



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2018-0069064
(43) 공개일자 2018년06월22일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/10 (2006.01) A61K 39/00 (2006.01)
C07K 16/40 (2006.01) G01N 33/569 (2017.01)
G01N 33/573 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07K 16/1045 (2013.01)
C07K 16/40 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2018-7015132
(22) 출원일자(국제) 2016년11월02일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2018년05월29일
(86) 국제출원번호 PCT/US2016/060134
(87) 국제공개번호 WO 2017/079314
국제공개일자 2017년05월11일
(30) 우선권주장
62/249,868 2015년11월02일 미국(US)

(71) 출원인
싱 바이오테크놀로지, 엘엘씨
미국, 플로리다 33558, 루즈, 워 보르도 4708
(72) 발명자
싱 수난다
미국, 플로리다 33558, 루즈, 워 보르도 4708
(74) 대리인
강명구

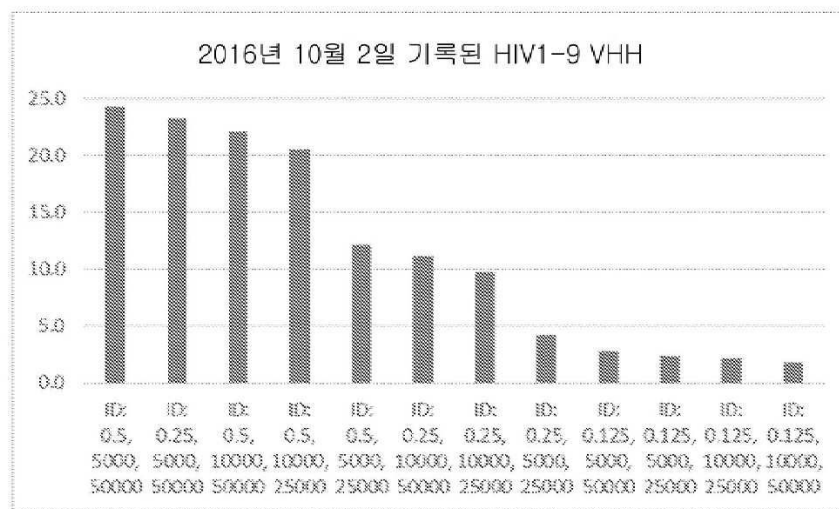
전체 청구항 수 : 총 35 항

(54) 발명의 명칭 세포내 항원들에 대해 지시된 단일 도메인 항체

(57) 요약

본 발명은 외인성 표적화 서열 또는 화학적 조성물을 사용하지 않고 병태 또는 질병을 치료하는 조성물 및 방법들을 제공한다. 본 발명은 병태 또는 질병을 유발하는 표적에 대해 지시되는 단일-도메인 항체(sdAbs), 이러한 sdAbs를 포함하는 단백질 및 폴리펩티드에 관한 것이다. 본 발명은 또한 이러한 sdAbs, 단백질 및 폴리펩티드를 인코딩하는 핵산, 그리고 sdAbs를 포함하는 조성물을 포함한다. 본 발명은 예방, 치료 또는 진단을 목적으로 하는 이러한 조성물, sdAbs, 및 이러한 sdAbs를 인코딩하는 핵산의 용도를 포함한다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

G01N 33/56983 (2013.01)

G01N 33/573 (2013.01)

A61K 2039/505 (2013.01)

C07K 2317/22 (2013.01)

C07K 2317/34 (2013.01)

C07K 2317/569 (2013.01)

C07K 2317/92 (2013.01)

G01N 2333/08 (2013.01)

G01N 2333/9128 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

항-인간 면역결핍 바이러스 제1형 (HIV-1) 역전사효소 단일 도메인 항체 (sdAb).

청구항 2

서열 번호:27에 제시된 아미노산 서열을 포함하는, 항-HIV-1 역전사효소 sdAb.

청구항 3

청구항 1 또는 2에 따른 항-HIV-1 역전사효소 sdAb를 사용하는, 대상체에서 질병의 치료, 질병 발달의 예방, 또는 질병 재발의 예방 방법으로서, 유효량의 항-HIV-1 역전사효소 sdAb를 필요로 하는 대상체에 투여하는 것을 포함하는 방법.

청구항 4

청구항 3에 있어서, 대상체는 포유동물임을 특징으로 하는 방법.

청구항 5

청구항 4에 있어서, 포유동물은 인간임을 특징으로 하는 방법.

청구항 6

청구항 3에 있어서, 항-HIV-1 역전사효소 sdAb는 하나 또는 그 이상의 화합물들과 조합하여 투여됨을 특징으로 하는 방법.

청구항 7

청구항 6에 있어서, 하나 또는 그 이상의 화합물들은 프로테아제 억제제임을 특징으로 하는 방법.

청구항 8

청구항 3에 있어서, 필요로 하는 대상체에 대한 유효량의 항-HIV-1 역전사효소 sdAb의 투여는 정맥내 투여, 근육내 투여, 경구 투여, 직장 투여, 장관 투여, 비장관 투여, 안구내 투여, 피하 투여, 경피 투여, 점안액으로서 투여, 코 스프레이로서 투여, 흡입 또는 분무에 의한 투여, 국소 투여, 삽입가능한 (implantable) 약물로서의 투여를 포함함을 특징으로 하는 방법.

청구항 9

서열 번호:27에 제시된 아미노산 서열을 포함하는, 단리된 폴리펩티드.

청구항 10

청구항 9의 폴리펩티드에 대해 지시되는 항체.

청구항 11

다음 단계를 포함하는, 대상체의 샘플에서, 항-HIV-1 역전사효소 sdAb 수준의 측정 방법:

서열 번호:27에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드의 하나 또는 그 이상의 도메인들에 대해 지시되는 마우스 단클론 항체를 생성하는 단계;

대상체로부터 샘플을 얻는 단계;

상기 마우스 단클론 항체 및 상기 샘플로 정량적 면역분석을 수행하여, 대상체에서 sdAb의 양을 결정하는 단계;

및

대상체에서 sdAb의 양을 정량화하는 단계.

청구항 12

청구항 11에 있어서, 정량적 면역분석은 효소-결합 면역흡착 검사 (ELISA), 특이적 피분석물 표지 및 재포획 검사 (specific analyte labeling and recapture assay, SALRA), 액체 크로마토그래피, 질량 분광법, 형광-활성 세포 분류법, 또는 이의 조합을 포함함을 특징으로 하는 방법.

청구항 13

항-에볼라 VP24 단일 도메인 항체 (sdAb).

청구항 14

서열 번호:55에 제시된 아미노산 서열을 포함하는, 항-에볼라 VP24 sdAb.

청구항 15

청구항 13 또는 14에 따른 항-에볼라 VP24 sdAb를 사용하는, 대상체에서 질병의 치료, 질병 발달 의 예방, 또는 질병 재발의 예방 방법으로서, 유효량의 항-에볼라 VP24 sdAb를 필요로 하는 대상체에 투여하는 것을 포함하는 방법.

청구항 16

청구항 15에 있어서, 대상체는 포유동물임을 특징으로 하는 방법.

청구항 17

청구항 16에 있어서, 포유동물은 인간임을 특징으로 하는 방법.

청구항 18

청구항 15에 있어서, 항-에볼라 VP24 sdAb는 하나 또는 그 이상의 화합물들과 조합하여 투여됨을 특징으로 하는 방법.

청구항 19

청구항 18에 있어서, 하나 또는 그 이상의 화합물들은 항-바이러스 화합물임을 특징으로 하는 방법.

청구항 20

청구항 14에 있어서, 필요로 하는 대상체에 대한 유효량의 항-에볼라 VP24 sdAb의 투여는 정맥내 투여, 근육내 투여, 경구 투여, 직장 투여, 장관 투여, 비장관 투여, 안구내 투여, 피하 투여, 경피 투여, 점안액으로서 투여, 코 스프레이로서 투여, 흡입 또는 분무에 의한 투여, 국소 투여, 삽입가능한 (implantable) 약물로서의 투여를 포함함을 특징으로 하는 방법.

청구항 21

서열 번호:55에 제시된 아미노산 서열을 포함하는, 단리된 폴리펩티드.

청구항 22

청구항 21의 폴리펩티드에 대해 지시되는 항체.

청구항 23

다음 단계를 포함하는, 대상체의 샘플에서, 항-에볼라 VP24 sdAb 수준의 측정 방법:

서열 번호:55에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드의 하나 또는 그 이상의 도메인들에 대해 지시되는 마우스 단클론 항체를 생성하는 단계;

대상체로부터 샘플을 얻는 단계;

상기 마우스 단클론 항체 및 상기 샘플로 정량적 면역분석을 수행하여, 대상체에서 sdAb의 양을 결정하는 단계;
및

대상체에서 sdAb의 양을 정량화하는 단계.

청구항 24

청구항 23에 있어서, 정량적 면역분석은 효소-결합 면역흡착 검사 (ELISA), 특이적 피분석물 표지 및 재포획 검사, 액체 크로마토그래피, 질량 분광법, 형광-활성 세포 분류법, 또는 이의 조합을 포함함을 특징으로 하는 방법.

청구항 25

항-아라키도네이트 12-리폭시게나아제 (ALOX12) 단일 도메인 항체 (sdAb).

청구항 26

서열 번호:49, 서열 번호:50, 서열 번호:51, 또는 서열 번호:52에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 항-ALOX12 sdAb.

청구항 27

청구항 25 또는 26에 따른 항-ALOX12 sdAb를 사용하는, 대상체에서 질병의 치료, 질병 발달 의 예방, 또는 질병 재발의 예방 방법으로서, 유효량의 항-ALOX12 sdAb를 필요로 하는 대상체에 투여하는 것을 포함하는 방법.

청구항 28

청구항 27에 있어서, 대상체는 포유동물임을 특징으로 하는 방법.

청구항 29

청구항 28에 있어서, 포유동물은 인간임을 특징으로 하는 방법.

청구항 30

청구항 27에 있어서, 항-ALOX12 sdAb는 하나 또는 그 이상의 화합물들과 조합하여 투여됨을 특징으로 하는 방법.

청구항 31

청구항 27에 있어서, 필요로 하는 대상체에 대한 유효량의 항-ALOX12 sdAb의 투여는 정맥내 투여, 근육내 투여, 경구 투여, 직장 투여, 장관 투여, 비장관 투여, 안구내 투여, 피하 투여, 경피 투여, 점안액으로서 투여, 코 스프레이로서 투여, 흡입 또는 분무에 의한 투여, 국소 투여, 삼입가능한 약물로서의 투여를 포함함을 특징으로 하는 방법.

청구항 32

서열 번호:49, 서열 번호:50, 서열 번호:51, 또는 서열 번호:52에 제시된 아미노산 서열을 포함하는, 단리된 폴리펩티드.

청구항 33

청구항 32의 폴리펩티드에 대해 지시되는 항체.

청구항 34

다음 단계를 포함하는, 대상체의 샘플에서, 항-ALOX12 sdAb 수준의 측정 방법:

서열 번호:49, 서열 번호:50, 서열 번호:51, 또는 서열 번호:52에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드의 하나 또는 그 이상의 도메인들에 대해 지시되는 마우스 단클론 항체를 생성하는 단계;

대상체로부터 샘플을 얻는 단계;

상기 마우스 단클론 항체 및 상기 샘플로 정량적 면역분석을 수행하여, 대상체에서 sdAb의 양을 결정하는 단계; 및

대상체에서 sdAb의 양을 정량화하는 단계.

청구항 35

청구항 34에 있어서, 정량적 면역분석은 효소-결합 면역흡착 검사 (ELISA), 특이적 피분석물 표지 및 재포획 검사, 액체 크로마토그래피, 질량 분광법, 형광-활성 세포 분류법, 또는 이의 조합을 포함함을 특징으로 하는 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 관련 출원들에 대한 상호 참조

[0002] 본 출원은 2015년 11월 2일 출원된 미국 가특허 출원 제 62/249,868호에 대한 우선권을 주장하며, 이의 내용은 본 출원에 온전히 참고문헌으로 포함된다.

[0003] 서열 목록

[0004] 본 출원은 서류 사본 대신 텍스트 형식의 서열 목록과 함께 출원된다. 서열 목록은 2016년 10월 27일에 생성된, 58 킬로바이트 크기의 “sequence listing.txt” 제목의 파일로 제공된다. 전자 형식의 서열 목록에 있는 정보는 본 출원에 온전히 참고문헌으로 포함된다.

배경 기술

[0005] 배경

[0006] 보다 대형의 단백질 또는 폴리펩티드에서 단일 항원-결합 단백질로서 또는 항원-결합 도메인으로서의 단일-도메인 항체 (sdAbs)의 사용은 종래의 항체 또는 항체 단편들을 사용하는 것 이상의 수많은 현저한 이점들을 제공한다. sdAbs의 이점들에는 다음이 포함된다: 고 친화성과 고 선택성으로 항원을 결합시킴에 하나의 단일 도메인 만이 필요하며; sdAbs는 단일 유전자로부터 발현될 수 있으며 번역-후 변형이 필요없고; sdAbs는 열, pH, 및 프로테아제를 비롯한 변성 조건 및 변성 제제들에 매우 안정하고; sdAbs는 값싸게 제조되고; 그리고 sdAbs는 종래의 항체는 접근할 수 없는 표적 및 에피토프들에 접근할 수 있다.

[0007] 비정상적인 세포내 또는 막횡단 성분들, 가령, 뉴클레오티드 및 단백질에 의해 유발되는 수많은 질병 또는 병태들, 가령, 바이러스 감염 또는 암이 존재한다. 이러한 질병 또는 병태를 예방 또는 치료하기 위하여 비정상적인 성분들의 제거가 사용될 수 있다. 이러한 질병의 치료에 이용가능한 수많은 약리학적 화합물들이 존재하지만, 이들 화합물들은 비효과적이거나, 전달될 수 없거나 질병에 걸리지 않은 세포들에 대해 독성일 수 있다.

[0008] 다른 치료들에는 외인성 표적화 서열을 내포하는 치료 단백질 또는 제제들의 사용이 포함되며, 이러한 치료제는 세포막에서 수용체에 의해 인식되므로, 세포막을 경유하여 세포에 진입할 수 있게 된다. 일단 치료제가 세포 내부에 존재하게 되면, 치료제는 질병을 치료하기 위하여 표적 성분과 상호작용 할 수 있다. 그러나, 외인성 표적화 서열의 사용은 이러한 치료제에 의해 표적되는 세포 유형을 제한하여, 치료제의 제조 비용을 높일 수 있다.

[0009] 전술한 이유로, 세포에 진입하기 위하여 외인성 표적화 서열들 또는 화학적 조성물들에 의존하지 않고 신체 내 질병에 걸린 세포들만을 표적화함에 효과적인, 질병 치료 또는 예방용 조성물 및 방법들에 대한 필요성이 존재한다.

[0010] 본 발명은 단일-도메인 항체 (sdAbs), 단백질 및 sdAbs를 포함하는 폴리펩티드에 관한 것이다. 이들 sdAbs는 병태 또는 질병을 유발하는 표적들에 대해 지시된다. 본 발명은 또한 이러한 sdAbs, 단백질 및 폴리펩티드를 인코딩하는 핵산, 그리고 sdAbs를 포함하는 조성물을 포함한다. 본 발명은 예방, 치료 또는 진단을 목적으로 하는, 이러한 조성물, sdAbs, 단백질 또는 폴리펩티드의 용도를 포함한다. 본 발명은 또한 본 발명의 sdAbs에

대해 지시되는 단클론 항체의 용도를 포함한다.

발명의 내용

- [0011] 요약
- [0012] 본 발명은 병태 또는 질병을 치료 또는 예방하기 위해 사용되는 sdAbs에 관련된다. 한 구체예는 항-제1형 인간 면역결핍 바이러스 (HIV-1) 역전사효소 단일 도메인 항체 (sdAb)에 관련된다. 한 양상에서, 항-HIV-1 역전사효소 sdAb는 서열 번호:27에 제시된 아미노산 서열을 포함한다. 본 발명은 또한 필요로 하는 대상체에게 유효량의 항-HIV-1 역전사효소 sdAb를 투여함에 의한, 대상체에서 항-HIV-1 역전사효소 sdAb를 사용한 질병의 치료, 질병 발달의 예방, 또는 질병 재발의 예방 방법을 포함한다. 대상체는 포유동물, 가령, 인간일 수 있다. 항-HIV-1 역전사효소 sdAb는 하나 또는 그 이상의 화합물들, 가령, 예를 들면, 프로테아제 억제제와 조합하여 투여될 수 있다. 필요로 하는 대상체에 대한 유효량의 항-HIV-1 역전사효소 sdAb의 투여는 정맥내 투여, 근육내 투여, 경구 투여, 직장 투여, 장관 투여, 비장관 투여, 안구내 투여, 피하 투여, 경피 투여에 의하거나, 점안액으로 투여되거나, 코 스프레이로 투여되거나, 흡입 또는 분무에 의해 투여되거나, 국소 투여되거나, 삽입가능한 (implantable) 약물로서 투여될 수 있다.
- [0013] 또다른 구체예에서, 본 발명은 서열 번호:27에 제시된 아미노산 서열을 가지는 단리된 폴리펩티드에 관련된다. 또다른 구체예에서, 본 발명은 서열 번호:27의 폴리펩티드에 대해 지시되는 항체를 포함한다.
- [0014] 본 발명은 다음 단계들을 포함하는, 대상체의 샘플에서 항-HIV-1 역전사효소 sdAb의 수준을 측정하는 방법을 포함하는 것을 또한 고려한다: a) 서열 번호:27에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드의 하나 또는 그 이상의 도메인들에 대하여 지시되는 마우스 단클론 항체를 생성하는 단계; b) 대상체로부터 샘플을 얻는 단계; c) 대상체에서 sdAb의 양을 결정하기 위하여 마우스 단클론 항체 및 샘플을 이용하여 정량 면역분석을 수행하고; 그리하여 대상체에서 sdAb의 양을 측정하는 단계. 한 양상에서, 정량적 면역분석은 효소-결합 면역흡착 검사 (ELISA), 특이적 피분석물 표지 및 재포획 검사 (specific analyte labeling and recapture assay, SALRA), 액체 크로마토그래피, 질량 분광법, 형광-활성 세포 분류법, 또는 이의 조합을 포함한다.
- [0015] 본 발명의 또다른 구체예는 항-에볼라 VP24 sdAb에 관련된다. 한 양상에서, 항-에볼라 VP 24 sdAb는 서열 번호:55에 제시된 아미노산 서열을 포함한다. 본 발명은 또한 필요로 하는 대상체에게 유효량의 항-에볼라 VP24 sdAb를 투여함에 의한, 대상체에서 항-에볼라 VP24 sdAb를 사용한 질병의 치료, 질병 발달의 예방, 또는 질병 재발의 예방 방법을 포함한다. 대상체는 포유동물, 가령, 인간일 수 있다. 항-에볼라 VP24 sdAb는 하나 또는 그 이상의 화합물들, 가령, 예를 들면, 프로테아제 억제제와 조합하여 투여될 수 있다. 필요로 하는 대상체에 대한 유효량의 항-에볼라 VP24 sdAb의 투여는 정맥내 투여, 근육내 투여, 경구 투여, 직장 투여, 장관 투여, 비장관 투여, 안구내 투여, 피하 투여, 경피 투여에 의하거나, 점안액으로 투여되거나, 코 스프레이로 투여되거나, 흡입 또는 분무에 의해 투여되거나, 국소 투여되거나, 삽입가능한 약물로서 투여될 수 있다.
- [0016] 또다른 구체예에서, 본 발명은 서열 번호:55에 제시된 아미노산 서열을 가지는 단리된 폴리펩티드에 관련된다. 또다른 구체예에서, 본 발명은 서열 번호:55의 폴리펩티드에 대해 지시되는 항체를 포함한다.
- [0017] 본 발명은 다음 단계들을 포함하는, 대상체의 샘플에서 항-에볼라 VP24 sdAb의 수준을 측정하는 방법을 포함하는 것을 또한 고려한다: a) 서열 번호:55에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드의 하나 또는 그 이상의 도메인들에 대하여 지시되는 마우스 단클론 항체를 생성하는 단계; b) 대상체로부터 샘플을 얻는 단계; c) 대상체에서 sdAb의 양을 결정하기 위하여 마우스 단클론 항체 및 샘플을 이용하여 정량 면역분석을 수행하고; 그리하여 대상체에서 sdAb의 양을 측정하는 단계. 한 양상에서, 정량적 면역분석은 ELISA, SALRA, 액체 크로마토그래피, 질량 분광법, 형광-활성 세포 분류법, 또는 이의 조합을 포함한다.
- [0018] 또한 본 발명의 또다른 구체예는 항-아라키도네이트 12-리폭시게나아제 (ALOX12) sdAb에 관한 것이다. 한 양상에서, 항-ALOX12 sdAb는 서열 번호:49, 서열 번호:50, 서열 번호:51, 또는 서열 번호:52에 제시된 아미노산 서열을 포함한다. 본 발명은 또한 필요로 하는 대상체에게 유효량의 항-ALOX12 sdAb를 투여함에 의한, 대상체에서 항-ALOX12 sdAb를 사용한 질병의 치료, 질병 발달의 예방, 또는 질병 재발의 예방 방법을 포함한다. 대상체는 포유동물, 가령, 인간일 수 있다. 항-ALOX12 sdAb는 하나 또는 그 이상의 화합물들과 조합하여 투여될 수 있다. 필요로 하는 대상체에 대한 유효량의 항-ALOX12 sdAb의 투여는 정맥내 투여, 근육내 투여, 경구 투여, 직장 투여, 장관 투여, 비장관 투여, 안구내 투여, 피하 투여, 경피 투여에 의하거나, 점안액으로 투여되거나, 코 스프레이로 투여되거나, 흡입 또는 분무에 의해 투여되거나, 국소 투여되거나, 삽입가능한 약물로서 투여될 수

있다.

[0019] 또다른 구체예에서, 본 발명은 서열 번호:49, 서열 번호:50, 서열 번호:51, 또는 서열 번호:52에 제시된 아미노산 서열을 가지는 단리된 폴리펩티드에 관련된다. 또다른 구체예에서, 본 발명은 서열 번호:49, 서열 번호:50, 서열 번호:51, 또는 서열 번호:52의 폴리펩티드에 대해 지시되는 항체를 포함한다.

[0020] 본 발명은 다음 단계들을 포함하는, 대상체의 샘플에서 항-HIV-1 역전사효소 sdAb의 수준을 측정하는 방법을 포함하는 것을 또한 고려한다: a) 서열 번호:27에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드의 하나 또는 그 이상의 도메인들에 대하여 지시되는 마우스 단클론 항체를 생성하는 단계; b) 대상체로부터 샘플을 얻는 단계; c) 대상체에서 sdAb의 양을 결정하기 위하여 마우스 단클론 항체 및 샘플을 이용하여 정량 면역분석을 수행하고; 그리하여 대상체에서 sdAb의 양을 측정하는 단계. 한 양상에서, 정량적 면역분석은 ELISA, SALRA, 액체 크로마토그래피, 질량 분광법, 형광-활성 세포 분류법, 또는 이의 조합을 포함한다.

도면의 간단한 설명

[0021] 도면

본 발명의 이러한 그리고 다른 특징들, 양상들 그리고 이점들은 하기 상세한 설명, 첨부된 청구범위, 그리고 첨부된 다음과 같은 도면들과 관련하여 보다 잘 이해될 것이다:

도 1 및 2는 HIV1-9 항-HIV-1 RT sdAb (서열 번호:27)을 사용한 ELISA 결과를 도시한다;

도 3 및 4는 HIV1-9 항-HIV-1 RT sdAb (서열 번호:27)의 연속 희석물을 사용한 ELISA 결과를 도시한다;

도 5 내지 8은 VP24-5 항-에볼라 VP24 sdAb (서열 번호:55)를 사용한 ELISA 결과를 도시한다; 그리고

도 9 및 10은 VP24-5 항-에볼라 VP24 sdAb (서열 번호:55)의 연속 희석물을 사용한 ELISA 결과를 보여준다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0022] 설명

[0023] 본 명세서에서 사용되는 하기 용어 및 이의 변화형들은 이러한 용어가 사용되는 내용이 명확하게 상이한 의미를 의도하는 것이 아닌 한 하기 제공되는 의미를 가진다.

[0024] 본 출원에서 사용되는 용어 “하나 (a, an)” 그리고 “그것 (the)” 그리고 유사한 지칭어들은 해당 내용에서 이들의 용도가 다른 것을 의미하는 것이 아닌 한 단수 및 복수 모두를 포괄하는 것으로 해석되어야 한다.

[0025] 용어 “항원 결정인자”는 항원-결합 분자에 의해 그리고 더욱 특히 항원-결합 분자의 항원-결합 부위에 의해 인식되는 항원 상의 에피토프 (가령, 본 발명의 sdAb 또는 폴리펩티드)를 지칭한다. 용어 “항원 결정인자” 및 “에피토프”는 또한 호환적으로 사용될 수 있다. 특이적 항원 결정인자, 에피토프, 항원 또는 단백질에 결합할 수 있는, 이들에 대한 친화성을 가지는 및/또는 특이성을 가지는 아미노산 서열은 항원 결정인자, 에피토프, 항원 또는 단백질에 '대항하는' 것 또는 '대해 지시되는 것'이라 말한다.

[0026] 본 출원에서 사용되는 용어 “포함하다” 및 이 용어의 변화형, 가령, “포함하는” 및 “포함하며”는 다른 첨가제들, 성분들, 정수들 또는 단계들을 제외시키고자 하는 것이 아니다.

[0027] 본 출원에 기재된 sdAbs, 폴리펩티드 및 단백질은 소위 “보존적” 아미노산 치환을 내포할 수 있음이 고려되며, 이 치환은 일반적으로 하나의 아미노산 잔기가 유사한 화학적 구조의 또다른 아미노산 잔기로 치환되는 아미노산 치환으로서 기술될 수 있으며 폴리펩티드의 기능, 활성 또는 다른 생물학적 특성에 거의 또는 본질적으로 전혀 영향을 미치지 않는다. 보존적 아미노산 치환은 해당 기술 분야에 널리 공지이다. 보존적 치환은 다음 그룹들 (a)-(e)에 속하는 하나의 아미노산이 동일한 그룹에 속하는 또다른 아미노산으로 치환되는 치환이다: (a) 소형 지방족, 비극성 또는 약간의 극성 잔기들: Ala, Ser, Thr, Pro 및 Gly; (b) 극성, 음으로 하전된 잔기 및 이의 (하전되지 않은) 아미드: Asp, Asn, Glu 및 Gln; (c) 극성, 양으로 하전된 잔기: His, Arg 및 Lys; (d) 대형 지방족, 비극성 잔기: Met, Leu, Ile, Val 및 Cys; 그리고 (e) 방향족 잔기: Phe, Tyr 및 Trp. 다른 보존적 치환은 다음이 포함된다: Ala이 Gly으로 또는 Ser으로; Arg이 Lys으로; Asn이 Gln으로 또는 His으로; Asp이 Glu으로; Cys이 Ser으로; Gln이 Asn으로; Glu이 Asp으로; Gly이 Ala으로 또는 Pro으로; His이 Asn으로 또는 Gln으로; Ile이 Leu으로 또는 Val으로; Leu이 Ile으로 또는 Val으로; Lys이 Arg으로, Gln으로 또는 Glu으로; Met이 Leu으로, Tyr으로 또는 Ile으로; Phe이 Met으로, Leu으로 또는 Tyr으로; Ser이 Thr으로; Thr이

Ser으로; Trp이 Tyr으로; Tyr이 Trp으로; 및/또는 Phe이 Val으로, Ile으로 또는 Leu으로.

- [0028] 본 출원에서 사용되는 “도메인”은 일반적으로 하나의 항체 사슬의 구형 영역, 그리고 특히, 중쇄 항체의 구형 영역, 또는 본질적으로 이러한 구형 영역을 구성하는 폴리펩티드를 지칭한다.
- [0029] sdAb의 아미노산 서열 및 구조는 전형적으로 4개의 프레임워크 영역들 또는 “FRs”로 이루어지는데, 이들은 각각 “프레임워크 영역 1” 또는 “FR1”로서; “프레임워크 영역 2” 또는 “FR2”로서; “프레임워크 영역 3” 또는 “FR3”으로서; 그리고 “프레임워크 영역 4” 또는 “FR4”로서 지칭된다. 프레임워크 영역들은 3개의 상보성 결정 영역 또는 “CDRs”에 의해 불연속되는데, 이들은 각각 “상보성 결정 영역 1” 또는 “CDR1”로서; “상보성 결정 영역 2” 또는 “CDR2”로서; 그리고 “상보성 결정 영역 3” 또는 “CDR3”으로서 지칭된다.
- [0030] 본 출원에서 사용되는 용어 “인간화 sdAb”는 자연 발생 VH8 서열의 아미노산 서열 내 하나 또는 그 이상의 아미노산 잔기들이 인간으로부터 얻은 종래의 4-사슬 항체의 VH 도메인에 해당하는 위치에서 발견되는 하나 또는 그 이상의 아미노산 잔기들로 치환되어 있는 sdAb를 의미한다. 이는 해당 기술 분야에 널리 공지된 방법에 의해 수행될 수 있다. 예를 들면, sdAbs의 FRs는 인간 가변 FRs로 치환될 수 있다.
- [0031] 본 출원에서 사용되는, “단리된” 핵산 또는 아미노산은 이것이 일반적으로 결합되어 있는 최소한 하나의 다른 성분, 가령, 그 원료 또는 배지, 또다른 핵산, 또다른 단백질/폴리펩티드, 또 다른 생물학적 성분 또는 거대분자 또는 오염물질, 불순물 또는 미량의 성분으로부터 분리되었다.
- [0032] 용어 “포유동물”은 포유류에 속하는 개체로 정의되며, 제한없이, 인간, 가축 및 농장 동물들, 및 동물원, 경기, 및 애완 동물들, 가령, 소, 말, 양, 개 및 고양이 포함된다.
- [0033] 본 출원에서 사용되는, “약학적으로 허용가능한 담체”는 약학적 투여와 양립가능한 임의의 그리고 모든 용매들, 분산 매질, 코팅, 향균 및 항진균 제제들, 등장성 및 흡수 지연 제제들 등을 포함하는 것으로 한다. 적합한 담체들이 해당 분야에서 표준 참고 문헌인 Remington's Pharmaceutical Sciences의 최신판에 기재되어 있다. 이러한 담체들 또는 희석제들의 바람직한 예들에는, 물, 식염수, 링거 용액, 텍스트로스 용액, PBS (인산염-완충 식염수), 및 5% 인간 혈청 알부민이 포함되나, 이에 제한되는 것은 아니다. 리포솜, 양이온성 지질 및 비-수성 비히클, 가령, 고정유가 또한 사용될 수 있다. 약학적 활성 물질을 위한 이러한 매질 및 제제들의 사용은 해당 기술 분야에 널리 공지이다. 임의의 종래의 매질 또는 제제가 상기 정의된 치료제와 양립불가능한 한 이를 제외하고, 본 발명의 조성물에서 이의 사용이 고려된다.
- [0034] “정량적 면역분석”은 항체를 사용하여 샘플에 존재하는 항원의 양을 측정하는 임의의 수단들을 지칭한다. 정량적 면역분석을 수행하는 방법은 효소-결합 면역흡착 검사 (ELISA), 특이적 피분석물 표지 및 재포획 검사 (SALRA), 액체 크로마토그래피, 질량 분광법, 형광-활성 세포 분류법, 등을 포함하나 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0035] 용어 “용액”은 용매 및 용질을 포함하는 조성물을 지칭하며, 진 용액 및 현탁액을 포함한다. 용액의 예들에는 액체에 용해된 고체, 액체 또는 기체 그리고 액체에 현탁된 미립자 또는 마이셀이 포함된다.
- [0036] 용어 “특이성”은 특정 항원-결합 분자 또는 항원-결합 단백질 분자가 결합할 수 있는 상이한 유형들의 항원 또는 항원 결정인자들의 수를 지칭한다. 항원-결합 단백질의 특이성은 친화성 및/또는 결합력(avidity)에 기초하여 결정될 수 있다. 항원-결합 단백질과 항원의 해리에 대한 평형 상수(KD)로 나타내어지는 친화성은, 항원-결합 단백질 상의 항원-결합 부위와 항원 결정인자 간 결합 강도에 관한 측정치이며: KD 값이 작을 수록, 항원 결정인자와 항원-결합 분자 간의 결합 강도는 강해진다(택일적으로, 친화성은 또한 1/KD인 친화성 상수 (KA)로 표현될 수도 있다). 해당 기술 분야의 숙련된 기술자에게 자명하게 되는 바와 같이, 친화성은 특정 관심 항원에 따라 결정될 수 있다. 결합력은 항원-결합 분자와 항원 간 결합 강도의 측정치이다. 결합력은 항원-결합 분자 상의 항원 결합 부위와 항원 결정인자 간 친화성 그리고 항원-결합 분자 상에 존재하는 관련 결합 부위들의 수 모두에 관계된다. 항원-결합 단백질의 항원 또는 항원 결정인자에 대한 특이적 결합은 임의의 공지된 방식, 가령, 예를 들면, Scatchard 분석 및/또는 경쟁적 결합 분석, 가령, 방사면역측정법 (RIA), 효소 면역분석법 (EIA) 및 샌드위치 경쟁 분석법에 의해 결정될 수 있다.
- [0037] 본 출원에서 사용되는 용어 “제조함”은 본 발명의 sdAbs를 제조하기 위하여 사용되는 유전 공학 방법들 (예를 들면, 클로닝, 및 증폭)의 사용을 지칭한다.
- [0038] “단일 도메인 항체,” “sdAb” 또는 “VH8”는 일반적으로 3개의 상보성 결정 영역에 의해 불연속되는 4개의 프레임워크 영역들로 구성된 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 또는 단백질로 정의될 수 있다. 이는 FR1-

CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4로 나타내어진다. 본 발명의 sdAb는 또한 sdAb 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 또는 단백질을 포함한다. 전형적으로, sdAbs는 낙타과, 가령, 라마에서 생성되지만, 해당 기술 분야에 널리 공지된 기법들을 사용하여 합성적으로 생성될 수도 있다. 본 출원에서 사용되는 바와 같이, 천연 중쇄 항체에 존재하는 가변 도메인들은 “VH 도메인”으로 지칭되는 종래의 4-사슬 항체에 존재하는 중쇄 가변 도메인과 그리고 “도메인”으로 지칭되는 종래의 4-사슬 항체에 존재하는 경쇄 사슬 가변 도메인과 구별하기 위하여 “도메인”으로도 지칭될 것이다. “VHH” 및 “sdAb”는 본 출원에서 호환적으로 사용된다. sdAb 또는 폴리펩티드의 아미노산 잔기들의 넘버링은 Kabat 등에 의해 제공되는 VH 도메인들에 대한 일반적인 넘버링에 따른다. (“Sequence of proteins of immunological interest,” US Public Health Services, NIH Bethesda, MD, Publication No. 91). 이 넘버링에 따르면, sdAb의 FR1은 위치 1-30의 아미노산 잔기들을 포함하고, sdAb의 CDR1은 위치 31-36의 아미노산 잔기들을 포함하고, sdAb의 FR2는 위치 36-49의 아미노산을 포함하고, sdAb의 CDR2는 위치 50-65의 아미노산 잔기들을 포함하고, sdAb의 FR3은 위치 66-94의 아미노산 잔기들을 포함하고, sdAb의 CDR3은 위치 95-102의 아미노산 잔기들을 포함하고, sdAb의 FR4는 위치 103-113의 아미노산 잔기들을 포함한다.

[0039] 용어 “합성”은 시험관내 화학적 또는 효소적 합성에 의한 제조를 지칭한다.

[0040] 본 출원에서 사용되는 용어 “표적”은 sdAb에 의해 인식되는 임의의 성분, 항원, 또는 모이어티를 지칭한다. 용어 “세포내 표적”은 세포 내 존재하는 임의의 성분, 항원, 또는 모이어티를 지칭한다. “막횡단 표적”은 세포막 내 위치하는 성분, 항원, 또는 모이어티이다. “세포외 표적”은 세포 밖에 위치하는 성분, 항원, 또는 모이어티를 지칭한다.

[0041] 본 출원에서 사용되는 “치료 조성물”은 치료 효과를 가지도록 의도되는 물질, 가령, 약학적 조성물, 유전 물질, 생물제제, 및 다른 물질들을 의미한다. 유전 물질은 직접적인 또는 간접적인 유전적 치료 효과를 가지도록 의도된 물질들, 가령, 유전적 벡터, 유전적 조절 요소, 유전적 구조 요소, DNA, RNA 등을 포함한다. 생물제제는 치료 효과를 가지도록 의도된, 생물인 물질 또는 생물로부터 유도된 물질을 포함한다.

[0042] 본 출원에서 사용되는, 어구 “치료적 유효량” 및 “예방적 유효량”은 질병 또는 질병의 명시적인 증상의 치료, 예방 또는 관리에 치료적 이점을 제공하는 양을 지칭한다. 치료적 유효량은 질병, 질병의 증상, 또는 질병에 대한 소인을 회복, 치유, 완화, 경감, 변화, 구제, 개선, 향상, 또는 영향을 줄 목적으로 질병 또는 병태, 질병의 증상, 또는 질병에 대한 소인을 치료할 수 있다. 치료적으로 유효한 구체적인 양은 통상의 의사에 의해 용이하게 결정될 수 있으며, 해당 분야에 공지된 요인들, 가령, 예컨대, 질병 유형, 환자 병력 및 연령, 질병 단계, 및 다른 치료적 제제들의 투여에 따라 달라질 수 있다.

[0043] 본 발명은 바이러스 및 세포내 성분들에 대해 지시되는 단일-도메인 항체 (sdAbs), 뿐만 아니라 sdAbs를 포함하는 단백질 및 폴리펩티드 그리고 이러한 단백질 및 폴리펩티드를 인코딩하는 뉴클레오티드에 관한 것이다. 본 발명은 또한 세포간, 세포횡단 (transcellular) 및 세포외 표적들 또는 항원들에 대해 지시되는 sdAbs에 관한 것일 수 있다. 본 발명은 또한 이러한 sdAbs, 단백질 및 폴리펩티드를 인코딩하는 핵산, 그리고 sdAbs를 포함하는 조성물을 포함한다. 본 발명은 예방, 치료 또는 진단을 목적으로 하는, 이러한 조성물, sdAbs, 단백질 또는 폴리펩티드의 용도를 포함한다.

[0044] SdAbs는 기능적 항원-결합 도메인 또는 단백질로서 sdAbs를 사용하기에 매우 이롭게 하는 많은 독특한 구조적 특징들 및 기능적 성질들을 가진다. SdAbs는 경쇄 가변 도메인의 부재시 항원에 기능적으로 결합하여, 단일의, 비교적 작은, 기능적 항원-결합 구조 단위, 도메인 또는 단백질로서 기능할 수 있다. 이러한 점은 sdAbs를, 그 자체로 항원-결합 단백질 또는 도메인으로서 기능하지 않지만, 항원을 결합시키기 위해 종래의 항체 단편들, 가령, 항원-결합 단편들 (Fab) 또는 단일 사슬 가변 단편들 (ScFv)과 조합될 필요가 있는 종래의 항체의 도메인들과 구별시킨다.

[0045] SdAbs는 해당 기술 분야에 널리 공지된 방법들을 사용하여 얻을 수 있다. 예를 들면, sdAbs를 얻은 하나의 방법은 (a) 카멜리드를 하나 또는 그 이상의 항원들로 면역화시키는 단계, (b) 면역화시킨 카멜리드로부터 말초 림프구를 분리하여, 전체 RNA를 얻고 이에 상응하는 상보적 DNAs (cDNAs)를 합성하는 단계, (c) VHH 도메인을 인코딩하는 cDNA 단편들의 라이브러리를 작제하는 단계, (d) PCR을 사용하여 단계 (c)에서 얻은 VHH 도메인-인코딩 cDNAs를 전령 RNA (mRNA)로 전사시키고, 이 mRNA를 리보솜 디스플레이 형식으로 전환시키고, 리보솜 디스플레이에 의하여 VHH 도메인을 선택하는 단계, 그리고 (e) VHH 도메인을 적합한 벡터에서 발현시키는 단계 그리고, 선택적으로 발현된 VHH 도메인을 정제하는 단계를 포함한다.

- [0046] 본 발명의 sdAbs를 얻는 또 다른 방법은 핵산을 합성하는 기법들을 사용하여 sdAb를 인코딩하는 핵산을 제조한 후, 이 핵산을 *생체내* 또는 *시험관내* 발현시킴에 의한 것이다. 추가적으로, 본 발명의 sdAb, 폴리펩티드 및 단백질은 단백질, 폴리펩티드 또는 다른 아미노산 서열들을 제조하기 위한 합성 또는 반-합성 기법들을 사용하여 제조될 수 있다.
- [0047] 본 발명의 sdAbs는 일반적으로 표적의 모든 천연 또는 합성 유사체, 변이체, 돌연변이체, 대립유전자, 부분들 및 단편들에, 또는 적어도 본 발명의 sdAbs가 야생형 표적에서 결합되는 항원 결정인자 또는 에피토프와 본질적으로 동일한 하나 또는 그 이상의 항원 결정인자 또는 에피토프를 내포하는 표적의 유사체, 변이체, 돌연변이체, 대립유전자, 부분들 및 단편들에 결합할 것이다. 본 발명의 sdAbs는, 본 발명의 sdAbs가 야생형 표적에 결합하는 친화성 및 특이성과 동일하거나, 또는 이보다 높거나 또는 이보다 낮은 친화성 및/또는 특이성으로 이러한 유사체, 변이체, 돌연변이체, 대립유전자, 부분들 및 단편들에 결합할 수 있다. 본 발명의 범위내에서, 본 발명의 sdAbs는 또한 표적의 일부 유사체, 변이체, 돌연변이체, 대립유전자, 부분들 및 단편들에는 결합하지만 다른 것들에는 결합하지 않는 것으로 고려된다. 또한, 본 발명의 sdAb는 인간화될 수 있고, 일가 또는 다가, 및/또는 다중특이적일 수 있다. 추가적으로, 본 발명의 sdAbs는 표적 단백질의 인산화 형태 뿐만 아니라 비인산화 형태에 결합할 수 있다. sdAbs는 그 외 다른 분자들, 가령, 알부민 또는 다른 거대분자들에 결합할 수 있다.
- [0048] 또한, 본 발명의 범위내에서, sdAbs는 다가이다, 즉, sdAb는 표적의 둘 이상의 상이한 에피토프들에 대해 지시되는 둘 이상의 단백질 또는 폴리펩티드를 가질 수 있다. 이러한 다가 sdAb에서, 단백질 또는 폴리펩티드는, 예를 들면, 동일한 에피토프, 실질적으로 균등한 에피토프, 또는 상이한 에피토프에 대해 지시될 수 있다. 상이한 에피토프들은 동일한 표적 상에 위치될 수 있으며, 또는 둘 이상의 상이한 표적들 상에 위치될 수 있다.
- [0049] 또한 본 발명의 하나 또는 그 이상의 sdAbs의 서열은 하나 또는 그 이상의 링커 서열들과 연결되거나 결합될 수 있는 것으로 생각된다. 링커는, 예를 들면, 세린, 글리신 및 알라닌의 조합을 내포하는 단백질 서열일 수 있다.
- [0050] 또한 본 발명의 sdAbs의 부분, 단편, 유사체, 돌연변이체, 변이체, 대립유전자 및/또는 유도체를 사용하는 것은, 이들이 기재된 용도에 적합한 한, 본 발명의 범위에 속한다.
- [0051] 본 발명의 sdAbs는 주로 치료 및/또는 진단 용도를 위한 것이기 때문에, 이들은 포유동물, 바람직하게는 인간, 표적들에 대해 지시된다. 그러나, 본 출원에 기재된 sdAbs는 다른 종들로부터의 표적들, 예를 들면, 하나 또는 그 이상의 다른 종들의 영장류 또는 다른 동물들 (예를 들면, 마우스, 래트, 토끼, 돼지 또는 개)로부터의 표적들과, 그리고 특히, 이러한 표적들과 연관된 질병과 관련된 질병 및 장애에 관한 동물 모델에서 교차-반응성일 수 있다.
- [0052] 또 다른 양상에서, 본 발명은 본 발명의 sdAb를 인코딩하는 핵산에 관한 것이다. 이러한 핵산은, 예를 들면, 유전자 작제물의 형태일 수 있다.
- [0053] 또 다른 양상에서, 본 발명은 본 발명의 sdAb를 발현시키는 또는 발현시킬 수 있는, 및/또는 본 발명의 sdAb를 인코딩하는 핵산을 내포하는, 숙주 또는 숙주 세포에 관한 것이다. sdAbs의 서열들은 임의의 유기체의 유전체 내부에 삽입하기 위해 사용되어 유전자 변형된 유기체 (GMO)를 생성할 수 있다. 예들에는, 식물, 박테리아, 바이러스, 및 동물들이 포함되나 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0054] 본 발명은 또한 sdAbs, sdAbs를 인코딩하는 핵산, 이러한 sdAbs를 발현시키는 또는 발현시킬 수 있는 숙주 세포, 본 발명의 sdAbs를 내포하는 생성물 및 조성물을 제조 또는 생성하는 방법에 관한 것이다.
- [0055] 본 발명은 또한 본 출원에 기재된 sdAbs, sdAbs를 인코딩하는 핵산, 숙주 세포, 생성물 및 조성물의 응용 및 용도에 관한 것이다. 이러한 생성물 또는 조성물은, 예를 들면, 질병의 치료 또는 예방을 위한 약학적 조성물, 또는 진단용 생성물 또는 조성물일 수 있다. sdAbs는 sdAbs의 혈청 및 조직 수준을 측정하기 위하여 다양한 검사, 예를 들면 ELISA 검사 및 질량 분광법 검사에서 사용될 수 있다.
- [0056] 또 다른 양상에서, 질병을 치료 또는 예방하기 위해 본 발명의 하나 또는 그 이상의 sdAbs를 인코딩하는 핵산이 유기체의 유전체 내부에 삽입될 수 있다.
- [0057] 본 발명은 일반적으로 예방적, 치료적 및/또는 진단 목적으로 사용될 수 있는 sdAbs, 뿐만 아니라 하나 또는 그 이상의 이러한 sdAbs를 포함하는 또는 이들로 본질적으로 구성되는 단백질 또는 폴리펩티드에 관한 것이다.
- [0058] 본 발명에 상세히 기재된 방법 및 조성물은 본 출원에 기재된 질병을 치료하기 위해 사용될 수 있으며, 본 출원에 기재되거나 그 외 해당 분야의 숙련된 기술자에게 공지된 임의의 용량 및/또는 제형으로, 뿐만 아니라 본 출

원에 기재되거나 그 외 해당 분야의 숙련된 기술자에게 공지된 임의의 투여 경로로 사용될 수 있다.

- [0059] 본 발명의 sdAbs는 바이러스에 의해 또는 비정상적인 세포 단백질에 의해 유발된 질병의 치료 및 예방을 위해 사용될 수 있다. 본 발명의 sdAbs는 또한 질병의 치료 및 예방을 위해 사용될 수 있다. 본 발명의 sdAbs는 세포 내 분자의 과발현이 있는 경우 질병을 표적하기 위해 사용될 수 있다. 이 항체들은 또한 감염된 세포들에서 세포 내 바이러스 단백질을 표적함으로써 바이러스 감염을 치료하기 위해 사용될 수 있다. 바이러스 단백질, 가령, 예를 들면, HIV-1 역전사효소의 생성을 차단하는 것은 바이러스 생활-주기를 차단할 수 있다.
- [0060] 본 발명의 sdAbs는 또한 표적 세포내 바이러스 단백질, 가령, 에볼라 VP24를 표적하여, 숙주의 항-바이러스 면역 반응을 정지시키는 에볼라의 능력을 차단시킬 수 있다.
- [0061] 본 발명의 sdAbs는 하나 또는 그 이상의 화합물들과 함께 사용될 수 있다. 예를 들면, 본 발명의 sdAb는 JAK/STAT 억제제, 가령, 예를 들면, 커큐민, 레스베라트롤, 쿠쿠르비타딘 A, B, E, I, Q, 플라보피리돌, 테옥시 테트라노마이신, 사이클로펜텐온 유도체, N-아실호모세린 락톤, 인디루빈 유도체, 메이소인디고, 티르포스틴, 백금-내포 화합물들 (예컨대, IS3-295), 펩티도모방체, 안티센스 올리고뉴클레오타이드, S3I-201, 포스포티로신 트리펩티드 유도체, HIV 프로테아제 억제제 (예컨대, 벨피나비르, 인디나비르, 사퀴나비르, & 리토르나비르), JSI-124, XpYL, Ac-pYLPQTV-NH₂, ISS 610, CJ-1383, 피리메타민, 메트포르민, 아티프리모드, S3I-M2001, STX-0119; N-[2-(1,3,4-옥사디아졸릴)]-4 퀴놀린카르복스아미드 유도체, S3I-1757, LY5; 5,8-디옥소-6(피리딘-3-일 아미노)-5,8,-디하이드로-나프탈렌-1-설폰아미드, 위타신스틴 (withacinstin), 스타틱 (Stattic), STA-21, LLL-3, LLL12, XZH-5, SF-1066, SF-1087, 17o, 크립토탄시논, FLL32, FLL62, C188-9, BP-1108 및 BP-1075, 갈 리엘라락톤, JQ1, 5, 15 DPP, WP1066, 니클로사미드, SD1008, 니푸록사지드, 크립토탄시논, BBI 퀴논, 및 록솔 리티닙 포스페이트와 함께 사용될 수 있다. 상기 하나 또는 그 이상의 화합물들은 치료 반응을 증가시켜 본 발 명의 sdAbs의 유효성을 증대시킬 수 있다. 또한, sdAbs의 유효성은 sdAbs를 펩티드, 펩티도모방체, 및 다른 약 물들, 가령, 예를 들면, 시메티딘, 아토르바스타틴, 셀레코시브, 메트포르민, 및 시메티딘 (그러나 이에 제한되 는 것은 아님)과 조합함으로써 증가될 수 있다.
- [0062] 본 발명의 하나 또는 그 이상의 sdAbs, 또는 본 발명의 sdAbs는 다른 sdAbs와 조합될 있는 것으로 생각된다.
- [0063] 본 발명의 특정 sdAbs는 sdAb 상의 단백질 서열을 추가로 표적화 할 필요 없이, 그리고 세포 표면 수용체에 결 합하여 세포막을 경유하도록 sdAb를 지시하는 외인성 화합물들의 도움 없이 세포막을 경유하여 세포에 진입할 수 있는 것으로 생각된다.
- [0064] 세포막을 경유한 후, 이들 sdAbs는 표적 막횡단 또는 세포내 분자 또는 항원들을 표적할 수 있다. 이들 표적들 은, 예를 들면, 단백질, 탄수화물, 지질, 핵산, 돌연변이된 단백질, 바이러스 단백질, 및 프리온일 수 있다. sdAb 표적은 효소, 세포의 구조적 단백질, 세포막 분자의 세포내 부분, 소기관의 막 내부의 분자들, 임의의 유 형의 RNA 분자, DNA 또는 염색체의 임의의 영역, 메틸화 또는 비메틸화 핵산, 세포의 합성 메커니즘에서 부분적 으로 조립된 분자, 2차 신호전달자 분자, 및 세포 신호전달 메커니즘 내 분자로서 기능할 수 있다. 표적들은 세 포질, 핵, 소기관, 및 세포막 내 분자들 모두를 포함할 수 있다. 세포막 내 분비 또는 배치될 분자들은 세포에 서 나가기 전 세포질 내에서 표적화될 수 있다.
- [0065] sdAb 표적들은 인간, 동물, 식물, 진균, 기생충, 원생생물, 박테리아, 바이러스, 프리온, 원핵세포, 및 진핵세 포 안에 존재할 수 있다. 본 발명의 sdAbs에 의해 표적화될 수 있는 세포간 및 세포내 신호전달 분자 및 단백질 그룹들의 일부 예들은 다음과 같다: 종양유전자 생성물s, 호르몬, 사이토킨, 성장 인자, 신경전달물질, 키나아 제 (티로신 키나아제, 세린 키나아제, 및 트레오닌 키나아제 포함), 인산분해효소, 유비퀴틴, 사이클릭 뉴클레 오타이드, 사이클라아제 (아데닐릴 및 구아닐릴), G 단백질, 포스포디에스테라아제, GTPase 수퍼패밀리, 면역글로 불린 (항체, Fab 단편들, 결합체, sdAbs), 면역글로불린 수퍼패밀리, 이노시톨 포스페이트 지질, 스테로이드 수 용체, 칼모듈린, CD 그룹 (예컨대, CD4, CD8, CD28, 등), 전사 인자, TGF-베타, TNF-알파 및 베타, TNF 리간드 수퍼패밀리, 노치(notch) 수용체 신호전달 분자, 헤지호그 수용체 신호전달분자, Wnt 수용체 신호전달분자, 톨- 유사 수용체 신호전달분자, 카스파제, 액틴, 미오신, 미오스타틴, 12-리폭시게나아제, 15-리폭시게나아제, 리폭 시게나아제 수퍼패밀리, 역전사효소, 바이러스 및 이의 단백질, 아밀로이드 단백질, 콜라겐, G 단백질 결합 수 용체, 돌연변이된 정상 단백질, 프리온, Ras, Raf, Myc, Src, BCR/ABL, MEK, Erk, Mos, Tpl2, MLK3, TAK, DLK, MKK, p38, MAPK, MEKK, ASK, SAPK, JNK, BMK, MAP, JAK, PI3K, 사이클로옥시게나아제, STAT1, STAT2, STAT3, STAT4, STAT5a, STAT5b, STAT6, Myc, p53, BRAF, NRAS, KRAS, HRAS 및 케모카인.
- [0066] HIV는 인간에서 후천성 면역결핍 증후군 (AIDS)을 유발하는 레트로바이러스이다. AIDS는 감염된 개체의 면역계

의 진행성 기능상실을 유발하여, 삶을 위협하는 기회 감염 및 암의 발달을 가져온다. HIV 감염 후 평균 생존 시간은 치료 없이 9 내지 11인 것으로 추정된다.

[0067] HIV는 단일-가닥의, 양성-센스, 외피형 RNA 바이러스로서 전달된다. 표적 세포에 진입시, 바이러스 RNA 유전체는 바이러스 입자 내에서 바이러스 유전체와 함께 운반되는 바이러스 인코딩된 역전사효소 (RT)에 의해 이중-가닥 DNA로 역전사된다. RT는 RNA-의존성 DNA 중합효소이며 또한 RNaseH 활성을 가진다. 이후 생성된 바이러스 DNA는 숙주 세포 핵 안으로 들어가서 바이러스 인코딩된 인테그라제 및 숙주 보조-인자들에 의해 세포 DNA에 통합되었다. 일단 통합되면, 바이러스는 수 개월 또는 수 년 동안 잠복기가 될 수 있다. 택일적으로, 바이러스는 전사되어, 새로운 RNA 유전체 및 바이러스 단백질을 생성하며, 이들은 새로운 바이러스 입자들로서 패키징되어 방출된다.

[0068] 2가지 유형의 HIV가 특성화되었다: HIV-1 및 HIV-2. HIV-1은 더욱 맹독성이고, 더욱 감염성이며, 전세계적으로 대다수의 HIV 감염 원인이다. HIV-2는 대부분 서 아프리카에 국한된다.

[0069] 항-HIV RT sdAbs는 표적 HIV-1 역전사효소를 표적하도록 개발되었다. 항-HIV-1 RT sdAb는 단독으로 또는 다른 레트로바이러스 제제들과의 조합되어 HIV로 감염된 개체들을 성공적으로 치료할 수 있다. 해당 분야에 널리 공지된 방법들을 사용하여, HIV-1 RT의 에피토프에 대해 지시되는 또는 이에 결합할 수 있는 sdAbs를 생성하기 위해 제조함 HIV-1 역전사효소 단백질 (Creative Biomart, Shirley, NY) (서열 번호:1)을 사용하였다.

[0070] 낙타를 면역화하기 위해 사용된, 제조함 HIV-1 역전사효소 단백질의 단백질 서열 (서열 번호:1)은 PISPIETVPVKLPKPGMDGPKVKQWPLT
EEKIKALVEICAELEEEGKISRIGPENPYNTPVFAIKKKDSTKWRKLVDFRELNKRTQDFWEVQLGIPHPAGLKKKSVTVLDVGDAYSIFPLDEDFRKYTA
FTIPSTNNETPGTRYQYNLPPQGWKGSPIFQSSMTKILEPFRKQNPDIYIYQVDDLYVGSLEIGQHRTKVEELRQHLWRWGFYTPDKKHQKEPPFLWMG
YELHPDKWTVPQIVLPEKDSWTVNDIQK 이었다.

[0071] 면역화시킨 결과로, 수 개의 sdAbs를 얻어 선별하였다. 항-HIV-1 RT sdAbs의 DNA 서열들을 하기에 나열한다:

[0072] HIV1-1 (서열 번호:2): 5'-gatgtgcagctggtggagtctggggaggctcggtgcaggctggagggtc
tctgagactctcctgtgcagcctctgtttacagctacaacacaaactgcatgggttggttccgccaggctccagggaaggagcgcgagggggtcgagcttat
ttatgctgctgggtggattaacatactatgccgactccgtgaaggccgattcaccatctcccaggagaatggcaagaatacggtgtacctgacgatgaaccg
cctgaaacctgaggacactgccatgtactactgtgcggcaagcgatggtgtagtagctggaatcgcggtgaggagtataactactggggccaggggaccac
gggtcaccgtctcctca-3'

[0073] HIV1-2 (서열 번호:3): 5'-caggtgcagctggtggagtctggggaggctcggtgcaggctggaga
ctctctgagactctcctgtgcagcctctggaacactgccagtaggttctccatgggctggttccgccaggctccagggaaggagcgcgagggggtcgcggc
tatttctgctgggtgtaggttacatactatgccgactccgtgaaggccgattcaccatctcccagacaacgccaagaacacgctgtatctggacatgaa
caacctgaaacctgaggacactgccatgtactactgtgccgcaattagtgaccggatgactggtatcaggctcttgcggctctaccagacttcgcccaga
agactacggttaactggggccaggggaccctggtcaccgtctcctca-3'

[0074] HIV1-7 (서열 번호:4): 5'-gaggtgcagctggtggagtctggggagactcggtgcaggctgga
gggtctcttcaactctcctgtaaagcctctggatacactacaatagtagagtcgatcagatctatgggctggttccgccagatccaggaaaggagcgc
gagggggtcgctactatataattcgtaaatagtggtcacatactatgccgactccgtgaaggccgattcaccatctccaagacaacgccaagaacacggtg
tatctgcaaatgaacgccctgaaacctgaggacactgccatgtactactgtgcgttgtcagacagattcgcggcgcaggtacctgccaggtacggaatcggg
ccctctgactataactactggggtgaggggaccctggtcaccgtctcctca-3'

[0075] HIV1-8 (서열 번호:5): 5'-caggtgcagctggtggagtctggggagactcggtgcaggctggagg
gtctcttcaactctcctgtaaagcctctggatacactacaatagtagagtcgatcagatctatgggctggttccgccagatccaggaaaggagcgcga
gggggtcgctactatataattcgtaaatagtggtcacatactatgccgactccgtgaaggccgattcaccatctccaagacaacgccaagaacacggtgta
tctgcaaatgaacgccctgaaacctgaggacactgccatgtactactgtgcgttgtcagacagattcgcggcgcaggtacctgccaggtacggaatcggcc
ctctgactataactactggggccaggggaccctggtcaccgtctcctca-3'

[0076] HIV1-6 (서열 번호:6): 5'-caggtgcagctggtggagtctggggagactcggtgcaggctggagg
gtctcttcaactctcctgtaaagcctctggatacactacaatagtagagtcgatcagatctatgggctggttccgccaatccaggaaaggagcgcga
gggggtcgctactatataattcgtaaatagtggtcacatactatgccgactccgtgaaggccgattcaccatctccaagacaacgccaagaacacggtgta
tctgcaaatgaacgccctgaaacctgaggacactgccatgtactactgtgcgttgtcagacagattcgcggcgcaggtacctgccaggtacggaatcggcc
ctctgactataactactggggccaggggaccctggtcaccgtctcctca-3'

- [0077] HIV1_28 (서열 번호:7): 5'- aggtgcagctggtggagtctgggggagactcggtgcaggctggagggtctcttcaactctcctgtaagcctctggatacacctacaatagtagagtcgatatcagatctatgggctggttccgccagatccaggaaaggagcgcgaggggggtcgctactattaatttcgtaaatagtggtcacatactatgccgactccgtgaagggccgattcaccatctcccaagacaacgccaagaacacggtgtatctgcaaataaacgccctgaaacctgaggacactgccatgtactactgtgcgttgtcagacagattcgcgggcgaggtacctgccaggtacggaatacggccctctgactataaactactggggccaggggaccctggtcaccgtctcctca-3'
- [0078] HIV1-21 (서열 번호:8): 5'-gaggtgcagctggtggagtctgggggagactcggtgcaggctggagggtctcttcaactctcctgtaagcctctggatacacctacaatagtagagtcgatatcagatctatgggctggttccgccagatccaggaaaggagcgcgaggggggtcgctactattaatttcgtaaatagtggtcacatactatgccgactccgtgaagggccgattcaccatctcccaagacaacgccaagaacacggtgtatctgcaaataaacgccctgaaacctgaggacactgccatgtactactgtgcgttgtcagacagattcgcgggcgaggtacctgccaggtacggaatacggccctctgactataaactactgggggtgaggggaccaggtcaccgtctcctca-3'
- [0079] HIV1-37 (서열 번호:9): 5'-gaggtgcagctggtggagtctgggggagactcggtgcaggctggagggtctcttcaactctcctgtaagcctctggatacacctacaatagtagagtcgatatcagatctatgggctggttccgccagatccaggaaaggagcgcgaggggggtcgctactattaatttcgtaaatagtggtcacatactatgccgactccgtgaagggccgattcaccatctcccaagacaacgccaagaacacggtgtatctgcaaataaacgccctgaaacctgaggacactgccatgtactactgtgcgttgtcagacagattcgcgggcgaggtacctgccaggtacggaatacggccctctgactataaactactgggggtgaggggaccaggtcaccgtctcctca-3'
- [0080] HIV1-3 (서열 번호:10): 5'-gaggtgcagctggtggagtctgggggagactcggtgcaggctggagggtctcttcaactctcctgtaagcctctggatacacctacaatagtagagtcgatatcagatctatgggctggttccgccagatccaggaaaggagcgcgaggggggtcgctactattaatttcgtaaatagtggtcacatactatgccgactccgtgaagggccgattcaccatctcccaagacaacgccaagaacacggtgtatctgcaaataaacgccctgaaacctgaggacactgccatgtactactgtgcgttgtcagacagattcgcgggcgaggtacctgccaggtacggaatacggccctctgactataaactactgggggtgaggggaccaggtcactgtctcctca-3'
- [0081] HIV1-5 (서열 번호:11): 5'-gaggtgcagctggtggagtctgggggagactcggtgcaggctggagggtctcttcaactctcctgtaagcctctggatacacctacaatagtagagtcgatatcagatctatgggctggttccgccagatccaggaaaggagcgcgaggggggtcgctaccatattaatttcgtaaatagtggtcacatactatgccgactccgtgaagggccgattcaccatctcccaagacaacgctaaagaacacggtgtatctgcaaataaacgccctgaaacctgaggacactgccatgtactactgtgcgttgtcagacagattcgcgggcgaggtacctgccaggtacggaatacggccctctgactataaactactgggggtgaggggaccaggtcaccgtctcctca-3'
- [0082] HIV1-10 (서열 번호:12): 5'-gaggtgcagctggtggagtctgggggagactcggtgcaggctggagggtctcttcaactctcctgtaagcctctggatacacctacaatagtagagtcgatatcagatctatgggctggttccgccagatccaggaaaggagcgcgaggggggtcgctactattaatttcgtaaatagtggtcacatactatgccgactccgtgaagggccgattcaccatctcccaagacaacgccaagaacacggtgtatctgcaaataaacgccctgaaacctgaggacactgccatgtactactgtgcgttgtcagacagattcgcgggcgaggtacctgccaggtacggaatacggccctctgactataaactactgggggtgaggggaccaggtcaccgtctcctca-3'
- [0083] HIV1_29 (서열 번호:13): 5'-gaggtgcagctggtggagtctgggggagactcagtgaggctggagggtctcttcaactctcctgtaagcctctggatacacctacaatagtagagtcgatatcagatctatgggctggttccgccagatccaggaaaggagcgcgaggggggtcgctactattaatttcgtaaatagtggtcacatactatgccgactccgtgaagggccgattcaccatctcccaagacaacgccaagaacacggtgtatctgcaaataaacgccctgaaacctgaggacactgccatgtactactgtgcgttgtcagacagattcgcgggcgaggtacctgccaggtacggaatacggccctctgactataaactactgggggtgaggggaccaggtcaccgtctcctca-3'
- [0084] HIV1_32 (서열 번호:14): 5'-gaggtgcagctggtggagtctgggggagactcggtgcaggctggagggtctcttcaactctcctgtaagcctctggatacacctacaatagtagagtcgatatcagatctatgggctggttccgccagatccaggaaaggagcgcgaggggggtcgctactattaatttcgtaaatagtggtcacatactatgccgactccgtgaagggccgattcaccatctcccaagacaacgccaagaacacggtgtatctgcaaataaacgccctgaaacctgaggacactgccatgtactactgtgcgttgtcagacagattcgcgggcgaggtacctgccaggtacggaatacggccctctgactataaactactgggggtgaggggaccaggtcaccgtctcctca-3'
- [0085] HIV1-9 (서열 번호:15): 5'-gaggtgcagctggtggagtctgggggaggctcggtgcaggctggagggtctctgagactctcctgtgcagcctctgtttacagctacaacacaaactgcatgggttggttccgccaggctccagggaaggagcgcgaggggggtcgaggtattttatgctgctgggtggattaacatactatgccgactccgtgaagggccgattcaccatctcccaggagaatggcaagaacacggtgtacctgacgatgaaacgcctgaaacctgaggacactgccatgtactactgtgcggcaagcgatggtgtagtagctggaatcgcggtgaggagtataactactggggccaggggaccaggtcactgtctcctca-3'
- [0086] HIV1-16 (서열 번호:16): 5'-caggtgcagctggtggagtctgggggaggctcggtgcaggctggagggtctctgagactctcctgtgcagcctctggaaacacctacagtagtagctactgcatgggctggttccgccaggctccagggaaggaccgcgaggggggtcg

gcgtattttcactcgaagtggtagccatcactatgccgactccgtgaagggccgattcaccatttcccgtgacaacgccaaacacgggtgtatctgcaaat
gaacagcctgaaacctgaagacgtgccatgtactactgtcgggcagcccaggggggtgctgcatctcgtttacttcgttcgcgaagaatttcgtgtaccg
gggccaggggaccctggtagctgtctctca-3'

[0087] HIV1-13 (서열 번호:17): 5'-gagggtgcagctggtggagtctgggggagactcggatgcaggctggagggtctcttcaactctcctgtaaagcctctggatacacctacaatagttagagtcgatcagatctatgggctgggttcgccagatccaggaaaggagcgcgagggggtcgctactatataatctcgtaatagtgtcacatctatgccgactccgtgaagggccgatccaccatctcccaagacaacgccaagaacacgggtgtatctgcaaatgaacgcctgaaacctgaggacactgccatgtactactgtgcgttgtcagacagattcgcggcgcaggtacctgccaggtacggaatacggctctctgtactataactactggggtgagggggacctgggtcacctctcctca-3'

[0088] HIV1_35 (서열 번호:18): 5'-gaggtgcagctggtggagtctgggggagactcggcgaggctggagggtctcttcaactctcctgtaaagcctctggatacacctacaatagttagagtcgatcagatctatgggctggttccgccagtatccaggaaaggagcgcgagggggtcgctactatataatctcgtaatagtgtcacatctatgccgactccgtgaagggccgatcaccatctcccaagacaacgccaagaacacgggtgtatctgcaaatgaacgcctgaaacctgaggacactgccatgtactactgtgcgttgtcagacagattcgcggcgcaggtaacctgccaggtacggaatacgggtctcttgactataactactggggtgagggggacctgggtcacctctctca-3'

[0089] HIV1-11 (서열 번호:19): 5'-caggtgcagctggtggagtctgggggagactcggatgcaggctggagggtctcttcaactctcctgtaaagcctctggatacacctacaatagttagagtcgatcagatctatgggctggttccgccagatccaggaaaggagcgcgagggggtcgctactatataatctcgtaatagtgtcacatactatgccgactccgtgaagggccgatccaccatctccaagacaacgccaagaacacgggtgtatctgcaaatgaacgcctgaaacctgaggacactgccatgtactactgtgcgttgtcagacagattcgcggcgcaggtacctgccaggtacggaatacggccctcttgactataactactggggtgagggggaccaggtcactgtctctca-3'

[0090] HIV1_22 (서열 번호:20): 5'-caggtgcagctggtggagtctgggggagactcggatgcaggctggagggtctcttcaactctcctgtaaagcctctggatacacctacaatagttagtgcgatcatcagatctatgggctggttccgccagtatccaggaaaggagcgccgaggggtcgctactatataatattcgtaatagtgtcacatactatgccgactccgtgaagggccgattcaccatctcccaagacaacgccaagaacacgggtgtattctgcaaatgaacgcctgaaacctgaggacactgccatgtactactgtgcgttgtcagacagattcgcggcgcaggtaacctgccaggtacggaatacggccctctgactataactactggggtgagggggaccaggtcaccgctctctca-3'

[0091] HIV1-4 (서열 번호:21): 5'- catgtgcagctggtggagtctgggggagactcggatgcaggctggagg
gtctcttcaactctcctgtaaagcctctggatacacctacaatagtagagtcgatatcagatctatgggctggttccgccagtatccaggaaaggagcgcca
gggggtcgctactatataatattcgtaatagtggtcacatactatgccgactcgtgaagggccgattcaccatctccaagacaacccaagaacacgggtgta
tctgcaaatgaacgcctgaaacctgaggacactgccatgtactactgtgcgttgtcagacagattcgcggcgcaggtaacctgccaggtacggaatcggcc
ctctgactataactactggggtgaggggaccctggtcaccgtctcctca-3'

[0092] HIV1_38 (서열 번호:22): 5'-gaggtgcagctggtggagtctgggggagactcggtgcaggctggagg
gtctcttcaactctcctgtaaacctctggatacacctacaatagtagagtcgatatcagatctatgggctggttccgccagtatccaggaaaggagcgcca
gggggtcgctactatataatatcgtaaatagtggtcacatactatgccaaactcgtgaagggccgattcaccatctcccaagacaacccaagaacacgggtgta
tctgcaaatgaacgcctgaaacctgaggacactgccatgtactactgtgcgttgtcagacagattcgcggcgcaggtaacctgccaggtacggaatcggcc
ctctgactatgactactggggtgaggggaccctggtcaccgtctcctca-3'

[0093] HIV1_23 (서열 번호:23): 5'-gaggtgcagctggtggagtctgggggagactcggtgcaggctggagg
gtctcttcaactctcctgtaaacctctggatacacctacaatagtagagtcgatcatcagatctatgggctggttccgccagtatccaggaaaggagcgcca
gggggtcgctactatataatctcgtaatagtgtcacatactatgccgactcgtgaagggccgattcaccatctccaagacaacccaagaacacgggtgta
tctgcaaatggacgcctgaaacctgaggacactgcatgtactactgtgcgttgtcagacagattcgcggcgcaggtagctgccaggtacggaatcggcc
ctctgactataactactggggtgaggggacccagggtcaccgtctcctca-3'

[0094] HIV1_25 (서열 번호:24): 5'-gaggtgcagctggtggagtctgggggagactcggtgcaggctggagg
gtctcttcaactctcctgtaaggcctctggatacacctacaatagtagagtcgatcagatctgtgggctggttcgccagtatccaggaaaggagcgca
gggggtcgctactatataatctcgtaatagtgtcacatactatgccgactcgtgaagggccgattcaccatctccaagacaacccaagaacacgggtgta
tctgcaaatgaacgcctgaaacctgaggacactgcatgtactactgtgcgttgtcagacagattcgcggcgcaggtagctgccaggtacggaatcggcc
ctctgactataactactggggtgaggggacccagggtcaccgtctcctca-3'

[0095] 항-HIV-1 RT sdAbs의 아미노산 서열들을 하기에 나타낸다:

[0096] HIV1-1 (서열 번호:25): DVQLVESGGGSVQAGGSLRLSCAASVYSYNTNC
MGWFROAPGKEREGVAVIYAAGGLTTYADSVKGRETI SOENGKNTVYLTNMLKPEDTAMYYCAAKRWCSWNRGEEYNINWGOGTQVTVSS

- [0097] HIV1-2 (서열 번호:26): QVQLVESGGGSVQAGDSLRLSCAASGNTASRFSM
GWFRQAPGKEREGVAAISAGRLTYADSVKGRFTISRDNKNTLYLDMNNLKPEDTAMYYCAAISDRMTGIQALAALPRLRPEDYGNWGGQGLVTVSS
- [0098] HIV1-9 (서열 번호:27): EVQLVESGGGSVQAGGSLRLSCAASVYSYNTNCM
GWFRQAPGKEREGVAVIYAAGGLTYADSVKGRFTISQENGKNTVYLTMRNLKPEDTAMYYCAAKRWCSWNRGEEYNYWGQGTQVTVSS
- [0099] HIV1-16 (서열 번호:28): QVQLVESGGGSVQAGGSLRLSCAASGNTYSSSY
CMGWFRQAPGKDREGVARIFTRSGTTYADSVKGRFTISRDNKNTVYLMNSLKPEDAAMYYCAAQGGACISFTSFAKNFVYRGQGLVTVSS
- [0100] HIV1-27 (서열 번호:29): EVQLGESGGGSVQAGGSLRLSCAASVYSYTTNCM
GWFRQAPGKEREGVAVIYSAGGLTYADSVKGRFTISQDNGKNTVYLTMRNLKPEDTAMYYCAAKRWCSWNRGEEYNYWGQGTQVTVSS
- [0101] HIV1-30 (서열 번호:30): QVQLVESGGGSVQAGGSLRLSCAASVYSYNTN
CMGWFRQAPGKEREGAAVIYAAGGLTYADSVKGRFTISQENGKNTVYLTMRNLKPEDTAMYYCAAKRWCSWNRGEEYNYWGQGTQVTVSS
- [0102] HIV1-21 (서열 번호:31): EVQLVESGGDSVQAGGSLQLSCKASGYTNSR
VDIRSMGWFRQYPGKEREGVATINIRNSVTYYADSVKGRFTISQDNKNTVYLMNALKPEDTAMYYCALSDRFAAQVPARYGIRPSDYNWEGGTQVTVSS
- [0103] HIV1-4 (서열 번호:32): HVQLVESGGDSVQAGGSLQLSCKASGYTNSR
VDIRSMGWFRQYPGKEREGVATINIRNSVTYYADSVKGRFTISQDNKNTVYLMNALKPEDTAMYYCALSDRFAAQVPARYGIRPSDYNWEGGTQVTVSS
- [0104] HIV1-6 (서열 번호:33): QVQLVESGGDSVQAGGSLQLSCKASGYTNSRVD
IRSMGWFRQYPGKEREGVATINIRNSVTYYADSVKGRFTISQDNKNTVYLMNALKPEDTAMYYCALSDRFAAQVPARYGIRPSDYNWGGQGLVTVSS
- [0105] HIV1-7 (서열 번호:34): EVQLVESGGDSVQAGGSLQLSCKASGYTNSRVD
IRSMGWFRQYPGKEREGVATINIRNSVTYYADSVKGRFTISQDNKNTVYLMNALKPEDTAMYYCALSDRFAAQVPARYGIRPSDYNWGGGTQVTVSS
- [0106] HIV1-8 (서열 번호:35): QVQLVESGGDSVQAGGSLQLSCKASGYTNSRVD
IRSMGWFRQYPGKEREGVATINIRNSVTYYADSVKGRFTISQDNKNTVYLMNALKPEDTAMYYCALSDRFAAQVPARYGIRPSDYNWGGGTQVTVSS
- [0107] HIV1-11 (서열 번호:36): QVQLVESGGDSVQAGGSLQLSCKASGYTNSRVD
IRSMGWFRQYPGKEREGVATINIRNSVTYYADSVKGRFTISQDNKNTVYLMNALKPEDTAMYYCALSDRFAAQVPARYGIRPSDYNWGGGTQVTVSS
- [0108] HIV1-13 (서열 번호:37): EVQLVESGGDSVQAGGSLQLSCKASGYTNSRVD
IRSMGWFRQYPGKEREGVATINIRNSVTYYADSVKGRFTISQDNKNTVYLMNALKPEDTAMYYCALSDRFAAQVPARYGIRSSDYNWGGGTQVTVSS
- [0109] HIV1-23 (서열 번호:38): EVQLVESGGDSVQAGGSLQLSCKASGYTNSRVD
IRSMGWFRQYPGKEREGVATINIRNSVTYYADSVKGRFTISQDNKNTVYLMNALKPEDTAMYYCALSDRFAAQVPARYGIRPSDYNWGGGTQVTVSS
- [0110] HIV1-24 (서열 번호:39): HVQLVESGGDSVQAGGSLQLSCKASGYTNSRVD
IRSMGWFRQYPGKEREGVATINIRNSVTYYADSVKGRFTISQDNKNTVYLMNALKPGDTAMYYCALSDRFAAQVPARYGIRPSDYNWGGGTQVTVSS
- [0111] HIV1-25 (서열 번호:40): EVQLVESGGDSVQAGGSLQLSCKASGYTNSRVD
IRSVGWFRQYPGKEREGVATINIRNSVTYYADSVKGRFTISQDNKNTVYLMNALKPEDTAMYYCALSDRFAAQVPARYGIRPSDYNWGGGTQVTVSS
- [0112] HIV1-31 (서열 번호:41): DVQLVESGGDSVQAGGSLQLSCKASGYTNSRVD
IRSMGWFRQYPGKEREGVATINIRNSVTYYADSVKGRFTISQDNKNTVYLMNALKPEDTAMYYCALSDRFAAQVPARYGIRPSDYNWGGGTQVTVSS
- [0113] HIV1-38 (서열 번호:42): EVQLVESGGDSVQAGGSLQLSCKASGYTNSRVD
IRSMGWFRQYPGKEREGVATINIRNSVTYYANSVKGRTISRDNKNTVYLMNALKPEDTAMYYCALSDRFAAQVPARYGIRPSDYDWGGGTQVTVSS
- [0114] HIV1-39 (서열 번호:43): EVQLVESGGDSVQAGGSLQLSCKASGYTNSRVD
IRSMGWFRQYPGKEREGVATINIRNSVTYYADSVKGRFTISRDNKNTVYLMNALKPEDTAMYYCALSDRFAAQVPTRYGIRPSDYNWGGGTQVTVSS
- [0115] 하나 또는 그 이상의 마우스 단클론 항체는 본 발명의 항-HIV-1 RT sdAbs의 하나 또는 그 이상의 도메인에 대해 생성될 수 있다. 마우스 단클론 항체는 해당 기술 분야의 숙련된 기술자에게 공지된 방법에 의해 생성될 수 있는데, 예를 들면, 마우스 단클론 항체는 마우스 하이브리도마에 의해 생성될 수 있다. 마우스 단클론 항체는 진단 검사에 사용될 수 있는데, 예를 들면, 이 항체는 환자의 샘플에 존재하는 항-HIV-1 RT sdAb의 양을 측정하기 위하여 면역분석, 가령, ELISA 또는 질량 분광법 검사에서 사용될 수 있다.
- [0116] SdAbs는 또한 재조합 아라키도네이트 12-리폭시게나아제 (ALOX12)에 대해 생성되었다. ALOX12는 또한 혈소판-형 12-리폭시게나아제, 아라키도네이트 산소 12-산화환원효소, 텔타12-리폭시게나아제, 12텔타-리폭시게나아제, C-

12 리폭시게나아제, 류코트리엔 A4 합성효소, 및 LTA4 합성효소로서 공지되어 있다. ALOX12는 아라키돈산 대사에 참여하는 리폭시게나아제-형 효소이다. ALOX12는 식이-유도 및/또는 유전자-유도 당뇨병, 지방 세포/조직 기능이상, 및 비만의 발달 및 합병증의 원인이었다. ALOX12는 또한 혈관 수축, 확장, 압력, 재형성 (remodeling), 및 혈관형성을 조절하는 것으로 생각되어 왔다. ALOX12의 억제는 혈관 형성의 발달을 저해하므로 ALOX12는 죽상경화증, 지방간염, 및 다른 관절염 및 암 질병을 촉진시키는 신생혈관증식을 감소시키기 위한 표적이 된다. 상승된 양의 ALOX12는 알츠하이머 질병의 발달에 원인이 될 수 있다.

[0117] 본 발명은 ALOX12 단백질에 대해 지시되는 sdAbs, 단백질, 및 폴리펩티드를 제공한다.

[0118] 본 발명의 항-ALOX12 sdAbs 및 폴리펩티드는 ALOX12와 연관된 및/또는 ALOX12에 의해 매개된 질병 및 장애, 가령, 당뇨병, 지방 세포 기능이상, 비만, 죽상경화증, 지방간염, 관절염 및 암의 예방 및/또는 치료에 사용될 수 있는 것으로 생각된다.

[0119] 제조합 인간 ALOX12 단백질을 사용하여 ALOX12의 에피토프에 대해 지시되는 또는 ALOX12의 에피토프에 결합될 수 있는 sdAbs를 생성하였다. 항-ALOX12 sdAbs를 생성하기 위해, 제조합 인간 ALOX12를 *대장균*에서 발현시켜 표적 항원으로서 사용하였다.

[0120] 낙타의 면역화를 위해 사용된 제조합 ALOX12 단백질 서열 (서열 번호:44)은 다음과 같았다:

[0121] MGRYRIRVATGAWLFGSGSYNRVQLWLVGTRGEAELEQLRPARGEEEFDDHDAEDLGLLQFVRLRKHHWLVDDAWFCDRITVQPGACAEVAFPCYRWVQG
EDILSLPEGTARLPGDNALDMFKHREKELKDRQIYCWATWKEGLPLTIAADRKDDLPPNMRFHEEKRLDFEWTLKAGALEMALKRVTLLSSWNCLED
QIFWGQKSALAEKVRQCWQDELFSYQFLNGANPMLLRSTSLPSRLVLPSPMEELQAQLEKELQNGSLFEADFILLDGI PANVIRGEKQYLAAPLVMLKME
PNGKLQPMVIQIQQPNPSSPTPLFLPSDPPLAWLLAKSWVRNSDFQLHEIQYHLLNTHLVAEVI AVATMRCLPGLHPFKFLIPHI RYTMEINTRARTQLI
SDGGIFDKAVSTGGGGHVQLRRRAAQLTYCSLCPDDLADRGLLGLPGALYAHDALRLWEI IARYVEGIVHLFYQRDDIVKGDPELQAWCREITEVGLCQA
QDRGFVPVSFQSQSLCHFLTMCVFTCTAQHAAINQGLDWYAWVPNAPCTMRMPPTTKEDVTMATVMGSLPDVRQACLQMAISWHLRRQPDMPVPLGHHKE
KYFSGPKPKAVLNQFRTDLEKLEKEITARNEQLDWPYEYLKPSCIENSVTI

[0122] 면역화시킨 결과로, 수 개의 sdAbs를 얻어 선별하였다. sdAbs의 DNA 서열들을 하기에 나열한다:

[0123] ALOX_21 (서열 번호:45): 5'-gagggtgcagctggtggagctctgggggaggttcggtgcagg
ctggagggtctctgaggatctcctgtacagcctctggattcactttttagatgacactgacatgggctggtaccgccagactctaggaatgggtgcaggttgg
tttctcagattagtaagtgatggtagtagcattctatagagattccgtgaagggccgattcaccatctcctgggaccgcgtcaacaacacgggtgtatctgcaa
tgagcgcctgagacctgaggacacggccatgtattactgcaatatcaacgggtgtaggagaccctcgtacaatcttacttgaacgcatggggccaggggga
cacaggtcaccgtctcctca-3'

[0124] ALOX_41 (서열 번호:46): 5'-cagggtgcagctggtggagctctgggggaggttcggtgcagg
ctggagggtctctgacactgtcctgttagcctctggatcaggctacagtgccagctgcatgggctggttccgccaggtccagggaaggagcgcgagggg
tcgctgtctatttcaacttatggtgttagaaccttctatgccgactccgcgaaggccgattcaccgtctccgagacaacgccaagaacacgctgtatctgc
aatgaacagcctgaaacctgaggacacgtccgtgtactactgtgcggccggttcgggcgttggtgtttgttactttcgtatccatcacctactggggcc
aggggaccaggtcaccgtctcctca-3'

[0125] ALOX_43 (서열 번호:47): 5'-cagggtgcagctggtggagctctgggggaggttcggtgcgg
gctggagagctctctgagactctcctgttagcctctagatccatctatgtttggtactgcatgggctggttccgccaggtgcagggaaggagcgcgagggg
gtcggaagtatgttcgttggtggcggtaggacatatatgacgactccgtcaaggccgattcaccatctcccaagacaaggccaagaacacgctgtatctg
caaatggacaacctggcactgaagacactgccatgtattactgtgcggctgggctgctgggtggcaactggctgagaagcaatgctttcgacaatggggc
caggggacactggtcaccgtctcctca-3'

[0126] ALOX_46 (서열 번호:48): 5'-gatgtgcagctggtggagctctgggggaggttcggtgcagg
ctggagggtctctgagactctcctgtgcagccactggaaacacctacattagccgctgcatgggctggttccgccagcctccagggaaggagcgcgaggtgg
tcgcagctatttataccgactctggttaatacatactatcccagcggctggaggccgattcaccatctcccaagacaacgccaagaacacgatatctgc
aatgaacagcctgaaacctgacgacacggcgtgtactactgtgtgtctcagaggccgtctgtacaaaagaacctggggactttcgttactggggccagg
ggaccaggtcactgtctcctca-3'

[0127] 생성된 항-ALOX sdAbs의 단백질 서열들은 다음과 같다:

[0128] ALOX_21 (서열 번호:49): EVQLVESGGGSVQAGGSLRISCTAS
GFTFDDTDMGWYRQTLGNGCELVSQISNDGSTFYRDSVKGRFTISWDRVNNVTYVQLQMSALRPEDTAMYYCNINGCRPPSYNLHLNAWQGQTQVTVSS

- [0129] ALOX_41 (서열 번호:50): QVQLVESGGGSVQAGGSLTLSCVAS
GYGYSATCMGWFRQAPGKEREGVASISPYGVRTFYADSAGKGRFTVSRDANKNTLYLQMNLSKPEDTSVYYCAAGSGVGVCSLSYPITYWGQGTQVTVSS
- [0130] ALOX_43 (서열 번호:51): QVQLVESGGGSVRAGESLRLSCVAS
RSIYVWYCMGWFRQAAGKEREGVGSIMFVGGRITYDDSVKGRFTISQDKAKNTLYLQMDNLAPEDTAMYYCAAGRCGGNWLRSNAFDKWGQGTQVTVSS
- [0131] ALOX_46 (서열 번호:52): DVQLVESGGGSVQAGGSLRLSCAAT
GNTYISRCMGWFRQPPGKEREVVARIYTDSGNTYYPDAVEGRFTISQDNANKNTLYLQMNLSKPDDTAVYYCVLSEAVCTKEPGDFRYWGQGTQVTVSS
- [0132] 본 발명의 항-ALOX12 sdAbs의 하나 또는 그 이상의 도메인들에 대해 하나 또는 그 이상의 마우스 단클론 항체가 생성될 수 있다. 마우스 단클론 항체는 해당 기술 분야의 숙련된 기술자에게 공지된 방법에 의해 생성될 수 있는데, 예를 들면, 마우스 단클론 항체는 마우스 하이브리도마에 의해 생성될 수 있다. 마우스 단클론 항체는 진단 검사에 사용될 수 있는데, 예를 들면, 이 항체는 환자의 샘플에 존재하는 항-ALOX12 sdAb의 양을 측정하기 위하여 면역분석, 가령, ELISA 또는 질량 분광법 검사에서 사용될 수 있다.
- [0133] 에볼라 바이러스 질병 (EVD) 및 에볼라 출혈열 (EHF)로도 공지되어 있는 에볼라는, 에볼라바이러스에 의해 유발되는 인감 및 다른 영양류의 바이러스 출혈열이다. 이 질병은 감염된 인간들의 25 내지 90 퍼센트를 증상이 나타난 후 6 내지 16일에 사망시키는 높은 사망위험을 가진다.
- [0134] 에볼라는 감염된 개체의 선천성 면역계의 적절한 기능을 방해한다. 에볼라 단백질은 인터페론 단백질, 가령, 인터페론-알파, 인터페론-베타, 및 인터페론 감마에 대한 반응을 생성하는 세포의 능력을 방해함으로써 바이러스 감염에 대한 면역계의 반응을 약화시켰다. 에볼라의 구조 단백질, VP24 및 VP35는, 이러한 방해에 중요한 역할을 한다. VP24 단백질은 숙주 세포의 항바이러스 단백질의 생성을 차단한다. 숙주의 면역 반응을 억제함으로써, 에볼라는 신체 전체에 빠르게 확산된다.
- [0135] 본 출원에 기재된 바와 같이, 항-VP24 sdAbs는 에볼라 VP24 단백질을 표적하기 위해 개발되었다. 항-VP24 sdAb는 단독으로 또는 다른 레트로바이러스 체제들과의 조합되어 에볼라로 감염된 개체들을 성공적으로 치료할 수 있다. 해당 분야에 널리 공지된 방법들을 사용하여, VP24의 에피토프에 대해 지시되는 또는 이에 결합할 수 있는 sdAbs를 생성하기 위해 재조합 VP24 단백질 (서열 번호:53)을 사용하였다.
- [0136] 낙타의 면역화를 위해 사용된 재조합 VP24 단백질의 단백질 서열 (서열 번호:53)은 다음과 같았다:
- [0137] AKATGRYNLISPKKDLEKGVVLSDLNCLVLSQTIQGWKVYWAGIEFDVTHKGMALLHRLKTNDFAWWSMTRNLFPHLFQNPNSTIESPLWALRVILAAGIQ
DQLIDQSLIEPLAGALGLISDWLLTNTNHNFMRTQRVKEQLSLKMLSLIRSNILKFINKLDALHVVNYNGLSSIEI ILEFNSSLAII
- [0138] 면역화시킨 결과, 하나의 항-VP24 sdAb인, VP24_5를 얻었으며 VP24에 대한 결합에 관해 선별하였다. VP24_5의 DNA 서열 (서열 번호: 54)은 다음과 같다:
- [0139] 5'- ATGGGTGAT GTGCAGCTGGTGGAGTCT GGGGAGAC TCGGTGCGG GCTGGAGGG TCTCTCAAATGGGTGAT GTGCAGCTG GTGGAGTCT
GGGGAGAC TCGGTGCGGGCTGGAGGGTCTCTCAA CTCTCCTGT AAAGCCTCT GGATACACC TACAATAGTAGAGTCGATATCAGATCT
ATGGGCTGG TTCCGCCAG TATCCAGGA AAGGAGCGGAGGGGTCGCTACTATT AATATTCGT AATAGTGTC ACATACTAT
GCCGACTCCGTGAAGGGCCGATTACAC ATCTCCCAA GACAACGCC AAGAACACG GTGTATCTGCAAATGAACGCCCTGAAA CCTGAGGAC
ACTGCCATG TACTACTGT GCGTGTGACAGACATTGCGGCGCAG GTACCTGCC AGGTACGGA ATACGGCCC TCTGACTAT AACTACTGG
GGTGAGGGG ACCCTGGTC ACCGTCTCC TCAAGCTCT GGTCTCGAG-3'
- [0140] VP24_5 sdAb의 아미노산 서열 (서열 번호:55)을 CDR에 밀줄표시하여, 하기에 나타낸다:
- [0141] MGDVQLVESGGDSVRAGGSLQLSCKASGYTYSRVDIRSMGWFRQYPGKEREGVATINIRNSVTYYADSVKGRFTISQDNANKNTVYLQMNALKPEDTAMYYC
ALSDRFAAQVPARYGIRPSDYNWGEGLTVTVSSSSGLE
- [0142] 본 발명의 항-VP24 sdAb의 하나 또는 그 이상의 도메인들에 대해 하나 또는 그 이상의 마우스 단클론 항체가 생성될 수 있다. 마우스 단클론 항체는 해당 기술 분야의 숙련된 기술자에게 공지된 방법에 의해 생성될 수 있는데, 예를 들면, 마우스 단클론 항체는 마우스 하이브리도마에 의해 생성될 수 있다. 마우스 단클론 항체는 진단 검사에 사용될 수 있는데, 예를 들면, 이 항체는 환자의 샘플에 존재하는 항-VP24 sdAb의 양을 측정하기 위하여 면역분석, 가령, ELISA 또는 질량 분광법 검사에서 사용될 수 있다.
- [0143] 실시예
- [0144] 실시예 1: SDABS의 생성

[0145] SdAbs는 ALOX12 (서열 번호:44), VP24 (서열 번호:53), 및 HIV-1 역전사효소 (서열 번호:1)를 비롯한 여러 단백질로 면역화된 낙타로부터 생성되었다.

[0146] 표준 기법들을 사용하여, pCDisplay-3M 벡터 (Creative Biogene, Shirley, NY) 및 M13K07 헬퍼 파지 (New England Biolabs, Ipswich, MA)로 파지 디스플레이 라이브러리를 작제하였다. sdAbs의 단일 클론을 ELISA로 확인하고, 표준 방법들을 사용하여 DNA 및 단백질 서열들을 결정하였다.

[0147] 실시예 2: HIV1-9 (서열 번호:27) SDAB는 HIV-1 역전사효소 및 에볼라 VP-24에 결합한다

[0148] 25° ° C의 Biacore 3000 (General Electric Company, Fairfield, CT)에서 단백질 결합 실험들을 수행하였다. 검사 완충액은 10 mM HEPES 완충액 (pH 7.4), 150 mM NaCl, 3mM EDTA, 0.05% P20을 함유하였다. 재생 완충액은 10mM 글리신 HCl pH 1.75를 함유하였으며, 고정 완충액은 10 mM 소듐 아세테이트, pH 5.0를 함유하였다. 리간드를 포획함에 사용된 유속은 5ul/분이었다. 동역학 분석에 사용된 유속은 30 ul/분이었다.

[0149] 단백질 결합 실험에 사용된 리간드는 HIV1-9 (서열 번호:27) 및 STAT3-VHH 14 (서열 번호:56) 이었다. 이 리간드들은 CM5 센서 칩의 유세포 2 및 4 상에서 각각 1200 및 550의 반응 단위 (RU)로 아민 커플링 (EDC/NHS)에 의해 직접 고정화되었다. 유세포 1은 공백으로 두어 바탕 차감에 사용하였다. CM5 칩 상에서 비어있는 부위들은 1M 에탄올 아민으로 차단되었다. 결합 분석을 위해, 피분석물인, rHIV-1 (서열 번호:1)을 센서 칩 위로 흘려가게 하였다. 리간드에 대한 피분석물의 결합을 실시간으로 모니터링하였다. 표 1에서 보는 바와 같이, 관찰된 결합 속도 (ka) 및 해리 속도 (kd)로부터 친화성 상수 ($K_D = kd/ka$)를 계산하였다 .

[0150] 단백질 결합 실험들에 대한 음성 대조군은 항-STAT3 sdAb, VHH14 (서열 번호:56)였다:
 QVQLVESGGGSVQAGGSLRLSCVASTYTGCMGWFRQ
 APGKEREGVAALSSRGFAGHYTDSVKGRFSISRQYVKNVYLMNTVKPEDAAMYCAAREGWECGETWLDRTAGGHTYWGQGLTVTVSS

[0151] 실제 센서그램 과 BIAanalysis 소프트웨어로부터 생성된 센서그램 간에 카이 제곱 (χ^2) 분석을 실시하여 분석의 정확성을 결정하였다. 1- 2에 속하는 χ^2 값은 정확한 것으로 고려되고 1 미만은 매우 정확한 것으로 고려된다.

표 1

리간드	피분석물	ka (1/Ms)	kd(1/s)	R 최대	KD (M)	농도 (nM)	카이 제곱
HIV1-9 VHH	rHIV-1	8.91x10 ⁴	3.79x10 ⁻⁴	71.3	4.25x10 ⁻⁹	100	0.0321
STAT3 VHH14	rHIV-1	해당없음	해당없음	해당없음	해당없음	100	해당없음

[0152]

[0153] 최고 피분석물 농도를 2배 연속 희석하여 표 2에 나타난 피분석물 농도에서 완전한 동역학 분석을 수행하였다. HIV1-9 항-RT sdAb는 HIV-1 및 에볼라 VP24 피분석물 모두에 결합하였다.

표 2

리간드	피분석물	ka (1/Ms)	kd(1/s)	R 최대	KD (M)	농도 (nM)	카이 제곱
HIV1-9 VHH (1200 RU)	rHIV-1	1.90x10 ⁵	7.31x10 ⁻⁴	126	3.85x10 ⁻⁹	0-200	0.226
STAT3 VHH14 (550 RU)	rHIV-1	해당없음	해당없음	해당없음	해당없음	0-200	NA
HIV1-9 VHH (1200 RU)	VP-24	4.38x10 ²	1.66x10 ⁻⁴	1190	3.79x10 ⁻⁷	0-200	0.199

[0154]

[0155] 실시예 3: HIV1-9 (서열 번호:27) SDAB는 ELISA에서 HIV-1 역전사효소에 결합한다

[0156] HIV1-9 항-HIV-1 RT sdAb (서열 번호:27)에 관한 2가지 상이한 샘플들을 ELISA에서 코팅 항원, 2° 항체 및 HRP 농도의 체커보드에 대해 1 µg/mL에서 평가하였다. 코팅 항원은 각 웰 당 0.5, 0.025 및 0.125 µg/mL의 재조합 HIV-1 RT (Creative BioMart) (서열 번호:1)였다. 2차 항체는 1:5,000, 및 1:10,000로 희석시켜 비오틴화 된 토끼 항-라마의 것이었으며, HRP는 1:25,000 및 1:50,000로 희석시켰다. 여러 농도들에 있어서 신호-대-잡음 비 >20로 나타났다. ELISA 결과를 도 1 및 2에 나타낸다.

[0157] HIV1-9 항-HIV-1 RT sdAb (서열 번호:27)의 연속 희석 (1 µg/mL 내지 0.0001 µg/mL)을 평가하기 위해 3가지 조합이 선택되었다.

코팅 항원	2° 항체	HRP
0.5 µg/mL	1:10,000	1:25,000
0.5 µg/mL	1:5,000	1:50,000
0.5 µg/mL	1:10,000	1:50,000

[0158]

[0159] 결과를 도 3 및 4에 나타낸다. 사용된 2가지 HIV1-9 항-HIV-1 RT sdAb (서열 번호:27) 제제들은 매우 유사한 결과들을 가진다. 0.5 µg/mL 코팅, 1:5,000 희석의 2° 항체 및 1:50,000 희석의 HRP에 관한 결과는 HIV1-9 항-HIV-1 RT sdAb (서열 번호:27)의 HIV1 RT (서열 번호:1)에 대한 결합을 보여주었으며 신호-대-잡음 비가 가장 높고 공백값은 약간 낮았다.

[0160] 실시예 4: VP24-5 (서열 번호:55) SDAB는 VP24에 결합한다

[0161] 실시예 2에 기재된 바와 같이 단백질 결합 실험을 수행하였다. 단백질 결합에 사용된 리간드는 VP24-5 (서열 번호:55) 및 STAT3-VHH 14 (서열 번호:56)였다. 이 리간드들은 CM5 센서 칩의 유세포 2 및 4 상에서 각각 427 및 550의 반응 단위 (RU)로 아민 커플링 (EDC/NHS)에 의해 직접 고정화되었다. 유세포 1은 공백으로 두어 바탕 차감에 사용하였다. CM5 칩 상에서 비어있는 부위들은 1M 에탄올 아민으로 차단되었다. 결합 분석을 위해, 피분석물인, VP24 (서열 번호:53)를 센서 칩 위로 흘려가게 하고 실시간으로 모니터링하였다. 표 3에서 보는 바와 같이, 관찰된 결합 속도 (ka) 및 해리 속도 (kd)로부터 친화성 상수 ($K_D = kd/ka$)를 계산하였다.

표 3

리간드	피분석물	ka (1/Ms)	kd(1/s)	R 최대	KD (M)	농도 (nM)	카이 ²
VP24-5-VHH	VP-24	1.39x10 ⁵	8.77x10 ⁻⁴	6.84	6.31x10 ⁻⁹	100	0.0481
STAT3 VHH14	VP-24	해당없음	해당없음	해당없음	해당없음	100	해당없음

[0162]

[0163] 표 4에 나타낸 바와 같이, 최고 피분석물 농도를 2배 연속 희석하여 상이한 피분석물 농도에서 완전한 동역학 분석을 수행하였다.

표 4

리간드	피분석물	ka (1/Ms)	kd(1/s)	R 최대	KD (M)	농도 (nM)	카이 ²
VP24-5-VHH	VP-24	1.61x10 ³	4.73x10 ⁻⁵	222	2.94x10 ⁻⁸	0-200	0.187
STAT3 VHH14 (550 RU)	VP-24	해당없음	해당없음	해당없음	해당없음	0-200	해당없음

[0164]

[0165] 실시예 5: VP24-5 (서열 번호:55) SDAB는 ELISA에서 에볼라 VP24 표적에 결합한다

[0166] VP24-5 항-에볼라 VP24 sdAb (서열 번호:55)에 관한 2가지 상이한 샘플들을 ELISA에서 코팅 항원, 2° 항체 및 HRP 농도의 체커보드에 대해 1 µg/mL에서 평가하였다. 코팅 항원은 각 웰 당 0.5, 0.025 및 0.125 µg/mL의 재조합 에볼라 VP24 (Creative BioMart) (서열 번호:53)였다. 2차 항체는 1:5,000, 및 1:10,000로 희석시켜 비

오티닐화된 토끼 항-라마의 것이었다. HRP는 1:10,000 및 1:25,000로 희석하여 사용되었다. ELISA 결과를 도 5 및 6에 나타낸다. 신호-대-잡음 비는 낮았으며 보다 높은 농도로 분석을 반복하였다.

[0167] ELISA를 1 및 0.5 $\mu\text{g/mL}$ VP24-5 항-에볼라 VP24 sdAb (서열 번호:55)로 반복하였다. 각 웰 당 0.5 또는 1 $\mu\text{g/mL}$ 의 재조합 VP24 (서열 번호:53)를 사용하였다. 2차 항체는 1:1,000, 1:4,000, 1:10,000, 및 1:10,000로 희석시켜 비오티닐화된 토끼 항-라마의 것이었다. HRP는 1:25,000 및 1:50,000로 희석하여 사용되었다. ELISA 결과를 도 7 및 8에 나타낸다.

[0168] VP24-5 항-에볼라 VP24 sdAb (서열 번호:55)의 연속 희석 (1 $\mu\text{g/mL}$ 내지 0.0001 $\mu\text{g/mL}$)을 평가하기 위해 3가지 조합이 선택되었다.

코팅 항원	2° 항체	HRP
0.5 $\mu\text{g/mL}$	1:1,000	1:1,000
0.5 $\mu\text{g/mL}$	1:10,000	1:25,000
1 $\mu\text{g/mL}$	1:4,000	1:25,000

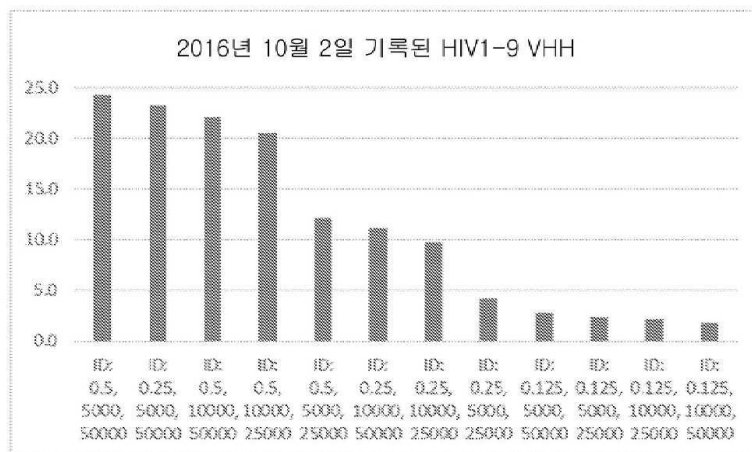
[0169]

[0170] 결과를 도 9 및 10에 나타낸다. 사용된 2개의 VP24-5 항-에볼라 VP24 sdAb (서열 번호:55) 제제들은 매우 유사한 결과를 가지며, VP24-5 항-에볼라 VP24 sdAb (서열 번호:55)의 재조합 VP24 (서열 번호:53)에 대한 결합을 보여준다.

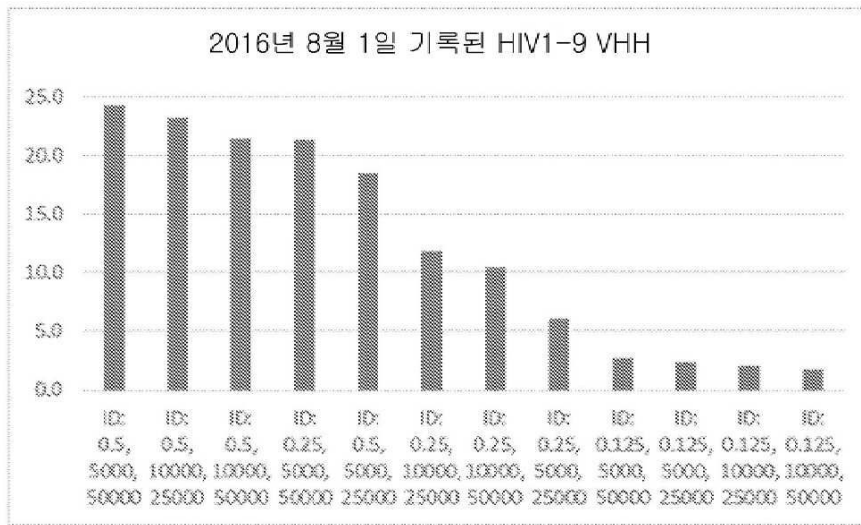
[0171] 본 발명을 바람직한 특정 구체예들과 관련하여 상당히 상세하게 기재하였으나, 다른 구체예들이 가능할 수 있다. 예를 들면, 본 발명의 방법들에 관하여 개시된 단계들은, 각 단계가 상기 방법에 필수적임을 나타내고자 하는 것이 아니라 대신 단지 예시적인 단계임을 나타내는 것이다. 그러므로 첨부된 청구범위는 본 출원에 포함된 바람직한 구체예들의 설명에 제한되어서는 안된다. 본 출원에서 인용된 모든 문헌들은 그 전체가 참고로 포함된다.

도면

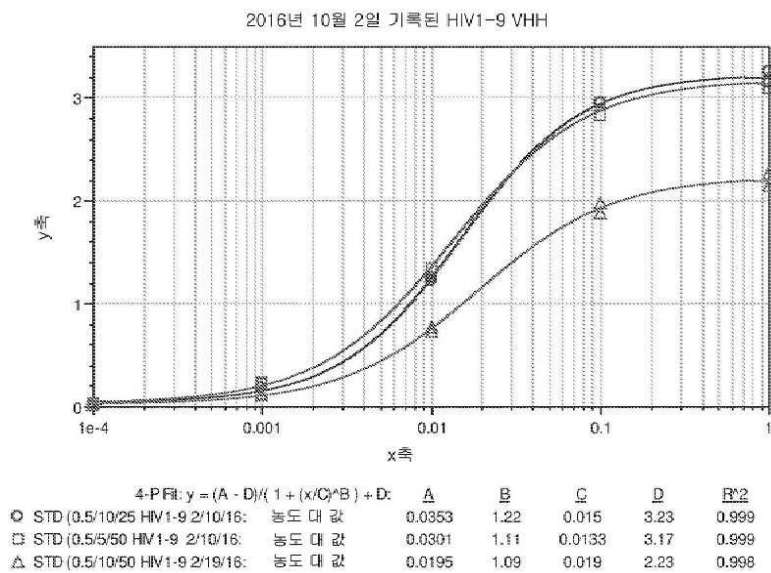
도면1



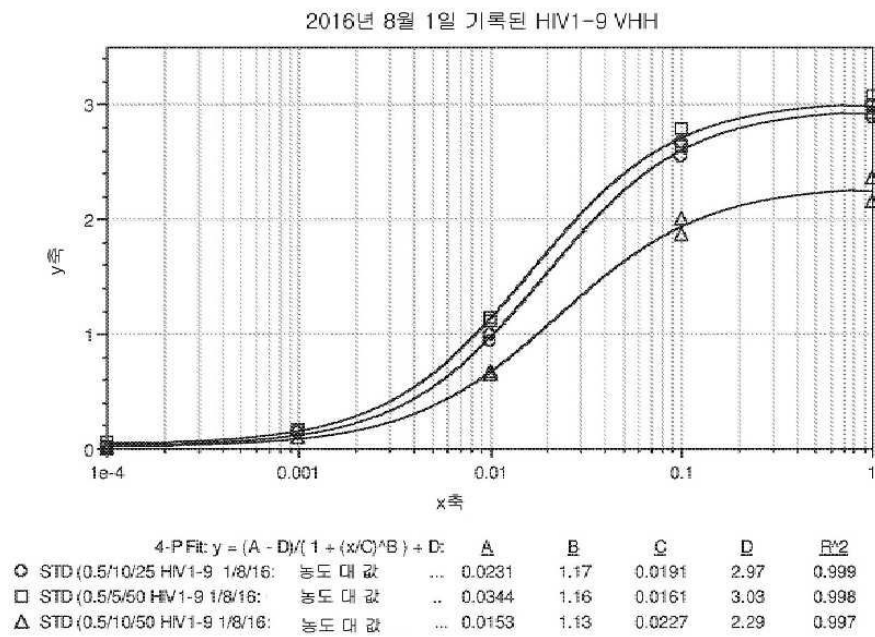
도면2



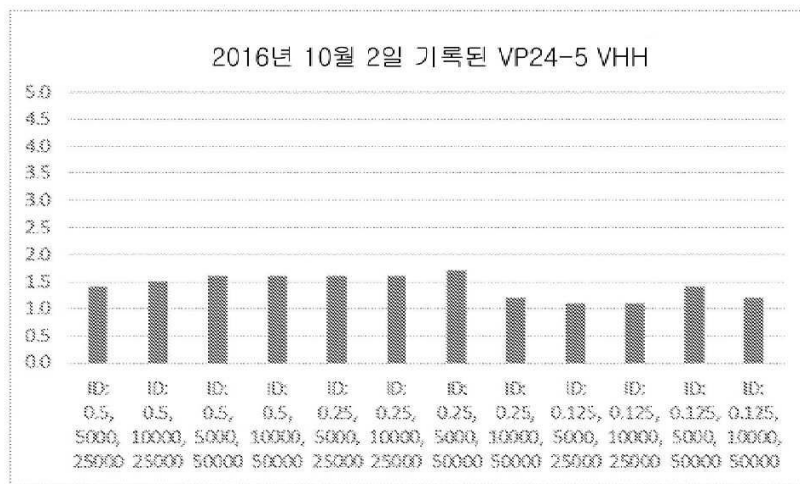
도면3



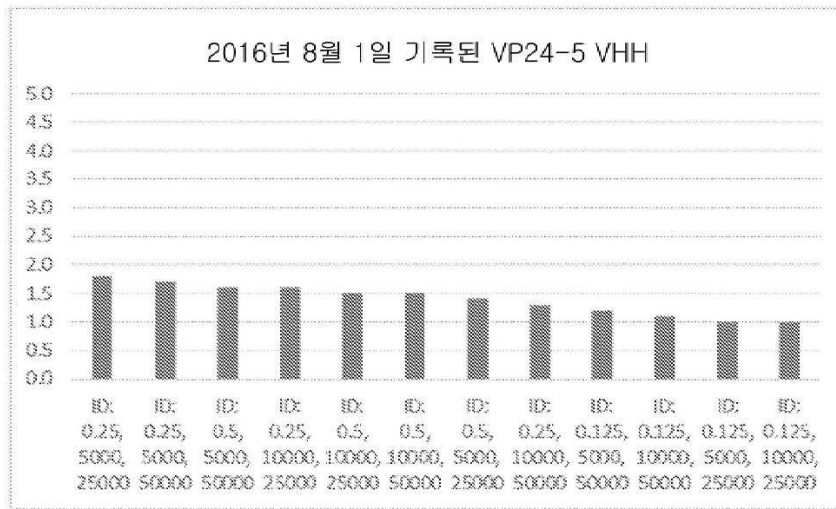
도면4



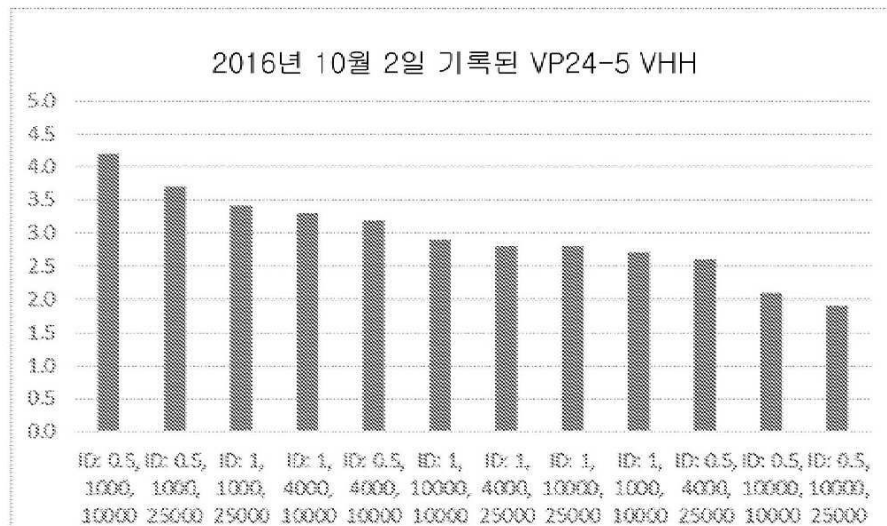
도면5



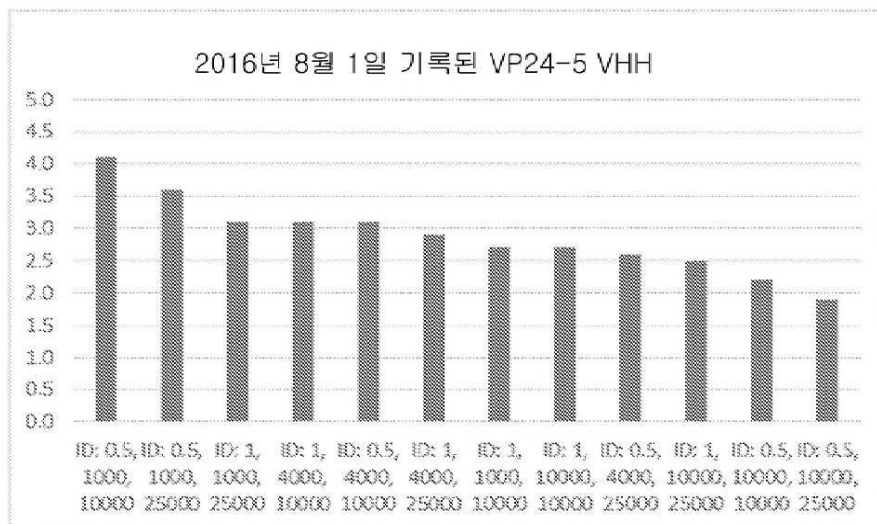
도면6



도면7

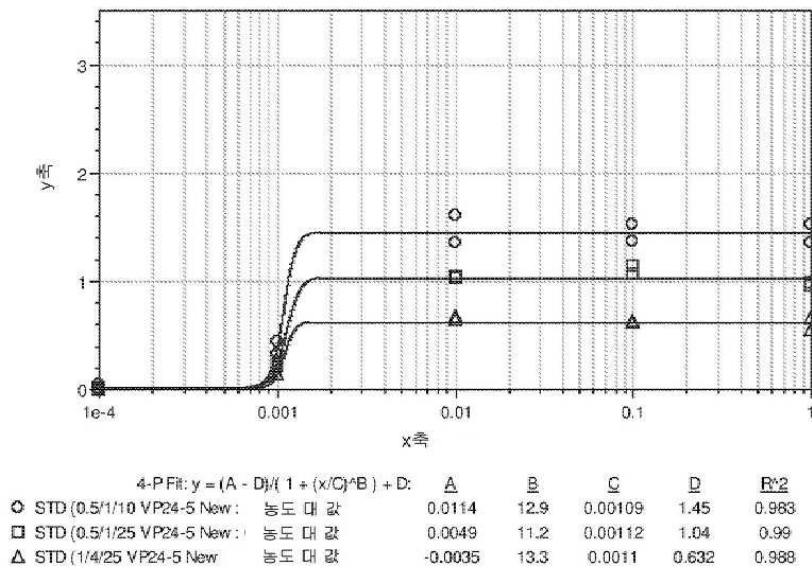


도면8



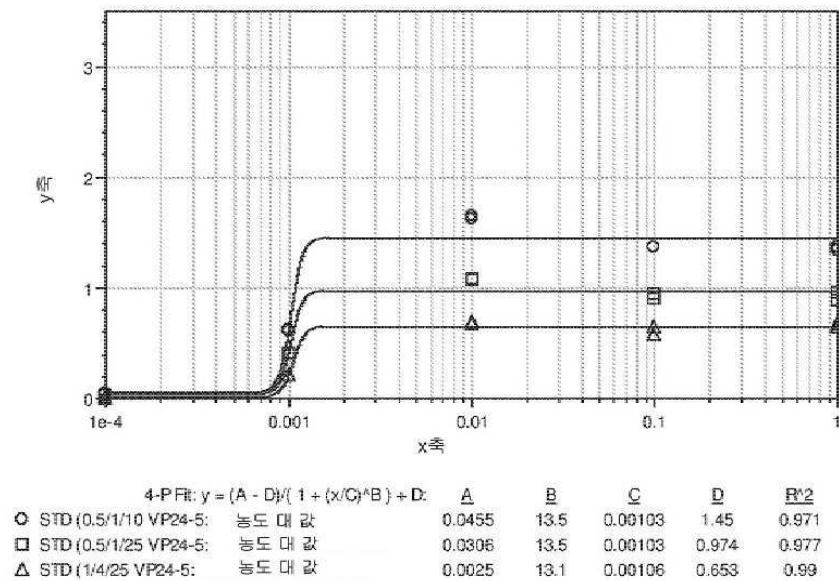
도면9

2016년 10월 2일 기록된 VP24-5 VHH



도면10

2016년 8월 1일 기록된 VP24-5 VHH



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> Singh Biotechnology, LLC

<120> SINGLE DOMAIN ANTIBODIES

<130> 7304-51293-9PCT

<150> US 62/249,868

<151> 2015-11-02

<160> 56

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 259

<212> PRT

<213> Human immunodeficiency virus type 1

<400> 1

Pro Ile Ser Pro Ile Glu Thr Val Pro Val Lys Leu Lys Pro Gly Met

1 5 10 15

Asp Gly Pro Lys Val Lys Gln Trp Pro Leu Thr Glu Glu Lys Ile Lys

20 25 30

Ala Leu Val Glu Ile Cys Ala Glu Leu Glu Glu Gly Lys Ile Ser

35 40 45

Arg Ile Gly Pro Glu Asn Pro Tyr Asn Thr Pro Val Phe Ala Ile Lys

50 55 60

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

65 70 75 80

Asn Lys Arg Thr Gln Asp Phe Trp Glu Val Gln Leu Gly Ile Pro His

85 90 95

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

100 105 110

Asp Ala Tyr Phe Ser Ile Pro Leu Asp Glu Asp Phe Arg Lys Tyr Thr

115 120 125

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

130 135 140

Gln Tyr Asn Val Leu Pro Gln Gly Trp Lys Gly Ser Pro Ala Ile Phe

145 150 155 160

Gln Ser Ser Met Thr Lys Ile Leu Glu Pro Phe Arg Lys Gln Asn Pro

165 170 175

Asp Ile Val Ile Tyr Gln Tyr Val Asp Asp Leu Tyr Val Gly Ser Asp

180 185 190

Leu Glu Ile Gly Gln His Arg Thr Lys Val Glu Glu Leu Arg Gln His

195

200

205

Leu Trp Arg Trp Gly Phe Tyr Thr Pro Asp Lys Lys His Gln Lys Glu

210

215

220

Pro Pro Phe Leu Trp Met Gly Tyr Glu Leu His Pro Asp Lys Trp Thr

225

230

235

240

Val Gln Pro Ile Val Leu Pro Glu Lys Asp Ser Trp Thr Val Asn Asp

245

250

255

Ile Gln Lys

<210> 2

<211> 372

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Camelid

<400> 2

gatgtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc tcggtgcagg ctggagggtc tctgagactc 60

tcctgtgcag cctctgttta cagctacaac acaaactgca tgggttggtt cgcgcaggct 120

ccagggaagg agcgcgaggg ggtcgcagtt atttatgctg ctggtggatt aacatactat 180

gccgactccg tgaagggccg attcaccatc tcccaggaga atggcaagaa tacggtgtac 240

ctgacgatga accgcctgaa acctgaggac actgccatgt actactgtgc ggcaaagcga 300

tgggttagta gctggaatcg cggtaggag tataactact ggggccaggg gaccaggtc 360

accgtctcct ca 372

<210> 3

<211> 399

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Camelid

<400> 3

caggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc tcggtgcagg ctggagactc tctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggaaa cactgccagt aggttctcca tgggttggtt cgcgcaggct 120

ccagggaagg agcgcgaggg ggtcgcggct atttctgctg gtggtaggct tacatactat 180

gccgactccg tgaagggccg attcaccatc tcccagaca acgccaagaa cacgctgtat 240
ctggacatga acaacctgaa acctgaggac actgccatgt actactgtgc cgcaattagt 300
gaccggatga ctggtattca ggctcttgcg gctctacca gacttcgccc agaagactac 360
ggtaactggg gccaggggac cctggtcacc gtctcctca 399

<210> 4

<211> 402

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Camelid

<400> 4

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggagac tcggtgcagg ctggagggtc tcttcaactc 60
tcctgtaaag cctctggata cacctacaat agtagagtcg atatcagatc tatgggctgg 120
ttccgccagt atccaggaaa ggagcgcgag ggggtcgcta ctattaatat tcgtaatagt 180
gtcacatact atgccgactc cgtgaagggc cgattcacca tctccaaga caacgccaag 240
aacacggtgt atctgcaaat gaacgccctg aaacctgagg aactgccat gtactactgt 300
gcgttgtcag acagattcgc ggcgcaggta cctgccaggt acggaatacg gcctctgac 360

tataactact ggggtgaggg gacctggtc accgtctcct ca 402

<210> 5

<211> 402

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Camelid

<400> 5

caggtgcagc tgggtggagtc tgggggagac tcggtgcagg ctggagggtc tcttcaactc 60
tcctgtaaag cctctggata cacctacaat agtagagtcg atatcagatc tatgggctgg 120
ttccgccagt atccaggaaa ggagcgcgag ggggtcgcta ctattaatat tcgtaatagt 180
gtcacatact atgccgactc cgtgaagggc cgattcacca tctccaaga caacgccaag 240
aacacggtgt atctgcaaat gaacgccctg aaacctgagg aactgccat gtactactgt 300
gcgttgtcag acagattcgc ggcgcaggta cctgccaggt acggaatacg gcctctgac 360
tataactact ggggccaggg gaccaggtc accgtctcct ca 402

<210> 6

<211> 402

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Camelid

<400> 6

caggtgcagc tgggtggagtc tgggggagac tcggtgcagg ctggagggtc tcttcaactc	60
tcctgtaaag cctctggata cacctacaat agtagagtcg atatcagatc tatgggctgg	120
ttccgccaat atccaggaaa ggagcgcgag ggggtcgcta ctattaatat tcgtaatagt	180
gtcacatact atgccgactc cgtgaagggc cgattcacca tctccaaga caacccaag	240

aacacggtgt atctgcaaat gaacccctg aaacctgagg aactgccat gtactactgt	300
gcgttgtcag acagattcgc ggcgcaggta cctgccagg acggaatacg gcctctgac	360
tataactact ggggccagg gaccctgttc accgtctcct ca	402

<210> 7

<211> 401

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Camelid

<400> 7

aggtgcagct ggtggagtct gggggagact cgggtgcaggc tggagggtct cttcaactct	60
cctgtaaagc ctctggatac acctacaata gtagagtcga tatcagatct atgggctggt	120
tccgccagta tccaggaaa gagcgcgagg gggtcgctac tattaatatt cgtaatagt	180

tcacatacta tgccgactcc gtgaagggcc gattcacat ctccaagac aacgccaaga	240
acacggtgta tctgcaaatg aacgccctga aaacctgagga cactgccatg tactactgtg	300
cgttgtcaga cagattcgcg gcgcaggtag ctgccaggta cggaatacgg ccctctgact	360
ataactactg gggccagggg accctgggtca ccgtctctc a	401

<210> 8

<211> 402

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Camelid

<400> 8

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggagac tcggtgcagg ctggagggtc tcttcaactc	60
tcctgtaaag cctctggata cacctacaat agtagagtcg atatcagatc tatgggctgg	120

ttccgccagt atccaggaag ggagcgcgag ggggtcgcta ctattaatat tcgtaaatagt 180
gtcacatact atgccgactc cgtgaagggc cgattcacca tctccaaga caacccaag 240
aacacggtgt atctgcaaat gaacgccctg aaacctgagg aactgcat gtactactgt 300
gcgttgcag acagattcgc ggccgaggta cctgccagg acggaatacg gccctctgac 360
tataactact ggggtgagg gaccaggct accgtctcct ca 402

<210> 9

<211> 402

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Camelid

<400> 9

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggagac tcggtgcagg ctggagggtc tcttcaactc 60

tcctgtaaag cctctggata cacctacaat agtagagtcg atatcagatc tatgggctgg 120
ttccgccagt atccaggaag ggagcgcgag ggggtcgcta ctattaatat tcgtaaatagt 180
gtcacatact atgccgactc cgtgaagggc cgattcacca tctccaaga caacccaag 240
aacacggtgt atctgcaaat gaacgccctg aaacctgagg aactgcat gtactactgt 300
gcgttgcag acagattcgc ggccgaggta cctgccagg acggaatacg gccctctgac 360
tataactact ggggtgagg gaccaggct accgtctcct ca 402

<210> 10

<211> 402

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Camelid

<400> 10

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggagac tcggtgcagg ctggagggtc tcttcaactc 60
tcctgtaaag cctctggata cacctacaat agtagagtcg atatcagatc tatgggctgg 120
ttccgccagt atccaggaag ggagcgcgag ggggtcgcta ctattaatat tcgtaaatagt 180
gtcacatact atgccgactc cgtgaagggc cgattcacca tctccaaga caacccaag 240
aacacggtgt atctgcaaat gaacgccctg aaacctgagg aactgcat gtactactgt 300
gcgttgcag acagattcgc ggccgaggta cctgccagg acggaatacg gccctctgac 360
tataactact ggggtgagg gaccaggct actgtctcct ca 402

<210> 11

<211> 402

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Camelid

<400> 11

```
gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggagac tcggtgcagg ctggagggtc tcttcaactc      60
tcctgtaaag cctctggata cacctacaat agtagagtcg atatcagatc tatgggctgg      120
ttccgccagt atccaggaaa ggagcgcgag ggggtcgcta ccattaatat tcgtaaatagt      180
gtcacatact atgccgactc cgtgaagggc cgattcacca tctccaaga caacgctaag      240
aacacggtgt atctgcaaat gaacgccctg aaacctgagg aactgccat gtactactgt      300
gcgttgtcag acagattcgc ggcgaggta cctgccaggt acggaatacg gccctctgac      360
```

```
tataactact ggggtgaggg gaccaggtc accgtctcct ca      402
```

<210> 12

<211> 402

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Camelid

<400> 12

```
gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggagac tcggtgcagg ctggagggtc tcttcaactc      60
tcctgtaaag cctctggata cacctacaat agtagagtcg atatcagatc tatgggctgg      120
ttccgccagt atccaggaaa ggagcgcgag ggggtcgcta ctattaatat tcgtaaatagt      180
gtcacatact atgccgactc cgtgaagggc cgattcacca tctccaaga caacgccaag      240
aacacggtgt atctgcaaat gaacgccctg aaacctgagg aactgccat gtactactgt      300
```

```
gcgttgtcag acagattcgc agcgaggta cctgccaggt acggaatacg gccctctgac      360
```

```
tataactact ggggtgaggg gaccaggtc accgtctcct ca      402
```

<210> 13

<211> 402

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Camelid

<400> 13

```
gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggagac tcagtgcagg ctggagggtc tcttcaactc      60
tcctgtaaag cctctggata cacctacaat agtagagtcg atatcagatc tatgggctgg      120
```

ttccgccagt atccaggaag ggagcgcgag ggggtcgcta ctattaatat tcgtaaatagt 180
gtcacatact atgccgactc cgtgaagggc cgattcacca tctccaaga caacccaag 240

aacacgggtgt atctgcaaat gaacgccctg aaacctgagg aactgcat gtactactgt 300
gcgttgtcag acagattcgc ggccgaggta cctgccagggt acggaatacg gccctctgac 360
tataactact ggggtgaggg gaccaggtc accgtctcct ca 402

<210> 14
<211> 402
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Camelid
<400> 14

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggagac tcggtgcagg ctggagggtc tcttcaactc 60
tcctgtaaag cctctggata cacctacaat agtagagtcg atatcagatc tatgggctgg 120
ttccgccagt atccaggaag ggagcgcgag ggggtcgcta ctattaatat tcgtaaatagt 180

gtcacatact atgccgactc cgtgaagggc cgattcacca tctccaaga caacccaag 240
aacacgggtgt atctgcaaat gaacgccctg aaacctgagg aactgcat gtactactgt 300
gcgttgtcag acagattcgc ggccgaggta cctgccagggt acggaatacg gccctctgac 360
tataactact ggggtgaggg gaccaggtc accgtctcct ca 402

<210> 15
<211> 372
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Camelid
<400> 15

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc tcggtgcagg ctggagggtc tctgagactc 60
tcctgtgcag cctctgttta cagctacaac acaaaactga tgggttggtt ccgccaggct 120

ccagggaagg agcgcgaggg ggtcgagtt atttatgctg ctggtggatt aacatactat 180
gccgactccg tgaagggccg attcaccatc tcccaggaga atggcaagaa cacggtgtac 240
ctgacgatga accgcctgaa acctgaggac actgcatgt actactgtgc ggcaaagcga 300
tgggtgtagta gctggaatcg cggtgaggag tataactact ggggccaggg gaccaggtc 360
actgtctcct ca 372

<210> 16

<211> 384

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Camelid

<400> 16

caggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc tcggtgcagg ctggagggtc tctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggaaa cacctacagt agtagctact gcatgggctg gttccgccag 120

gctccaggga aggaccgcga gggggtcgcg cgtattttca ctcgaagtgg taccacatac 180

tatgccgact ccgtgaaggg ccgattcacc atttcccgctg acaacgcaa gaacacggtg 240

tatctgcaaa tgaacagcct gaaacctgaa gacgctgcca tgtactactg tgcggcagcc 300

caggggggtg cctgcatttc gtttacttcg ttgcgaaga atttcgtgta ccggggccag 360

gggaccctgg tcactgtctc ctca 384

<210> 17

<211> 402

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Camelid

<400> 17

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggagac tcggtgcagg ctggagggtc tcttcaactc 60

tcctgtaaag cctctggata cacctacaat agtagagtcg atatcagatc tatgggctgg 120

ttccgccagt atccaggaaa ggagcgcgag ggggtcgcta ctattaatat tcgtaatagt 180

gtcacatact atgccgactc cgtgaagggc cgattcacca tctcccaaga caacccaag 240

aacacggtgt atctgcaaat gaacgccctg aaacctgagg aactgccat gtactactgt 300

gcgttgtcag acagattcgc ggcgcaggta cctgccaggt acggaatacg gtcctctgac 360

tataactact ggggtgaggg gacctgtgtc accgtctcct ca 402

<210> 18

<211> 402

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Camelid

<400> 18

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggagac tcggtgcagg ctggagggtc tcttcaactc 60

tcctgtaaag cctctggata cacctacaat agtagagtcg atatcagatc tatgggctgg 120
 ttccgccagt atccaggaag ggagcgcgag ggggtcgcta ctattaatat tcgtaaatagt 180
 gtcacatact atgccgactc cgtgaagggc cgattcacca tctccaaga caacccaag 240
 aacacggtgt atctgcaaat gaacgccctg aaacctgagg aactgccaat gtactactgt 300
 gcgttgtcag acagattcgc ggcgcaggta cctgccagggt acggaatacg gtcctctgac 360

tataactact ggggtgaggg gacctggtc accgtctcct ca 402

<210> 19

<211> 402

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Camelid

<400> 19

caggtgcagc tgggtggagtc tgggggagac tcggtgcagg ctggagggtc tcttcaactc 60
 tcctgtaaag cctctggata cacctacaat agtagagtcg atatcagatc tatgggctgg 120
 ttccgccagt atccaggaag ggagcgcgag ggggtcgcta ctattaatat tcgtaaatagt 180
 gtcacatact atgccgactc cgtgaagggc cgattcacca tctccaaga caacccaag 240
 aacacggtgt atctgcaaat gaacgccctg aaacctgagg aactgccaat gtactactgt 300

gcgttgtcag acagattcgc ggcgcaggta cctgccagggt acggaatacg gtcctctgac 360

tataactact ggggtgaggg gaccagggtc actgtctcct ca 402

<210> 20

<211> 402

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Camelid

<400> 20

caggtgcagc tgggtggagtc tgggggagac tcggtgcagg ctggagggtc tcttcaactc 60
 tcctgtaaag cctctggata cacctacaat agtagagtcg atatcagatc tatgggctgg 120
 ttccgccagt atccaggaag ggagcgcgag ggggtcgcta ctattaatat tcgtaaatagt 180
 gtcacatact atgccgactc cgtgaagggc cgattcacca tctccaaga caacccaag 240

aacacggtgt atctgcaaat gaacgccctg aaacctgagg aactgccaat gtactactgt 300

gcgttgtcag acagattcgc ggcgcaggta cctgccagggt acggaatacg gtcctctgac 360

tataactact ggggtgaggg gaccagggtc accgtctcct ca 402

<210> 21
 <211> 402
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Camelid
 <400> 21
 catgtgcagc tgggtggagtc tgggggagac tcggtgcagg ctggagggtc tcttcaactc 60
 tcctgtaaag cctctggata cacctacaat agtagagtcg atatcagatc tatgggctgg 120
 ttccgccagt atccaggaaa ggagcgcgag ggggtcgcta ctattaatat tcgtaatagt 180

 gtcacatact atgccgactc cgtgaagggc cgattcacca tctccaaga caacgccaag 240
 aacacggtgt atctgcaaat gaacgccctg aaacctgagg aactgccat gtactactgt 300
 gcgttgtcag acagattcgc ggcgaggta cctgccaggt acggaatacg gccctctgac 360
 tataactact ggggtgaggg gacctgggtc accgtctcct ca 402
 <210> 22
 <211> 402
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Camelid
 <400> 22
 gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggagac tcggtgcagg ctggagggtc tcttcaactc 60
 tcctgtaaag cctctggata cacctacaat agtagagtcg atatcagatc tatgggctgg 120

 ttccgccagt atccaggaaa ggagcgcgag ggggtcgcta ctattaatat tcgtaatagt 180
 gtcacatact atgccaactc cgtgaagggc cgattcacca tctccaaga caacgccaag 240
 aacacggtgt atctgcaaat gaacgccctg aaacctgagg aactgccat gtactactgt 300
 gcgttgtcag acagattcgc ggcgaggta cctgccaggt acggaatacg gccctctgac 360
 tatgactact ggggtgaggg gacctgggtc accgtctcct ca 402
 <210> 23
 <211> 402
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Camelid
 <400> 23

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggagac tcggtgcagg ctggagggtc tcttcaactc 60

tcctgtaaag cctctggata cacctacaat agtagagtcg atatcagatc tatgggctgg 120

ttccgccagt atccaggaaa ggagcgcgag ggggtcgcta ctattaatat tcgtaatagt 180

gtcacatact atgccgactc cgtgaagggc cgattcacca tctccaaga caacccaag 240

aacacggtgt atctgcaaat ggacgccctg aaacctgagg aactgccat gtactactgt 300

gcgttgtcag acagattcgc ggccgaggta cctgccagg acggaatacg gccctctgac 360

tataactact ggggtgaggg gaccagggtc accgtctcct ca 402

<210> 24

<211> 402

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Camelid

<400> 24

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggagac tcggtgcagg ctggagggtc tcttcaactc 60

tcctgtaaag cctctggata cacctacaat agtagagtcg atatcagatc tggggctgg 120

ttccgccagt atccaggaaa ggagcgcgag ggggtcgcta ctattaatat tcgtaatagt 180

gtcacatact atgccgactc cgtgaagggc cgattcacca tctccaaga caacccaag 240

aacacggtgt atctgcaaat gaacgccctg aaacctgagg aactgccat gtactactgt 300

gcgttgtcag acagattcgc ggccgaggta cctgccagg acggaatacg gccctctgac 360

tataactact ggggtgaggg gaccagggtc accgtctcct ca 402

<210> 25

<211> 124

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Camelid

<400> 25

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Val Tyr Ser Tyr Asn Thr Asn

20 25 30

Cys Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Thr Met Asn Arg Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Ala Lys Arg Trp Cys Ser Ser Trp Asn Arg Gly Glu Glu Tyr Asn

100 105 110

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 26

<211> 133

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Camelid

<400> 26

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Asp Met Asn Asn Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Ala Ile Ser Asp Arg Met Thr Gly Ile Gln Ala Leu Ala Ala Leu

100 105 110

Pro Arg Leu Arg Pro Glu Asp Tyr Gly Asn Trp Gly Gln Gly Thr Leu

115 120 125

Val Thr Val Ser Ser

130

<210> 27

<211> 124

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Camelid

<400> 27

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Val Tyr Ser Tyr Asn Thr Asn

20 25 30

Cys Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Thr Met Asn Arg Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Ala Lys Arg Trp Cys Ser Ser Trp Asn Arg Gly Glu Glu Tyr Asn

100 105 110

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 28

<211> 128

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Camelid

<400> 28

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Cys Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Asp Arg Glu Gly

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Ala Ala Met Tyr Tyr

85 90 95

Cys Ala Ala Ala Gln Gly Gly Ala Cys Ile Ser Phe Thr Ser Phe Ala

100 105 110

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

115 120 125

<210> 29

<211> 124

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Camelid

<400> 29

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Val Tyr Ser Tyr Thr Thr Asn

20 25 30

Cys Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Thr Met Asn Arg Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys

85 90 95
Ala Ala Lys Arg Trp Cys Ser Ser Trp Asn Arg Gly Glu Glu Tyr Asn
100 105 110

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 30

<211> 124

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Camelid

<400> 30

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

1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Val Tyr Ser Tyr Asn Thr Asn
20 25 30

Cys Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Ala
35 40 45

Ala Val Ile Tyr Ala Ala Gly Gly Leu Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

65 70 75 80
Leu Thr Met Asn Arg Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Lys Arg Trp Cys Ser Ser Trp Asn Arg Gly Glu Glu Tyr Asn
100 105 110

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 31

<211> 134

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Camelid

<400> 31

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

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

Gln Val Thr Val Ser Ser
 130

<210> 32

<211> 134

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Camelid

<400> 32

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

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

Arg Tyr Gly Ile Arg Pro Ser Asp Tyr Asn Tyr Trp Gly Glu Gly Thr
115 120 125
Leu Val Thr Val Ser Ser
130

<210> 33

<211> 134

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Camelid

<400> 33

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Asp Ser Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Gln Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Tyr Asn Ser Arg
20 25 30

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

Met Tyr Tyr Cys Ala Leu Ser Asp Arg Phe Ala Ala Gln Val Pro Ala
100 105 110
Arg Tyr Gly Ile Arg Pro Ser Asp Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

115 120 125
 Leu Val Thr Val Ser Ser
 130
 <210> 34
 <211> 134
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Camelid
 <400> 34
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Asp Ser Val Gln Ala Gly Gly
 1 5 10 15

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

 Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ala Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala
 85 90 95
 Met Tyr Tyr Cys Ala Leu Ser Asp Arg Phe Ala Ala Gln Val Pro Ala
 100 105 110
 Arg Tyr Gly Ile Arg Pro Ser Asp Tyr Asn Tyr Trp Gly Glu Gly Thr
 115 120 125
 Leu Val Thr Val Ser Ser
 130
 <210> 35
 <211> 134
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

 <220><223> Camelid

<400> 35

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

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

Gln Val Thr Val Ser Ser
 130

<210> 36

<211> 134

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Camelid

<400> 36

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

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

Arg Tyr Gly Ile Arg Pro Ser Asp Tyr Asn Tyr Trp Gly Glu Gly Thr
115 120 125
Gln Val Thr Val Ser Ser
130

<210> 37

<211> 134

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Camelid

<400> 37

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Asp Ser Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Gln Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Tyr Asn Ser Arg
20 25 30

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

Met Tyr Tyr Cys Ala Leu Ser Asp Arg Phe Ala Ala Gln Val Pro Ala
100 105 110
Arg Tyr Gly Ile Arg Ser Ser Asp Tyr Asn Tyr Trp Gly Glu Gly Thr

115 120 125
 Leu Val Thr Val Ser Ser
 130
 <210> 38
 <211> 134
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Camelid
 <400> 38
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Asp Ser Val Gln Ala Gly Gly
 1 5 10 15

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

 Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asp Ala Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala
 85 90 95
 Met Tyr Tyr Cys Ala Leu Ser Asp Arg Phe Ala Ala Gln Val Pro Ala
 100 105 110
 Arg Tyr Gly Ile Arg Pro Ser Asp Tyr Asn Tyr Trp Gly Glu Gly Thr
 115 120 125
 Gln Val Thr Val Ser Ser
 130
 <210> 39
 <211> 134
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

 <220><223> Camelid

<400> 39

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

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

Leu Val Thr Val Ser Ser
 130

<210> 40

<211> 134

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Camelid

<400> 40

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

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

Arg	Tyr	Gly	Ile	Arg	Pro	Ser	Asp	Tyr	Asn	Tyr	Trp	Gly	Glu	Gly	Thr
115				120				125							
Gln	Val	Thr	Val	Ser	Ser										
130															

<210> 41

<211> 134

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Camelid

<400> 41

Asp	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Asp	Ser	Val	Gln	Ala	Gly	Gly
1				5					10					15	
Ser	Leu	Gln	Leu	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Tyr	Asn	Ser	Arg
				20					25					30	

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

Met Tyr Tyr Cys Ala Leu Ser Asp Arg Phe Ala Ala Gln Val Pro Ala
100 105 110
Arg Tyr Gly Ile Arg Pro Ser Asp Tyr Asn Tyr Trp Gly Glu Gly Thr

115 120 125

Gln Val Thr Val Ser Ser

130

<210> 42

<211> 134

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Camelid

<400> 42

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

1 5 10 15

Ser Leu Gln Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Tyr Asn Ser Arg

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Met Tyr Tyr Cys Ala Leu Ser Asp Arg Phe Ala Ala Gln Val Pro Ala

100 105 110

Arg Tyr Gly Ile Arg Pro Ser Asp Tyr Asp Tyr Trp Gly Glu Gly Thr

115 120 125

Leu Val Thr Val Ser Ser

130

<210> 43

<211> 134

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Camelid

<400> 43

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

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

Gln Val Thr Val Ser Ser
 130

<210> 44

<211> 663

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 44

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

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

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

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

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

 Met Glu Pro Asn Gly Lys Leu Gln Pro Met Val Ile Gln Ile Gln Pro

305 310 315 320
 Pro Asn Pro Ser Ser Pro Thr Pro Thr Leu Phe Leu Pro Ser Asp Pro
 325 330 335
 Pro Leu Ala Trp Leu Leu Ala Lys Ser Trp Val Arg Asn Ser Asp Phe
 340 345 350
 Gln Leu His Glu Ile Gln Tyr His Leu Leu Asn Thr His Leu Val Ala
 355 360 365

 Glu Val Ile Ala Val Ala Thr Met Arg Cys Leu Pro Gly Leu His Pro
 370 375 380
 Ile Phe Lys Phe Leu Ile Pro His Ile Arg Tyr Thr Met Glu Ile Asn
 385 390 395 400
 Thr Arg Ala Arg Thr Gln Leu Ile Ser Asp Gly Gly Ile Phe Asp Lys
 405 410 415
 Ala Val Ser Thr Gly Gly Gly Gly His Val Gln Leu Leu Arg Arg Ala
 420 425 430

 Ala Ala Gln Leu Thr Tyr Cys Ser Leu Cys Pro Pro Asp Asp Leu Ala
 435 440 445
 Asp Arg Gly Leu Leu Gly Leu Pro Gly Ala Leu Tyr Ala His Asp Ala
 450 455 460
 Leu Arg Leu Trp Glu Ile Ile Ala Arg Tyr Val Glu Gly Ile Val His
 465 470 475 480
 Leu Phe Tyr Gln Arg Asp Asp Ile Val Lys Gly Asp Pro Glu Leu Gln
 485 490 495

 Ala Trp Cys Arg Glu Ile Thr Glu Val Gly Leu Cys Gln Ala Gln Asp
 500 505 510
 Arg Gly Phe Pro Val Ser Phe Gln Ser Gln Ser Gln Leu Cys His Phe
 515 520 525
 Leu Thr Met Cys Val Phe Thr Cys Thr Ala Gln His Ala Ala Ile Asn
 530 535 540
 Gln Gly Gln Leu Asp Trp Tyr Ala Trp Val Pro Asn Ala Pro Cys Thr
 545 550 555 560

Met Arg Met Pro Pro Pro Thr Thr Lys Glu Asp Val Thr Met Ala Thr
565 570 575
Val Met Gly Ser Leu Pro Asp Val Arg Gln Ala Cys Leu Gln Met Ala
580 585 590
Ile Ser Trp His Leu Ser Arg Arg Gln Pro Asp Met Val Pro Leu Gly
595 600 605
His His Lys Glu Lys Tyr Phe Ser Gly Pro Lys Pro Lys Ala Val Leu
610 615 620

Asn Gln Phe Arg Thr Asp Leu Glu Lys Leu Glu Lys Glu Ile Thr Ala
625 630 635 640
Arg Asn Glu Gln Leu Asp Trp Pro Tyr Glu Tyr Leu Lys Pro Ser Cys
645 650 655
Ile Glu Asn Ser Val Thr Ile
660

<210> 45

<211> 366

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Camelid

<400> 45

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggt tcggtgcagg ctggagggtc tctgaggatc 60
tcctgtacag cctctggatt cacttttgat gacactgaca tgggctggta ccgccagact 120

ctaggaaatg gggtgcgagtt ggtttctcag attagtaatg atggtagtac attctataga 180
gattccgtga agggccgatt caccatctcc tgggaccgcg tcaacaacac ggtgtatctg 240
caaatgagcg cctgagacc tgaggacacg gccatgtatt actgcaatat caacgggtgt 300
aggagaccct cgtacaatct tcacttgaac gcatggggcc agggggacaca ggtcaccgtc 360
tcctca 366

<210> 46

<211> 372

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Camelid

<400> 46

caggtgcagc tggtagagtc tgggggaggc tcggtgcagg ctggagggtc tctgacactg 60

tctgtgttag cctctggata cggctacagt gccacgtgca tgggctgggt cgcagggt 120

ccagggaagg agcgcgaggg ggtcgcgtct attcacctt atggtgttag aaccttctat 180

gccgactccg cgaaggccg attcacctc tcccagaca acgccaagaa cacgtgtat 240

ctgcaaatga acagcctgaa acctgaggac acgtccgtgt actactgtgc ggccggttcg 300

ggcgttggtg ttgtttcact ttcgtatcca tacacctact ggggccaggg gacccaggtc 360

accgtctcct ca 372

<210> 47

<211> 372

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Camelid

<400> 47

caggtgcagc tggtagagtc tgggggaggc tcggtgcagg ctggagggtc tctgagactc 60

tctgtgttag cctctagatc catctatgtt tggtagtca tgggctgggt cgcagggt 120

gcagggaagg agcgcgaggg ggtcggaagt atgttcgttg gtggcggtag gacatattat 180

gacgactccg tcaaggccg attcacctc tccaagaca aggccaagaa cacgtgtat 240

ctgcaaatgg acaacctggc acctgaagac actgcatgt attactgtgc ggctgggcgc 300

tgcggtggca actggctgag aagcaatgct ttcgacaaat ggggccaggg gacactggtc 360

accgtctcct ca 372

<210> 48

<211> 369

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Camelid

<400> 48

gatgtgcagc tggtagagtc tgggggaggc tcggtgcagg ctggagggtc tctgagactc 60

tctgtgcag ccaactggaaa cacctacatt agccgtgca tgggctgggt cgcaggcct 120

ccagggaagg agcgcgaggt ggtcgcacgt atttataccg actctggtaa tacatactat 180

cccagcgcg tggagggccg attcacctc tccaagaca acgccaagaa cacgatatat 240

ctgcaaatga acagcctgaa acctgacgac accgccgtgt actactgtgt gctctcagag 300

gccgtctgta caaaagaacc tggggacttt cgttactggg gccaggggac ccaggtcact 360

gtctcctca 369

<210> 49

<211> 122

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Camelid

<400> 49

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Asp Met Gly Trp Tyr Arg Gln Thr Leu Gly Asn Gly Cys Glu Leu Val

35 40 45

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

50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Trp Asp Arg Val Asn Asn Thr Val Tyr Leu

65 70 75 80

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

85 90 95

Ile Asn Gly Cys Arg Arg Pro Ser Tyr Asn Leu His Leu Asn Ala Trp

100 105 110

Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 50

<211> 124

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Camelid

<400> 50

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

1 5 10 15

Ser Leu Thr Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Tyr Gly Tyr Ser Ala Thr
20 25 30
Cys Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val
35 40 45
Ala Ser Ile Ser Pro Tyr Gly Val Arg Thr Phe Tyr Ala Asp Ser Ala
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Val Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ser Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Ala Gly Ser Gly Val Gly Val Cys Ser Leu Ser Tyr Pro Tyr Thr
100 105 110
Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120
<210> 51
<211> 124
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Camelid
<400> 51
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Arg Ala Gly Glu
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Arg Ser Ile Tyr Val Trp Tyr
20 25 30
Cys Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Ala Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val
35 40 45
Gly Ser Met Phe Val Gly Gly Gly Arg Thr Tyr Tyr Asp Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Gln Asp Lys Ala Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asp Asn Leu Ala Pro Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Ala Gly Arg Cys Gly Gly Asn Trp Leu Arg Ser Asn Ala Phe Asp

100 105 110

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

115 120

<210> 52

<211> 123

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Camelid

<400> 52

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Cys Met Gly Trp Phe Arg Gln Pro Pro Gly Lys Glu Arg Glu Val Val

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

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

100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 53

<211> 190

<212> PRT

<213> Ebola virus

<400> 53

Ala Lys Ala Thr Gly Arg Tyr Asn Leu Ile Ser Pro Lys Lys Asp Leu

1 5 10 15

Glu Lys Gly Val Val Leu Ser Asp Leu Cys Asn Phe Leu Val Ser Gln

20 25 30

Thr Ile Gln Gly Trp Lys Val Tyr Trp Ala Gly Ile Glu Phe Asp Val

35 40 45

Thr His Lys Gly Met Ala Leu Leu His Arg Leu Lys Thr Asn Asp Phe

50 55 60

Ala Pro Ala Trp Ser Met Thr Arg Asn Leu Phe Pro His Leu Phe Gln

65 70 75 80

Asn Pro Asn Ser Thr Ile Glu Ser Pro Leu Trp Ala Leu Arg Val Ile

85 90 95

Leu Ala Ala Gly Ile Gln Asp Gln Leu Ile Asp Gln Ser Leu Ile Glu

100 105 110

Pro Leu Ala Gly Ala Leu Gly Leu Ile Ser Asp Trp Leu Leu Thr Thr

115 120 125

Asn Thr Asn His Phe Asn Met Arg Thr Gln Arg Val Lys Glu Gln Leu

130 135 140

Ser Leu Lys Met Leu Ser Leu Ile Arg Ser Asn Ile Leu Lys Phe Ile

145 150 155 160

Asn Lys Leu Asp Ala Leu His Val Val Asn Tyr Asn Gly Leu Leu Ser

165 170 175

Ser Ile Glu Ile Ile Leu Glu Phe Asn Ser Ser Leu Ala Ile

180 185 190

<210> 54

<211> 486

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Camelid

<400> 54

atgggtgatg tgcagctggt ggagtctggg ggagactcgg tgcgggctgg agggctctctt 60

caaatgggtg atgtgcagct ggtggagtct gggggagact cggtcgggc tggagggtct 120

cttcaactct cctgtaaagc ctctggatac acctacaata gtagagtcga ttcagatct 180

atgggctggt tccgccagta tccaggaaag gagcgcgagg gggtcgctac tattaatatt 240

cgtaaatagtg tcacatacta tgccgactcc gtgaagggcc gattcaccat ctccaagac 300

aacgccaaga acacggtgta tctgcaaatg aacgccctga aacctgagga cactgccatg 360

tactactgtg cgttgtcaga cagattcgcg gcgcaggtac ctgccaggta cggaatacgg 420

ccctctgact ataactactg gggtgagggg accctgggtca ccgtctctc aagctctggt 480

ctcgag 486

<210> 55

<211> 141

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Camelid

<400> 55

Met Gly Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Asp Ser Val Arg Ala

1 5 10 15

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

20 25 30

Ser Arg Val Asp Ile Arg Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Tyr Pro Gly

35 40 45

Lys Glu Arg Glu Gly Val Ala Thr Ile Asn Ile Arg Asn Ser Val Thr

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Pro Ala Arg Tyr Gly Ile Arg Pro Ser Asp Tyr Asn Tyr Trp Gly Glu

115 120 125

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ser Ser Gly Leu Glu

130 135 140

<210> 56

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Camelid

<400> 56

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Thr Tyr Thr Gly Cys Met Gly

20 25 30

Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val Ala Ala Leu

35 40 45

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

50 55 60

Phe Ser Ile Ser Arg Asp Tyr Val Lys Asn Ala Val Tyr Leu Gln Met

65 70 75 80

Asn Thr Val Lys Pro Glu Asp Ala Ala Met Tyr Tyr Cys Ala Ala Arg

85 90 95

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

100 105 110

His Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120 125