



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2019년02월14일

(11) 등록번호 10-1947758

(24) 등록일자 2019년02월07일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

C07K 16/44 (2006.01) A61K 39/395 (2006.01)

A61P 37/06 (2006.01) A61P 9/10 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2014-7006274

(22) 출원일자(국제) 2012년08월08일

심사청구일자 2017년02월01일

(85) 번역문제출일자 2014년03월07일

(65) 공개번호 10-2014-0068948

(43) 공개일자 2014년06월09일

(86) 국제출원번호 PCT/EP2012/065505

(87) 국제공개번호 WO 2013/020995

국제공개일자 2013년02월14일

(30) 우선권주장

61/521,593 2011년08월09일 미국(US)

(56) 선행기술조사문헌

J Clin Invest. 2000, 105:1731-1740.*

Circulation. 2010, 122:A14320.*

*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자

아테라 바이오테크놀로지스 아베

스웨덴 에스-113 43 스톡홀름, 에스:티 에릭스가
탄 117, 비즈니스 센터

다이엑스 코포레이션

미국 매사추세츠 02421 렉싱턴 쉐어 웨이 300

(72) 발명자

페터손, 크누트

스웨덴, 에스아이-414 76 고테보리, 콩스라두가즈가
탄 110

캡버, 올라

스웨덴, 에스아이-167 61 브롬마, 토펠리우스바겐 8
(뒷면에 계속)

(74) 대리인

특허법인씨엔에스

전체 청구항 수 : 총 14 항

심사관 : 이현지

(54) 발명의 명칭 포스포릴콜린에 대한 신규 항체

(57) 요약신규 항체

본 발명은 포스포릴콜린 및/또는 포스포릴콜린 컨주케이트에 바인딩할 수 있는 항체 또는 항체 프로그먼트로서, 여기서 상기 항체 또는 항체 프로그먼트는 가변 중쇄(VH) 도메인 및/또는 가변 경쇄(VL) 도메인을 포함하며, 그리고 여기서

(a) 상기 VH 도메인은

SEQ ID NO: 17의 서열과 적어도 25%, 50%, 75% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1 서열;

SEQ ID NO: 18의 서열과 적어도 5%, 11%, 17%, 23%, 29%, 35%, 47%, 52%, 58%, 64%, 70%, 76%, 82%, 94% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 서열; 및

SEQ ID NO: 19, 20, 21 또는 22의 서열과 적어도 4%, 9%, 13%, 18%, 22%, 27%, 31%, 36%, 40%, 45%, 50%, 54%, 59%, 63%, 68%, 72%, 77%, 81%, 86%, 90%, 95% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3 서열

로 구성되는 그룹으로부터 선택된, 1개, 2개 또는 3개의 상보성 결정 영역(complementarity determining region)(CDRs)을 포함하는 아미노산 서열을 포함하며; 그리고/또는

(b) 상기 VL 도메인은

SEQ ID NO: 23 또는 24의 서열과 적어도 5%, 11%, 17%, 23%, 29%, 35%, 47%, 52%, 58%, 64%, 70%, 76%, 82%, 94% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR4 서열;

SEQ ID NO: 25의 서열과 적어도 14%, 28%, 42%, 57%, 71%, 85% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR5 서열;

(뒷면에 계속)

SEQ ID NO: 26의 서열과 적어도 11%, 22%, 33%, 44%, 55%, 66%, 77%, 88% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR6 서열

로 구성되는 그룹으로부터 선택된, 1개, 2개 또는 3개의 상보성 결정 영역(complementarity determining region)(CDRs)을 포함하는 아미노산 서열을 포함하는, 포스포릴콜린 및/또는 포스포릴콜린 칸주게이트에 바인딩 할 수 있는 항체 또는 항체 프로그먼트에 관한 것이다.

(72) 발명자

섹스턴, 댄

미국, 메사추세츠 02176, 멜로즈, 마빈 59

닉슨, 앤드류 이

미국, 메사추세츠 02339, 하노버, 에버그린 레인

41

명세서

청구범위

청구항 1

포스포릴콜린 및/또는 포스포릴콜린 컨주게이트에 바인딩하는 분리된 항체 또는 항체 프레그먼트로서, 여기서 상기 항체 또는 항체 프레그먼트는 가변 중쇄(VH) 도메인 및/또는 가변 경쇄(VL) 도메인을 포함하며, 그리고 여기서

(a) 상기 VH 도메인은

SEQ ID NO: 17의 서열로 나타내는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1 서열;

SEQ ID NO: 18의 서열로 나타내는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 서열; 및

SEQ ID NO: 19, 20, 21 또는 22의 서열로 나타내는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3 서열

로 구성되는 그룹으로부터 선택된, 3개의 상보성 결정 영역(complementarity determining region)(CDRs)을 포함하는 아미노산 서열을 포함하며; 그리고

(b) 상기 VL 도메인은

SEQ ID NO: 23 또는 24의 서열로 나타내는 아미노산 서열을 포함하는 CDR4 서열;

SEQ ID NO: 25의 서열로 나타내는 아미노산 서열을 포함하는 CDR5 서열;

SEQ ID NO: 26의 서열로 나타내는 아미노산 서열을 포함하는 CDR6 서열

로 구성되는 그룹으로부터 선택된, 3개의 CDRs을 포함하는 아미노산 서열을 포함하며, 그리고

여기서 상기 항체 프레그먼트는 단일 사슬 항체, Fv, scFv, Fab, F(ab')₂, Fab', Fd, scFv-Fc 프레그먼트, 또는 이중체(diabody)로 구성되는 그룹으로부터 선택되는, 포스포릴콜린 및/또는 포스포릴콜린 컨주게이트에 바인딩하는 분리된 항체 또는 항체 프레그먼트.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 VH 도메인은 SEQ ID NOs: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 또는 15로 구성되는 그룹으로부터 선택된 아미노산 서열에 존재하는 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 아미노산 서열을 포함하며; 그리고

상기 VL 도메인은 SEQ ID NOs: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14 또는 16으로 구성되는 그룹으로부터 선택된 아미노산 서열에 존재하는 CDR4, CDR5 및 CDR6 서열을 포함하는 아미노산 서열을 포함하는, 항체 또는 항체 프레그먼트.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 VH 도메인은 SEQ ID NO:1의 서열로 나타내는 아미노산 서열을 포함하며, 그리고 상기 VL 도메인은 SEQ ID NO:2의 서열로 나타내는 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

상기 VH 도메인은 SEQ ID NO:3의 서열로 나타내는 아미노산 서열을 포함하며, 그리고 상기 VL 도메인은 SEQ ID NO:4의 서열로 나타내는 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

상기 VH 도메인은 SEQ ID NO:5의 서열로 나타내는 아미노산 서열을 포함하며, 그리고 상기 VL 도메인은 SEQ ID NO:6의 서열로 나타내는 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

상기 VH 도메인은 SEQ ID NO:7의 서열로 나타내는 아미노산 서열을 포함하며, 그리고 상기 VL 도메인은 SEQ ID NO:8로 나타내는 아미노산 서열을 포함하거나;

상기 VH 도메인은 SEQ ID NO:9의 서열로 나타내는 아미노산 서열을 포함하며, 그리고 상기 VL 도메인은 SEQ ID NO:10의 서열로 나타내는 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

상기 VH 도메인은 SEQ ID NO:11의 서열로 나타내는 아미노산 서열을 포함하며, 그리고 상기 VL 도메인은 SEQ ID NO:12의 서열로 나타내는 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

상기 VH 도메인은 SEQ ID NO:13의 서열로 나타내는 아미노산 서열을 포함하며, 그리고 상기 VL 도메인은 SEQ ID NO:14의 서열로 나타내는 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

상기 VH 도메인은 SEQ ID NO:15의 서열로 나타내는 아미노산 서열을 포함하며, 그리고 상기 VL 도메인은 SEQ ID NO:16의 서열로 나타내는 아미노산 서열을 포함하는, 항체 또는 항체 프레그먼트.

청구항 4

제1항에 있어서,

인간 항체, 인간화된 항체, 인간 항체의 프레그먼트 또는 인간화된 항체의 프레그먼트인, 항체 또는 항체 프레그먼트.

청구항 5

제1항에 있어서,

인간 또는 인간화된 모노클로날 항체인, 항체 또는 항체 프레그먼트.

청구항 6

제1항에 따른 항체 또는 항체 프레그먼트 및 약학적으로 허용되는 캐리어 또는 부형제를 포함하며, 아테롬성 동맥 경화증, 또는 심혈관 질환에 대해 인간을 포함하는 포유류의 예방 및/또는 치료에 사용되며, 여기서 심혈관 질환은 아테롬성 동맥 경화증, 급성 관상동맥 증후군, 급성 심근 경색, 심근 경색(심장마비), 안정 및 불안정 협심증, 동맥류, 관상 동맥 질환(CAD), 허혈성 심장 질환, 허혈성 심근, 심장사 및 급성 심장사, 심근증, 울혈성 심부전, 심부전, 협착증, 하지 동맥 질환(PAD), 간헐성파행, 중증하지허혈성질환 및 뇌졸증으로 구성되는 그룹으로부터 선택되는, 약학 조성물.

청구항 7

제6항에 있어서,

상기 조성물에 존재하는 상기 항체 또는 항체 프레그먼트가 제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에서 정의된 것들인, 약학 조성물.

청구항 8

제1항에 따른 항체 또는 항체 프레그먼트를 암호화하는 핵산.

청구항 9

제8항에 따른 핵산을 포함하는 벡터 또는 플라스미드.

청구항 10

제8항의 핵산 및/또는 제8항에 따른 핵산을 포함하는 백터 또는 플라스미드를 포함하는 숙주 세포.

청구항 11

제10항에 있어서,

제1항에 따른 항체 또는 항체 프레그먼트를 암호화하는 핵산을 발현하며, 이에 따라 제1항에 따른 항체 또는 항체 프레그먼트를 생성하는, 숙주 세포.

청구항 12

제10항에 따른 숙주 세포를 배양하고, 제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 따른 항체 또는 항체 프레그먼트를 이로부터 회수하는 것을 포함하는, 제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 따른 항체 또는 항체 프레그먼트 제조방법.

청구항 13

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 따른 항체 또는 항체 프레그먼트의 변이체를 제조하는 방법으로서,

(i) 제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 따른 항체 또는 항체 프레그먼트를 암호화하는 모 핵산을 제공하는 단계;

(ii) 상기 핵산의 아미노산 암호영역으로 하나 이상의 뉴클레오타이드 돌연변이를 도입하는 단계로서, 돌연변이된 핵산은 모 항체 또는 항체 프레그먼트에 비해 다른 아미노산을 갖는 변이 항체 또는 항체 프레그먼트를 암호화하도록 하는 하나 이상의 뉴클레오타이드 돌연변이를 도입하는 단계;

(iii) 돌연변이된 핵산에 의해 암호화된 변이 항체 또는 항체 프레그먼트를 발현하는 단계; 및

(iv) 변이 항체 또는 항체 프레그먼트 및 모 항체 또는 항체 프레그먼트의 포스포릴콜린 및/또는 포스포릴콜린 컨주케이트에 대한 바인딩 능력을 비교하는 단계

를 포함하며, 여기서 변이체는 포스포릴콜린 및/또는 포스포릴콜린 컨주케이트에 대한 바인딩 능력을 보유하는, 제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 따른 항체 또는 항체 프레그먼트의 변이체를 제조하는 방법.

청구항 14

제13항에 있어서,

단계 (ii)에서 하나 이상의 뉴클레오타이드 돌연변이는 VH 및/또는 VL 도메인(들)을 암호화하는 영역 내에 존재하는 방법.

청구항 15

삭제

청구항 16

삭제

청구항 17

삭제

청구항 18

삭제

청구항 19

삭제

청구항 20

삭제

청구항 21

삭제

청구항 22

삭제

청구항 23

삭제

청구항 24

삭제

청구항 25

삭제

청구항 26

삭제

청구항 27

삭제

청구항 28

삭제

청구항 29

삭제

청구항 30

삭제

청구항 31

삭제

청구항 32

삭제

청구항 33

삭제

청구항 34

삭제

청구항 35

삭제

청구항 36

삭제

청구항 37

삭제

청구항 38

삭제

청구항 39

삭제

청구항 40

삭제

청구항 41

삭제

청구항 42

삭제

발명의 설명

기술분야

[0001] 본 발명은 포스포릴콜린(PC) 및/또는 PC 친수게이트에 바인딩하며 예기치 않은 효과적인 생체내(*in vivo*) 특성을 갖는 신규 항체에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 본 명세서에서 분명히 종래에 공개된 문헌의 열거 또는 디스커션은 그 문헌이 당해 기술분야의 상태의 일부이며 일반적인 상식임을 인정하는 것으로 반드시 취하여질 필요는 없다.

[0003] 심혈관 질환에 이용 가능한 치료 선택에도 불구하고, 급성 관동맥 증후군(ACS)은 산업화된 세계에서 사망의 주 원인이다. ACS는 동맥의 벽 내에 만성 염증과 관련된 관상동맥의 루멘 내에 혈전 형성의 결과로서 일어난다. 동맥 염증은 플라크 형성을 일으키는 리피드 코어의 형성 및 염증 세포의 침입에 의해 시작된다. 불안정한 플라크는 내피를 방해하고 기저에 있는 콜라겐, 본 빌레브란드 인자(von willebrand factor)(vWF), 조직 인자, 리피드 및 혈소판 접착, 활성화 및 응집의 개시를 가능케 하는 평활근의 플라크 파열 노출을 일으킬 수 있는 실질적인 괴사중심 및 사멸세포를 함유한다(Libby et al. 1996. Macrophages and atherosclerotic plaque stability. Curr Opin Lipidol 7, 330-335). ACS는 항혈소판 치료, 콜레스테롤 저하제(예, 스태틴), 항응고제뿐만 아니라, 경피적 관상동맥 중재술(percutaneous coronary intervention)(PCI) 및 스텐트의 이식과 함께 치료된다.

- [0004] COX-1 억제제(예, 아스피린), ADP 리셉터 안타고니스트(예, 티클로페딘 및 클로피도그렐), 및 글리코프로틴 IIb/IIa 리셉터 안타고니스트와 같은 항혈소판 치료는 다수의 다른 임상 시험에서 주요한 반대 관상 동맥 사건 (adverse coronary event)(MACE)의 유발을 감소시키는 것으로 나타났다(Dupont et al., 2009-*Antiplatelet therapies and the role of antiplatelet resistance in acute coronary syndrome*. *Thromb Res* **124**, 6-13). 그러나, 장기 항혈소판 치료시 대부분의 환자는 계속해서 심혈관 이벤트를 갖는다. 더욱이, 만성 예방 치료는 최대의 유익한 효과를 나타내기 위해 최대 2년간 취하여 질 수 있으며, 그 다음 다수의 환자들은 질병 재발에 대해 여전히 높은 위험에 처해 있다. 환자가 종종 재협착증에 기인한 재폐색에 기인하는 MACE에 보다 민감한 심근 경색 후 최대 6-12 개월의 기간이 존재한다(Tabas, 2010. *Macrophage death and defective inflammation resolution in atherosclerosis*. *Nat Rev Immunol* **10**, 36-46).
- [0005] 결국, 추가적인 플라크 진행을 예방하고, 플라크 퇴행을 촉진하는 것이 이 기간동안 실질적으로 보다 낮은 이벤트를 이를 수 있는 특이적으로 지시되는 치료법이 현저히 요구된다.
- [0006] 포스포릴콜린, 특정 포스포리피드 상의 극성 헤드 그룹은 광범위하게 심혈관 질환에 연루되어 있다. 관상동맥 염증 중에 생성된 반응성 산소종은 관상동맥 산화된 LDL(oxLDL)을 생성하기 위한 저 밀도 리포프로틴(LDL)의 산화를 일으킨다. 실제로, 아테롬성 동맥 경화증, 불안정 협심증 또는 급성 관상동맥 증후군과 같은 심혈관 질환(CVD)은 oxLDL의 상승된 혈장 수준과 관련되는 것으로 나타났다(Itabe and Ueda. 2007. *Measurement of plasma oxidized low-density lipoprotein and its clinical implications*. *J Atheroscler Thromb* **14**, 1-11). LDL은 PC 극성 헤드 그룹 및 apoB100 단백질을 갖는 리피드를 함유하는 순환 리포프로틴 파티클이다.
- [0007] LDL의 산화 중에, 비변형된 LDL에 존재하지 않는 PC 함유 네오-에피토프가 생성된다. oxLDL에 새롭게 노출된 PC는 CD36과 같은 마크로파지 상의 스캐빈저 리셉터에 의해 인식되고, 그 결과 형성된 마크로파지로 둘러싸인 oxLDL은 혈관 벽 내의 전염증 폼 세포의 형성을 향해 진행된다. 산화된 LDL은 또한 내피 세포 표면 상의 리셉터에 의해 인식되고, 내피 기능장애, 아포토시스 및 언폴리드 단백질 반응을 포함하는 광범위한 범위의 반응을 자극하는 것으로 보고되었다(Gora et al. 2010. *Phospholipolyzed LDL induces an inflammatory response in endothelial cells through endoplasmic reticulum stress signaling*. *FASEB J* **24**(9):3284-97). 또한, PC 네오-에피토프는 LDL에 노출된 다음, 포스포리파아제 A2 또는 글리케이티드 단백질의 산화로부터 생성된 알데하이드와 같은 아민 반응성 질병 대사물로 변형된다. 이러한 선택적으로 변형된 LDL 파티클은 또한 CVD 내의 전-염증 인자이다.
- [0008] 포스포릴콜린(PC)에 대한 항체는 생체내(*in vivo*) 모델 또는 시험관내(*in vitro*) 시험에서, 산화되거나 다른 변형된 LDL을 바잉딩하고, oxLDL의 전-염증 활성을 차단하는 것으로 나타났다(Shaw et al. 2000. *Natural antibodies with the T15 idiotype may act in atherosclerosis, apoptotic clearance, and protective immunity*. *J Clin Invest* **105**, 1731-1740; Shaw et al. 2001. *Human-derived anti-oxidized LDL autoantibody blocks uptake of oxidized LDL by macrophages and localizes to atherosclerotic lesions in vivo*. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **21**, 1333-1339.)
- [0009] 또한, 임상 데이터의 검사 결과, 낮은 수준의 천연 IgM 항-PC 항체가 ACS 환자에서 MACE의 증가된 위험과 관련된 것으로 나타났다(Frostegard, J. 2010. *Low level natural antibodies against phosphorylcholine: a novel risk marker and potential mechanism in atherosclerosis and cardiovascular disease*. *Clin Immunol* **134**, 47-54).
- [0010] 따라서, 치료에, 특히 인간 치료에 적절한 완전한 인간 항-PC 항체에 효과적으로 사용될 수 있는 항-PC 항체 분자가 요구된다. 출원인의 지식으로, 지금까지 당해 기술분야는 치료적으로 유효한 인간 항-PC 항체를 제공하는데 실패하였다. 이러한 항체의 식별은 항-PC 바인딩 활성을 갖는 인간 항체에 대한 시험관내(*in vitro*) 스크리

닝 방법이 생체내(in vivo) 치료 활성의 저조한 예측변후인 사실에 의해 방해되었다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0011] 이러한 견지로, 생체내(in vivo) 시스템에서, 특히 치료를 위해 인간에게 투여될 경우에 효과적이며 유리한 특성을 제공하는 인간 항-PC 항체 분자에 대한 당해 기술분야에서의 필요성이 존재한다.

과제의 해결 수단

[0012] 본 출원은 포스포릴콜린 및/또는 포스포릴콜린 컨주케이트에 바인딩할 수 있는 신규 항원-바인딩 부위를 포함하는 신규 항체 및 항체 프레그먼트의 생성 및 시험을 기술한다.

[0013] 제 1 견지로, 본 발명은 포스포릴콜린 및/또는 포스포릴콜린 컨주케이트에 바인딩할 수 있는 항체 또는 항체 프레그먼트로서, 여기서 상기 항체 또는 항체 프레그먼트는 가변 중쇄(VH) 도메인 및/또는 가변 경쇄(VL) 도메인을 포함하며, 그리고 여기서

[0014] (a) 상기 VH 도메인은

[0015] SEQ ID NO: 17의 서열과 적어도 25%, 50%, 75% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1 서열;

[0016] SEQ ID NO: 18의 서열과 적어도 5%, 11%, 17%, 23%, 29%, 35%, 47%, 52%, 58%, 64%, 70%, 76%, 82%, 94% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 서열; 및

[0017] SEQ ID NO: 19, 20, 21 또는 22의 서열과 적어도 4%, 9%, 13%, 18%, 22%, 27%, 31%, 36%, 40%, 45%, 50%, 54%, 59%, 63%, 68%, 72%, 77%, 81%, 86%, 90%, 95% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3 서열

[0018]로 구성되는 그룹으로부터 선택된, 1개, 2개 또는 바람직하게 3개의 상보성 결정 영역(complementarity determining region)(CDRs)을 포함하는 아미노산 서열을 포함하며; 그리고/또는

[0019] (b) 상기 VL 도메인은

[0020] SEQ ID NO: 23 또는 24의 서열과 적어도 5%, 11%, 17%, 23%, 29%, 35%, 47%, 52%, 58%, 64%, 70%, 76%, 82%, 94% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR4 서열;

[0021] SEQ ID NO: 25의 서열과 적어도 14%, 28%, 42%, 57%, 71%, 85% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR5 서열;

[0022] SEQ ID NO: 26의 서열과 적어도 11%, 22%, 33%, 44%, 55%, 66%, 77%, 88% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR6 서열

[0023]로 구성되는 그룹으로부터 선택된, 1개, 2개 또는 바람직하게 3개의 상보성 결정 영역(complementarity determining region)(CDRs)을 포함하는 아미노산 서열을 포함하는, 포스포릴콜린 및/또는 포스포릴콜린 컨주케이트에 바인딩할 수 있는 항체 또는 항체 프레그먼트를 제공한다.

[0024] 본 발명의 제 1 견지에 따른 일 구현으로, 상기 항체 또는 항체 프레그먼트는 상기 정의된 바와 같은 CDR1 서열, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 아미노산 서열을 포함하는 VH 도메인, 및/또는 상기 정의된 바와 같은 CDR4 서열, CDR5 및 CDR6 서열을 포함하는 아미노산 서열을 포함하는 VL 도메인을 포함한다.

[0025] 본 발명의 제 1 견지의 다른 구현으로, 상기 항체 또는 항체 프레그먼트는

- [0026] SEQ ID NOs: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 또는 15, 또는 SEQ ID NOs: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 또는 15 중 어느 아미노산 서열과 적어도 80%, 85%, 90% 또는 95% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 구성되는 그룹으로부터 선택된 아미노산 서열에 존재하는 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열 3개 모두를 포함하는 아미노산 서열을 포함하는 VH 도메인; 및/또는
- [0027] SEQ ID NOs: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14 또는 16, 또는 SEQ ID NOs: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14 또는 16 중 어느 아미노산 서열과 적어도 80%, 85%, 90% 또는 95% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 구성되는 그룹으로부터 선택된 아미노산 서열에 존재하는 CDR4, CDR5 및 CDR6 서열 3개 모두를 포함하는 아미노산 서열을 포함하는 VL 도메인
- [0028] 을 포함한다.
- [0029] 본 발명의 제 1 견지의 다른 구현으로, 상기 항체 또는 항체 프레그먼트는 가변 중쇄(VH) 도메인 및/또는 가변 경쇄(VL) 도메인을 포함하며, 여기서
- [0030] VH 도메인은 SEQ ID NOs: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 또는 15, 또는 SEQ ID NOs: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 또는 15 중 어느 아미노산 서열과 적어도 50%, 70%, 80%, 90% 또는 95% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 구성되는 그룹으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하며; 그리고
- [0031] VL 도메인은 SEQ ID NOs: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14 또는 16, 또는 SEQ ID NOs: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14 또는 16 중 어느 아미노산 서열과 적어도 50%, 60%, 70%, 80%, 90% 또는 95% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로 구성되는 그룹으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함한다.

도면의 간단한 설명

- 도 1. 바이아코어(Biacore)에 의한 평형 바인딩 분석으로부터의 바인딩 친화도의 추정
 (◆) M99-B05(lot W21573)(Kd=160±32nM), (○) M99-B05(lot W22595)(Kd=148±8nM). 패널은 이러한 두 가지 다른 항체 제조물을 비교한다.
- 도 2. ELISA에 의해 측정된 PC-BSA에 대한 정제된 IgGs 바인딩
 (◆) M4-G02(EC₅₀=0.14nM), (○) M73-G03(EC₅₀=0.91nM), (△) M99-B05(EC₅₀=0.11nM). 데이터는 EC50 값 추정치를 얻기 위해 글로벌 B_{max}를 이용하여 4 파라미터 논리 방정식에 맞추어졌다.
- 도 3. 고동맥 커프트 마우스(femoral artery cuffed mice)에서 CD45 양성 백혈구 유입의 억제
 형질변환 수컷 ApoE*3 Leiden 마우스를 1% 콜레스테롤 및 0.05% 콜레이트를 함유하는 고-콜레스테롤 및 고-지방 다이어트로 먹이를 공급하여 고콜레스테롤혈증을 유도하였다. 고지방 다이어트 3주후에, 마우스들을 마취시키고, 고동맥을 이의 주변으로부터 절개하고, 비수축성 폴리에틸렌 커프(Portex, 0.40mm 내부 직경, 0.80mm 외부 직경 및 2.0mm 길이)로 느슨하게 칼집을 내었다(sheathed). 0일에 마우스를 PBS에 용해된 10mg/kg 재조합 항-PC IgG 항체, PBS에 용해된 10mg/kg 항-스트렙타비딘 A2 IgG 항체 또는 IP 주사를 통해서 PBS만으로 처리하였다. 마우스들을 수술 후 3일에 희생시키고, 커프트 고동맥을 수거하고 파라핀-포매하였다. 연속 단면(5μm)을 조직화학 분석을 위해 커프트 고동맥 세그멘트의 전체 길이로부터 취하였다. *p < 0.01, n=15.

도 4. 고동맥 커프트 마우스에서 혈관 농밀화의 억제

형질변환 수컷 ApoE*3 Leiden 마우스를 1% 콜레스테롤 및 0.05% 콜레이트를 함유하는 고-콜레스테롤 및 고-지방 다이어트로 먹이를 공급하여 고콜레스테롤혈증을 유도하였다. 고지방 다이어트 3주후에, 마우스들을 마취시키고, 고동맥을 이의 주변으로부터 절개하고, 비수축성 폴리에틸렌 커프(Portex, 0.40mm 내부 직경, 0.80mm 외부 직경 및 2.0mm 길이)로 느슨하게 칼집을 내었다(sheathed). 수술 후 0, 3, 7 및 10일에 마우스를 PBS에 용해된 10mg/kg 재조합 항-PC IgG 항체, PBS에 용해된 10mg/kg 항-스트렙타비딘 A2 IgG 항체 또는 IP 주사를 통해서 PBS만으로 처리하였다. 마우스들을 수술 후 14일에 희생시키고, 커프트 고동맥을 수거하고 파라핀-포매하였다. 연속 단면(5μm)을 조직화학 분석을 위해 커프트 고동맥 세그멘트의 전체 길이로부터 취하였다.

A. 3 패널에서 (화살표로 나타낸) 맥관 영역의 비교는 항체 M99-B05가 커프-유도된 혈관 손상 후 14일에 관찰

된 혈관 농밀화를 감소시켰음을 나타낸다.

B. 혈관 농밀화($(\mu\text{m})^2$), $n = 10$, $*p < 0.05$

도 5. ELISA를 이용하여 측정된 M99-B05 돌연변이의 PC 바인딩 활성

(●) M99-B05($\text{EC}_{50}=0.28\text{nM}$), (○) X19-A01($\text{EC}_{50}=0.42\text{nM}$), (▼) X19-A03($\text{EC}_{50}=0.54\text{nM}$), (△) X19-A05($\text{EC}_{50}=0.52\text{nM}$), (■) X19-A07($\text{EC}_{50}=0.62\text{nM}$), (□) X19-A09($\text{EC}_{50}=0.58\text{nM}$), (◆) X19-A11($\text{EC}_{50}=0.97\text{nM}$), (◇) X19-C01($\text{EC}_{50}=1.4\text{nM}$).

도 6. 항-포스포릴콜린 항체를 이용한 냉동 인간 아테로스 동맥 경화증 병변 조직의 면역조직화학 염색

정상 조직 컨트롤과 함께 인간 아테로스 동맥 경화증 병변 조직을 Biochain Human 냉동 조직으로부터 상업적으로 획득하였다. 조직을 4°C 에서 밤새 $0.1\mu\text{g}/\text{mL}$ 바이오티널레이티드 M99-B05 항-포스포릴콜린 IgG와 함께 배양하였다. 조직에 대한 항체 바인딩은 스트렙타비딘-호스 래디쉬 퍼옥시다아제(HRP) 및 HRP 기질의 첨가에 따라 가시화되었다. 항체 바인딩의 존재는 HRP 기질로부터 생성된 색깔에 의해 나타내어진다. 바인딩되지 않은 것은 아이소타입 컨트롤로 관찰되었다(데이터로 나타내지 않음).

도 7. 고동맥 커프트 마우스에서 혈관 농밀화의 억제

형질변환 수컷 ApoE*3 Leiden 마우스를 1% 콜레스테롤 및 0.05% 콜레이트를 함유하는 고-콜레스테롤 및 고-지방 다이어트로 먹이를 공급하여 고콜레스테롤혈증을 유도하였다. 고지방 다이어트 3주후에, 마우스들을 마취시키고, 고동맥을 이의 주변으로부터 절개하고, 비수축성 폴리에틸렌 커프(Portex, 0.40mm 내부 직경, 0.80mm 외부 직경 및 2.0mm 길이)로 느슨하게 칼집을 내었다(sheathed). 수술 후 0, 3, 7 및 10일에 마우스를 IP 주사에 의해 PBS에 용해된 상기 표시된 항체 및 양으로 처리하였다. 마우스들을 수술 후 14일에 희생시키고, 커프트 고동맥을 수거하고 파라핀-포매하였다. 연속 단면($5\mu\text{m}$)을 조직화학 분석을 위해 커프트 고동맥 세그먼트의 전체 길이로부터 취하고, 혈관 농밀화($(\mu\text{m})^2$)를 산출하였다. $n = 10$, $*p < 0.05$.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0033] SEQ ID NO: 1은 하기 예에 나타낸 바와 같은 X19-A05 항체의 가변 헤비(VH) 도메인이며, 하기 서열을 가지며:

EVQLLEGGGLVQPGGLRLSCAASGFTFSGYWMHWVRQAPGKGLEWVS

[0035] YISPSGGGTHYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVRF

[0036] RSVCNAVCRPTAYDAFDI WGQGTMVTVSS,

그리고 하기 상보성 결정 영역(CDRs)을 갖는다:

[0038] VH CDR1: GYWM (SEQ ID NO: 17);

[0039] VH CDR2: YISPSGGGTHYADSVKG (SEQ ID NO: 18);

[0040] VH CDR3: VRFRSVCNAVCRPTAYDAFDI (SEQ ID NO: 19).

[0041] SEQ ID NO: 2는 X19-A05 항체의 가변 라이트(VL) 도메인이며, 하기 서열을 가지며:

DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVFYQSNKKNYLAWYQQKPGQPPK

[0043] LLIYWASTRESGVPDFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYFNAPRT

FGQGTTKVEIK,

그리고 하기 상보성 결정 영역(CDRs)을 갖는다:

[0046] VL CDR4: KSSQSVFYQSNKKNYLA (SEQ ID NO: 23);

[0047] VL CDR5: WASTRES (SEQ ID NO: 25);

[0048] VL CDR6: QQYFNAPRT (SEQ ID NO: 26).

[0049] SEQ ID NO: 3은 하기 예에 나타낸 바와 같은 M99-B05 항체의 가변 헤비(VH) 도메인이며, 하기 서열을 가지며:

[0050] EVQLLESGGGLVQPGGLRLSCAASGFTSGYWMHWVRQAPGKGLEWVSYI

[0051] SPSGGGTHYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVRFR

[0052] SVCSNGVCRPTAYDAFDIWGQGTAVTVSS,

[0053] 그리고 하기 상보성 결정 영역(CDRs)을 갖는다:

[0054] VH CDR1: GYWM (SEQ ID NO: 17);

[0055] VH CDR2: YISPSGGGTHYADSVKG (SEQ ID NO: 18);

[0056] VH CDR3: VRFRSVCNSNGVCRPTAYDAFDI (SEQ ID NO: 20).

[0057] SEQ ID NO: 4는 M99-B05 항체의 가변 라이트(VL) 도메인이며, 하기 서열을 가지며:

[0058] QDIQMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVFYNNSNKKNYLAWYQQKAGQPP

[0059] KLLIHWAStRESGVPDRFSGSGSGTDFLTISNLQAEDVALYYCQQYFNAPR

[0060] TFGQQGKVEIK,

[0061] 그리고 하기 상보성 결정 영역(CDRs)을 갖는다:

[0062] VL CDR4: KSSQSVFYNNSNKKNYLA (SEQ ID NO: 24);

[0063] VL CDR5: WASTRES (SEQ ID NO: 25);

[0064] VL CDR6: QQYFNAPRT (SEQ ID NO: 26).

[0065] SEQ ID NO: 5는 하기 예에 나타낸 바와 같은 X19-A01 항체의 가변 헤비(VH) 도메인이며, 하기 서열을 가지며:

[0066] EVQLLESGGGLVQPGGLRLSCAASGFTSGYWMHWVRQAPGKGLEWVSYI

[0067] SPSGGGTHYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVRFR

[0068] SVCSNGVCRPTAYDAFDIWGQGTAVTVSS,

[0069] 그리고 하기 상보성 결정 영역(CDRs)을 갖는다:

[0070] VH CDR1: GYWM (SEQ ID NO: 17);

[0071] VH CDR2: YISPSGGGTHYADSVKG (SEQ ID NO: 18);

[0072] VH CDR3: VRFRSVCNSNGVCRPTAYDAFDI (SEQ ID NO: 20).

[0073] SEQ ID NO: 6은 X19-A01 항체의 가변 라이트(VL) 도메인이며, 하기 서열을 가지며:

[0074] DIQMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVFYNNSNKKNYLAWYQQKAGQPPK

[0075] LLIHWAStRESGVPDRFSGSGSGTDFLTISNLQAEDVALYYCQQYFNAPRT

[0076] FGQGKVEIK,

[0077] 그리고 하기 상보성 결정 영역(CDRs)을 갖는다:

[0078] VL CDR4: KSSQSVFYNNSNKKNYLA (SEQ ID NO: 24);

[0079] VL CDR5: WASTRES (SEQ ID NO: 25);

[0080] VL CDR6: QQYFNAPRT (SEQ ID NO: 26).

[0081] SEQ ID NO: 7은 하기 예에 나타낸 바와 같은 X19-A03 항체의 가변 헤비(VH) 도메인이며, 하기 서열을 가지며:

[0082] EVQLLESGGGLVQPGGLRLSCAASGFTSGYWMHWVRQAPGKGLEWVSYI

[0083] SPSGGGTHYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNLSRAEDTAVYYCARVRFR

[0084] SVCSNAVCRPTAYDAFDIWGQGTMVTVSS,

[0085] 그리고 하기 상보성 결정 영역(CDRs)을 갖는다:

[0086] VH CDR1: GYWM (SEQ ID NO: 17);

[0087] VH CDR2: YISPSGGGTHYADSVKG (SEQ ID NO: 18);

[0088] VH CDR3: VRFRSVCNSNGVCRPTAYDAFDI (SEQ ID NO: 20).

[0089] SEQ ID NO: 8은 X19-A03 항체의 가변 라이트(VL) 도메인이며, 하기 서열을 가지며:

[0090] DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVFYQSNKKNYLAWYQQKPGQPPK

[0091] LLIYWASTRESGVPDFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYFNAPRT

[0092] FGQGTKVEIK,

[0093] 그리고 하기 상보성 결정 영역(CDRs)을 갖는다:

[0094] VL CDR4: KSSQSVFYQSNKKNYLA (SEQ ID NO: 23);

[0095] VL CDR5: WASTRES (SEQ ID NO: 25);

[0096] VL CDR6: QQYFNAPRT (SEQ ID NO: 26).

[0097] SEQ ID NO: 9는 하기 예에 나타낸 바와 같은 X19-A07 항체의 가변 헤비(VH) 도메인이며, 하기 서열을 가지며:

[0098] EVQLLESGGGLVQPGGLRLSCAASGFTSGYWMHWVRQAPGKGLEWVSYI

[0099] SPSGGGTHYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNLSRAEDTAVYYCARVRFR

[0100] SVCSNGVCRPTAYDAFDIWGQGTMVTVSS,

[0101] 그리고 하기 상보성 결정 영역(CDRs)을 갖는다:

[0102] VH CDR1: GYWM (SEQ ID NO: 17);

[0103] VH CDR2: YISPSGGGTHYADSVKG (SEQ ID NO: 18);

[0104] VH CDR3: VRFRSVCNSNGVCRPTAYDAFDI (SEQ ID NO: 20).

[0105] SEQ ID NO: 10은 X19-A07 항체의 가변 라이트(VL) 도메인이며, 하기 서열을 가지며:

[0106] DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVFYNSNKKNYLAWYQQKPGQPPK

[0107] LLIYWASTRESGVPDFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYFNAPRT

[0108] FGQGTKVEIK,

[0109] 그리고 하기 상보성 결정 영역(CDRs)을 갖는다:

[0110] VL CDR4: KSSQSVFYNSNKKNYLA (SEQ ID NO: 24);

[0111] VL CDR5: WASTRES (SEQ ID NO: 25);

[0112] VL CDR6: QQYFNAPRT (SEQ ID NO: 26).

[0113] SEQ ID NO: 11은 하기 예에 나타낸 바와 같은 X19-A09 항체의 가변 헤비(VH) 도메인이며, 하기 서열을 가지며:

[0114] EVQLLESGGGLVQPGGLRLSCAASGFTSGYWMHWVRQAPGKGLEWVS

[0115] YISPSGGGTHYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVRF

[0116] RSVCNSNGVCRPTAYDAFDIWGQGTMTVSS,

[0117] 그리고 하기 상보성 결정 영역(CDRs)을 갖는다:

[0118] VH CDR1: GYWM (SEQ ID NO: 17);

[0119] VH CDR2: YISPSGGGTHYADSVKG (SEQ ID NO: 18);

[0120] VH CDR3: VRFRSVCNSNGVCRPTAYDAFDI (SEQ ID NO: 20).

[0121] SEQ ID NO: 12는 X19-A09 항체의 가변 라이트(VL) 도메인이며, 하기 서열을 가지며:

[0122] DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVFYNSNKKNYLAWYQQKPGQPPK

[0123] LLIYWASTRESGVPDFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYFNAPRT

[0124] FGQGTKVEIK,

[0125] 그리고 하기 상보성 결정 영역(CDRs)을 갖는다:

[0126] VL CDR4: KSSQSVFYNSNKKNYLA (SEQ ID NO: 24);

[0127] VL CDR5: WASTRES (SEQ ID NO: 25);

[0128] VL CDR6: QQYFNAPRT (SEQ ID NO: 26).

[0129] SEQ ID NO: 13은 하기 예에 나타낸 바와 같은 X19-A11 항체의 가변 헤비(VH) 도메인이며, 하기 서열을 가지며:

[0130] EVQLLESGGGLVQPGGLRLSCAASGFTSGYWMHWVRQAPGKGLEWVSYI

[0131] SPSGGGTHYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVRF

[0132] SVSSNGVSRPTAYDAFDIWGQGTAVTVSS,

[0133] 그리고 하기 상보성 결정 영역(CDRs)을 갖는다:

[0134] VH CDR1: GYWM (SEQ ID NO: 17);

[0135] VH CDR2: YISPSGGGTHYADSVKG (SEQ ID NO: 18);

[0136] VH CDR3: VRFRSVSNGVSRPTAYDAFDI (SEQ ID NO: 21).

[0137] SEQ ID NO: 14는 X19-A11 항체의 가변 라이트(VL) 도메인이며, 하기 서열을 가지며:

[0138] DIQMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVFYNSNKKNYLAWYQQKAGQPPK

[0139] LLIHWASTRESGVPDFSGSGSGTDFTLTISNLQAEDVALYYCQQYFNAPRT

[0140] FGQGTKVEIK,

[0141] 그리고 하기 상보성 결정 영역(CDRs)을 갖는다:

[0142] VL CDR4: KSSQSVFYNSNKKNYLA (SEQ ID NO: 24);

[0143] VL CDR5: WASTRES (SEQ ID NO: 25);

[0144] VL CDR6: QQYFNAPRT (SEQ ID NO: 26).

[0145] SEQ ID NO: 15는 하기 예에 나타낸 바와 같은 X19-C01 항체의 가변 헤비(VH) 도메인이며, 하기 서열을 가지며:

[0146] EVQLLESGGGLVQPGGLRLSCAASGFTSGYWMHWVRQAPGKGLEWVSYI

[0147] SPSGGGTHYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNLSRAEDTAVYYCARVRFR

[0148] SVSSNAVSRTAYDAFDIWGQGTMTVSS,

[0149] 그리고 하기 상보성 결정 영역(CDRs)을 갖는다:

[0150] VH CDR1: GYWM (SEQ ID NO: 17);

[0151] VH CDR2: YISPSGGGTHYADSVKG (SEQ ID NO: 18);

[0152] VH CDR3: VRFRSVSSNGVSRPTAYDAFDI (SEQ ID NO: 21).

[0153] SEQ ID NO: 16은 X19-C01 항체의 가변 라이트(VL) 도메인이며, 하기 서열을 가지며:

[0154] DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVFYQSNKKNYLAQQKPGQPPK

[0155] LLIYWASTRESGVPDFSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYFNAPRT

[0156] FGQGTKVEIK,

[0157] 그리고 하기 상보성 결정 영역(CDRs)을 갖는다:

[0158] VL CDR4: KSSQSVFYQSNKKNYLA (SEQ ID NO: 23);

[0159] VL CDR5: WASTRES (SEQ ID NO: 25);

[0160] VL CDR6: QQYFNAPRT (SEQ ID NO: 26).

[0161] 상술한 바와 같은 SEQ ID NOS의 개요는 다음과 같다:

	VH	VL	CDR1	CDR2	CDR3	CDR4	CDR5	CDR6
X19-A05	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 2	SEQ ID NO: 17	SEQ ID NO: 18	SEQ ID NO: 19	SEQ ID NO: 23	SEQ ID NO: 25	SEQ ID NO: 26
M99-B05	SEQ ID NO: 3	SEQ ID NO: 4	SEQ ID NO: 17	SEQ ID NO: 18	SEQ ID NO: 20	SEQ ID NO: 24	SEQ ID NO: 25	SEQ ID NO: 26
X19-A01	SEQ ID NO: 5	SEQ ID NO: 6	SEQ ID NO: 17	SEQ ID NO: 18	SEQ ID NO: 20	SEQ ID NO: 24	SEQ ID NO: 25	SEQ ID NO: 26
X19-A03	SEQ ID NO: 7	SEQ ID NO: 8	SEQ ID NO: 17	SEQ ID NO: 18	SEQ ID NO: 19	SEQ ID NO: 23	SEQ ID NO: 25	SEQ ID NO: 26
X19-A07	SEQ ID NO: 9	SEQ ID NO: 10	SEQ ID NO: 17	SEQ ID NO: 18	SEQ ID NO: 20	SEQ ID NO: 24	SEQ ID NO: 25	SEQ ID NO: 26
X19-A09	SEQ ID NO: 11	SEQ ID NO: 12	SEQ ID NO: 17	SEQ ID NO: 18	SEQ ID NO: 20	SEQ ID NO: 24	SEQ ID NO: 25	SEQ ID NO: 26
X19-A11	SEQ ID NO: 13	SEQ ID NO: 14	SEQ ID NO: 17	SEQ ID NO: 18	SEQ ID NO: 21	SEQ ID NO: 24	SEQ ID NO: 25	SEQ ID NO: 26
X19-C01	SEQ ID NO: 15	SEQ ID NO: 16	SEQ ID NO: 17	SEQ ID NO: 18	SEQ ID NO: 22	SEQ ID NO: 23	SEQ ID NO: 25	SEQ ID NO: 26

[0162]

- [0163] 본 발명의 제 1 견지의 다른 구현으로, 상기 항체 또는 항체 프레그먼트는 X19-A05 항체의 VH 및/또는 VL 도메인에 기초하며, 그래서 VH 도메인은 (i) SEQ ID NO: 1과 적어도 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하며, 그리고/또는 (ii) SEQ ID NO: 17의 서열과 적어도 25%, 50%, 75% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1 서열, SEQ ID NO: 18의 서열과 적어도 5%, 11%, 17%, 23%, 29%, 35%, 47%, 52%, 58%, 64%, 70%, 76%, 82%, 94% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 서열, 및 SEQ ID NO: 19의 서열과 적어도 4%, 9%, 13%, 18%, 22%, 27%, 31%, 36%, 40%, 45%, 50%, 54%, 59%, 63%, 68%, 72%, 77%, 81%, 86%, 90%, 95% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3 서열을 포함하며; 그리고/또는
- [0164] VL 도메인은 (iii) SEQ ID NO: 2와 적어도 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하며 그리고/또는 (iv) SEQ ID NO: 23의 서열과 적어도 5%, 11%, 17%, 23%, 29%, 35%, 47%, 52%, 58%, 64%, 70%, 76%, 82%, 94% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR4 서열; SEQ ID NO: 25의 서열과 적어도 14%, 28%, 42%, 57%, 71%, 85% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR5 서열 및 SEQ ID NO: 26의 서열과 적어도 11%, 22%, 33%, 44%, 55%, 66%, 77%, 88% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR6 서열을 포함한다. VH 도메인은 SEQ ID NO: 1을 포함하며, VL 도메인은 SEQ ID NO: 2의 서열을 포함하는 것이 바람직할 수 있다.
- [0165] 이러한 구현의 항체 또는 항체 프레그먼트는 중쇄 불변(CH)부 또는 이의 프레그먼트를 더 포함할 수 있으며, 여기서 프레그먼트는 예를 들어, 적어도 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 120, 140, 160, 180, 200, 220, 240, 260, 280, 300, 320, 또는 그 이상의 CH부를 포함할 수 있다. 일 구현으로 이는 인간 CH부이지만, CH부에 대해 특별한 제한은 없다. 당해 기술분야는 인간 CH부의 다수 예를 포함한다. 이와 관련하여 사용되는 예시적인 인간 CH부는 다음을 포함한다:
- [0166] ASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH
- [0167] TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC
- [0168] DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPE
- [0169] VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK
- [0170] VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPS
- [0171] DIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS
- [0172] VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 27); 및
- [0173] ASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH
- [0174] TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC
- [0175] DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPE
- [0176] VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK
- [0177] VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPS
- [0178] DIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS
- [0179] VMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO: 28).
- [0180] SEQ ID NO:27은 M99-B05의 CH부이며, 인간 IgG1의 CH부의 서열(UniProtKB/Swiss-Prot: P01857.1)을 갖는다. SEQ ID NO: 28은 X19-A05의 CH부이다. SEQ ID NO: 28은 SEQ ID NO: 28의 CH부에서 말단 K(Lys)이 제거되어 SEQ ID NO: 27과 다르며, 이는 펩타다아제 분해 가능성을 줄이거나 피한다.

[0181] 이러한 구현의 항체 또는 항체 프레그먼트는 부가적으로, 또는 선택적으로 경쇄 불변(CL)부 또는 이의 프레그먼트를 더 포함할 수 있으며, 여기서 프레그먼트는 예를 들어, 적어도 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100 또는 그 이상의 아미노산의 CL부를 포함할 수 있다. CL부 또는 이의 프레그먼트는 VL 도메인에 연결될 수 있다. 일 구현으로 이는 인간 CL부이나 CL부에 대해 특별한 제한은 없다. 당해 기술분야는 인간 CL부의 다수 예를 포함한다. 이와 관련하여 사용되는 예시적인 인간 CL부는 다음을 포함한다:

RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGN

SQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFn

RGEC (SEQ ID NO: 29).

[0185] SEQ ID NO: 29는 M99-B05 및 X19-A05 모두의 CL부이며, 인간 카파의 CL부의 서열(UniProtKB/Swiss-Prot: P01834.1)을 갖는다.

[0186] 이러한 구현에 따르면, VH 도메인은 SEQ ID NO: 28의 CH부에 연결된 SEQ ID NO: 1의 서열을 포함하며, VL 도메인은 SEQ ID NO: 29의 CL 부에 연결된 SEQ ID NO: 2의 서열을 포함한다.

[0187] 본 발명의 제 1 견지의 다른 구현으로, 상기 항체 또는 항체 프레그먼트는 M99-B05 항체의 VH 및/또는 VL 도메인에 기초하며, 그래서

[0188] VH 도메인은 (i) SEQ ID NO: 3과 적어도 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하며, 그리고/또는 (ii) SEQ ID NO: 17의 서열과 적어도 25%, 50%, 75% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1 서열, SEQ ID NO: 18의 서열과 적어도 5%, 11%, 17%, 23%, 29%, 35%, 47%, 52%, 58%, 64%, 70%, 76%, 82%, 94% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 서열, 및 SEQ ID NO: 20의 서열과 적어도 4%, 9%, 13%, 18%, 22%, 27%, 31%, 36%, 40%, 45%, 50%, 54%, 59%, 63%, 68%, 72%, 77%, 81%, 86%, 90%, 95% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3 서열을 포함하며; 그리고/또는

[0189] VL 도메인은 (iii) SEQ ID NO: 4와 적어도 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하며 그리고/또는 (iv) SEQ ID NO: 24의 서열과 적어도 5%, 11%, 17%, 23%, 29%, 35%, 47%, 52%, 58%, 64%, 70%, 76%, 82%, 94% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR4 서열; SEQ ID NO: 25의 서열과 적어도 14%, 28%, 42%, 57%, 71%, 85% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR5 서열 및 SEQ ID NO: 26의 서열과 적어도 11%, 22%, 33%, 44%, 55%, 66%, 77%, 88% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR6 서열을 포함한다. VH 도메인은 SEQ ID NO: 3을 포함하며, VL 도메인은 SEQ ID NO: 4의 서열을 포함하는 것이 바람직할 수 있다.

[0190] 이러한 구현의 항체 또는 항체 프레그먼트는 중쇄 불변(CH)부 또는 이의 프레그먼트를 더 포함할 수 있으며, 여기서 프레그먼트는 예를 들어 적어도 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 120, 140, 160, 180, 200, 220, 240, 260, 280, 300, 320 또는 그 이상의 아미노산의 CH부를 포함할 수 있다. CH부 또는 이의 프레그먼트는 VH 도메인에 연결될 수 있다. 일 구현으로 이는 CH부이나 CH부에 대해 특별한 제한은 없다. 당해 기술분야는 인간 CH부의 다수 예를 포함한다. 이와 관련하여 사용되는 예시적인 인간 CH부는 SEQ ID NO: 27 및 SEQ ID NO: 28을 포함한다.

[0191] 이러한 구현의 항체 또는 항체 프레그먼트는 부가적으로, 또는 선택적으로 경쇄 불변(CL)부 또는 이의 프레그먼트를 더 포함할 수 있으며, 여기서 프레그먼트는 예를 들어, 적어도 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100 또는 그 이상의 아미노산의 CL부를 포함할 수 있다. CL부 또는 이의 프레그먼트는 VL 도메인에 연결될 수 있다. 일 구현으로 이는 인간 CL부이나 CL부에 대해 특별한 제한은 없다. 당해 기술분야는 인간 CL부의 다수

예를 포함한다. 이와 관련하여 사용되는 예시적인 인간 CL부는 SEQ ID NO: 29를 포함한다:

[0192] 이러한 구현에 따르면, VH 도메인은 SEQ ID NO: 27 또는 28의 CH부와 연결된 SEQ ID NO: 3의 서열을 포함하며, 그리고 VL 도메인은 SEQ ID NO: 29의 CL 부와 연결된 SEQ ID NO: 4의 서열을 포함한다.

[0193] 본 발명의 제 1 견지의 다른 구현으로, 상기 항체 또는 항체 프레그먼트는 X19-A01 항체의 VH 및/또는 VL 도메인에 기초하며, 그래서

[0194] VH 도메인은 (i) SEQ ID NO: 5과 적어도 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하며, 그리고/또는 (ii) SEQ ID NO: 17의 서열과 적어도 25%, 50%, 75% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1 서열, SEQ ID NO: 18의 서열과 적어도 5%, 11%, 17%, 23%, 29%, 35%, 47%, 52%, 58%, 64%, 70%, 76%, 82%, 94% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 서열, 및 SEQ ID NO: 20의 서열과 적어도 4%, 9%, 13%, 18%, 22%, 27%, 31%, 36%, 40%, 45%, 50%, 54%, 59%, 63%, 68%, 72%, 77%, 81%, 86%, 90%, 95% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3 서열을 포함하며; 그리고/또는

[0195] VL 도메인은 (iii) SEQ ID NO: 6과 적어도 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하며 그리고/또는 (iv) SEQ ID NO: 24의 서열과 적어도 5%, 11%, 17%, 23%, 29%, 35%, 47%, 52%, 58%, 64%, 70%, 76%, 82%, 94% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR4 서열; SEQ ID NO: 25의 서열과 적어도 14%, 28%, 42%, 57%, 71%, 85% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR5 서열 및 SEQ ID NO: 26의 서열과 적어도 11%, 22%, 33%, 44%, 55%, 66%, 77%, 88% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR6 서열을 포함한다. VH 도메인은 SEQ ID NO: 5를 포함하며, VL 도메인은 SEQ ID NO: 6의 서열을 포함하는 것이 바람직할 수 있다.

[0196] 이러한 구현의 항체 또는 항체 프레그먼트는 중쇄 불변(CH)부 또는 이의 프레그먼트를 더 포함할 수 있으며, 여기서 프레그먼트는 예를 들어 적어도 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 120, 140, 160, 180, 200, 220, 240, 260, 280, 300, 320 또는 그 이상의 아미노산의 CH부를 포함할 수 있다. CH부 또는 이의 프레그먼트는 VH 도메인에 연결될 수 있다. 일 구현으로 이는 CH부이나 CH부에 대해 특별한 제한은 없다. 당해 기술분야는 인간 CH부의 다수 예를 포함한다. 이와 관련하여 사용되는 예시적인 인간 CH부는 SEQ ID NO: 27 및 SEQ ID NO: 28을 포함한다.

[0197] 이러한 구현의 항체 또는 항체 프레그먼트는 부가적으로, 또는 선택적으로 경쇄 불변(CL)부 또는 이의 프레그먼트를 더 포함할 수 있으며, 여기서 프레그먼트는 예를 들어, 적어도 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100 또는 그 이상의 아미노산의 CL부를 포함할 수 있다. CL부 또는 이의 프레그먼트는 VL 도메인에 연결될 수 있다. 일 구현으로 이는 인간 CL부이나 CL부에 대해 특별한 제한은 없다. 당해 기술분야는 인간 CL부의 다수 예를 포함한다. 이와 관련하여 사용되는 예시적인 인간 CL부는 SEQ ID NO: 29를 포함한다:

[0198] 이러한 구현에 따르면, VH 도메인은 SEQ ID NO: 27 또는 28의 CH부와 연결된 SEQ ID NO: 5의 서열을 포함하며, 그리고 VL 도메인은 SEQ ID NO: 29의 CL 부와 연결된 SEQ ID NO: 6의 서열을 포함한다.

[0199] 본 발명의 제 1 견지의 다른 구현으로, 상기 항체 또는 항체 프레그먼트는 X19-A03 항체의 VH 및/또는 VL 도메인에 기초하며, 그래서

[0200] VH 도메인은 (i) SEQ ID NO: 7과 적어도 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하며, 그리고/또는 (ii) SEQ ID NO: 17의 서열과 적어도 25%, 50%, 75% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1 서열, SEQ ID NO: 18의 서열과 적어도 5%, 11%, 17%, 23%, 29%, 35%, 47%, 52%, 58%, 64%, 70%, 76%, 82%, 94% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 서열, 및 SEQ ID

NO: 19의 서열과 적어도 4%, 9%, 13%, 18%, 22%, 27%, 31%, 36%, 40%, 45%, 50%, 54%, 59%, 63%, 68%, 72%, 77%, 81%, 86%, 90%, 95% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3 서열을 포함하며; 그리고/또는

[0201] VL 도메인은 (iii) SEQ ID NO: 8과 적어도 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하며 그리고/또는 (iv) SEQ ID NO: 23의 서열과 적어도 5%, 11%, 17%, 23%, 29%, 35%, 47%, 52%, 58%, 64%, 70%, 76%, 82%, 94% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR4 서열; SEQ ID NO: 25의 서열과 적어도 14%, 28%, 42%, 57%, 71%, 85% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR5 서열 및 SEQ ID NO: 26의 서열과 적어도 11%, 22%, 33%, 44%, 55%, 66%, 77%, 88% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR6 서열을 포함한다. VH 도메인은 SEQ ID NO: 7을 포함하며, VL 도메인은 SEQ ID NO: 8의 서열을 포함하는 것이 바람직할 수 있다.

[0202] 이러한 구현의 항체 또는 항체 프레그먼트는 중쇄 불변(CH)부 또는 이의 프레그먼트를 더 포함할 수 있으며, 여기서 프레그먼트는 예를 들어 적어도 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 120, 140, 160, 180, 200, 220, 240, 260, 280, 300, 320 또는 그 이상의 아미노산의 CH부를 포함할 수 있다. CH부 또는 이의 프레그먼트는 VH 도메인에 연결될 수 있다. 일 구현으로 이는 CH부이나 CH부에 대해 특별한 제한은 없다. 당해 기술분야는 인간 CH부의 다수 예를 포함한다. 이와 관련하여 사용되는 예시적인 인간 CH부는 SEQ ID NO: 27 및 SEQ ID NO: 28을 포함한다.

[0203] 이러한 구현의 항체 또는 항체 프레그먼트는 부가적으로, 또는 선택적으로 경쇄 불변(CL)부 또는 이의 프레그먼트를 더 포함할 수 있으며, 여기서 프레그먼트는 예를 들어, 적어도 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100 또는 그 이상의 아미노산의 CL부를 포함할 수 있다. CL부 또는 이의 프레그먼트는 VL 도메인에 연결될 수 있다. 일 구현으로 이는 인간 CL부이나 CL부에 대해 특별한 제한은 없다. 당해 기술분야는 인간 CL부의 다수 예를 포함한다. 이와 관련하여 사용되는 예시적인 인간 CL부는 SEQ ID NO: 29를 포함한다.

[0204] 이러한 구현에 따르면, VH 도메인은 SEQ ID NO: 27 또는 28의 CH부와 연결된 SEQ ID NO: 7의 서열을 포함하며, 그리고 VL 도메인은 SEQ ID NO: 29의 CL 부와 연결된 SEQ ID NO: 8의 서열을 포함한다.

[0205] 본 발명의 제 1 견지의 다른 구현으로, 상기 항체 또는 항체 프레그먼트는 X19-A07 항체의 VH 및/또는 VL 도메인에 기초하며, 그래서

[0206] VH 도메인은 (i) SEQ ID NO: 9와 적어도 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하며, 그리고/또는 (ii) SEQ ID NO: 17의 서열과 적어도 25%, 50%, 75% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1 서열, SEQ ID NO: 18의 서열과 적어도 5%, 11%, 17%, 23%, 29%, 35%, 47%, 52%, 58%, 64%, 70%, 76%, 82%, 94% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 서열, 및 SEQ ID NO: 20의 서열과 적어도 4%, 9%, 13%, 18%, 22%, 27%, 31%, 36%, 40%, 45%, 50%, 54%, 59%, 63%, 68%, 72%, 77%, 81%, 86%, 90%, 95% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3 서열을 포함하며; 그리고/또는

[0207] VL 도메인은 (iii) SEQ ID NO: 10과 적어도 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하며 그리고/또는 (iv) SEQ ID NO: 24의 서열과 적어도 5%, 11%, 17%, 23%, 29%, 35%, 47%, 52%, 58%, 64%, 70%, 76%, 82%, 94% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR4 서열; SEQ ID NO: 25의 서열과 적어도 14%, 28%, 42%, 57%, 71%, 85% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR5 서열 및 SEQ ID NO: 26의 서열과 적어도 11%, 22%, 33%, 44%, 55%, 66%, 77%, 88% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR6 서열을 포함한다. VH 도메인은 SEQ ID NO: 9을 포함하며, VL 도메인은 SEQ ID NO: 10의 서열을 포함하는 것이 바람직할 수 있다.

[0208] 이러한 구현의 항체 또는 항체 프레그먼트는 중쇄 불변(CH)부 또는 이의 프레그먼트를 더 포함할 수 있으며, 여

기서 프레그먼트는 예를 들어 적어도 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 120, 140, 160, 180, 200, 220, 240, 260, 280, 300, 320 또는 그 이상의 아미노산의 CH부를 포함할 수 있다. CH부 또는 이의 프레그먼트는 VH 도메인에 연결될 수 있다. 일 구현으로 이는 CH부이나 CH부에 대해 특별한 제한은 없다. 당해 기술분야는 인간 CH부의 다수 예를 포함한다. 이와 관련하여 사용되는 예시적인 인간 CH부는 SEQ ID NO: 27 및 SEQ ID NO: 28을 포함한다.

[0209] 이러한 구현의 항체 또는 항체 프레그먼트는 부가적으로, 또는 선택적으로 경쇄 불변(CL)부 또는 이의 프레그먼트를 더 포함할 수 있으며, 여기서 프레그먼트는 예를 들어, 적어도 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100 또는 그 이상의 아미노산의 CL부를 포함할 수 있다. CL부 또는 이의 프레그먼트는 VL 도메인에 연결될 수 있다. 일 구현으로 이는 인간 CL부이나 CL부에 대해 특별한 제한은 없다. 당해 기술분야는 인간 CL부의 다수 예를 포함한다. 이와 관련하여 사용되는 예시적인 인간 CL부는 SEQ ID NO: 29를 포함한다:

[0210] 이러한 구현에 따르면, VH 도메인은 SEQ ID NO: 27 또는 28의 CH부와 연결된 SEQ ID NO: 9의 서열을 포함하며, 그리고 VL 도메인은 SEQ ID NO: 29의 CL 부와 연결된 SEQ ID NO: 10의 서열을 포함한다.

[0211] 본 발명의 제 1 견지의 다른 구현으로, 상기 항체 또는 항체 프레그먼트는 X19-A09 항체의 VH 및/또는 VL 도메인에 기초하며, 그래서

VH 도메인은 (i) SEQ ID NO: 11과 적어도 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하며, 그리고/또는 (ii) SEQ ID NO: 17의 서열과 적어도 25%, 50%, 75% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1 서열, SEQ ID NO: 18의 서열과 적어도 5%, 11%, 17%, 23%, 29%, 35%, 47%, 52%, 58%, 64%, 70%, 76%, 82%, 94% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 서열, 및 SEQ ID NO: 20의 서열과 적어도 4%, 9%, 13%, 18%, 22%, 27%, 31%, 36%, 40%, 45%, 50%, 54%, 59%, 63%, 68%, 72%, 77%, 81%, 86%, 90%, 95% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3 서열을 포함하며; 그리고/또는

VL 도메인은 (iii) SEQ ID NO: 12와 적어도 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하며 그리고/또는 (iv) SEQ ID NO: 24의 서열과 적어도 5%, 11%, 17%, 23%, 29%, 35%, 47%, 52%, 58%, 64%, 70%, 76%, 82%, 94% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR4 서열; SEQ ID NO: 25의 서열과 적어도 14%, 28%, 42%, 57%, 71%, 85% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR5 서열 및 SEQ ID NO: 26의 서열과 적어도 11%, 22%, 33%, 44%, 55%, 66%, 77%, 88% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR6 서열을 포함한다. VH 도메인은 SEQ ID NO: 11을 포함하며, VL 도메인은 SEQ ID NO: 12의 서열을 포함하는 것이 바람직할 수 있다.

[0214] 이러한 구현의 항체 또는 항체 프레그먼트는 중쇄 불변(CH)부 또는 이의 프레그먼트를 더 포함할 수 있으며, 여기서 프레그먼트는 예를 들어 적어도 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 120, 140, 160, 180, 200, 220, 240, 260, 280, 300, 320 또는 그 이상의 아미노산의 CH부를 포함할 수 있다. CH부 또는 이의 프레그먼트는 VH 도메인에 연결될 수 있다. 일 구현으로 이는 CH부이나 CH부에 대해 특별한 제한은 없다. 당해 기술분야는 인간 CH부의 다수 예를 포함한다. 이와 관련하여 사용되는 예시적인 인간 CH부는 SEQ ID NO: 27 및 SEQ ID NO: 28을 포함한다.

[0215] 이러한 구현의 항체 또는 항체 프레그먼트는 부가적으로, 또는 선택적으로 경쇄 불변(CL)부 또는 이의 프레그먼트를 더 포함할 수 있으며, 여기서 프레그먼트는 예를 들어, 적어도 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100 또는 그 이상의 아미노산의 CL부를 포함할 수 있다. CL부 또는 이의 프레그먼트는 VL 도메인에 연결될 수 있다. 일 구현으로 이는 인간 CL부이나 CL부에 대해 특별한 제한은 없다. 당해 기술분야는 인간 CL부의 다수 예를 포함한다. 이와 관련하여 사용되는 예시적인 인간 CL부는 SEQ ID NO: 29를 포함한다:

- [0216] 이러한 구현에 따르면, VH 도메인은 SEQ ID NO: 27 또는 28의 CH부와 연결된 SEQ ID NO: 11의 서열을 포함하며, 그리고 VL 도메인은 SEQ ID NO: 29의 CL 부와 연결된 SEQ ID NO: 12의 서열을 포함한다.
- [0217] 본 발명의 제 1 견지의 다른 구현으로, 상기 항체 또는 항체 프레그먼트는 X19-A11 항체의 VH 및/또는 VL 도메인에 기초하며, 그래서
- [0218] VH 도메인은 (i) SEQ ID NO: 13과 적어도 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하며, 그리고/또는 (ii) SEQ ID NO: 17의 서열과 적어도 25%, 50%, 75% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1 서열, SEQ ID NO: 18의 서열과 적어도 5%, 11%, 17%, 23%, 29%, 35%, 47%, 52%, 58%, 64%, 70%, 76%, 82%, 94% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 서열, 및 SEQ ID NO: 21의 서열과 적어도 4%, 9%, 13%, 18%, 22%, 27%, 31%, 36%, 40%, 45%, 50%, 54%, 59%, 63%, 68%, 72%, 77%, 81%, 86%, 90%, 95% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3 서열을 포함하며; 그리고/또는
- [0219] VL 도메인은 (iii) SEQ ID NO: 14와 적어도 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하며 그리고/또는 (iv) SEQ ID NO: 24의 서열과 적어도 5%, 11%, 17%, 23%, 29%, 35%, 47%, 52%, 58%, 64%, 70%, 76%, 82%, 94% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR4 서열; SEQ ID NO: 25의 서열과 적어도 14%, 28%, 42%, 57%, 71%, 85% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR5 서열 및 SEQ ID NO: 26의 서열과 적어도 11%, 22%, 33%, 44%, 55%, 66%, 77%, 88% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR6 서열을 포함한다. VH 도메인은 SEQ ID NO: 13을 포함하며, VL 도메인은 SEQ ID NO: 14의 서열을 포함하는 것이 바람직할 수 있다.
- [0220] 이러한 구현의 항체 또는 항체 프레그먼트는 중쇄 불변(CH)부 또는 이의 프레그먼트를 더 포함할 수 있으며, 여기서 프레그먼트는 예를 들어 적어도 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 120, 140, 160, 180, 200, 220, 240, 260, 280, 300, 320 또는 그 이상의 아미노산의 CH부를 포함할 수 있다. CH부 또는 이의 프레그먼트는 VH 도메인에 연결될 수 있다. 일 구현으로 이는 CH부이나 CH부에 대해 특별한 제한은 없다. 당해 기술분야는 인간 CH부의 다수 예를 포함한다. 이와 관련하여 사용되는 예시적인 인간 CH부는 SEQ ID NO: 27 및 SEQ ID NO: 28을 포함한다.
- [0221] 이러한 구현의 항체 또는 항체 프레그먼트는 부가적으로, 또는 선택적으로 경쇄 불변(CL)부 또는 이의 프레그먼트를 더 포함할 수 있으며, 여기서 프레그먼트는 예를 들어, 적어도 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100 또는 그 이상의 아미노산의 CL부를 포함할 수 있다. CL부 또는 이의 프레그먼트는 VL 도메인에 연결될 수 있다. 일 구현으로 이는 인간 CL부이나 CL부에 대해 특별한 제한은 없다. 당해 기술분야는 인간 CL부의 다수 예를 포함한다. 이와 관련하여 사용되는 예시적인 인간 CL부는 SEQ ID NO: 29를 포함한다.
- [0222] 이러한 구현에 따르면, VH 도메인은 SEQ ID NO: 27 또는 28의 CH부와 연결된 SEQ ID NO: 13의 서열을 포함하며, 그리고 VL 도메인은 SEQ ID NO: 29의 CL 부와 연결된 SEQ ID NO: 14의 서열을 포함한다.
- [0223] 본 발명의 제 1 견지의 다른 구현으로, 상기 항체 또는 항체 프레그먼트는 X19-C01 항체의 VH 및/또는 VL 도메인에 기초하며, 그래서
- [0224] VH 도메인은 (i) SEQ ID NO: 15와 적어도 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하며, 그리고/또는 (ii) SEQ ID NO: 17의 서열과 적어도 25%, 50%, 75% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1 서열, SEQ ID NO: 18의 서열과 적어도 5%, 11%, 17%, 23%, 29%, 35%, 47%, 52%, 58%, 64%, 70%, 76%, 82%, 94% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 서열, 및 SEQ ID NO: 22의 서열과 적어도 4%, 9%, 13%, 18%, 22%, 27%, 31%, 36%, 40%, 45%, 50%, 54%, 59%, 63%, 68%, 72%, 77%, 81%, 86%, 90%, 95% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3 서열을 포함하며; 그리고/또는

- [0225] VL 도메인은 (iii) SEQ ID NO: 16과 적어도 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하며 그리고/또는 (iv) SEQ ID NO: 23의 서열과 적어도 5%, 11%, 17%, 23%, 29%, 35%, 47%, 52%, 58%, 64%, 70%, 76%, 82%, 94% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR4 서열; SEQ ID NO: 25의 서열과 적어도 14%, 28%, 42%, 57%, 71%, 85% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR5 서열 및 SEQ ID NO: 26의 서열과 적어도 11%, 22%, 33%, 44%, 55%, 66%, 77%, 88% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR6 서열을 포함한다. VH 도메인은 SEQ ID NO: 15를 포함하며, VL 도메인은 SEQ ID NO: 16의 서열을 포함하는 것이 바람직 할 수 있다.
- [0226] 이러한 구현의 항체 또는 항체 프레그먼트는 중쇄 불변(CH)부 또는 이의 프레그먼트를 더 포함할 수 있으며, 여기서 프레그먼트는 예를 들어 적어도 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 120, 140, 160, 180, 200, 220, 240, 260, 280, 300, 320 또는 그 이상의 아미노산의 CH부를 포함할 수 있다. CH부 또는 이의 프레그먼트는 VH 도메인에 연결될 수 있다. 일 구현으로 이는 CH부이나 CH부에 대해 특별한 제한은 없다. 당해 기술분야는 인간 CH부의 다수 예를 포함한다. 이와 관련하여 사용되는 예시적인 인간 CH부는 SEQ ID NO: 27 및 SEQ ID NO: 28을 포함한다.
- [0227] 이러한 구현의 항체 또는 항체 프레그먼트는 부가적으로, 또는 선택적으로 경쇄 불변(CL)부 또는 이의 프레그먼트를 더 포함할 수 있으며, 여기서 프레그먼트는 예를 들어, 적어도 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100 또는 그 이상의 아미노산의 CL부를 포함할 수 있다. CL부 또는 이의 프레그먼트는 VL 도메인에 연결될 수 있다. 일 구현으로 이는 인간 CL부이나 CL부에 대해 특별한 제한은 없다. 당해 기술분야는 인간 CL부의 다수 예를 포함한다. 이와 관련하여 사용되는 예시적인 인간 CL부는 SEQ ID NO: 29를 포함한다:
- [0228] 이러한 구현에 따르면, VH 도메인은 SEQ ID NO: 27 또는 28의 CH부와 연결된 SEQ ID NO: 15의 서열을 포함하며, 그리고 VL 도메인은 SEQ ID NO: 29의 CL 부와 연결된 SEQ ID NO: 16의 서열을 포함한다.
- [0229] 다양한 상기 구현들에서, CH부 및 이의 프레그먼트의 디스커션은 이의 변이체를 사용하는 옵션을 포함하는 것으로 또한 의도된다. 변이체는 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 서열 동일성과 같이 언급된 CH부 또는 이의 프레그먼트와 100%미만의 서열 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 이에 따라, CH부 또는 이의 프레그먼트의 변이체는 상기 언급된 CH부 또는 이의 프레그먼트와 비교하여 하나 이상의(2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 120, 130, 140, 150, 160 이상과 같은) 서열 변이를 가질 수 있다. 서열 변이는 상기 언급된 CH부 또는 이의 프레그먼트와 비교하여 하나 이상의 아미노산 부가, 하나 이상의 아미노산 결실 및/또는 하나 이상의 아미노산 치환에 기인할 수 있다. 하나 이상의 변이가 존재하는 경우에, 그 변이는 연속적이거나 비연속적 위치에 존재할 수 있다.
- [0230] 마찬가지로, 다양한 상기 구현들에서, CL부 및 이의 프레그먼트의 디스커션은 이의 변이체를 사용하는 옵션을 포함하는 것으로 또한 의도된다. 변이체는 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 서열 동일성과 같이 언급된 CL부 또는 이의 프레그먼트와 100%미만의 서열 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 이에 따라, CL부 또는 이의 프레그먼트의 변이체는 상기 언급된 CL부 또는 이의 프레그먼트와 비교하여 하나 이상의(2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 60 이상과 같은) 서열 변이를 가질 수 있다. 서열 변이는 상기 언급된 CL부 또는 이의 프레그먼트와 비교하여 하나 이상의 아미노산 부가, 하나 이상의 아미노산 결실 및/또는 하나 이상의 아미노산 치환에 기인할 수 있다. 하나 이상의 변이가 존재하는 경우에, 그 변이는 연속적이거나 비연속적 위치에 존재할 수 있다.
- [0231] 상기 구현에 따른 항체 또는 항체 프레그먼트에서, VH 도메인, VL 도메인, 또는 VH 및 VL 도메인 모두 각각 상기 언급된 SEQ ID NO의 하나 이상(둘 또는 셋 이상과 같은)의 개별 CDR 서열에 상응하는 상기 언급된 SEQ ID NOs에 대하여 또는 상기 언급된 SEQ ID NOs의 경우와 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0232] 선택적으로, VH 도메인, VL 도메인 또는 VH 및 VL 도메인 모두는 각각 상기 언급된 SEQ ID NO의 하나 이상(둘 또는 셋 이상과 같은)의 개별 CDR 서열에 상응하는 상기 언급된 SEQ ID NOs에 대하여 또는 상기 언급된 SEQ ID NOs의 경우와 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0233] 본 발명의 제 1 견지에 따르면, 상기 언급된 SEQ ID NO와 100% 미만을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 서열은 상기 언급된 SEQ ID NO와 비교하여 하나 이상의(2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 또는 그 이상)의 서열 변이를 갖는 서열일 수 있다. 서열 변이는 상기 언급된 SEQ ID NO와 비교한 하나 이상의(2, 3, 4, 5 6, 7, 8, 9, 10 또는 그 이상과 같은) 아미노산 부가, 하나 이상의(2, 3, 4, 5 6, 7, 8, 9, 10 또는 그 이상과 같은) 아미노산 결실 및/또는 하나 이상의(2, 3, 4, 5 6, 7, 8, 9, 10 또는 그 이상과 같은) 아미노산 치환에 기인할 수 있다. 하나 이상의 변이가 존재하는 경우에, 그 변이는 연속적이거나 비연속적인 위치에 존재할 수 있다.

[0234] SEQ ID NOs: 1 내지 16으로부터 선택된 언급된 SEQ ID NO와 100%미만이지만, 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 서열 동일성을 갖는 변이체 항원 바인딩부에서 서열의 하나 이상의 변이는 하나 이상의 프레임워크부를 형성하는 아미노산 서열에 존재하거나 독점적으로 존재할 수 있다. 프레임워크부는 본 명세서에 정의한 CDRs를 형성하지 않는 아미노산부를 포함한다.

[0235] 부가적으로 또는 선택적으로, SEQ ID NOs: 1 내지 16으로부터 선택된 언급된 SEQ ID NO와 100%미만이지만, 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 서열 동일성을 갖는 변이체 항원 바인딩부에서 서열의 하나 이상의 변이는 하나 이상의 상보성 결정 영역(complementarity determining region)(CDRs)을 형성하는 아미노산 서열에 존재하거나 독점적으로 존재할 수 있다. SEQ ID NOs: 1-16에서 CDRs은 상기 정의한 바와 같으며 또한 하기 표 2 및 3에 나타내었다.

[0236] 본 발명의 제 1 견지의 모든 구현에서, 일반적인 고 수준의 서열 변형은 바인딩 특성을 실질적으로 변화시키지 않고 그리고/또는 항체 또는 항체 프레그먼트의 생체내(in vivo) 효능을 실질적으로 변화시키지 않고 CDRs에서 보다 프레임워크부에서 용인될 수 있다.

[0237] 따라서, 예를 들어, 다른 구현으로, 본 발명의 제 1 견지에 따른 항체 또는 항체 프레그먼트에서 하나의, 상기 또는 각각의 CDR은 SEQ ID NOs 17 내지 26 중 정의된 '모(parent)' CDR 서열과 비교하여 최대 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10 아미노산 치환, 삽입 및/또는 결실을 포함할 수 있으며, 그리고 바람직하게 5, 4, 3, 2 또는 1 이하의 아미노산 치환, 삽입 및/또는 결실을 포함할 수 있으며; 이에 상응하는 정의된 SEQ ID NO와 비교하여 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 미만으로 서열 동일성 수준을 감소시키지 않는 CDR 서열에서 수행되는 아미노산 치환, 삽입 및/또는 결실의 수가 바람직할 수 있다.

[0238] 부가적으로, 그리고/또는 선택적으로, 본 발명의 제 1 견지에 따른 항체 또는 항체 프레그먼트에서 하나의, 상기 또는 각각의 프레임워크부는 SEQ ID NOs 1 내지 16에 정의된 VH 또는 VL 서열 중 어느 것에 존재하는 이에 상응하는 프레임워크 서열과 비교하여 최대 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 또는 그 이상의 아미노산 치환, 삽입 및/또는 결실을 포함할 수 있으며, 그리고 선택적으로 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 또는 1 이하의 아미노산 치환, 삽입 및/또는 결실을 포함할 수 있으며; 이에 상응하는 정의된 SEQ ID NO와 비교하여 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 미만으로 서열 동일성 수준을 감소시키지 않는 어느 프레임워크부에서 수행되는 아미노산 치환, 삽입 및/또는 결실의 수가 바람직할 수 있다.

[0239] 하나 이상의 프레임워크 또는 상보성 결정 영역에서의 치환은 보존적이거나 비보존적 치환일 수 있다. "보존적

치환"은 Gly, Ala; Val, Ile, Leu; Asp, Glu; Asn, Gln; Ser, Thr; Lys, Arg; 및 Phe, Tyr과 같은 의도된 조합이다.

[0240] 변형 항원 바인딩부(들)를 포함하는 항체 또는 항체 프레그먼트의 안정성을 향상시키기 위해, 변형 항원 바인딩부(들)를 포함하는 항체 또는 항체 프레그먼트의 면역원성을 감소시키기 위해, 그리고/또는 제조 공정의 결점이 될 수 있는 특성들을 회피하거나 감소시키기 위해 생식계열 서열에 더 가까운 항원 바인딩부(들)의 서열을 제공하기 위해 서열 변이가 도입될 수 있다. 적절한 서열 변이의 비제한적인 예는 X19-A01, X19-A03, X19-A05, X19-A07, X19-A09, X19-A11 및/또는 X19-C01을 생성하기 위해 M99-B05의 중쇄 및/또는 경쇄 서열 내로 도입되는 변이를 참조로 실시예에 나타내었다.

[0241] 이러한 변이체는 하기와 나타낸 바와 같은 단백질 합성 및 부위 특이적 돌연변이 유도의 방법을 이용하여 이루어질 수 있다.

[0242] 본 발명의 제 1 견지의 항체 또는 항체 프레그먼트의 VH 도메인, VL 도메인 또는 VH 및 VL 도메인 모두가 상기 언급된 SEQ ID NO 또는 하나 이상의 각각의 상기 언급된 SEQ ID NO와 100% 미만의 서열 동일성을 갖는 하나 이상의 아미노산 서열을 포함하는 경우에, 일 구현으로 포스포릴콜린 및/또는 포스포릴콜린 컨주케이트에 바인딩하는 항체 또는 항체 프레그먼트의 능력은, 예를 들어, 이에 상응하는 '모(parent)' 항체 또는 항체 프레그먼트의 능력과 실질적으로 동등하거나(즉, 적어도 80%, 85%, 90% 또는 95%), 또는 그 이상이며, 여기서 이에 상응하는 '모(parent)' 항체 또는 항체 프레그먼트의 VH 도메인 및 VL 도메인은 각각 상기, 또는 각각의 언급된 SEQ ID NO와 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0243] 따라서, 예를 들어, 항체 또는 항체 프레그먼트가 X19-A05 항체이고, VH 도메인이 SEQ ID NO: 1과 100%미만이지만, 적어도 80%, 85%, 90% 또는 95% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경우에; 그리고/또는 VL 도메인이 SEQ ID: 2와 100%미만이지만, 적어도 80%, 85%, 90% 또는 95% 서열 동일성을 갖는 아미노산을 포함하는 경우에, 포르포릴콜린 및/또는 포스포릴콜린 컨주케이트에 바인딩하는 항체 또는 항체 프레그먼트의 능력은 SEQ ID NO: 1의 서열을 포함하는 VH 도메인 및 SEQ ID NO: 2의 서열을 포함하는 VL 도메인을 갖는 이에 상응하는 '모(parent)' 항체 또는 항체 프레그먼트의 바인딩 능력과 동등할 수 있다. 이와 관련하여, "이에 상응하는 '모(parent)' 항체 또는 항체 프레그먼트"는 수중에 있는 "항체 또는 항체 프레그먼트"와 "이에 상응하는 '모' 항체 또는 항체 프레그먼트" 사이의 서열 차이가 단지 VH 및/또는 VL 도메인 중 하나 또는 모두에 존재하는 것을 의미한다. 일 구현으로, 이에 상응하는 모 항체는 X19-A05의 VH, VL, CH 및 CL부의 서열을 갖는 항체, 즉, SEQ ID NO: 28의 CH부에 연결된 SEQ ID NO: 1의 VH 도메인 및 SEQ ID NO: 29의 CL에 연결된 SEQ ID NO: 2의 VL 도메인이다.

[0244] VH 및/또는 VL 도메인이 포스포릴콜린 및/또는 포스포릴콜린 컨주케이트에 대한 바인딩 등가를 측정할 목적으로 상기, 또는 하나 또는 그 이상의 각각의 언급된 SEQ ID NO와 100%미만의 서열 동일성을 갖는 하나 이상의 아미노산 서열, 및 "이에 상응하는 '모' 항체 또는 항체 프레그먼트"를 포함하는 상기 열거된 다른 항체 또는 항체 프레그먼트에 대해 무탄티스 무탄디스(*mutantis mutandis*)의 경우에도 마찬가지로, VH 및/또는 VL 도메인 중 하나 또는 두 모든 서열에서만 차이가 있으며, 상기 또는 각각의 언급된 SEQ ID NO에 대한 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 상기, 또는 각각의 서열을 갖는다.

[0245] 따라서, 항체 또는 항체 프레그먼트가 M99-B05에 기초한 경우에는, 일 구현으로, 이에 상응하는 모 항체는 M99-B05의 VH, VL, CH 및 CL부의 서열을 갖는 항체이다. 즉, SEQ ID NO: 27의 CH부에 연결된 SEQ ID NO: 3의 VH 도메인 및 SEQ ID NO: 29의 CL부에 연결된 SEQ ID NO: 4의 VL 도메인이다.

[0246] 이와 관련하여, 포스포릴콜린 및/또는 포스포릴콜린 컨주케이트에 바인딩하는 항체 또는 항체 프레그먼트의 능

력은 Biacore SPR 바이오센서와 같은 고형 표면에 고정된(예를 들어, 아미노페닐 링커를 통해) 포스포릴콜린에 대한 항체 또는 항체 프레그먼트의 바인딩을 측정하기 위해 표면 플라스몬 공명(Surface Plasmon Resonance)(SPR) 분석에 의한 것과 같은 어느 적절한 방법에 의해 측정될 수 있다.

[0247]

부가적인 구현으로, 본 발명의 제 1 견지에 따른 항체 또는 항체 프레그먼트는 본 명세서에 정의된 PC 또는 PC 컨주케이트에 바인딩하는 '컴퍼레이터(comparator)' 항체 또는 항체 프레그먼트(예, ELISA 또는 SPR 어세이에서 측정시)와 경합한다. 이와 관련하여, 컴퍼레이터 항체 또는 항체 프레그먼트는 X19-A05(각각, SEQ ID NOs: 1, 2, 28 및 29에 의해 정의된), M99-B05(SEQ ID NOs: 3, 4, 27 및 29), X19-A01(각각, SEQ ID NOs: 5, 6, 27 및 29에 의해 정의된), X19-A03(각각, SEQ ID NOs: 7, 8, 27 및 29에 의해 정의된), X19-A07(각각, SEQ ID NOs: 9, 10, 27 및 29에 의해 정의된), X19-A09(각각, SEQ ID NOs: 11, 12, 27 및 29에 의해 정의된), X19-A11(각각, SEQ ID NOs: 13, 14, 27 및 29에 의해 정의된) 또는 X19-C01(각각, SEQ ID NOs: 15, 16, 27 및 29에 의해 정의된)의 VH 및 VL 도메인을 포함하며, 선택적으로 또한 CH 및 CL 도메인을 포함하며, 그리고 바람직하게 상기 VH 및/또는 VL부에서 서열 변이만 시험된 항체 또는 항체 프레그먼트에서 차이가 있다. '경합(competes)'이란, 본 발명의 제 1 견지에 따른 항체 또는 항체 프레그먼트의 등물량의 포함을 의미하며, 어세이에서 '컴퍼레이터(comparator)' 항체는, 본 발명의 제 1 견지에 따른 항체 또는 항체 프레그먼트의 부재하에 동일한 어세이에서 '컴퍼레이터' 항체의 PC 또는 PC 컨주케이트에 대한 바인딩의 검출가능한 수준과 비교하여, 실질적으로 100%와 같이 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95% 이상으로 컴퍼레이터 항체의 PC 또는 PC 컨주케이트에 대한 바인딩의 검출가능한 수준을 감소시킬 수 있음을 의미한다.

[0248]

하기 실시예에 논의된 바와 같이, M99-B05는 약 150nM의 분명한 K_d 로 아미노페닐 포스포릴콜린에 바인딩한다. 일 구현으로, 약 150nM의 분명한 K_d 로 고정된 아미노페닐 포스포릴콜린에 M99-B05(각각, SEQ ID NOs 3 및 4에 의해 정의된)의 VH 및 VL 도메인을 갖는 항체 또는 항체 프레그먼트의 바인딩을 제공하는 조건하에서(실시예에 사용된 SPR 조건과 같은) 시험된 경우에, 본 발명에 따른 항체 또는 항체 프레그먼트는 약 500nM, 약 400nM, 약 300nM, 약 250nM, 약 200nM, 약 190nM, 약 180nM, 약 170nM, 약 160nM, 약 155nM, 약 150nM, 또는 그 미만의 분명한 K_d 로 고정된 아미노페닐 포스포릴콜린에 바인딩할 것이다. 이와 관련하여, 용어 "약"은 언급된 값의 $\pm 20\%$, 15% , 10% , 5% , 4% , 3% , 2% , 또는 1% 이내인 값을 의미하는 것으로 사용된다.

[0249]

또한, 하기 실시예에 나타낸 바와 같이, M99-B05는 nM 범위의 IC_{50} 으로 oxLDL과의 자극에 반응하여 모노사이트로부터 MCP-1의 방출을 차단할 수 있다. 다른 구현으로, 본 발명에 따른 항체 또는 항체 프레그먼트는, 0.7-2.6nM 범위에서 M99-B05(각각, SEQ ID NOs 3 및 4에 의해 정의된)의 VH 및 VL 도메인을 갖는 항체 또는 항체 프레그먼트의 IC_{50} 을 제공하는 조건하에서(하기 실시예에 기재된 바와 같은) 시험된 경우에 약 10nM, 약 5nM, 약 4nM, 약 3nM, 약 2.8nM, 약 2.6nM, 약 2.4nM, 약 2nM, 약 1.8nM, 약 1.6nM, 약 1.4nM, 약 1.3nM, 약 1.2nM, 약 1.1nM, 약 1.0nM, 약 0.9nM, 약 0.8nM, 약 0.7nM 또는 그 미만의 IC_{50} 으로 oxLDL과의 자극에 반응하여 모노사이트로부터 MCP-1의 방출을 차단할 것이다. 이와 관련하여, 용어 "약"은 언급된 값의 $\pm 20\%$, 15% , 10% , 5% , 4% , 3% , 2% , 또는 1% 이내인 값을 의미하는 것으로 사용된다.

[0250]

본 발명에 따른 항체 또는 항체 프레그먼트의 포스포릴콜린 컨주케이트에 대하여 바인딩하는 능력은 포스포릴콜린을 포스포릴콜린 컨주케이트와 대체하여 상술한 방법과 동등한 방법에 의해 측정될 수 있다. 적절한 포스포릴콜린 컨주케이트는 캐리어, 선택적으로 PC-BSA 및 PC-KLH 컨주케이트와 같은 스페이서를 통해 캐리어에 연결된 포스포릴콜린부를 포함하는 상기 언급된 것들을 포함한다. 바람직하게, 포스포릴콜린에 바인딩하는 항체 또는 항체 프레그먼트의 능력이 측정되는 경우에, 이는 포스포릴콜린 컨주케이트내의 포스포릴콜린부에 특이적으로 바인딩하는 항체 또는 항체 프레그먼트의 능력에 대해 측정된다. 이는 포스포릴콜린 컨주케이트와 포스포릴콜린부를 함유하지 않는 이에 상응하는 분자에 바인딩하는 항체 또는 항체 프레그먼트의 능력을 비교하는 것과 같이 당해 기술분야에 알려진 기술에 의해 측정될 수 있다.

[0251]

일 구현으로, 본 발명의 항체 또는 항체 프레그먼트는 선형 폴리펩타이드 서열에서 VH 도메인 및 VL 도메인을

포함할 수 있다.

[0252] 다른 구현으로, 본 발명의 항체 또는 항체 프레그먼트는 분리된 폴리펩타이드 서열에서 각각 VH 도메인 및 VL 도메인을 포함할 수 있다. 이러한 구현에서, 분리된 폴리펩타이드 서열은 직접 또는 간접적으로 (분리된 폴리펩타이드 서열간에 하나 이상의 이황화 결합에 의한 것과 같이) 서로 결합되는 것이 바람직할 수 있다.

[0253] 다른 구현으로, VH 도메인은 상술한 바와 같이 CH부 또는 이의 프레그먼트, 또는 CH부의 변이체 또는 이의 프레그먼트와 연결될 수 있으며, 여기서 프레그먼트는 예를 들어, CH부의 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 120, 140, 160, 180, 200, 220, 240, 260, 280, 300, 320 이상의 아미노산을 포함한다. 상기 연결은 VH 도메인 및 CH부가 단일 폴리펩타이드로 존재하도록 웨타이드 결합을 통한 직접적인 융합일 수 있으며, 또는 상기 연결은 웨타이드 또는 다른 연결기와 같은 연결기를 통해, 또는 웨타이드 결합과 다른 직접적인 화학 결합을 통해 이루어질 수 있다. 일 구현으로 인간 CH부이나, CH부에 대해 특별한 제한은 없다. 당해 기술분야는 다수의 인간 CH부의 예를 포함하고 있다. 본 발명에 사용되는 예시적인 인간 CH부는 SEQ ID NO: 27 및 SEQ ID NO: 28을 포함한다. 어떠한 CH부를 사용하는 경우에도, 말단 아미노산 변형(다른 아미노산 또는 다른 화학부의 결실 또는 첨가에 의한 마스킹을 포함함)이 도입되어 웨티다아제 분해 가능성을 줄이거나 피할 수 있다.

[0254] 다른 구현으로, VL 도메인은 상술한 바와 같이 CL부 또는 이의 프레그먼트, 또는 CL부의 변이체 또는 이의 프레그먼트에 연결될 수 있으며, 또는 프레그먼트는 예를 들어, CL부의 적어도 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100 이상의 아미노산을 포함한다. 상기 연결은 VL 도메인 및 CL부가 단일 폴리펩타이드로 존재하도록 웨타이드 결합을 통한 직접적인 융합일 수 있으며, 또는 상기 연결은 웨타이드 또는 다른 연결기와 같은 연결기를 통해, 또는 웨타이드 결합과 다른 직접적인 화학 결합을 통해 이루어질 수 있다. 일 구현으로 인간 CL부이나, CL부에 대해 특별한 제한은 없다. 당해 기술분야는 다수의 인간 CL부의 예를 포함하고 있다. 본 발명에 사용되는 예시적인 인간 CL부는 SEQ ID NO: 29를 포함한다. 말단 아미노산 변형(다른 아미노산 또는 다른 화학부의 결실 또는 첨가에 의한 마스킹을 포함함)이 도입되어 사용된 어느 CL부의 웨티다아제 분해 가능성을 줄이거나 피할 수 있다.

[0255] 다른 구현으로, 본 발명의 항체 또는 항체 프레그먼트는 하나의 폴리펩타이드 서열 내의 CH부와 연결된 VH 도메인, 및 다른 분리된 폴리펩타이드 서열 내의 CL부와 연결된 VL 도메인을 포함할 수 있다. 이러한 구현에서, 분리된 폴리펩타이드 서열은 직접 또는 간접적으로 (분리된 폴리펩타이드 서열간에 하나 이상의 이황화 결합에 의한 것과 같이) 서로 결합되는 것이 바람직할 수 있다

[0256] 다른 구현으로, 본 발명의 항체 또는 항체 프레그먼트는

[0257] ● 제 1 CH부에 연결된 제 1 VH 도메인을 포함하는 제 1 중쇄,

[0258] ● 제 1 CL부에 연결된 제 1 VL 도메인을 포함하는 제 1 경쇄,

[0259] ● 제 2 CH부에 연결된 제 2 VH 도메인을 포함하는 제 2 중쇄,

[0260] ● 제 2 CL부에 연결된 제 2 VL 도메인을 포함하는 제 2 경쇄

[0261] 를 포함하며; 그리고

[0262] 여기서 선택적으로, 제 1 경쇄 및 제 1 중쇄는 직접 또는 간접적으로 (분리된 폴리펩타이드 서열간에 하나 이상의 이황화 결합에 의한 것과 같이) 서로 결합되며, 그리고 제 2 경쇄 및 제 2 중쇄는 직접 또는 간접적으로 (분리된 폴리펩타이드 서열간에 하나 이상의 이황화 결합에 의한 것과 같이) 서로 결합되며, 그리고 또한 선택적으로, 여기서 제 1 및 제 2 중쇄는 직접 또는 간접적으로 (분리된 폴리펩타이드 서열간에 하나 이상의 이황화 결합에 의한 것과 같이) 서로 결합된다.

- [0263] 다른 구현으로, 본 발명의 항체 또는 항체 프레그먼트는 모노클로날 항체, 보다 바람직하게 인간 모노클로날 항체일 수 있다.
- [0264] 본 발명의 항체 또는 항체 프레그먼트는 인간화된 항체 또는 키메릭 항체일 수 있다.
- [0265] 바람직한 구현으로, 본 발명의 항체 또는 항체 프레그먼트는 분리된 항체 또는 항체 프레그먼트이다.
- [0266] 다른 구현으로, 본 발명의 항체 또는 항체 프레그먼트는 스텠다드 단백질 합성 기술을 이용하여 면역글로불린의 단백질 스캐폴드 상에 그라프트된 상술한 VH, VL, CDR1, CDR2, CDR3, CDR4, CDR5 및/또는 CDR6 서열을 포함하는 하나 이상의 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 숙련자는 다양한 단백질 스캐폴드가 당해 기술분야에 사용되기에 이용가능하고 일반적으로 알려져 있는 것임을 인식할 것이다. 최종 결과는 새로운 프래임워크 내의 보존된 항원-바인딩 활성이다.
- [0267] 예를 들어, 면역글로불린의 스캐폴드가 IgA, IgE, IgG1, IgG2a, IgG2b, IgG3, IgM으로부터 유래될 수 있다. 상기 스캐폴드는 마우스, 랫트, 토끼, 염소, 낙타, 라마, 영장류와 같은 어느 포유류의 면역글로불린으로부터 유래될 수 있다. 면역글로불린 스캐폴드는 인간 면역글로불린으로부터 유래되는 것이 바람직하다.
- [0268] 본 발명의 제 1 견지에 따른 항체 프레그먼트는 스텠다드 분자생물학 기술에 의해 또는 이러한 프레그먼트를 생성하는 효소(예, 펩신 또는 파파인)를 이용한 정제된 항체의 클리비지에 의해 생성될 수 있다. 본 발명에 따른 이러한 항체 프레그먼트는 이에 한정되는 것은 아니나, 단일 사슬 항체, Fv, scFv, Fab, F(ab')₂, Fab', Fd, dAb, CDR, 또는 scFv-Fc 프레그먼트 또는 나노바디 및 이중체, 또는 예를 들어 PEGylation에 의해 안정화될 수 있는 어느 프레그먼트가 예시된다.
- [0269] 본 발명의 제 2 견지는 본 발명의 제 1 견지에 따른 항체 또는 항체 프레그먼트 및 약학적으로 허용되는 캐리어 또는 부형체를 포함하는 약학 조성물을 제공한다. 선택적으로, 상기 조성물에 존재하는 항체들 또는 항체 프레그먼트들만이 본 발명의 제 1 견지의 것들이다. 보다 바람직하게, 상기 조성물에 존재하는 단일 타입의 항체 또는 항체 프레그먼트가 있을 수 있으며, 예를 들어, 여기서 타입은 아미노산 서열, 분자량 및/또는 포스포릴콜린에 대한 바인딩 특이성에 대해 결정된다. 이와 관련하여, 숙련자는 예를 들어, N-말단 변이 및/또는 부분 분해에 기인하여 어느 집단에서 항체 또는 항체 프레그먼트의 서열에서의 다소 낮은 수준의 변이가 존재할 수 있음을 인식할 것이다. 이에 따라, 이러한 정황에서 조성물은, 예를 들어, 조성물에서 적어도 약 80중량%, 약 90중량%, 약 95중량%, 약 97중량%, 약 98중량%, 약 99중량% 또는 실질적으로 100중량%의 검출가능한 수준의 항체 또는 항체 프레그먼트가 아미노산 서열, 분자량 및/또는 포스포릴콜린에 대한 바인딩 특이성에 대해 검출시 단일 타입인 경우에, 단일 타입의 항체 또는 항체 프레그먼트를 함유하는 것으로 언급될 수 있다.
- [0270] 본 발명의 제 3 견지는 인간 또는 동물의 몸에서 또는 이로부터 얻어진 생체외(ex vivo) 시료에서 수행되는 치료 방법, 수술 또는 진단에 사용되는 것과 같이, 의약에 사용되는 본 발명의 제 1 견지에 따른 항체 또는 항체 프레그먼트, 또는 본 발명의 제 2 견지에 따른 약학 조성물을 제공한다.
- [0271] 예를 들어, 본 발명의 제 3 견지는 아테롬성 동맥 경화증, 죽상판 경화증 관련 질환 또는 심혈관 질환에 대하여 인간을 포함하는 포유류의 억제, 예방 및/또는 치료에 사용되는, 본 발명의 제 1 견지에 따른 항체 또는 항체 프레그먼트, 또는 본 발명의 제 2 견지에 따른 약학 조성물을 제공한다.
- [0272] 즉, 본 발명의 제 3 견지는, 아테롬성 동맥 경화증, 죽상판 경화증 관련 질환 또는 심혈관 질환에 대하여 인간

을 포함하는 포유류의 억제, 예방 및/또는 치료를 위한 약제의 제조에 사용되는 본 발명의 제 1 견지에 따른 항체 또는 항체 프레그먼트, 또는 본 발명의 제 2 견지에 따른 약학 조성물의 용도를 제공한다.

[0273] 또한, 본 발명의 제 1 견지에 따른 항체 또는 항체 프레그먼트, 또는 본 발명의 제 2 견지에 따른 약학 조성물을 포유류에 투여하는 단계를 포함하는, 아데롭성 동맥 경화증, 죽상판 경화증 관련 질환 또는 심혈관 질환에 대하여 인간을 포함하는 포유류의 억제, 예방 및/또는 치료 방법이 제공된다.

[0274] 또한, 본 발명의 제 3 견지는 알츠하이머 질환의 예방, 억제 및/또는 치료에 사용되는, 본 발명의 제 1 견지에 따른 항체 또는 항체 프레그먼트, 또는 본 발명의 제 2 견지에 따른 약학 조성물을 제공한다.

[0275] 즉, 본 발명의 제 3 견지는 알츠하이머 질환의 예방, 억제 및/또는 치료를 위한 약제의 제조에 사용되는, 본 발명의 제 1 견지에 따른 항체 또는 항체 프레그먼트, 또는 본 발명의 제 2 견지에 따른 약학 조성물의 용도를 제공한다.

[0276] 또한, 대상자에게 본 발명의 제 1 견지에 따른 항체 또는 항체 프레그먼트, 또는 본 발명의 제 2 견지에 따른 약학 조성물을 투여하는 단계를 포함하는, 알츠하이머 질환에 대한 대상자의 면역화 및 예방, 억제 및/또는 치료 방법이 제공된다.

[0277] 또한, 본 발명의 제 3 견지는 인간을 포함하는 포유류에서 대사질환의 면역화 또는 예방, 또는 이의 억제 또는 치료에 대해 사용되는 본 발명의 제 1 견지에 따른 항체 또는 항체 프레그먼트, 또는 본 발명의 제 2 견지에 따른 약학 조성물을 제공한다.

[0278] 즉, 본 발명의 제 3 견지는 인간을 포함하는 포유류에서 대사질환의 예방, 억제 또는 치료를 위한 약제의 제조에 사용되는, 본 발명의 제 1 견지에 따른 항체 또는 항체 프레그먼트, 또는 본 발명의 제 2 견지에 따른 약학 조성물의 용도를 제공한다.

[0279] 또한, 본 발명의 제 1 견지에 따른 항체 또는 항체 프레그먼트, 또는 본 발명의 제 2 견지에 따른 약학 조성물을 포유류에 투여하는 단계를 포함하는, 인간과 같은 포유류에서 대사 질환의 면역화 또는 예방, 또는 이의 치료 방법이 제공된다.

[0280] 본 발명의 제 3 견지에 따라 해결하고자 하는 그리고/또는 치료하고자 하는 대사 질환은, 예를 들어, 대사 중후군, 인슐린 저항성, 글루코즈 내성, 고혈당, 타입 I 당뇨병, 타입 II 당뇨병, 고지혈증, 고글리세리드혈증, 고콜레스테롤혈증, 이상지질혈증 및 다낭성난소증후군(PCOS)으로부터 구성된 그룹으로부터 선택된 컨디션일 수 있다.

[0281] 본 발명의 제 4 견지는 본 발명의 제 1 견지에 따른 항체 또는 항체 프레그먼트의 일부를 형성하는 항체 또는 항체 프레그먼트, 또는 폴리펩타이드 사슬을 암호화하는 서열을 포함하는 핵산 분자를 제공한다. 상기 핵산 분자는 예를 들어, DNA 또는 RNA일 수 있다. 상기 핵산 분자는 본 발명의 제 1 견지에 따른 항체 또는 항체 프레그먼트, 또는 이의 일부를 암호화하는 서열의 5' 및/또는 3'에 부가적인 서열을 포함할 수 있다. 이러한 5' 및 3' 서열은 당해 기술분야에 잘 알려진 프로모터 및/또는 종결자 서열과 같은 전사 및/또는 번역 조절 서열을 포함할 수 있으며, 예를 들어, 선택된 숙주 세포에서 기능적이도록 선택될 수 있다. 따라서, 상기 핵산 분자는 선택된 숙주 세포로 형질변형된 후에 숙주 세포의 전사 및/또는 번역 시스템에 의해 발현되어 본 발명의 제 1 견지에 따른 상기 항체 또는 항체 프레그먼트의 일부를 형성하는 암호화된 항체 또는 항체 프레그먼트, 또는 폴

리펩타이드 사슬을 생성할 수 있는 발현 카세트를 포함할 수 있다.

[0282] 본 발명의 제 5 견지는 본 발명의 제 4 견지에 따른 하나 이상의 핵산 서열을 포함하는 벡터 또는 플라스미드를 제공한다. 상기 항체 또는 항체 프레그먼트는 하나 이상의 폴리펩타이드 사슬을 포함하며, 상기 벡터 또는 플라스미드는 예를 들어, 상기 벡터 또는 플라스미드로 형질변형된 숙주 세포가 상기 항체 또는 항체 프레그먼트에 존재하는 모든 폴리펩타이드 사슬을 발현할 수 있도록, 각 폴리펩타이드 사슬을 암호화하는 서열을 암호화하는 핵산을 포함한다.

[0283] 따라서, 또한 제 5 견지는 숙주 세포의 형질변형에 사용되는 벡터 또는 플라스미드의 용도를 제공한다. 숙주 세포를 벡터 또는 플라스미드로 형질변형하는 방법은 당해 기술분야에 잘 알려져 있다. 형질변형된 숙주 세포의 선별을 돋기 위해, 벡터 또는 플라스미드는 선별 마커를 포함할 수 있다.

[0284] 본 발명의 제 6 견지는 본 발명의 제 5 견지에 따른 하나 이상의 벡터 또는 플라스미드를 포함하는 숙주 세포를 제공한다. 또한, 제 6 견지는 모든 또는 실질적으로 모든 세포가 본 발명의 제 5 견지에 따른 동일한 하나 이상의 벡터 또는 플라스미드를 포함하는 모노컬처와 같이, 본 발명의 제 5 견지에 따른 하나 이상의 벡터 또는 플라스미드를 포함하는 세포 배양물을 제공한다. 이러한 모노컬처는 예를 들어, 하나 이상의 플라스미드 또는 벡터에서 하나 이상의 선별가능한 마커의 존재에 대해 세포를 선별함으로써, 그리고, 선택적으로 배양물에서 선택된 세포의 성장 중에 선택적인 압력을 유지함으로써 획득될 수 있다.

[0285] 본 발명의 제 1 견지에 따른 항체 또는 항체 프레그먼트가 하나 이상의 폴리펩타이드 사슬을 포함하는 경우에, 숙주 세포는, 벡터 또는 플라스미드로 형질변형된 숙주 세포가 항체 또는 항체 프레그먼트에 존재하는 모든 폴리펩타이드 사슬을 발현할 수 있도록, 각 폴리펩타이드 사슬을 암호화하는 서열을 암호화하는 핵산을 포함하는 단일 벡터 또는 플라스미드로 형질변형될 수 있다.

[0286] 선택적으로, 본 발명의 제 1 견지에 따른 항체 또는 항체 프레그먼트가 하나 이상의 폴리펩타이드 사슬을 포함하는 경우에, 숙주 세포는 하나 이상의 벡터 또는 플라스미드로 형질변형된 숙주 세포가 항체 또는 항체 프레그먼트에 존재하는 모든 폴리펩타이드 사슬을 발현할 수 있도록, 폴리펩타이드 사슬들 중 적어도 하나를 암호화하는 서열을 암호화하는 핵산을 각각 포함하는 하나 이상의 벡터 또는 플라스미드로 형질변형될 수 있다.

[0287] 다른 방안으로, 본 발명의 제 1 견지에 따른 항체 또는 항체 프레그먼트가 하나 이상의 폴리펩타이드 서열을 포함하는 경우에, 다중 숙주 세포는 항체 또는 항체 프레그먼트, 및 각각 폴리펩타이드 사슬을 발현하도록 개별적으로 배양된 각각 다른 숙주 세포를 형성하는 하나 이상의 다른 멤버의 다른 폴리펩타이드 사슬을 암호화하는 서열을 암호화하는 다른 핵산을 각각 포함하는 벡터 또는 플라스미드로 형질변형될 수 있다. 그 다음, 회수된 다른 폴리펩타이드 사슬들은 결합되어 항체 또는 항체 프레그먼트를 생성할 수 있다.

[0288] 어느 적절한 숙주 세포가 본 발명의 제 5 및/또는 제 6 견지에 사용될 수 있다. 예를 들어, 숙주 세포는 에스케리차 콜라이(*Escherichia coli*) 세포와 같은 원핵 세포일 수 있다. 숙주 세포는 동물 세포, 식물 세포, 균류 세포와 같은 진핵 세포일 수 있다. 적절한 동물 세포는 포유류 세포, 조류 세포 및 곤충 세포를 포함할 수 있다. 적절한 포유류 세포는 CHO 세포 및 COS 세포를 포함할 수 있다. 적절한 균류 세포는 사카로미세스 세레비지아에(*Saccharomyces cerevisiae*) 세포와 같은 이스트 세포를 포함할 수 있다. 포유류 세포는 인간 세포를 포함하거나 포함하지 않을 수 있으며, 배아 세포를 포함하거나 포함하지 않을 수 있다.

[0289] 본 발명의 제 7 견지는 상술한 바와 같이 하나 이상의 형질변형된 숙주 세포를 배양하는 단계, 및 이로부터 본 발명의 제 1 견지에 따른 항체 또는 항체 프레그먼트를 회수하는 단계를 포함하는 본 발명의 제 1 견지에 따른

항체 또는 항체 프레그먼트 항원-바인딩 서열을 생성하는 방법을 제공한다.

- [0290] 본 발명의 제 8 견지는 본 발명의 제 1 견지의 항체 또는 항체 프레그먼트의 변이체를 제조하는 방법으로서, 여기서 변이체는 포스포릴콜린 및/또는 포스포릴콜린 컨주케이트에 바인딩하는 능력을 보유하며, 상기 방법은
- [0291] (i) 모 항체(parent antibody) 또는 항체 프레그먼트 또는 이의 일부를 형성하는 폴리펩타이드 사슬을 암호화하는 본 발명의 제 4 견지에 따른 핵산을 제공하는 단계;
- [0292] (ii) 돌연변이된 핵산은 모 항체 또는 항체 프레그먼트에 비해 다른 아미노산 서열을 갖는 변이 항체 또는 항체 프레그먼트를 암호화하도록, 하나 이상의 뉴클레오타이드 돌연변이(선택적으로, 최대 50, 40, 30, 20, 15, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 또는 1 뉴클레오타이드 돌연변이)를 상기 핵산 서열의 아미노산 암호영역에, 선택적으로 VH 및/또는 VL 도메인(들)을 암호화하는 암호영역 내에 도입하는 단계;
- [0293] (iii) 돌연변이된 핵산 서열에 의해 암호화된 상기 변이 항체 또는 항체 프레그먼트, 또는 이의 일부를 형성하는 폴리펩타이드 사슬을 발현하는 단계; 및
- [0294] (iv) 상기 변이 항체 또는 항체 프레그먼트와 상기 모 항체 또는 항체 프레그먼트의 포스포릴콜린 및/또는 포스포릴콜린 컨주케이트에 대한 바인딩 능력을 비교하는 단계
- [0295] 를 포함하는, 항체 또는 항체 프레그먼트의 변이체를 제조하는 방법을 제공한다.
- [0296] 본 발명의 제 8 견지에 따르면, 뉴클레오타이드 돌연변이는 핵산 서열의 아미노산 암호영역에 무작위로 또는 부위-특이적 방식으로 도입될 수 있다. 이러한 돌연변이는 돌연변이 전의 핵산에 의해 암호화된 아미노산과 비교하여 하나 이상의 아미노산 부가, 하나 이상의 아미노산 결실 및/또는 하나 이상의 아미노산 치환을 함유하는 아미노산 서열을 암호화하는 암호영역을 형성할 수 있다.
- [0297] 이러한 뉴클레오타이드 돌연변이는 항원 바인딩 영역에서 하나 이상의 서열 변이를 함유하는 아미노산 서열을 암호화하는 암호영역을 형성하거나 형성하지 않을 수 있다. 이러한 뉴클레오타이드 돌연변이는 예를 들어, 하나 이상의 프레임워크 영역을 형성하는 아미노산 서열에 존재하거나 오로지 이에만 존재하는 아미노산 서열 변이(즉, 하나 이상의 아미노산 부가, 하나 이상의 아미노산 결실 및/또는 하나 이상의 아미노산 치환)을 형성할 수 있다. 부가적으로 또는 선택적으로, 이러한 뉴클레오타이드 돌연변이는 예를 들어, 하나 이상의 상보성 결정 영역을 형성하는 아미노산 서열에 존재하거나 오로지 이에만 존재하는 아미노산 서열 변이(즉, 하나 이상의 아미노산 부가, 하나 이상의 아미노산 결실 및/또는 하나 이상의 아미노산 치환)을 형성할 수 있다. 프레임워크 영역, CDRs 및/또는 VH 또는 VL 도메인에 대하여 용인되는 아미노산 변이/변형의 수준은 전체적으로 본 발명의 제 1 견지에서 상술한 바와 같으며, 본 발명의 제 8 견지의 방법에 따라 도입될 수 있는 변이/변형의 수준에 필요한 부분만 약간 수정하여(*mutatis mutandis*) 적용될 수 있다.
- [0298] 부가적으로 또는 선택적으로, 이러한 뉴클레오타이드 돌연변이는 하나 이상의 CH1, CH2, CH3, CL부 또는 다른 부위에서와 같이 항원 바인딩 영역과 다른 항체 또는 항체 프레그먼트의 하나 이상의 부분에서 하나 이상의 서열 변이를 함유하는 아미노산 서열을 암호화하는 암호영역을 형성하거나 형성하지 않을 수 있다.
- [0299] 하나 이상의 뉴클레오타이드 돌연변이가 암호화된 산물에서 하나 이상의 아미노산 치환을 형성하는 경우에, 상기 하나 이상의 치환은 각각 독립적으로 보존적이거나 비보존적인 치환일 수 있다. "보존적 치환(conservative substitutions)"이란, Gly, Ala; Val, Ile, Leu; Asp, Glu; Asn, Gln; Ser, Thr; Lys, Arg; 및 Phe, Tyr과 같은 조합을 의도한다.
- [0300] 뉴클레오타이드 돌연변이는 예를 들어, 변이 항원 바인딩 영역(들)을 포함하는 항체 또는 항체 프레그먼트의 안정성을 향상시키기 위해, 변이 항원 바인딩 영역(들)을 포함하는 항체 또는 항체 프레그먼트의 면역원성을 감소시키기 위해, 그리고/또는 제조공정에서 불리할 수 있는 특성들을 회피하거나 감소시키기 위해 생식계열 서열에

가까운 암호화된 항체 또는 항체 프로그먼트의 서열을 제공하도록 도입될 수 있다.

[0301] 이러한 뉴클레오파이드 돌연변이는 당해 기술분야에 잘 알려진 방법을 이용하여 제조될 수 있다.

[0302] 본 발명의 제 8 견지에 따르면, 변이 항체 또는 항체 프로그먼트의 포스포릴콜린 및/또는 포스포릴콜린 컨주케이트에 대한 바인딩 능력을 평가하는 단계는 모 항체와 비교하여 포스포릴콜린 및/또는 포스포릴콜린 컨주케이트에 대한 실질적으로 동등하거나 향상된 바인딩 능력을 갖는 변이체들을 선별하는 것을 더 포함할 수 있다.

[0303] 변이체 및 모 항체의 포스포릴콜린 및/또는 포스포릴콜린 컨주케이트에 대한 바인딩 능력은 본 발명의 제 1 견지에 대해 상술한 바와 같은 방법들에 의해 평가될 수 있다.

[0304] 본 발명의 제 8 견지의 방법은 선택적으로, 변이 항체 또는 항체 프로그먼트를 암호화하는 돌연변이된 핵산 서열을 포함하는 핵산 분자를 회수하는 단계를 더 포함할 수 있으며, 선택적으로 숙주 세포를 상기 회수된 핵산 분자로 형질변형하는 단계를 더 포함할 수 있으며, 그리고 또한 선택적으로 상기 숙주 세포로부터 상기 변이 항체 또는 항체 프로그먼트를 발현하는 단계를 더 포함할 수 있으며, 그리고 또한 선택적으로 이렇게 발현된 변이 항체 또는 항체 프로그먼트를 상기 숙주 세포로부터 회수하는 단계를 더 포함할 수 있으며, 그리고 또한 선택적으로 상기 회수된 변이 항체 또는 항체 프로그먼트를 약학적으로 허용되는 조성물로 제형화하는 단계를 더 포함할 수 있다.

[0305] 또한, 본 발명의 제 8 견지는 약제에 사용되는, 본 발명의 제 8 견지의 방법에 의해 획득되거나 획득가능한 변이 항체 또는 항체 프로그먼트, 또는 본 발명의 제 8 견지의 방법에 의해 획득되거나 획득가능한 약학적으로 허용되는 조성물을 제공한다.

[0306] 또한, 본 발명의 제 8 견지는

[0307] (i) 아테롬성 동맥 경화증, 죽상관 경화증 관련 질환 또는 심혈관 질환에 대하여 인간을 포함하는 포유류의 억제, 예방 및/또는 치료;

[0308] (ii) 알츠하이머 질환의 예방, 억제 및/또는 치료; 및/또는

[0309] (iii) 인간을 포함하는 포유류에서 대사질환의 면역화 또는 예방, 또는 이의 억제 또는 치료

[0310]에 대해 사용되는, 본 발명의 제 8 견지의 방법에 의해 획득되거나 획득가능한 변이 항체 또는 항체 프로그먼트, 또는 본 발명의 제 8 견지의 방법에 의해 획득되거나 획득가능한 약학적으로 허용되는 조성물을 제공한다.

[0311] 즉, 또한 본 발명의 제 8 견지는

[0312] (i) 아테롬성 동맥 경화증, 죽상관 경화증 관련 질환 또는 심혈관 질환에 대하여 인간을 포함하는 포유류의 억제, 예방 및/또는 치료;

[0313] (ii) 알츠하이머 질환의 예방, 억제 및/또는 치료; 및/또는

[0314] (iii) 인간을 포함하는 포유류에서 대사질환의 면역화 또는 예방, 또는 이의 억제 또는 치료

[0315]를 위한 약제의 제조에 사용되는, 본 발명의 제 8 견지의 방법에 의해 획득되거나 획득가능한 변이 항체 또는 항체 프로그먼트, 또는 본 발명의 제 8 견지의 방법에 의해 획득되거나 획득가능한 약학적으로 허용되는 조성물의 용도를 제공한다.

[0316] 따라서, 또한 본 발명의 제 8 견지에 의해

[0317] (i) 아테롬성 동맥 경화증, 죽상판 경화증 관련 질환 또는 심혈관 질환에 대하여 인간을 포함하는 포유류의 억제, 예방 및/또는 치료;

[0318] (ii) 알츠하이머 질환에 대한 대상자의 면역화 및 예방, 억제 및/또는 치료; 및/또는

[0319] (iii) 인간과 같은 포유류에서 대사질환의 면역화 또는 예방, 또는 치료

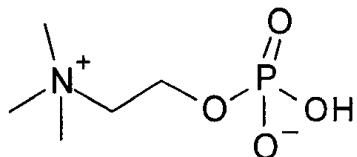
[0320] 를 위한 방법으로서, 상기 방법은

[0321] 본 발명의 제 8 견지에 의해 획득되거나 획득가능한 변이 항체 또는 항체 프레그먼트, 또는 본 발명의 제 8 견지의 방법에 의해 획득되거나 획득가능한 약학적으로 허용되는 조성물을 포유류 또는 대상자에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법이 제공된다.

[0322] 본 발명의 제 8 견지에 따라 해결하고자 하며 그리고/또는 치료하고자 하는 대사질환은 예를 들어, 대사증후군, 인슐린 저항성, 글루코즈 내성, 고혈당, 타입 I 당뇨병, 타입 II 당뇨병, 고지혈증, 고글리세리드혈증, 고콜레스테롤혈증, 이상지질혈증 및 다낭성난소증후군(PCOS)으로부터 구성된 그룹으로부터 선택된 컨디션일 수 있다.

[0323] 포스포릴콜린

[0324] 포스포릴콜린(PC)은 하기 화학식에 따른 포스포릴콜린을 의미한다.



[0325]

[0326] 포스포릴콜린 컨주게이트란, 캐리어, 바람직하게 스페이서를 통해 캐리어에 연결된 포스포릴콜린부를 의미한다. 포스포릴콜린부는 캐리어에 공유결합 또는 비-공유결합될 수 있다. 바람직하게, 상기 포스포릴콜린부는 포스페이트기를 통해 캐리어에 연결된다.

[0327] 캐리어는 예를 들어, 단백질, 탄수화물, 폴리머, 라텍스 비드 또는 콜로이드 금속일 수 있다.

[0328] 포스포릴콜린 컨주게이트는 예를 들어, 인간 혈청 알부민(HSA)-PC 컨주게이트, 트랜스페린-PC 컨주게이트, 키홀-리ム펫 해모사이아닌(keyhole limpet hemocyanin)(KLH)-PC 컨주게이트 또는 소혈청알부민(BSA)-PC 컨주게이트와 같은 단백질-PC 컨주게이트일 수 있다.

[0329] PC 컨주게이트가 스페이서를 통해 캐리어에 연결된 PC를 포함하는 경우에는, 어느 적절한 스페이서가 사용될 수 있다. 비제한적인 스페이서의 예는 숙신산 및 글루타르산과 같은 디카르복시산, 이에 상응하는 디알데하이드, 1,6 디아미노헥산과 같은 디아민, p-아미노-페놀, p-디아조-페놀, p-페닐렌디아민, p-벤조퀴논 등과 같은 2기 치환 페놀과 같은 커플링제(전형적으로, 이작용성 화합물)를 포함한다.

[0330]

심혈관 질환

[0331]

용어, 심혈관 질환은 이에 한정하는 것은 아니나, 아테롬성 동맥 경화증, 급성 관상동맥 증후군, 급성 심근 경색, 심근 경색(심장마비), 안정 및 불안정 협심증, 동맥류, 관상 동맥 질환(CAD), 국소빈혈성 심장질병, 협혈성 심근, 심장사 및 급성 심장사, 심근증, 울혈성 심부전, 심부전, 협착증, 하지 동맥 질환(PAD), 간헐성파행, 증증하지 혈성질환 및 뇌졸증을 포함하는 것으로 의도된다.

[0332]

포스포릴콜린 및 포스포릴콜린 컨주케이트에 대한 반응성을 갖는 항체를 이용한 심혈관 질환의 치료 또는 예방은 예를 들어, WO 2005/100405 및 US 2007-0286868에 기술되어 있으며 이들 문헌의 전체 내용은 본 명세서에 참고문헌으로 편입된다.

[0333]

알츠하이머 질환

[0334]

본 발명에 따르면, 제 1 견지에 따른 항체 또는 항체 프레그먼트는 알츠하이머 질환의 치료가 요구되거나 알츠하이머 질환 위험이 있는 개체에서 알츠하이머 질환을 치료 또는 예방하는데 사용될 수 있다.

[0335]

WO 2010/003602 및 US 특허출원 제 61/078677호에는 포스포릴콜린 및 포스포릴콜린 컨주케이트에 대한 반응성을 갖는 항체를 이용한 알츠하이머 질환의 치료 또는 예방에 대해 기재되어 있으며, 이들 문헌 모두의 내용은 본 명세서에 참고문헌으로 편입되며, 여기서 제 1 견지에 따른 항체 또는 항체 프레그먼트가 알츠하이머 질환을 치료 또는 예방하는데 사용될 수 있는 보다 자세한 방법이 설명된다.

[0336]

대사질환

[0337]

용어, 대사질환은 이에 한정하는 것은 아니나, 대사 증후군 X, 인슐린 저항성(IRS), 글루코즈 내성, 고혈당, 타입 I 당뇨병, 타입 II 당뇨병, 고지혈증, 고글리세리드혈증, 고콜레스테롤혈증, 이상지질혈증 및 다낭성난소증후군(PCOS) 및 관련 질환을 포함하는 것으로 의도된다.

[0338]

포스포릴콜린 및 포스포릴콜린 컨주케이트에 대한 반응성을 갖는 항체를 이용하여 치료하고자 하는 대사질환에 대한 자세한 설명은 WO 2012/010291에 언급되며, 이의 내용은 또한 본 명세서에 참고문헌으로 편입되며, 여기서 제 1 견지에 따른 항체 또는 항체 프레그먼트가 대상질환을 치료 또는 예방하는데 사용될 수 있는 보다 자세한 방법이 설명된다.

[0339]

아미노산 서열 동일성

[0340]

두 아미노산 서열간의 퍼센트 동일성은 다음과 같이 검출된다. 우선, 아미노산 서열을 예를 들어, BLASTN 버전 2.0.14 및 BLASTP 버전 2.0.14를 함유하는 BLASTZ의 스탠드-얼론 버전의 BLAST 2 Sequences(B12seq) 프로그램을 이용하여 SEQ ID NO:1과 비교한다. 이 BLASTZ의 스탠드-얼론 버전은 생명공학 정보 웹 사이트 ncbi.nlm.nih.gov에서 미국 정부 국립 센터로부터 획득가능하다. B12seq 프로그램을 사용하는 방법이 설명되어 있는 안내서는 첨부된 BLASTZ 리드미 파일에서 발견될 수 있다. B12seq은 BLASTP 알고리즘을 이용하여 두 아미노산 서열간의 비교를 수행한다. 두 아미노산 서열을 비교하기 위해, B12seq의 옵션은 다음과 같이 설정된다: -i는 비교할 제 1 아미노산 서열을 함유하는 파일로 설정되며(예, C:\seq1.txt); -j는 비교할 제 2 아미노산 서열을 함유하는 파일로 설정되며(예, C:\seq2.txt); -p는 blastp로 설정되며; -o는 어느 원하는 파일명으로

설정되며(예, C:\output.txt); 그리고 다른 모든 옵션들은 이들의 디폴트 설정으로 둔다. 예를 들어, 하기 커멘트가 두 아미노산 서열간의 비교를 함유하는 아웃풋 파일을 생성하기 위해 사용될 수 있다: C:\BL2seq -i c:\seq1.txt -j c:\seq2.txt -p blastp -o c:\output.txt. 만일 비교된 두 서열이 상동성을 공유하면, 지정된 아웃풋 파일은 정렬된 서열로서 상동성 영역을 나타낼 것이다. 만일 비교된 두 서열이 상동성을 공유하지 않으면, 지정된 아웃풋 파일은 정렬된 서열을 나타내지 않을 것이다. 정렬되면, 매치의 수는 동일한 뉴클레오타이드 또는 아미노산 잔기가 양 서열에 존재하는 위치의 수를 카운트하여 검출된다.

[0341]

퍼센트 동일성은 식별된 서열에 나타낸 서열의 길이를 매치의 수로 나눈 다음, 그 결과 값에 100을 곱하여 검출된다. 예를 들어, 만일 서열이 SEQ ID NO:A에 나타낸 서열 세트와 비교되고(SEQ ID NO:A에 나타낸 서열 세트의 길이는 10임), 매치의 수는 9인 경우에, 서열은 SEQ ID NO:A에 나타낸 서열에 대해 90%의 퍼센트 동일성을 갖는다(즉, $9 \div 10 * 100 = 90$).

[0342]

항체

[0343]

본 명세서에 언급된 용어 "항체 또는 항체 프레그먼트"는 본 발명의 정황에서 전체 항체 및 "항원-바인딩 영역" 또는 이의 단일 사슬로 언급되는 어느 항원 바인딩 프레그먼트를 포함한다.

[0344]

"항체"는 이황화 결합에 의해 상호-연결된 적어도 2개의 중(H)쇄 및 2개의 경(L)쇄, 또는 이의 항원 바인딩부를 포함하는 단백질을 지칭할 수 있다. 각 중쇄는 중쇄 가변 영역(본 명세서에서 VH로 약칭함) 및 중쇄 불변 영역을 포함하여 구성된다. 중쇄 불변 영역은 3개의 도메인, CH1, CH2 및 CH3를 포함하여 구성된다. 각각의 경쇄는 경쇄 가변 영역(본 명세서에서 VL로 약칭함) 및 경쇄 불변 영역을 포함하여 구성된다.

[0345]

VH 및 VL 영역은 프레임워크 영역(FR)이라 칭하여지는 보다 보전적인 영역과 배치되는 상보성 결정 영역(complementarity determining region)(CDR)이라 칭하여지는 초가변성(hypervariability) 영역으로 더욱 세분될 수 있다. 각각의 VH는 전형적으로 3개의 CDRs 및 4개의 FRs를 포함하며, 이는 하기 순서로 아미노-말단으로부터 카복시-말단으로 배치된다: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. 마찬가지로, 각각의 VL은 전형적으로 3개의 CDRs 및 4개의 FRs를 포함하며, 이는 하기 순서로 아미노-말단으로부터 카보시-말단으로 배치된다: FR5, CDR4, FR6, CDR5, FR7, CDR6, FR8. 중쇄 및 경쇄의 가변 영역은 항원과 상호작용하는 바인딩 도메인을 함유한다. 항체의 불변 영역은 면역 시스템의 다양한 세포들(예, 이펙터 세포) 및 고전 보체 시스템의 제 1 성분(C1q)을 포함하는 숙주 조직 또는 백터에 대한 면역글로불린의 바인딩을 중재할 수 있다.

[0346]

본 명세서에 사용된 용어 "항원-바인딩 영역"은 항원에 특이적으로 바인딩하는 능력을 보유하는 항체의 하나 이상의 프레그먼트를 칭한다. 항체의 항원-바인딩 기능은 전장 항체의 프레그먼트에 의해 수행될 수 있는 것으로 나타났다. 항체의 용어 "항원-바인딩 영역"에 포함되는 바인딩 프레그먼트의 예는

[0347]

(i) Fab 프레그먼트, VL, VH, CL 및 CH1 도메인으로 구성된 1가 프레그먼트;

[0348]

(ii) F(ab')2 프레그먼트, 헌지 영역에서 이황화 결합에 의해 연결된 2개의 Fab 프레그먼트를 포함하는 2가 프레그먼트;

[0349]

(iii) 헌지 영역의 일부를 함유하는 본질적으로 Fab인, Fab' 프레그먼트;

[0350]

(iv) VH 및 CH1 도메인으로 구성된 Fd 프레그먼트;

[0351]

(v) 항체의 단일 암(arm)의 VL 및 VH 도메인으로 구성된 Fv 프레그먼트;

[0352]

(vi) VH 도메인으로 구성된 dAb 프레그먼트;

[0353]

(vii) 분리된 상보성 결정 영역(CDR); 및

[0354] (viii) 나노바디, 단일 가변 도메인 및 2개의 불변 도메인을 함유하는 중쇄 가변 영역

[0355] 을 포함한다.

[0356] 또한, Fv 프레그먼트, VL 및 VH의 2 도메인이 별도의 유전자에 의해 암호화되더라도, 이들은 VL 및 VH 영역이 쌍을 이루어 1가 분자를 형성하는 (단일 사슬 Fv(scFv)로 알려진) 단일 단백질 사슬로서 제조되는 것을 가능케 하는 합성 연결기에 의해 재조합 방법을 이용하여 연결될 수 있다. 이러한 단일 사슬 항체는 또한 항체의 용어 "항원-바인딩 부(antigen-binding portion)"에 포함되는 것으로 의도된다.

[0357] 이중체는 웨타이드 연결기에 의해 연결된 동일한 폴리웨타이드 사슬(VH-VL)에서 경쇄 가변 도메인(VL)에 연결된 중쇄 가변 도메인(VH)을 각각 포함하는 2개의 폴리웨타이드로 구성된다. 이러한 항체 프레그먼트는 당해 기술 분야의 통상의 기술자에게 알려진 통상적인 기술을 이용하여 획득되며, 상기 프레그먼트는 고유의 항체와 동일한 방식으로 이용하여 스크리닝된다.

[0358] 본 명세서에 사용된 "분리된 항체(isolated antibody)"는 다른 항원 특이성을 갖는 다른 항체가 실질적으로 없는 항체를 의미한다(예, 포스포릴콜린에 특이적으로 바인딩하는 분리된 항체는 포스포릴콜린 이외의 항원에 특이적으로 바인딩하는 항체가 실질적으로 없다). 또한, 분리된 항체는 다른 세포성 물질 및/또는 화학물질이 실질적으로 없을 수 있다.

[0359] 본 명세서에 사용된 용어 "모노클로날 항체(monoclonal antibody)" 또는 "모노클로날 항체 조성물(monoclonal antibody composition)"은 단일 분자 조성물의 항체 분자의 제조물을 칭한다.

[0360] 모노클로날 항체 조성물은 특정 에피토프에 대한 단일 바인딩 특이성 및 친화도를 나타낸다.

[0361] 용어 "인간화된 항체(humanized antibody)"는 마우스와 같은 다른 포유류종의 생식세포로부터 유래된 CDR 서열이 인간 프레임워크 서열 상에 그라프트된 항체를 의미한다. 부가적인 프레임워크 영역 변형이 인간 프레임워크 서열 내에서 이루어질 수 있다.

[0362] 용어 "키메릭 항체(chimeric antibody)"는 가변영역 서열이 마우스 항체로부터 유래되고, 불변영역 서열이 인간 항체로부터 유래된 항체와 같이, 가변영역 서열이 1종으로부터 유래되고, 불변영역 서열이 다른 종으로부터 유래된 항체를 의미한다.

약학 조성물

[0364] 본 발명에 따른 약학 조성물은 의도된 투여 경로 및 스탠다드 약학 수행과 관련하여 전형적으로 선택되는 약학적으로 허용되는 캐리어 및/또는 부형체와 함께 본 발명에 따른 바인딩 단백질을 포함할 수 있다. 상기 조성물은 즉시-, 지연-, 또는 조절된- 방출 적용의 형태일 수 있다. 바람직하게, 제형은 활성 성분의 일일 투여량 또는 단위, 일일 부-투여량 또는 이의 적절한 일부를 함유하는 단위 투여량이다.

[0365] 본 발명에 따른 약학 조성물은 비경구, 정맥내, 동맥내, 복강내, 근육내, 뇌혈관내, 또는 피하 투여에 적절한 방식으로 의도되거나, 의도되지 않을 수 있으며, 이에 따라 이러한 방식으로 제형화되거나 그렇지 않을 수 있으며, 또는 이는 인퓨전 기술에 의해 투여될 수 있다. 이는 예를 들어, 혈액 또는 뇌 척수액(CSF)와 등장성 용액을 제조하기 위해 충분한 염 또는 포도당과 같은 다른 물질들을 함유할 수 있는 멸균 수용액 형태로 가장 적합

하게 사용될 수 있다. 수용액은 필요에 따르 적절히 완충될 수 있다(바람직하게 pH 3 내지 9). 멸균 조건하에서 적절한 약학 제형의 제조는 당해 기술분야의 통상의 기술자에게 잘 알려진 스탠다드 약학 기술에 의해 쉽게 완수된다.

[0366] 적절한 제형은 수성 및 비수성 멸균 주사액을 포함할 수 있으며, 이는 항산화제, 베피, 세균 발육 저지제 및 의도된 수용자의 혈액 또는 CSF와 등장성인 제형을 제공하는 용질을 함유할 수 있으며; 그리고 서스펜션화제 및 증점안정제를 포함할 수 있는 수성 및 비수성 멸균 서스펜션을 포함할 수 있다. 상기 제형은 예를 들어, 밀봉된 앰플 및 바이얼과 같은 단위 투여량 또는 다회용으로 존재할 수 있으며, 예를 들어, 사용 직전에 주사용 물과 같은 멸균액 캐리어의 첨가만을 필요로 하는 동결건조 조건에서 보관될 수 있다. 즉석 주사액 및 서스펜션은 종래 기술된 종류의 멸균 분말, 과립 및 정제로부터 제조될 수 있다.

[0367] 인간 환자와 같은 환자에게 투여를 위한 본 발명에 따른 항체 또는 항체 프레그먼트의 치료 유효량은 일일 투여 수준에 기초하여, 단일 또는 분할 투여로 투여시 성인당 0.01-1000mg의 항체 또는 항체 프레그먼트(예, 환자 체중의 kg당 약 0.001-20mg, 예를 들어, 약 1mg/kg과 같은 0.1mg/kg 이상 내지 20, 10, 5, 4, 3 또는 2mg/kg과 같은 0.01-10mg/kg)일 수 있다.

[0368] 의사는 어느 경우에 어느 개별 환자에 대해 가장 적절한 실제 투여량을 결정할 것이며, 이는 특정 환자의 나이, 체중 및 반응에 따라 달라질 것이다. 상기 투여량은 평균적인 사례의 예시이다. 물론 보다 높거나 낮은 투여 범위가 이로운 경우에 있는 개인적인 사례가 있을 수 있으며, 이는 본 발명의 범위에 포함된다.

[0369] 실시예

[0370] 하기 실시예는 본 발명의 다양한 견지를 보다 상세히 설명하기 위해 포함되었다. 본 발명자에 의해 발명된 하기에 나타낸 기술 및/조성물은 발명의 수행시 실시예에 나타낸 기술이 당해 기술분야의 통상의 기술자에게 잘 인식될 것이며, 이의 수행에 대한 바람직한 방식을 구성하는 것으로 간주될 수 있다. 그러나, 당해 기술분야의 통상의 기술자는 본 발명의 견지에서, 다수의 변화가 특정 구현에서 이루어질 수 있으며, 이는 본 발명의 정신 및 범위를 벗어나지 않고 유사한 결과를 개시하거나 획득함을 인식할 것이다.

[0371] 파지 디스플레이 항체 라이브러리의 스크리닝

[0372] PC에 바인딩하고 PC의 전-염증성 작용을 중화하며, 심혈관 질환에서 oxLDL 또는 세포사멸 내피 세포에 노출되는 인간 항체를 식별하기 위한 파지 디스플레이 선별 및 스크리닝 활동을 수행하였다.

[0373] 항-PC 항체의 선별은 소혈청 알부민(BSA)에 컨주케이트된 PC를 이용하여 유도되고, 페리틴에 컨주케이트된 PC를 함유한 라운드 사이에 변형되었다.

[0374] 파지 디스플레이 선별 아웃풋은 ELISA에 의해 PC-BSA에 대한 바인딩에 대한 개별 파지로서 스크리닝되고, 그 히트는 DNA 시퀀싱되어 독특한 항체의 정확한 수를 나타내며; 이들 모두는 재조합적으로 IgG로 전환되었다. 전체적으로, 2개의 다른 파지 디스플레이 라이브러리 41 전 인간 IgGs에서 선별을 수행한 후에, 확인 및 생성하였다. 이러한 항체들은 ELISA에 의해 총 10,660의 다른 파지 클론을 스크리닝한 후에 확인되었으며, 이로부터 1,511 ELISA 파지티브 히트가 존재하였다.

- [0375] ELISA 히트는 배경 신호(스트렙트비딘-코팅된 플레이트)보다 적어도 3배 더 우수한 고정 표적(즉, PC-BSA) 상에 신호를 갖는 것으로 정의되었다.
- [0376] 1,511 ELISA 파지티브들을 스크리닝하고, 전체 인간 IgGs에 대한 파지상에 디스플레이된 Fab 프레그먼트의 항체들을 캔버팅한 후에, PC에 바인딩하는 56가지의 다른 항체 서열들인 첫 번째 파지미드 라이브러리의 26 및 두 번째 파지 라이브러리의 30을 회수하였다.
- [0377] IgG 재형성, 발현 및 정제
- [0378] 전장 IgG에 대해 파지 상에 디스플레이된 Fab로부터 재조합 재형성 후에, 40 및 56 항체들의 회수 결과를 나타내었다.
- [0379] 각 IgG에 대한 DNA를 준비하고, 인간 신장 293T 세포로 트랜스펙션하여 10일 배지 수거 후에 일시적으로 IgG를 생성하였다. 시험관내 스튜디오를 위해 사용된 IgGs를 단백질 A 세파로즈(MabSelect)를 이용하여 정제하고, PBS로 벼퍼 교환되었다.
- [0380] 생체내 시험으로 의도된 IgGs는 단백질 A 세파로즈에 의해 정제되고, 그 후에 구배 용출을 이용하여 양이온 교환(Poros HS)되었다. 생체내 시험으로 의도된 IgG 항체는 Antibody Formulation Buffer(0.1M 시트레이트-포스페이트, 50mM NaCl, 0.01% Tween-80, 2% Trehalose, pH 6.0)로 벼퍼 교환되었다. 항체 농도는 280nm(1mg/mL = 1.4 O.D.)에서 흡광도에 의해 정제된 시료에서 검출되었다.
- [0381] 시험관내 어세이
- [0382] 40 IgGs를 원하는 특성을 갖는 항체를 식별하기 위해 일련의 시험관내 시험으로 시험하였다. 표 1에 전체 인간 IgG 항-포스포릴콜린 항체의 선별을 위한 바인딩 특성을 요약하였다.
- [0383] 표 1에서 제 2 컬럼(컬럼 A)은 96웰 플레이트 표면에 고정된 PC-BSA에 첨가된 15.6ng/mL IgG만을 이용하여 획득된 ELISA 신호를 나타낸다. 1보다 큰 ELISA 신호를 갖는 항체는 높은 친화도의 항체인 것으로 예측된다.
- [0384] 표 1에서 제 3 컬럼(컬럼 B)은 항체가 바이오센서 침에 공유결합으로 고정된 아미노페닐 포스포릴콜린에 걸쳐 항체가 주입되고, 바인딩이 Biacore 3000 인스트루먼트를 이용한 표면 플라즈몬 공명에 의해 검출된 경우에 획득된 신호를 나타낸다. Biacore 신호가 높을수록, 보다 강한 바인딩이 관찰되었다.
- [0385] 표 1에서 제 4 컬럼(컬럼 C)은 공유결합으로 고정된, BSA 또는 바이오센서 침에 포스포릴콜린을 공유결합하기 위해 사용된 연결기인 아미노페놀에 대한 바인딩을 시험함으로써 포스포릴콜린에 대한 항체의 특이성을 검출하는 시험의 결과를 나타낸다. 여러 상기 항체들이 연결기 분자에 바인딩할 뿐만 아니라, 아미노페닐 포스포릴콜린에도 바인딩하거나 이보다 더 잘 바인딩한다. 이러한 항체들은 효과적인 치료학적 항-포스포릴콜린 항체가 아닌 것으로 보인다.
- [0386] 표 1에서 제 5 컬럼(컬럼 D)은 심혈관 염증에서 초기 이벤트이며 거품 세포의 형성을 일으키는 마크로파지에 의한 oxLDL의 흡수를 억제하는 항체의 능력을 시험한 결과를 나타낸다. 마크로파지 흡수는 80 μ g/mL 시험 항체의 존재 또는 부재하에서 형광 변형된 oxLDL을 이용한 플로우 사이토메트리에 의해 모니터되었다. 각 실험에서, 100 μ g/mL의 친화도 정제된 IgM 항-PC 폴리클로날 항체가 양성 컨트롤로 사용되었다. 형광에 의해 모니터된 시

험 모노클로날 항체의 존재하에 취해진 oxLDL의 양을 폴리클로날 항체의 존재하에서 관찰된 형광도로 나눈 다음, 100을 곱하였다. 따라서, 100이하의 값은 80 μ g/mL의 농도에서 상기 항체가 100 μ g/mL의 농도에서 인간 혈청으로부터 추출된 폴리클로날 항-PC에 비해 oxLDL 흡수의 억제에 보다 효과적이었음을 나타낸다. 100이상의 값은 이러한 식으로 상기 항체가 상기 폴리클로날 항-PC에 비해 덜 효과적이었음을 나타낸다.

[0387]

여러 상기 항체들이 폴리클로날 항-PC 컨트롤과 유사하거나 이보다 더 우수하게 흡수를 억제한 것으로 관찰되었 다. 또한, 여러 항체들이 oxLDL의 마크로파지 흡수를 자극한 것으로 관찰되었으며, 이는 선발 주도로부터 이러한 항체들을 제외하는 특성이다.

[0388]

표 1의 마지막 컬럼(컬럼 E)은 oxLDL 또는 네이티브 LDL을 함유하는 96웰 플레이트의 웰에 IgGs를 첨가함으로써 획득된 ELISA 데이터를 나타낸다. LDL로 관찰된 ELISA 신호의 비로 나눈, oxLDL에 대한 바인딩에 대해 관찰된 ELISA 신호의 비를 각 시험 항체에 대해 표 1에 나타내었다. 이는 특정 항체들이 LDL에 비해 oxLDL의 보다 우수한 바인더임을 입증한다.

표 1

표 1. 전체 인간 IgG 항-PC 항체에 대한 바인딩 특성의 요약

전체 컬럼 표제:

- A) 15.6ng/ml Ab에서 ELISA에 의한 BSA에 컨주게이트된 PC에 대한 바인딩(OD)
- B) Biacore에 의한 아미노페닐 PC에 대한 바인딩(RU)
- C) Biacore에 의한 아미노페닐 연결기에 대한 바인딩(RU)
- D) 80 μ g/ml Ab의 존재하에서 마크로-파지에 의한 oxLDL 흡수 퍼센트(a)
- E) ELISA에 의한 oxLDL 대 LDL에 대한 바인딩(oxLDL 신호/LDL 신호)(b)

시료 ID	A	B	C	D	E
M0004-B02	1.24	366.4	38.6	233.3	6.7
M0004-C02	0.11	44.8	0.2	93	1.2
M0004-G02	1.23	1028.5	15.7	nd	8.4
M0007-H10	0.49	415.8	2.7	105	0.6

[0389]

M0009-A06	0.48	912.1	2.5	80.5	2.8
M0011-F05	1.56	4473.6	155.6	547.5	10.3
M0024-B01	0.26	nd	nd	nd	11.1
M0026-H05	0.03	1.6	17.8	73.7	1.4
M0027-H05	0.03	-3.3	1.4	79.3	1.1
M0028-H05	0.03	1.8	5	86	0.6
M0029-H05	0.08	nd	nd	370	0.9
M0030-H05	0.02	19.1	32.8	nd	nd
M0031-H05	0.03	-4.1	0.2	81	1
M0034-G12	0.84	462.3	14.6	78	nd
M0035-E11	0.14	41.5	2.1	68	0.5
M0039-H05	2.73	-6.4	2.1	80.4	0.7
M0042-G07	nd	-2.9	2.3	93.7	0.8
M0043-D09	1.24	172.7	2.1	1310	16.8
M0050-H09	0.22	279.1	7	71.5	nd
M0073-G03	0.18	46.3	19.9	51.1	1.2
M0077-A11	0.26	836.3	1.3	78.4	0.7
M0086-F02	0.99	1.4	12.6	315	nd
M0086-H01	0.41	51.2	4.9	85	1
M0086-H11	1	-1.1	0.9	74	nd
M0097-B04	0.22	109.5	-0.5	98	1.3
M0097-B05	1.01	699.6	-3.2	80	1.1
M0099-B05	1.03	5219.3	23.3	71	1.5
M0099-D11	0.03	170.7	8.6	560	2.1
M0100-A01	1.53	7532.8	3934.7	nd	1.1
M0102-E11	0.02	1.6	-1.3	83	nd
M0108-H03	nd	532.7	4.5	nd	1.1
M0126-A04	0.03	34.2	-8	nd	2.8
M0126-F10	nd	32.9	-8.3	nd	nd
M0126-H08	0.03	114.3	566.1	98	nd
M0127-A09	0.03	18.2	-8.7	160	1.6
M0127-B07	0.05	16.3	-7	67	nd
M0127-E06	nd	21.9	-4.2	nd	nd
M0127-E07	nd	15.4	-6.2	nd	1.8
M0127-F01	0.02	9.6	3.6	77	nd
X0009-A01	0.23	198.1	2	95	1.5

[0390]

a) 마크로파지에 의한 OxLDL 흡수 Dil-표지된(1,1'-디옥타데실-3,3,3',3'-테트라메틸인도카보시아닌 퍼클로레이트) Cu-산화된 LDL(oxLDL, Intracel Corp, US)의 흡수는 인간 THP-1 모노사이트(ATCC, US)로부터 유래된 마크로파지에서 조사되었다. 분화는 RPMI에서 100nM PMA(Sigma-Aldrich) 및 10% FCS로 24시간 배양하고, 그 후 이 배지 같아주고 49시간 동안 세포를 두었다. 그 다음 세포를 37°C에서 50-60분간 상기 표시된 항체와 함께 배양하였다. 그 후, 20μg/ml oxLDL을 첨가하고, 5시간 동안 배양을 계속하였다. 배양 기간의 마지막에, 세포를 아이스-콜드 PBS/0.2% BSA로 2회 세정하고, PBS로 1회 세정하였다. 세포를 2% PFA가 함유된 PBS에 수거하였다. 데이터 수집 및 분석을 위해, FACS Calibur with Cell Quest 소프트웨어가 사용되었다. 각 시료에 대해, 최소 10,000cells^o 분석되었다.

[0392]

b) OxLDL ELISA hLDL(Kalen Biomedical #770200-4), oxLDL(Kalen Biomedical #770252-7)(이들 데이터는 나타내지 않음)을 ELISA 플레이트(Immulon 2HB)에서 10μg/ml의 농도 및 100μl/well의 부피로 4°C에서 밤새 코팅하였다. 플레이트를 실온에서 2시간 동안 1% BSA 용액(300μl/well)로 블로킹하였다. 세정 후에, 플레이트를 실온에서 1시간 동안 상기 표시된 항체(100μl/well; 25-100nM)로 배양하였다. AP-컨주케이티드 염소 항-인간 2차 항체(ThermoScientific #31316)를 1:5000 희석비로 100μl/well로 상기 세정된 플레이트에 첨가하고, 실온에서

1시간 동안 배양하였다. 검출 시약(ThermoScientific #37621)을 첨가하고(100 μ l/well), 플레이트를 즉시 30°C의 온도로 405nm에서 동적 모드로 판독하였다. 결과를 OD_{oxLDL}/OD_{LDL}로 나타내었다.

[0393] PC에 대한 항-PC IgG 친화도의 SPR에 의한 분석

IgGs는 Biacore 표면 플라즈몬 공명(SPR) 바이오센서를 이용하여 PC에 대한 바인딩에 대해 스크리닝하였다. 아미노페닐 포스포릴콜린(Bioscience Technologies)을 자유 아민기를 통해 120RU의 밀도로 CM5 칩의 한 플로우 셀에 커플링하였다. 아미노페놀 연결기는 약 120RU의 밀도로 상기와 동일한 CM5 칩의 다른 플로우 셀에 커플링하였다. PC-KLH과 PC-BSA를 또한 커플링하여 CM5 칩의 플로우 셀을 분리하였다.

[0395] 다른 맥락에서 고정된 PC를 갖는 이러한 표면을 이용하여, 상기 항체들은 50 μ L/min으로 100nM을 주입되고, 바인딩 센서그램이 획득되었다. M99-B05의 친화도는 50 μ L/min으로 상기 표면에 걸쳐 다른 농도의 항체를 흐르게 함으로써 조사되었다. 이 고정된 항원에 대해, 상기 항체는 신속한 온 레이트(on rate) 및 신속한 오프 레이트(off rate)를 나타내며, 이는 동적 센서그램으로부터 신뢰할 수 있는 K_{on} 및 K_{off} 측정치를 얻는 것을 방해하였다.

[0396] 주입 마지막 부근에서 각 항체 농도에 대해 관찰된 신호는 항체 농도에 대해 도시되고, 그 데이터를 스텐다드 쌍곡선 평형 바인딩 방정식에 맞추었다(도 1). 도 1에 나타낸 바와 같이, M99-B05는 약 150nM의 어폐런트 Kd로 아미노페닐 PC에 바인딩하는 것으로 나타났다. R_{max}(최대 반응)을 제외하고 동등한 Kd 값을 갖는 시험된 제조물 모두가 상이하다. 이러한 표면에서 각 항체에 대해 관찰된 어폐런트 Kd 값은 보다 생리학적 기질에서 관찰된 친화도를 나타내거나 나타내지 않을 수 있다.

[0397] 정제된 항-PC IgGs의 ELISA 스크리닝

[0398] 또한 정제된 IgGs를 PC-BSA로 ELISA를 이용하여 PC에 대한 바인딩에 대해 스크리닝하였다. 이 데이터는 추정된 EC₅₀ 값을 제공하도록 맞추어졌다(도 2).

[0399] 모노사이트로부터 oxLDL 유도된 MCP-1 방출의 억제

[0400] 여러 항체들은 oxLDL을 이용한 자극에 대해 반응하여 모노사이트로부터 케모카인 MCP-1의 방출을 차단하는 이들의 능력에 대해 시험되었다. 표 2에 나타낸 바와 같이, M990-B05는 oxLDL-유도 MCP-1 방출을 차단하는데 매우 효과적이었다. 이 항체는 nM 범위의 IC₅₀으로 MCP-1 방출을 강력히 억제하였다.

[0401] MCP-1은 아테로ーム 동맥 경화성 병변부에서 백혈구의 유입을 촉진하는 강력한 전-염증 케모카인이다(Reape and Groot. 1999. *Chemokines and atherosclerosis. Atherosclerosis* 147, 213-225). 음성 컨트롤로서 컨트롤 IgG 항 스트렙타비딘 A2는 모노사이트로부터 oxLDL 유도 MCP-1 방출의 억제를 보이지 않았다(데이터로 나타내지 않음).

표 2

표 2. 인간 모노사이트로부터 oxLDL-유도된 MCP-1 분비의 항-PC 억제

	M99-B05의 IC ₅₀
도너 1	1.8 ± 0.74 nM
도너 2	1.3 ± 0.7 nM

[0402]

[0403] 모노사이트는 인간 혈액으로부터 분리되고, 10pM 내지 40nM 항-PC IgG의 존재 또는 부재하에서 2 μ g/mL 구리-산화된 oxLDL로 자극되었다. 세포 배지에서 MCP-1 수준은 상업적으로 구입가능한 MCP-1 특이 ELISA 키트를 이용하여 정량하였다.

[0404]

또한 항체(M99-B05)는 인간 아테로스 동맥 경화성 병변 조직에 바인딩하는 것으로 나타났다(도 6).

[0405]

생체내 어세이

[0406]

호의적인 시험관내 바인딩 특성 및 시험관내 시험에서의 기능의 조합에 기초하여, 항체 M4-G2, M73-G03 및 M99-B05를 관상 동맥 염증의 생체내 모델에서 더욱 시험하였다.

[0407]

이 마우스 모델은 노출된 고동맥 주변에 제한 커프를 둘으로써 유도된 혈관 손상에 반응하여 내피하 조직(즉, 미디어) 안으로의 염증성 세포 유입을 측정하였다. 도 3으로부터 M99-B05는 내피하층 안으로의 백혈구 유입을 감소시키고, 그 감소는 통계학적으로 유의한 것으로 입증되었다. 이에 비해, 호의적인 시험관내 바인딩 특성 및 시험관내 시험에서의 기능에도 불구하고, M4-G2 또는 M73-G03은 컨트롤 항체("HuIgG1 a-A2"라 칭하여지는 항-스트렙타비딘 A2 IgG)에 비해 어느 것도 어떠한 실질적인 현저한 감소를 보이지 않았다.

[0408]

본 시험에서, M4-G2 및 M73-G03과 비교하여 M99-B05의 매우 현저한 효과는 예측될 수 없었으며, 본 발명자들에게 예기치 않은 것이었다. 이는 항-PC 항체의 생체내 효과가 양성적인 시험관내 데이터로부터 예측될 수 없는 것임을 입증한다.

[0409]

결론적으로, M99-B05는 고동맥 주변에 커프를 둘으로써 상처가 다시 유도되었으나, 3일 대신에 14일간 진행되도록 한 마우스에서 혈관 재협착증 모델에서 시험되었다. 영향받은 동맥에서 혈관 네오티마의 농화로 관찰된 협착량은, 그 다음 조직 화학에 의해 분석되었다(도 4). 도 4로부터, M99-B05는 커프-유도된 혈관 손상 후에 혈관 벽 농화를 현저히 억제하였음을 알 수 있다. 이는 M99-B05가 생체내에서 매우 효과적임을 또한 입증한다.

[0410]

생식세포 및 안정성 돌연변이의 제작

[0411]

M99-B05 항체의 중쇄 및 경쇄 모두의 가변 영역의 아미노산 서열 분석으로 잠재적 면역원성을 감소시키고, 항체 발현 및 정제 중에 일어날 수 있는 민감한 아미노산 변형을 회피할 의도로 제작하기 위한 아미노산 치환들을 확인하였다.

[0412]

하기 표는 Kabat 데이터베이스를 이용하여 이의 가장 가까이 관련된 생식세포 항체 서열과 가변 영역의 아미노산 서열의 정렬을 나타낸다. 또한, 표에서, 생산능력(소위 "안정성 돌연변이")과 관련되어 모두 문제를 일으킬

수 있는 잠재적 탈아미드화부, HCDR3 이황화 결합이 제거된 돌연변이에 부가적으로, 생식세포에 보다 가깝게 만들기 위해 항체에서 이루어진 아미노산 치환을 강조하였다.

[0413] *M99-B05의 돌연변이]*

[0414] X19-A01 돌연변이는, M99-B05에서 경쇄의 첫 번째 아미노산(글루타민)이 X19-A01에서 삭제되어 생식세포 서열과 보다 더 잘 매칭되는 것을 제외하고, 와일드 타입 M99-B05와 동일한 중쇄 및 경쇄 아미노산 서열을 갖는다.

[0415] X19-A03 돌연변이의 서열은 중 가변영역의 프레임워크 1(HV-FR1)에 삽입된 페닐알라닌(F)이 없으며, 그리고 발현 및 정제 중에 잠재적으로 단백질 아미노산 변형을 감소시키지 않는 아미노산 치환이 없는(안정성 돌연변이), VH3-23, JH3 중쇄 및 VK4-B3, JK1 경쇄 생식세포 서열에 관하여 전체 생식세포 항체를 암호화한다. M99-B05 항체는 생식세포 서열에 관하여 HV-FR1의 꼬리에서 삭제된 F 아미노산을 갖는 것으로 발견되었다. 이러한 위치에서 F 삽입은 항체를 생식세포 서열에 더 가깝게 하며, 아마도 면역원성이 감소되는 것으로 보인다. X19-A03 돌연변이는 이러한 삽입이 PC 바인딩에 영향을 미치는 이벤트에 F 삽입을 제외한 다른 모든 생식세포 치환을 함유하는 것으로 구성되었다. 안정성 돌연변이는 잠재적인 디아미드화부(NG)를 방해하도록 수행되는 HV-CDR3에서 G에서 A로의 돌연변이 및 다른 잠재적 디아미드화부를 제거하기 위한 LV-CDR1에서 N에서 Q로의 치환을 함유한다.

[0416] X19-A05 돌연변이의 서열은 HV-FR1에서 삽입된 F를 포함하는 모든 생식세포 치환, 및 안정성 돌연변이를 함유한다. X19-A05 항체는 모든 생식세포 치환 및 안정성 돌연변이를 함유하는 본 실시예에서 생성된 유일한 돌연변이 항체이다.

[0417] X19-A11 돌연변이는 X19-A01과 동일한 서열을 갖지만, 이 영역에서 형성되는 것으로 예측되는 이황화물을 제거하기 위해 HV-CDR3에서 두 개의 C에서 S로의 치환을 갖는다.

[0418] X19-C01은 F 삽입을 함유하지 않으며, 이황화물을 제거하기 위해 C에서 S로의 치환을 갖는 안정성 돌연변이를 함유하는 생식세포이다. 비교할만한 항체(프리-디설피드 제거)는 X19-A03이다.

표 3

표 3. M99-B05의 중쇄 서열 최적화

M99-B05	EVQLLESGGGLVQPGGLSRLSCAASGFT-SGYWMHWVRQAPGKGLEWVS
X19-A01	EVQLLESGGGLVQPGGLSRLSCAASGFT-SGYWMHWVRQAPGKGLEWVS
X19-A03	EVQLLESGGGLVQPGGLSRLSCAASGFT-SGYWMHWVRQAPGKGLEWVS
X19-A05	EVQLLESGGGLVQPGGLSRLSCAASGFTS-GYWMHWVRQAPGKGLEWVS
X19-A07	EVQLLESGGGLVQPGGLSRLSCAASGFT-SGYWMHWVRQAPGKGLEWVS
X19-A09	EVQLLESGGGLVQPGGLSRLSCAASGFTS-GYWMHWVRQAPGKGLEWVS
X19-A11	EVQLLESGGGLVQPGGLSRLSCAASGFT-SGYWMHWVRQAPGKGLEWVS
X19-C01	EVQLLESGGGLVQPGGLSRLSCAASGFT-SGYWMHWVRQAPGKGLEWVS

M99-B05	<u>YISPSGGGTHYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR</u>
X19-A01	<u>YISPSGGGTHYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR</u>
X19-A03	<u>YISPSGGGTHYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR</u>
X19-A05	<u>YISPSGGGTHYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR</u>
X19-A07	<u>YISPSGGGTHYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR</u>
X19-A09	<u>YISPSGGGTHYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR</u>
X19-A11	<u>YISPSGGGTHYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR</u>
X19-C01	<u>YISPSGGGTHYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR</u>

M99-B05	<u>VRFRSVCNSNGVCRPTAYDAFDI</u> WGQGTAVTVSS SEQ ID NO: 3
X19-A01	<u>VRFRSVCNSNGVCRPTAYDAFDI</u> WGQGTAVTVSS SEQ ID NO: 5
X19-A03	<u>VRFRSVCNSNAVCRPTAYDAFDI</u> WGQGTMVTVSS SEQ ID NO: 7
X19-A05	<u>VRFRSVCNSNAVCRPTAYDAFDI</u> WGQGTMVTVSS SEQ ID NO: 1
X19-A07	<u>VRFRSVCNSNGVCRPTAYDAFDI</u> WGQGTMVTVSS SEQ ID NO: 9
X19-A09	<u>VRFRSVCNSNGVCRPTAYDAFDI</u> WGQGTMVTVSS SEQ ID NO: 11
X19-A11	<u>VRFRSVCSSNGVSRPTAYDAFDI</u> WGQGTAVTVSS SEQ ID NO: 13
X19-C01	<u>VRFRSVCSSNAVSRPTAYDAFDI</u> WGQGTMVTVSS SEQ ID NO: 15
*****.*****	

[0419]

[0420] 생식세포 서열 돌연변이는 짙은 선으로 나타내었다. 가능한 제조 문제를 완화할 수 있는 잔기 돌연변이는 밑줄로 표시하였다. CDR 영역은 박스로 표시하였다.

표 4

표 4. M99-B05의 경쇄 서열 최적화

M99-B05	QDIQMTQSPDSLAVSLGERATINC <u>KSSQSVFYNSNKKNYLA</u> WYQQKAGQPPKL
X19-A01	-DIQMTQSPDSLAVSLGERATINC <u>KSSQSVFYNSNKKNYLA</u> WYQQKAGQPPKL
X19-A03	-DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC <u>KSSQSVFYQSNKKNYLA</u> WYQQKPGQPPKL
X19-A05	-DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC <u>KSSQSVFYQSNKKNYLA</u> WYQQKPGQPPKL
X19-A07	-DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC <u>KSSQSVFYNSNKKNYLA</u> WYQQKPGQPPKL
X19-A09	-DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC <u>KSSQSVFYNSNKKNYLA</u> WYQQKPGQPPKL
X19-A11	-DIQMTQSPDSLAVSLGERATINC <u>KSSQSVFYQSNKKNYLA</u> WYQQKAGQPPKL
X19-C01	-DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC <u>KSSQSVFYQSNKKNYLA</u> WYQQKPGQPPKL
*****:*****:*****:*****:*****	
M99-B05	LIH <u>WASTRES</u> GVPDRFSGSGSGTDFTLTISNLQAEDVALYYC <u>QQYFNAPRT</u> F
X19-A01	LIH <u>WASTRES</u> GVPDRFSGSGSGTDFTLTISNLQAEDVALYYC <u>QQYFNAPRT</u> F
X19-A03	LIY <u>WASTRES</u> GVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYC <u>QQYFNAPRT</u> F
X19-A05	LIY <u>WASTRES</u> GVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYC <u>QQYFNAPRT</u> F
X19-A07	LIY <u>WASTRES</u> GVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYC <u>QQYFNAPRT</u> F
X19-A09	LIY <u>WASTRES</u> GVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYC <u>QQYFNAPRT</u> F
X19-A11	LIH <u>WASTRES</u> GVPDRFSGSGSGTDFTLTISNLQAEDVALYYC <u>QQYFNAPRT</u> F
X19-C01	LIY <u>WASTRES</u> GVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYC <u>QQYFNAPRT</u> F
*****:*****:*****:*****:*****	
M99-B05	GQGTKVEIK SEQ ID NO: 4
X19-A01	GQGTKVEIK SEQ ID NO: 6
X19-A03	GQGTKVEIK SEQ ID NO: 8
X19-A05	GQGTKVEIK SEQ ID NO: 2
X19-A07	GQGTKVEIK SEQ ID NO: 10
X19-A09	GQGTKVEIK SEQ ID NO: 12
X19-A11	GQGTKVEIK SEQ ID NO: 14
X19-C01	GQGTKVEIK SEQ ID NO: 16

[0421]

[0422] 생식세포 서열 돌연변이는 굵은 선으로 나타내었다. 가능한 제조 문제를 완화할 수 있는 잔기 돌연변이는 밀줄로 표시하였다. CDR 영역은 박스로 표시하였다.

[0423]

의심을 회피하기 위해, 본 출원에서 서열의 제출 사이에 어떠한 의도하지 않은 차이가 있는 경우에, 표 3 및 4에서 VH 및 VL 도메인 및 다양한 CDR 서열에 대해 제공된 서열은 최종적인 서열이다.

[0424]

M99-B05의 돌연변이의 PC 바인딩

[0425]

M99-B05의 돌연변이의 PC 바인딩은 ELISA에 의해 평가되었다(도 5). ELISA 데이터(도 5)로부터, M99-B05에서 다수의 돌연변이는 PC에 대한 바인딩에 현저히 영향을 미치지 못하는 것으로 나타났다. 그러나, Hv-CDR3에서 시스테인 잔기를 세린(X19-A11 및 X19-C01)으로 치환한 것은 친화도를 감소시켰다. 이러한 시스테인 잔기는 이 황화물을 형성하는 것으로 예측되며, VK4-B3에 의해 암호화된 생식세포 항체 서열에 존재한다. 관찰된 바인딩 신호에서의 차이는 각 제조물에서 활성 항체의 양의 차이에 기여할 수 있으며 그리고/또는 농도 측정시 경미한 오류에 기여할 수 있다. 최대수의 허용된 서열 최적화된 치환을 함유하는 M99-B05의 항체 돌연변이는 X19-A05이었다. 이러한 항체는 모든 안정성 치환 및 생식세포 치환을 함유하지만 Hv-CDR3 이황화물을 보유한다.

[0426]

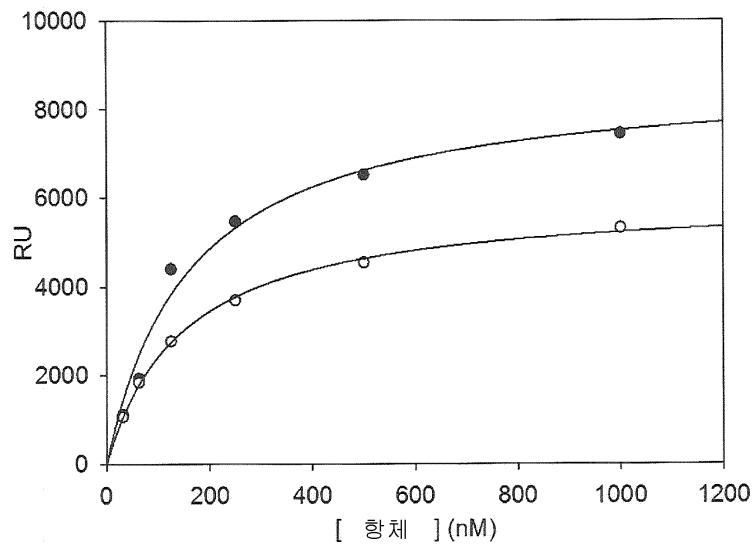
M99-B05 및 X19-A05의 생체내 효과의 비교

[0427]

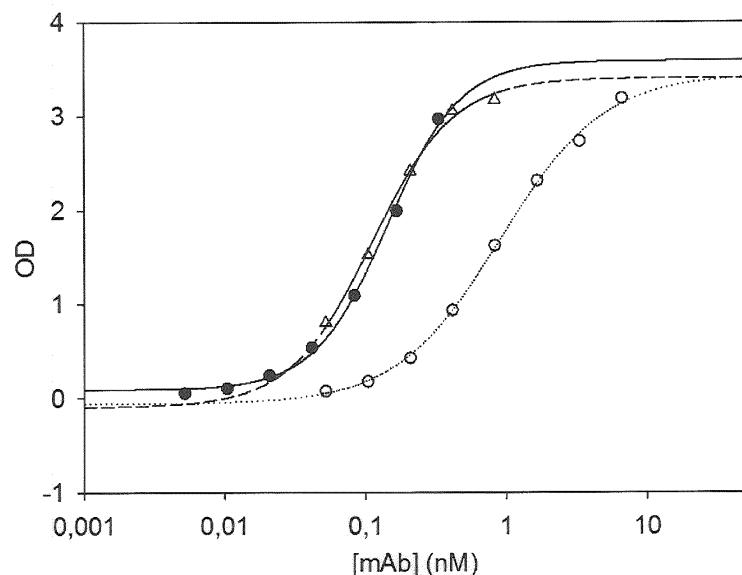
M99-B05 및 X19-A05는 고동맥 주변에 커프를 둘으로써 상처가 다시 유도되었으나, 3일 대신에 14일간 진행되도록 한 마우스에서 혈관 재협착증 모델에서 시험되었다. 영향받은 동맥에서 혈관 네오티마의 농화로 관찰된 혈착량은, 그 다음 조직 화학에 의해 분석되었다(도 7). 도 7로부터, X19-A05는 M99-B05와 비교하여 유사한 정도로, 커프-유도된 혈관 손상 후에 혈관 벽 농화를 현저히 억제한 것으로 나타났다. X19-A05의 효과는 또한 분명한 투여량-반응 상관성을 나타내었다.

도면

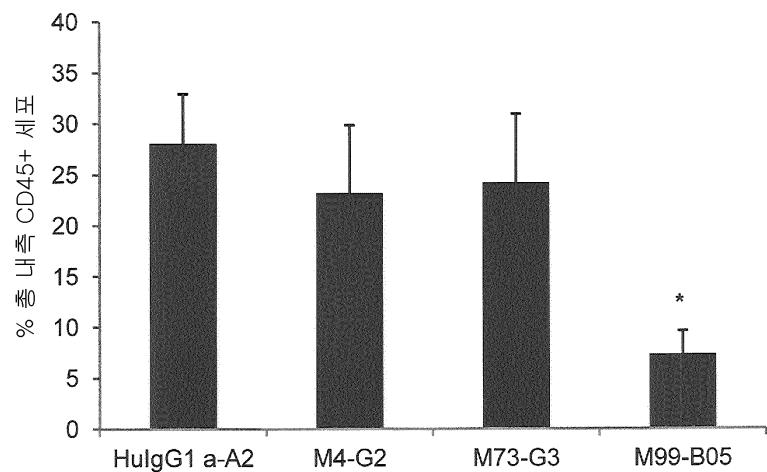
도면1



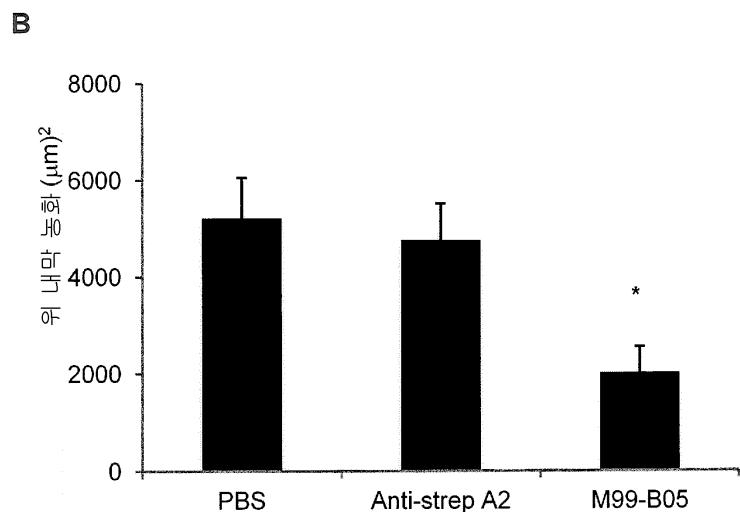
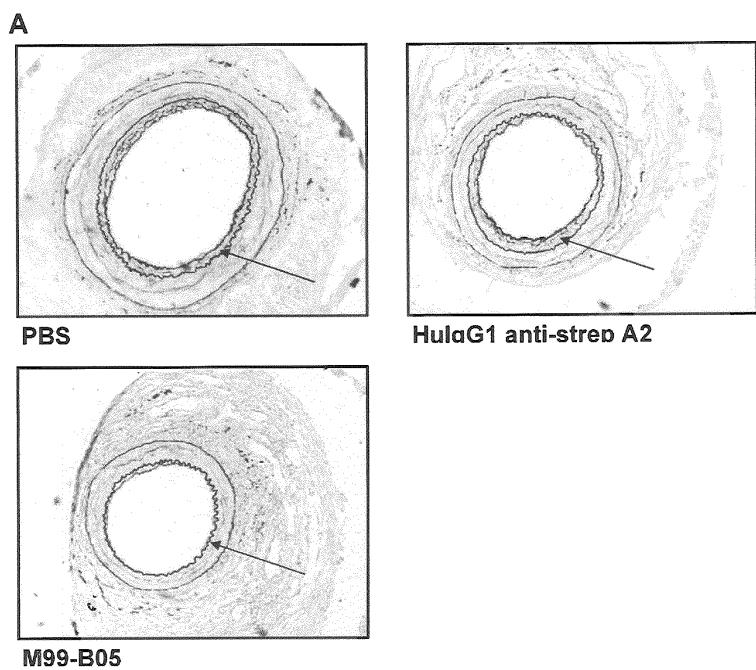
도면2



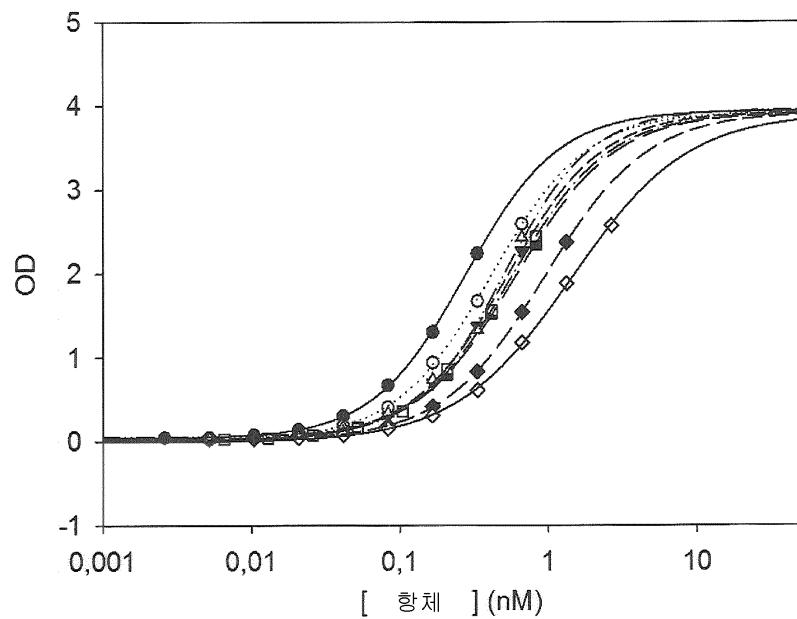
도면3



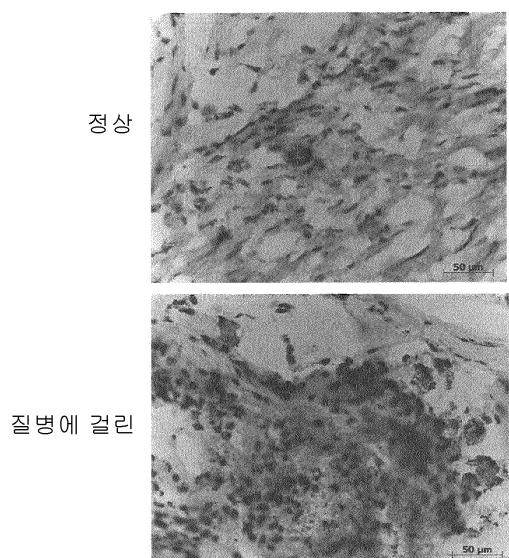
도면4



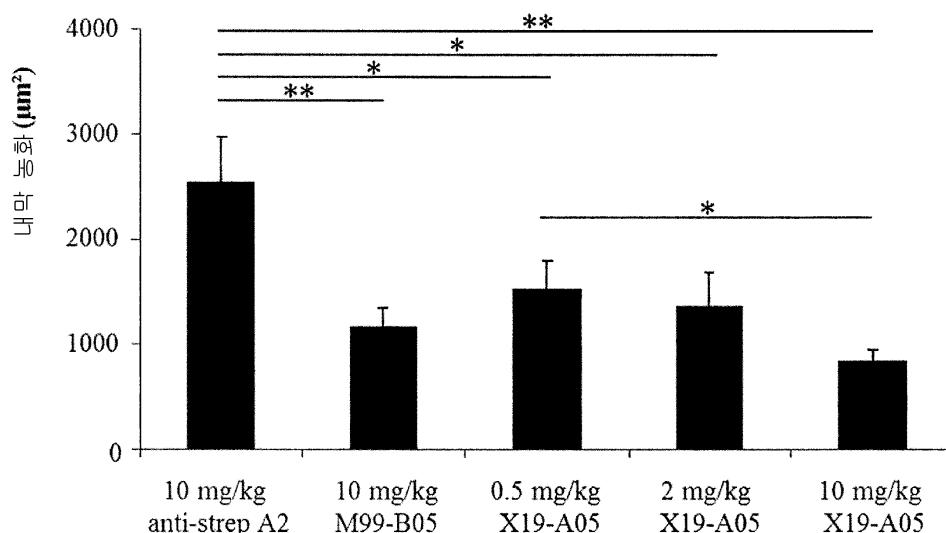
도면5



도면6



도면7



서열 목록

<110> Athera Biotechnologies AB
 <120> New Antibodies
 <130> ATHBE/P51641PC
 <150> US 61/521593
 <151> 2011-08-09
 <160> 29
 <170> Kopatent In 2.0
 <210> 1
 <211> 131
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> VH domain of X19-A05 antibody
 <400> 1
 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser 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 Gly Tyr
 20 25 30
 Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Tyr Ile Ser Pro Ser Gly Gly Thr His Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Val Arg Phe Arg Ser Val Cys Ser Asn Ala Val Cys Arg Pro

100 105 110

Thr Ala Tyr Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr

115 120 125

Val Ser Ser

130

<210> 2

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL domain of X19-A05 antibody

<400> 2

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

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Phe Tyr Gln

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Lys

<210> 3
 <211> 130
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> VH domain of M99-B05 antibody
 <400> 3

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Arg Val Arg Phe Arg Ser Val Cys Ser Asn Gly Val Cys Arg Pro Thr

100 105 110

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

115 120 125

Ser Ser

130

<210> 4
 <211> 114
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> VL domain of M99-B05 antibody
 <400> 4

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

1 5 10 15

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

20	25	30	
Asn Ser Asn Lys Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Ala Gly			
35	40	45	
Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile His Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly			
50	55	60	
Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu			
65	70	75	80
Thr Ile Ser Asn Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Leu Tyr Tyr Cys Gln			
85	90	95	

Gln Tyr Phe Asn Ala Pro Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu			
100	105	110	
Ile Lys			

<210> 5			
<211> 130			
<212> PRT			
<213> Artificial Sequence			
<220><223> VH domain of X19-A01 antibody			
<400> 5			

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly			
1	5	10	15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Ser Gly Tyr Trp			
20	25	30	

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

Arg Val Arg Phe Arg Ser Val Cys Ser Asn Gly Val Cys Arg Pro Thr

100 105 110

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

115 120 125

Ser Ser

130

<210> 6

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL domain of X19-A01 antibody

<400> 6

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

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Phe Tyr Asn

20 25 30

Ser Asn Lys Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Ala Gly Gln

35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Ile His Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Lys

<210> 7

<211> 130

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH domain of X19-A03 antibody

<400> 7

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Arg Val Arg Phe Arg Ser Val Cys Ser Asn Ala Val Cys Arg Pro Thr

100 105 110

Ala Tyr Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val

115 120 125

Ser Ser

130

<210> 8

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL domain of X19-A03 antibody

<400> 8

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

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Phe Tyr Gln

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Lys

<210> 9

<211> 130

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH domain of X19-A07 antibody

<400> 9

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Arg Val Arg Phe Arg Ser Val Cys Ser Asn Gly Val Cys Arg Pro Thr

100 105 110

Ala Tyr Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val

115 120 125

Ser Ser

130

<210> 10

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL domain of X19-A07 antibody

<400> 10

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

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Phe Tyr Asn

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Lys

<210> 11

<211> 131

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH domain of X19-A09 antibody

<400> 11

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser 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 Gly Tyr

20	25	30	
Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val			
35	40	45	
Ser Tyr Ile Ser Pro Ser Gly Gly Thr His Tyr Ala Asp Ser Val			
50	55	60	
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr			
65	70	75	80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys			
85	90	95	
Ala Arg Val Arg Phe Arg Ser Val Cys Ser Asn Gly Val Cys Arg Pro			
100	105	110	
Thr Ala Tyr Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr			
115	120	125	
Val Ser Ser			
130			
<210>	12		
<211>	113		
<212>	PRT		
<213>	Artificial Sequence		
<220><223>	VL domain of X19-A09 antibody		
<400>	12		
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly			
1	5	10	15
Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Phe Tyr Asn			
20	25	30	
Ser Asn Lys Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln			
35	40	45	
Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val			
50	55	60	
Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr			
65	70	75	80
Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln			

85	90	95
----	----	----

Tyr Phe Asn Ala Pro Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
 100 105 110
 Lys

<210> 13
 <211> 130
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> VH domain of X19-A11 antibody
 <400> 13

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Ser Gly Tyr Trp
 20 25 30

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

100 105 110
 Ala Tyr Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Ala Val Thr Val
 115 120 125
 Ser Ser

130
 <210> 14
 <211> 113
 <212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL domain of the X19-A11 antibody

<400> 14

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

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Phe Tyr Asn

20 25 30

Ser Asn Lys Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Ala Gly Gln

35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Ile His Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Lys

<210> 15

<211> 130

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH domain of X19-C01 antibody

<400> 15

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50	55	60	
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu			
65	70	75	80
Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala			
85	90	95	
Arg Val Arg Phe Arg Ser Val Ser Ser Asn Ala Val Ser Arg Pro Thr			
100	105	110	
Ala Tyr Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val			
115	120	125	
Ser Ser			
130			
<210> 16			
<211> 113			
<212> PRT			
<213> Artificial Sequence			
<220><223> VL domain of the X19-C01 antibody			
<400> 16			
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly			
1	5	10	15
Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Phe Tyr Gln			
20	25	30	
Ser Asn Lys Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln			
35	40	45	
Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val			
50	55	60	
Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr			
65	70	75	80
Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln			
85	90	95	
Tyr Phe Asn Ala Pro Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile			
100	105	110	
Lys			

<210> 17

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR1 of the VH domain of X19-A05, M99-B05, X19-A01, X19-A03, X19-A07, X19-A09, X19-A11 and X19-C01 antibodies

<400> 17

Gly Tyr Trp Met

1

<210> 18

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR2 of the VH domain of X19-A05, M99-B05, X19-A01, X19-A03,

X19-A07, X19-A09, X19-A11 and X19-C01 antibodies

<400> 18

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

1

5

10

15

Gly

<210> 19

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR3 of the VH domain of X19-A05 and X19-A03 antibodies

<400> 19

Val Arg Phe Arg Ser Val Cys Ser Asn Ala Val Cys Arg Pro Thr Ala

1

5

10

15

Tyr Asp Ala Phe Asp Ile

20

<210> 20

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR3 of the VH domain of M99-B05, X19-A01, X19-A07 and X19-A09
antibodies

<400> 20

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

1 5 10 15

Tyr Asp Ala Phe Asp Ile

20

<210> 21

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR3 of the VH domain of X19-A11 antibody

<400> 21

Val Arg Phe Arg Ser Val Ser Ser Asn Gly Val Ser Arg Pro Thr Ala

1 5 10 15

Tyr Asp Ala Phe Asp Ile

20

<210> 22

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR3 of the VH domain of X19-C01 antibody

<400> 22

Val Arg Phe Arg Ser Val Ser Ser Asn Ala Val Ser Arg Pro Thr Ala

1 5 10 15

Tyr Asp Ala Phe Asp Ile

20

<210> 23

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR4 of the VL domain of X19-A05, X19-A03 and X19-C01 antibodies

<400> 23

Lys Ser Ser Gln Ser Val Phe Tyr Gln Ser Asn Lys Lys Asn Tyr Leu

1 5 10 15

Ala

<210> 24

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR4 of the VL domain of M99-B05, X19-A01, X19-A07, X19-A09 and X19-A11 antibodies

<400> 24

Lys Ser Ser Gln Ser Val Phe Tyr Asn Ser Asn Lys Lys Asn Tyr Leu

1 5 10 15

Ala

<210> 25

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR5 of the VL domain of X19-A05, M99-B05, X19-A01, X19-A03, X19-A07, X19-A09, X19-A11 and X19-C01 antibodies

<400> 25

Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser

1 5

<210> 26

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR6 of the VL domain of X19-A05, M99-B05, X19-A01, X19-A03, X19-A07, X19-A09, X19-A11 and X19-C01 antibodies

<400> 26

Gln Gln Tyr Phe Asn Ala Pro Arg Thr

1 5

<210> 27

<211> 330

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CH region of M99-B05 antibody

<400> 27

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

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

100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu

180 185 190

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

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

325 330
 <210> 28
 <211> 329
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> CH region of X19-A05 antibody
 <400> 28

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

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 50 55 60

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

 115 120 125
 Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
 130 135 140
 Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
 145 150 155 160
 Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
 165 170 175
 Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
 180 185 190

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

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

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

325

<210> 29

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL region of M99-B05 and X19-A05 antibodies

<400> 29

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

1	5	10	15
---	---	----	----

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

20	25	30
----	----	----

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln

35	40	45
----	----	----

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser

50	55	60
----	----	----

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu

65	70	75	80
----	----	----	----

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser

85	90	95
----	----	----

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

100	105
-----	-----