<210> 3

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 3

Gly Lys Phe Asn Tyr Arg Phe Ala Tyr

1 5

<210> 4

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220

><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 4

Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser Ser Gly Asn Thr Tyr Leu Asn

1 5 10 15

<210> 5

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 5

Leu Val Ser Lys Leu Glu Ser

1 5

<210> 6

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 6

Met Gln Phe Thr His Tyr Pro Tyr Thr

1 5

<210> 7

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 7

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 8

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 8

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

1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Ser Gly Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Phe

85 90 95

Thr His Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105 110

<210> 9

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 9

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

Ala Arg Gly Lys Phe Asn Tyr Arg Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110
 Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 10

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 10

Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Pro Ser Leu Leu Val Thr Leu Gly
 1 5 10 15
 Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser

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

85 90 95
 Thr His Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 11

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 11

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Asp Arg Gly Gly Ala Val Ser Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 12

<211> 109

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 12

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Ser Ser Tyr

20 25 30

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

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
 100 105

<210> 13

<211> 351

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 13

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

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

Leu Lys Thr Asp Asp Gln Asp Ile Tyr Lys Val Ser Ile Tyr Asp Thr
 100 105 110
 Lys Gly Lys Asn Val Leu Glu Lys Ile Phe Asp Leu Lys Ile Gln Glu
 115 120 125
 Arg Val Ser Lys Pro Lys Ile Ser Trp Thr Cys Ile Asn Thr Thr Leu

130 135 140
 Thr Cys Glu Val Met Asn Gly Thr Asp Pro Glu Leu Asn Leu Tyr Gln
 145 150 155 160
 Asp Gly Lys His Leu Lys Leu Ser Gln Arg Val Ile Thr His Lys Trp

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

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

 290 295 300
 Gln His Gln Pro Gln Lys Arg Pro Pro Ala Pro Ser Gly Thr Gln Val
 305 310 315 320
 His Gln Gln Lys Gly Pro Pro Leu Pro Arg Pro Arg Val Gln Pro Lys
 325 330 335
 Pro Pro His Gly Ala Ala Glu Asn Ser Leu Ser Pro Ser Ser Asn
 340 345 350
 <210> 14
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 14

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr

1 5

<210> 15

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 15

Ser Gly Gly Gly Phe

1 5

<210> 16

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 16

Ser Ser Tyr Gly Glu Ile Met Asp Tyr

1 5

<210> 17

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

><223> Synthetic peptide

<400> 17

Ser Ser Tyr Gly Glu Leu Met Asp Tyr

1 5

<210> 18

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 18

Arg Ala Ser Gln Arg Ile Gly Thr Ser Ile His

1 5 10

<210> 19

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 19

Tyr Ala Ser Glu Ser Ile Ser

1 5

<210> 20

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 20

Gln Gln Ser His Gly Trp Pro Phe Thr Phe

1 5 10

<210> 21

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 21

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Asp Met Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Glu Lys Arg Leu Glu Trp Val

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80
His Met Thr Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Ser Ser Tyr Gly Glu Ile Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 22

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 22

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

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Asp Met Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Glu Lys Arg Leu Glu Trp Val
35 40 45

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

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

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

Arg Ser Ser Tyr Gly Glu Leu Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 23

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 23

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

1 5 10 15

Glu Arg Val Ser Phe Ser Cys Arg Ala Ser Gln Arg Ile Gly Thr Ser

20 25 30

Ile His Trp Tyr Gln Gln Arg Thr Thr Gly Ser Pro Arg Leu Leu Ile

35 40 45

Lys Tyr Ala Ser Glu Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Ser Ile Asn Ser Val Glu Ser

65 70 75 80

Glu Asp Val Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser His Gly Trp Pro Phe

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Glu

100 105

<210> 24

<211> 324

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 24

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

1 5 10 15

Ala Gln Thr Asn Ser Met Val Thr Leu Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr

20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Thr Trp Asn Ser Gly Ser Leu Ser Ser

35 40 45

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

50 55 60

Ser Ser Ser Val Thr Val Pro Ser Ser Thr Trp Pro Ser Glu Thr Val

65					70				75				80				
Thr	Cys	Asn	Val	Ala	His	Pro	Ala	Ser	Ser	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys		
				85				90				95					
Ile	Val	Pro	Arg	Asp	Cys	Gly	Cys	Lys	Pro	Cys	Ile	Cys	Thr	Val	Pro		
				100				105				110					
Glu	Val	Ser	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Val	Leu		
				115				120				125					
Thr	Ile	Thr	Leu	Thr	Pro	Lys	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Ile	Ser		
				130				135				140					
Lys	Asp	Asp	Pro	Glu	Val	Gln	Phe	Ser	Trp	Phe	Val	Asp	Asp	Val	Glu		
				145				150				155				160	
Val	His	Thr	Ala	Gln	Thr	Gln	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn	Ser	Thr		
				165				170				175					
Phe	Arg	Ser	Val	Ser	Glu	Leu	Pro	Ile	Met	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn		
				180				185				190					
Gly	Lys	Glu	Phe	Lys	Cys	Arg	Val	Asn	Ser	Ala	Ala	Phe	Pro	Ala	Pro		
				195				200				205					
Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Thr	Lys	Gly	Arg	Pro	Lys	Ala	Pro	Gln		
				210				215				220					
Val	Tyr	Thr	Ile	Pro	Pro	Pro	Lys	Glu	Gln	Met	Ala	Lys	Asp	Lys	Val		
				225				230				235				240	
Ser	Leu	Thr	Cys	Met	Ile	Thr	Asp	Phe	Phe	Pro	Glu	Asp	Ile	Thr	Val		
				245				250				255					
Glu	Trp	Gln	Trp	Asn	Gly	Gln	Pro	Ala	Glu	Asn	Tyr	Lys	Asn	Thr	Gln		
				260				265				270					
Pro	Ile	Met	Asp	Thr	Asp	Gly	Ser	Tyr	Phe	Val	Tyr	Ser	Lys	Leu	Asn		
				275				280				285					
Val	Gln	Lys	Ser	Asn	Trp	Glu	Ala	Gly	Asn	Thr	Phe	Thr	Cys	Ser	Val		
				290				295				300					
Leu	His	Glu	Gly	Leu	His	Asn	His	His	Thr	Glu	Lys	Ser	Leu	Ser	His		
				305				310				315				320	

Ser Pro Gly Lys

<210> 25

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 25

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg

35 40 45

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

50 55 60

Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu

65 70 75 80

Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser

85 90 95

Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys

100 105