



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2018-0133452
(43) 공개일자 2018년12월14일

- | | |
|---|--|
| <p>(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/44 (2006.01)</p> <p>(52) CPC특허분류
C07K 16/44 (2013.01)
A61P 25/28 (2018.01)</p> <p>(21) 출원번호 10-2018-7031932</p> <p>(22) 출원일자(국제) 2017년04월14일
심사청구일자 없음</p> <p>(85) 번역문제출일자 2018년11월02일</p> <p>(86) 국제출원번호 PCT/US2017/027773</p> <p>(87) 국제공개번호 WO 2017/181116
국제공개일자 2017년10월19일</p> <p>(30) 우선권주장
62/323,471 2016년04월15일 미국(US)</p> | <p>(71) 출원인
시와 코퍼레이션
미국, 일리노이 60601, 시카고 400 이스트 랜돌프 #3913</p> <p>(72) 발명자
그루버, 루이스, 에스.
미국 일리노이 60601 시카고 #3911 이스트 랜돌프 400</p> <p>(74) 대리인
특허법인 무한</p> |
|---|--|

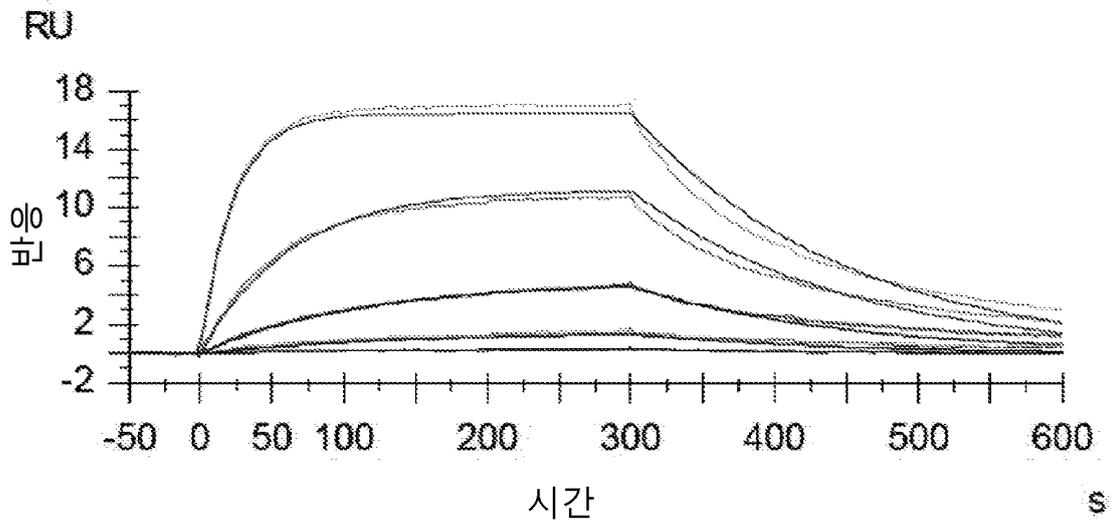
전체 청구항 수 : 총 35 항

(54) 발명의 명칭 **신경퇴행성 질환을 치료하기 위한 항-노화 항체**

(57) 요약

신경퇴행성 질환 또는 MD를 치료하는 방법은 환자에게 AGE 항체를 포함하는 조성물을 투여하는 것을 포함한다.

대표도 - 도1



명세서

청구범위

청구항 1

환자에게 AGE 항체를 포함하는 조성물을 투여하는 단계를 포함하는, 신경퇴행성질환 또는 MD를 치료하는 방법.

청구항 2

환자에게 AGE 항체를 포함하는 조성물을 투여하는 단계를 포함하는, 노화 신경교세포(senescent glial cell)를 사멸시키는 방법.

청구항 3

환자에게 AGE 항체를 포함하는 조성물을 투여하는 단계를 포함하는, 노화 근원세포 및/또는 노화 근위성세포를 사멸시키는 방법.

청구항 4

신경퇴행성 질환 또는 MD가 있는 환자를 치료하는 방법에 있어서, 상기 방법은

AGE 항체의 제1 투여 단계, 이어서,

상기 환자를 상기 신경퇴행성 질환 또는 MD의 치료에서 상기 제1 투여의 유효성에 대해 검사하는 단계; 이어서,

상기 AGE 항체의 제2 투여;를 포함하는, 신경퇴행성 질환 또는 MD가 있는 환자를 치료하는 방법.

청구항 5

신경퇴행성 질환 또는 MD를 치료하는 방법에 있어서, 상기 방법은

노화 신경교세포, 노화 근원세포 및/또는 노화 근위성세포를 사멸시키거나 이들의 세포자살을 유도하는 단계를 포함하는, 신경퇴행성 질환 또는 MD를 치료하는 방법.

청구항 6

신경퇴행성 질환 치료를 위한 조성물에 있어서, 상기 조성물은

(i) AGE 항체,

(ii) 혈청, 면역체계 세포, 또는 이들 모두를 포함하는, 신경퇴행성 질환 치료를 위한 조성물.

청구항 7

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 조성물은 약제학적으로 허용되는 담체를 더 포함하는 것인, 방법.

청구항 8

제1항 내지 제5항 및 제7항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 환자는 인간, 마우스(mouse), 랫트(rat), 염소, 양, 카우(cow), 말, 개, 및 고양이로 이루어진 군으로부터 선택된 것인, 방법.

청구항 9

제1항 내지 제5항 및 제7항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 환자는 인간인, 방법.

청구항 10

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 AGE 항체는 인간, 고양이, 개, 말, 낙타, 알파카, 캐틀(cattle), 양, 및 염소로 이루어진 군으로부터 선택된 종에 대해 비-면역원성인, 방법 또는 조성물.

청구항 11

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 AGE 항체는 FFI, 피랄린(pyrraline), AFGP, ALI, 카복시메틸리신(carboxymethyllysine), 카복시에틸리신(carboxyethyllysine), 및 펜토시딘(pentosidine)으로 이루어진 군으로부터 선택된 AGE 변형을 보이는 적어도 하나의 단백질 또는 펩티드를 포함하는 AGE 항원에 결합하는 것인, 방법 또는 조성물.

청구항 12

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 AGE 항체는 카복시메틸리신-변형 단백질에 결합하는 것인, 방법 또는 조성물.

청구항 13

제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 조성물은 살균한 것이고,

상기 조성물은 단위 투여량 형태인, 방법 또는 조성물.

청구항 14

제1항 내지 제5항 및 제7항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 조성물은 혈청을 더 포함하는 것인, 방법.

청구항 15

제1항 내지 제5항 및 제7항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 혈청은 자가 혈청인, 방법.

청구항 16

제1항 내지 제5항 및 제7항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서,
상기 조성물은 면역 체계 세포를 더 포함하는 것인, 방법.

청구항 17

제1항 내지 제5항 및 제7항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서,
상기 면역 체계 세포는 상기 환자로부터 기인한 것인, 방법.

청구항 18

제1항 내지 제5항 및 제7항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서,
상기 면역 체계 세포는 자연 살해 세포(natural killer cell)를 포함하는 것인, 방법.

청구항 19

제1항 내지 제5항 및 제7항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서,
상기 자연 살해 세포는 상기 환자로부터 기인한 것인, 방법.

청구항 20

제1항 내지 제5항 및 제7항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서,
상기 자연 살해 세포는 인공적인 자연 살해 세포를 포함하는 것인, 방법.

청구항 21

제1항 내지 제5항 및 제7항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 조성물은
(i) 약제학적으로 허용되는 담체,
(ii) 혈청, 및
(iii) 자연 살해 세포를 더 포함하는 것인, 방법.

청구항 22

제1항 내지 제5항 및 제7항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서,
상기 환자는 AD, PD, 루이소체 치매(Lewy body dementia), MS, 프리온 질병(prion diseases), 및 ALS로 이루어진 군으로부터 선택된 신경퇴행성 질환을 갖는 것인, 방법.

청구항 23

제1항 내지 제5항 및 제7항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서,
상기 환자는 AD, PD, 및 ALS로 이루어진 군으로부터 선택된 신경퇴행성 질환을 갖는 것인, 방법.

청구항 24

제1항 내지 제5항 및 제7항 내지 제23항 중 어느 한 항에 있어서,
상기 투여 단계는 상기 환자의 중추 신경계에 투여하는 단계를 포함하는 것인, 방법.

청구항 25

제1항 내지 제5항 및 제7항 내지 제24항 중 어느 한 항에 있어서,
상기 중추 신경계에 투여하는 단계는 척수강내(intrathecal) 투여, 뇌실내(intraventricular) 투여 및 전달 강화 전달(convection enhanced delivery)에 의한 투여를 포함하는 것인, 방법.

청구항 26

제1항 내지 제5항 및 제7항 내지 제25항 중 어느 한 항에 있어서,
상기 환자는 ALS 또는 MD를 갖고 투여 단계는 상기 환자의 근육에 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 27

제1항 내지 제5항 및 제7항 내지 제26항 중 어느 한 항에 있어서,
상기 투여 단계는 상기 환자의 노화 신경교세포를 사멸시키는 것인, 방법.

청구항 28

제1항 내지 제5항 및 제7항 내지 제27항 중 어느 한 항에 있어서,
상기 노화 신경교세포는 노화 성상세포 및/또는 노화 소교세포인, 방법.

청구항 29

제1항 내지 제5항 및 제7항 내지 제28항 중 어느 한 항에 있어서,
상기 투여 단계는 상기 환자의 노화 근원세포 및/또는 노화 근위성세포를 사멸시키는 것인, 방법.

청구항 30

제1항 내지 제5항 및 제7항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서,
상기 환자는 MD 또는 ALS를 갖는 것인, 방법.

청구항 31

제6항 및 제10항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 조성물은 혈청을 포함하는, 조성물.

청구항 32

제6항 및 제10항 내지 제13항 및 제31항 중 어느 한 항에 있어서,
상기 조성물은 면역 체계 세포를 포함하는, 조성물.

청구항 33

6항 및 제10항 내지 제13항 및 제31항 및 제32항 중 어느 한 항에 있어서,
상기 면역 체계 세포는 자연 살해 세포인, 조성물.

청구항 34

6항 및 제10항 내지 제13항 및 제31항 내지 제33항 어느 한 항에 있어서,
상기 자연 살해 세포는 인공적인 자연 살해 세포인, 조성물.

청구항 35

제1항 내지 제5항 및 제7항 내지 제30항 중 어느 한 항에 있어서,
상기 AGE 항체는 세포의 파괴를 야기하는 제제에 컨쥬게이트된 단일 도메인 항체인, 방법.

발명의 설명

기술 분야

배경 기술

[0001] 최종 당화 산물[advanced glycation end-product, AGE; 또한 AGE-변형 단백질(AGE-modified protein) 또는 당화 최종산물(glycation end-product)로 지칭됨]은 노화세포에서 단백질 측쇄가 있는 당의 비-효소적 반응(non-enzymatic reaction)에서 일어난다 (Ando, K. *et al.*, Membrane Proteins of Human Erythrocytes Are Modified by Advanced Glycation End Products during Aging in the Circulation, *Biochem Biophys Res Commun.*, Vol. 258, 123, 125 (1999)). 이 과정은 슈프 염기(Schiff base)를 생성하는 환원당과 아미노 그룹 사이의 가역적인 반응으로 시작하는데, 이는 공유 결합된 아마도리 전위(amadori rearrangement) 생성물의 생성으로 진행된다. 아마도리 산물이 생성되면, 산물은 추가 전위(further rearrangement)를 겪고 AGE를 생성한다. 당뇨병(diabetes mellitus, DM)에 의한 고혈당(hyperglycemia)과 산화적 스트레스(oxidative stress)는 막 단백질의 번역 후 변형(post-translational modification)을 촉진한다(Lindsey JB, *et al.*, "Receptor For Advanced Glycation End-Products (RAGE) and soluble RAGE (sRAGE): Cardiovascular Implications," *Diabetes Vascular Disease Research*, Vol. 6(1), 7-14, (2009)). AGE는 당뇨 합병증(diabetic complication), 염증, 망막병증(retinopathy), 신장병(nephropathy), 죽상경화증(atherosclerosis), 뇌졸중, 혈관내피 세포 기능장애(endothelial cell dysfunction), 및 신경퇴행성 질환(neurodegenerative disorder)을 포함하는 몇몇 병리적 질병(pathological condition)과 관련되어 왔다(Bierhaus A, "AGEs and their interaction with AGE-receptors in vascular disease and diabetes mellitus. I. The AGE concept," *Cardiovasc Res*, Vol. 37(3), 586-600 (1998)).

[0002] 노화 세포(senescent cell)는 부분적으로 기능적이거나 비-기능적인 세포이고 비가역적인 증식 정지(irreversible proliferative arrest)의 상태에 있다. 노화는 세포의 분명한 상태이고, 바이오마커

(biomarker) p16^{Ink4a}의 활성화 및 β-갈락토시다제(β-galactosidase)의 발현 같은 바이오마커와 관련된다. 또한, 노화 세포는 세포간 신호전달(intercellular signaling)에 관련된 초기-염증 인자(pro-inflammatory factor)를 포함하는 많은 인자들의 분비와 관련되며, 이러한 인자의 분비는 노화-관련 분비 표현형(senescence-associated secretory phenotype) 또는 SASP로 명명되어왔다.

[0003] 또한, AGE-변형 단백질은 노화 세포의 마커이다. 당화 최종산물과 노화 사이의 이 연관성은 기술분야에 잘 알려져 있다. 예를 들어, Gruber, L. (WO 2009/143411호, 26 Nov. 2009), Ando, K. *et al.* (Membrane Proteins of Human Erythrocytes Are Modified by Advanced Glycation End Products during Aging in the Circulation, *Biochem Biophys Res Commun.*, Vol. 258, 123, 125 (1999)), Ahmed, E.K. *et al.* ("Protein Modification and Replicative Senescence of WI-38 Human Embryonic Fibroblasts" *Aging Cells*, vol. 9, 252, 260 (2010)), Vlassara, H. *et al.* (Advanced Glycosylation Endproducts on Erythrocyte Cell Surface Induce Receptor-Mediated Phagocytosis by Macrophages, *J. Exp. Med.*, Vol. 166, 539, 545 (1987)), 및 Vlassara *et al.* ("High-affinity-receptor-mediated Uptake and Degradation of Glucose-modified Proteins: A Potential Mechanism for the Removal of Senescent Macromolecules" *Proc. Natl. Acad. Sci. USAI*, Vol. 82, 5588, 5591 (1985))을 참고할 수 있다.

[0004] 더욱이, Ahmed, E.K. 등은 당화 최종산물이 "세포 및 세포의 단백질에 대한 자발적 손상(spontaneous damage)의 주요 원인 중 하나"임을 나타낸다 (Ahmed, E.K. *et al.*, see above, page 353). 따라서, 당화 최종산물의 축적은 노화와 기능의 부족에 관련된다.

[0005] 최근의 연구는 근감소증(sarcopenia)과 같은 노화-관련 질환과 세포 노화 사이의 인과 관계를 밝혀왔다. 미네소타(Minnesota), 로체스터(Rochester)의 Mayo Clinic의 연구팀은 마우스(mouse)에서 이들의 지방과 근육 조직의 노화 세포를 제거함으로써 명시적인 부작용 없이 노화의 효과가 지연될 수 있음을 입증하였다 (Baker, D. J. *et al.*, "Clearance of p16^{Ink4a}-positive senescent cells delays ageing-associated disorders", *Nature*, Vol. 479, pp. 232-236, (2011)). 형질전환 마우스에서 노화 세포의 제거는 근감소증과 백내장의 발병을 실질적으로 지연시키고, 골격근과 안구의 노화 지표(senescence indicator)를 감소시키는 것으로 나타났다. 이 연구는 노화 세포의 제거를 위한 형질전환 마우스의 일생동안의 치료(life-long treatment)와 노년 치료(late-life treatment)는 부정적인 부작용을 갖지 않으며 세포에 좌우되는 노화-관련 표현형(age-related phenotype)을 선택적으로 지연시킴을 규명하였다 (*Id.*, 234 페이지, 컬럼. 2, 줄 16 내지 235 페이지, 컬럼. 1, 줄 2). 상기 논문의 저자들은 노화 세포의 제거가 인간의 노화-관련 질병을 치료하거나 지연시키고 건강한 인간 수명을 향상시키는 방안에 해당함을 이론화하였다 (*Id.*, 페이지 235, 컬럼. 2, 줄 38-51).

[0006] 신경퇴행성 질환은 중추신경계에서 비정상적 세포 노화와 관련된다. 노화 정상세포(astrocytes)의 비정상적 축적은 알츠하이머 질병(Alzheimer's disease, AD)에 관련되어 왔다 (Bhat, R. *et al.*, "Astrocyte Senescence as a Component of Alzheimer's Disease", *PLOS ONE*, Vol. 7(9), e45069, pp. 1-10 (Sept. 2012)). 정상적 노화와 관련된 소교세포(microglial cell) 노화는 AD를 나타내는 아밀로이드 플라크(amyloid plaque)의 존재에 의해 악화된다 (Flanary, B. E. *et al.*, "Evidence That Aging And Amyloid Promote Microglial Cell Senescence", *Rejuvenation Research*, Vol. 10(1), pp. 61-74 (March 2007)). AD에서 정상세포 및 소교세포와 AGE의 존재는 AD 노화 세포 존재의 추가적인 증거이다 (Takeda, A., *et al.* "Advanced glycation end products co-localize with astrocytes and microglial cells in Alzheimer's disease brain", *Acta Neuropathologica*, Vol. 95, pp. 555-558 (1998)). 최근에 보고된 발견들에 근거하여, Chinta 등은 파킨슨 병(Parkinson's disease, PD)에 관련된 환경적인 스트레스 요인이 비-뉴런 교세포(non-neuronal glial cell)내의 노화를 이끌어 냄으로써 부분적으로 작용할 수 있음을 제안하였으며, 이는 이 질병에서 일어나는 뉴런 무결성(neuronal integrity)의 특징적 감소에 기여한다 (Chinta, S. J. *et al.* "Environmental stress, ageing and glial cell senescence: a novel mechanistic link to Parkinson's disease?", *J Intern Med*, Vol. 273, pp. 429-436 (2013)). 또한, 정상세포(astrocyte) 노화는 PD에 관련된다 (M. Mori, "The Parkinsonian Brain: Cellular Senescence and Neurodegeneration, *SAGE* (June 30, 2015) (sage.buckinstitute.org/the-parkinsonian-brain-cellular-senescence-and-neurodegeneration/)). 돌연변이 초과산화물 불균등화 효소 (mutant superoxide dismutase-1, m-SOD1)를 과발현하는 가족성 근위축성 측삭 경화증(amyotrophic lateral sclerosis, ALS)의 설치류 모델 (rodent model)에서, 노화 표현형을 획득한 정상세포의 비율(rate)이 과속화된다 (Das, M. M. and Svendsen, C. N., "Astrocytes show reduced support of motor neurons with aging that is accelerated in a rodent model of ALS", *Neurobiology of Aging*, Vol. 36, pp. 1130-1139 (2015)). 다발성 경화증(multiple

sclerosis, MS)에서 조차, 소교세포와 대식세포는 SASP를 연상시키는 강한 전염증 표현형(proinflammatory phenotype)으로 옮겨지고, 전염증성 사이토카인(proinflammatory cytokine)과 분자를 방출함으로써 뉴런 손상을 강화시킬 수 있다 (Luessi, F., *et al.* "Neurodegeneration in multiple sclerosis: novel treatment strategies" *Expert Rev. Neurother.*, Vol 9, pp.1061-1077 (2012)).

[0007] 성상세포와 소교세포 같은 신경교세포는 정상 뇌 기능에 대한 지원을 제공한다. 성상세포(astrocyte)-또한 집합적으로 성상교세포(astroglia)로 알려짐-은 뇌와 척수에서 발견된 성상(star-shaped)의 신경교세포이다. 성상세포는 신경 조직으로 영양분 공급, 세포외액의 이온 균형 유지, 및 혈관-뇌 장벽을 형성하는 세포의 생화학적 지지와 같은 많은 기능을 수행한다. 소교세포는 뇌와 척수에서 대식세포로 작용한다. 소교세포는 뇌와 척수로부터 손상된 뉴런과 병원체(infectious agent), 플라크를 제거한다(scavenge).

[0008] 또한, 몇몇 신경퇴행성 질환은 중추신경계 밖에서 비정상적 세포 노화와 관련된다. 대부분의 위성세포(satellite cells)-또한 근위성 세포(myosatellite cell)로 알려져 있음-는 이들이 생체의(*in vitro*)에서 증식할 수 있음에도 불구하고, ALS 환자의 근육 조직에 존재하며 비정상적인 노화-유사 형태(senescent-like morphology)를 보인다 (Pradat, P.-F. *et al.*, "Abnormalities of satellite cells function in amyotrophic lateral sclerosis" *Amyotrophic Lateral Sclerosis*, Vol. 12, pp. 264-271 (2011)). 위성세포는 성숙한 근육에서 발견된 작은 다능성 세포(multipotent cell)로, 추가적인 위성 세포를 생기게 할 수 있거나 추가적인 근핵(myonuclei)의 제공뿐만 아니라 근원세포(myoblast)로 분화할 수 있다. 듀센 근위축(duchenne muscular dystrophy, MD)의 동물 모델에서, 감소된 증식 능력(proliferative capacity)과 근원세포(myoblast)의 미성숙 노화(premature senescence)가 관찰되었다 (Wright, W. E., "Myoblast Senescence in Muscular Dystrophy" *Exp Cell Res*, Vol. 157, pp. 343-354 (1985)). 근원세포는 근세포(myocyte)(또한 근육세포(muscle cell)로 지칭됨)로 분화된 전구세포이다.

[0009] 또한, 신경퇴행성 질환은 비정상적인 단백질 축적과 연관된다 (King, O.D., *et al.*, "The tip of the iceberg: RNA-binding proteins with prion-like domains in neurodegenerative disease" *Brain Res.* Vol.1462, pp. 61-80 (2012)). PD와 루이소체 치매(Lewy body dementia)의 특징은 신경 세포내에 형성된 루이소체의 형성이다. 루이소체의 초기 구조적 구성(primary structural component)은 알파-시누클레인 단백질(alpha-synuclein protein)이고, 원섬유(fibril) 형태이다. 엉킴(tangle)과 플라크의 존재는 AD의 특징이고, 이의 존재는 질병을 명확하게 진단하는데 사용되었다. 베타-아밀로이드 단백질(beta-amyloid protein) (또한 아밀로이드 베타, Aβ 또는 Abeta로 지칭됨)로 구성된 플라크는 신경세포 사이에 축적된다. 타우 단백질(tau protein)로 구성된 엉킴은 세포내에 꼬인 섬유(form twisted fiber)를 형성한다. 프리온 질병(prion diseases) (또한 전염성 해면상 뇌증(transmissible spongiform encephalopathies, TSE)으로 알려짐)은 크로이츠펠트-야콥병(creutzfeldt-Jakob disease), 변종 크로이츠펠트-야콥병(variant creutzfeldt-Jakob disease), 소 해면상 뇌증(bovine spongiform encephalopathy) ("광우병"), 스크래피(scrapie) (양과 염소의), 만성 소모성 질병(chronic wasting disease) (사슴(deer)과 엘크(elk)의), 쿠루(kuru) 및 치명적 가족성 불면증(fatal familial insomnia)과 같은 다양한 인간과 동물 질병을 포함한다. 프리온 단백질은 미스폴딩 단백질 상태를 전파시킴으로써 증식할 수 있는 미스폴딩된(misfolded) 단백질 분자이고, 미스폴딩된 단백질의 축적을 초래하여 조직 손상과 세포 사멸을 야기한다 (Dobson, D.M., "The structural basis of protein folding and its links with human disease" *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B*, Vol. 356, pp. 133-145 (2001)). 이러한 질병에서, 단백질은 미스폴딩 하거나 비정상적인 응집체(aggregate)를 형성하는 정상적인 단백질로 알려져있다. 가족성 ALS가 있는 일부 환자의 경우에서, 변이된 초과산화물 불균등화 효소(superoxide dismutase-1, SOD1)는 봉입(inclusion)을 형성하고 축적된다 (Kato, S., *et al.* "Advanced glycation endproduct-modified superoxide dismutase-1 (SOD1)-positive inclusions are common to familial amyotrophic lateral sclerosis patients with SOD1 gene mutations and transgenic mice expressing human SOD1 with a G85R mutation" *Acta Neuropathol*, Vol. 100, pp. 490-505 (2000)).

[0010] 일부 경우에서 단백질이 세포의 죽음을 간접적으로 야기하는 염증을 일으킨다고 여겨지는 반면에, 다른 일부 경우에서 단백질은 세포의 죽음을 직접적으로 야기한다고 여겨진다. 또한, 염증은 SASP 때문에 결국 염증을 더 악화시키는 세포에서의 노화를 유도한다고 여겨지는데, 이는 신경퇴행(neurodegeneration)을 진전시키는 양성 피드백(positive feedback)으로 이어진다 (Golde, T.E., *et al.* "Proteinopathy-induced neuronal senescence: a hypothesis for brain failure in Alzheimer's and other neurodegenerative diseases" *Alzheimer's Research & Therapy*, Vol. 1, No. 5 (13 October 2009)). 또한, 이러한 염증-유도 단백질의 확산은 세포간 단백질 이동을 통한 노화 세포에 의해 악화될 수 있다 (Biran, A., *et al.* "Senescent cells

communicate via intercellular protein transfer" *Genes & Development*, Vol. 29, pp. 791-802 (2015)).

[0011] 신경퇴행성 질환과 관련된 신경퇴행성 단백질에 대한 항체를 이용한 신경퇴행성 질환을 위한 면역요법은 몇몇 가능성을 보인다. 심지어 항체가 말초로 투여될 때라도, (즉, CNS로 투여가 아님), 긍정적 효과(positive effects)가 관찰되어 왔다.

발명의 내용

[0012] 제1 측면에서, 본 발명은 환자에게 AGE 항체를 포함하는 조성물을 투여하는 단계를 포함하는 신경퇴행성 질환 또는 MD를 치료하는 방법이다.

[0013] 제2 측면에서, 본 발명은 환자에게 AGE 항체를 포함하는 조성물을 투여하는 단계를 포함하는 노화 신경교세포를 사멸시키는 방법이다.

[0014] 제3 측면에서, 본 발명은 환자에게 AGE 항체를 포함하는 조성물을 투여하는 단계를 포함하는 노화 근원세포 및/또는 노화 근위성세포를 사멸시키는 방법이다.

[0015] 제4 측면에서, 본 발명은 AGE 항체의 제1 투여; 이어서 환자를 신경퇴행성 질환 또는 MD의 치료에서 제1 투여의 유효성에 대해 검사하는 단계; 이어서 AGE 항체의 제2투여를 포함하는 신경퇴행성 질환 또는 MD가 있는 환자를 치료하는 방법이다.

[0016] 제5 측면에서, 본 발명은 노화 신경교세포, 노화 근원세포 및/또는 노화 근위성 세포를 사멸시키거나 이들의 세포자살을 유도하는 단계를 포함하는 신경퇴행성 질환 또는 MD를 치료하는 방법이다.

[0017] 제6 측면에서, 본 발명은 (i) AGE 항체, 및 (ii)혈청, 면역체계 세포, 또는 이들 모두를 포함하는 신경퇴행성 질환을 치료하는 조성물이다.

[정의]

[0019] 용어 "신경퇴행성 질환"은 뇌를 포함한 중추신경계에서 뉴런 기능 상실 및/또는 죽음을 야기하는 질환을 의미한다. 이러한 질병은 AD, PD, 루이소체 치매(Lewy body dementia), MS, 프리온 질병 (또한 크로이츠펠트-야콥병 (creutzfeldt-Jakob disease), 변종 크로이츠펠트-야콥병(variant creutzfeldt-Jakob disease), 소 해면상 뇌증(bovine spongiform encephalopathy) ("광우병"), 스크래피(scrapie) (양과 염소의), 만성 소모성 질병 (chronic wasting disease) (사슴(deer)과 엘크(elk)의), 쿠루(kuru) 및 치명적 가족성 불면증(fatal familial insomnia)을 포함하는 전염성 해면상 뇌증(transmissible spongiform encephalopathies, TSE)으로 알려짐), 및 ALS와 같은 중추신경계 신경퇴행성 질환을 포함하였다.

[0020] 용어 "최종 당화 산물", "AGE", "AGE-변형 단백질 또는 펩티드", "당화 최종산물" 및 "AGE 항원"은 추가적으로 전위하고 비가역적인 가교를 형성하는 당과 단백질 측쇄의 반응 결과로 형성된 변형 단백질 또는 펩티드를 지칭한다. 이 과정은 환원당과 아미노 그룹 사이의 가역적 반응으로 시작하여 슈프 염기(Schiff base)를 형성하는데, 이어서 공유-결합한 아마도리 전위 산물(Amadori rearrangement product)을 형성한다. 아마도리 산물이 형성되면, 산물은 추가 전위(further rearrangement)를 겪고 AGE를 생성한다. AGE-변형 단백질과 AGE-변형 단백질에 대한 항체는 Bucala의 미국 특허 제5,702,704호 ("Bucala")와 A1-Abed 등의 미국 특허 제6,380,165호 ("A1-Abed")에 기술되어 있다. 당화 알부민에서 발견된 N-데옥시프럭토실리신(N-deoxyfructosyllisine)과 같은 AGE를 형성하는데 필수적인 전위를 겪지 않은 당화 단백질 또는 펩티드는 AGE가 아니다. AGE는 2-(2-푸로일)-4(5)-(2-푸라닐)-1H-이미다졸 ("FFI"); 5-히드록시메틸-1-알킬피롤-2-카르브알데히드 ("피랄린"); 1-알킬-2-포르밀-3,4-디글리코실 피롤 ("AFGP"), 비-형광성 모델(non-fluorescent model) AGE; 카복시메틸리신(carboxymethyllysine); 및 펜토시딘(pentosidine)과 같은 AGE 변형 (또한 AGE 항원 결정기 또는 AGE 모이어티 moiety)로 지칭됨)의 존재로 확인될 수 있다. 다른 AGE인 ALI가 A1-Abed에 기술되어 있다.

[0021] "신경퇴행성 단백질"은 신경퇴행성 질환을 가진 환자에서 축적되고 신경퇴행성 질환과 관련된 단백질이다. 예시는 베타-아밀로이드 단백질 플라크 (AD와 관련됨), 타우 단백질 엉킴(tangle) (AD와 관련됨), 변이된 초과산화물 불균등화 효소-1 (ALS와 관련됨) 프리온 단백질 응집체 (TSE와 관련됨)와 알파-시누클레인 단백질 원섬유 (PD와 루이소체 치매(Lewy body dementia)와 관련됨)를 포함한다. "신경퇴행성 단백질"은 신경퇴행성 질환 시 축적되는 단백질의 형태로, 전형적으로 돌연변이 또는 미스-폴딩 형태이다.

[0022] "세포의 AGE-변형 단백질에 결합한 항체", "항-AGE 항체" 또는 "AGE 항체"는 AGE-변형 단백질 또는 펩티드에 결합하는 항체 또는 다른 단백질을 의미하고 항체의 불변 부위(constant region)를 포함하는데, AGE-변형인 단백

질 또는 펩티드가 세포, 바람직하게는 포유류 세포(mammalian cell), 더욱 바람직하게는 인간, 고양이, 개, 말, 낙타과(camelid) (예를 들어, 낙타(camel) 또는 알파카(alpaca)), 캐틀(cattle), 양, 또는 염소 세포의 표면의 경계(bound)에서 일반적으로 발견된 단백질 또는 펩티드이다. "세포의 AGE-변형 단백질에 결합한 항체", "항-AGE 항체" 또는 "AGE 항체"는 AGE-변형 단백질 또는 펩티드와 비-AGE-변형 단백질 또는 펩티드 모두에 대한 동일 특이성(specificity)과 선택성(selectivity)으로 결합한 (즉, AGE 변형의 존재는 결합을 증가시키지 않음) 항체 또는 다른 단백질을 포함하지 않는다. 알부민이 세포의 표면의 경계에서 일반적으로 발견된 단백질이 아니기 때문에, AGE-변형 알부민은 세포의 AGE-변형 단백질이 아니다. "세포의 AGE-변형 단백질에 결합한 항체", "항-AGE 항체" 또는 "AGE 항체"는 세포의 제거, 파괴, 또는 사멸로 이어지는 항체들만 포함한다. 또한, 포함된 것은 예를 들어, 독소(toxin), 약물, 또는 다른 화학 물질이나 입자에 컨쥬게이트된 항체이다. 바람직하게는, 항체는 단일클론 항체(monoclonal antibody)이나, 다중클론 항체(polyclonal antibody)도 가능하다.

[0023] 용어 "노화 세포"는 비가역적인 증식 정지의 상태에 있고 p16^{Ink4a}의 활성화 또는 β-갈락토시다제의 발현과 같은 하나 이상의 노화의 바이오마커를 발현하는 세포이다. 또한, 포함된 것은 하나 이상의 노화의 바이오마커를 발현하고, 생체 내에서 증식하지 않으나, 특정 조건하에 시험관에서 증식할 수 있는 ALS 환자의 근육에서 발견된 일부 위성세포(satellite cell)와 같은 세포이다.

[0024] 용어 "변이 (variant)"는 구체적으로 확인된 서열과 상이한 뉴클레오티드, 단백질 또는 아미노산 서열을 의미하며, 하나 이상의 뉴클레오티드, 단백질 또는 아미노산 잔기가 결실되거나 치환되거나 첨가된 것이다. 변이는 자연 발생 대립유전자 변이(allelic variant), 또는 비-자연 발생 변이일 수 있다. 확인된 서열의 변이는 그 확인된 서열의 일부 또는 모든 기능적 특징을 유지할 수 있다.

[0025] 용어 "퍼센트 (%) 서열 상동성(sequence identity)"은 후보 서열과 대조 서열을 정렬(aligning)하고 필요하다면, 최대 퍼센트 서열 상동성을 획득하기 위해 갭(gap)을 도입하고, 서열 상동성의 일부로서 보존적 치환(conservative substitution)을 고려하지 않은 후, 대조 폴리펩티드 서열(reference polypeptide sequence)의 아미노산 잔기와 동일한, 후보 서열의 아미노산 잔기의 백분율로 정의된다. 퍼센트 아미노산 서열 상동성을 결정할 목적의 정렬은 BLAST, BLAST-2, ALIGN 또는 Megalign (DNASTAR) 소프트웨어와 같은 공개적으로 이용 가능한 컴퓨터 소프트웨어를 사용한 다양한 방법으로 획득될 수 있다. 바람직하게는, % 서열 상동성 값은 서열 비교 컴퓨터 프로그램 ALIGN-2을 이용하여 생성될 수 있다. ALIGN-2 서열 비교 컴퓨터 프로그램은 Genentech, Inc. (South San Francisco, CA)로부터 공개적으로 이용 가능하거나, 미국 저작권청(Copyright Office)의 사용자 안내서(user documentation)와 제출되고 미국 저작권 등록 번호 TXU510087호 하에 등록된 소스 코드(source code)로부터 컴파일(compile) 할 수 있다. ALIGN-2 프로그램은 디지털 UNIX V4.0D를 포함한 UNIX 운영 체제에서 사용을 위해 컴파일 되어야 한다. 모든 서열 비교 매개변수는 ALIGN-2 프로그램에 의해 설정되고 변동되지 않는다.

[0026] 아미노산 서열 비교를 위해 ALIGN-2가 이용된 상황에서, 주어진 아미노산 서열 A의 % 서열 상동성은 주어진 아미노산 서열 B에 대해, 아미노산 서열 B와, 또는 아미노산 서열 B와 비교하여 다음과 같이 계산될 수 있다 (대안적으로, 주어진 아미노산 서열 B에 대해, 아미노산 서열 B와, 또는 아미노산 서열 B와 비교하여 특정 % 아미노산 서열 상동성을 갖거나 포함하는 주어진 아미노산 서열 A로 표현될 수 있음): 100을 곱한 분수 X/Y. 이 식에서, X는 서열 정렬 프로그램 ALIGN-2의 A와 B의 정렬 시, 그 프로그램에 의해 동일한 매치(match)로 점수 매겨진 아미노산 잔기의 수이고, Y는 B의 아미노산 잔기의 총 수이다. 아미노산 서열 A의 길이가 아미노산 서열 B의 길이와 동일하지 않은, A의 B에 대한 % 아미노산 서열 상동성은 B의 A에 대한 % 아미노산 서열 상동성과 동일하지 않을 것이다. 달리 특별히 명시되지 않는 한, 본원에 사용된 모든 % 아미노산 서열 상동성 값은 ALIGN-2 컴퓨터 프로그램을 사용하여 획득된다.

도면의 간단한 설명

[0027] 도 1은 항체 결합 실험에서 시간에 대한 반응을 도시한 그래프이다.
 도 2a는 붉은색으로 염색된 카복시메틸리신과 초록색으로 염색된 인산화된 타우를 도시한 알츠하이머 질병 시료의 세포의 사진이다.
 도 2b는 붉은색으로 염색된 카복시메틸리신과 초록색으로 염색된 아밀로이드 전구체 단백질을 도시한 알츠하이머 질병 시료의 세포의 사진이다.
 도 2c는 붉은색으로 염색된 카복시메틸리신과 초록색으로 염색된 알파 시누클레인을 도시한 흑질로부터의 파킨

승병 시료의 세포의 사진이다.

도 2d는 붉은색으로 염색된 카복시메틸리신과 초록색으로 염색된 알파 시누클레인을 도시한 복측피개 영역으로 부터의 파킨슨병 시료의 세포의 사진이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0028] 본 발명은 세포의 AGE-변형 단백질에 결합하는 항체를 이용하여 노화 정상세포 및 노화 소교세포 같은 노화 신경교세포를 제거하거나 사멸시키고, AD, PD, 루이소체 치매(Lewy body dementia), MS, 프리온 질병 (또한 크로이츠펠트-야콥병(creutzfeldt-Jakob disease), 변종 크로이츠펠트-야콥병(variant creutzfeldt-Jakob disease), 소 해면상 뇌증(bovine spongiform encephalopathy) ("광우병"), 스크래피(scrapie) (양과 염소의), 만성 소모성 질병(chronic wasting disease) (사슴(deer)과 엘크(elk)의), 쿠루(kuru) 및 치명적 가족성 불면증(fatal familial insomnia)을 포함하는 전염성 해면상 뇌증(transmissible spongiform encephalopathies, TSE)으로 알려짐), 및 ALS와 같은 신경퇴행성 질환을 치료할 수 있다. 바람직하게는, 항체는 중추 신경계로 투여되어 이러한 노화 세포를 가장 효과적으로 제거한다; 그러나, 정상세포가 혈관-뇌 장벽의 형성을 돕기 때문에, 말초 투여(peripheral administration) (즉, 중추 신경계로 투여되지 않고 말초 순환계로 투여됨)는 또한 효과적이다. 환자의 중추신경계에 존재하는 줄기세포는 이어서 성장하고 확대되어 제거된 세포를 대체할 것이다. 대안적으로, 환자 자신의 줄기세포 자가 이식, 또는 공여자 줄기세포의 이식(탈체에서 확대될 수 있음)은 또한 사용되어 제거된 세포를 대체할 수 있다.
- [0029] 본 발명은 또한 세포의 AGE-변형 단백질에 결합되는 항체의 용도를 노화 신경교세포 및/또는 노화 근위성 세포를 제거하거나 사멸시키고, ALS를 치료하도록 할 수 있다. 바람직하게는, 항체는 말초 순환(전통적인 정맥 투여와 같은)으로 투여되어 이러한 노화 세포를 가장 효과적으로 제거한다. 항체는 또한 노화 근위성세포(senescent myosatellite cell)가 발견된 곳으로 근육내로 투여될 수 있다. 환자의 근육에 존재하는 줄기세포는 이어서 성장하고 확대되어 제거된 세포를 대체할 것이다. 대안적으로, 환자 자신의 줄기세포 자가 이식 또는 공여자 줄기세포의 이식(탈체에서 확대될 수 있음)은 또한 사용되어 제거된 세포를 대체할 수 있다.
- [0030] 본 발명은 또한 세포의 AGE-변형 단백질에 결합하는 항체의 용도를 노화 근원세포 및/또는 노화 근위성세포를 제거하거나 사멸시키고, MD와 ALS를 치료하도록 할 수 있다. 바람직하게는, 항체는 말초 순환(전통적인 정맥 투여와 같은)으로 투여되어 이러한 노화세포를 가장 효과적으로 제거한다. 항체는 또한 노화 근원세포와 근위성 세포가 발견된 곳으로 근육내로 투여될 수 있다. 환자의 근육에 존재하는 줄기세포는 이어서 성장하고 확대되어 제거된 세포를 대체할 것이다. 대안적으로, 환자 자신의 줄기세포 자가 이식 또는 공여자 줄기세포의 이식(탈체에서 확대될 수 있음)은 또한 사용되어 제거된 세포를 대체할 수 있다. 예를 들어, Rouger *et al.* "Systemic Delivery of Allogenic Muscle Stem Cells Induces Long-Term Muscle Repair and Clinical Efficacy in Duchenne Muscular Dystrophy Dogs" *The American Journal of Pathology*, Vol. 179, No. 5, 2501-2518 (Nov. 2011)를 참고할 수 있다.
- [0031] 노화는 세포의 손상 또는 스트레스(성장인자에 의한 과자극(overstimulation)과 같은)로 시작된다. 손상 또는 스트레스는 세포의 미토콘드리아 DNA에 부정적인 영향을 끼쳐서 이들로 하여금 자유 라디칼-세포에서 당과 반응하여 메틸 글리옥살(methyl glyoxal, MG)을 형성하는-을 생성하게 한다. MG는 결국 단백질 또는 지질과 반응하여 최종 당화 산물(advanced glycation end-product, AGE)를 생성한다. 단백질 구성요소 리신의 경우, 글리옥살은 반응하여 카복시메틸리신(carboxymethyllysine)을 형성하는데, 이것이 AGE이다. AGE는 또한 외부 세포 단백질과 혈액내 당의 비-효소적 반응으로부터 형성된다.
- [0032] 미토콘드리아 DNA에 대한 손상 또는 스트레스는 또한 세포를 세포 주기 차단 단백질(blocking agent)을 생성하도록 유도하는 DNA 손상 반응을 시작시킨다. 이러한 차단 단백질은 세포를 분열하지 못하도록 막는다. 지속된 손상 또는 스트레스는 결국 단백질 합성을 활성화시키고 단백질 분해를 비활성화 시키는 (1) mTOR 생성 및 성장 촉진 및 억제 인자가 분비되어 다른 세포에서 노화를 일으키는 (노화 세포 방관자 효과(bystander effect) (2) 노화 관련 분비 표현형(senescence associated secretory phenotype, SASP)을 야기한다. 세포의 추가적인 자극은 예정된 세포사멸 (세포자살)로 이어진다.
- [0033] 세포의 AGE-변형 단백질에 결합하는 항체 ("항-AGE 항체" 또는 "AGE 항체")는 기술분야에 알려져있다. 예시는 미국 특허 제5,702,704호 (Bucala)와 미국 특허 제6,380,165호 (Al-Abed *et al.*)에 기술된 것들을 포함한다. 예시는 FFI, 피랄린, AFGP, ALI, 카복시메틸리신, 카복시메틸리신 및 펜토시딘, 및 이러한 항체의 혼합물과 같은 AGE 변형을 갖는 하나 이상의 AGE-변형 단백질에 결합하는 항체를 포함한다. 바람직하게는, 항체는 카복시

메틸리신(carboxymethyllysine)-변형 단백질에 결합한다. 바람직하게는, 항체는 이것이 사용될 동물에 대해 비-면역원성(non-immunogenic)-인간; 고양이, 개, 및 말을 포함한 반려동물; 및 낙타 (또는 알파카), 캐틀 (소), 양, 및 염소와 같은 상업적으로 중요한 동물에 대한 비-면역원성과 같은-이다. 더욱 바람직하게는, 항체는 동물의 항체로 동종 불변 부위(same species constant region)을 가져서 항체-인간화 된 (인간용), 고양이화 된 (felinized) (고양이용), 개화된(caninized) (개용), 말화된(equinized) (말용), 낙타화된(camelized) (낙타 또는 알파카용), 소화된(bovinized) (캐틀용), 양화된(ovinized) (양용), 또는 염소화된(caperized) (염소용) 와 같은-에 대한 면역 반응을 감소시킬 수 있다. 가장 바람직하게는, 항체는 이것이 사용될 (가변 부위 (variable region) 제외) 동물의 항체-인간 항체, 고양이 항체, 개 항체, 말 항체, 낙타 항체, 소 항체, 양 항체, 또는 염소 항체와 같은-와 동일하다. 이러한 동물들에 대한 항체의 불변 부위와 다른 부분의 세부 정보는 아래에서 기술된다. 바람직하게는, 항체는 단일클론 항체이다.

[0034] 특히 바람직한 AGE 항체는 카복시메틸리신(carboxymethyllysine) 변형을 보이는 단백질 또는 펩티드에 결합하는 항체이다. 카복시메틸리신(carboxymethyllysine) (또한, CML, N(엡실론)-(카복시메틸)리신, N(6)-카복시메틸 리신, 또는 2-아미노-6-(카복시메틸아미노)헥산 산으로 알려짐)은 산화적 스트레스 및 화학적 당화(chemical glycation)의 결과로서 단백질 또는 펩티드 및 지질에서 발견되고, 노화와 연관되어왔다. CML-변형 단백질 또는 펩티드는 다양한 세포에서 발현된 수용체 RAGE에 의해 인식된다. CML은 잘 연구되어 있고 CML-관련 제품은 시판 중이다. 예를 들어, Cell Biolabs, Inc.은 CML-BSA 항원, CML 다중클론 항체, CML 면역블랏(immunoblot) 키트, 및 CML 경쟁적(competitive) ELISA 키트 (www.cellbiolabs.com/cml-assays)를 판매한다. 특히 바람직한 항체는 키홀 림펫 헤모시아닌(keyhole limpet hemocyanin)에 접합된 카복시메틸 리신에 대해 발생된(raised against), 시판 중인 마우스 항-당화 최종산물 항체 (R&D Systems, Inc. (Minneapolis, MN; 카탈로그 no. MAB3247)로부터 구입할 수 있는 카복시메틸 리신 Mab(carboxymethyl lysine Mab) (Clone 318003))의 가변 부위를 포함하고, 인간 불변 부위 (또는 이것이 투여될 동물의 불변 부위)를 갖도록 변형되었다. R&D Systems, Inc.의 카탈로그 no. MAB3247에 해당하는 카복시메틸 리신 항체와 같은 시판 중인 항체는 진단 목적을 위한 것일 수 있고 동물 또는 인간에서 사용에 적합하지 않은 물질을 함유할 수 있다. 바람직하게는, 시판 중인 항체를 동물 또는 인간에서 사용하기 전에 정제 및/또는 분리시켜서 독소 또는 기타 잠재적으로-해로운 물질을 제거할 수 있다.

[0035] AGE 항체는 낮은 항체-항원 복합체로부터의 해리율(rate of dissociation) 또는 k_d (또한 k_{back} 또는 오프-레이트(off-rate)로 지칭됨), 바람직하게는 최대 9×10^{-3} , 8×10^{-3} , 7×10^{-3} 또는 6×10^{-3} (sec^{-1})을 갖는다. AGE 항체는 세포의 AGE-변형 단백질에 대한 높은 친화도(affinity)-최대 9×10^{-6} , 8×10^{-6} , 7×10^{-6} , 6×10^{-6} , 5×10^{-6} , 4×10^{-6} 또는 3×10^{-6} (M)의 낮은 해리 상수(dissociation constant) K_D 로 표현될 수 있는-를 갖는다. 바람직하게는, AGE 항체의 결합 특성은 R&D Systems, Inc. (Minneapolis, MN; 카탈로그 no. MAB3247)로부터 구입할 수 있는 카복시메틸 리신 Mab (Clone 318003)보다 크거나, 이와 비슷하거나, 혹은 동일하며, 도 1에 도시되었다.

[0036] 항-AGE 항체는 AGE-변형 세포를 항체-의존 세포-매개성 세포독성 (antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity, ADCC)를 통해 파괴할 수 있다. ADCC는 면역 체계의 이펙터 세포(effector cell)가 표적 세포를 활발히 용혈시키는(lyse) 세포-매개성 면역 방어의 매커니즘으로, 표적 세포의 막-표면 항원은 특이 항체에 의해 결합되어있다. ADCC는 자연 살해 세포 (natural killer cell, NK cell), 대식세포, 호중구(neutrophil) 또는 호산구(eosinophil)에 의해 매개될 수 있다. 이펙터 세포는 결합된 항체의 Fc 부분에 결합한다.

[0037] AGE 항체는 AGE-변형 세포의 파괴를 야기하는 제제에 컨쥬게이트될 수 있다. 이러한 제제는 독소, 세포독성 물질, 자성 나노입자(magnetic nanoparticle), 및 자성 스핀-볼텍스 디스크 (magnetic spin-vortex disc)일 수 있다.

[0038] 기공-형성 독소 (pore-forming toxin, PFT) (Aroian R. *et al.*, "Pore-Forming Toxins and Cellular Non-Immune Defenses (CNIDs), *Current Opinion in Microbiology*, 10:57-61 (2007))와 같은 AGE 항체에 컨쥬게이트된 독소를 환자에 투여하여 AGE-변형 세포를 선택적으로 표적하고 제거할 수 있다. AGE 항체는 AGE-변형 세포를 인식하고 이에 결합할 수 있다. 그 후, 독소는 세포 표면에서 기공 형성과 삼투성 용혈(osmotic lysis)을 통한 차후의 세포제거를 야기한다.

[0039] AGE 항체에 컨쥬게이트된 자성 나노입자를 환자에 투여하여 AGE-변형 세포를 표적하고 제거할 수 있다. AGE-변

형 세포를 선택적으로 제거하기 위해, 자기장을 인가하여 자성 나노입자를 가열시킬 수 있다.

- [0040] 대안으로서, 자기장이 인가되어 혈관을 막을 수 있는 자가-응집(self-aggregation)을 피할 때만 자화되는 (magnetized) 자성 스핀-볼텍스는 자기장이 인가될 때 스핀하기 시작하는데, 이는 표적 세포의 막 파괴(membrane disruption)를 야기한다. AGE 항체에 컨주게이트된 자성 스핀-볼텍스 디스크는 다른 세포의 제거없이 특이적으로 AGE-변형 세포 유형을 표적한다.
- [0041] 전형적으로 항체는 연결되어 "Y" 형태 분자를 형성하는 폴리펩티드의 두 중쇄(heavy chain)와 두 경쇄(light chain)를 포함한다. 불변 부위는 항원을 표적하는데 사용되는 매커니즘을 결정한다. 상이한 항체에서 "Y" 끝(가변 부위)의 아미노산 서열은 다양하다. 이 변이(variation)가 항체에 항원에 결합하기 위한 이의 특이성을 부여한다. 경쇄와 중쇄의 끝을 포함하는 가변 부위는 초가변(hypervariable, HV - 또한 때때로 상보성 결정 부위(complementarity determining region), 또는 CDR로 지칭됨)와 프레임워크(framework, FR) 부위로 더 세분화된다. 항체를 재조합으로 제조할 때, 두 개의 상이한 항원에 결합하는 가변 부위(또는 상보성 결정 부위)와 각 항원에 특이한 "Y"의 각 끝이 있는 단일 항체를 갖는 것이 가능하다; 이는 이중-특이성 항체 (bi-specific antigen)라고 한다.
- [0042] 본 발명에 따른 인간화 항-AGE 항체는 EQ ID NO: 22에 나타난 아미노산의 인간 불변 부위 서열을 가질 수 있다. 인간화 항-AGE 항체의 중쇄 상보성 결정 부위는 SEQ ID NO: 23 (CDR1H), SEQ ID NO: 24 (CDR2H), 및 SEQ ID NO: 25 (CDR3H)에 나타난 하나 이상의 단백질 서열을 가질 수 있다. 인간화 항-AGE 항체의 경쇄 상보성 결정 부위는 SEQ ID NO: 26 (CDR1L), SEQ ID NO: 27 (CDR2L), 및 SEQ ID NO: 28 (CDR3L)에 나타난 하나 이상의 단백질 서열을 가질 수 있다.
- [0043] 인간 (호모 사피엔스) 항체 면역 글로불린 G1의 중쇄는 SEQ ID NO: 1의 단백질 서열을 갖거나 포함할 수 있다. 중쇄의 가변 도메인(variable domain)은 SEQ ID NO: 2의 단백질 서열을 갖거나 포함할 수 있다. 인간 (호모 사피엔스) 항체 면역 글로불린 G1의 카파 경쇄는 SEQ ID NO: 3의 단백질 서열을 갖거나 포함할 수 있다. 카파 경쇄의 가변 도메인은 SEQ ID NO: 4의 단백질 서열을 갖거나 포함할 수 있다. 가변 부위는 코돈-최적화(codon-optimized)되고, 합성되고, 인간 면역 글로불린 G1 불변 부위를 함유하는 발현 벡터로 클로닝될 수 있다. 더욱이, 가변 부위는 비-인간 항체의 인간화에 사용될 수 있다.
- [0044] 항체 중쇄는 쥐과(murine) 항-AGE 면역 글로불린 G2b 중쇄인 SEQ ID NO: 12의 DNA 서열에 의해 암호화(encoded)될 수 있다. SEQ ID NO: 12에 의해 암호화된 쥐과(murine) 항-AGE 면역 글로불린 G2b 중쇄의 단백질 서열을 SEQ ID NO: 16에 나타냈다. 쥐과 항체의 가변 부위는 SEQ ID NO: 20에 나타냈는데, 이는 SEQ ID NO: 16의 위치 25-142에 해당한다. 항체 중쇄는 대안적으로 키메라 항-AGE 인간 면역 글로불린 G1 중쇄인 SEQ ID NO: 13의 DNA 서열에 의해 암호화될 수 있다. SEQ ID NO: 13에 의해 암호화된 키메라 항-AGE 인간 면역 글로불린 G1 중쇄의 단백질 서열은 SEQ ID NO: 17에 나타냈다. 키메라 항-AGE 인간 면역 글로불린은 위치 25-142에서 SEQ ID NO: 20의 쥐과 가변 부위를 포함한다. 항체 경쇄는 쥐과 항-AGE 카파 경쇄인 SEQ ID NO: 14의 DNA 서열에 의해 암호화될 수 있다. SEQ ID NO: 14에 의해 암호화된 쥐과 항-AGE 카파 경쇄의 단백질 서열은 SEQ ID NO: 18에 나타냈다. 쥐과 항체의 가변 부위를 SEQ ID NO: 21에 나타냈는데, SEQ ID NO: 18의 위치 21-132에 해당한다. 항체 경쇄는 대안적으로 키메라 항-AGE 인간 카파 경쇄인 SEQ ID NO: 15의 DNA 서열에 의해 암호화될 수 있다. SEQ ID NO: 15에 의해 암호화된 키메라 항-AGE 인간 카파 경쇄의 단백질 서열은 SEQ ID NO: 19에 나타냈다. 키메라 항-AGE 인간 면역 글로불린은 위치 21-132에서 SEQ ID NO: 21의 쥐과 가변 부위를 포함한다.
- [0045] 본 발명에 따른 인간화 항-AGE 항체는 하나 이상의 인간화 중쇄 또는 인간화 경쇄를 갖거나 포함할 수 있다. 인간화 중쇄는 SEQ ID NO: 30, 32 또는 34의 DNA 서열에 의해 암호화될 수 있다. SEQ ID NO: 30, 32 및 34에 의해 암호화된 인간화 중쇄의 단백질 서열을 각각 SEQ ID NO: 29, 31 및 33에 나타냈다. 인간화 경쇄는 SEQ ID NO: 36, 38 또는 40의 DNA 서열에 의해 암호화될 수 있다. SEQ ID NO: 36, 38 및 40에 의해 암호화된 인간화 경쇄의 단백질 서열을 각각 SEQ ID NO: 35, 37 및 39에 나타냈다. 바람직하게는, 원래의 항체 특이성을 유지하는 동안, 인간화 항-AGE 항체는 인간 서열의 양을 최대화한다. 완전 인간화 항체는 SEQ ID NO: 29, 31 및 33으로부터 선택된 단백질 서열을 갖는 중쇄와 SEQ ID NO: 35, 37 및 39로부터 선택된 단백질 서열을 갖는 경쇄를 함유하도록 제작될 수 있다.
- [0046] 비-인간 종으로부터 항체의 단백질 서열을 변형하여 SEQ ID NO: 2에 나타난 서열을 갖는 중쇄 또는 SEQ ID NO: 4에 나타난 서열을 갖는 카파 경쇄의 가변 도메인을 포함할 수 있다. 비-인간 종은 애완용 고양이 또는 애완용 개와 같은 반려 동물 또는 케틀, 말 또는 낙타와 같은 가축일 수 있다. 바람직하게는, 비-인간 종은 마우스가

아니다. 말(*에쿠스 카발루스*) 항체 면역 글로블린 감마 4의 중쇄는 SEQ ID NO: 5 (EMBL/GenBank 수탁번호 (accession number) AY445518)의 단백질 서열을 갖거나 포함할 수 있다. 말(*에쿠스 카발루스*) 항체 면역 글로블린 델타의 중쇄는 SEQ ID NO: 6 (EMBL/GenBank 수탁번호 AY631942)의 단백질 서열을 갖거나 포함할 수 있다. 개 (*캐니스 패밀리아리스*) 항체 면역 글로블린 A의 중쇄는 SEQ ID NO: 7 (GenBank 수탁번호 L36871)의 단백질 서열을 갖거나 포함할 수 있다. 개 (*캐니스 패밀리아리스*) 항체 면역 글로블린 E의 중쇄는 SEQ ID NO: 8 (GenBank 수탁번호 L36872)의 단백질 서열을 갖거나 포함할 수 있다. 고양이 (*펠리스 카투스*) 항체 면역 글로블린 G2의 중쇄는 SEQ ID NO: 9 (DDBJ/EMBL/GenBank 수탁번호 KF811175)의 단백질 서열을 갖거나 포함할 수 있다.

[0047] 낙타 (*카멜루스 드로메다리우스* 및 *카멜루스 박트리아누스*), 라마 (*라마 글라마*, *라마 파코스*, 및 *라마 비쿠냐*), 알파카 (*비쿠냐 파코스*), 및 구아나코 (*라마 구아니코*)와 같은 낙타과(camelid family)의 동물은 다른 포유류에서는 발견되지 않는 특유의 항체를 갖는다. 중쇄와 경쇄 사량체로 구성된 종래의 면역 글로블린 G 항체 외에도, 낙타과(camelids)는 또한 경쇄를 함유하지 않고 중쇄 이량체로 존재하는 중쇄 면역 글로블린 G 항체를 갖는다. 이러한 항체는 중쇄 항체, HCAb, 단일-도메인 항체, 또는 sdAb로 알려져 있고, 낙타과 중쇄 항체의 가변 도메인은 VHII로 알려져 있다. 낙타과 중쇄 항체는 중쇄 CH1 도메인이 없고 다른 종에서는 발견되지 않는 경첩 부위(hinge region)을 갖는다. 아라비아 낙타 (*카멜루스 드로메다리우스*) 단일-도메인 항체의 가변 부위는 SEQ ID NO: 10 (GenBank 수탁번호 AJ245148)의 단백질 서열을 갖거나 포함할 수 있다. 아라비아 낙타 (*카멜루스 드로메다리우스*) 사량체 면역 글로블린의 중쇄의 가변 부위는 SEQ ID NO: 11 (GenBank 수탁번호 AJ245184)의 단백질 서열을 갖거나 포함할 수 있다.

[0048] 낙타과 외에도, 중쇄 항체는 또한 상어류, 흥어류, 및 가오리류와 같은 연골어류(cartilaginous fishes)에서 발견된다. 이 유형의 항체는 면역 글로블린 신규 항원 수용체(immunoglobulin new antigen receptor) 또는 IgNAR로 알려져 있고, IgNAR의 가변 도메인은 VNAR로 알려져 있다. IgNAR은 각각 한 개의 가변 도메인과 다섯 개의 불변 도메인으로 구성된 두 개의 동일한 중쇄 이량체로 존재한다. 낙타과처럼, 경쇄는 없다.

[0049] 추가적인 비-인간 종의 단백질 서열은 International ImMunoGeneTics Information System (www.imgt.org), European Bioinformatics Institute (www.ebi.ac.uk), DNA Databank of Japan (ddbj.nig.ac.jp/arsa), 또는 National Center for Biotechnology Information (www.ncbi.nlm.nih.gov)과 같은 온라인 데이터베이스에서 쉽게 찾을 수 있다.

[0050] 추가적인 DNA 및 단백질 서열은 미국 가출원 제62/485,246호에서 찾을 수 있고, 이는 참고문헌에 의해 본원에 포함되어 있다.

[0051] 항-AGE 항체 또는 이의 변이는 이의 번역 후 변형(post-translational modification)을 포함하는 SEQ ID NO: 2 또는 SEQ ID NO: 20의 아미노산 서열에 대한 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 서열 상동성을 갖는 중쇄 가변 부위를 포함할 수 있다. 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 서열 상동성을 갖는 가변 부위는 대조서열에 관하여 치환 (예, 보존성 치환), 삽입, 또는 결실을 포함할 수 있으나, 그 서열을 포함한 항-AGE 항체는 AGE에 결합하는 능력을 유지한다. 치환, 삽입, 또는 결실은 가변 부위 밖의 부위에서 일어날 수 있다.

[0052] 항-AGE 항체 또는 이의 변이는 이의 번역 후 변형을 포함하는 SEQ ID NO: 4 또는 SEQ ID NO: 21의 아미노산 서열에 대한 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 서열 상동성을 갖는 경쇄 가변 부위를 포함할 수 있다. 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 서열 상동성을 갖는 가변 부위는 대조서열에 관하여 치환 (예, 보존성 치환), 삽입, 또는 결실을 포함할 수 있으나, 그 서열을 포함하는 항-AGE 항체는 AGE에 결합하는 능력을 유지한다. 치환, 삽입, 또는 결실은 가변 부위 밖의 부위에서 일어날 수 있다.

[0053] 대안적으로, 항체는 키홀 림프 헤모시아닌 (CML-KLH)으로 컨주게이트된 카복시메틸 리신에 대해 발생된 시판 중인 마우스 항-당화 최종산물 항체(R&D Systems, Inc. (Minneapolis, MN; catalog no. MAB3247)로부터 구입할 수 있는 카복시메틸 리신 MAb (Clone 318003))의 상보성 결정 부위를 가질 수 있다.

[0054] 항체는 환자의 면역 체계에 의해 표적화된 세포의 파괴를 허용하는 불변 부위를 갖거나 포함할 수 있다. 특히 바람직하게는, 이러한 항체는 (1) NK 세포가 항체에 결합하도록 야기하여, 결국, 노화 세포에 결합했고 (2) 용혈 반응을 개시하도록 하는 시스템 자연살해 세포(system natural killer cell, NK cell) Fc 수용

체의 증가를 촉진하는 보체 결합 부분(complement binding portion) (Fc)을 포함한다. 이는 노화 세포가 세포 자살을 겪고 대식세포에 의해 치워지는 단편으로 부수지도록 야기하는데, 이로써 인체로부터 분해되고 제거된다.

- [0055] AGE-변형 단백질의 하나 보다 많은 AGE 유형에 결합하는 항체의 혼합물이 또한 사용될 수 있다.
- [0056] 두 개의 상이한 항원 결정기로 향하는 AGE 항체인 이중-특이성 항체 또한 사용될 수 있다. 이러한 항체는 하나의 AGE 항체의 가변 부위로부터 비롯된 가변 부위 (또는 상보성 결정 부위)와 상이한 항체로부터 비롯된 가변 부위 (또는 상보성 결정 부위)를 가질 것이다.
- [0057] 항체 단편은 전체 항체 대신 사용될 수 있다. 예를 들어, 면역 글로불린 G는 효소를 이용한 절단(digestion)에 의해 더 작은 단편으로 분해될 수 있다. 파파인 절단(papain digestion)은 중쇄간 이황화 다리(inter-heavy chain disulfide bridge)의 N-말단 측을 절단하여 Fab 단편을 생성할 수 있다. Fab 단편은 중쇄의 두 N-말단 도메인(또한 Fd 단편으로 알려짐) 중 하나와 경쇄를 포함한다. 펩신 절단(pepsin digestion)은 중쇄간 이황화 다리의 C-말단을 절단하여 F(ab')₂ 단편을 생성할 수 있다. F(ab')₂ 단편은 이황화 다리에 의해 연결된 두 N-말단 도메인과 경쇄 모두를 포함한다. 펩신 절단은 Fv(가변 단편(fragment variable))와 Fc(결정화가능 단편(fragment crystallizable))를 또한 형성할 수 있다. Fv 단편은 두 개의 N-말단 가변 도메인을 함유한다. Fc 단편은 세포의 면역 글로불린 수용체 및 보체 연쇄반응(complement cascade)의 초기 인자와 상호작용하는 도메인을 함유한다. 펩신은 중쇄의 제 3 불변 도메인 (C_H3) 전의 면역 글로불린 G를 또한 절단하여 큰 단편 F(ab₂c)와 작은 단편 pFc'을 생성할 수 있다. 중쇄 CDR을 포함하고 세포 사멸 또는 파괴를 야기하는 독소 또는 다른 모이어티가 컨주게이트된 단일 도메인 항체는 또한 사용될 수 있고, 혈관-뇌 장벽을 통과할 수 있다고 알려져 있다. 대안적으로, 항체 단편을 재조합으로 생성할 수 있다.
- [0058] 추가적인 항체를 목적한다면, 이들을 잘-알려진 방법으로 생성할 수 있다. 예를 들어, 면역원(immunogen) 또는 목적한다면, 보강제(adjuvant)의 한 번 이상의 주입에 의해 다중클론 항체 (pAbs)를 포유류 숙주에서 발생시킬 수 있다(raised). 일반적으로, 면역원 (및 보강제)는 피하 또는 복강내 주입에 의해 포유류에 주입된다. 면역원은 AGE-항트롬빈 III, AGE-칼모듈린, AGE-인슐린, AGE-세룰로플라스민, AGE-콜라겐, AGE-카텝신 B, AGE-알부민, AGE-크리스탈린, AGE-플라스미노겐 활성화자, AGE-내피 원형질막 단백질(endothelial plasma membrane protein), AGE-알데히드 환원효소, AGE-트랜스페린, AGE-피브린, AGE-구리/아연 SOD, AGE-아포 B(apo B), AGE-피브로넥틴, AGE-췌장 리보스(pancreatic ribose), AGE-아포 A-I 및 II, AGE-헤모글로빈, AGE-Na⁺/K⁺-ATPase, AGE-플라스미노젠, AGE-미엘린, AGE-리소자임, AGE-면역 글로불린, AGE-적혈구 Glu 수송 단백질(red cell Glu transport protein), AGE-β-N-아세틸렉소미나제, AGE-아포 E, AGE-적혈구 막 단백질(red cell membrane protein), AGE-알도오스 환원효소, AGE-페리틴, AGE-적혈구 스펙트린(red cell spectrin), AGE-알코올 탈수소 효소, AGE-합토클로빈, AGE-튜블린, AGE-감상선호르몬, AGE-피브리노젠, AGE-β₂-마이크로클로불린, AGE-솔비톨 탈수소효소, AGE-α₁-항트립신, AGE-카보네이트 탈수효소, AGE-RNase, AGE-저밀도 지질단백질, AGE-핵소키나아제, AGE-아포 C-I, AGE-RNase, AGE-인간 헤모글로빈과 같은 AGE-헤모글로빈, AGE-소 혈청 알부민 (AGE-BSA) 및 AGE-인간 혈청 알부민 같은 AGE-알부민, AGE-저밀도 지질단백질 (AGE-LDL), 및 AGE-콜라겐 IV와 같은 세포의 AGE-변형 단백질일 수 있다. AGE-변형 적혈구-온전한, 용혈된, 또는 부분적으로 절단된-와 같은 AGE-변형 세포가 또한 AGE 항원으로 사용될 수 있다. 보강제의 예시는 프로인드 완전(Freund's complete) 보강제, 모노포스포릴 지질 A 합성-트레할로스 디코리노미콜레이트(monophosphoryl Lipid A synthetic-trehalose dicorynomycolate), 알루미늄 히드록시드 (알루미늄), 열 충격 단백질 HSP 70 또는 HSP96, 모노포스포릴 지질 A, α2-마크로클로불린 및 표면 활성 물질을 함유하는 스쿠알렌 에멀전(squalene emulsion)-오일 에멀전, 플루토닉 폴리올(pleuronic polyol), 폴리음이온, 및 디니트로페놀을 포함하는-을 포함한다. 면역 반응을 향상시키기 위해, 면역원은 키홀 림펫 헤모시아닌 (KLH), 혈청 알부민, 소 티로글로불린, 콜레라 독소, 불안정 장독소(labile enterotoxin), 실리카 입자 또는 대두 트립신 억제제(soybean trypsin inhibitor)와 같은 숙주에서 면역원성인 폴리펩티드에 컨주게이트 될 수 있다. 대안적으로, pAbs는 닭에서 만들어 질 수 있고, IgY 분자를 생성한다.
- [0059] 단일클론 항체 (mAbs)를 숙주 또는 숙주의 림프구를 면역시키고, mAb-분비 (또는 잠재적 분비) 림프구를 수확하여, 이 림프구를 불멸화 세포(예를 들어, 골수종 세포)에 융합시키고, 목적하는 mAb를 분비하는 이 세포를 선택함으로써 또한 만들 수 있다. EBV-하이브리도마 기법과 같은 다른 기법이 사용될 수 있다. 항체의 가변 도메인을 암호화하는 유전자를 인간 (또는 다른 동물) 면역 글로불린의 불변 도메인의 유전자에 대한 스플라이싱(splicing)의한 키메라 항체의 생성을 위한 기법은 아미노산 수준에서 실질적으로 인간(인간화) 또는 다른 동물

(고양이, 개, 말, 낙타 또는 알파카, 캐틀, 양, 또는 염소와 같은)에 실질적으로 "-화(ized)"된 "키메라 항체"를 야기한다. 필요한 경우, mAbs를 단백질 A-세포파로오스, 수산화인회석(hydroxylapatite) 크로마토그래피, 겔 전기영동, 투석, 황산 암모늄 침전, 또는 친화성 크로마토그래피와 같은 종래의 절차에 의해 배양액 또는 복수액으로부터 정제할 수 있다. 더욱이, 인간 단일클론 항체를 제3 카피(a third copy) IgG 인간 트랜스-좌위와 침묵된 (silenced) 내인성 마우스 Ig 좌위를 함유한 형질전환 마우스의 면역화에 의해 또는 인간-형질전환 마우스를 사용하여 생성할 수 있다. 인간화 단일클론 항체와 이의 단편의 생성은 파지 디스플레이 기술(phage display technology)를 통해 또한 생성할 수 있다.

[0060] "약제학적으로 허용가능한 담체"는 약학적 투여와 양립할 수 있는 임의의 및 모든 용매, 분산 매질(dispersion media), 코팅, 항균 및 항진균제, 등장성 및 흡수 지연제, 등을 포함한다. 이러한 담체 또는 희석제의 바람직한 예는 물, 식염수, 링거액(Ringer's solution), 및 텍스트로오스 용액을 포함한다. 추가적인 활성 화합물 (supplementary active compound)은 조성물에 또한 포함될 수 있다. 비경구 투여에 사용되는 용액과 현탁액은 주사를 위한 물, 식염수, 폴리에틸렌 글리콜, 글리세린, 프로필렌 글리콜, 또는 다른 합성 용매와 같은 소독한 희석제(sterile diluent); 벤질 알코올 또는 메틸 파라벤과 같은 항균제; 아스코르브산 또는 아황산 수소나트륨과 같은 항산화제; 아세테이트, 시트레이트, 또는 포스페이트와 같은 완충액(buffer); 및 염화 나트륨 또는 텍스트로오스와 같은 긴장성의 조절을 위한 제제를 포함할 수 있다. pH는 염산 또는 수산화나트륨과 같은 산 또는 염기로 조절할 수 있다. 비경구 제제는 앰플, 일회용 주사기, 또는 유리 또는 플라스틱으로 만들어진 다회용(multiple dose) 바이알로 동봉할 수 있다.

[0061] 주사에 적합한 약제학적 조성물은 소독한 주사가 가능한 용액 또는 분산액의 즉석 조제(extemporaneous preparation)를 위한 소독한 수용액 또는 분산액을 포함한다. 다양한 부형제는 주사에 적합한 항체의 약제학적 조성물에 포함될 수 있다. 주사에 의한 투여를 위해, 적합한 담체는 생리 식염수, 정균수(bacteriostatic water), CREMOPHOR EL® (BASF; Parsippany, NJ) 또는 인산 완충 식염수 (phosphate buffered saline, PBS)를 포함한다. 모든 경우에서, 조성물은 주사기를 사용하여 투여되기 위해 소독되어야 하며 유체여야 한다. 이러한 조성물은 제조와 보관 시 안정해야 하며 세균 및 진균과 같은 미생물로부터의 오염에 대해 보존되어야 한다. 다양한 항균 및 항-진균제, 예를 들어, 파라벤, 클로로부탄올, 페놀, 아스코르브산, 및 티메로살은 미생물 오염을 함유할 수 있다. 당, 만니톨 및 솔비톨과 같은 다가알코올, 및 염화 나트륨과 같은 등장화제(isotonic agent)가 조성물에 포함될 수 있다. 흡수를 지연시킬 수 있는 조성물은 알루미늄 모노스테아레이트 및 젤라틴과 같은 물질을 포함한다. 소독한 주사가 가능한 용액은 필요에 따라 성분의 하나 또는 조합이 있는 적절한 용액에서 필요한 양으로 항체와 선택적으로 다른 치료학적 성분을 포함하고 뒤이어 소독함으로써 제조할 수 있다. 소독한 주사가 가능한 용액의 제조를 위한 소독한 고체의 제조 방법은 진공 건조(vacuum drying) 및 동결-건조 (freeze-drying) 단계를 포함하여 고체를 수득한다.

[0062] 흡입에 의한 투여를 위해, 항체는 적합한 추진제(propellant), 예를 들어, 이산화탄소와 같은 가스를 함유한 네블라이저(nebulizer) 또는 압력 용기(pressurized container)로부터 에어로졸 스프레이 (aerosol spray)로서 전달될 수 있다. 항체는 또한 건조 분말로서 흡입을 통해, 예를 들어, iSPERSE™ 흡입형 약물(inhaled drug) 전달 플랫폼 (PULMATRIX, Lexington, Mass.)을 사용하여 또한 전달될 수 있다. 흡입으로 투여될 때, 담 항체 (IgY)인 AGE 항체의 사용은 인간을 포함한 다양한 동물에서 비-면역원성(non-immunogenic)일 수 있다.

[0063] 각 유형의 항체의 적절한 투여 수준은 일반적으로 환자 체중 1kg 당 약 0.01 내지 500 mg일 수 있다. 바람직하게는, 투여 수준은 약 0.1 내지 약 250 mg/kg; 더욱 바람직하게는 약 0.5 내지 약 100 mg/kg 일 것이다. 적합한 투여 수준은 약 0.01 내지 250 mg/kg, 약 0.05 내지 100 mg/kg, 또는 약 0.1 내지 50 mg/kg 일 수 있다. 이 범위 내에서, 투여량은 0.05 내지 0.5, 0.5 내지 5, 또는 5 내지 50 mg/kg 일 수 있다. 각 유형의 항체가 일일 1회 내지 4회의 요법-일일 1회 또는 2회와 같은-으로 투여될 수 있음에도 불구하고, 생체 내에서 항체는 일반적으로 긴 수명을 갖는다. 따라서, 각 유형의 항체는 일일 1회, 일주 1회, 2주 당 또는 3주 당 1회, 한달 1회, 또는 60 내지 90 일 당 1회 투여될 수 있다.

[0064] AGE 항체의 투여를 받는 환자는 신경 기능 또는 인지 기능의 변화 또는 신경퇴행성 질환과 관련된 신경퇴행성 단백질의 존재의 증가 및 감소를 측정함으로써 이것이 신경퇴행성 질환을 치료하는데 효과적인 것인지를 결정하도록 검사받을 수 있다. 대부분의 신경퇴행성 질환의 경우에서, 신경퇴행성 질환의 존재, 중증도(severity) 및 /또는 진행을 측정하는 검사가 잘 알려져 있다. 목적하는 치료학적 결과가 달성될 때 까지, 예를 들어, 신경퇴행성 질환에 대해 환자를 평가하여 또는 노화 세포가 사멸되었는지 환자를 평가하여 항체의 투여와 추후 검사가 반복될 수 있다.

- [0065] 단위 투여량 형태는 투여 및 투여량 균일도(uniformity)를 용이하도록 고안될 수 있다. 단위 투여량 형태는 치료될 환자를 위한 단일 투여량으로서 적합한 물리적으로 별개의 단위를 나타내며, 필요한 약제학적 담체와 관련된 항체의 하나 이상의 유형의 약제학적으로 효과적인 양을 함유한다. 바람직하게는, 단위 투여량 형태는 밀봉된 용기에 있고 소독된 것이다.
- [0066] 신경퇴행성 질환을 발달시킬 수 있는 임의의 표유류는 본원에 기술된 방법에 의해 치료될 수 있다. 인간은 치료에 바람직한 포유류이다. 치료될 수 있는 다른 포유류는 마우스, 랫트, 염소, 양, 카우, 말, 및 개 또는 고양이와 같은 반려 동물을 포함한다. 치료가 필요한 환자는 신경퇴행성 질환의 진단에 의해 밝혀질 수 있다.
- [0067] 중추신경계 신경퇴행성 질환의 경우에서, 중추신경계로 직접적으로 항체를 함유하는 조성물을 투여하는 것이 바람직할 수 있다. 이러한 투여의 예시는 척수강내 투여; 예를 들어, 카테터 또는 영구적인 션트(permanent shunt), 또는 뇌실창남술(ventriculostomy) 시 둘 수 있는 다른 투여 장치 (예를 들어, Takami, A. *et al.* "Treatment of primary central nervous system lymphoma with induction of complement-dependent cytotoxicity by intraventricular administration of autologous-serum-supplemented rituximab", *Cancer Sci.* Vol. 97, pp. 80-83 (January 2006)을 참고)를 통한 뇌의 뇌실계통(ventricular system)으로 투여 (뇌실내 투여); 및 전달 강화 전달 (convection enhanced delivery, CED)에 의한 투여 (예를 들어, Chen, K.S., *et al.* "MONOCLONAL ANTIBODY THERAPY FOR MALIGNANT GLIOMA" chapter 10 of *Glioma: Immunotherapeutic Approaches*, pp. 132-141 (ed. R. Yamanaka; Landes Bioscience and Springer Science+Business Media, 2012)을 참고)를 포함한다. 이러한 중추신경계 투여 모두는 혈청 보충물(자가 혈청과 같은)의 투여를 또한 선택적으로 포함하여 AGE 항체의 세포 사멸 특성을 향상시킬 수 있고; 혈청 보충물의 투여는 AGE 항체의 투여 이전에, 동시에, 또는 이후에 있을 수 있다. 선택적으로, 본원에 기술된 AGE 항체를 함유한 임의의 조성물은 혈청 보충물 (자가 혈청 보충물과 같은)을 추가로 함유할 수 있다. 혈청 보충물을 대신하여, 또는 혈청 보충물 외에도, 자가 면역 체계 세포이거나 공여자의 면역 체계 세포인 정제된 면역 체계 세포들이 또한 사용될 수 있고; 이러한 세포의 예시는 자연 살해 세포를 포함한다. 환자의 또는 공여자의 자연살해 세포외에도, 또는 이들을 대신하여, NANTKWEST®의 자연살해 세포와 같은 인공적인 자연살해 세포가 항체에 직접적으로 결합하도록 조작되었거나 AGE 항원 (카복시메틸리신과 같은)에 직접적으로 결합하도록 조작되었다(www.nantkwest.com를 참고).
- [0068] 항-AGE 항체는 자성 세포 분리(magnetic cell separation)와 같은 세포 분리 과정에서 사용될 수 있다. 자성 세포 분리에서, 항-AGE 항체는 코팅이라고 불리는 과정을 통해 자성 비드(magnetic bead)에 부착된다. 코팅된 자성 비드는 그 다음 AGE-변형 세포에 특이적으로 결합할 수 있다. 자성 비드에 코팅된 항-AGE 항체에 결합한 AGE-변형 세포는 그 다음 인가된 자기장에 반응할 것이고, 변형 세포가 비-AGE-변형 세포로부터 분리되도록 허용한다. 자성 세포 분리는 조직 시료 및 체액 시료로부터 AGE-변형 세포를 분리(isolate)하는데 사용될 수 있다. 자성 비드는 마이크로 비드 (0.5 - 500 μm) 또는 나노입자 (5 - 500 nm)일 수 있다. 자성 비드에 코팅된 항-AGE 항체는 면역분석법(immunoassay)과 면역침전법(immunoprecipitation) 같은 분리 과정(isolation process)에서 또한 사용될 수 있다. 마찬가지로, 자성 비드에 코팅된 항-AGE 항체는 조직 시료와 체액 시료의 AGE-변형 단백질 또는 펩티드를 특이적으로 표적하고 분리하는데 사용될 수 있다. 항-AGE 항체는 유동 세포 분석(flow cytometry) 및 세포 분리(cell sorting)와 같은 다른 세포 분리에서 사용될 수 있다.
- [0069] 항-AGE 항체는 면역패닝법(immunopanning) 및 면역흡착법(immunoabsorption)과 같은 세포 정제 과정에서 사용될 수 있다. 정제 과정은 목적하는 또는 원치 않는 세포를 조직 배양액, 세포 배양액 또는 혈액으로부터 분리하는데 유용하다. 세포 정제는 골수 이식과 같은 이식, 또는 혈액수혈(blood transfusion)과 같은 수혈(transfusion)에서 이용될 수 있다. 세포 정제는 화학요법 시, 자가 줄기 세포 이식에서 전이성 악성 세포를 제거하고 이로인 줄기세포를 집결시키기 것에 특히 유용하다. 항-AGE 항체를 이용한 면역패닝법 또는 면역흡착법은 AGE-변형 세포를 조직 배양액, 세포 배양액, 또는 혈액 시료로부터 분리할 수 있다.

[0070] SEQ ID NO: 1에 해당하는 한 글자(one-letter) 아미노산 서열은 아래와 같다:

```

10      20      30      40      50
MNLILLITFV AAVAQVQLL QPGAELVKPG ASVKLACKAS GYLFTTYWMH
60      70      80      90
WLKQRPGQGL EWIGEISPTN GRAYYNARFK SEATLTVDKS
100     110     120     130
SNTAYMQLSS LTSEASAVYY CARAYGNYEF AYWGGTLVT
140     150     160     170
VSVASTKGPS VFPLAPSSKS TSGGTAALGC LVKDYFPEPV
180     190     200     210     220
TVSWNSGALT SGVHTFPAVL QSSGLYSLSS VVTPSSSLG TQTYICNVNH
230     240     250     260
KPSNTKVDKK VEPKSCDKTH TCPPCPAPEL LGGPSVFLFP
270     280     290     300
PKPKDTLMIS RTPEVTCVVV DVSHEDPEVK FNWYVDGVEV
310     320     330     340
HNAKTKPREE QYNSTYRVVS VLTVLHQDWL NGKEYKCKVS
350     360     370     380     390
NKALPAPIEK TISKAKGQPR EPQVYTLPPS REEMTKNQVS LTCLVKGFYP
400     410     420     430
SDIAVEWESN GQPENNYKTT PPVLDSDGSF FLYSKLTVDK
440     450     460
SRWQQGNVFS CSVMHEALHN HYTQKSLSLS PGK

```

[0071]

[0072] SEQ ID NO: 2에 해당하는 상기 아미노산 서열의 위치 16-133. SEQ ID NO: 41에 해당하는 상기 아미노산 서열의 위치 46-50. SEQ ID NO: 42에 해당하는 상기 아미노산 서열의 위치 65-81. SEQ ID NO: 43에 해당하는 상기 아미노산 서열의 위치 114-122.

[0073] SEQ ID NO: 3에 해당하는 한 글자 아미노산 서열은 아래와 같다:

```

10      20      30      40      50
MNLILLITFV AAVADVMT QTPLSLPVSL GDQASISCRS RQSLVNSNGN
60      70      80      90      100
TFLQWYLQKP GQSPKLLIYK VSLRFGVDPD RFSGSGSGTD FTLKISRVEA
110     120     130     140     150
EDLGLYFCSQ STHVPPTFGG GTKLEIKRTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTA
160     170     180     190
SVVCLLNNFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD
200     210     220     230
STYLSSTLT LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGEC

```

[0074]

[0075] SEQ ID NO: 4에 해당하는 상기 아미노산 서열의 위치 16-128. 선택적으로, SEQ ID NO: 4의 위치 128에서 아르기닌(Arg or R) 잔기는 생략될 수 있다. SEQ ID NO: 44에 해당하는 상기 아미노산 서열의 위치 39-54. SEQ ID NO: 45에 해당하는 상기 아미노산 서열의 위치 70-76. SEQ ID NO: 46에 해당하는 상기 아미노산 서열의 위치 109-117.

[0076] SEQ ID NO: 12에 해당하는 DNA 서열은 아래와 같다:

[0077] ATGGACCCCAAGGGCAGCCTGAGCTGGAGAATCCTGCTGTTCTGAGCCTGGCCTTCGAGCTGAGCTACGGCCAGGTGCAGCTGCTGCAGCCAGGTGCCGAG
CTCGTGAAACCTGGCGCCTCTGTGAAGCTGGCCTGCAAGGCTCCGGCTACCTGTTACCACCTACTGGATGCACTGGCTGAAGCAGAGGCCAGGCCAGGGC
CTGGAATGGATCGCGAGATCTCCCCACCAACGGCAGAGCCTACTACAACGCCGGTTCAAGTCCGAGGCCACCCTGACCGTGGACAAGTCTCCAACACC
GCCTACATGCAGCTGTCTCCCTGACCTCTGAGGCTCCGCCGTGACTACTGCGCCAGAGCTTACGGCAACTACGAGTTCGCCTACTGGGGCCAGGGCACC
CTCGTGACAGTGTCTGTGGCTAAGACCACCCTCCCTCCGTGTACCTCTGGCTCCTGGCTGTGGCGACACCACCGGATCCTCTGTGACCTGGGTGCCTC
GTGAAGGGTACTTCCCTGAGTCCGTGACCTGGAACCTCCGGCTCCCTGTCTCCTCCGTGCACACCTTTCCAGCCCTGTGCAGTCCGGCCTGTAC
ACCATGTCTCCAGCGTGACAGTGCCTCCTCCACCTGGCCTTCCAGACCGTGACATGCTCTGTGGCCACCCTGCCTCTTCCACCACCGTGGACAAGAAG
CTGGAACCTCCGGCCCATCTCCACCATCAACCTTGGCTCCCTGCAAGAATGCCACAAGTGCCTGCCCAACCTGGAAGGCGGCCCTTCCGTGTTT
ATCTTCCACCCAACATCAAGGACGTGTGATGATCTCCCTGACCCCAAGTACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCCGAGGACGACCCTGACGTGCAGATC
AGTTGGTTCGTGAACAACGTGGAAGTGCACACCGCCAGACCCAGACACACAGAGAGGACTACAACAGCACCATCAGAGTGGTGTCTACCTGCCATCCAG
CACCAGGACTGGATGTCCGGCAAAGAATTCAAGTGCAAAGTGAACAACAAGGACCTGCCAGCCCATCGAGCGGACCATCTCAAGATCAAGGGCCTCGTG
CGGGTCCCCAGGTGTACATTCTGCCTCCACCAGCCGAGCAGCTGTCCCGAAGGATGTGTCTCTGACATGTCTGGTGTGGGCTTCAACCCCGCGACATC
TCCGTGGAATGGACCTCCAACGGCCACACCGAGGAAAATAACAAGGACACCGCCCTGTGTGGACTCCGACGGCTCTACTCTCATCTACTCAAGCTGAAC
ATGAAGACCTCAAGTGGGAAAAGACCGACTCCTTCTCTGCAACGTGCGGCACGAGGGCCTGAAGAATACTACTGAAAGAAAACCATCTCCCGTCCCC
GGCTAG

[0078] SEQ ID NO: 13에 해당하는 DNA 서열은 아래와 같다:

[0079] ATGGACCCCAAGGGCAGCCTGAGCTGGAGAATCCTGCTGTTCTGAGCCTGGCCTTCGAGCTGAGCTACGGCCAGGTGCAGCTGCTGCAGCCAGGTGCCGAG
CTCGTGAAACCTGGCGCCTCTGTGAAGCTGGCCTGCAAGGCTCCGGCTACCTGTTACCACCTACTGGATGCACTGGCTGAAGCAGAGGCCAGGCCAGGGC
CTGGAATGGATCGCGAGATCTCCCCACCAACGGCAGAGCCTACTACAACGCCGGTTCAAGTCCGAGGCCACCCTGACCGTGGACAAGTCTCCAACACC
GCCTACATGCAGCTGTCTCCCTGACCTCTGAGGCTCCGCCGTGACTACTGCGCCAGAGCTTACGGCAACTACGAGTTCGCCTACTGGGGCCAGGGCACC
CTCGTGACAGTGTCTGTGGCTAGCACCAAGGGCCCCAGCGTGTCCCTCTGGCCCCAGCAGCAAGAGCACCAGCGGGGAACCGCCGCTGGGTGCCTG
GTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCGTGACCGTGTCTGGAACAGCGCGCTCTGACCAGCGGAGTGCACACCTTCCCTGCGGTGTGCAGAGCAGCGCCTG
TACTCCCTGAGCAGCGTGGTGACCGTGCCAGCAGCAGCCTGGGACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCAAGCCCTCCAACCAAGGTGGACAAG
AAGGTGGAGCCTAAGAGCTGCGACAAGACCCACACCTGCCTCCCTGCCCGCCCCGAGCTGTGGGGGACCAGCGTGTCTCTGTTCCCTCCAAGCCC
AAGGACACCTGATGATCAGCCGACCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAGGCCGAGGTGAAGTCAACTGGTACGTGGACGGC
GTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTCGGGAGGAGCAGTACAACCTACCTACCGGTGGTGGAGCGTGTGACCGTGTGCACCAGGACTGGCTGAAC
GGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTGAGCAACAAGCCCTGCCCGTCCCATCGAGAAGACATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCCGGGAGCCTCAGGTGTAC
ACCCTGCCCCCAGCCGACGAGCTGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTGAAGGGCTTCTACCCTCCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGC
AACGGCCAGCCTGAGAACAATAACAAGACCCCTCCCGTGTGGACAGCGACGGCAGCTTCTTCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCCGGTGG
CAGCAGGGCAACGTTCAGTGCAGCGTGTGACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGAGCCTGAGCCTGAGCCCCGATAG

[0080] SEQ ID NO: 14에 해당하는 DNA 서열은 아래와 같다:

[0081] ATGGAGACCGACACCCTGCTGCTCTGGGTGCTGCTGCTCTGGGTGCCCGGCTCCACCGAGACGTCGTGATGACCCAGACCCCTCTGTCCCTGCCTGTGTCT
CTGGGCGACCAGGCTCCATCTCCTGCCGTCTAGACAGTCCCTCGTGAACCTCAACGGCAACACCTTCTGCAAGTGGTATCTGCAGAAGCCCGCCAGTCC
CCCAAGCTGTGATCTACAAGGTGTCCCTGCGGTTCTCCGGCGTGCCCGACAGATTTCCGGCTCTGGCTCTGGCACCAGACTTACCCCTGAAGATCTCCCGG
GTGGAAGCCGAGGACCTGGGCTGTACTTCTGCAGCCAGTCCACCCAGTGCCTTACATTTGGCGGAGGCACCAAGCTGGAATCAACGGGCAGATGCT
GCACCAACTGTATCCATCTTCCACCATCCAGTGCAGTGAACATCTGGAGGTGCCTCAGTCTGTGCTTCTTGAACAATCTTACCCCAAGACATCAAT
GTCAAGTGAAGATTGATGGCAGTGAACGACAAAATGGCGTCTGAACAGTTGGACTGATCAGGACAGCAAGACAGCACCTACAGCATGAGCAGCACCCTC
ACGTTGACCAAGGACGAGTATGAACGACATAACAGCTATACCTGTGAGGCCACTACAAGACATCAACTTACCCATTGTCAAGAGCTTCAACAGGAATGAG
TGTTGA

[0082] SEQ ID NO: 15에 해당하는 DNA 서열은 아래와 같다:

[0083] ATGGAGACCGACACCCTGCTGCTCTGGGTGCTGCTGCTCTGGGTGCCCGGCTCCACCGAGACGTCGTGATGACCCAGACCCCTCTGTCCCTGCCTGTGTCT
CTGGGCGACCAGGCTCCATCTCCTGCCGTCTAGACAGTCCCTCGTGAACCTCAACGGCAACACCTTCTGCAAGTGGTATCTGCAGAAGCCCGCCAGTCC
CCCAAGCTGTGATCTACAAGGTGTCCCTGCGGTTCTCCGGCGTGCCCGACAGATTTCCGGCTCTGGCTCTGGCACCAGACTTACCCCTGAAGATCTCCCGG
GTGGAAGCCGAGGACCTGGGCTGTACTTCTGCAGCCAGTCCACCCAGTGCCTTACATTTGGCGGAGGCACCAAGCTGGAATCAAGCGGACCGTGGCC
GCCCCAGCGTGTTCATCTTCCCTCCAGCGACGAGCAGTGAAGTCTGGCACCAGCGTGGTGTGCTGTGTAACAATCTTACCCCGCAGGGCCAAAG
GTGACGTGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTGAACCGAGGACTCCAAGGACAGCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCTG
ACCCTGAGCAAGGCCACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCTGCGAGGTGACCCACAGGGACTGTCTAGCCCGTGAACCAAGAGCTTCAACCGGGCGAG

TGCTAA

[0084] SEQ ID NO: 16에 해당하는 한 글자 아미노산 서열은 아래와 같다:

[0085] MDPKGSLSWRILLFLSLAFELSYGQVQLLQPGAELVKPGASVKLACKASGYLFTTYWMHWLKQRPGQGLEWIGEISPTNGRAYYNARFKSEATLTVDKSSNT
 AYMQLSSLTSEASAVYYCARAYGNIEFAYWGQGLVTVSVAKTTPPSVYPLAPGCGDTTSSVTLGCLVKGYFPEESVTVTWSGSLSSSVHTFPALLQSGLY
 TMSSTVTPSSTWPSQTVTCSVAHPASSTTVDKKLEPSGPISTINPCPPCKECKCPAPNLEGGPSVFIAPPNIKDVLMISLTPKVTVCVVVDVSEDDPDVQI
 SWFVNNVEVHTAQQTTHREDYNSTIRVVSTLPIQHQDWMMSGKEFKCKVNNKDLPSPIERTISKIKGLVRAPQVYILPPAEQLSRKDVSLTCLVGFNPGDI
 SVEWTSNGHTEENYKDTAPVLDSDGSYFIYSKLNMKTSKWEKTDSCNVRHEGLKNYYLKKTISRSPG*

[0086] 상기 아미노산 서열의 위치 123에서 알라닌 잔기는 세린 잔기로 선택적으로 대체될 수 있다. 상기 아미노산 서열의 위치 124에서 티로신 잔기는 페닐알라닌 잔기로 선택적으로 대체될 수 있다. SEQ ID NO: 20에 해당하는 상기 아미노산 서열의 위치 25-142. SEQ ID NO: 20는 위치 123과 124에서 치환을 선택적으로 포함할 수 있다. SEQ ID NO: 20는 종결 발린 잔기 뒤 하나의 추가적인 리신 잔기를 선택적으로 함유할 수 있다.

[0087] SEQ ID NO: 17에 해당하는 한 글자 아미노산 서열은 다음과 같다:

[0088] MDPKGSLSWRILLFLSLAFELSYGQVQLLQPGAELVKPGASVKLACKASGYLFTTYWMHWLKQRPGQGLEWIGEISPTNGRAYYNARFKSEATLTVDKSSNT
 AYMQLSSLTSEASAVYYCARAYGNIEFAYWGQGLVTVSVASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL
 YSLSSVTVPSSTLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG
 VEVHNAKTKPREEQNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES
 NGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNYHTQKSLSLSPG*

[0089] SEQ ID NO: 18에 해당하는 한 글자 아미노산 서열은 다음과 같다:

[0090] METDTLLLVLLLVWPGSTGDVMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSRQSLVNSNGNTFLQWYLQKPGQSPKLLIYKVSRLRFSGVDRFSGSGSGTDFTLKISR
 VEAEDLGLYFCSQSTHVPPTFGGGTKLEIKRADAAPTIVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNRFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLSWTDQDSKSDSTYSMSSTL
 TLTKDEYERHNSYTCETHKTTSTSPIVKSFRNEC*

[0091] SEQ ID NO: 21에 해당하는 상기 아미노산 서열의 위치 21-132.

[0092] SEQ ID NO: 19에 해당하는 한 글자 아미노산 서열은 다음과 같다:

[0093] METDTLLLVLLLVWPGSTGDVMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSRQSLVNSNGNTFLQWYLQKPGQSPKLLIYKVSRLRFSGVDRFSGSGSGTDFTLKISR
 VEAEDLGLYFCSQSTHVPPTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSDSTYLSSTL
 TLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC*

[0094] SEQ ID NO: 22에 해당하는 한 글자 아미노산 서열은 다음과 같다:

10	20	30	40	50
ASTKGPSVFP LAPCSRSTSE STAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV				
60	70	80	90	100
HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSNFGTQT YTCNVDHKPS NTKVDKTVR				
110	120	130	140	150
KCCVECPPCP APPVAGPSVF LFPPKPKDTL MISRTPEVTC VVVDVSHEDP				
160	170	180	190	
EVQFNWYVDG VEVHNAKTKP REEQFNSTFR VVSVLTVVHQ				
200	210	220	230	240
DWLNGKEYKC KVSNGKLPAP IEKTISKTKG QPREPQVYTL PPSREEMTKN				
250	260	270	280	290
QVSLTCLVKG FYPSDISVEW ESNQGPENNY KTTTPMLDSD GSFFLYSKLT				
300	310	320		
VDKSRWQQGN VFSCSVMHEA LHNHYTQKSL SLSPGK				

[0095]

[0096] SEQ ID NO: 23에 해당하는 한 글자 아미노산 서열은 SYTMGVS이다.

[0097] SEQ ID NO: 24에 해당하는 한 글자 아미노산 서열은 TISSGGGSTYYPDSVKG이다.

[0098] SEQ ID NO: 25에 해당하는 한 글자 아미노산 서열은 QGGWLPFAX이며, X는 임의의 자연적으로 발생한 아미노산일 수 있다.

[0099] SEQ ID NO: 26에 해당하는 한 글자 아미노산 서열은 RASKSVSTSSRGYSYMH이다.

[0100] SEQ ID NO: 27에 해당하는 한 글자 아미노산 서열은 LVSNLES이다.

[0101] SEQ ID NO: 28에 해당하는 한 글자 아미노산 서열은 QHIRELTRS이다.

[0102] SEQ ID NO: 29에 해당하는 한 글자 아미노산 서열은 다음과 같다:

[0103] MDPKGSLSWRILLFLSLAFELSYGQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYLFTTYWMHWVRQAPGQGLEWMGEI SPTNGRAYYNQKFQGRVTMTVDKSTNT VYMESSLRSEDTAVYYCARAYGNFYAYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVGHVTFPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHHTCPPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSRDELKKNVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKLSLSPG

[0104] SEQ ID NO: 30에 해당하는 DNA 서열은 다음과 같다:

[0105] ATGGACCCCAAGGGCAGCCTGAGCTGGAGAATCCTGCTGTTCTGAGCCTGGCCTTCGAGCTGAGCTACGGCCAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGAA GTGAAGAAACCTGGCGCCTCCGTGAGGTGCTCTGCAAGGCTTCCGGCTACCTGTTACCACCTACTGGATGCACTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAGGGCC TGGAAATGGATGGGCGAGATCTCCCTACCAACGGCAGAGCCTACTACAACAGAAATTCAGGGCAGAGTGACCATGACCGTGGACAAGTCCACCAACACCGT GTACATGGAAGTGTCTCCCTGCGGAGCGAGGACACCGCGTGTACTACTGCGCTAGAGCCTACGGCACTACGATTGCGCTACTGGGGCCAGGGCACCTC GTGACAGTGTCTCTGCTAGCACCAAGGGCCCCAGCGTGTTCCTCTGGCCCCAGCAGCAAGAGCACCAGCGCGGAACCGCCGCTGGGCTGCCTGGGA AGGACTACTTCCCGAGCCCGTGACCGTGTCTGGAACAGCGCGCTCTGACCAGCGAGTGCACACCTTCCCTGCCGTGCTGCAGAGCAGCGCCTGTACT CCCTGAGCAGCGTGGTGACCGTGCCAGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACTACATCTGCAACGTGAACCAAGCCCTCCAACCAAGGTGGACAAGAAGGT GGAGCCTAAGAGCTGCGACAAGACCCACACCTGCCCTCCCTGCCCGCCCCGAGCTGCTGGGCGGACCCAGCGTGTTCCTGTTCCCTCCCAAGCCCAAGGAC ACCCTGATGATCAGCCGACCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGACCCAGGACCCGAGGTGAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGG TGCACAACGCCAAGACCAAGCCTCGGGAGGAGCAGTACAACCTCCACTACCGCGTGGTGGAGCGTGTGACCGTGTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAGGA GTACAAGTGAAGGTGAGCAACAAGGCCCTGCCGCTCCATCGAGAAGACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCCGGGAGCCTCAGGTGTACACCTGCC CCCAGCCGCGACGAGCTGACAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCTGTAAGGGCTTCTACCCCTCCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAG CCTGAGAACAATAAGACCACCCCTCCCGTGTGACAGCGCAGCTTCTTCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCA ACGTGTTCAGCTGCAGCGTGTGACAGGGCCCTGCACAACACTACCCAGAAGAGCCTGAGCCTGAGCCCGATAGTAA

[0106] SEQ ID NO: 31에 해당하는 한 글자 아미노산 서열은 다음과 같다:

[0107] MDPKGSLSWRILLFLSLAFELSYGQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYLFTTYWMHWVRQAPGQGLEWMGEI SPTNGRAYYNAKFQGRVTMTVDKSTNT AYMELSSLRSEDTAVYYCARAYGNFYAYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVGHVTFPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHHTCPPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSRDELKKNVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKLSLSPG

[0108] SEQ ID NO: 32에 해당하는 DNA 서열은 다음과 같다:

[0109] ATGGACCCCAAGGGCAGCCTGAGCTGGAGAATCCTGCTGTTCTGAGCCTGGCCTTCGAGCTGAGCTACGGCCAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGAA GTGAAGAAACCTGGCGCCTCCGTGAGGTGCTCTGCAAGGCTTCCGGCTACCTGTTACCACCTACTGGATGCACTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAGGGCC TGGAAATGGATGGGCGAGATCTCCCTACCAACGGCAGAGCCTACTACAACAAAATTCAGGGCAGAGTGACCATGACCGTGGACAAGTCCACCAACACCGC TTACATGGAAGTGTCTCCCTGCGGAGCGAGGACACCGCGTGTACTACTGCGCTAGAGCCTACGGCACTACGATTGCGCTACTGGGGCCAGGGCACCTC GTGACAGTGTCTCTGCTAGCACCAAGGGCCCCAGCGTGTTCCTCTGGCCCCAGCAGCAAGAGCACCAGCGCGGAACCGCCGCTGGGCTGCCTGGGA AGGACTACTTCCCGAGCCCGTGACCGTGTCTGGAACAGCGCGCTCTGACCAGCGAGTGCACACCTTCCCTGCCGTGCTGCAGAGCAGCGCCTGTACT CCCTGAGCAGCGTGGTGACCGTGCCAGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACTACATCTGCAACGTGAACCAAGCCCTCCAACCAAGGTGGACAAGAAGGT GGAGCCTAAGAGCTGCGACAAGACCCACACCTGCCCTCCCTGCCCGCCCCGAGCTGCTGGGCGGACCCAGCGTGTTCCTGTTCCCTCCCAAGCCCAAGGAC ACCCTGATGATCAGCCGACCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGACCCAGGACCCGAGGTGAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGG TGCACAACGCCAAGACCAAGCCTCGGGAGGAGCAGTACAACCTCCACTACCGCGTGGTGGAGCGTGTGACCGTGTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAGGA GTACAAGTGAAGGTGAGCAACAAGGCCCTGCCGCTCCATCGAGAAGACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCCGGGAGCCTCAGGTGTACACCTGCC CCCAGCCGCGACGAGCTGACAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCTGTAAGGGCTTCTACCCCTCCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAG

CCTGAGAACAACACTACAAGACCACCCCTCCCGTGCTGGACAGCGACGAGCTTCTTCCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCA
ACGTGTTAGCTGCACGGTGTATGCACGAGGCCCTGCACAACACTACACCCAGAAGAGCCTGAGCCTGAGCCCGGATAGTAA

[0110] SEQ ID NO: 33에 해당하는 한 글자 아미노산 서열은 다음과 같다:

[0111] MDPKGSLSWRILLFLSLAFELSYGQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYLFTTYWMHWVRQAPGQGLEWMGEISPTNGRAYYNAKFQGRVTMTVDKSI
NTAYMELSRRLSDDTAVYYCARAYGNFYAYWGQGLTVVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLY
SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTHTCPPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSRDELKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ
PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMEALHNHYTQKLSLSLSPG

[0112] SEQ ID NO: 34에 해당하는 DNA 서열은 다음과 같다:

[0113] ATGGACCCCAAGGGCAGCCTGAGCTGGAGAATCCTGCTGTTCTGAGCCTGGCCTTCGAGCTGAGCTACGGCCAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGAA
GTGAAGAAACCTGGCGCCTCCGTGAGGTGTCTGCAAGGCTTCCGGCTACCTGTTACCACCTACTGGATGCACTGGGTGCGACAGCCCTGGACAGGGCC
TGGAATGGATGGGCGAGATCTCCCTACCAACGGCAGAGCTACTACAACAAAATTCAGGGCAGAGTGACCATGACCGTGGACAAGTCCATCAACACCGC
TTACATGGAAGTGCAGACTGCGGAGCGATGACACCGCGTGTACTACTGCGCTAGAGCCTACGGCACTACGATTGCGCTACTGGGGCCAGGGCACCCTC
GTGACAGTGTCTCTGCTAGCACAAGGGCCCCAGCGTGTCCCTCTGGCCCCAGCAGCAAGAGCACCAGCGCGGAACCGCCGCTGGGCTGCCTGGGA
AGGACTACTTCCCGAGCCCGTAGCCGTGCTGGAACAGCGCGCTCTGACCAGCGAGTGCACACCTTCCCTGCCGTGCTGCAGAGCAGCGCCTGTACT
CCCTGAGCAGCGTGGTAGCCGTGCCAGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCAAGCCCTCCAACCAAGGTGGACAAGAAGGT
GGAGCCTAAGAGCTGCGACAAGACCCACACCTGCCCTCCCTGCCCGCCCGAGCTGCTGGGCGGACCCAGCGTGTCTCTGTCCCTCCAAGCCCAAGGAC
ACCCTGATGATCAGCCGACCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGAGCTGAGCCACGAGGACCCCGAGGTGAGTTCAACTGGTACGTGGACGCGCTGGAGG
TGCACAACGCCAAGACCAAGCCTCGGGAGGAGCAGTACAACCTCCACCTACCGCGTGGTGGAGCGTGTGACCGTGTGACACAGGACTGGTGAACGGCAGGA
GTACAAGTGCAAGGTGAGCAACAAGCCCTGCCGCTCCCATCGAGAAGACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCCGGGAGCCTCAGGTGTACACCCTGCC
CCCCAGCCGCGACGAGCTGACAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCTGGTGAAGGGCTTCTACCCCTCCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAG
CCTGAGAACAACACTACAAGACCACCCCTCCCGTGTGAGCAGCGACGAGCTTCTTCCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCA
ACGTGTTAGCTGCACGGTGTATGCACGAGGCCCTGCACAACACTACACCCAGAAGAGCCTGAGCCTGAGCCCGGATAGTAA

[0114] SEQ ID NO: 35에 해당하는 한 글자 아미노산 서열은 다음과 같다:

[0115] METDTLLLWVLLLVWPGSTGDVVMTQSPVTLGQPASISCRSSQSLVNSNGNTFLQWYQRPQSPRLLIYKVSRLRFSVGPDRFSGSGSGTDFTLKISR
VEAEDVGVYYCSQSTHVPPTFGGGTVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSLSTLT
LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[0116] SEQ ID NO: 36에 해당하는 DNA 서열은 다음과 같다:

[0117] ATGGAGACCGACACCCTGCTGCTCTGGGTGCTGCTGCTCTGGGTGCCCGGCTCCACCGGAGACGTCGTGATGACCCAGTCCCCTCTGTCCCTGCCTGTGACC
CTGGGACAGCCTGCCTCCATCTCCTCAGATCCTCCAGTCCCTCGTGAACCTCAACGGCAACACCTTCTGCAAGTGGTATCAGCAGCGCCTGGCCAGAGCC
CCAGACTGCTGATCTACAAGGTGTCCCTGCGGTTCTCCGCGTGCACGATTTCCGGCTCTGGCTCTGGCACCGACTTACCCTGAAGATCTCCCGGGT
GGAAGCCGAGGACGTGGGCGTGTACTACTGCTCCCAGAGACCCAGTGCCCTACATTTGGCGGAGGCACCAAGTGAAATCAAGCGGACCGTGGCCGCC
CCCAGCGTGTTCATCTCCCTCCAGCGACGAGCAGCTGAAGTCTGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCTGCTGTAACAATTCTACCCCGCAGGGCAAGGGC
AGTGGAAAGGTGGACAACGCCCTGCAGAGCGCAACAGCCAGGAGAGCGTACCAGGAGCAGGACTCCAAGGACAGCCTACAGCCTGAGCAGCACCTGACCC
TGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGACAAGGTGTACGCTGCGAGGTGACCCACAGGACTGTCTAGCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACCGGGCGAGTGCTA
A

[0118] SEQ ID NO: 37에 해당하는 한 글자 아미노산 서열은 다음과 같다:

[0119] METDTLLLWVLLLVWPGSTGDVVMTQSPVTLGQPASISCRSRQSLVNSNGNTFLQWYQRPQSPRLLIYKVSRLRFSVGPDRFSGSGSGTDFTLKISR
VEAEDVGVYYCSQSTHVPPTFGGGTVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSLSTLT
LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[0120] SEQ ID NO: 38에 해당하는 DNA 서열은 다음과 같다:

[0121] ATGGAGACCGACACCCTGCTGCTCTGGGTGCTGCTGCTCTGGGTGCCCGGCTCCACCGGAGACGTCGTGATGACCCAGTCCCCTCTGTCCCTGCCTGTGACC
CTGGGACAGCCTGCCTCCATCTCCTCAGATCCAGCAGTCCCTCGTGAACCTCAACGGCAACACCTTCTGCAAGTGGTATCAGCAGCGCCTGGCCAGAGCC
CCAGACTGCTGATCTACAAGGTGTCCCTGCGGTTCTCCGCGTGCACGATTTCCGGCTCTGGCTCTGGCACCGACTTACCCTGAAGATCTCCCGGGT
GGAAGCCGAGGACGTGGGCGTGTACTACTGCTCCCAGAGACCCAGTGCCCTACATTTGGCGGAGGCACCAAGTGAAATCAAGCGGACCGTGGCCGCC
CCCAGCGTGTTCATCTCCCTCCAGCGACGAGCAGCTGAAGTCTGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCTGCTGTAACAATTCTACCCCGCAGGGCAAGGGC

AGTGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTGACCGAGCAGGACTCCAAGGACAGCACCTACAGCCTGAGCAGCACCTGACCC
TGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGACAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGACTGTCTAGCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACCGGGGCGAGTGCTA
A

[0122] SEQ ID NO: 39에 해당하는 한 글자 아미노산 서열은 다음과 같다:

[0123] METDTLLLVVLLLVPGSTGDVVMQTSPVTLGQPASISCRSSQSLVNSNGNTFLQWYHQRPQPRLLIYKVSLRFSVGPDRFSGSGAGKDFTLKISR
VEAEDVGVVYCSQSTHVPPTFGQGTLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLT
LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[0124] SEQ ID NO: 40에 해당하는 DNA 서열은 다음과 같다:

[0125] ATGGAGACCGACACCTGCTGCTCTGGGTGCTGCTGCTCTGGGTGCCCGGCTCCACCGAGACGTCGTGATGACCCAGTCCCCTCTGTCCAGTCCCTGTGACC
CTGGGACAGCCTGCCTCCATCTCCTCAGATCCTCCAGTCCCTCGTGAACCTCAACGGCAACACCTTCTGCAGTGGTATCACCAGCGCCTGGCCAGCCTC
CCAGACTGCTGATCTACAAGGTGTCCTGCGGTTCTCCGGCGTGCCGACGATTTTCCGGCTCTGGCGCTGGCAAGGACTTACCCCTGAAGATCTCCCGGT
GGAAGCCGAGGACGTGGGCGTGTACTACTGCTCCCAGAGACCCACGTGCCCTACATTTGGCCAGGGACCAACTGAAATCAAGCGGACCGTGGCCGCC
CCCAGCGTGTTCATCTTCCCTCCAGCGACGAGCAGCTGAAGTCTGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCTGCTGAACAACCTTACCCCGCGAGGCCAAGGGC
AGTGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTGACCGAGCAGGACTCCAAGGACAGCACCTACAGCCTGAGCAGCACCTGACCC
TGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGACAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGACTGTCTAGCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACCGGGGCGAGTGCTA
A

[0126] [실시예]

실시예 1

[0127] 검사 항체의 친화도(affinity) 및 동역학(kinetics)

[0128] 검사 항체의 친화도와 동역학을 Na,Nα-비스(카복시메틸)-L-리신 트리플루오로아세테이트 염 (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO)을 AGE-변형 단백질에 대한 모델 기질로 사용하여 분석하였다. 비-표지 상호작용 분석(Label-free interaction analysis)을 블랭크(blank)로서 Fc1 세트 및 검사 항체 (150,000 Da의 분자량)로 부동화된 (immobilized) Fc2가 있는 Series S 센서 칩 CM5 (GE Healthcare, Pittsburgh, PA)을 이용하여 BIACORE™ T200 (GE Healthcare, Pittsburgh, PA)에서 수행하였다. 러닝 완충액(running buffer)은 25° C에서 HBS-EP 완충액 (10 mM HEPES, 150 mM NaCl, 3 mM EDTA 및 0.05% P-20, pH 7.4)이었다. 소프트웨어는 BIACORE™ T200 평가 소프트웨어(evaluation software), 버전 2.0이었다. 이중 대조(double reference) (Fc2-1 및 단독 완충액 주입 (only buffer injection))를 분석에서 사용하였고, 데이터를 랑뮤에(Langmuir) 1:1 결합 모델(binding model)에 피팅하였다(fitted).

표 1

[0129] 친화도 및 동역학 분석의 실험 설정

결합 및 해리	
유로(flow path)	Fc1 및 Fc2
유속(flow rate) (µl/min)	30
결합 시간(association time) (s)	300
해리 시간(dissociation time) (s)	300
시료 농도 (µM)	20 - 5 - 1.25 (x2) - 0.3125 - 0.078 - 0

[0130] 시간에 대한 반응의 그래프가 도 1에 도시된다. 다음의 값은 분석으로부터 결정하였다: k_a (1/Ms) = 1.857 x 10³; k_d (1/s) = 6.781 x 10⁻³; K_D (M) = 3.651 x 10⁻⁶; R_{max} (RU) = 19.52; 및 χ^2 = 0.114. 피팅(fitting)의 χ^2 값이 R_{max} 의 10% 미만이므로, 피팅은 신뢰할 수 있다.

실시예 2

[0131] 쥐과(murine) 항-AGE IgG2b 항체 및 키메라 항-AGE IgG1 항체의 제작 및 생성

[0132] 쥐과 및 키메라 인간 항-AGE 항체를 제조하였다. 쥐과 항-AGE 항체 IgG2b 중쇄의 DNA 서열을 SEQ ID NO: 12에 나타낸다. 키메라 인간 항-AGE 항체 IgG1 중쇄의 DNA 서열을 SEQ ID NO: 13에 나타낸다. 쥐과 항-AGE 항체 카과 경쇄의 DNA 서열을 SEQ ID NO: 14에 나타낸다. 키메라 인간 항-AGE항체 카과 경쇄의 DNA 서열을 SEQ ID NO: 15에 나타낸다. 유전자 서열을 합성하였고 고발현 포유류 벡터(high expression mammalian vector)로 클로닝하였다(cloning). 서열을 코돈 최적화하였다(codon optimized). 완료된 제작물은 형질주입(transfection)을 진행하기 전 확인된 서열이었다.

[0133] HEK293 세포를 형질주입 하루 전에 교반 플라스크(shake flask)에 씨딩하였고(seeding) 혈청-프리 화학 조성배지(chemically defined media)를 사용하여 배양하였다. DNA 발현 구조체를 0.03 리터의 HEK293 세포 현탁액으로 일시적 형질주입을 하였다(transiently transfected). 20 시간 후, 세포를 채취하여 생존률(viability) 및 생 세포수(viable cell count)를 얻었고, 역가(titer)를 측정하였다(Octet QKe, ForteBio). 일시적 형질주입 제조 공정(transient transfection production runs) 전체에 걸쳐 추가적인 리딩(reading)을 얻었다. 배양액을 5일차에 수확하였고, 추가적인 시료 별로 세포 밀도, 생존률, 및 역가에 대해 측정하였다.

[0134] 쥐과 및 키메라 항-AGE 항체를 위한 조건 배지(conditioned media)를 원심분리와 여과에 의해 일시적 형질주입 제조 공정으로부터 수확 및 정화(clarified)하였다. 상청액(supernatant)을 단백질 A 컬럼에 흘려주었고(run over) 낮은 pH 완충액으로 용출하였다. 0.2 μm 멤브레인 필터(membrane filter)를 이용한 여과를 분획(aliquoting)전에 수행하였다. 정제 및 여과 후, 단백질 농도를 OD280과 흡광 계수(extinction coefficient)로부터 계산하였다. 수득량과 분획물(aliquot)의 개요를 표 2에 나타낸다:

표 2

수득량 및 분획물

[0135]

단백질	농도(mg/mL)	부피(mL)	바이알의 수	총 수득량(mg)
쥐과 항-AGE	0.08	1.00	3	0.24
키메라 항-AGE	0.23	1.00	3	0.69

[0136] CE-SDS 분석을 수행하였고 (LabChip GXII, Perkin Elmer) 전기영동도(electropherogram)를 플로팅하였다.

실시예 3

[0137] 쥐과(모항체) 및 키메라 항-AGE 항체의 결합

[0138] 실시예 2에 기술된 쥐과(모항체) 및 키메라 항-AGE 항체의 결합을 직접 결합 ELISA(direct binding ELISA)에 의해 연구하였다. 항-카복시메틸 리신(carboxymethyl lysine, CML) 항체(R&D Systems, MAB3247)를 대조군으로 사용하였다. CML을 KLH(CML-KLH)에 컨쥬게이트 하였고 CML과 CML-KLH 모두 ELISA 플레이트 상에서 밤새 코팅시켰다. HRP-염소 항-마우스 Fc를 사용하여 대조군과 쥐과(모항체) 항-AGE 항체를 검출하였다. HRP-염소 항-인간 Fc를 사용하여 키메라 항-AGE 항체를 검출하였다.

[0139] 항원을 pH 6.5의 1x 인산 완충액에서 1 μg/mL로 희석시켰다. 96-웰 마이크로타이타 ELISA 플레이트(96-well microtiter ELISA plate)를 100 μL/well의 희석된 항원으로 코팅시켰고 4° C에서 밤새 두었다. 플레이트를 다음 날 아침 실온에서 1x PBS, 2.5% BSA로 블로킹하고(blocked) 1-2 시간 두었다. 항체 시료를 50 μg/mL의 시작 농도로 1x PBS, 1% BSA를 이용하여 연속 희석(serial dilution)으로 제조하였다. 2차 항체를 1:5,000로 희석시켰다. 100 μL의 항체 희석액을 각 웰에 분획시켰다. 플레이트를 마이크로플레이트 교반기에서 0.5-1 시간 동안 실온에서 배양하였다. 플레이트를 1x PBS로 3회 세척하였다. 100 μL/well의 희석된 HRP-컨쥬게이트 염소 항-인간 Fc 이차 항체를 웰에 분획시켰다. 플레이트를 마이크로플레이트 교반기에서 1시간 동안 배양하였다. 플레이트를 이어서 1x PBS로 3회 세척하였다. 100 μL의 HRP 기질 TMB를 각 웰에 추가하여 플레이트를 전개시켰다(develop). 3-5 분이 지난 후, 반응을 100 μL의 1N HCl를 추가함으로써 종결시켰다. 제2 직접 결합 ELISA를 CML 단독 코팅으로 수행하였다. OD450의 흡광도를 마이크로플레이트 리더(microplate reader)를 이용하여 판독하였다.

[0140] CML과 CML-KLH ELISA에 대한 OD450 흡광도 로 데이터(raw data)를 아래의 플레이트 맵(plate map)에 나타낸다. 웰 플레이트의 96웰 중 48개를 사용하였다. 플레이트 맵의 빈 웰은 사용되지 않은 웰을 나타낸다.

[0141] CML과 CML-KLH ELISA의 플레이트 맵:

농도 (ug/mL)	1	2	3	4	5	6	7
50	0.462	0.092	0.42		1.199	0.142	1.852
16.67	0.312	0.067	0.185		0.31	0.13	0.383
5.56	0.165	0.063	0.123		0.19	0.115	0.425
1.85	0.092	0.063	0.088		0.146	0.099	0.414
0.62	0.083	0.072	0.066		0.108	0.085	0.248
0.21	0.075	0.066	0.09		0.096	0.096	0.12
0.07	0.086	0.086	0.082		0.098	0.096	0.098
0	0.09	0.085	0.12		0.111	0.083	0.582
	R&D 양성 대조군	모항체 항-AGE	키메라 항체 항-AGE		R&D 양성 대조군	모항체 항-AGE	키메라 항체 항-AGE
	CML-KLH 코팅				CML 코팅		

[0142]

[0143] CML-단독 ELISA에 대한 OD450 흡광도 로 데이터를 아래의 플레이트 맵에 나타낸다. 웰 플레이트에서 96웰 중 24개를 사용하였다. 플레이트 맵에서 빈 웰은 사용되지 않은 웰을 나타낸다.

[0144] CML-단독 ELISA 플레이트 맵:

농도 (ug/mL)	1	2	3	4	5	6	7
50	1.913	0.165	0.992				
16.66667	1.113	0.226	0.541				
5.555556	0.549	0.166	0.356				
1.851852	0.199	0.078	0.248				
0.617284	0.128	0.103	0.159				
0.205761	0.116	0.056	0.097				
0.068587	0.073	0.055	0.071				
0	0.053	0.057	0.06				
	R&D 양성 대조군	모항체 항-AGE	키메라 항체 항-AGE				

[0145]

[0146] OD450 흡광도 데이터를 또한 항체 농도에 대하여 플로팅하였다.

[0147] 대조군과 키메라 항-AGE 항체는 CML과 CML-KLH 모두에 결합하는 것을 보였다. 쥐과 (모항체) 항-AGE 항체는 CML 또는 CML-KLH에 매우 약한 결합 내지 결합하지 않음을 보였다. 반복된 ELISA의 데이터는 CML에 대한 키메라 항-AGE와 대조군의 결합을 확인한다. 모든 원중액 대조군은 음성 신호(negative signal)를 보였다.

실시예 4

[0148] 인간화 항체

[0149] 인간화 항체를 인간 프레임워크(acceptor framework) 서열이 있는 모 (마우스) 항체 서열의 엄선된 부분을 융합하는 멀티 플 하이브리드 서열(multiple hybrid sequences)을 만들어 설계하였다. 엑셉터 프레임워크(acceptor framework)를 프레임워크 전역에 걸친 전체 서열 상동성, 일치하는 인터페이스 위치(matching interface position), 유사하게 분류된 CDR 정규 서열(canonical position), 및 제거될 N-당화 부위의 존재에 기초하여 확인하였다. 세 개의 인간화 경쇄와 세 개의 인간화 중쇄를 두 개의 상이한 중쇄 및 경쇄 인간 엑셉터 프레임워크에 기초하여 설계하였다. 중쇄의 아미노산 서열을 SEQ ID NO: 29, 31 및 33에 나타냈는데, 각각 SEQ ID NO: 30, 32 및 34에 나타낸 DNA 서열에 의해 암호화된다. 경쇄의 아미노산 서열을 SEQ ID NO: 35, 37 및 39에 나타냈는데, 각각 SEQ ID NO: 36, 38 및 40에 나타낸 DNA 서열에 의해 암호화된다. 인간화 서열은 눈과 컴퓨터

모델링에 의해 계통적으로 분석하여 항원 결합을 보유할 가능성이 가장 높은 서열을 분리하였다. 목표는 원래의 항체 특이성을 보유하면서, 최종 인간화 항체에서 인간 서열의 양을 최대화하는 것이었다. 인간화 경쇄 및 중쇄는 합쳐져서 9개의 변이 완전 인간화 항체를 만들 수 있다.

[0150] 3개의 중쇄와 3개의 경쇄를 분석하여 이들의 인간화도(humanness)를 측정하였다. 항체 인간화도 점수를 Gao, S. H., *et al.*, "Monoclonal antibody humanness score and its applications", BMC Biotechnology, 13:55 (July 5, 2013)에 기술된 방법에 따라 계산하였다. 인간화도 점수는 항체 가변 부위 서열이 얼마나 인간과 유사해 보이는지를 나타낸다. 중쇄의 경우, 79 이상의 점수는 인간과 유사해 보임을 가리키고; 경쇄의 경우, 86 이상의 점수가 인간과 유사해 보임을 가리킨다. 3개의 중쇄, 3개의 경쇄, 모 항체 (마우스) 중쇄와 모항체 (마우스) 경쇄의 인간화도를 아래의 표 3에 나타냈다:

표 3

항체 인간화도

항체	인간화도 (프레임워크 + CDR)
모항체(마우스) 중쇄	63.60
중쇄 1 (SEQ ID NO: 29)	82.20
중쇄 2 (SEQ ID NO: 31)	80.76
중쇄 3 (SEQ ID NO: 33)	81.10
모항체 (마우스) 경쇄	77.87
경쇄 1 (SEQ ID NO: 35)	86.74
경쇄 2 (SEQ ID NO: 37)	86.04
경쇄 3 (SEQ IN NO: 39)	83.57

[0152] 전체-길이의 항체 유전자를 가변 부위 서열을 최초 합성(first synthesis)함으로써 제작하였다. 서열을 포유류 세포에서 발현에 대해 최적화하였다. 이러한 가변 부위 서열을 인간 Fc 도메인을 이미 함유한 발현 벡터로 클로닝하였고; 중쇄의 경우, IgG1을 사용하였다.

[0153] 인간화 항체의 소규모 생산을 중쇄 및 경쇄에 대한 플라스미드를 HEK293 세포의 현탁액에 혈청이 없는 화학 조성배지를 이용하여 형질주입함으로써 수행하였다. 조건 배지의 완전 항체(whole antibody)를 MabSelect SuRe 단백질 A 배지 (GE Healthcare)를 이용해 정제하였다.

[0154] 9개의 인간화 항체를 SEQ ID NO: 29, 31 및 33에 나타낸 아미노산 서열을 갖는 3개의 중쇄와 SEQ ID NO: 35, 37 및 39에 나타낸 아미노산 서열을 갖는 3개의 경쇄의 각 조합으로부터 생성하였다. 비교 키메라 모 항체 (comparative chimeric parental antibody)를 또한 제조하였다. 항체와 이들 각각의 역가를 아래 표 4에 나타낸다:

표 4

항체와 이들 각각의 역가

항체	역가 (mg/L)
키메라 모항체	23.00
SEQ ID NO: 29 + SEQ ID NO: 35	24.67
SEQ ID NO: 29 + SEQ ID NO: 37	41.67
SEQ ID NO: 29 + SEQ ID NO: 39	29.67
SEQ ID NO: 31 + SEQ ID NO: 35	26.00
SEQ ID NO: 31 + SEQ ID NO: 37	27.33
SEQ ID NO: 31 + SEQ ID NO: 39	35.33
SEQ ID NO: 33 + SEQ ID NO: 35	44.00
SEQ ID NO: 33 + SEQ ID NO: 37	30.33
SEQ ID NO: 33 + SEQ ID NO: 39	37.33

[0156] 인간화 항체의 결합을, 예를 들어, 투여량-의존 결합 ELISA(dose-dependent binding ELISA) 또는 세포-기반 결합 검정(cell-based binding assay)에 의해 평가할 수 있다.

실시예 5

- [0157] 면역조직화학(immunohistochemical) 연구
- [0158] 조직 시료를 알츠하이머 질병과 파킨슨병을 있는 환자로부터 획득하였다. 두 개의 알츠하이머 질병 시료를 해마로부터 취했다. 첫번째 파킨슨병 시료는 흑질(substantia nigra)로부터 취했고, 두번째 파킨슨병 시료는 복측피개영역(ventral tegmental area)으로부터 취했다. 모든 세포는 상기에 기술된 바와 같은 항-AGE 항체를 이용하여 카복시메틸리신(carboxymethyllysine)에 대해 염색하였다. 알츠하이머 질병 세포를 인산화 타우 (포스포 타우) 또는 별도로 아밀로이드 전구 단백질에 대해 염색하였다. 파킨슨병 세포를 알파 시누클레인에 대해 염색하였다. 세포의 핵 염색을 DAPI 대조 염색을 이용하여 확인하였다. (애리조나 주립 대학교의 Diego Mastroeni 박사에 의해 실험이 수행되었고 이미지가 준비되었다.)
- [0159] 도 2a는 붉은색으로 염색된 카복시메틸리신과 초록색으로 염색된 인산화된 타우를 도시한 알츠하이머 질병 시료의 세포의 사진이다.
- [0160] 도 2b는 붉은색으로 염색된 카복시메틸리신과 초록색으로 염색된 아밀로이드 전구체 단백질을 도시한 알츠하이머 질병 시료의 세포의 사진이다.
- [0161] 도 2c는 붉은색으로 염색된 카복시메틸리신과 초록색으로 염색된 알파 시누클레인을 도시한 흑질로부터의 파킨슨병 시료의 세포의 사진이다.
- [0162] 도 2d는 붉은색으로 염색된 카복시메틸리신과 초록색으로 염색된 알파 시누클레인을 도시한 복측피개 영역으로부터의 파킨슨병 시료의 세포의 사진이다.
- [0163] 잘 알려진 AGE인 CML은 알츠하이머 질병과 파킨슨병에서 입증된 병리학으로 공-편재화(co-localize)하지 않는다. 대신, CML은 신경교세포에 나타난다. 알츠하이머 질병 시료에서 CML 면역반응은 소교세포와 있었고, 파킨슨병 시료에서 CML 면역반응은 정상세포와 있었다고 추측되었다. 결과는 알츠하이머 질병과 파킨슨병에서 노화 신경교세포의 존재를 입증한다. 항-AGE 항체를 이용한 노화 신경교세포의 제거는 신경 줄기/전구 세포에 의한 신경교세포의 재생을 야기할 것으로 기대될 것이다. (예를 들어, Leonard, B.W. *et al.*, "Subventricular zone neural progenitors from rapid brain autopsies of elderly subjects with and without neurodegenerative disease", *The Journal of Comparative Neurology*, Vol. 515, pp. 269-294 (2009)을 참고).
- [0164] **참고문헌**
- [0165] 1. International Application Pub. No. WO 2009/143411 to Gruber (26 Nov. 2009).
- [0166] 2. U.S. Patent No. 5,702,704 to Bucala (issued December 30, 1997).
- [0167] 3. U.S. Patent No. 6,380,165 to Al-Abed *et al.* (issued April 30, 2002).
- [0168] 4. U.S. Patent No. 6,387,373 to Wright *et al.* (issued May 14, 2002).
- [0169] 5. U.S. Patent No. 4,217,344 to Vanlerberghe *et al.* (issued August 12, 1980).
- [0170] 6. U.S. Patent No. 4,917,951 to Wallach (issued April 17, 1990).
- [0171] 7. U.S. Patent No. 4,911,928 to Wallach (issued March 27, 1990).
- [0172] 8. U.S. Patent Application Publication Pub. No. US 2010/226932 to Smith *et al.* (September 9, 2010).
- [0173] 9. Ando K, *et al.*, "Membrane Proteins of Human Erythrocytes Are Modified by Advanced Glycation End Products During Aging in the Circulation," *Biochemical and Biophysical Research Communications*, Vol. 258, 123-27 (1999).
- [0174] 10. Lindsey JB, *et al.*, "Receptor For Advanced Glycation End-Products (RAGE) and soluble RAGE (sRAGE): Cardiovascular Implications," *Diabetes Vascular Disease Research*, Vol. 6(1), 7-14, (2009).
- [0175] 11. Bierhaus A, "AGEs and their interaction with AGE-receptors in vascular disease and diabetes mellitus. I. The AGE concept," *Cardiovasc Res*, Vol. 37(3), 586-600 (1998).
- [0176] 12. Meuter A., *et al.* "Markers of cellular senescence are elevated in murine blastocysts cultured in

vitro: molecular consequences of culture in atmospheric oxygen" *J Assist Reprod Genet.* 2014 Aug 10. [Epub ahead of print].

- [0177] 13. Baker, D.J. et al., "Clearance of p16Ink4a-positive senescent cells delays ageing-associated disorders", *Nature*, vol. 479, pp. 232-236, (2011).
- [0178] 14. Jana Hadravová, et al. "Chicken immunoglobulins for prophylaxis: Effect of inhaled antibodies on inflammatory parameters in rat airways" *Journal of Applied Biomedicine* (in press; Available online 5 May 2014).
- [0179] 15. Vlassara, H. et al., "High-affinity-receptor-mediated Uptake and Degradation of Glucose-modified Proteins: A Potential Mechanism for the Removal of Senescent Macromolecules", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, Vol. 82, 5588, 5591 (1985).
- [0180] 16. Roll, P. et al., "Anti-CD20 Therapy in Patients with Rheumatoid Arthritis", *Arthritis & Rheumatism*, Vol. 58, No. 6, 1566-1575 (2008).
- [0181] 17. Kajstura, J. et al., "Myocyte Turnover in the Aging Human Heart", *Circ. Res.*, Vol. 107(11), 1374-86, (2010).
- [0182] 18. de Groot, K. et al., "Vascular Endothelial Damage and Repair in Antineutrophil Cytoplasmic Antibody-Associated Vasculitis", *Arthritis and Rheumatism*, Vol. 56(11), 3847, 3847 (2007).
- [0183] 19. Manesso, E. et al., "Dynamics of β -Cell Turnover: Evidence for β -Cell Turnover and Regeneration from Sources of β -Cells other than β -cell Replication in the HIP Rat", *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, Vol. 297, E323, E324 (2009).
- [0184] 20. Kirstein, M. et al., "Receptor-specific Induction of Insulin-like Growth Factor I in Human Monocytes by Advanced Glycosylation End Product-modified Proteins", *J. Clin. Invest.*, Vol. 90, 439, 439-440 (1992).
- [0185] 21. Murphy, J. F., "Trends in cancer immunotherapy", *Clinical Medical Insights: Oncology*, Vol. 14(4), 67-80 (2010).
- [0186] 22. Virella, G. et al., "Autoimmune Response to Advanced Glycosylation End-Products of Human LDL", *Journal of Lipid Research*, Vol. 44, 487-493 (2003).
- [0187] 23. Ameli, S. et al., "Effect of Immunization With Homologous LDL and Oxidized LDL on Early Atherosclerosis in Hypercholesterolemic Rabbits", *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, Vol. 16, 1074 (1996).
- [0188] 24. "Sarcopenia", available online at en.wikipedia.org/wiki/Sarcopenia (November 14, 2014).
- [0189] 25. "What is sarcopenia?", available online at www.iofbonehealth.org/what-sarcopenia (2014).
- [0190] 26. Bland, W., "Sarcopenia with aging", available online at www.webmd.com/healthy-aging/sarcopenia-with-aging (August 3, 2014).
- [0191] 27. "Keyhole limpet hemocyanin", available online at en.wikipedia.org/wiki/Keyhole_limpet_hemocyanin (April 18, 2014).
- [0192] 28. "CML-BSA Product Data Sheet", available online at www.cellbiolabs.com/sites/default/files/STA-314-cml-bsa.pdf (2010).
- [0193] 29. "CML (N-epsilon-(Carboxymethyl)Lysine) Assays and Reagents", available online at www.cellbiolabs.com/cml-assays (Accessed on December 15, 2014).
- [0194] 30. Cruz-Jentoft, A. J. et al., "Sarcopenia: European consensus on definition and diagnosis", *Age and Ageing*, Vol. 39, pp. 412-423 (April 13, 2010).
- [0195] 31. Rolland, Y. et al., "Sarcopenia: its assessment, etiology, pathogenesis, consequences and future

perspectives", *J. Nutr. Health Aging*, Vol. 12(7), pp. 433-450 (2008).

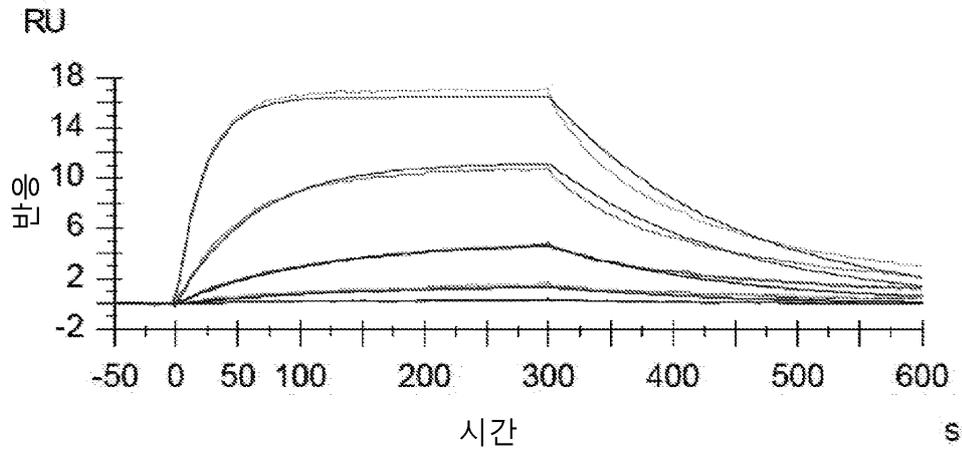
- [0196] 32. Mera, K. *et al.*, "An autoantibody against N^ε-(carboxyethyl)lysine (CEL): Possible involvement in the removal of CEL-modified proteins by macrophages", *Biochemical and Biophysical Research Communications*, Vol. 407, pp. 420-425 (March 12, 2011).
- [0197] 33. Reddy, S. *et al.*, "N^ε-(carboxymethyl)lysine is a dominant advanced glycation end product (AGE) antigen in tissue proteins", *Biochemistry*, Vol. 34, pp. 10872-10878 (August 1, 1995).
- [0198] 34. Naylor, R. M. *et al.*, "Senescent cells: a novel therapeutic target for aging and age-related diseases", *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, Vol. 93(1), pp.105-116 (December 5, 2012).
- [0199] 35. Katcher, H. L., "Studies that shed new light on aging", *Biochemistry (Moscow)*, Vol. 78(9), pp. 1061-1070 (2013).
- [0200] 36. Ahmed, E. K. *et al.*, "Protein Modification and Replicative Senescence of WI-38 Human Embryonic Fibroblasts", *Aging Cells*, Vol. 9, 252, 260 (2010).
- [0201] 37. Vlassara, H. *et al.*, "Advanced Glycosylation Endproducts on Erythrocyte Cell Surface Induce Receptor-Mediated Phagocytosis by Macrophages", *J. Exp. Med.*, Vol. 166, 539, 545 (1987).
- [0202] 38. Fielding, R. A., *et al.*, "Sarcopenia: an undiagnosed condition in older adults. Current consensus definition: prevalence, etiology, and consequences", *Journal of the American Medical Directors Association*, Vol. 12(4), pp. 249-256 (May 2011).
- [0203] 39. Maass, D. R. *et al.*, "Alpaca (*Lama pacos*) as a convenient source of recombinant camelid heavy chain antibodies (VHHs)", *Journal of Immunological Methods*, Vol. 324, No. 1-2, pp. 13-25 (July 31, 2007).
- [0204] 40. Strietzel, C.J. *et al.*, "In vitro functional characterization of feline IgGs", *Veterinary Immunology and Immunopathology*, Vol. 158, pp. 214-223 (2014).
- [0205] 41. Patel, M. *et al.*, "Sequence of the dog immunoglobulin alpha and epsilon constant region genes", *Immunogenetics*, Vol. 41, pp. 282-286 (1995).
- [0206] 42. Wagner, B. *et al.*, "The complete map of the Ig heavy chain constant gene region reveals evidence for seven IgG isotypes and for IgD in the horse", *The Journal of Immunology*, Vol. 173, pp. 3230-3242 (2004).
- [0207] 43. Hamers-Casterman, C. *et al.*, "Naturally occurring antibodies devoid of light chains", *Nature*, Vol. 363, pp. 446-448 (June 3, 1993).
- [0208] 44. De Genst, E. *et al.*, "Antibody repertoire development in camelids", *Developmental & Comparative Immunology*, Vol. 30, pp. 187-198 (available online July 11, 2005).
- [0209] 45. Griffin, L.M. *et al.*, "Analysis of heavy and light chain sequences of conventional camelid antibodies from *Camelus dromedarius* and *Camelus bactrianus* species", *Journal of Immunological Methods*, Vol. 405, pp. 35-46 (available online January 18, 2014).
- [0210] 46. Nguyen, V.K. *et al.*, "Camel heavy-chain antibodies: diverse germline V_HH and specific mechanisms enlarge the antigen-binding repertoire", *The European Molecular Biology Organization Journal*, Vol. 19, No, 5, pp. 921-930 (2000).
- [0211] 47. Muyldermans, S. *et al.*, "Sequence and structure of V_H domain from naturally occurring camel heavy chain immunoglobulins lacking light chains", *Protein Engineering*, Vol. 7, No. 9, pp. 1129-1135 (1994).
- [0212] 48. Wesolowski, J. *et al.*, "Single domain antibodies: promising experimental and therapeutic tools in infection and immunity", *Medical Microbiology and Immunology*, Vol. 198, pp. 157-174 (June 16, 2009).
- [0213] 49. Yan, S.F. *et al.*, "Soluble RAGE: therapy & biomarker in unraveling the RAGE axis in chronic

disease and aging", *Biochemical Pharmacology*, Vol. 79, No. 10, pp. 1379-1386 (May 15, 2010).

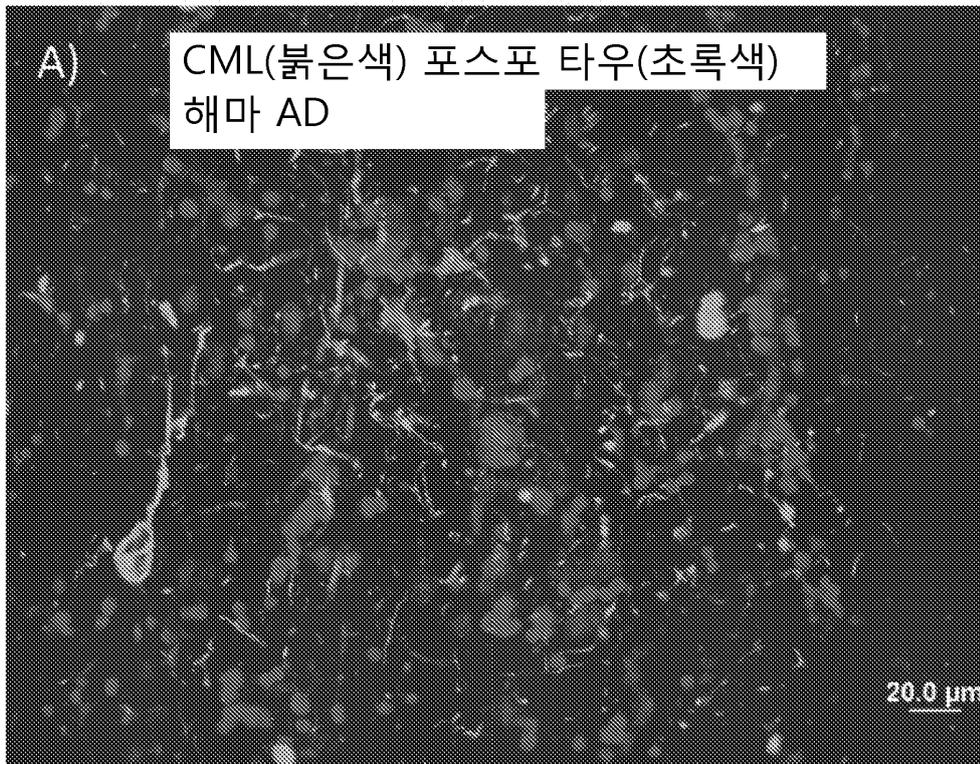
- [0214] 50. Chen, K. S. *et al.*, "Monoclonal antibody therapy for malignant glioma", *Glioma: Immunotherapeutic Approaches*, pp. 121-141 (2012).
- [0215] 51. Gao, S. H., *et al.*, "Monoclonal antibody humanness score and its applications", *BMC Biotechnology*, 13:55 (July 5, 2013).
- [0216] 52. Feige, M. J. *et al.*, "The structural analysis of shark IgNAR antibodies reveals evolutionary principles of immunoglobulins", *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, Vol. 111, No. 22, pp. 8155-8160 (June 3, 2014).
- [0217] 53. Romagosa, C. *et al.*, p16^{Ink4a} overexpression in cancer: a tumor suppressor gene associated with senescence and high-grade tumors, *Oncogene*, Vol. 30, 2087-2097 (2011).
- [0218] 54. Di, G-h. *et al.* IL-6 Secreted from Senescent Mesenchymal Stem Cells Promotes Proliferation and migration of Breast Cancer Cells, *PLOS One*, Vol. 9, 11, e113572 (2014)
- [0219] 55. Liu, D. *et al.* Senescent Human Fibroblasts Increase the Early Growth of Xenograft Tumors via Matrix Metalloproteinase Secretion, *Cancer Res*, Vol. 67, 3117-3126 (2007)
- [0220] 56. Nelson, G., A senescent cell bystander effect: senescence-induced senescence, *Aging Cell*, Vol. 11, 345-349 (2012)
- [0221] 57. Rayess, H. *et al.*, Cellular senescence and tumor suppressor gene p16, *Int J Cancer*, Vol. 130, 1715-1725 (2012)
- [0222] 58. Fu, M.-X., *et al.*, The Advanced Glycation End Product, N^E-(Carboxymehtyl)lysine, Is a Product of both Lipid Peroxidation and Glycooxidation Reactions, *J. Biol. Chem.*, Vol. 271, 9982-9986 (1996)
- [0223] 59. Matus *et al.*, Invasive Cell Fate Requires G1 Cell-Cycle arrest and Histone Deacetylase-Mediated Changes in Gene Expression, *Developmental Cell*, Vol. 35, 162-174 (2015)
- [0224] 60. Blasko, C. *et al.*, "Glial cells: astrocytes and oligodendrocytes during normal brain aging", *Encyclopedia of Neuroscience*, Academic Press, pp. 743-747 (2009)
- [0225] 61. Danysz, W. *et al.*, "Alzheimer's disease, β -amyloid, glutamate, NMDA receptors and memantine - searching for the connections", *British Journal of Pharmacology*, Vol. 167, pp. 324-352 (2012)
- [0226] 62. Garcia-Matas, S. *et al.*, "Dysfunction of astrocytes in senescence-accelerated mice SAMP8 reduces their neuroprotective capacity", *Aging Cell*, Vol. 7, pp. 630-640 (2008)
- [0227] 63. Nie, H. *et al.*, "Impaired glial glutamate uptake induces extrasynaptic glutamate spillover in the spinal sensory synapses of neuropathic rats", *Journal of Neurophysiology*, Vol. 103, pp. 2570-2580 (2010)
- [0228] 64. Leonard, B.W. *et al.*, "Subventricular zone neural progenitors from rapid brain autopsies of elderly subjects with and without neurodegenerative disease", *The Journal of Comparative Neurology*, Vol. 515, pp. 269-294 (2009)

도면

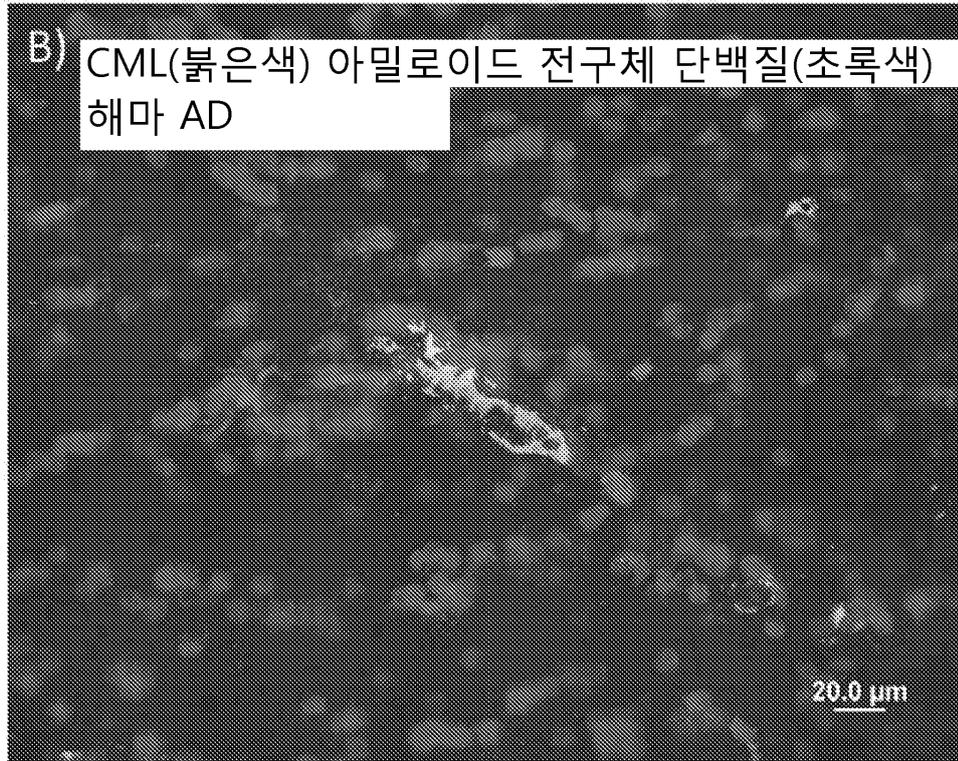
도면1



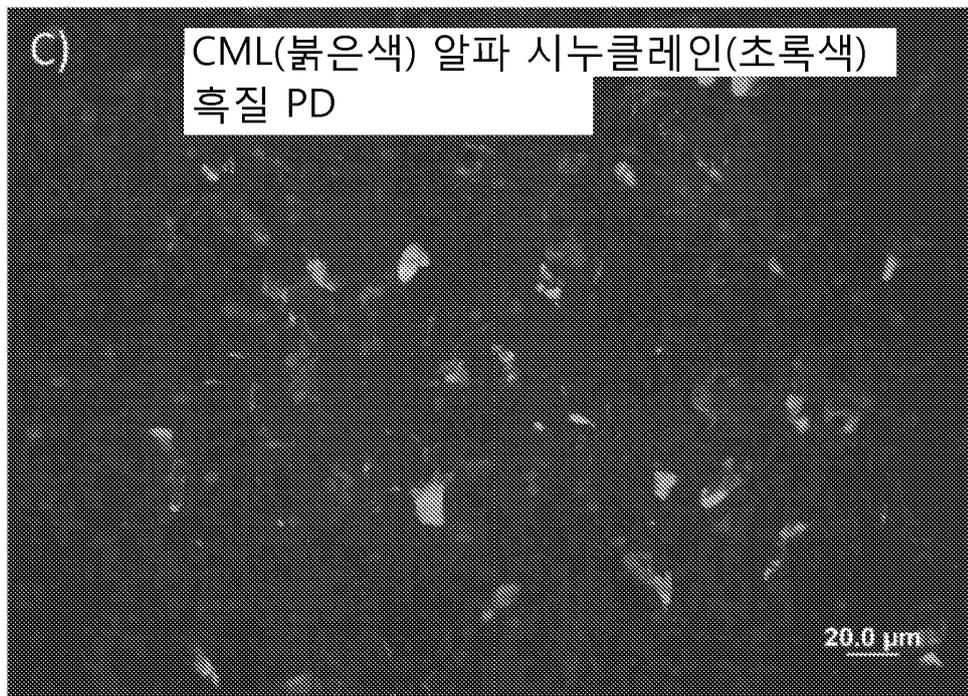
도면2a



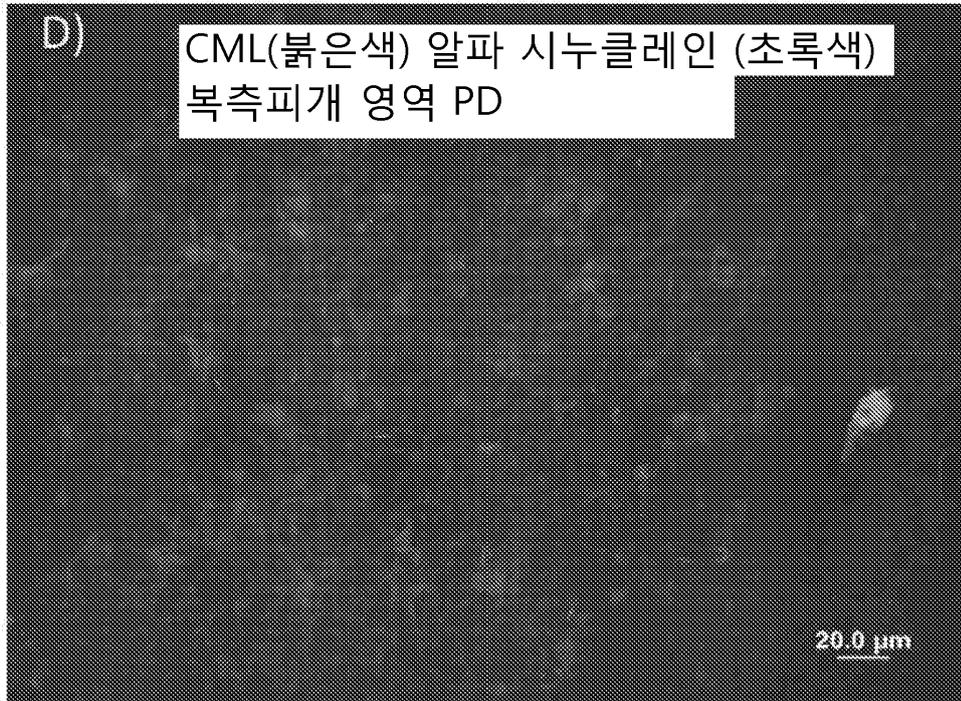
도면2b



도면2c



도면2d



서열목록

SEQUENCE LISTING

<110> Lewis S. Gruber

<120> ANTI-AGE ANTIBODIES FOR TREATING NEURODEGENERATIVE DISORDERS

<130> SIW01-011-W0

<160> 40

<210> 1

<211> 463

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Modified Homo sapiens immunoglobulin G1 heavy chain

<400> 1

Met Asn Leu Leu Leu Ile Leu Thr Phe Val Ala Ala Ala Val Ala Gln

1 5 10 15

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

 20 25 30

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

 35 40 45

Met His Trp Leu Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly
 50 55 60

Glu Ile Ser Pro Thr Asn Gly Arg Ala Tyr Tyr Asn Ala Arg Phe Lys
 65 70 75 80

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

Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Ala Ser Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 100 105 110

Arg Ala Tyr Gly Asn Tyr Glu Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 115 120 125

Val Thr Val Ser Val Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
 130 135 140

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
 145 150 155 160

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
 165 170 175

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
 180 185 190

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
 195 200 205

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
 210 215 220

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
 225 230 235 240

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
 245 250 255

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
 260 265 270

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
 275 280 285

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys

290 295 300
 Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
 305 310 315 320
 Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
 325 330 335
 Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
 340 345 350

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
 355 360 365
 Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
 370 375 380
 Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
 385 390 395 400
 Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
 405 410 415

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
 420 425 430
 Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
 435 440 445
 His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 450 455 460

<210> 2

<211> 118

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 2

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

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

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

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Val

115

<210> 3

<211> 234

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Modified Homo sapiens immunoglobulin G1 kappa light chain

<400> 3

Met Asn Leu Leu Leu Ile Leu Thr Phe Val Ala Ala Ala Val Ala Asp

1 5 10 15

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

20 25 30

Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Arg Gln Ser Leu Val Asn Ser Asn

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

His Val Pro Pro Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg

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

Arg

<210> 5

<211> 327

<212> PRT

<213> Equus caballus

<400> 5

Ala Ser Thr Thr Ala Pro Lys Val Phe Pro Leu Ala Ser His Ser Ala
 1 5 10 15

Ala Thr Ser Gly Ser Thr Val Ala Leu Gly Cys Leu Val Ser Ser 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 Ser Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 50 55 60

Leu Ser Ser Met Val Thr Val Pro Ala Ser Ser Leu Lys Ser Gln Thr
 65 70 75 80

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

85 90 95
 Lys Ile Val Ile Lys Glu Cys Asn Gly Gly Cys Pro Ala Glu Cys Leu
 100 105 110

Gln Val Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Val
 115 120 125

Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Thr Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
 130 135 140

Gly His Asp Phe Pro Asp Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val

145 150 155 160
 Glu Thr His Thr Ala Thr Thr Glu Pro Lys Gln Glu Gln Phe Asn Ser
 165 170 175

Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Ile Gln His Lys Asp Trp Leu

180 185 190
 Ser Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys Ala Leu Pro Ala
 195 200 205

Pro Val Glu Arg Thr Ile Ser Lys Pro Thr Gly Gln Pro Arg Glu Pro

210 215 220
 Gln Val Tyr Val Leu Ala Pro His Arg Asp Glu Leu Ser Lys Asn Lys
 225 230 235 240

Val Ser Val Thr Cys Leu Val Lys Asp Phe Tyr Pro Thr Asp Ile Asp
 245 250 255

Ile Glu Trp Lys Ser Asn Gly Gln Pro Glu Pro Glu Thr Lys Tyr Ser
 260 265 270

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

275 280 285
 Lys Leu Thr Val Glu Thr Asn Arg Trp Gln Gln Gly Thr Thr Phe Thr
 290 295 300

Cys Ala Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Glu Lys Ser
 305 310 315 320

Val Ser Lys Ser Pro Gly Lys
 325

<210> 6

<211> 415

<212> PRT

<213> Equus caballus

<400> 6

Ser Leu Glu Asp Thr Ala Val Ile Pro Leu Phe Ser Glu Cys Lys Ala

1 5 10 15
 Pro Lys Glu Asp Asp Val Val Ser Leu Ala Cys Leu Val Lys Gly Tyr
 20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Gln Val Thr Trp Glu Pro Glu Met Gln Asn Gln
 35 40 45

Lys Pro Trp Thr Phe Pro Ala Met Lys Lys Gly Gln Glu Tyr Ile His
 50 55 60

<213> *Canis familiaris*

<400> 8

Thr Ser Gln Asp Leu Ser Val Phe Pro Leu Ala Ser Cys Cys Lys Asp

1 5 10 15
 Asn Ile Ala Ser Thr Ser Val Thr Leu Gly Cys Leu Val Thr Gly Tyr

 20 25 30
 Leu Pro Met Ser Thr Thr Val Thr Trp Asp Thr Gly Ser Leu Asn Lys

 35 40 45
 Asn Val Thr Thr Phe Pro Thr Thr Phe His Glu Thr Tyr Gly Leu His

 50 55 60
 Ser Ile Val Ser Gln Val Thr Ala Ser Gly Lys Trp Ala Lys Gln Arg

65 70 75 80
 Phe Thr Cys Ser Val Ala His Ala Glu Ser Thr Ala Ile Asn Lys Thr

 85 90 95
 Phe Ser Ala Cys Ala Leu Asn Phe Ile Pro Pro Thr Val Lys Leu Phe

 100 105 110
 His Ser Ser Cys Asn Pro Val Gly Asp Thr His Thr Thr Ile Gln Leu

 115 120 125
 Leu Cys Leu Ile Ser Gly Tyr Val Pro Gly Asp Met Glu Val Ile Trp

 130 135 140
 Leu Val Asp Gly Gln Lys Ala Thr Asn Ile Phe Pro Tyr Thr Ala Pro

145 150 155 160
 Gly Thr Lys Glu Gly Asn Val Thr Ser Thr His Ser Glu Leu Asn Ile

 165 170 175
 Thr Gln Gly Glu Trp Val Ser Gln Lys Thr Tyr Thr Cys Gln Val Thr

 180 185 190
 Tyr Gln Gly Phe Thr Phe Lys Asp Glu Ala Arg Lys Cys Ser Glu Ser

 195 200 205
 Asp Pro Arg Gly Val Thr Ser Tyr Leu Ser Pro Pro Ser Pro Leu Asp

 210 215 220
 Leu Tyr Val His Lys Ala Pro Lys Ile Thr Cys Leu Val Val Asp Leu

225 230 235 240
 Ala Thr Met Glu Gly Met Asn Leu Thr Trp Tyr Arg Glu Ser Lys Glu
 245 250 255
 Pro Val Asn Pro Gly Pro Leu Asn Lys Lys Asp His Phe Asn Gly Thr

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

 325 330 335
 Val Thr Leu Thr Cys Leu Ile Gln Asn Phe Phe Pro Ala Asp Ile Ser
 340 345 350
 Val Gln Trp Leu Arg Asn Asp Ser Pro Ile Gln Thr Asp Gln Tyr Thr
 355 360 365
 Thr Thr Gly Pro His Lys Val Ser Gly Ser Arg Pro Ala Phe Phe Ile
 370 375 380
 Phe Ser Arg Leu Glu Val Ser Arg Val Asp Trp Glu Gln Lys Asn Lys

 385 390 395 400
 Phe Thr Cys Gln Val Val His Glu Ala Leu Ser Gly Ser Arg Ile Leu
 405 410 415
 Gln Lys Trp Val Ser Lys Thr Pro Gly Lys
 420 425

 <210> 9
 <211> 335
 <212> PRT
 <213> Felis catus
 <400> 9
 Ala Ser Thr Thr Ala Ser Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Cys Gly
 1 5 10 15

Thr Thr Ser Gly Ala Thr Val Ala Leu Ala Cys Leu Val Leu Gly 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 Ser Val Leu Gln Ala Ser Gly Leu Tyr Ser
 50 55 60
 Leu Ser Ser Met Val Thr Val Pro Ser Ser Arg Trp Leu Ser Asp Thr
 65 70 75 80
 Phe Thr Cys Asn Val Ala His Arg Pro Ser Ser Thr Lys Val Asp Lys
 85 90 95
 Thr Val Pro Lys Thr Ala Ser Thr Ile Glu Ser Lys Thr Gly Glu Gly
 100 105 110
 Pro Lys Cys Pro Val Pro Glu Ile Pro Gly Ala Pro Ser Val Phe Ile
 115 120 125
 Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Ser Ile Ser Arg Thr Pro Glu
 130 135 140
 Val Thr Cys Leu Val Val Asp Leu Gly Pro Asp Asp Ser Asn Val Gln
 145 150 155 160
 Ile Thr Trp Phe Val Asp Asn Thr Glu Met His Thr Ala Lys Thr Arg
 165 170 175
 Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
 180 185 190
 Pro Ile Leu His Gln Asp Trp Leu Lys Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys
 195 200 205
 Val Asn Ser Lys Ser Leu Pro Ser Ala Met Glu Arg Thr Ile Ser Lys
 210 215 220
 Ala Lys Gly Gln Pro His Glu Pro Gln Val Tyr Val Leu Pro Pro Thr
 225 230 235 240
 Gln Glu Glu Leu Ser Glu Asn Lys Val Ser Val Thr Cys Leu Ile Lys
 245 250 255
 Gly Phe His Pro Pro Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ile Thr Gly Gln

260 265 270
 Pro Glu Pro Glu Asn Asn Tyr Gln Thr Thr Pro Pro Gln Leu Asp Ser

275 280 285
 Asp Gly Thr Tyr Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Ser Val Asp Arg Ser His

290 295 300
 Trp Gln Arg Gly Asn Thr Tyr Thr Cys Ser Val Ser His Glu Ala Leu

305 310 315 320
 His Ser His His Thr Gln Lys Ser Leu Thr Gln Ser Pro Gly Lys

325 330 335
 <210> 10

<211> 96

<212> PRT

<213> Camelus dromedarius

<400> 10

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

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

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

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

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

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

<210> 11

<211> 96

<212> PRT

<213> Camelus dromedarius

<400> 11

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

1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr

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

 85 90 95

<210> 12

<211> 1434

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Murine anti-AGE IgG2b heavy chain

<400> 12

atggacccca agggcagcct gagctggaga atcctgctgt tcctgagcct ggccttcgag 60
 ctgagctacg gccaggtgca gctgctgcag ccaggtgccg agctcgtgaa acctggcgcc 120
 tctgtgaagc tggcctgcaa ggcttccggc tacctgttca ccactactg gatgcactgg 180
 ctgaagcaga ggccaggcca gggcctggaa tggatcggcg agatctccc caccaacggc 240
 agagcctact acaacgcccg gttcaagtcc gaggccaccc tgaccgtgga caagtcctcc 300

 aacaccgctt acatgcagct gtcctccctg acctctgagg cctccgccgt gtactactgc 360
 gccagagctt acggcaacta cgagttcgcc tactggggcc agggcacctt cgtgacagtg 420
 tctgtggcta agaccacccc tccctccgtg taccctctgg ctectggctg tggcgacacc 480
 accggatcct ctgtgacctt gggctgcctc gtgaagggtt acttcctga gtccgtgacc 540
 gtgacctgga actccggctc cctgtcctcc tccgtgcaca ccttccagc cctgctgcag 600
 tccggcctgt acaccatgtc ctccagcgtg acagtgcctt cctccacctg gccttccag 660
 accgtgacat gctctgtggc ccacctgcc tcttccacca ccgtggacaa gaagctggaa 720

 ccctccggcc ceatctccac cateaacctt tgcctcctt gcaaagaatg ccacaagtgc 780
 cctgccccca acctggaagg cggccttcc gtgttcatct tcccaccaa catcaaggac 840

gtgctgatga tctccctgac ccccaaagt acctgcgtgg tggaggacgt gtccgaggac 900
gacctgacg tgcagatcag ttggttcgtg aacaacgtgg aagtgcacac cgcccagacc 960
cagacacaca gagaggacta caacagcacc atcagagtgg tgtctaccct gcccatccag 1020
caccaggact ggatgtccgg caaagaattc aagtgcaaag tgaacaacaa ggacctgccc 1080
agccccatcg agcggaccat ctccaagatc aagggcctcg tgcgggctcc ccaggtgtac 1140

attctgcctc caccagccga gcagetgtcc cggaaggatg tgtctctgac atgtctgttc 1200
gtgggcttca accccggcga catctccgtg gaatggacct ccaacggcca caccgaggaa 1260
aactacaagg acaccgcccc tgtgtctggac tccgacggct cctacttcat ctactccaag 1320
ctgaacatga agacctcaa gtgggaaaag accgactcct tctctgcaa cgtgcggcac 1380
gagggcctga agaactacta cctgaagaaa accatctccc ggtcccccg ctag 1434

<210> 13

<211> 1416

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Chimeric anti-AGE human IgG1 antibody heavy chain

<400> 13

atggaccca agggcagcct gagctggaga atcctgctgt tctgagcct ggccttcgag 60
ctgagctacg gccaggtgca gctgtgacg ccaggtgccg agctcgtgaa acctggcgcc 120
tctgtgaagc tggcctgcaa ggcttccggc tacctgttca ccactactg gatgcactgg 180
ctgaagcaga ggccaggcca gggcctggaa tggatcggcg agatctcccc caccaacggc 240
agagcctact acaacgcccc gttcaagtcc gaggccacc tgaccgtgga caagtctcc 300
aacaccgctt acatgcagct gtctcctctg acctctgagg cctccgccgt gtactactgc 360
gccagagctt acggcaacta cgagttcgcc tactggggcc agggcaccct cgtgacagtg 420

tctgtggcta gcaccaaggg cccagcgtg ttccctctgg cccccagcag caagagcacc 480
agcggcggaa ccgccgcctt gggctgcctg gtgaaggact acttccccga gccctgacc 540
gtgtcctgga acagcggcgc tctgaccagc ggagtgcaca ccttccttgc cgtgctgacg 600
agcagcggcc tgtactcctt gacgagcgtg gtgaccgtgc ccagcagcag cctgggcacc 660
cagacctaca tctgcaactg gaaccacaag cctccaaca ccaaggtgga caagaaggtg 720
gagcctaaga gctgcgacaa gaccacacc tgcctcctt gccccgccc cgagctgctg 780
ggcggaccca gcgtgttctt gttccctccc aagcccaagg acaccctgat gatcagccgc 840

acccccgagg tgacctgctt ggtggtggac gtgagccacg aggaccccga ggtgaagttc 900

aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcac aacccaaga ccaagcctcg ggaggagcag 960
 tacaactcca cctaccgcgt ggtgagcgtg ctgaccgtgc tgcaccagga ctggctgaac 1020
 ggcaaggagt acaagtgcaa ggtgagcaac aaggccctgc ccgctcccat cgagaagacc 1080
 atcagcaagg ccaagggcca gccccgggag cctcaggtgt acaccctgcc ccccagccgc 1140
 gacgagctga ccaagaacca ggtgagcctg acctgcctgg tgaagggtt ctaccctcc 1200
 gacatcgccg tggagtggga gagcaacggc cagcctgaga acaactaaa gaccaccct 1260

cccgtgctgg acagcgacgg cagcttcttc ctgtacagca agctgaccgt ggacaagtcc 1320
 cggatggcagc agggcaacct gttcagctgc agcgtgatgc acgaggccct gcacaaccac 1380
 tacaccaga agagcctgag cctgagcccc ggatag 1416

<210> 14

<211> 720

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Murine anti-AGE Kappa light chain

<400> 14

atggagaccg acaccctgct gctctgggtg ctgctgctct gggtgccccg ctccaccgga 60
 gacgtcgtga tgaccagac ccctctgtcc ctgctgtgt ctctgggcga ccaggcctcc 120
 atctctgcc ggictagaca gtcctctgtg aactccaacg gcaacacctt cctgcagtgg 180

tatctgcaga agccccgcca gtcccccaag ctgctgatct acaaggtgtc cctgcggttc 240
 tccggcgtgc ccgacagatt ttccggctct ggctctggca ccgacttcac cctgaagatc 300
 tccccgggtg aagccgagga cctgggcctg tacttctgca gccagtccac ccacgtgccc 360
 cctacatttg gcggaggcac caagctggaa atcaaacggg cagatgctgc accaactgta 420
 tccatcttc caccatccag tgagcagtta acatctggag gtgcctcagt cgtgtgcttc 480
 ttgaacaact tctacccaa agacatcaat gtcaagtga agattgatgg cagtgaacga 540
 caaatggcg tctgaacag ttggactgat caggacagca aagacagcac ctacagcatg 600

agcagcacc tcacgttgac caaggacgag tatgaacgac ataacagcta tacctgtgag 660
 gccactcaca agacatcaac ttcaccatt gtcaagagct tcaacaggaa tgagtgttga 720

<210> 15

<211> 720

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Chimeric anti-AGE human kappa light chain

<400> 15

```

atggagaccg acacctgct gctctgggtg ctgctgctct gggtgcccgg ctccaccgga    60
gacgtcgtga tgaccagac cctctgttcc ctgctgtgt ctctgggcga ccaggcctcc    120
atctctgcc ggictagaca gtccctcgtg aactccaacg gcaacacctt cctgcagtgg    180
tatctgcaga agcccggcca gtccccaag ctgctgatct acaaggtgtc cctgcggttc    240

tccggcgtgc cgcacagatt ttccggctct ggctctggca ccgacttcac cctgaagatc    300
tcccgggtgg aagccgagga cctgggcctg tacttctgca gccagtccac ccacgtgccc    360
cctacatttg gcgaggcac caagctgga atcaagcga ccgtggccgc ccccagcgtg    420
ttcatcttcc ctcccagca cgagcagctg aagtctggca ccgccagcgt ggtgtgcctg    480
ctgaacaact tctacccccg cgaggccaag gtgcagtgga aggtggacaa ggcctgcag    540
agcggcaaca gccaggagag cgtgaccgag caggactcca aggacagcac ctacagcctg    600
agcagcacc tgaccctgag caaggccgac tacgagaagc acaaggtgta gcctgcgag    660

gtgaccacc aggactgtc tagccccgtg accaagagct tcaaccgggg cgagtgctaa    720

```

<210> 16

<211> 477

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Murine anti-AGE IgG2b heavy chain

<400> 16

```

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

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

```

Asp Lys Ser Ser Asn Thr Ala Tyr Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser
 100 105 110
 Glu Ala Ser Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ala Tyr Gly Asn Tyr Glu
 115 120 125
 Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Val Ala Lys
 130 135 140
 Thr Thr Pro Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala Pro Gly Cys Gly Asp Thr
 145 150 155 160
 Thr Gly Ser Ser Val Thr Leu Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr Phe Pro
 165 170 175
 Glu Ser Val Thr Val Thr Trp Asn Ser Gly Ser Leu Ser Ser Ser Val
 180 185 190
 His Thr Phe Pro Ala Leu Leu Gln Ser Gly Leu Tyr Thr Met Ser Ser
 195 200 205
 Ser Val Thr Val Pro Ser Ser Thr Trp Pro Ser Gln Thr Val Thr Cys
 210 215 220
 Ser Val Ala His Pro Ala Ser Ser Thr Thr Val Asp Lys Lys Leu Glu
 225 230 235 240
 Pro Ser Gly Pro Ile Ser Thr Ile Asn Pro Cys Pro Pro Cys Lys Glu
 245 250 255
 Cys His Lys Cys Pro Ala Pro Asn Leu Glu Gly Gly Pro Ser Val Phe
 260 265 270
 Ile Phe Pro Pro Asn Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Leu Thr Pro
 275 280 285
 Lys Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro Asp Val
 290 295 300
 Gln Ile Ser Trp Phe Val Asn Asn Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr
 305 310 315 320
 Gln Thr His Arg Glu Asp Tyr Asn Ser Thr Ile Arg Val Val Ser Thr
 325 330 335
 Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe Lys Cys

340 345 350
 Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu Pro Ser Pro Ile Glu Arg Thr Ile Ser

355 360 365
 Lys Ile Lys Gly Leu Val Arg Ala Pro Gln Val Tyr Ile Leu Pro Pro
 370 375 380

Pro Ala Glu Gln Leu Ser Arg Lys Asp Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
 385 390 395 400

Val Gly Phe Asn Pro Gly Asp Ile Ser Val Glu Trp Thr Ser Asn Gly
 405 410 415

His Thr Glu Glu Asn Tyr Lys Asp Thr Ala Pro Val Leu Asp Ser Asp

420 425 430
 Gly Ser Tyr Phe Ile Tyr Ser Lys Leu Asn Met Lys Thr Ser Lys Trp

435 440 445

Glu Lys Thr Asp Ser Phe Ser Cys Asn Val Arg His Glu Gly Leu Lys
 450 455 460

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

465 470 475

<210> 17

<211> 471

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223

> Chimeric anti-AGE human IgG1 heavy chain

<400> 17

Met Asp Pro Lys Gly Ser Leu Ser Trp Arg Ile Leu Leu Phe Leu Ser
 1 5 10 15

Leu Ala Phe Glu Leu Ser Tyr Gly Gln Val Gln Leu Leu Gln Pro Gly
 20 25 30

Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Leu Ala Cys Lys Ala
 35 40 45

Ser Gly Tyr Leu Phe Thr Thr Tyr Trp Met His Trp Leu Lys Gln Arg

50

55

60

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

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

 435 440 445
 Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
 450 455 460
 Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 465 470
 <210> 18
 <211> 239
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Murine anti-AGE kappa light chain
 <400> 18
 Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
 1 5 10 15

 Gly Ser Thr Gly Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro
 20 25 30
 Val Ser Leu Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Arg Gln Ser

1 5 10 15

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

 Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
 85 90 95
 Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Leu Tyr Phe
 100 105 110
 Cys Ser Gln Ser Thr His Val Pro Pro Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys
 115 120 125
 Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro
 130 135 140

 Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu
 145 150 155 160
 Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp
 165 170 175
 Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp
 180 185 190
 Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys
 195 200 205

 Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln
 210 215 220
 Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 225 230 235
 <210> 20
 <211> 118

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Murine anti-AGE IgG2b heavy chain (variable region)

<400> 20

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

1 5 10 15

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

 20 25 30

Trp Met His Trp Leu Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile

 35 40 45

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

 50 55 60

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

65 70 75 80

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

 85 90 95

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

 100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Val

 115

<210> 21

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Murine anti-AGE kappa light chain (variable region)

<400> 21

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

1 5 10 15

Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Arg Gln Ser Leu Val Asn Ser

 20 25 30

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

 35 40 45

Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Leu Arg Phe Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Leu Tyr Phe Cys Ser Gln Ser
 85 90 95
 Thr His Val Pro Pro Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110
 <210> 22
 <211> 326
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Human constant region
 <400> 22
 Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
 1 5 10 15
 Ser Thr Ser Glu Ser 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 Asn Phe Gly Thr Gln Thr
 65 70 75 80
 Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 85 90 95
 Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
 100 105 110
 Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
 115 120 125
 Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp

1 5
 <210> 24
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence
 <220><223> CDR2H (heavy chain)
 <400> 24
 Thr Ile Ser Ser Gly Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser Val Lys

1 5 10 15
 Gly

<210> 25
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence
 <220><223> CDR3H (heavy chain)

<220><221> misc_feature
 <222> (10)..(10)
 <223> Xaa can be any naturally occurring amino acid
 <400> 25

Gln Gly Gly Trp Leu Pro Pro Phe Ala Xaa
 1 5 10

<210> 26
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence
 <220><223> CDR1L (light chain)
 <400> 26

Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser Ser Arg Gly Tyr Ser Tyr Met
 1 5 10 15

His

<210> 27
 <211> 7

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> CDR2L (light chain)

<400> 27

Leu Val Ser Asn Leu Glu Ser

1 5

<210> 28

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> CDR3L (light chain)

<400> 28

Gln His Ile Arg Glu Leu Thr Arg Ser

1 5

<210> 29

<211> 468

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Humanized heavy chain

<400> 29

Met Asp Pro Lys Gly Ser Leu Ser Trp Arg Ile Leu Leu Phe Leu Ser

1 5 10 15

Leu Ala Phe Glu Leu Ser Tyr Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly

 20 25 30

Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala

 35 40 45

Ser Gly Tyr Leu Phe Thr Thr Tyr Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala

 50 55 60

Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Glu Ile Ser Pro Thr Asn Gly

65 70 75 80

Arg Ala Tyr Tyr Asn Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Val

 85 90 95

Asp Lys Ser Thr Asn Thr Val Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser
 100 105 110
 Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ala Tyr Gly Asn Tyr Phe
 115 120 125
 Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr
 130 135 140

 Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser
 145 150 155 160
 Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu
 165 170 175
 Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His
 180 185 190
 Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser
 195 200 205

 Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys
 210 215 220
 Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu
 225 230 235 240
 Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Pro Glu
 245 250 255
 Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
 260 265 270

 Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
 275 280 285
 Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
 290 295 300
 Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
 305 310 315 320
 Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
 325 330 335

 Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro

cctggaacag cggcgctctg accagcggag tgcacacctt ccctgccgtg ctgcagagca 600
 cggcgctgta ctccctgagc agcgtgggtga ccgtgccagc agcagcctgg gcacccagac 660
 ctacatctgc aacgtgaacc acaagccctc caacaccaag gtggacaaga aggtggagcc 720

taagagctgc gacaagacc acacctgccc tcctgcccc gccccgagct gctgggcgga 780
 cccagcgtgt tctgtttccc tccaagccc aaggacaccc tgatgatcag ccgcaccccc 840
 gaggtgacct gcgtgggtgt ggacgtgagc cagcaggacc ccgaggtgag ttcaactggt 900
 acgtggacgg cgtggaggtg cacaacgcca agaccaagcc tcgggaggag cagtacaact 960
 ccacctaccg cgtggtgagc gtgctgaccg tgctgcacca ggactggctg aacggcagga 1020
 gtacaagtgc aaggtgagca acaaggccct gcccgctccc atcgagaaga ccatcagcaa 1080
 ggccaagggc cagccccggg agcctcaggt gtacacctg cccccagcc gcgacgagct 1140

gacaagaacc aggtgagcct gacctgcctg gtgaagggt tctaccctc cgacatcgcc 1200
 gtggagtggg agagcaacgg ccagcctgag aacaactaca agaccacccc tcccgtgctg 1260
 gacagcgacg cagcttcttc ctgtacagca agctgaccgt ggacaagtcc cgggtgcagc 1320
 agggcaacgt gttcagctgc agcgtgatgc acgaggecct gcacaaccac tacaccaga 1380
 agagcctgag cctgagcccc gatagtaa 1408

<210> 31

<211> 468

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Humanized heavy chain

<400> 31

Met Asp Pro Lys Gly Ser Leu Ser Trp Arg Ile Leu Leu Phe Leu Ser

1 5 10 15
 Leu Ala Phe Glu Leu Ser Tyr Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly

 20 25 30
 Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala

 35 40 45
 Ser Gly Tyr Leu Phe Thr Thr Tyr Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala

 50 55 60
 Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Glu Ile Ser Pro Thr Asn Gly

65 70 75 80

tctgctagca ccaagggccc cagcgtgttc cctctggccc ccagcagcaa ggcaccagc 480
 ggcggaaccg ccgacctggg ctgcctggga aggactactt ccccgagccc gtgacctgt 540
 cctggaacag cggcgtctg accagcggag tgcacacctt ccctgccgtg ctgcagagca 600
 gcggcctgta ctccctgagc agcgtgggta ccgtgccagc agcagcctgg gcacccagac 660

ctacatctgc aacgtgaacc acaagccctc caacaccaag gtggacaaga aggtggagcc 720
 taagagctgc gacaagacc acacctgccc tcctgcccc gcccgagct getgggcgga 780
 cccagcgtgt tcctgttccc tccaagccc aaggacacc tgatgatcag ccgcaccccc 840
 gaggtgacct gcgtgggtgt ggacgtgagc cagcaggacc ccgaggtgag ttcaactggt 900
 acgtggacgg cgtggagggtg cacaacgcca agaccaagcc tcgggaggag cagtacaact 960
 ccacctaccg cgtgggtgagc gtgctgaccg tgctgcacca ggactggctg aacggcagga 1020
 gtacaagtgc aaggtgagca acaaggccct gcccgctccc atcgagaaga ccatcagcaa 1080

ggccaagggc cagccccggg agcctcaggt gtacaccctg cccccagcc gcgacgagct 1140
 gacaagaacc aggtgagcct gacctgcctg gtgaagggt tctaccctc cgacatcgcc 1200
 gtggagtggg agagcaacgg ccagcctgag aacaactaca agaccacccc tcccgtgctg 1260
 gacagcgacg cagcttcttc ctgtacagca agctgaccgt ggacaagtcc cgggtggcagc 1320
 agggcaacgt gttcagctgc agcgtgatgc acgagccct gcacaaccac tacaccaga 1380
 agagcctgag cctgagcccc gatagtaa 1408

<210> 33

<211> 468

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Humanized heavy chain

<400> 33

Met Asp Pro Lys Gly Ser Leu Ser Trp Arg Ile Leu Leu Phe Leu Ser

1 5 10 15

Leu Ala Phe Glu Leu Ser Tyr Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly

20 25 30

Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala

35 40 45

Ser Gly Tyr Leu Phe Thr Thr Tyr Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala

50

55

60

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

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

435 440 445
 Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
 450 455 460
 Leu Ser Pro Gly

465

<210> 34

<211> 1408

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Humanized heavy chain

<400> 34

atggaccca agggcagcct gagctggaga atcctgetgt tctgagcct ggccttcgag 60
 ctgagctacg gccaggtgca gctggtgcag tctggcgccg aagtgaagaa acctggcgcc 120
 tccgtgaggt gtctgcaag gcttccgct acctgttcac cacctactgg atgcactggg 180

tgcgacaggc ccctggacag ggcctggaat ggatggcgga gatctcccct accaacggca 240
 ggcctacta caacaaaat tccagggcag agtgaccatg accgtggaca agtccatcaa 300

caccgcttac atggaactgt ccagactgcg gagcgatgac accgccgtgt actactgcg 360
 tagagcctac ggcaactacg attcgcttac tggggccagg gcaccctcgt gacagtgtcc 420
 tctgctagca ccaagggccc cagcgtgttc cctctggccc ccagcagcaa gagcaccagc 480
 ggcggaaccg ccgccctggg ctgcctggga aggactactt ccccagagccc gtgaccgtgt 540
 cctggaacag cggcgctctg accagcggag tgcacacctt ccctgccgtg ctgcagagca 600

gcggcctgta ctccctgagc agcgtggtga ccgtgccagc agcagcctgg gcaccagac 660
 ctacatctgc aacgtgaacc acaagccctc caacaccaag gtggacaaga aggtggagcc 720
 taagagtgc gacaagacc acacctgccc tcctgcccc gccccgagct gctgggcgga 780
 cccagcgtgt tctgttccc tcccagccc aaggacacc tgatgatcag ccgaccccc 840
 gaggtgacct gcgtggtggt ggacgtgagc cagcaggacc ccgaggtgag ttcaactggt 900
 acgtggacgg cgtggagggt cacaacgcca agaccaagcc tcgggaggag cagtacaact 960
 ccacctaccg cgtggtgagc gtgctgaccg tgctgcacca ggactggctg aacggcagga 1020

gtacaagtgc aagtgagca acaaggccct gcccgctccc atcgagaaga ccatcagcaa 1080
 ggccaagggc cagccccggg agcctcaggt gtacacctg cccccagcc gcgacgagct 1140
 gacaagaacc aggtgagcct gacctgcctg gtgaagggt tctaccctc cgacatgcc 1200
 gtggagtggg agagcaacgg ccagcctgag aacaactaca agaccacccc tcccgtgctg 1260
 gacagcgagc cagcttcttc ctgtacagca agctgaccgt ggacaagtcc cgggtgacgc 1320
 agggcaacgt gttcagctgc agcgtgatgc acgaggccct gcacaaccac tacaccaga 1380
 agagcctgag cctgagcccc gatagtaa 1408

<210> 35

<211> 238

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Humanized light chain

<400> 35

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro

1 5 10 15

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

20 25 30

Val Thr Leu Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser

35 40 45

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

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

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

<210> 36

<211> 715

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Humanized light chain

<400> 36

atggagaccg acaccctgct gctctgggtg ctgctgctct ggggtcccg cccaccgga 60

gacgtcgtga tgaccagtc ccctctgtcc ctgctgtga ccctgggaca gctgcctcc 120

atctctcag atctcccag tccctcgtga actccaacgg caacaccttc ctgcagtgg 180
 atcagcagcg gcctggccag agccccagac tgctgatcta caaggtgtcc ctgcggttct 240
 ccggcgtgcc cgacgatttt ccggetctgg ctctggcacc gacttcaccc tgaagatctc 300
 ccgggtggaa gccgaggacg tgggcgtgia ctactgctcc cagagcaccc acgtgcccc 360

tacatttggc ggaggcacca agtggaaatc aagcggaccg tggccgcccc cagcgtgttc 420
 atcttcctc ccagcgacga gcagetgaag tctggcaccg ccagcgtggg gtgcctgctg 480
 aacaacttct accccccgca ggccaagggc agtggaaagt ggacaacgcc ctgcagagcg 540
 gcaacagcca ggagagcgtg accgagcagg actccaagga cagcacctac agcctgagca 600
 gcacctgac cctgagcaag gccgactacg agaagacaag gtgtacgcct gcgaggtgac 660
 ccaccagga ctgtctagcc ccgtgaccaa gagcttcaac cggggcgagt gctaa 715

<210> 37

<211> 238

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Humanized light chain

<400> 37

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro

1 5 10 15

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

20 25 30

Val Thr Leu Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Arg Gln Ser

35 40 45

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

50 55 60

Pro Gly Gln Ser Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Leu Arg Phe

65 70 75 80

Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe

85 90 95

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

100 105 110

Cys Ser Gln Ser Thr His Val Pro Pro Thr Phe Gly Gly Gly Thr Val

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

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

<210> 38

<211> 715

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Humanized light chain

<400> 38

atggagaccg acaccctgct gctctgggtg ctgctgctct gggtgccccg ctccaccgga 60
 gacgtcgtga tgaccagtc ccctctgtcc ctgcctgtga ccctgggaca gctgctctcc 120
 atctcctcag atccaggcag tcctctgtga actccaacgg caacaccttc ctgcagtgg 180
 atcagcagcg gctggccag agccccagac tctgatcta caaggtgtcc ctgcggttct 240
 ccggcgtgcc cgacgatttt ccggctctgg ctctggcacc gacttcaccc tgaagatctc 300
 ccgggtggaa gccgaggacg tggcgtgta ctactgctcc cagagcacc acgtgcccc 360
 tacatttggc ggaggcacca agtggaaatc aagcggaccg tggccgcccc cagcgtgttc 420

 atcttcctc ccagcgacga gcagctgaag tctggcaccg ccagcgtggt gtgcctgctg 480
 aacaacttct acccccgcga ggccaaggc agtggagggt ggacaacgcc ctgcagagcg 540
 gcaacagcca ggagagcgtg accgagcagg actccaagga cagcacctac agcctgagca 600
 gcacctgac cctgagcaag gccgactac agaagacaag gtgtacgcct gcgaggtgac 660

ccaccagga ctgtctagcc ccgtgaccaa gagcttcaac cggggcgagt gctaa

715

<210> 39

<211> 238

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Humanized light chain

<400> 39

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro

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

 20 25 30
Val Thr Leu Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser

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

 50 55 60
Pro Gly Gln Pro Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Leu Arg Phe

65 70 75 80
Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ala Gly Lys Asp Phe

 85 90 95
Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr

 100 105 110
Cys Ser Gln Ser Thr His Val Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Leu

 115 120 125
Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro

 130 135 140
Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu

145 150 155 160
Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn

 165 170 175
Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser

 180 185 190

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

195 200 205

Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly

210 215 220

Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

225 230 235

<210> 40

<211> 715

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Humanized light chain

<400> 40

atggagaccg acaccctgct gctctgggtg ctgctgctct gggtgcccg ctccaccgga 60

gacgtcgtga tgaccagtc ccctctgtcc agtctgtga ccctgggaca gectgcctcc 120

atctctcag atctcccag tcctctgta actccaacgg caacacctc ctgcagtgg 180

atcaccagcg gctggccag cctcccagac tgtgatcta caaggtgtcc ctgcggttct 240

ccggcgtgcc cgacgatttt ccgctctgg cgtggcaag gacttcacc tgaagatctc 300

ccgggtggaa gccgaggacg tgggcgtgta ctactgtcc cagagcacc acgtgcccc 360

tacatttggc cagggcacca actggaatc aagcggacc tggccgccc cagcgtgttc 420

atcttcctc ccagcgacga gcagctgaag tctggcaccg ccagcgtgggt gtgcctgctg 480

aacaacttct accccgcga ggccaagggc agtgggaaggt ggacaacgcc ctgcagagcg 540

gcaacagcca ggagagcgtg accgagcagg actccaagga cagcacctac agcctgagca 600

gcacctgac cctgagcaag gccgactac agaagacaag gtgtacgcct gcgaggtgac 660

ccaccagga ctgtctagcc ccgtgaccaa gagcttcaac cggggcgagt gctaa 715