



**(19) 대한민국특허청(KR)**  
**(12) 공개특허공보(A)**

(11) 공개번호 10-2018-0042423  
(43) 공개일자 2018년04월25일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
C07K 16/28 (2006.01) G01N 33/535 (2006.01)  
G01N 33/574 (2006.01)
- (52) CPC특허분류  
C07K 16/2896 (2013.01)  
G01N 33/535 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2018-7008906
- (22) 출원일자(국제) 2016년08월26일  
심사청구일자 없음
- (85) 번역문제출일자 2018년03월28일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2016/048887
- (87) 국제공개번호 WO 2017/040247  
국제공개일자 2017년03월09일
- (30) 우선권주장  
62/211,455 2015년08월28일 미국(US)  
62/212,183 2015년08월31일 미국(US)

- (71) 출원인  
데비오팜 인터네셔널 에스 에이  
스위스 로잔느 1002, 까세 포스탈르 5911, 슈맹  
메시도르 5-7, 포럼 아프레-드망
- (72) 발명자  
데커트 주타  
미국 02420 매사추세츠주 렉싱턴 이튼 로드 16  
타바레스 다니엘  
미국 01760 매사추세츠주 네이틱 실베스터 로드  
27  
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인  
특허법인코리아나

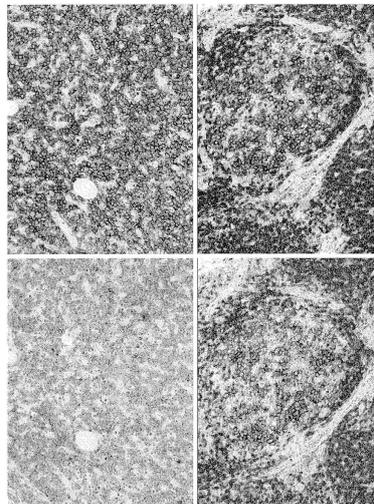
전체 청구항 수 : 총 83 항

(54) 발명의 명칭 CD37 의 검출을 위한 항체 및 검정

**(57) 요약**

본 발명은 일반적으로 인간 CD37 에 결합하는 항체 및 CD37-기반 치료법을 위한 진단 검정에 관한 것이다.

**대표도** - 도7



(52) CPC특허분류

**G01N 33/574** (2013.01)  
*C07K 2317/24* (2013.01)  
*C07K 2317/54* (2013.01)  
*C07K 2317/92* (2013.01)  
*G01N 2333/70596* (2013.01)

(72) 발명자

**뤼 링윤**

미국 02493 매사추세츠주 웨스턴 애로우헤드 로드  
11

**뤼브리히 슈펜**

미국 02453 매사추세츠주 월섬 프렌드 스트리트 20

---

**켈리 매건**

미국 01803 매사추세츠주 벌링턴 퓨리티 스프링스  
로드 37

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

SEQ ID NO:9 의 폴리펩티드 및 SEQ ID NO:10 의 폴리펩티드를 포함하는 항체와 동일한 CD37 에피토프에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

#### 청구항 2

CD37 에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편으로서, 상기 항체 또는 이의 단편이 SEQ ID NO:9 의 폴리펩티드 및 SEQ ID NO:10 의 폴리펩티드를 포함하는 항체의 CD37 에 대한 결합을 경쟁적으로 억제하는, 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

#### 청구항 3

제 1 항 또는 제 2 항에 있어서, 항체 또는 이의 단편이 SEQ ID NO: 3-5 의 중쇄 가변 영역 (VH) CDR1, CDR2, 및 CDR3 서열, 각각, 및 SEQ ID NO: 6-8 의 경쇄 가변 영역 (VL) CDR1, CDR2, 및 CDR3 서열, 각각을 포함하는, 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

#### 청구항 4

CD37 에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편으로서, 상기 항체 또는 이의 단편이 SEQ ID NO: 3-5 의 VH CDR1, CDR2, 및 CDR3 서열 및 SEQ ID NO: 6-8 의 VL CDR1, CDR2, 및 CDR3 서열, 각각을 포함하는, 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

#### 청구항 5

제 1 항 내지 제 4 항 중 어느 한 항에 있어서, 항체 또는 이의 단편이 SEQ ID NO:9 및 10 의 폴리펩티드 서열에 대해 적어도 90% 일치하는 폴리펩티드 서열을 포함하는, 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

#### 청구항 6

제 5 항에 있어서, 폴리펩티드 서열이 SEQ ID NO:9 및 10 의 폴리펩티드 서열에 대해 적어도 95% 일치하는, 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

#### 청구항 7

제 6 항에 있어서, 폴리펩티드 서열이 SEQ ID NO:9 및 10 의 폴리펩티드 서열에 대해 적어도 99% 일치하는, 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

#### 청구항 8

제 7 항에 있어서, 항체 또는 이의 단편이 SEQ ID NO:9 및 10 의 서열의 아미노산을 포함하는 폴리펩티드 서열을 포함하는, 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

#### 청구항 9

CD37 에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편으로서, 항체 또는 이의 단편이 SEQ ID NO:9 를 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함하는, 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

#### 청구항 10

CD37 에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편으로서, 항체 또는 이의 단편이 SEQ ID NO:10 을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함하는, 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

#### 청구항 11

제 1 항 내지 제 10 항 중 어느 한 항에 있어서, 항체가 재조합적으로 생성되는, 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

**청구항 12**

제 1 항 내지 제 11 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 쥐과, 비-인간, 인간화, 키메라 또는 인간인, 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

**청구항 13**

제 12 항에 있어서, 상기 인간화 항체가 재표면화된, 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

**청구항 14**

제 1 항 내지 제 13 항 중 어느 한 항에 있어서, 전체 길이 항체인, 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

**청구항 15**

제 1 항 내지 제 13 항 중 어느 한 항에 있어서, 항원-결합 단편인, 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

**청구항 16**

제 15 항에 있어서, 상기 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 Fab, Fab', F(ab')<sub>2</sub>, Fd, 단일 사슬 Fv 또는 scFv, 디설파이드 연결된 Fv, V-NAR 도메인, IgNar, 인트라바디, IgGΔCH<sub>2</sub>, 미니바디, F(ab')<sub>3</sub>, 테트라바디, 트리아바디, 디아바디, 단일-도메인 항체, DVD-Ig, Fcab, mAb<sub>2</sub>, (scFv)<sub>2</sub>, 또는 scFv-Fc 를 포함하는, 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

**청구항 17**

제 15 항에 있어서, 상기 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 Fab, Fab', F(ab')<sub>2</sub>, 단일 사슬 Fv 또는 scFv, 디설파이드 연결된 Fv, 인트라바디, IgGΔCH<sub>2</sub>, 미니바디, F(ab')<sub>3</sub>, 테트라바디, 트리아바디, 디아바디, DVD-Ig, mAb<sub>2</sub>, (scFv)<sub>2</sub>, 또는 scFv-Fc 를 포함하는, 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

**청구항 18**

제 1 항 내지 제 17 항 중 어느 한 항에 있어서, 인간 CD37 에 약 0.5 내지 약 10 nM 의 K<sub>d</sub> 로 결합하는, 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

**청구항 19**

제 1 항 내지 제 17 항 중 어느 한 항에 있어서, 약 1.0 nM 이상의 K<sub>d</sub> 로 인간 CD37 에 결합하는, 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

**청구항 20**

제 2 항 내지 제 19 항 중 어느 한 항에 있어서, CD37 의 아미노산 107-242 를 포함하는 폴리펩티드 (SEQ ID NO:20) 에 결합하는, 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

**청구항 21**

제 2 항 내지 제 20 항 중 어느 한 항에 있어서, CD37 의 아미노산 107-235 를 포함하는 폴리펩티드 (SEQ ID NO:19) 에 결합하는, 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

**청구항 22**

제 2 항 내지 제 21 항 중 어느 한 항에 있어서, SEQ ID NO:15 에 언급된 서열에 결합하는, 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

**청구항 23**

제 2 항 내지 제 22 항 중 어느 한 항에 있어서, SEQ ID NO:16 에 언급된 서열에 결합하는, 항체 또는 이의 항

원-결합 단편.

**청구항 24**

제 2 항 내지 제 23 항 중 어느 한 항에 있어서, SEQ ID NO:17 에 언급된 서열에 결합하는, 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

**청구항 25**

제 2 항 내지 제 24 항 중 어느 한 항에 있어서, CD37 의 아미노산 107-242 를 포함하는 폴리펩티드 (SEQ ID NO:20) 에 결합하나, CD37 의 아미노산 138-235 로 이루어지는 폴리펩티드에 결합하지 않는, 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

**청구항 26**

제 2 항 내지 제 25 항 중 어느 한 항에 있어서, CD37 의 아미노산 107-235 를 포함하는 폴리펩티드 (SEQ ID NO:19) 에 결합하나, CD37 의 아미노산 138-235 로 이루어지는 폴리펩티드에 결합하지 않는, 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

**청구항 27**

제 2 항 내지 제 26 항 중 어느 한 항에 있어서, SEQ ID NO:15 의 폴리펩티드에 결합하나, SEQ ID NO:18 의 폴리펩티드에 결합하지 않는, 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

**청구항 28**

제 2 항 내지 제 27 항 중 어느 한 항에 있어서, SEQ ID NO:16 의 폴리펩티드에 결합하나, SEQ ID NO:18 의 폴리펩티드에 결합하지 않는, 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

**청구항 29**

제 2 항 내지 제 28 항 중 어느 한 항에 있어서, SEQ ID NO:17 의 폴리펩티드에 결합하나, SEQ ID NO:18 의 폴리펩티드에 결합하지 않는, 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

**청구항 30**

제 2 항 내지 제 29 항 중 어느 한 항에 있어서, CD37 의 아미노산 110-137 중의 적어도 하나의 아미노산에 결합하는, 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

**청구항 31**

제 18 항 내지 제 30 항 중 어느 한 항에 있어서, 결합 친화도가 유동세포분석, Biacore, ELISA, 또는 방사면역 측정법에 의해 측정되는, 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

**청구항 32**

제 1 항 내지 제 31 항 중 어느 한 항에 있어서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 검출가능하게 표지되는, 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

**청구항 33**

제 1 항 내지 제 32 항 중 어느 한 항의 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 생성하는 세포.

**청구항 34**

제 33 항에 있어서, 세포가 단리되는 세포.

**청구항 35**

(a) 제 33 항 또는 제 34 항의 세포를 배양하는 단계; 및 (b) 상기 배양된 세포로부터 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 단리하는 단계를 포함하는, 제 1 항 내지 제 32 항 중 어느 한 항의 항체 또는 이의 항원-결합 단편

의 제조 방법.

**청구항 36**

제 1 항 내지 제 32 항 중 어느 한 항의 항체 또는 이의 항원-결합 단편 및 IHC 완충액, ELISA 완충액, 및 FACS 완충액으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 완충액을 포함하는 조성물.

**청구항 37**

제 1 항 내지 제 32 항 중 어느 한 항의 항체 또는 이의 항원-결합 단편 또는 제 36 항의 조성물을 샘플과 접촉시키는 단계를 포함하는, 샘플에서의 CD37 발현의 검출 방법.

**청구항 38**

제 37 항에 있어서, 상기 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 검출가능하게 표지된, 샘플에서의 CD37 발현의 검출 방법.

**청구항 39**

제 38 항에 있어서, 상기 표지가 면역형광 표지, 화학발광 표지, 인광 표지, 효소 표지, 방사능표지, 아비딘/비오틴, 콜로이드 금 입자, 착색 입자 및 자석 입자로 이루어지는 군으로부터 선택되는, 샘플에서의 CD37 발현의 검출 방법.

**청구항 40**

제 39 항에 있어서, 상기 표지가 효소 표지인, 샘플에서의 CD37 발현의 검출 방법.

**청구항 41**

제 37 항 내지 제 40 항 중 어느 한 항에 있어서, CD37 발현이 방사면역측정법, 웨스턴 블롯 검정, 세포분석법, 면역형광 검정, 효소 면역검정, 면역침전 검정, 화학발광 검정, 또는 면역조직화학적 검정에 의해 측정되는, 샘플에서의 CD37 발현의 검출 방법.

**청구항 42**

제 41 항에 있어서, CD37 발현이 면역조직화학 (IHC) 검정에 의해 측정되는, 샘플에서의 CD37 발현의 검출 방법.

**청구항 43**

항-CD37 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 포함하는 치료적 활성제로의 암 치료법 효능을 증가시키는 방법으로서, 상기 방법이 치료적 활성제를 암을 가진 대상에게 투여하고, CD37 의 증가된 발현이 제 1 항 내지 제 32 항 중 어느 한 항의 항체 또는 이의 항원-결합 단편 또는 제 36 항의 조성물을 사용하여 상기 대상으로부터의 암성 샘플에서 검출되는 것을 포함하는, 방법.

**청구항 44**

항-CD37 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 포함하는 치료적 활성제에 반응할 것 같은 암을 확인하는 방법으로서, 상기 방법이:

- a. 상기 암으로부터의 세포를 포함하는 생물학적 샘플과 제 1 항 내지 제 32 항 중 어느 한 항의 항체 또는 이의 항원-결합 단편 또는 제 36 항의 조성물을 접촉시키는 단계;
- b. 상기 항체 또는 이의 항원-결합 단편의, (a) 의 상기 생물학적 샘플 중의 CD37 에 대한 결합을 검출하는 단계;
- c. 상기 단계 (b) 의 결합에 점수를 할당하고, 상기 점수는 하나 이상의 참조 샘플과의 비교에 기반하여 할당되는 단계; 및
- d. 단계 (c) 에서의 상기 점수를 참조 조직 또는 세포의 점수와 비교하는 단계로서, 정상 또는 저 CD37 발현 참조 샘플에 대한 점수보다 큰 상기 암 CD37 수준에 대한 점수 또는 고 CD37 발현 참조 샘플에 대한 점수와 동일

하거나 그보다 큰 상기 암 CD37 수준에 대한 점수가 상기 암이 항-CD37 항체에 반응할 것 같음을 확인하는 단계

를 포함하는, 방법.

**청구항 45**

암을 가진 환자를 치료하는 방법으로서, 상기 방법이:

a. CD37 발현 점수를 환자로부터 취득된 암성 샘플 중의 CD37 발현의 검출로부터 결정하는 단계로서, 검출이 제 1 항 내지 제 32 항 중 어느 한 항의 항체 또는 이의 항원-결합 단편 또는 제 36 항의 조성물을 사용하여 수행되는 단계; 및

b. 점수가, 환자가 치료적 활성제의 투여로부터 이득을 볼 것인지를 나타내는 경우에 항-CD37 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 포함하는 치료적 활성제를 환자에게 투여하는 단계

를 포함하는, 방법.

**청구항 46**

암을 가진 환자를 치료하는 방법으로서, 상기 방법이:

a. CD37 발현 점수를 환자로부터 취득된 암성 샘플 중의 CD37 발현의 검출로부터 결정하는 단계로서, 검출이 제 1 항 내지 제 32 항 중 어느 한 항의 항체 또는 이의 항원-결합 단편 또는 제 36 항의 조성물을 사용하여 수행되는 단계; 및

b. 점수가, 환자가 치료적 활성제의 투여로부터 이득을 볼 것인지를 나타내는 경우에 항-CD37 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 포함하는 치료적 활성제를 환자에게 투여하도록 헬스케어 공급자에게 지시하는 단계

를 포함하는, 방법.

**청구항 47**

암을 가진 환자를 치료하는 방법으로서, 상기 방법이:

a. 제 1 항 내지 제 32 항 중 어느 한 항의 항체 또는 이의 항원-결합 단편 또는 제 36 항의 조성물을 사용하여 CD37 발현의 검출로부터 CD37 발현 점수를 결정하기 위해, 암을 가진 환자로부터 채취한 암성 샘플을 제출하는 단계; 및

b. 점수가, 환자가 치료적 활성제의 투여로부터 이득을 볼 것인지를 나타내는 경우에 항-CD37 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 포함하는 치료적 활성제를 환자에게 투여하는 단계

를 포함하는, 방법.

**청구항 48**

암을 가진 환자를 치료하는 방법으로서, 상기 방법이:

a. 상기 환자로부터 취득된 암성 샘플 중에서 CD37 발현을 검출하는 단계로서, 검출이 제 1 항 내지 제 32 항 중 어느 한 항의 항체 또는 이의 항원-결합 단편 또는 제 36 항의 조성물을 사용하여 수행되는 단계;

b. 상기 암성 샘플에 대해 CD37 발현 점수를 결정하는 단계; 및

c. 점수가, 환자가 치료적 활성제의 투여로부터 이득을 볼 것인지를 나타내는 경우에 항-CD37 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 포함하는 치료적 활성제를 환자에게 투여하는 단계

를 포함하는, 방법.

**청구항 49**

암이 항-CD37 활성제로의 치료에 민감한 것으로 확인하는 방법으로서, 상기 방법이:

a. 제 1 항 내지 제 32 항 중 어느 한 항의 항체 또는 이의 항원-결합 단편 또는 제 36 항의 조성물을 사용하여 상기 암으로부터의 암성 샘플 중에서 CD37 발현 수준을 검출하는 단계로서, 상기 검출이 하나 이상의 참조 샘플

중의 염색 강도 또는 염색 균일성과 비교하여 CD37 발현 양성 샘플 중의 염색 강도 또는 염색 균일성 사이를 구별하는 방법의 사용을 포함하는 단계;

b. 상기 양성 샘플에 대해 CD37 염색 강도 또는 염색 균일성 점수를 결정하는 단계; 및

c. 단계 (b) 에서 결정된 CD37 염색 강도 또는 염색 균일성 점수를 적어도 하나의 참조 샘플 중에서 CD37 단백질 발현을 측정함으로써 결정된 상대값과 비교하는 단계로서, 상기 적어도 하나의 참조 샘플이 항-CD37 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 포함하는 치료적 활성제로의 치료에 민감하지 않은 조직, 세포, 또는 세포 펠렛 샘플이고, 상기 상대값보다 높은 단계 (b) 에서 결정된 상기 양성 샘플에 대한 CD37 염색 강도 점수가 상기 암을 치료적 활성제로의 치료에 대해 민감한 것으로 확인하는 단계

를 포함하는, 방법.

**청구항 50**

암이 항-CD37 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 포함하는 치료적 활성제로의 치료에 민감한 것으로 확인하는 방법으로서, 상기 방법이:

a. 제 1 항 내지 제 32 항 중 어느 한 항의 항체 또는 이의 항원-결합 단편 또는 제 36 항의 조성물을 사용하여 상기 암으로부터의 양성 샘플 중에서 CD37 발현 수준을 검출하는 단계로서, 상기 검출이 하나 이상의 참조 샘플 중의 염색 강도 또는 염색 균일성과 비교하여 CD37 발현 양성 샘플 중의 염색 강도 또는 염색 균일성 사이를 구별하는 방법의 사용을 포함하는 단계;

b. 상기 양성 샘플에 대해 CD37 염색 강도 또는 염색 균일성 점수를 결정하는 단계; 및

c. 단계 (b) 에서 결정된 CD37 염색 강도 또는 염색 균일성 점수를 적어도 하나의 참조 샘플 중에서 CD37 단백질 발현을 측정함으로써 결정된 상대값과 비교하는 단계로서, 상기 적어도 하나의 참조 샘플이 항-CD37 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 포함하는 치료적 활성제로의 치료에 민감한 조직, 세포, 또는 세포 펠렛 샘플이고, 상기 상대값보다 높은 또는 동일한 단계 (b) 에서 결정된 상기 양성 샘플에 대한 CD37 염색 강도 점수가 상기 암을 치료적 활성제로의 치료에 대해 민감한 것으로 확인하는 단계

를 포함하는, 방법.

**청구항 51**

제 43 항 내지 제 50 항 중 어느 한 항에 있어서, 항-CD37 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 포함하는 치료적 활성제를 양성 샘플 또는 생물학적 샘플이 수득되는 대상에게 투여하는 것을 추가로 포함하는, 방법.

**청구항 52**

제 43 항 내지 제 51 항 중 어느 한 항에 있어서, 환자의 CD37 수준이 환자로부터 수득된 양성 샘플 또는 생물학적 샘플 중에서 검출되는, 방법.

**청구항 53**

제 43 항 내지 제 52 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 양성 샘플 또는 생물학적 샘플이 유동 추출물, 혈액, 혈장, 혈청, 척수액, 림프액, 또는 비장 조제물인, 방법.

**청구항 54**

제 43 항 내지 제 53 항 중 어느 한 항에 있어서, 검출이 면역조직화학 (IHC) 에 의한 것인, 방법.

**청구항 55**

제 42 항 또는 제 54 항에 있어서, 상기 IHC 가 상이한 CD37 발현 수준을 구별할 수 있는 교정된 IHC 인, 방법.

**청구항 56**

제 42 항, 제 54 항, 또는 제 55 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 IHC 가 저 CD37 발현, 중 CD37 발현, 또는 고 CD37 발현을 갖는 샘플에 대한 다양한 염색 강도를 생성하는, 방법.

**청구항 57**

제 42 항 또는 제 54 항 내지 제 56 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 IHC 가 참조 샘플과 비교하여 CD37 발현 양성 샘플 또는 생물학적 샘플 중의 염색 강도 및 염색 균일성 사이를 구별하는, 방법.

**청구항 58**

제 42 항 또는 제 54 항 내지 제 57 항 중 어느 한 항에 있어서, IHC 가 수동으로 수행되는, 방법.

**청구항 59**

제 42 항 또는 제 54 항 내지 제 57 항 중 어느 한 항에 있어서, IHC 가 자동화 시스템을 사용하여 수행되는, 방법.

**청구항 60**

제 42 항 또는 제 54 항 내지 제 59 항 중 어느 한 항에 있어서, CD37 점수가 IHC 로부터 결정되는, 방법.

**청구항 61**

제 44 항 내지 제 53 항 중 어느 한 항에 있어서, 검출이 효소 연결 면역흡착 검정 (ELISA) 에 의한 것인, 방법.

**청구항 62**

제 44 항, 제 49 항, 또는 제 50 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 참조 샘플이 양성 참조 샘플 또는 음성 참조 샘플인, 방법.

**청구항 63**

제 44 항, 제 49 항, 제 50 항, 또는 제 51 항 중 어느 한 항에 있어서, 참조 샘플이 세포, 세포 펠렛, 또는 조직을 포함하는, 방법.

**청구항 64**

제 43 항 내지 제 63 항 중 어느 한 항에 있어서, 제 1 항 내지 제 32 항 중 어느 한 항의 항체 또는 이의 항원-결합 단편이, 면역형광 표지, 화학발광 표지, 인광 표지, 효소, 방사능표지, 아비딘/비오틴, 콜로이드 금 입자, 착색 입자, 및 자석 입자로 이루어지는 군으로부터 선택되는 검출 시약을 추가로 포함하는, 방법.

**청구항 65**

제 64 항에 있어서, 상기 검출 시약이 효소인, 방법.

**청구항 66**

제 43 항 내지 제 65 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 암이 CD37 양성 암인, 방법.

**청구항 67**

제 43 항 내지 제 66 항 중 어느 한 항에 있어서, 암이 백혈병 또는 림프종인, 방법.

**청구항 68**

제 43 항 내지 제 66 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 암이 B 세포 림프종, NHL, 전구체 B 세포 림프모구성 백혈병/림프종 및 성숙 B 세포 신생물, B 세포 만성 림프구성 백혈병 (CLL)/소형 림프구성 림프종 (SLL), B 세포 전림프구성 백혈병, 림프구성질세포 림프종, 맨틀 세포 림프종 (MCL), 소낭 림프종 (FL), 저 등급, 중간-등급 및 고-등급 (FL), 피부 모낭 중심 림프종, 변연부 B 세포 림프종, MALT 유형 변연부 B 세포 림프종, 결절 변연부 B 세포 림프종, 비장 유형 변연부 B 세포 림프종, 모발상 세포 백혈병, 미만성 거대 B 세포 림프종, 버킷 림프종, 형질세포종, 형질 세포 골수종, 이식후 림프구증식 장애, 발덴스트롬 마크로글로불린혈증, 및 역성형 거대-세포 림프종 (ALCL) 으로 이루어지는 군으로부터 선택되는, 방법.

**청구항 69**

제 37 항 내지 제 68 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 CD37 발현이 적어도 하나의 부가적인 항-CD37 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 사용하여 검출되는, 방법.

**청구항 70**

제 69 항에 있어서, 상기 CD37 발현이 2 개의 항-CD37 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 사용하여 측정되는, 방법.

**청구항 71**

제 69 항 또는 제 70 항에 있어서, 적어도 하나의 부가적인 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 검출제를 포함하는, 방법.

**청구항 72**

제 71 항에 있어서, 검출제가 색원성 검출제, 형광원성 검출제, 효소 검출제, 또는 전자화학발광 검출제인, 방법.

**청구항 73**

제 71 항 또는 제 72 항에 있어서, 검출제가 호스래디쉬 페록시다아제 (HRP) 인, 방법.

**청구항 74**

제 70 항 내지 제 73 항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 하나의 부가적인 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 고체 지지체에 결합되는, 방법.

**청구항 75**

제 74 항에 있어서, 적어도 하나의 부가적인 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 마이크로타이터 플레이트에 결합되는, 방법.

**청구항 76**

제 41 항 또는 제 61 항에 있어서, 상기 ELISA 가 샌드위치 ELISA 인, 방법.

**청구항 77**

제 43 항 내지 제 76 항 중 어느 한 항에 있어서, 치료적 활성제가 CD37 항체 huCD37-3 을 포함하는, 방법.

**청구항 78**

제 77 항에 있어서, 치료적 활성제가 CD37 항체 huCD37-3, 마이탄시노이드 DM1, 및 비-분할성 SMCC 링커 (IMG529) 를 포함하는 항체 마이탄시노이드 콘주게이트인, 방법.

**청구항 79**

치료법에서 사용하기 위한 항-CD37 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 포함하는 진단 및 치료적 활성제에서 사용하기 위한, 제 1 항 내지 제 32 항 중 어느 한 항의 항체 또는 이의 항원-결합 단편 또는 제 36 항의 조성물을 포함하는 조합 진단 및 약학 키트.

**청구항 80**

제 79 항에 있어서, 검출 항체가 IHC 에 의해 CD37 발현을 검출할 수 있는, 조합 진단 및 약학 키트.

**청구항 81**

제 79 항 또는 제 80 항에 있어서, 검출 항체가 ELISA 에 의해 CD37 발현을 검출할 수 있는, 조합 진단 및 약학 키트.

**청구항 82**

제 79 항 내지 제 81 항 중 어느 한 항에 있어서, 치료적 활성제 중의 항-CD37 항체가 세포독소에 콘주게이션된, 조합 진단 및 약학 키트.

**청구항 83**

제 1 항 내지 제 32 항 중 어느 한 항의 항체 또는 이의 항원-결합 단편, IHC 용 시약, 및 하나 이상의 표준화된 참조 샘플을 포함하는 진단 키트로서, 상기 표준화된 참조 샘플이 세포, 세포 펠렛, 또는 포르말린 고정된 파라핀 포매된 조직 샘플을 포함하고, 상기 하나 이상의 표준화된 참조 샘플이 비-CD37 발현, 저-CD37 발현, 또는 고 CD37 발현 세포, 세포 펠렛, 또는 조직으로부터 유래되는, 진단 키트.

**발명의 설명**

**기술 분야**

[0001] 본 출원은 2015 년 8 월 28 일에 출원된 U.S. 가출원 No. 62/211,455, 및 2015 년 8 월 31 일에 출원된 U.S. 가출원 No. 62/212,183 (이들 각각은 본원에서 그 전체가 참고로서 인용됨) 의 우선권을 주장한다.

[0002] **발명 분야**

[0003] 본 발명의 분야는 일반적으로 인간 CD37 에 결합하는 CD37-기반 치료법 및 항체에 대한 진단 어세이 및 키트에 관한 것이다.

**배경 기술**

[0004] 암은 발달된 국가에서 사망의 주요 원인 중 하나이며, 미국에서만 일년에 백만 명이 넘는 사람들이 암으로 진단 받고 오십만 명이 사망한다. 전체적으로 3 명 중 1 명이 넘는 사람들이 그들의 일생 동안 일정한 형태의 암에 걸릴 것으로 추정된다.

[0005] 백혈구 항원 CD37 ("CD37") 은, 또한 GP52-40, 테트라스파닌-26, 또는 TSPAN26 으로서 알려져 있으며, 테트라스파닌 슈퍼패밀리의 막통과 단백질이다 (Maecker et al., 1997 FASEB J. 11:428-442). 이것은, 전구-B 내지 말초 성숙 B-세포 단계 동안 B 세포 상에서 발현되지만, 형질 세포로의 말기 분화에서는 부재하는 4 개의 막통과 도메인을 가진 과도하게 글리코실화된 단백질이다 (Link et al., 1987, J Pathol. 152:12-21). CD37 항원은 T-세포, 골수 세포, 및 과립구 상에서 단지 약하게 발현된다 (Schwartz-Albiez et al. 1988, J. Immunol., 140(3)905-914). 그러나, CD37 은 또한 악성 B-세포 예컨대 비-호지킨 림프종 (NHL) 및 만성 림프성 백혈병 (CLL) 에서 발견되는 것들 상에서 발현된다 (Moore et al. 1986, J Immunol. 137(9):3013-8). 이러한 발현 프로파일은 CD37 이 CD37 을 발현하는 B-세포 악성증양에 관한 유망한 치료적 표적에 해당한다는 것을 제안한다. 그러나, 이들 치료법을 최대로 효과적하도록 하기 위해서는, CD37 의 동적 범위를 민감성 및 특이성을 가지고 검출할 수 있는 것이 필수적이다.

**발명의 내용**

**해결하려는 과제**

**과제의 해결 수단**

[0006] 항-CD37 항체 및 이의 항원-결합 단편 뿐 아니라, CD37 을 검출하는 방법, CD37-매개 질환 및 장애 (예컨대 암) 를 진단하는 방법, 항-CD37 치료법의 효능을 모니터링하는 방법, 및 환자를 만족시키는 방법이 모두 본원에 제공된다. 항-CD37 항체 및 이의 항원-결합 단편은 이들이 좀더 특이적이고 규정된 염색 뿐 아니라 핵 배경이 없는 염색을 허용하므로 특히 유리하다. CD37 항체 및 이의 항원-결합 단편은 CD37 의 하나 이상의 아미노산 110-137 을 포함하는 에피토프에 결합할 수 있다. CD37 항체 및 이의 항원-결합 단편은 또한 CD37 의 아미노산 107-242 를 포함하는 폴리펩티드 (SEQ ID NO:20) 및/또는 CD37 의 아미노산 107-235 를 포함하는 폴리펩티드 (SEQ ID NO:19) 에 결합할 수 있으나, CD37 의 아미노산 138-235 로 이루어지는 폴리펩티드에 결합하지 않는다.

- [0007] 하나의 구현예에서, 본원에 제공되는 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 SEQ ID NO:9 의 폴리펩티드 및 SEQ ID NO:10 의 폴리펩티드를 포함하는 항체로서 동일한 CD37 에피토프에 특이적으로 결합한다.
- [0008] 또다른 구현예에서, 본원에 제공되는 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 CD37 에 특이적으로 결합하고, SEQ ID NO:9 의 폴리펩티드 및 SEQ ID NO:10 의 폴리펩티드를 포함하는 항체의 CD37 에 대한 결합을 경쟁적으로 억제한다.
- [0009] 또다른 구현예에서, 본원에 제공되는 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 SEQ ID NO: 3-5 의 중쇄 가변 영역 CDR1, CDR2, 및 CDR3 서열, 각각, 및 SEQ ID NO: 6-8 의 경쇄 가변 영역 CDR1, CDR2, 및 CDR3 서열, 각각을 포함한다.
- [0010] 또다른 구현예에서, 본원에 제공되는 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 CD37 에 특이적으로 결합하고, 항체 또는 이의 단편은 SEQ ID NO: 3-5 의 중쇄 가변 영역 CDR1, CDR2, 및 CDR3 서열 및 SEQ ID NO: 6-8 의 경쇄 가변 영역 CDR1, CDR2, 및 CDR3 서열, 각각을 포함한다.
- [0011] 또다른 구현예에서, 본원에 제공되는 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 SEQ ID NO:9 및 10 의 폴리펩티드 서열에 적어도 90% 일치하는 폴리펩티드 서열을 포함한다. 또다른 구현예에서, 폴리펩티드 서열은 SEQ ID NO:9 및 10 의 폴리펩티드 서열에 적어도 95% 일치한다. 또다른 구현예에서, 폴리펩티드 서열은 SEQ ID NO:9 및 10 의 폴리펩티드 서열에 적어도 99% 일치한다. 또다른 구현예에서, 폴리펩티드 서열은 SEQ ID NO:9 및 10 의 서열의 아미노산을 포함한다.
- [0012] 또다른 구현예에서, 본원에 제공되는 항체 또는 이의 항원-결합 단편은, 항체 또는 이의 단편이 SEQ ID NO:9 를 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함하는, CD37 에 특이적으로 결합한다.
- [0013] 또다른 구현예에서, 본원에 제공되는 항체 또는 이의 항원-결합 단편은, 항체 또는 이의 단편이 SEQ ID NO:10 을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함하는, CD37 에 특이적으로 결합한다.
- [0014] 또다른 구현예에서, 본원에 제공되는 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 재조합적으로 제조된다. 또다른 구현예에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 쥐, 비-인간, 인간화, 키메라 또는 인간이다. 또다른 구현예에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 재표면화 (resurfaced) 된다. 또다른 구현예에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 전체 길이 항체이다. 또다른 구현예에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 항원-결합 단편이다. 또다른 구현예에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 Fab, Fab', F(ab')<sub>2</sub>, Fd, 단일 사슬 Fv 또는 scFv, 디설파이드 연결된 Fv, V-NAR 도메인, IgNar, 인트라바디, IgGΔCH<sub>2</sub>, 미니바디, F(ab')<sub>3</sub>, 테트라바디, 트리아바디, 디아바디, 단일-도메인 항체, DVD-Ig, Fcab, mAb<sub>2</sub>, (scFv)<sub>2</sub>, 또는 scFv-Fc 를 포함한다. 또다른 구현예에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 Fab, Fab', F(ab')<sub>2</sub>, 단일 사슬 Fv 또는 scFv, 디설파이드 연결된 Fv, 인트라바디, IgGΔCH<sub>2</sub>, 미니바디, F(ab')<sub>3</sub>, 테트라바디, 트리아바디, 디아바디, DVD-Ig, mAb<sub>2</sub>, (scFv)<sub>2</sub>, 또는 scFv-Fc 를 포함한다.
- [0015] 또다른 구현예에서, 항체 또는 항원-결합 단편은 세포에 의해 생성된다. 또다른 구현예에서, 세포는 단리된다. 또다른 구현예에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편의 제조 방법이 본원에 제공되며, 상기 방법은 (a) 세포를 배양하는 단계; 및 (b) 배양된 세포로부터 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 단리하는 단계를 포함한다.
- [0016] 또다른 구현예에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 인간 CD37 에 약 0.5 내지 약 10 nM 의 K<sub>d</sub> 로 결합한다. 또다른 구현예에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 인간 CD37 에 약 1.0 nM 이상의 K<sub>d</sub> 로 결합한다.
- [0017] 또다른 구현예에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 CD37 의 아미노산 107-242 를 포함하는, 이것으로 본질적으로 이루어지는, 또는 이것으로 이루어지는 폴리펩티드 (SEQ ID NO:20) 에 결합한다. 또다른 구현예에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 CD37 의 아미노산 107-235 를 포함하는, 이것으로 본질적으로 이루어지는, 또는 이것으로 이루어지는 폴리펩티드 (SEQ ID NO:19) 에 결합한다. 또다른 구현예에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 SEQ ID NO:15 에 언급된 서열에 결합한다. 또다른 구현예에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 SEQ ID NO:16 에 언급된 서열에 결합한다. 또다른 구현예에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 SEQ ID NO:17 에 언급된 서열에 결합한다. 또다른 구현예에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 CD37 의 아미노산 107-242 를 포함하는 폴리펩티드 (SEQ ID NO:20) 에 결합하나, CD37 의 아미노산 138-235 로 이루어지는 폴리펩티드에 결합하지 않는다. 또다른 구현예에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 CD37 의 아미노산 107-235 를 포함하는 폴리펩티드 (SEQ ID NO:19) 에 결합하나, CD37 의 아미노산 138-235 로 이루어지는 폴리펩티드에 결합하지 않는다.

- [0018] 또다른 구현예에서, 본원에 제공되는 항체 또는 항원-결합 단편은 SEQ ID NO:15 의 폴리펩티드에 결합하나, SEQ ID NO:18 의 폴리펩티드에 결합하지 않는다. 또다른 구현예에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 SEQ ID NO:16 의 폴리펩티드에 결합하나, SEQ ID NO:18 의 폴리펩티드에 결합하지 않는다. 또다른 구현예에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 SEQ ID NO:17 의 폴리펩티드에 결합하나, SEQ ID NO:18 의 폴리펩티드에 결합하지 않는다. 또다른 구현예에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 CD37 의 아미노산 110-137 중 적어도 하나의 아미노산에 결합한다.
- [0019] 또다른 구현예에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편의 결합 친화도는 유동세포분석, Biacore, ELISA, 또는 방사면역측정법에 의해 측정된다.
- [0020] 또다른 구현예에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 검출가능하게 표지된다. 또다른 구현예에서, 표지는 면역형광 표지, 화학발광 표지, 인광 표지, 효소 표지, 방사능표지, 아비딘/비오틴, 콜로이드 금 입자, 착색 입자, 및 자석 입자로 이루어지는 군으로부터 선택된다.
- [0021] 또다른 구현예에서, 조성물로서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편 및 IHC 완충액, ELISA 완충액, 및 FACS 완충액으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 완충액을 포함하는 조성물이 본원에 제공된다.
- [0022] 또다른 구현예에서, 샘플 중 CD37 발현의 검출 방법으로서, 샘플을 항체 또는 이의 항원-결합 단편 또는 본원에 제공된 조성물과 접촉시키는 것을 포함하는 방법이 본원에 제공된다. 또다른 구현예에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 검출가능하게 표지된다. 또다른 구현예에서, 표지는 면역형광 표지, 화학발광 표지, 인광 표지, 효소 표지, 방사능표지, 아비딘/비오틴, 콜로이드 금 입자, 착색 입자, 및 자석 입자로 이루어지는 군으로부터 선택된다. 또다른 구현예에서, 표지는 효소 표지이다.
- [0023] 또다른 구현예에서, CD37 발현은 방사면역측정법, 웨스턴 블롯 검정, 세포분석법, 면역형광 검정, 효소 면역검정, 면역침전 검정, 화학발광 검정, 또는 면역조직화학적 검정에 의해 측정된다. 또다른 구현예에서, CD37 발현은 면역조직화학적 검정에 의해 측정된다.
- [0024] 또다른 구현예에서, 항-CD37 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 포함하는 치료적 활성제로 암 치료법의 효능을 증가시키는 방법으로서, 치료적 활성제를 암을 가진 대상에게 투여하고, 항체 또는 이의 항원-결합 단편 또는 본원에 제공된 조성물을 사용하여, 대상으로부터 암성 샘플에서 CD37 의 증가된 발현을 검출하는 것을 포함하는 방법이 본원에 제공된다.
- [0025] 또다른 구현예에서, 암이 항-CD37 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 포함하는 치료적 활성제에 반응할 것 같은지를 확인하는 방법으로서: (a) 암으로부터의 세포를 포함하는 생물학적 샘플을 항체 또는 이의 항원-결합 단편 또는 조성물과 접촉시키는 단계; (b) (a) 의 생물학적 샘플 중의 CD37 에 대한 항체 또는 이의 항원-결합 단편의 결합을 검출하는 단계; (c) 단계 (b) 의 결합에 대해 점수를 할당하는 단계로서, 상기 점수가 하나 이상의 참조 샘플에 대한 비교에 근거하여 할당되는 단계; 및 (d) 단계 (c) 에서의 점수를 참조 조직 또는 세포의 점수와 비교하는 단계로서, 정상 또는 저 CD37 발현 참조 샘플에 대한 점수보다 큰 암 CD37 수준에 대한 점수 또는 고 CD37 발현 참조 샘플에 대한 점수와 동일하거나 또는 그보다 큰 암 CD37 수준에 대한 점수가 항-CD37 항체에 반응할 것 같은 암을 확인하는 단계를 포함하는 방법이 제공된다.
- [0026] 또다른 구현예에서, 암을 가진 환자의 치료 방법으로서: (a) 환자로부터 수득된 암성 샘플 중의 CD37 발현의 검출로부터 CD37 발현 점수를 측정하는 단계로서, 검출이 항체 또는 이의 항원-결합 단편 또는 조성물을 사용하여 수행되는 단계; 및 (b) 점수가, 환자가 치료적 활성제의 투여로부터 이득을 얻을 것인지를 나타내는 경우에 항-CD37 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 포함하는 치료적 활성제를 환자에게 투여하는 단계를 포함하는 방법이 본원에 제공된다.
- [0027] 또다른 구현예에서, 암을 가진 환자의 치료 방법은: (a) 환자로부터 수득된 암성 샘플 중의 CD37 발현의 검출로부터 CD37 발현 점수를 측정하는 단계로서, 검출이 항체 또는 이의 항원-결합 단편 또는 조성물을 사용하여 수행되는 단계; 및 (b) 점수가, 환자가 치료적 활성제의 투여로부터 이득을 얻을 것인지를 나타내는 경우에 항-CD37 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 포함하는 치료적 활성제를 환자에게 투여하도록 헬스케어 공급자에게 지시하는 단계를 포함한다.
- [0028] 또다른 구현예에서, 암을 가진 환자의 치료 방법은: (a) 항체 또는 이의 항원-결합 단편 또는 조성물을 사용하는 CD37 발현의 검출로부터 CD37 발현 점수를 측정하기 위해 암을 가진 환자로부터 취득한 암성 샘플을 제출하는 단계; 및 (b) 점수가, 환자가 치료적 활성제의 투여로부터 이득을 얻을 것인지를 나타내는 경우에 항-CD37

항체 또는 이의 항원-결합 단편을 포함하는 치료적 활성제를 환자에게 투여하는 단계를 포함한다.

- [0029] 또다른 구현예에서, 암을 가진 환자의 치료 방법은: (a) 환자로부터 수득된 암성 샘플에서 CD37 발현을 검출하며, 검출이 항체 또는 이의 항원-결합 단편 또는 조성물을 사용하여 수행되는 단계; (b) 암성 샘플에 대한 CD37 발현 점수를 측정하는 단계; 및 (c) 점수가, 환자가 치료적 활성제의 투여로부터 이득을 얻을 것인지를 나타내는 경우에 항-CD37 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 포함하는 치료적 활성제를 환자에게 투여하는 단계를 포함한다.
- [0030] 또다른 구현예에서, 항-CD37 활성제로의 치료에 민감한 것으로서 암을 확인하는 방법은: (a) 항체 또는 이의 항원-결합 단편 또는 조성물을 사용하여 암으로부터의 암성 샘플 중의 CD37 발현 수준을 검출하며, 상기 검출이 하나 이상의 참조 샘플 중의 염색 강도 또는 염색 균일성과 비교하여 CD37 발현 암성 샘플 중의 염색 강도 또는 염색 균일성 사이를 구별하는 방법의 사용을 포함하는 단계; (b) 암성 샘플에 대한 CD37 염색 강도 또는 염색 균일성 점수를 측정하는 단계; 및 (c) 단계 (b) 에서 결정된 CD37 염색 강도 또는 염색 균일성 점수를 적어도 하나의 참조 샘플 중의 CD37 단백질 발현을 측정함으로써 결정된 상대값과 비교하는 단계로서, 적어도 하나의 참조 샘플은 항-CD37 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 포함하는 치료적 활성제로의 치료에 민감하지 않은 조직, 세포, 또는 세포 펠렛 샘플이고, 상대값보다 높은 단계 (b) 에서 결정된 암성 샘플에 대한 CD37 염색 강도 점수가, 암이 치료적 활성제로의 치료에 민감한 것으로 확인하는 단계를 포함한다.
- [0031] 또다른 구현예에서, 암이 항-CD37 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 포함하는 치료적 활성제로의 치료에 민감한 것으로 확인하는 방법은: (a) 항체 또는 이의 항원-결합 단편 또는 조성물을 사용하여 암으로부터의 암성 샘플 중의 CD37 발현의 수준을 검출하며, 상기 검출이 하나 이상의 참조 샘플 중의 염색 강도 또는 염색 균일성과 비교하여 CD37 발현 암성 샘플 중의 염색 강도 또는 염색 균일성 사이를 구별하는 방법의 사용을 포함하는 단계; (b) 암성 샘플에 대한 CD37 염색 강도 또는 염색 균일성 점수를 결정하는 단계; 및 (c) 단계 (b) 에서 결정된 CD37 염색 강도 또는 염색 균일성 점수를 적어도 하나의 참조 샘플 중의 CD37 단백질 발현을 측정함으로써 결정된 상대값과 비교하는 단계로서, 적어도 하나의 참조 샘플은 항-CD37 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 포함하는 치료적 활성제로의 치료에 민감한 조직, 세포, 또는 세포 펠렛 샘플이고, 상대값보다 높은 또는 그와 동일한 단계 (b) 에서 결정된 암성 샘플에 대한 CD37 염색 강도 점수가, 암이 치료적 활성제로의 치료에 민감한 것으로 확인하는 단계를 포함한다.
- [0032] 또다른 구현예에서, 방법은 항-CD37 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 포함하는 치료적 활성제를 암성 샘플 또는 생물학적 샘플이 수득되는 대상에게 투여하는 것을 추가로 포함한다. 또다른 구현예에서, 환자의 CD37 수준은 환자로부터 수득된 암성 샘플 또는 생물학적 샘플에서 검출된다. 또다른 구현예에서, 암성 샘플 또는 생물학적 샘플은 유동 추출물, 혈액, 혈장, 혈청, 척수액, 림프액, 또는 비장 조제물이다. 또다른 구현예에서, 검출은 면역조직화학 (IHC) 에 의한 것이다. 또다른 구현예에서, IHC 는 상이한 수준의 CD37 발현을 구별할 수 있는 교정된 IHC 이다. 또다른 구현예에서, IHC 는 저 CD37 발현, 중간 CD37 발현, 또는 고 CD37 발현을 갖는 샘플에 대한 다양한 염색 강도를 산출한다. 또다른 구현예에서, IHC 는 참조 샘플과 비교하여 CD37 발현 암성 샘플 또는 생물학적 샘플 중의 염색 강도 및 염색 균일성 사이를 구별한다. 또다른 구현예에서, IHC 는 수동으로 수행된다. 또다른 구현예에서, IHC 는 자동화 시스템을 사용하여 수행된다. 또다른 구현예에서, CD37 점수는 IHC 로부터 결정된다. 또다른 구현예에서, 검출은 효소 연결 면역흡착 검정 (ELISA) 에 의해 수행된다. 또다른 구현예에서, 참조 샘플은 양성 참조 샘플 또는 음성 참조 샘플이다. 또다른 구현예에서, 참조 샘플은 세포, 세포 펠렛, 또는 조직을 포함한다.
- [0033] 또다른 구현예에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 면역형광 표지, 화학발광 표지, 인광 표지, 효소, 방사능 표지, 아비딘/비오틴, 콜로이드 금 입자, 착색 입자, 및 자석 입자로 이루어지는 군으로부터 선택되는 검출 시약을 추가로 포함한다. 또다른 구현예에서, 검출 시약은 효소이다.
- [0034] 또다른 구현예에서, 암은 CD37 양성 암이다. 또다른 구현예에서, 암은 백혈병 또는 림프종이다. 또다른 구현예에서, 암은 B 세포 림프종, NHL, 전구체 B 세포 림프모구성 백혈병/림프종 및 성숙 B 세포 신생물, B 세포 만성 림프구성 백혈병 (CLL)/소형 림프구성 림프종 (SLL), B 세포 전림프구성 백혈병, 림프구성질세포 림프종, 맨틀 세포 림프종 (MCL), 소낭 림프종 (FL), 저 등급, 중간-등급 및 고-등급 (FL), 피부 모낭 중심 림프종, 변연부 B 세포 림프종, MALT 유형 변연부 B 세포 림프종, 결절 변연부 B 세포 림프종, 비장 유형 변연부 B 세포 림프종, 모발상 세포 백혈병, 미만성 거대 B 세포 림프종 (DLBCL), 버킷 림프종, 형질세포종, 형질 세포 골수종, 이식후 림프구증식 장애, 발덴스트롬 마크로글로불린혈증, 및 역성형 거대-세포 림프종 (ALCL) 으로 이루어지는 군으로부터 선택된다. 또다른 구현예에서, CD37 양성 암은 미만성 거대 B-세포 림프종, 소낭 림프

중, 또는 맨틀 세포 림프종이다.

- [0035] 또다른 구현예에서, CD37 발현은 적어도 하나의 부가적인 항-CD37 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 사용하여 검출된다. 또다른 구현예에서, CD37 발현은 2 개의 항-CD37 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 사용하여 측정된다. 또다른 구현예에서, 적어도 하나의 부가적인 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 검출제를 포함한다. 또다른 구현예에서, 검출제는 색원성 검출제, 형광원성 검출제, 효소 검출제, 또는 전자화학발광 검출제이다. 또다른 구현예에서, 검출제는 호스레디쉬 페록시다아제 (HRP) 이다.
- [0036] 또다른 구현예에서, 적어도 하나의 부가적인 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 고체 지지체에 결합된다. 또 다른 구현예에서, 적어도 하나의 부가적인 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 마이크로타이터 플레이트에 결합된다.
- [0037] 또다른 구현예에서, ELISA 는 샌드위치 ELISA 이다.
- [0038] 또다른 구현예에서, 치료적 활성제는 CD37 항체 huCD37-3 을 포함한다. 또다른 구현예에서, 치료적 활성제는 CD37 항체 huCD37-3, 마이탄시노이드 (maytansinoid) DM1, 및 비-분할성 SMCC 링커 (IMGN529) 를 포함하는 항체 마이탄시노이드 콘주게이트이다.
- [0039] 또다른 구현예에서, 조합 진단 및 약학 키트로서, 키트가 진단에 사용하기 위한 본원에 제공된 항체 또는 이의 항원-결합 단편 또는 조성물 및 치료법에 사용하기 위한 항-CD37 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 포함하는 치료적 활성제를 포함하는, 조합 진단 및 약학 키트가 본원에 제공된다.
- [0040] 또다른 구현예에서, 검출 항체는 IHC 에 의해 CD37 발현을 검출하는 것을 가능하게 한다. 또다른 구현예에서, 검출 항체는 ELISA 에 의해 CD37 발현을 검출하는 것을 가능하게 한다.
- [0041] 또다른 구현예에서, 치료적 활성제 중의 항-CD37 항체는 세포독소에 콘주게이션된다.
- [0042] 또다른 구현예에서, 본원에 제공되는 진단 키트는 본원에 제공되는 항체, 이의 항원-결합 단편, IHC 용 시약, 및 하나 이상의 표준화된 참조 샘플을 포함하고, 상기 표준화된 참조 샘플은 세포, 세포 펠렛, 또는 포르말린 고정된 파라핀 포매된 조직 샘플을 포함하며, 하나 이상의 표준화된 참조 샘플은 비-CD37 발현, 저-CD37 발현, 또는 고 CD37 발현 세포, 세포 펠렛, 또는 조직으로부터 유래된다.

**도면의 간단한 설명**

- [0043] **도 1A 및 1B** 는 His-태그에 융합된 인간 CD37 의 아미노산 107 내지 242 를 함유하는, hCD37-LEL (Large Extracellular Loop) 단백질 (SEQ ID NO:15) 로의 마우스의 면역화에 의해 생성된 항체에 대한 ELISA 스크리닝 결과를 제공한다. 도 1A 는 하이브리도마 클론 1B11 로부터의 상청액이 고유 및 변성 조건 둘 다에서, 복합 버전의 CD37 항원, hCD37-LEL, hCD37-Fc-LAGA (LAGA 는 Fc 돌연변이 G236A 및 P238A 를 말함), SEQ ID NO:17, 인간 IgG1 Fc-도메인에 융합된 인간 CD37 의 아미노산 107 내지 235 를 함유함), 및 hCD37-ECD-Fc (Extra Cellular Domain, SEQ ID NO:16, 찢과 IgG2a Fc-도메인에 융합된 인간 CD37 의 아미노산 107 내지 235 를 함유함) 에 결합되는 것을 보여준다. 도 1B 는 2 개의 하이브리도마 서브클론, 1B11-2 및 1B11-20 으로부터의 상청액이, 고유 및 변성 조건 둘 다에서, hCD37-Fc-LAGA 및 hCD37-LEL 에 결합되는 것을 보여준다.
- 도 2** 는 항체 1B11-2 가 참조 항-CD37 항체, NCL-CD37 (클론 CT1, Leica Biosystems) 과 비교하여, 고유의 hCD37-Fc-LAGA 및 hCD37-LEL 단백질 둘 다에 대해 크게 개선된 친화도로 결합하는 것을 보여준다.
- 도 3** 은 항체 1B11-2 가 NCL-CD37 과 비교하여, 변성된 hCD37-LEL 단백질에 크게 개선된 친화도로 결합하는 것을 보여준다.
- 도 4** 는 항체 1B11-2 가 절단된 hCD37-ECD-S2-Fc 단백질 (S2 는 CD37 의 큰 세포외 도메인의 제 2 분절을 말함, 아미노산 138 내지 176 함유, SEQ ID NO:18) 에 결합하지 않는 반면, NCL-CD37 이 상기 CD37 단백질에 대한 결합을 보유하는 것을 보여준다.
- 도 5** 는 NCL-CD37 Mouse mAb (좌) 또는 CD37 1B11-2 Mouse mAb (우) 로 염색된 인간 정상 편도선의 면역조직화학적 이미지를 보여준다. 화살표는 각각, 배 (germinal) 중심, 맨틀 구역 (둘 다 CD37 양성임), 및 분자간 영역 (CD37 음성) 을 나타낸다. 검은색 화살표는 배 중심을 나타내고; 회색 화살표는 맨틀 구역 (둘 다 CD37 양성임) 을 나타내며; 개방 화살표는 소낭간 영역 (이것은 CD37 에 대해 음성임) 을 나타낸다. 핵 염색은 NCL-CD37 항체를 사용하는 배 중심 및 맨틀 구역 둘 다에 존재한다. 1B11-2 항체를 사용하는 핵 염색

이 존재하지 않는다.

**도 6** 은 NCL-CD37 마우스 모노클로날 항체 (mAb) (좌측 패널) 또는 1B11-2 Mouse mAb (우측 패널) 를 사용하는 인간 정상 소장 (상부 패널) 및 인간 정상 췌장 (하부 패널) 의 면역조직화학적 이미지를 보여준다. 좌측 패널 중의 화살표는 NCL-CD37 Mouse mAb 를 사용하여 수득된 파네트 세포 (상부 패널, 검은색 화살표로 나타냄) 및 섬세포 (하부 패널, 개방 화살표로 나타냄) 에서의 세포질 블러쉬 (cytoplasmic blush) 를 나타낸다. 우측 패널 중의 화살표는 본 염색이 1B11-2 항체를 사용하여 상응하는 위치에서 관찰되지 않음을 나타낸다.

**도 7** 은 NCL-CD37 Mouse mAb (좌측 패널) 또는 1B11-2 Mouse mAb (우측 패널) 로 염색된 미만성 거대 B 세포 림프종 환자 조직 (상부 패널) 및 소낭 림프종 환자 조직 (하부 패널) 의 면역조직화학적 이미지를 보여준다. 1B11-2 Mouse mAb 를 사용하여 두 암 유형에서 더 강하고, 좀더 선명한 (crisp) 염색을 볼 수 있다.

**도 8** 은 시판되는 마우스 모노클로날 항-CD37 항체 (Leica) 와 1B11-2 마우스 모노클로날 항체를 비교하는 CD37 세포의 도메인 (ECD) 항원에 대한 Fc-융합의 변성 SDS PAGE 웨스턴 블롯을 보여준다. 킬로 달톤 (kD) 의 분자량 마커는 오른쪽에 일차 데이터로서 그리고 도식적 설명으로 제시된다.

**도 9** 는 1B11-2 마우스 모노클로날 항체에 의해 검출된 CD37 세포의 도메인 (ECD) 항원에 대한 Fc-융합의 Native PAGE 웨스턴 블롯을 보여준다.

**발명을 실시하기 위한 구체적인 내용**

[0044] 본 발명은 인간 CD37 의 검출 방법을 제공한다. 이들 방법은 항-CD37 치료법으로의 치료 효능을 개선하기 위해 CD37 의 발현을 특징으로 하는 암의 확인을 가능하게 한다. 검출 방법은 환자 계층화를 위해, 치료 효능을 모니터링 또는 결정하기 위해, 또는 항-CD37 치료법에 반응하는 암의 가망성을 결정하기 위해 사용될 수 있다. 검출 방법은 CD37 의 임상적으로 관련있는 동적 범위를 검출할 수 있다. CD37 검출 방법 (예를 들어, CD37 에 대한 면역조직화학 (IHC)) 에 유용한, 신규 CD37-결합 폴리펩티드, 예컨대 항체 및 이의 항원-결합 단편이 또한 기재된다. 본원에 제공된 CD37 결합제 (예를 들어, 항체 또는 이의 항원-결합 단편) 는 핵배경 없이 좀더 특이적이고 규정된 염색을 가능하게 한다. CD37 결합제는 CD37 의 하나 이상의 아미노산 110-137 을 포함하는 에피토프에 결합된다. CD37 결합제는 또한 CD37 의 아미노산 107-242 를 포함하는 폴리펩티드 (SEQ ID NO:20) 또는 CD37 의 아미노산 107-235 를 포함하는 폴리펩티드 (SEQ ID NO:19) 에 결합하나, CD37 의 아미노산 138-235 로 이루어지는 폴리펩티드에 결합하지 않는다. 관련된 폴리펩티드 및 폴리뉴클레오티드, CD37-결합제를 포함하는 조성물, 및 CD37-결합제의 제조 방법이 또한 제공된다.

[0045] **I. 정의**

[0046] 본 발명의 이해를 촉진하기 위해, 다수의 용어 및 구절이 아래에서 정의된다.

[0047] 본원에서 사용되는 용어 "CD37" 은 다르게 명시되지 않으면 임의의 고유의 CD37 폴리펩티드를 나타낸다. CD37 은 또한 GP52-40, 백혈구 항원 CD37, 및 테트라스파닌-26 으로 언급된다. 용어 "CD37" 은 "전체-길이," 미가공 CD37 뿐만 아니라 세포에서의 가공으로부터 초래되는 임의의 형태의 CD37 을 포괄한다. 이 용어는 또한 CD37 의 자연 발생적 변이체, 예를 들어, 스플라이스 변이체, 대립형질 변이체, 및 이소형을 포괄한다. 본원에서 기재된 CD37 폴리펩티드는 다양한 출처로부터, 예컨대 인간 생물학적 샘플로부터 또는 또다른 출처로부터 단리되거나, 또는 재조합 또는 합성 방법에 의해 제조될 수 있다.

[0048] CD37 의 "증가된 발현" 또는 "과발현" 이라는 용어는 상승된 수준의 CD37 발현을 함유하는 샘플을 말한다. CD37 은 음성 또는 저 참조 대조군과 비교하여 또는 동일한 조직 또는 세포 유형의 건강한 또는 비-질환 샘플과 비교하여, 증가 또는 과발현될 수 있다. 이러한 증가된 발현 또는 과발현은 예를 들어, 돌연변이, 유전자 증폭, 증가된 전사, 증가된 번역, 또는 증가된 단백질 안정성에 의해 야기될 수 있다.

[0049] 하나의 예에서, CD37 발현은 면역조직화학 (IHC) 및 정의된 점수를 나타내는 교정된 대조군과 비교함으로써 염색 강도 점수 또는 염색 균일성 점수를 제시하여 측정된다 (예를 들어, 강도가 레벨 3 교정된 대조군과 필적하는 경우 시험 샘플에 3 의 강도 점수가 제시되거나, 강도가 레벨 2 교정된 대조군과 필적하는 경우 시험 샘플에 2 의 강도가 제시된다). 불균질한 또는 균질한 염색 균일성은 또한 증가된 CD37 발현의 지표이다. 염색 강도 및 염색 균일성 점수는 단독으로 또는 조합으로 사용될 수 있다 (예를 들어, 2 호모, 2 헤테로, 3 호모, 3 헤테로 등). 또다른 예에서, CD37 발현의 증가는 대조군 값에 대해 적어도 2 배, 적어도 3 배, 또는 적어도 5 배의 증가의 검출에 의해 측정될 수 있다 (예를 들어, 상승된 CD37 값을 갖지 않는, 암이 없는 또는 암이 있는 대상으로부터의 생물학적 샘플, 조직 또는 세포 중의 발현 수준). 또다른 예에서, CD37 발현은 H-점수로

제공된다. H-점수는 본원에 제공된 계산을 사용하여 염색 강도 점수와 균일성 점수를 조합한다. 또다른 예에서, CD37 발현은 적어도 특정 수준의 염색을 갖는 세포의 백분율을 결정함으로써 측정된다 (예를 들어, 세포의 적어도 25% 는 적어도 2 의 점수를 갖거나, 세포의 적어도 75% 는 적어도 2 의 점수를 가짐).

[0050] "참조 샘플" 은 본원에 제공된 방법에서 취득된 결과를 시험 샘플에 연관 및 비교하는데 사용될 수 있다. 참조 샘플은 세포 (예를 들어, 세포주, 세포 펠렛) 또는 조직일 수 있다. "참조 샘플" 중의 CD37 수준은 CD37 의 절대량 또는 상대량, 양의 범위, 최소량 및/또는 최대량, 평균량, 및/또는 중간량일 수 있다. 본원에서 제공되는 진단 방법은 시험 샘플 중의 CD37 의 발현 수준과 "참조값" 사이의 비교를 포함한다. 일부 구현예에서, 참조값은 참조 샘플 중의 CD37 의 발현 수준이다. 참조값은 미리 결정된 값일 수 있고, 또한 시험 샘플과 나란히 시험된 참조 샘플 (예를 들어, 대조 생물학적 샘플 또는 참조 샘플) 로부터 결정될 수 있다. 참조값은 단순 절삭 (cut-off) 값, 예컨대 값의 중앙 또는 평균 또는 범위, 예컨대 신뢰 구간일 수 있다. 참조값은 다양한 서브그룹의 개인, 예컨대 암에 대한 성향이 있는 개인, 초기 또는 후기 암을 가진 개인, 남성 및/또는 여성 개인, 또는 암 치료법을 진행하는 개인에 대해 성립될 수 있다. 음성 참조 샘플 또는 값 및 양성 참조 샘플 또는 값의 예가 본원에 기재된다.

[0051] 일부 구현예에서, 참조 샘플은 건강한 조직, 특히, 암에 의해 영향을 받지 않은 상응하는 조직 또는 CD37 을 과 발현하는 암에 의해 영향을 받지 않은 상응하는 조직으로부터의 샘플이다. 이들 유형의 참조 샘플은 음성 대조 샘플 또는 참조 샘플을 말한다. 다른 구현예에서, 참조 샘플은 CD37 을 발현하는 중앙으로부터의 샘플이다. 이들 유형의 참조 샘플은 양성 대조 샘플을 말한다. 양성 대조 샘플은 또한 유형 (헤테로 대 호 모), 염색 강도의 정도 (0, 1, 2, 3), H-점수, 및/또는 적어도 특정 수준의 염색을 가진 세포의 백분율 (이것은 CD37 발현 수준과 연관됨) 에 대한 비교 지표로서 사용될 수 있다. 양성 대조 비교 샘플은 또한 교정된 참조 샘플로서 언급된다. 저 또는 비-CD37 참조는 본원 실시예에 기재되고, 또한 비장의 적색 속질 (예를 들어, 단핵구 및 적혈구), T-세포, 및 인간 편도선의 소낭간 영역을 포함한다. CD37-발현 참조는 본원 실시예에 기재되고, 또한 비장의 백색 속질 (예를 들어, B 림프구 및 비장의 변연부), 인간 편도선의 배 중심, 및 인간 편도선의 맨틀 구역을 포함한다. 세포주의 경우, 예시적인 비-발현자는 300-19 세포를 포함하고, 발현자는 Daudi, Ramos, Namalwa, 및 RL 비-호지킨 림프종 B 세포를 포함한다. 또다른 양성 고 CD37 참조는 CD37 로 안정적으로 또는 일시적으로 트랜스펙션된 세포주이다 (예를 들어, 300.19/CD37, 미국 공개 출원 번호 2015/0093397 및 PCT 공개 WO 2013/149171 에 기재된 바와 같음, 이들은 각각 참고로서 본원에 인용됨). 특정 암에 대한 CD37 의 적합한 양성 및 음성 참조 수준은 하나 이상의 적합한 대상 중의 CD37 의 수준을 측정함으로써 결정될 수 있고, 이러한 참조 수준은 특정 집단의 대상에 맞춰질 수 있다 (예를 들어, 참조 수준은 연령-부합될 수 있어, 비교가 특정 연령의 대상으로부터의 샘플 중 CD37 수준과 특정 연령 그룹에서의 특정 질환 상태, 표현형, 또는 이의 결핍에 대한 참조 수준 사이에 이루어질 수 있다).

[0052] 본원에서 사용되는 바와 같은, "면역조직화학" 은, 예를 들어, 세포 또는 조직을 분석하는데 사용되는 조직화학 및 면역학적 방법을 말한다. 따라서, 용어 "면역조직화학," "면역세포화학," 및 "면역화학" 은 상호교환적으로 사용된다.

[0053] 본 발명의 "샘플" 또는 "생물학적 샘플" 은 생물학적 기원의 것이고, 특정 구현예에서, 예컨대 진핵 생물 유래이다. 일부 구현예에서, 샘플은 인간 샘플이나, 동물 샘플도 본 발명의 실시에서 사용될 수 있다. 본 발명에서 사용하기 위한 샘플의 비-제한적인 공급원은 예를 들어, 고형 조직, 생검 흡입물, 유동 추출물, 혈액, 혈장, 혈청, 척수액, 림프액, 피부의 외부 섹션, 호흡관, 장관, 및 비뇨생식관, 눈물, 타액, 젖, 종양, 기관, 세포 배양물 및/또는 세포 배양 구성물을 포함한다. "암성 샘플" 은 암성 세포를 함유하는 샘플이다. 본원에 제공되는 방법은 이용가능한 물질의 양이 적은 고형 조직 샘플에서 유용할 수 있다. 본원에 제공되는 방법은 상이한 유형의 세포 또는 조직을 비교하는 것, 및 질환 또는 비정상 존재 및/또는 유형을 검출 또는 측정하는 것을 포함하나 이에 제한되지 않는, CD37 의 발현 양상 또는 샘플의 상태를 시험하는데 사용될 수 있다.

[0054] 본원 목적을 위해, 조직 샘플의 "섹션" 은 조직 샘플의 단일 부분 또는 조각, 예를 들어, 조직의 얇은 슬라이스 또는 조직 샘플로부터 절단된 세포를 말한다. 조직 샘플의 복합 섹션이 취해질 수 있고 본 발명에 따른 분석에 적용될 수 있는 것으로 이해된다. 일부 경우에서, 조직의 선택된 부분 또는 섹션은 세포의 균질 집단을 포함한다. 다른 경우에서, 선택된 부분은 세포의 영역, 예를 들어, 비-제한적인 예로서 내강을 포함한다. 선택된 부분은 예를 들어, 1 개 세포 또는 2 개 세포만큼 작을 수 있거나, 수 천 개의 세포를 나타낼 수 있을 것이다. 대부분의 경우, 세포의 수집은 중요하고, 본 발명은 세포 성분의 검출에 사용하기 위한 것으로 기재되는 반면, 방법은 또한 유기체의 비-세포 성분을 검출하기 위해 사용될 수 있다 (예를 들어, 비

-제한적인 예로서 혈액 중의 가용성 성분).

- [0055] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "포획 시약" 은 적합한 조건 하에서 샘플 중의 표적 분자를 결합 및 포획할 수 있는 시약을 말하고, 포획 시약-표적 분자 복합체는 샘플 나머지로 부터 분리될 수 있다. 하나의 구현예에서, 포획 시약은 고정된다. 하나의 구현예에서, 샌드위치 면역검정 중의 포획 시약은 항체 또는 이의 항원-결합 단편 또는 표적 항원에 대항하는 상이한 항체 또는 이의 항원-결합 단편의 혼합물이다.
- [0056] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "검출가능한" 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 검출 수단에 의해 증폭된 표지를 통해 직접적으로, 또는 예를 들어, 표지화된 또다른 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 통해 간접적으로 검출될 수 있는 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 말한다. 직접 표지화를 위해, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 일부 수단에 의해 검출가능한 모이어티에 전형적으로 콘주게이션된다. 하나의 구현예에서, 검출가능한 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 비오틴화 항체 또는 이의 항원-결합 단편이다.
- [0057] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "검출 수단" 은 검출가능한 항체 또는 이의 항원-결합 단편의 존재를 검출 하는데 사용되는 모이어티 또는 기술을 말하고, 고정된 표지, 예컨대 마이크로타이터 플레이트 상에 포획된 표지를 증폭시키는 검출제를 포함한다. 하나의 구현예에서, 검출 수단은 형광측정 검출제, 예컨대 아비딘 또는 스트렙타비딘이다.
- [0058] 통상 "샌드위치 ELISA" 는 하기 단계를 사용한다: (1) 마이크로타이터 플레이트를 포획 항체 또는 이의 항원-결합 단편으로 코팅하는 단계; (2) 샘플을 첨가하고, 존재하는 임의의 항원이 포획 항체 또는 이의 항원-결합 단편에 결합하는 단계; (3) 검출 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 첨가하고 항원에 결합하는 단계; (4) 효소-연결 2차 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 첨가하고 검출 항체 또는 이의 항원-결합 단편에 결합하는 단계; 및 (5) 기질을 첨가하고, 효소에 의해 검출가능한 형태로 전환되는 단계.
- [0059] 단어 "표지" 는 본원에서 사용될 때 "표지된" 항체를 생성하도록 항체에 직접 또는 간접적으로 콘주게이션된 검출가능한 화합물 또는 조성물을 말한다. 표지는 그 자체로 검출가능할 수 있고 (예를 들어, 방사성동위원소 표지 또는 형광 표지) 또는, 효소 표지의 경우, 검출가능한 기질 화합물 또는 조성물의 화학적 변형을 촉매화할 수 있다.
- [0060] "연관시키다" 또는 "연관시키는" 은, 임의의 방식으로, 첫번째 분석의 성능 및/또는 결과를 두번째 분석의 성능 및/또는 결과와 비교하는 것을 의미한다. 예를 들어, 두번째 분석 실행에서 첫번째 분석의 결과를 사용할 수 있고/거나 두번째 분석이 수행되어야 하는지를 결정하기 위해 첫번째 분석의 결과를 사용할 수 있고/거나 첫번째 분석의 결과를 두번째 분석의 결과와 비교할 수 있다. 하나의 구현예에서, CD37 의 증가된 발현은 CD37-표적화 항암 치료법 효능의 증가된 가망성과 연관된다.
- [0061] 용어 "항체" 는 면역글로불린 분자의 가변 영역 내의 적어도 하나의 항원 인지 부위를 통해, 표적, 예컨대 단백질, 폴리펩티드, 펩티드, 탄수화물, 폴리뉴클레오티드, 지질, 또는 상기의 조합을 인지하고 이들에 특이적으로 결합하는 면역글로불린 분자를 의미한다. 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "항체" 는 항체가 원하는 생물학적 활성을 나타내기만 한다면, 온전한 폴리클로날 항체, 온전한 모노클로날 항체, 다중특이적 항체, 예컨대 적어도 2 개의 온전한 항체로부터 생성된 이중특이적 항체, 키메라 항체, 인간화 항체, 인간 항체, 항체를 포함하는 융합 단백질, 및 임의의 다른 개질된 면역글로불린 분자를 포함한다. 항체는 알파, 델타, 엡실론, 감마, 및 뮤로, 각각 불리는 이들의 중쇄 불변 도메인의 일치성에 근거하여, 5 가지 주요 클래스의 면역글로불린: IgA, IgD, IgE, IgG, 및 IgM, 또는 이의 서브클래스 (이소형) (예를 들어, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 및 IgA2) 중 임의의 것일 수 있다. 상이한 클래스의 면역글로불린은 상이하고 잘 알려진 서브유닛 구조 및 3 차원 배열을 갖는다. 항체는 나이키드 (naked) 이거나, 독소, 방사성동위원소, 등과 같은 다른 분자에 콘주게이션될 수 있다.
- [0062] 용어 "항체 단편" 은 온전한 항체의 일부를 말한다. "항원-결합 단편" 은 항원에 결합하는 온전한 항체의 일부를 말한다. 항원-결합 단편은 온전한 항체의 항원 결정 가변 영역을 함유할 수 있다. 항체 단편의 예는 Fab, Fab', F(ab')<sub>2</sub>, 및 Fv 단편, 선형 항체, 및 단일 사슬 항체를 포함하나, 이에 제한되지 않는다. 항체의 "항원-결합 단편" 이라는 용어 내에 포함되는 항체 단편의 예는 (제한 없이): (i) VL, VH, CL 및 CH1 도메인으로 이루어지는 1 가 단편인, Fab 단편 (예를 들어, 파파인에 의해 소화된 항체는 3 개의 단편을 산출한다: 2 개의 항원-결합 Fab 단편, 및 항원에 결합하지 않는 1 개의 Fc 단편); (ii) 힌지 영역에서 디설파이드 브릿지에 의해 연결된 2 개의 Fab 단편을 포함하는 2 가 단편인, F(ab')<sub>2</sub> 단편 (예를 들어, 파파인에 의해 소화된 항체는 2 개의 단편을 산출한다: 2 가 항원-결합 F(ab')<sub>2</sub> 단편, 및 항원에 결합하지 않는 pFc' 단편) 및

이의 관련된 F(ab')<sub>1</sub> 가 단위; (iii) VH 및 CH1 도메인으로 이루어지는 Fd 단편 (즉, Fab 에 포함되는 중쇄의 일부); (iv) 항체의 단일 분자의 VL 및 VH 도메인으로 이루어지는 Fv 단편, 및 관련 디설파이드 연결된 Fv; 및 (v) VH 도메인으로 이루지는, dAb (도메인 항체) 또는 sdAb (단일 도메인 항체) 단편 (Ward et al., Nature 341:544-546, 1989) 을 포함한다.

[0063] 일부 구현예에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 비-자연 발생적 항체이다. 일부 구현예에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 천연 성분으로부터 정제된다. 일부 구현예에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 재조합적으로 생성된다. 일부 구현예에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 하이브리도마에 의해 생성된다.

[0064] "차단" 항체 또는 "길항" 항체는, CD37 과 같은, 이것이 결합하는 항원의 생물학적 활성을 억제 또는 감소시키는 항체이다. 특정 구현예에서, 차단 항체 또는 길항 항체는 항원의 생물학적 활성을 실질적으로 또는 완전히 억제한다. 바람직하게는, 생물학적 활성은 10%, 20%, 30%, 50%, 70%, 80%, 90%, 95%, 또는 심지어 100% 감소된다.

[0065] 용어 "항-CD37 항체" 또는 "CD37 에 결합하는 항체" 는 항체가 CD37 을 표적하는데 진단제 및/또는 치료제로서 유용한 정도의 충분한 친화도로 CD37 에 결합할 수 있는 항체를 말한다. 항-CD37 항체의 비관련된, 비-CD37 단백질에 대한 결합 범위는 예를 들어, 방사면역측정법 (RIA) 에 의해 측정된 바와 같이 CD37 에 대한 항체의 결합의 약 10% 미만이다. 특정 구현예에서, CD37 에 결합하는 항체는  $\leq 1 \mu\text{M}$ ,  $\leq 100 \text{ nM}$ ,  $\leq 10 \text{ nM}$ ,  $\leq 1 \text{ nM}$ , 또는  $\leq 0.1 \text{ nM}$  의 해리 상수 (Kd) 를 갖는다. 항-CD37 항체의 예는 당업계에 잘 알려져 있고, 예를 들어, 참고로서 본원에 인용된, 미국 공개 출원 번호 2011/0256153 에 기재되어 있다.

[0066] "모노클로날" 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 단일 항원 결정인자, 또는 에피토프의 고도로 특이적인 인지 및 결합에 관여하는 동종 항체 또는 항원-결합 단편 집단을 나타낸다. 이는 상이한 항원 결정인자에 대해 지향성인 상이한 항체를 전형적으로 포함하는 폴리클로날 항체와 대조적이다. 용어 "모노클로날" 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 온전한 및 전체-길이 모노클로날 항체 뿐만 아니라 항체 단편 (예컨대 Fab, Fab', F(ab')<sub>2</sub>, Fv), 단일 사슬 (scFv) 돌연변이체, 항체 부분을 포함하는 융합 단백질, 및 항원 인지 부위를 포함하는 임의의 기타 개질 면역글로불린 분자를 포괄한다. 더욱이, "모노클로날" 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 하이브리도마, 파지 선별, 재조합 발현, 및 트랜스제닉 동물을 포함하나 이에 제한되지 않는 임의의 수의 방식으로 만들어진 그러한 항체 및 이의 항원-결합 단편을 나타낸다.

[0067] 용어 "인간화된" 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 최소 비-인간 (예를 들어, 쥐) 서열을 함유하는 특이적 면역글로불린 사슬, 키메라 면역글로불린, 또는 이의 단편인 비-인간 (예를 들어, 쥐) 항체 또는 항원-결합 단편의 형태를 말한다. 전형적으로, 인간화 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 상보성 결정 영역 (CDR) 으로부터의 잔기가 원하는 특이성, 친화도, 및 역량을 갖는 비-인간 중 (예를 들어, 마우스, 래트, 토끼, 햄스터) 의 CDR 로부터의 잔기에 의해 대체된 인간 면역글로불린이다 (Jones et al., 1986, Nature, 321:522-525; Riechmann et al., 1988, Nature, 332:323-327; Verhoeyen et al., 1988, Science, 239:1534-1536). 일부 구현예에서, 인간 면역글로불린의 Fv 프레임워크 영역 (FR) 잔기는 원하는 특이성, 친화도, 및 역량을 갖는 비-인간 종으로부터의 항체 또는 단편 내의 상응하는 잔기로 대체된다. 인간화 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 항체 또는 이의 항원-결합 단편 특이성, 친화도, 및/또는 역량을 조정하고 최적화시키기 위해 Fv 프레임워크 영역 내의 및/또는 대체된 비-인간 잔기 내의 부가적인 잔기의 치환에 의해 추가로 개질될 수 있다. 일반적으로, 인간화 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 비-인간 면역글로불린에 상응하는 모든 또는 실질적으로 모든 CDR 영역을 함유하는 반면, 모든 또는 실질적으로 모든 FR 영역이 인간 면역글로불린 공통 서열의 것인, 실질적으로 모든, 적어도 하나의, 및 전형적으로 2 개 또는 3 개의, 가변 도메인을 포함할 것이다. 인간화 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 또한 전형적으로 인간 면역글로불린의 것인, 면역글로불린 불변 영역 또는 도메인 (Fc) 의 적어도 일부를 포함할 수 있다. 인간화 항체를 생성하는데 사용되는 방법의 예는 U.S. Pat. 5,225,539 또는 5,639,641 에 기재된다.

[0068] 본원에서 용어 "1 차" 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 샘플 중의 표적 단백질 항원에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 말한다. 1 차 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 일반적으로 면역조직화학 절차에서 사용되는 첫번째 항체 또는 이의 항원-결합 단편이다. 하나의 구현예에서, 1 차 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 면역조직화학 절차에서 사용되는 유일한 항체 또는 이의 항원-결합 단편이다. 용어 "2 차" 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 본원에서 1 차 항체 또는 이의 항원-결합 단편에 특이적으로 결합하여, 이에 의해 1 차 항체 또는 이의 항원-결합 단편과 후속 시약 (있다면) 사이의 브릿지를 형성하는 항체 또는 이

의 항원-결합 단편을 말한다. 2 차 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 면역조직화학 절차에서 사용되는 일반적으로 두번째 항체 또는 이의 항원-결합 단편이다. 용어 "3 차" 항체는 본원에서 2 차 항체 또는 이의 항원-결합 단편에 특이적으로 결합하여, 이에 의해 2 차 항체 또는 이의 항원-결합 단편과 후속 시약 (있다면) 사이의 브릿지를 형성하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 말한다.

[0069] 항체 또는 이의 항원-결합 단편의 "가변 영역" 은 단독으로 또는 조합으로의, 항체 경쇄의 가변 영역 또는 항체 중쇄의 가변 영역을 말한다. 중쇄 및 경쇄의 가변 영역 각각은 또한 과가변 영역으로도 알려져 있는 3 개의 상보성 결정 영역 (CDR) 에 의해 연결된 4 개의 프레임워크 영역 (FR) 으로 이루어진다. 각 사슬 중의 CDR 은 FR 에 의해 아주 인접하여 함께 유지되고, 다른 사슬로부터의 CDR 와 함께, 항원의 항원-결합 부위의 형성에 기여한다. CDR 을 결정하는데 적어도 2 개의 기술이 있다: (1) 교차중 서열 가변성에 기반한 접근법 (즉, Kabat et al. Sequences of Proteins of Immunological Interest, (5th ed., 1991, National Institutes of Health, Bethesda Md.)); 및 (2) 항원-항체 복합체의 결정학 연구에 기반한 접근법 (Al-lazikani et al (1997) J. Molec. Biol. 273:927-948)). 부가적으로, 상기 2 가지 접근법의 조합이 종종, CDR 을 결정하기 위해 당업계에서 사용된다.

[0070] Kabat 넘버링 시스템이 일반적으로 가변 도메인 중의 잔기를 말할 때 사용된다 (경쇄의 대략 잔기 1-107 및 중쇄의 잔기 1-113) (예를 들어, Kabat et al., Sequences of Immunological Interest. 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991)).

[0071] Kabat 에서 넘버링되는 아미노산 위치는, Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991) 에서 항체의 편집의 중쇄 가변 도메인 또는 경쇄 가변 도메인에 사용되는 넘버링 시스템을 말한다. 상기 넘버링 시스템을 사용하여, 실제 선형 아미노산 서열은 가변 도메인의 FR 또는 CDR 의 단축, 또는 그 내로의 삽입에 상응하는 소수의 또는 부가적인 아미노산을 함유할 수 있다. 예를 들어, 중쇄 가변 도메인은 H2 의 잔기 52 뒤에 단일 아미노산 삽입물 (Kabat 에 따라 잔기 52a) 및 중쇄 FR 잔기 82 뒤에 삽입된 잔기 (예를 들어, Kabat 에 따라 잔기 82a, 82b, 및 82c 등) 를 포함할 수 있다. 잔기의 Kabat 넘버링은 항체 서열의 상동성 영역에서 "표준" Kabat 넘버링된 서열과의 정렬에 의해 제시된 항체에 대해 측정될 수 있다. Chothia 는 대신에 구조적인 루프 (loop) 의 위치를 나타낸다 (Chothia and Lesk J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987)). Kabat 넘버링 방식을 이용하여 넘버링할 때 Chothia CDR-H1 루프의 말단은 루프의 길이에 따라 H32 와 H34 사이에서 달라진다 (이는 Kabat 넘버링 양식이 H35A 및 H35B 에 삽입을 배치하기 때문이다; 35A 와 35B 둘다 존재하지 않는 경우에, 루프는 32 에서 끝난다; 35A 만 존재하는 경우에, 루프는 33 에서 끝난다; 35A 및 35B 둘다 존재하는 경우에, 루프는 34 에서 끝난다). AbM 과가변 영역은 Kabat CDR 과 Chothia 구조적 루프 사이의 절충점을 제시하고, Oxford Molecular 의 AbM 항체 모델링 소프트웨어에 의해 사용된다.

루프	Kabat	AbM	Chothia
L1	L24-L34	L24-L34	L24-L34
L2	L50-L56	L50-L56	L50-L56
L3	L89-L97	L89-L97	L89-L97
H1	H31-H35B	H26-H35B (Kabat 넘버링)	H26-H32..34
H1	H31-H35	H26-H35 (Chothia 넘버링)	H26-H32
H2	H50-H65	H50-H58	H52-H56
H3	H95-H102	H95-H102	H95-H102

[0072]

[0073] 용어 "인간" 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 인간에 의해 생산된 항체 또는 이의 항원-결합 단편 또는 당해 분야에 알려진 임의의 기술을 사용하여 만들어진 인간에 의해 생산된 항체 또는 이의 항원-결합 단편에 상응하는 아미노산 서열을 갖는 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 의미한다. 인간 항체 또는 이의 항원-결합 단편의 이러한 정의는 온전한 또는 전체-길이 항체, 이의 단편을 포함한다.

[0074] 용어 "키메라" 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 아미노산 서열이 둘 이상의 종으로부터 유래된 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 나타낸다. 전형적으로, 경쇄 및 중쇄 둘다의 가변 영역은 요망되는 특이성, 친화도, 및 역량을 갖는 포유류 (예를 들어, 마우스, 래트, 토끼, 등) 중 한 종으로부터 유래된 항체 또는 이의 항원-결합 단편의 가변 영역에 상응하지만, 불변 영역은 또다른 종 (통상적으로 인간) 으로부터 유래된 항체 또는 이의 항

원-결합 단편 중의 서열에 상동성이어서 그 중에서 번역 응답을 유발하는 것을 회피한다.

- [0075] 용어 "에피토프" 또는 "항원 결정인자" 는 본원에서 상호교환적으로 사용되고, 특정 항체 또는 이의 항원-결합 단편에 의해 인지되고 특이적으로 결합될 수 있는 항원의 부분을 나타낸다. 상기 항원이 폴리펩티드일 때, 에피토프는 단백질의 3차원 폴딩 (tertiary folding) 에 의해 나란히 놓인 인접 아미노산 및 비인접 아미노산으로부터 둘다 형성될 수 있다. 인접 아미노산으로부터 형성된 에피토프는 전형적으로 단백질 변성시 유지되지만, 3차원 폴딩에 의해 형성된 에피토프는 전형적으로 단백질 변성시 손실된다. 에피토프는 전형적으로 적어도 3, 더욱 통상적으로는, 적어도 5 또는 8-10 개의 아미노산을 독특한 공간 구성으로 포함한다.
- [0076] "결합 친화도" 는 일반적으로 분자 (예를 들어, 항체) 및 그것의 결합 상대 (예를 들어, 항원) 의 단일 결합 부위 사이의 비공유적 상호작용의 총합계의 강도를 나타낸다. 다르게 명시되지 않으면, 본원에서 사용되는, "결합 친화도" 는 결합쌍의 구성원 (예를 들어, 항체 및 항원) 사이의 1:1 상호작용을 반영하는 고유의 결합 친화도를 나타낸다. 상대 Y 에 대한 분자 X 의 친화도는 일반적으로 해리 상수 (Kd) 로 표시될 수 있다. 친화도는 본원에 기재된 것을 포함하여 당해 분야에 알려진 통상적 방법에 의해 측정될 수 있다. 저-친화도 항체는 일반적으로 항원에 느리게 결합하고 신속하게 해리하는 경향이 있지만, 고-친화도 항체는 일반적으로 항원에 더 빠르게 결합하고 더 오래 결합된 상태로 유지되는 경향이 있다. 결합 친화도를 측정하는 다양한 방법이 당해 분야에 알려져 있으며, 이들 중 임의의 하나가 본 발명의 목적을 위해 사용될 수 있다. 특정한 예시적 구현예가 아래에 기술된다.
- [0077] 본원에서 결합 친화도를 나타낼 때 사용되는 "또는 더 양호한" 은 분자와 그것의 결합 상대 사이의 더 강한 결합을 나타낸다. 본원에서 더 강한 결합을 나타낼 때 사용되는 "또는 더 양호한" 은 더 작은 수치의 Kd 값으로 표시되는, 더 강한 결합을 나타낸다. 예를 들어, 항원에 대한 항체의 친화도가 "0.6 nM 또는 더 양호한" 일 때, 항원에 대한 항체의 친화도는 <0.6 nM, 즉, 0.59 nM, 0.58 nM, 0.57 nM 등 또는 0.6 nM 미만의 임의의 값이다.
- [0078] 본원에서 사용되는 구절 "실질적으로 유사한" 또는 "실질적으로 동일한" 은 당업자가 두 개의 값 사이의 차이를 상기 값 (예를 들어, Kd 값) 에 의해 측정되는 생물학적 특성의 맥락에서 생물학적 및/또는 통계적 유의성이 거의 없거나 없는 것으로 여길 정도로, 충분히 높은 정도의 두 개의 수치 값 (일반적으로 하나는 본 발명의 항체와 관련되고 다른 하나는 기준/비교자 (comparator) 항체와 관련됨) 사이의 유사성을 의미한다. 상기 두 개의 값 사이의 차이는 기준/비교자 항체에 대한 값의 함수로서 약 50% 미만, 약 40% 미만, 약 30% 미만, 약 20% 미만, 또는 약 10% 미만이다.
- [0079] "단리된" 폴리펩티드, 항체, 폴리뉴클레오티드, 벡터, 세포, 또는 조성물은 자연에서 발견되지 않는 형태인 폴리펩티드, 항체, 폴리뉴클레오티드, 벡터, 세포, 또는 조성물이다. 단리된 폴리펩티드, 항체, 폴리뉴클레오티드, 벡터, 세포 또는 조성물은 더 이상 자연에서 발견되지 않는 형태인 정도로 정제된 것들을 포함한다. 일부 구현예에서, 단리된 항체, 폴리뉴클레오티드, 벡터, 세포, 또는 조성물은 실질적으로 순수하다.
- [0080] 본원에서 사용되는 "실질적으로 순수하다" 는 적어도 50% 순수 (즉, 오염물질이 없음), 적어도 90% 순수, 적어도 95% 순수, 적어도 98% 순수, 또는 적어도 99% 순수한 물질을 나타낸다.
- [0081] 본원에서 사용되는 용어 "면역콘주게이트" 또는 "콘주게이트" 는 세포 결합제 (즉, 항-CD37 항체 또는 이의 항원-결합 단편) 에 연결되어 있는 화합물 또는 이의 유도체를 나타내고, 일반식: C-L-A 에 의해 정의되며, 식에서 C = 세포독소, L = 링커, 및 A = 세포-결합제 또는 항-CD37 항체 또는 이의 항원-결합 단편이다. 면역콘주게이트는 또한 역순의 일반식: A-L-C 에 의해 정의될 수 있다.
- [0082] "링커" 는 화합물, 통상적으로 약물, 예컨대 메이탄시노이드를 세포-결합제, 예컨대 항 CD37 항체 또는 이의 단편에 안정적, 공유적 방식으로 연결할 수 있는 임의의 화학적 모이어티이다. 링커는 화합물 또는 항체가 활성으로 유지되는 조건 하에서, 산-유도 절단, 광-유도 절단, 펩티다아제-유도 절단, 에스테라아제 유도 절단, 및 디설파이드 결합 절단에 취약하거나 실질적으로 저항성일 수 있다. 적합한 링커가 당해 분야에 잘 알려져 있고, 예를 들어, 디설파이드 기, 티오에테르 기, 산 불안정성 기, 광불안정성 기, 펩티다아제 불안정성 기 및 에스테라아제 불안정성 기를 포함한다. 링커는 또한 본원에 기재되고 당업계에 공지된 하전된 링커, 및 이의 친수성 형태를 포함한다.
- [0083] 용어 "암" 및 "암성 (cancerous)" 은 세포의 집단이 조절되지 않는 세포 성장을 특징으로 하는 포유류에서의 생리적 상태를 언급 또는 기술한다. 암의 예는 암종, 림프종, 모세포종, 육종, 및 백혈병을 포함하나 이에 제한되지 않는다. "암" 또는 "종양형성" 질환의 더욱 특정한 예는 NHL, 전구체 B-세포 림프모구성 백혈병/림

프종 및 성숙 B-세포 신생물을 포함하는 B-세포 림프종, 예컨대 B-세포 만성 림프구성 백혈병 (CLL)/소형 림프구성 림프종 (SLL), B-세포 전림프구성 백혈병, 림프구형질세포 림프종, 맨틀 세포 림프종 (MCL), 저-등급, 중간-등급 및 고-등급 FL 을 포함하는 소낭 림프종 (FL), 피부 모낭 중심 림프종, 변연부 B-세포 림프종 (MALT 유형, 결절 및 비장 유형), 모발상 세포 백혈병, 미만성 거대 B-세포 림프종 (DLBCL), 버킷 림프종 (BL), 형질세포종, 형질 세포 골수종, 이식후 림프구증식 장애, 및 역성형 거대-세포 림프종 (ALCL) 을 포함한다. 일부 구현예에서, 암은 백혈병 또는 림프종이다.

- [0084] "종양" 및 "신생물 (neoplasm)" 은, 전-암성 (pre-cancerous) 병변을 비롯하여 양성 (비-암성) 또는 악성 (암성) 인, 과도한 세포 성장 또는 증식으로부터 초래되는 임의의 덩어리를 나타낸다.
- [0085] 용어 "암 세포", "종양 세포" 및 문법적 등가어는 종양 세포 집단의 벌크 (bulk) 를 포함하는 비-종양형성 세포, 및 종양형성 줄기 세포 (암 줄기 세포) 를 둘다 포함하는 종양 또는 전-암성 병변에서 유래하는 세포의 총 집단을 나타낸다. 본원에서 사용되는 용어 "종양 세포" 는 암 줄기 세포와 이들 종양 세포를 구분하기 위해 재생 및 분화 능력을 결여하는 종양 세포만을 언급할 때 용어 "비-종양형성" 에 의해 수식될 것이다.
- [0086] 용어 "대상" 은 특정 치료의 수용자가 되는, 인간, 비-인간 영장류, 설치류, 등을 포함하나 이에 제한되지 않는, 임의의 동물 (예를 들어, 포유류) 을 나타낸다. 전형적으로, 용어 "대상" 및 "환자" 는 인간 대상과 관련하여 본원에서 상호교환적으로 사용된다.
- [0087] "화학치료제" 는 작용 메커니즘과 관계 없이, 암의 치료에 유용한 화학적 화합물이다. 화학치료제의 클래스는 알킬화제, 항대사성물질, 방추체 저해제 식물 알칼로이드, 세포독성/항종양 항생제, 토포이소머라아제 억제제, 항체, 감광제, 및 키나아제 억제제를 포함하나 이에 제한되지 않는다. 화학치료제는 "표적화 치료법" 및 통상의 화학치료법에서 사용되는 화합물을 포함한다.
- [0088] 하나 이상의 추가의 치료제와의 "조합으로의" 투여는 동시 (병행) 및 임의의 순서의 연속 투여를 포함한다.
- [0089] 용어 "약학적 제형" 은 활성 성분의 생물학적 활성이 효과적인 것을 허용하고, 제형이 투여될 대상에게 수용될 수 없게 독성인 부가적인 성분을 함유하지 않는 형태인 제제를 나타낸다. 제형은 살균될 수 있다.
- [0090] 본원에서 개시된 "유효량" 의 항체, 이의 항원-결합 단편 또는 면역큰주게이트는 구체적으로 언급된 목적을 수행하기 위해 충분한 양이다. "유효량" 은 언급된 목적과 관련하여 경험적으로 및 일상적 방식으로 결정될 수 있다.
- [0091] 용어 "치료적 유효량" 은 대상 또는 포유류에서 질환 또는 장애를 "치료"하기에 효과적인 항체, 이의 항원-결합 단편 또는 다른 약물의 양을 나타낸다. 암의 경우에, 약물의 치료적 유효량은 암 세포의 수를 감소; 종양 크기를 감소; 말초 기관으로의 암 세포의 침입을 저해 (즉, 어느 정도로 둔화 및 특정 구현예에서 중단); 종양 전이를 저해 (즉, 어느 정도로 둔화 및 특정 구현예에서 중단); 종양 성장을 어느 정도로 저해; 암과 관련된 증상 중 하나 이상을 어느 정도로 완화; 및/또는 호의적 응답 예컨대 증가된 무진행 생존 (progression-free survival) (PFS), 무질환 생존 (disease-free survival) (DFS), 또는 전체 생존 (overall survival) (OS), 완전한 응답 (complete response) (CR), 부분적인 응답 (partial response) (PR), 또는, 일부 경우에, 안정 질환 (stable disease) (SD), 진행성 질환 (progressive disease) (PD) 의 감소, 진행까지의 시간 (time to progression) (TTP) 의 감소 또는 이들의 임의의 조합을 초래할 수 있다. 본 명세서의 "치료" 의 정의를 참조한다. 약물이 기존 암 세포 성장을 방지하고/하거나 사멸할 수 있는 정도까지, 약물은 세포증식억제성 및/또는 세포독성일 수 있다. 특정 구현예에서, 증가된 CD37 수준의 확인은 CD37-표적화 치료법의 감소된 양의 투여가 높은 투여량에서 관찰되는 것과 동일한 치료 효과를 달성하는 것을 가능하게 한다. "예방적 유효량" 은 요망되는 예방적 결과를 달성하기 위해, 필수적인 투여량 및 시간에서, 효과적인 양을 나타낸다. 전형적으로 그러나 반드시 그렇지는 않지만, 예방적 투여량은 질환 전 또는 질환의 초기 단계에 대상에서 사용되므로, 예방적 유효량은 치료적 유효량 보다 더 적을 것이다.
- [0092] 용어 "유리하게 응답한다" 는 일반적으로 대상에서 유익한 상태를 야기하는 것을 나타낸다. 암 치료에 관하여, 이 용어는 대상에 치료 효과를 제공하는 것을 나타낸다. 암에서의 양성 치료 효과는 다수의 방식으로 측정될 수 있다 (참고, W.A. Weber, J. Nucl. Med. 50:1S-10S (2009)). 예를 들어, 종양 성장 저해, 분자 마커 발현, 혈청 마커 발현, 및 분자 이미징 기술이 모두 항-암 치료제의 치료 효능을 평가하는데 사용될 수 있다. 종양 성장 저해에 관하여, NCI 표준에 따르면, T/C ≤42% 는 항-종양 활성의 최소 수준이다. T/C <10% 는 높은 항-종양 활성 수준으로 여겨지며, 이 때 T/C (%) = 치료군의 종양 중양 부피 / 대조군의 종양 중양 부피 x 100 이다. 호의적 응답은, 예를 들어, 증가된 무진행 생존 (PFS), 무질환 생존 (DFS), 또는 전체

생존 (OS), 완전한 응답 (CR), 부분적인 응답 (PR), 또는, 일부 경우에, 안정 질환 (SD), 진행성 질환 (PD) 의 감소, 진행까지의 시간 (TTP) 의 감소 또는 이들의 임의의 조합에 의해 평가될 수 있다.

- [0093] PFS, DFS, 및 OS 는 미국 국립 암 연구소 및 미국 식품의약국에 의해 신규 약물의 승인에 관해 수립된 표준에 의해 측정될 수 있다. Johnson et al, (2003) J. Clin. Oncol. 21(7):1404-1411 을 참고한다.
- [0094] "무진행 생존" (PFS) 은 등록으로부터 질환 진행 또는 사망까지의 시간을 나타낸다. NHL 환자의 경우, PFS 는 International Harmonization Project's Revised Response Criteria for Malignant Lymphoma (Cheson et al, J Clin Oncol. 25:579-86 (2007), 이것은 그 전체가 참조로서 본원에 인용됨) 에서 제공되는 표준을 사용하여 측정될 수 있다. CLL 환자의 경우, PFS 는 National Cancer Institute (NCI) International Workshop on CLL Response Criteria (Hallek et al, Blood, 111:5446-56 (2008), 이것은 그 전체가 참조로서 본원에 인용됨) 에서 제공되는 표준을 사용하여 측정될 수 있다. 호지킨 및 비-호지킨 림프종 환자의 경우, PFS 는 Lugano Classification standards (Cheson et al, J Clin Oncol. 32:3059-68 (2014)) 를 사용하여 측정될 수 있다. 일반적으로, 무진행 생존은 환자가 암이 더 악화되지 않은 상태로 살아 남는 상황을 나타낸다.
- [0095] "중양 진행까지의 시간" (TTP) 은 등록으로부터 질환 진행까지의 시간으로서 정의된다. NHL 환자의 경우, TTP 는 International Harmonization Project's Revised Response Criteria for Malignant Lymphoma (Cheson et al, J Clin Oncol. 25:579-86 (2007), 이것은 그 전체가 참조로서 본원에 인용됨) 에서 제공되는 표준을 사용하여 측정될 수 있다. CLL 환자의 경우, TTP 는 National Cancer Institute (NCI) International Workshop on CLL Response Criteria (Hallek et al, Blood, 111:5446-56 (2008), 이것은 그 전체가 참조로서 본원에 인용됨) 에서 제공되는 표준을 사용하여 측정될 수 있다. 호지킨 및 비-호지킨 림프종 환자의 경우, TTP 는 Lugano Classification standards (Cheson et al, J Clin Oncol. 32:3059-68 (2014)) 를 사용하여 측정될 수 있다.
- [0096] "완전한 응답" 또는 "완전한 차도" 또는 "CR" 은 치료에 대한 응답으로 종양 또는 암의 모든 징후의 소멸을 나타낸다. 이는 항상 암이 치유되었음을 의미하는 것은 아니다.
- [0097] "부분적 응답" 또는 "PR" 은 치료에 대한 응답으로 하나 이상의 종양 또는 병변의 크기 또는 부피의 감소, 또는 신체에서 암의 정도의 감소를 나타낸다.
- [0098] "안정 질환" 은 진행 또는 악화 없는 질환을 나타낸다. 안정 질환에서는 부분적인 응답의 자격을 얻기에 충분한 종양 수축도 진행성 질환으로 자격을 얻기에 충분한 종양 증가도 없다.
- [0099] "진행성 질환" 은 하나 더의 새로운 병변 또는 종양의 출현 및/또는 기존 비-표적 병변의 명백한 진행을 나타낸다. 진행성 질환은 또한, 종양의 덩어리 또는 확산의 증가로 인한, 처리가 시작된 이후 20 퍼센트 초과 의 종양 성장을 나타낼 수 있다.
- [0100] "무질환 생존" (DFS) 은 환자가 질환에서 자유로운 상태로 유지되는 처리 동안 및 후의 시간의 길이를 나타낸다.
- [0101] "전체 생존" (OS) 은 환자 등록으로부터 사망까지 또는 살아 있다고 마지막으로 알려진 일자로 검열된 시간을 나타낸다. OS 는 고유의 또는 미처리 개체 또는 환자와 비교할 때 기대 수명의 연장을 포함한다. 전체 생존은, 예를 들어, 진단 또는 치료 시간으로부터 정해진 시간, 예컨대 1 년, 5 년 등 동안 환자가 살아 있는 상황을 나타낸다.
- [0102] 용어들 "치료하는" 또는 "치료" 또는 "치료하는 것" 또는 "완화하는" 또는 "완화하는 것" 은 진단된 병리적 상태 또는 장애를 치유, 둔화, 증상 경감, 및/또는 진행 중지하는 치료적 조치를 나타낸다. 따라서, 치료를 필요로 하는 대상은 이미 장애를 갖는 것으로 진단받은 또는 장애를 갖는 것으로 의심되는 대상을 포함한다. 특정 구현예에서, 환자가 다음 중 하나 이상을 보이는 경우에 대상은 본 발명의 방법에 따라 암에 관해 성공적으로 "치료된다": 암 세포의 수의 감소 또는 완전한 부재; 종양 부하의 감소; 예를 들어, 연 조직 및 뼈로의 암의 확산을 비롯한, 말초 기관으로의 암 세포 침투의 저해 또는 부재; 종양 전이의 저해 또는 부재; 종양 성장의 저해 또는 부재; 특정 암과 관련된 하나 이상의 증상의 완화; 감소된 이환율 (morbidity) 및 사망률 (mortality); 삶의 질의 개선; 종양의 종양형성성, 종양형성 빈도, 또는 종양형성 능력의 감소; 종양 내 암 줄기 세포의 수 또는 빈도의 감소; 종양형성 세포의 비-종양형성 상태로의 분화; 증가된 무진행 생존 (PFS), 무질환 생존 (DFS), 또는 전체 생존 (OS), 완전한 응답 (CR), 부분적인 응답 (PR), 안정 질환 (SD), 진행성 질환 (PD) 의 감소, 진행까지의 시간 (TTP) 의 감소, 또는 이들의 임의의 조합.

- [0103] 예방적 또는 방지적 조치는 표적이 되는 병리적 상태 또는 장애의 발달을 방지 및/또는 둔화시키는 치료적 조치를 나타낸다. 따라서, 예방적 또는 방지적 조치를 필요로 하는 대상은 장애를 갖기 쉬운 대상체; 및 장애가 방지되어야 하는 대상을 포함한다.
- [0104] 본원에 사용되는 바와 같은, 용어 "헬스케어 제공자" 는 살아있는 대상, 예를 들어, 인간 환자와 직접 상호작용하여 이에 투여하는 개인 또는 기관을 말한다. 헬스케어 제공자의 비-제한적인 예는 의사, 간호사, 기술자, 치료사, 약사, 상담사, 대체 의학 종사자, 의료 시설, 의사 사무실, 병원, 응급실, 진료소, 긴급 치료 센터, 대체 의학 클리닉/시설, 및 일반 의학, 특수 의학, 수술, 및/또는 임의의 다른 유형의 치료, 평가, 유지, 치료법, 약물치료 및/또는 조언을 포함하나 이에 제한되지 않는 환자의 건강 상태 모두 또는 이의 일부와 연관되어, 일반 및/또는 특수 치료, 평가, 유지, 치료법, 약물치료, 및/또는 조언을 제공하는 기타 기관을 포함한다.
- [0105] 일부 양상에서, 헬스케어 제공자는 암을 치료하기 위한 치료법을 투여할 수 있거나 또다른 헬스케어 제공자에게 투여하도록 지시할 수 있다. 본원에서 사용되는 바와 같은 치료법의 "투여" 는 대상에게 치료법을 처방하는 것 뿐 아니라, 대상에게 치료법을 전달, 적용 또는 제공하는 것을 포함한다. 헬스케어 제공자는 하기 행위를 수행하도록 또다른 헬스케어 제공자 또는 환자에게 시행 또는 지시할 수 있다: 샘플 획득, 샘플 처리, 샘플 제출, 샘플 수신, 샘플 이송, 샘플 분석 또는 측정, 샘플 정량, 샘플의 분석/측정/정량 후 획득된 결과의 제공, 샘플의 분석/측정/정량 후 획득된 결과의 수신, 하나 이상의 샘플의 분석/측정/정량 후 획득된 결과의 비교/점수화, 하나 이상의 샘플로부터의 비교/점수의 제공, 하나 이상의 샘플로부터의 비교/점수의 획득, 치료법 또는 치료제 (예를 들어, CD37 결합제) 의 투여, 치료법의 투여 개시, 치료법의 투여 중지, 치료법의 투여 지속, 치료법의 투여 일시적 중단, 투여된 치료제의 양 증가, 투여된 치료제의 양 감소, 상당한 치료제의 투여 지속, 치료제의 투여 빈도 증가, 치료제의 투여 빈도 감소, 치료제에 대한 동일한 투여 빈도 유지, 치료법 또는 치료제의 적어도 또다른 치료법 또는 치료제에 의한 대체, 치료법 또는 치료제와 적어도 또다른 치료법 또는 부가적인 치료제의 조합. 이들 행위는 컴퓨터-실행 방법 (예를 들어, 웹 서비스 또는 단독형 컴퓨터 시스템을 통해) 을 사용하여 자동적으로 헬스케어 제공자에 의해 수행될 수 있다.
- [0106] 본원에서 상호교환적으로 사용되는 "폴리뉴클레오티드" 또는 "핵산" 은 임의의 길이의 뉴클레오티드의 중합체를 말하고, DNA 및 RNA 를 포함한다. 뉴클레오티드는 데옥시리보뉴클레오티드, 리보뉴클레오티드, 개질 뉴클레오티드 또는 염기, 및/또는 이들의 유사체, 또는 DNA 또는 RNA 폴리머라이제에 의해 중합체 내에 도입될 수 있는 임의의 기질일 수 있다. 폴리뉴클레오티드는 개질 뉴클레오티드, 예컨대 메틸화 뉴클레오티드 및 이들의 유사체를 포함할 수 있다. 존재하는 경우, 뉴클레오티드 구조에 대한 개질은 중합체의 어셈블리 전 또는 후에 부여될 수 있다. 뉴클레오티드의 서열은 비-뉴클레오티드 성분에 의해 개입될 수 있다. 폴리뉴클레오티드는 예를 들어, 표지화 성분과의 콘주게이션에 의해, 중합 후 추가로 개질될 수 있다. 다른 유형의 개질은 예를 들어, "캡," 자연 발생적 뉴클레오티드 중 하나 이상의 유사체로의 치환, 뉴클레오티드간 개질, 예컨대, 예를 들어, 하전되지 않은 연결 (예를 들어, 메틸 포스포네이트, 포스포트리에스테르, 포스포아미데이트, 카바메이트, 등) 을 가진 것들 및 하전된 연결 (예를 들어, 포스포로티오에이트, 포스포로디티오에이트, 등) 을 가진 것들, 펜던트 모이어터를 함유한 것들, 예컨대 예를 들어, 단백질 (예를 들어, 뉴클레아제, 독소, 항체, 신호 펩티드, ply-L-라이신 등), 삽입제 (intercalator) (예를 들어, 아크리딘, 소랄렌 등) 를 가진 것들, 킬레이트제 (예를 들어, 금속, 방사성 금속, 보론, 산화성 금속 등) 를 함유하는 것들, 알킬화제를 함유하는 것들, 개질된 연결 (예를 들어, 알파 아노머 핵산, 등) 을 가진 것들 뿐 아니라, 폴리뉴클레오티드(들) 의 미개질 형태를 포함한다. 추가로, 당 내에 통상 존재하는 임의의 히드록실 기가 예를 들어, 포스포네이트 기, 포스페이트 기에 의해 대체되거나, 표준 보호기에 의해 보호되거나, 또는 부가적인 뉴클레오티드에 대한 부가적인 연결을 제조하기 위해 활성화될 수 있거나, 또는 고체 지지체에 콘주게이션될 수 있다. 5' 및 3' 말단 OH 는 인산화될 수 있거나 1 내지 20 개의 탄소 원자의 아민 또는 유기 캡핑기 모이어터로 치환될 수 있다. 다른 히드록실은 또한 표준 보호기로 유도될 수 있다. 폴리뉴클레오티드는 또한 예를 들어, 2'-O-메틸-, 2'-O-알릴, 2'-플루오로- 또는 2'-아지도-리보오스, 카르보시클릭 당 유사체, 알파-아노머 당, 에피머 당, 예컨대 아라비노오스, 자일로오스 또는 락소오스, 피라노오스 당, 푸라노오스 당, 세도헵톨로오스, 아시클릭 유사체 및 무염기성 뉴클레오시드 유사체 예컨대 메틸 리보사이드를 포함하는, 일반적으로 당염기에 공지된 리보오스 또는 데옥시리보오스 당의 유사한 형태를 함유할 수 있다. 하나 이상의 포스포디에스테르 연결은 대안적인 연결기로 대체될 수 있다. 이들 대안적인 연결기는 포스페이트가 P(O)S ("티오에이트"), P(S)S ("디티오에이트"), (O)NR<sub>2</sub> ("아미데이트"), P(O)R, P(O)OR', CO 또는 CH<sub>2</sub> ("포르마세탈") (식 중, 각각의 R 또는 R' 는 독립적으로 H 이거나 또는 임의로 에테르 (--O--) 연결, 아릴, 알케닐, 시클로알킬, 시클로알케닐 또는 아랄딜을 함유하는 치환된 또는 미치환된 알킬 (1-20 C) 임) 로 대체되는 구현예를 포함하나 이에 제한되지 않는다. 폴

리뉴클레오티드 중의 모든 연결이 동일할 필요는 없다. 이전 설명은 RNA 및 DNA 를 포함하는 본원에 언급된 모든 폴리뉴클레오티드에 적용된다.

[0107] 용어 "벡터" 는 숙주 세포 중에서 관심의 하나 이상의 유전자(들) 또는 서열(들) 을 전달, 및 발현할 수 있는 구축물을 의미한다. 벡터의 예는, 바이러스 벡터, 네이키드 DNA 또는 RNA 발현 벡터, 플라스미드, 코스미드 또는 파지 벡터, 양이온성 축합제와 연관된 DNA 또는 RNA 발현 벡터, 리포좀 내에 캡슐화된 DNA 또는 RNA 발현 벡터, 및 특정 진핵 세포, 예컨대 생산자 세포를 포함하나 이에 제한되지 않는다.

[0108] 용어 "폴리펩티드", "펩티드" 및 "단백질" 은 임의의 길이의 아미노산의 중합체를 나타내기 위해 본원에서 상호 교환적으로 사용된다. 중합체는 선형 또는 분지형일 수 있고, 개질 아미노산을 포함할 수 있고, 비-아미노산에 의해 중단될 수 있다. 이 용어는 또한 자연적으로 또는 개입 (intervention) 에 의해; 예를 들어, 디설파이드 결합 형성, 글리코실화, 지질화, 아세틸화, 인산화, 또는 임의의 다른 조작 또는 개질, 예컨대 표지 성분과의 공유결합에 의해 개질된 아미노산 중합체를 포함한다. 이 정의에 또한 포함되는 것은, 예를 들어, 아미노산의 하나 이상의 유사체 (이에 포함되는 것으로, 예를 들어, 비천연 아미노산 등), 뿐만 아니라 당해 분야에 알려진 기타 개질을 함유하는 폴리펩티드이다. 본 발명의 폴리펩티드는 항체에 기반하기 때문에, 특정 구현예에서, 폴리펩티드는 단일 사슬 또는 연합된 사슬로서 존재할 수 있다고 이해된다. 일부 구현예에서, 폴리펩티드, 펩티드, 또는 단백질은 비-자연 발생적이다. 일부 구현예에서, 폴리펩티드, 펩티드, 또는 단백질은 다른 자연 발생적 성분으로부터 정제된다. 일부 구현예에서, 폴리펩티드, 펩티드, 또는 단백질은 재조합으로 제조된다.

[0109] 둘 이상의 핵산 또는 폴리펩티드의 맥락에서 용어 "동일" 또는 퍼센트 "동일성" 은 임의의 보존적 아미노산 치환을 서열 동일성의 일부로 여기지 않고, 최대 대응을 위해 (필요한 경우, 갭 (gap) 을 도입하여) 비교 및 정렬 될 때, 동일한 또는, 특정 핵분열의 동일한 뉴클레오티드 또는 아미노산 잔기를 갖는 둘 이상의 서열 또는 하위 서열을 나타낸다. 퍼센트 동일성은 서열 비교 소프트웨어 또는 알고리즘을 이용하여 또는 시각 검사에 의해 측정될 수 있다. 아미노산 또는 뉴클레오티드 서열의 정렬을 수득하기 위해 사용될 수 있는 다양한 알고리즘 및 소프트웨어가 당해 분야에 알려져 있다. 서열 정렬 알고리즘의 하나의 그러한 비제한적 예는 Karlin et al., 1990, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 87:2264-2268 에 기재되고, Karlin et al., 1993, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 90:5873-5877 에서와 같이 변경된 알고리즘이고, NBLAST 및 XBLAST 프로그램 (Altschul et al., 1991, *Nucleic Acids Res.*, 25:3389-3402) 내에 편입된다. 특정 구현예에서, 갭처리 BLAST (Gapped BLAST) 가 Altschul et al., 1997, *Nucleic Acids Res.*, 25:3389-3402 에 기재된 바와 같이 사용될 수 있다. BLAST-2, WU-BLAST-2 (Altschul et al., 1996, *Methods in Enzymology*, 266:460-480), ALIGN, ALIGN-2 (Genentech, South San Francisco, California) 또는 Megalign (DNASTAR) 가 서열을 정렬에 사용될 수 있는 부가적으로 공개 입수가 가능한 소프트웨어 프로그램이다. 특정 구현예에서, 두 뉴클레오티드 서열 사이의 퍼센트 동일성은 GCG 소프트웨어 내 GAP 프로그램을 사용하여 (예를 들어, NWSgapdna.CMP 매트릭스 및 40, 50, 60, 70, 또는 90 의 갭 가중치 (gap weight) 및 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6 의 길이 가중치 (length weight) 를 사용하여) 확인된다. 특정 대안적 구현예에서, Needleman 및 Wunsch 의 알고리즘 (*J. Mol. Biol.* (48):444-453 (1970)) 을 포함하는 GCG 소프트웨어 패키지 내 GAP 프로그램을 사용하여 두 아미노산 서열 사이의 퍼센트 동일성을 확인할 수 있다 (예를 들어, Blossum 62 매트릭스 또는 PAM250 매트릭스, 및 16, 14, 12, 10, 8, 6, 또는 4 의 갭 가중치 및 1, 2, 3, 4, 5 의 길이 가중치를 사용함). 대안적으로, 특정 구현예에서, 뉴클레오티드 또는 아미노산 서열 사이의 퍼센트 동일성은 Myers 및 Miller 의 알고리즘 (CABIOS, 4:11-17 (1989)) 을 사용하여 확인된다. 예를 들어, 퍼센트 동일성은 ALIGN 프로그램 (버전 2.0) 을 사용하고 PAM120 을 사용하여 잔기 표, 12 의 갭 길이 페널티 (penalty) 및 4 의 갭 페널티로 결정될 수 있다. 특정 정렬 소프트웨어에 의한 최대 정렬을 위해 적절한 파라미터는 당업자에 의해 결정될 수 있다. 특정 구현예에서, 정렬 소프트웨어의 디폴트 (default) 파라미터가 사용된다. 특정 구현예에서, 첫번째 아미노산 서열 대 두번째 아미노산 서열의 핵분열 동일성 "X" 는  $100 \times (Y/Z)$  로 계산되며, 여기에서 Y 는 첫번째 및 두번째 서열의 정렬 (시각 검사 또는 특정 서열 정렬 프로그램에 의해 정렬됨) 에서 동일하게 매치하는 것으로 점수받은 아미노산 잔기의 수이고, Z 는 두번째 서열 내 잔기의 총 수이다. 첫번째 서열의 길이가 두번째 서열보다 긴 경우에, 첫번째 서열 대 두번째 서열의 퍼센트 동일성은 두번째 서열 대 첫번째 서열의 퍼센트 동일성보다 더 길 것이다.

[0110] 비-제한적 예로서, 임의의 특정 폴리뉴클레오티드가 기준 서열에 대해 특정 핵분열 서열 동일성 (예를 들어, 적어도 80% 동일, 적어도 85% 동일, 적어도 90% 동일, 일부 구현예에서, 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일) 을 갖는지 여부는, 특정 구현예에서, Bestfit 프로그램 (Wisconsin Sequence Analysis Package, Version 8 for Unix, Genetics Computer Group, University Research Park, 575 Science Drive, Madison, WI 53711)

을 사용하여 확인될 수 있다. Bestfit 은 Smith 및 Waterman, *Advances in Applied Mathematics* 2: 482-489 (1981) 의 국부 상동성 알고리즘을 사용하여, 두 서열 사이의 상동성의 최고 세그먼트 (segment) 를 찾는다. Bestfit 또는 임의의 기타 서열 정렬 프로그램을 사용하여 특정 서열이 본 발명에 따른 기준 서열과, 예를 들어, 95% 동일한지 여부를 확인할 때, 파라미터는 동일성의 백분율이 기준 뉴클레오티드 서열의 전체 길이에 대해 계산되고 기준 서열 내 뉴클레오티드의 총 수의 5% 이하의 상동성의 갭이 허용되도록 설정된다.

[0111] 일부 구현예에서, 본 발명의 두 핵산 또는 폴리펩티드는 실질적으로 동일하며, 이는 그들이 서열 비교 알고리즘을 사용하거나 시각 검사에 의해 측정되고 최대 대응을 위해 비교 및 정렬될 때 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 일부 구현예에서 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 뉴클레오티드 또는 아미노산 잔기 동일성을 갖는다는 것을 의미한다. 특정 구현예에서, 동일성은 적어도 약 10, 약 20, 약 40-60 잔기 길이 또는 그 사이의 임의의 정수 값인 서열의 영역에 걸쳐 존재할 수 있고, 또는 60-80 잔기 보다 더 긴 영역, 적어도 약 90-100 잔기에 걸쳐 존재할 수 있고, 또는 서열은 비교되는 서열의 전체 길이, 예컨대 예를 들어 뉴클레오티드 서열의 코딩 영역에 걸쳐 실질적으로 동일하다.

[0112] "보존적 아미노산 치환" 은 하나의 아미노산 잔기가 유사한 측쇄를 갖는 또다른 아미노산 잔기로 대체되는 것이다. 유사한 측쇄를 갖는 아미노산 잔기의 패밀리가 당해 분야에 정의되어 있고, 염기성 측쇄 (예컨대, 리신, 아르기닌, 히스티딘), 산성 측쇄 (예를 들어, 아스파르트산, 글루탐산), 디설파이드 양은 극성 측쇄 (예를 들어, 아스파라긴, 글루타민, 세린, 트레오닌, 티로신, 시스테인), 비극성 측쇄 (예를 들어, 글리신, 알라닌, 발린, 류신, 이소류신, 프롤린, 페닐알라닌, 메티오닌, 트립토판), 베타-분지형 측쇄 (예를 들어, 트레오닌, 발린, 이소류신) 및 방향족 측쇄 (예를 들어, 티로신, 페닐알라닌, 트립토판, 히스티딘) 이 포함된다. 예를 들어, 티로신의 페닐알라닌으로의 치환은 보존적 치환이다. 특정 구현예에서, 본 발명의 폴리펩티드 및 항체의 서열에서의 보존적 치환은 상기 아미노산 서열을 함유하는 폴리펩티드 또는 항체가 항원(들), 즉, 폴리펩티드 또는 항체가 결합하는 CD37 에 결합하는 것을 막지 않는다. 항원 결합을 제거하지 않는 뉴클레오티드 및 아미노산 보존적 치환을 동정하는 방법이 당해 분야에 잘 알려져 있다 (참고, 예를 들어, Brummell et al., *Biochem.* 32: 1180-1187 (1993); Kobayashi et al. *Protein Eng.* 12(10):879-884 (1999); 및 Burks et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94: 412-417 (1997)).

[0113] 본 공개 및 청구범위에서 사용되는, 단수형 "하나", "한" 및 "그" 는 문맥에서 명확하게 다르게 명시되지 않으면 복수형을 포함한다.

[0114] 구현예가 표현 "포함하는" 과 함께 본원에서 기재되는 경우에 "~ 로 이루어지는" 및/또는 "~ 로 본질적으로 이루어지는" 의 용어로 기재된 다른 유사한 구현예가 또한 제공된다고 이해된다.

[0115] 본원에서 "A 및/또는 B" 와 같은 구절에서 사용되는 용어 "및/또는" 은 "A 및 B", "A 또는 B", "A", 및 "B" 를 모두 포함하는 것으로 의도된다. 마찬가지로, "A, B, 및/또는 C" 와 같은 구절에서 사용되는 용어 "및/또는" 은 다음 구현예를 각각 포함하는 것으로 의도된다: A, B, 및 C; A, B, 또는 C; A 또는 C; A 또는 B; B 또는 C; A 및 C; A 및 B; B 및 C; A (단독); B (단독); 및 C (단독).

[0116] II. CD37-결합제

[0117] 본 발명은 인간 CD37 에 특이적으로 결합하는 작용제를 제공한다. 이들 작용제는 본원에서 "CD37-결합제" 로서 언급된다. 특정 구현예에서, CD37 결합제는 항체, 이의 항원-결합 단편, 면역콘주게이트, 또는 폴리펩티드이다. 인간 CD37 에 대한 전체-길이 아미노산 서열은 당업계에 공지되고 또한 각각 SEQ ID NO:1 에 의해 나타내지는 바와 같이 본원에 제공된다.

[0118] 인간 CD37:

```
MSAQESCLSLIKYFLVFNLFVFLGSLIFCFGIWILDKTSFVSFVGLAFVPLQIWSKVLAI
SGIFTMGIALLGCVGALKELRCLLGLYFGMLLLLFATQITLGILISTQRAQLERSLRDVVE
KTIQKYGTNPEETAEEESWDYVQFQLRCCGWHYPQDWFQVLILRGNGSEAHRVPCSCY
NLSATNDSTILDKVILPQLSRLGHLARSRHSADICAVPAESHIYREGCAQGLQKWLHNNL
ISIVGICLVGGLLELGFMTLSIFLCRNLDHVYNRLARYR (SEQ ID NO:1)
```

[0119]

[0120] 인간 CD37 핵산 서열:

atgtcagcccaggagagctgcctcagcctcatcaagtactctctctctgtttcaacctctctctctctctcctcggcagcctgatcttctgcttcg  
 gcatctggatcctcattgacaagaccagcttcgtctcttggggcttggccttcgtgcctctgcagatctgggtccaaagtctggccatctca  
 ggaatcttcaccatgggcatcgcctcctcctgggtgtgtggggccctcaaggagctccgctgcctcctgggcctgtattttgggatgctgctg  
 ctctgtttgccacacagatcacctgggaatcctcatctccactcagcgggcccagctggagcgaagcttgcgggacgtcgtagagaaaa  
 ccatccaaaagtacggcaccaccccaggagaccgcggcggagagagctgggactatgtcagttccagctgcgctgctcggctg  
 gcactaccgcagggactgggtccaagtctcctcctgagaggtaacgggtcggagcgcaccgcgtgctcctgctacaacttgcg  
 gcgaccaacgactccacaatctagataaggtgatcttccccagctcagcaggcttggacacctggcgcggtccagacacagtgcagac  
 atctgcgctgtccctgcagagagccacatctaccgcgagggctgcgagcaggcctccagaagtggctgcacaacaaccttattccatag  
 tgggcatttgcctggcgtcggcctactcagctcgggttcagctctcctgatattcctgtgcagaaaacctggaccacgtctacaaccggc  
 tcgctcgataaccgt (SEQ ID NO:2)

[0121]

[0122] 따라서, 일부 구현예에서, CD37 결합체는 SEQ ID NO:1 의 에피토프 또는 SEQ ID NO:2 에 의해 엔코딩되는 폴리 펩티드의 에피토프에 특이적으로 결합될 수 있다.

[0123] CD37-결합체는 또한 하기 제시되는 1B11-2 항체의 서열을 가진 CD37-결합체를 포함한다.

muCD37-1B11-2 VH-CDR1

GYFMN (SEQ ID NO:3)

muCD37-1B11-2 VH-CDR2 (Kabat)

RINPYNGDTFYNQKFKG (SEQ ID NO:4)

[0124]

muCD37-1B11-2 VH-CDR2 (AbM)

RINPYNGDTF (SEQ ID NO:34)

muCD37-1B11-2 VH -CDR3

RGIVASSRFFDV (SEQ ID NO:5)

muCD37-1B11-2 VL-CDR1

KASQGVSNDVD (SEQ ID NO:6)

muCD37-1B11-2 VL-CDR2

YASNRYT (SEQ ID NO:7)

muCD37-1B11-2 VL-CDR3

CHQDYTSPT (SEQ ID NO:8)

[0125]

[0126] muCD37-1B11-2 중쇄 가변 영역 (VH)

EVQLQSGPELVKPGASVKISCKASGYSFTGYFMNWVVIQSHGKGLEWIGRINPYNGDTF  
 YNQKFKGKATLTVDKSSTTAHMELLSLTSEDSAVYYCGSRGIVASSRFFDVWGAGTSVI  
 VSS (SEQ ID NO:9)

[0127]

[0128] muCD37-1B11-2 경쇄 가변 영역 (VL)

SIVMTQTPKFLLVSAGDRVTITCKASQGVSNDVDWYQQKPGQSPKLLIYYASNRYTGVP  
 DRFTGSGYGTDFTSISTVQAEDLAVYFCHQDYTSPTFGGGTKLEIKR (SEQ ID NO:10)

[0129]

[0130] muCD37-1B11-2 전체 길이 중쇄 (HC)

EVQLLQSGPELVKPGASVKISCKASGYSFTGYFMNWVIQSHGKGLEWIGRINPYNGDTF  
 YNQKFKGKATLTVDKSSTTAHMELLSLTSEDSA VYYCGSRGIVASSRFFDVWGAGTSVI  
 VSSAKTTPPSVYPLAPGSAQAQNSMVTGLGLVKGYFPEPVTVTWNSGSLSSGVHTFPAV  
 LESDLYTLSSSVTVPSSRPSETVTCNV AHPASSTKVVDKIVPRDCGCKPCICTVPEVSSVF  
 IFPPKPKDVL TITLTPKVTCVVVDISKDDPEVQFSWFDDEVHTAQTQPREEQFNSTFRSV  
 SELPIMHQDWLNGKEFKCRVNSAAFPAPIEKTISKTKGRPKAPQVYTIPPPKEQMAKDKV  
 SLTCMITDFFPEDITVEWQWNGQPAENYKNTQPIMNTNGSYFVYSKLVNPKSNWEAGN  
 TFTCSVLHEGLHNHHTKSLSHSPGK (SEQ ID NO:11)

[0131]

[0132] muCD37-1B11-2 전체 길이 경쇄

SIVMTQTPKFLLVSAGDRVITITCKASQGVSNVDWYQQKPGQSPKLLIYYASNRYTGVW  
 DRFTGSGYGTDFTSISTVQAEDLAVYFCHQDYTSPTFGGGTKLEIKRADAAPTIVSIFPPS  
 SEQLTSGGASVVCFLNFPKDKINVKWKIDGSEKQNGVLNSWTDQDSKDYSTYSMSSTLT  
 LTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC (SEQ ID NO:12)

[0133]

[0134] CD37-결합체는 SEQ ID NO:3-8 에 제공된 1B11-2 항체의 6 개의 CDR 서열을 포함하는 CD37-결합체 (예를 들어, 항체 및 이의 항원-결합 단편) 를 포함한다.

[0135]

CD37-결합 분자는 CDR 당 4 개 이하의 (즉, 0, 1, 2, 3, 또는 4) 보존적 아미노산 치환을 갖는, 항체 1B11-2 의 CDR (즉, SEQ ID NO: 3-8) 을 포함하는 CD37-결합체 (예를 들어, 항체 및 이의 항원-결합 단편) 일 수 있다. CD37-결합 분자는 4 개 이하의 (즉, 0, 1, 2, 3, 또는 4) 보존적 아미노산 치환을 갖는, 항체 1B11-2 의 CDR (즉, SEQ ID NO: 3-8) 을 포함하는 CD37-결합체 (예를 들어, 항체 및 이의 항원-결합 단편) 일 수 있다. CD37-결합 분자는 (i) CDR 당 4 개 이하의 (즉, 0, 1, 2, 3, 또는 4) 보존적 아미노산 치환을 갖는, SEQ ID NO: 3, 4, 6, 및 7 의 CDR 및 (ii) SEQ ID NO: 5 및 8 의 CDR 을 포함하는 CD37-결합체 (예를 들어, 항체 및 이의 항원-결합 단편) 일 수 있다. CD37-결합 분자는 (i) 4 개 이하의 (즉, 0, 1, 2, 3, 또는 4) 보존적 아미노산 치환을 갖는, SEQ ID NO: 3, 4, 6, 및 7 의 CDR 및 (ii) SEQ ID NO: 5 및 8 의 CDR 을 포함하는 CD37-결합체 (예를 들어, 항체 및 이의 항원-결합 단편) 일 수 있다. CD37-결합 분자는 (i) CDR 당 4 개 이하의 (즉, 0, 1, 2, 3, 또는 4) 보존적 아미노산 치환을 갖는, SEQ ID NO: 3, 4, 및 6-8 의 CDR 및 (ii) SEQ ID NO:5 의 CDR 을 포함하는 CD37-결합체 (예를 들어, 항체 및 이의 항원-결합 단편) 일 수 있다. CD37-결합 분자는 (i) 4 개 이하의 (즉, 0, 1, 2, 3, 또는 4) 보존적 아미노산 치환을 갖는, SEQ ID NO: 3, 4, 및 6-8 의 CDR 및 (ii) SEQ ID NO:5 의 CDR 을 포함하는 CD37-결합체 (예를 들어, 항체 및 이의 항원-결합 단편) 일 수 있다.

[0136]

폴리펩티드, 항체, 및 이의 항원-결합 단편은 1B11-2 항체의 가변 경쇄, 가변 중쇄, 또는 가변 경쇄 및 가변 중쇄 둘 다를 포함할 수 있다. 또한 제공되는 것은 (a) SEQ ID NO:9 에 대해 적어도 90% 서열 일치성을 갖는 폴리펩티드 및/또는 (b) SEQ ID NO:10 에 대해 적어도 90% 서열 일치성을 갖는 폴리펩티드를 포함하는 폴리펩티드이다. 특정 구현예에서, 폴리펩티드는 CD37 에 특이적으로 결합하는 항체 및/또는 폴리펩티드이다. 특정 구현예에서, 폴리펩티드는 CD37 에 특이적으로 결합하는 쥐과, 키메라, 또는 인간화 항체이다. 특정 구현예에서, SEQ ID NO:9 또는 10 에 대해 특정 백분율의 서열 일치성을 갖는 폴리펩티드는 오직 보존적 아미노산 치환에 의해서만 SEQ ID NO:9 또는 10 과 상이하다.

[0137]

특정 구현예에서, 폴리펩티드, 항체, 또는 이의 항원-결합 단편은 SEQ ID NO:9 에 대해 적어도 95% 일치하는 서열을 포함하는 가변 중쇄 도메인을 포함한다. 특정 구현예에서, 폴리펩티드, 항체, 또는 이의 항원-결합 단편은 SEQ ID NO:9 에 대해 적어도 96% 일치하는 서열을 포함하는 가변 중쇄 도메인을 포함한다. 특정 구현예에서, 폴리펩티드, 항체, 또는 이의 항원-결합 단편은 SEQ ID NO:9 에 대해 적어도 97% 일치하는 서열을 포함하는 가변 중쇄 도메인을 포함한다. 특정 구현예에서, 폴리펩티드, 항체, 또는 이의 항원-결합 단편은 SEQ ID NO:9 에 대해 적어도 98% 일치하는 서열을 포함하는 가변 중쇄 도메인을 포함한다. 특정 구현예에서, 폴리펩티드, 항체, 또는 이의 항원-결합 단편은 SEQ ID NO:9 에 대해 적어도 99% 일치하는 서열을 포함하는 가변 중쇄 도메인을 포함한다. 특정 구현예에서, 폴리펩티드는 CD37 에 특이적으로 결합하는 항체 및/또는 폴리펩티드이다. 특정 구현예에서, 폴리펩티드는 CD37 에 특이적으로 결합하는 쥐과, 키메라, 또는 인간화 항체이다. 특정 구현예에서, SEQ ID NO:9 에 대해 특정 백분율의 서열 일치성을 갖는 폴리펩티드는 오직 보존적 아미노산 치환에 의해서만 SEQ ID NO:9 와 상이하다. 특정 구현예에서, SEQ ID NO:9 에 대해 특정 백분율의 서열 일치성을 갖는 폴리펩티드는 오직 CDR 의 외부의 아미노산에서만 SEQ ID NO:9 와 상이하다. 특정 구현

예에서, SEQ ID NO:9 에 대해 특정 백분율의 서열 일치성을 갖는 폴리펩티드는 오직 CDR 의 외부의 보존적 아미노산 치환에서만 SEQ ID NO:9 와 상이하다.

[0138] 특정 구현예에서, 폴리펩티드, 항체, 또는 이의 항원-결합 단편은 SEQ ID NO:10 에 대해 적어도 95% 일치하는 서열을 포함하는 가변 경쇄 도메인을 포함한다. 특정 구현예에서, 폴리펩티드, 항체, 또는 이의 항원-결합 단편은 SEQ ID NO:10 에 대해 적어도 96% 일치하는 서열을 포함하는 가변 경쇄 도메인을 포함한다. 특정 구현예에서, 폴리펩티드, 항체, 또는 이의 항원-결합 단편은 SEQ ID NO:10 에 대해 적어도 97% 일치하는 서열을 포함하는 가변 경쇄 도메인을 포함한다. 특정 구현예에서, 폴리펩티드, 항체, 또는 이의 항원-결합 단편은 SEQ ID NO:10 에 대해 적어도 98% 일치하는 서열을 포함하는 가변 경쇄 도메인을 포함한다. 특정 구현예에서, 폴리펩티드, 항체, 또는 이의 항원-결합 단편은 SEQ ID NO:10 에 대해 적어도 99% 일치하는 서열을 포함하는 가변 경쇄 도메인을 포함한다. 특정 구현예에서, 폴리펩티드는 CD37 에 특이적으로 결합하는 항체 및/또는 폴리펩티드이다. 특정 구현예에서, 폴리펩티드는 CD37 에 특이적으로 결합하는 췌과, 키메라, 또는 인간화 항체이다. 특정 구현예에서, SEQ ID NO:10 에 대해 특정 백분율의 서열 일치성을 갖는 폴리펩티드는 오직 보존적 아미노산 치환에 의해서만 SEQ ID NO:10 과 상이하다. 특정 구현예에서, SEQ ID NO:10 에 대해 특정 백분율의 서열 일치성을 갖는 폴리펩티드는 오직 CDR 의 외부의 아미노산에서만 SEQ ID NO:10 과 상이하다. 특정 구현예에서, SEQ ID NO:10 에 대해 특정 백분율의 서열 일치성을 갖는 폴리펩티드는 오직 CDR 의 외부의 보존적 아미노산 치환에서만 SEQ ID NO:10 과 상이하다.

[0139] 특정 구현예에서, 폴리펩티드, 항체, 또는 이의 항원-결합 단편은 SEQ ID NO:9 에 대해 적어도 95% 일치하는 서열을 포함하는 가변 중쇄 도메인 및 SEQ ID NO:10 에 대해 적어도 95% 일치하는 서열을 포함하는 가변 경쇄 도메인을 포함한다. 특정 구현예에서, 폴리펩티드, 항체, 또는 이의 항원-결합 단편은 SEQ ID NO:9 에 대해 적어도 96% 일치하는 서열을 포함하는 가변 중쇄 도메인 및 SEQ ID NO:10 에 대해 적어도 96% 일치하는 서열을 포함하는 가변 경쇄 도메인을 포함한다. 특정 구현예에서, 폴리펩티드, 항체, 또는 이의 항원-결합 단편은 SEQ ID NO:9 에 대해 적어도 97% 일치하는 서열을 포함하는 가변 중쇄 도메인 및 SEQ ID NO:10 에 대해 적어도 97% 일치하는 서열을 포함하는 가변 경쇄 도메인을 포함한다. 특정 구현예에서, 폴리펩티드, 항체, 또는 이의 항원-결합 단편은 SEQ ID NO:9 에 대해 적어도 98% 일치하는 서열을 포함하는 가변 중쇄 도메인 및 SEQ ID NO:10 에 대해 적어도 98% 일치하는 서열을 포함하는 가변 경쇄 도메인을 포함한다. 특정 구현예에서, 폴리펩티드, 항체, 또는 이의 항원-결합 단편은 SEQ ID NO:9 에 대해 적어도 99% 일치하는 서열을 포함하는 가변 중쇄 도메인 및 SEQ ID NO:10 에 대해 적어도 99% 일치하는 서열을 포함하는 가변 경쇄 도메인을 포함한다. 특정 구현예에서, 폴리펩티드는 CD37 에 특이적으로 결합하는 항체 및/또는 폴리펩티드이다. 특정 구현예에서, 폴리펩티드는 CD37 에 특이적으로 결합하는 췌과, 키메라, 또는 인간화 항체이다. 특정 구현예에서, SEQ ID NO:9 및/또는 10 에 대해 특정 백분율의 서열 일치성을 갖는 폴리펩티드는 오직 보존적 아미노산 치환에 의해서만 SEQ ID NO:9 및/또는 10 과 상이하다. 특정 구현예에서, SEQ ID NO:9 및/또는 10 에 대해 특정 백분율의 서열 일치성을 갖는 폴리펩티드는 오직 CDR 의 외부의 아미노산에서만 SEQ ID NO:9 및/또는 10 과 상이하다. 특정 구현예에서, SEQ ID NO:9 및/또는 10 에 대해 특정 백분율의 서열 일치성을 갖는 폴리펩티드는 오직 CDR 의 외부의 보존적 아미노산 치환에서만 SEQ ID NO:9 및/또는 10 과 상이하다.

[0140] 특정 구현예에서, 폴리펩티드, 항체, 또는 이의 항원-결합 단편은 SEQ ID NO:9 에 언급된 서열을 포함하는 가변 중쇄 도메인 및 SEQ ID NO:10 에 언급된 서열을 포함하는 가변 경쇄 도메인을 포함한다.

[0141] 폴리펩티드는 본원에 기재된 개별적인 경쇄 또는 중쇄 중 하나를 포함할 수 있다. 항체 및 폴리펩티드는 또한 경쇄 및 중쇄를 둘 다 포함할 수 있다. 항체 1B11-2 의 경쇄 및 중쇄 서열은 SEQ ID NO:11 및 12 에 제공된다.

[0142] 또한 제공되는 것은 하기를 포함하는 폴리펩티드이다: (a) SEQ ID NO:11 에 대해 적어도 약 90% 서열 일치성을 갖는 폴리펩티드; 및/또는 (b) SEQ ID NO:12 에 대해 적어도 약 90% 서열 일치성을 갖는 폴리펩티드. 특정 구현예에서, 폴리펩티드는 SEQ ID NO:11 또는 12 에 대해 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 일치성을 갖는 폴리펩티드를 포함한다. 따라서, 특정 구현예에서, 폴리펩티드는 (a) SEQ ID NO:11 에 대해 적어도 약 95% 서열 일치성을 갖는 폴리펩티드, 및/또는 (b) SEQ ID NO:12 에 대해 적어도 약 95% 서열 일치성을 갖는 폴리펩티드를 포함한다. 특정 구현예에서, 폴리펩티드는 (a) SEQ ID NO:11 의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드; 및/또는 (b) SEQ ID NO:12 의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드를 포함한다. 특정 구현예에서, 폴리펩티드는 CD37 에 특이적으로 결합하는 항체 및/또는 폴리펩티드이다. 특정 구현예에서, 폴리펩티드는 CD37 에 특이적으로 결합하는 췌과, 키메라, 또는 인간화 항체이다. 특정 구현예에서, SEQ ID NO:11 및/또는 12 에 대해 특정 백분율의 서열 일치성을 갖는 폴리펩티드는

오직 보존적 아미노산 치환에 의해서만 SEQ ID NO:11 및/또는 12 와 상이하다. 특정 구현예에서, SEQ ID NO:11 및/또는 12 에 대해 특정 백분율의 서열 일치성을 갖는 폴리펩티드는 오직 CDR 의 외부의 아미노산에서만 SEQ ID NO:11 및/또는 12 와 상이하다. 특정 구현예에서, SEQ ID NO:11 및/또는 12 에 대해 특정 백분율의 서열 일치성을 갖는 폴리펩티드는 오직 CDR 의 외부의 보존적 아미노산 치환에서만 SEQ ID NO:11 및/또는 12 와 상이하다.

[0143] 특정 구현예에서, CD37-결합체 (예를 들어, 항체 또는 이의 항원-결합 단편) 는 동일한 에피토프에 SEQ ID NO:9 에 언급된 서열을 포함하는 가변 중쇄 및 SEQ ID NO:10 에 언급된 서열을 포함하는 가변 경쇄를 포함하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편으로서 결합한다. 특정 구현예에서, CD37-결합체 (예를 들어, 항체 또는 이의 항원-결합 단편) 는 SEQ ID NO:9 에 언급된 서열을 포함하는 가변 중쇄 및 SEQ ID NO:10 에 언급된 서열을 포함하는 가변 경쇄를 포함하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편의 CD37 에 대한 결합을 경쟁적으로 억제한다. 특정 구현예에서, CD37-결합체 (예를 들어, 항체 또는 이의 항원-결합 단편) 는 SEQ ID NO:9 에 언급된 서열을 포함하는 가변 중쇄 및 SEQ ID NO:10 에 언급된 서열을 포함하는 가변 경쇄를 포함하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편의 CD37 에 대한 결합을 경쟁적으로 억제하고, SEQ ID NO:9 에 언급된 서열을 포함하는 가변 중쇄 및 SEQ ID NO:10 에 언급된 서열을 포함하는 가변 경쇄를 포함하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편가 결합하는 에피토프와 중복되는 에피토프에 결합한다.

[0144] 특정 구현예에서, CD37-결합체 (예를 들어, 항체 또는 이의 항원-결합 단편) 은 본원에 제시되는 바와 같은 하 기 CD37 항원 서열에 결합 및/또는 결합하지 않는다.

[0145] CD37 항원 서열

[0146] hCD37-LEL (CD37 AA 107-242 밀출처짐)

TMELLISTQRAQLERSLRDVVEKTIQKYGTNPEETA AEESWDYVQFQLRCCGWHYPQD  
WFQVLILRGNGSEAHRVPCSCYNLSATNDSTILDKVILPQLSRLGHLARSRHSADICAVP  
AESHIYREGCAOGLQKWLHNNLSFLQKLI SEEDLNSAVDHHHHHHH (SEQ ID NO:15)

[0147]

[0148] hCD37-ECD-Fc (hCD37 AA 107-235 밀출처짐)

GPEFLISTQRAQLERSLRDVVEKTIQKYGTNPEETA AEESWDYVQFQLRCCGWHYPQD  
WFQVLILRGNGSEAHRVPCSCYNLSATNDSTILDKVILPQLSRLGHLARSRHSADICAVP  
AESHIYREGCAOGLQSEPRGPTIKPCPPCKCPAPNLLGGPSVFIFPPKIKDVL MISLSPIV T  
CVVVDVSEDDPDVQISWVFNNEVHTAQ TQTHREDYNSTLRVVSALPIQH QDWMMSGKE  
FKCKVNNKDLPAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPEEEMTKKQVTLTCMV TDFMPEDIY  
VEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNH  
HTTKSFSRTPGK (SEQ ID NO:16)

[0149]

[0150] hCD37-Fc-LAGA (hCD37 AA 107-235 밀출처짐)

GPEFLISTQRAQLERSLRDVVEKTIQKYGTNPEETA AEESWDYVQFQLRCCGWHYPQD  
WFQVLILRGNGSEAHRVPCSCYNLSATNDSTILDKVILPQLSRLGHLARSRHSADICAVP  
AESHIYREGCAOGLQSDKTHTCPAPLAGAPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVV  
VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY  
KCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE  
WESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQGNV FSCSVMHEALHNHYTQ  
KSLSLSPG (SEQ ID NO:17)

[0151]

[0152] hCD37-ECD-S2-Fc (hCD37 AA 107-109 이중-밀출처짐 및 AA 138-235 밀출처짐)

GPEFLISA AEESWDYVQFQLRCCGWHYPQDWFQVLILRGNGSEAHRVPCSCYNLSATN  
DSTILDKVILPQLSRLGHLARSRHSADICAVPAESHIYREGCAOGLQSEPRGPTIKPCPPC  
KCPAPNLLGGPSVFIFPPKIKDVL MISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWVFNNEVHTAQ  
TQTHREDYNSTLRVVSALPIQH QDWMMSGKEFKCKVNNKDLPAPIERTISKPKGSVRAPQ  
VYVLPPEEEMTKKQVTLTCMV TDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYF  
MYSKLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK (SEQ ID NO:18)

[0153]

[0154] hCD37 (AA 107-235)

LISTQRAQLERSLRDVVEKTIQKYGTNPEETA AEESWDYVQFQLRCCGWHYPQDWFQV  
LILRGNGSEAHRVPCSCYNLSATNDSTILDKVILPQLSRLGHLARSRHSADICAVPAESHI  
YREGCAOGLQ (SEQ ID NO:19)

[0155]

- [0156] hCD37 (AA 107-242)
- LISTQRAQLERSLRDVEKTIQKYGTNPEETAAEESWDYVQFQLRCCGWHYPQDWFQV  
LILRGNSEAHRVPCSCYNLSATNDSTILDKVILPQLSRLGHLARSRHSADICAVPAESHI  
YREGCAQGLQKWLHNNL (SEQ ID NO:20)
- [0157]
- [0158] hCD37 (AA 107-109 및 138-235)
- LISAAEESWDYVQFQLRCCGWHYPQDWFQVLILRGNSEAHRVPCSCYNLSATNDSTIL  
DKVILPQLSRLGHLARSRHSADICAVPAESHIYREGCAQGLQ (SEQ ID NO:21)
- [0159]
- [0160] 일부 구현예에서, CD37 결합제 (예를 들어, 항체 또는 이의 항원-결합 단편) 는 CD37 의 아미노산 107-242 (SEQ ID NO:20) 에 결합한다. 일부 구현예에서, CD37 결합제 (예를 들어, 항체 또는 이의 항원-결합 단편) 는 CD37 의 아미노산 107-235 (SEQ ID NO:19) 에 결합한다.
- [0161] 일부 구현예에서, CD37 결합제 (예를 들어, 항체 또는 이의 항원-결합 단편) 는 SEQ ID NO:15 에 언급된 서열에 결합한다. 일부 구현예에서, CD37 결합제 (예를 들어, 항체 또는 이의 항원-결합 단편) 는 SEQ ID NO:16 에 언급된 서열에 결합한다. 일부 구현예에서, CD37 결합제 (예를 들어, 항체 또는 이의 항원-결합 단편) 는 SEQ ID NO:17 에 언급된 서열에 결합한다.
- [0162] 일부 구현예에서, CD37 결합제 (예를 들어, 항체 또는 이의 항원-결합 단편) 는 CD37 의 아미노산 107-242 (SEQ ID NO:20) 에 결합하나, CD37 의 아미노산 138-235 에는 결합하지 않는다. 일부 구현예에서, CD37 결합제 (예를 들어, 항체 또는 이의 항원-결합 단편) 는 CD37 의 아미노산 107-235 (SEQ ID NO:19) 에 결합하나, CD37 의 아미노산 138-235 에는 결합하지 않는다.
- [0163] 일부 구현예에서, CD37-결합제 (예를 들어, 항체 또는 이의 항원-결합 단편) 는 SEQ ID NO:15 의 폴리펩티드에 결합하나, SEQ ID NO:18 의 폴리펩티드에는 결합하지 않는다. 일부 구현예에서, CD37-결합제 (예를 들어, 항체 또는 이의 항원-결합 단편) 는 SEQ ID NO:16 의 폴리펩티드에 결합하나, SEQ ID NO:18 의 폴리펩티드에는 결합하지 않는다. 일부 구현예에서, CD37-결합제 (예를 들어, 항체 또는 이의 항원-결합 단편) 는 SEQ ID NO:17 의 폴리펩티드에 결합하나, SEQ ID NO:18 의 폴리펩티드에는 결합하지 않는다.
- [0164] 일부 구현예에서, CD37 결합제 (예를 들어, 항체 또는 이의 항원-결합 단편) 는 SEQ ID NO:1 의 110-137 중의 적어도 하나의 아미노산을 포함하는 에피토포에 결합한다. 아미노산 110-137 은 CD37 거대 세포의 도메인의 첫번째 분절 ("S1") 이다.
- [0165] 항원에 대한 항체의 친화도 또는 결합능은 당업계에서 잘 알려진 임의의 적합한 방법, 예를 들어, 유동세포분석, 효소-연결 면역흡착 검정 (ELISA), 또는 방사면역측정법 (RIA), 또는 동역학 (예를 들어, BIACORE™ 분석) 을 사용하여 실험적으로 측정될 수 있다. 직접 결합 검정 뿐 아니라 경쟁적 결합 검정 포맷이 쉽게 사용될 수 있다. 예를 들어, Berzofsky, et al., "Antibody-Antigen Interactions," In Fundamental Immunology, Paul, W. E., Ed., Raven Press: New York, N.Y. (1984); Kuby, Janis Immunology, W. H. Freeman and Company: New York, N.Y. (1992); 및 본원에 기재된 방법을 참고한다. 특정 항체-항원 상호작용의 측정된 친화도는 상이한 조건 (예를 들어, 염 농도, pH, 온도) 하에서 측정되는 경우에 달라질 수 있다. 따라서, 친화도 및 다른 항원-결합 파라미터 (예를 들어, KD 또는 Kd, K<sub>on</sub>, K<sub>off</sub>) 의 측정은 항체 및 항원의 표준화된 용액, 및 당업계에 공지된 바와 같은 표준화된 완충액, 및 예컨대 본원에 기재된 완충액과 함께 수행된다.
- [0166] 하나의 양상에서, 결합 검정은 표면 상에 CD37 항원을 발현하는 세포 상에서 유동세포분석을 사용하여 수행될 수 있다. 예를 들어, CD37-양성 세포, 예컨대 300-19 세포를 100  $\mu$ l FACS 완충액 (2% 정상 염소 혈청으로 보충된 RPMI-1640 배지) 중 샘플 당 1x10<sup>5</sup> 세포를 사용하는 다양한 농도의 항-CD37 항체와 함께 인큐베이션할 수 있다.
- [0167] 이후, 세포를 펠렛화하고, 세정하고, 100  $\mu$ l 의 FITC-콘주게이션된 염소-항-마우스 또는 염소-항-인간 IgG-항체 (예컨대 예를 들어, Jackson Laboratory 로부터 수득가능함, FACS 완충액 중 6  $\mu$ g/mL) 와 1 시간 동안 인큐베이션할 수 있다. 그 다음 세포를 다시 펠렛화하고, FACS 완충액으로 세정하고, 1% 포름알데하이드를 함유하는 200  $\mu$ l 의 PBS 에 재현탁시켰다. 샘플을 예를 들어, HTS 멀티웰 샘플러가 있는 FACS Calibur 유세포측정기를 사용하여 습득하고, CellQuest Pro 를 사용하여 분석할 수 있다 (모두, BD Biosciences, San Diego, US). 각 샘플에 대해, FL1 에 대한 평균 형광 강도 (MFI) 를 내보내고 세미-log 플롯에 항체 농도를 플롯팅하여 결합 곡선을 생성할 수 있다. S 자 용량-응답 곡선을 결합 곡선에 피팅하고, EC50 값을 디폴트 파라미터를

가진 GraphPad Prism v4 와 같은 프로그램을 사용하여 계산한다 (GraphPad software, San Diego, CA). EC50 값은 각 항체에 대해 걸보기 해리 상수 " $K_d$ " 또는 " $K_D$ " 에 대한 측정값으로서 사용될 수 있다.

- [0168] 모노클로날 항체는 하이브리도마 방법, 예컨대 Kohler and Milstein (1975) Nature 256:495 에 의해 기재된 것들을 사용하여 제조될 수 있다. 하이브리도마 방법을 사용하여, 마우스, 햄스터, 또는 기타 적합한 숙주 동물을, 면역화 항원에 특이적으로 결합할 것인 항체의 림프구에 의한 생성을 도출하기 위해 면역화시킨다. 림프구는 또한 시험관 내에서 면역화될 수 있다. 면역화 후, 림프구를 단리하고, 예를 들어, 폴리에틸렌 글리콜을 사용하여 적합한 골수종 세포주와 융합시켜, 미용합된 림프구 및 골수종 세포를 제외하고 선택될 수 있는 하이브리도마 세포를 형성할 수 있다. 예를 들어, 면역침전, 면역블롯팅에 의해, 또는 시험관 내 결합 검정 (예를 들어, 방사면역측정법 (RIA); 효소-연결 면역흡착 검정 (ELISA)) 에 의해 측정될 수 있는 선택된 항원에 대항하여 특이적으로 지정되는 모노클로날 항체를 생성하는 하이브리도마는 이후 표준 방법을 사용하는 시험관 내 배양물 (Goding, Monoclonal Antibodies: Principles and Practice, Academic Press, 1986) 또는 동물에서 복수 종양으로서 생체 내에서 증식될 수 있다. 모노클로날 항체는 그 다음 배양 배지 또는 복수액 (ascites fluid) 으로부터 정제될 수 있다.
- [0169] 대안적으로, 모노클로날 항체는 또한 미국 특허 4,816,567 에 기재된 재조합 DNA 방법을 사용하여 제조될 수 있다. 모노클로날 항체를 엔코딩하는 폴리뉴클레오티드는 성숙 B-세포 또는 하이브리도마 세포로부터, 예컨대 항체의 중쇄 및 경쇄를 엔코딩하는 유전자를 특이적으로 증폭시키는 올리고뉴클레오티드 프라이머를 사용하는 RT-PCR 에 의해 단리되고, 이들의 서열은 통상의 절차를 사용하여 결정된다. 중쇄 및 경쇄를 엔코딩하는 단리된 폴리뉴클레오티드는 그 다음 적합한 발현 벡터 내로 클로닝되고, 이것은 숙주 세포 예컨대 E. coli 세포, 원숭이 COS 세포, 중국 햄스터 난소 (CHO) 세포, 또는 다르게는 면역글로불린 단백질을 생성하지 않는 골수종 세포 내로 트랜스펙션되고, 모노클로날 항체가 숙주 세포에 의해 생성된다. 또한, 원하는 중의 재조합 모노클로날 항체 또는 이의 단편은 기재된 바와 같이 원하는 중의 CDR 을 발현하는 파지 디스플레이 라이브러리로부터 단리될 수 있다 (McCafferty et al., 1990, Nature, 348:552-554; Clackson et al., 1991, Nature, 352:624-628; 및 Marks et al., 1991, J. Mol. Biol., 222:581-597).
- [0170] 모노클로날 항체를 엔코딩하는 폴리뉴클레오티드(들) 은 대안적인 항체를 생성하기 위한 재조합 DNA 기술을 사용하여 다수의 상이한 방식으로 추가로 개질될 수 있다. 일부 구현예에서, 예를 들어, 마우스 모노클로날 항체의 경쇄 및 중쇄의 불변 도메인은 1) 예를 들어, 인간 항체의 이들 영역에 대해 치환되어 키메라 항체를 생성할 수 있거나 또는 2) 비-면역글로불린 폴리펩티드에 대해 치환되어 융합 항체를 생성할 수 있다. 일부 구현예에서, 불변 영역은 모노클로날 항체의 원하는 항체 단편을 생성하도록 절단 또는 제거된다. 가변 영역의 부위-지정 또는 고-밀도 돌연변이생성이 모노클로날 항체의 특이성, 친화도, 등을 최적화시키는데 사용될 수 있다.
- [0171] 일부 구현예에서, 인간 CD37 에 대항하는 모노클로날 항체는 인간화 항체이다. 특정 구현예에서, 인간화 항체는 재표면화된 항체이다.
- [0172] 인간 항체는 당업계에서 공지된 다양한 기술을 사용하여 직접 제조될 수 있다. 시험관 내에서 면역화된 또는 표적 항원에 대항하여 지정된 항체를 생성하는 면역화된 개체로부터 단리된 불멸화된 인간 B 림프구가 생성될 수 있다 (예를 들어, Cole et al., Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, Alan R. Liss, p. 77 (1985); Boemer et al., 1991, J. Immunol., 147 (1):86-95; 및 U.S. Patent 5,750,373 참고). 또한, 인간 항체는 파지 라이브러리로부터 선택될 수 있는데, 이때 파지 라이브러리는, 예를 들어, Vaughan et al., 1996, Nat. Biotech., 14:309-314, Sheets et al., 1998, Proc. Nat'l. Acad. Sci., 95:6157-6162, Hoogenboom and Winter, 1991, J. Mol. Biol., 227:381, 및 Marks et al., 1991, J. Mol. Biol., 222:581 에 기재된 바와 같이 인간 항체를 발현한다. 항체 파지 라이브러리의 생성 및 사용을 위한 기술은 또한 미국 특허 번호 5,969,108, 6,172,197, 5,885,793, 6,521,404; 6,544,731; 6,555,313; 6,582,915; 6,593,081; 6,300,064; 6,653,068; 6,706,484; 및 7,264,963; 및 Rothe et al., 2007, J. Mol. Bio., doi:10.1016/j.jmb.2007.12.018 (이들 각각은 그 전체가 참조로서 인용됨) 에 기재된다. 친화도 성숙 전략 및 사슬 서플링 전략 (Marks et al., 1992, Bio/Technology 10:779-783, 그 전체가 참조로서 인용됨) 이 당업계에 공지되어 있고 고 친화도 인간 항체를 생성하기 위해 사용될 수 있다.
- [0173] 인간화 항체는 또한 면역화 시 내인성 면역글로불린 생성의 부재 하에 인간 항체의 완전한 레퍼토어를 제조할 수 있는 인간 면역글로불린 유전자좌를 함유하는 트랜스제닉 마우스에서 제조될 수 있다. 이 접근법은 미국 특허 5,545,807; 5,545,806; 5,569,825; 5,625,126; 5,633,425; 및 5,661,016 에 기재된다.

- [0174] 특정 구현예에서, 예를 들어, 중앙 관통을 증가시키기 위한 항체 단편이 제공된다. 항체 단편의 제조를 위해 다양한 기술이 공지되어 있다. 통상, 이들 단편은 온전한 항체의 단백질분해 소화를 통해 유래된다 (예를 들어, Morimoto et al., 1993, Journal of Biochemical and Biophysical Methods 24:107-117; Brennan et al., 1985, Science, 229:81). 특정 구현예에서, 항체 단편은 재조합적으로 생성된다. Fab, Fv, 및 scFv 항체 단편이 모두 E. coli 또는 기타 숙주 세포에서 발현되고 그로부터 분리될 수 있어, 다량의 이들 단편의 제조를 가능하게 한다. 이러한 항체 단편은 또한 상기 논의된 항체 파지 라이브러리로부터 단리될 수 있다. 항체 단편은 또한 미국 특허 번호 5,641,870 에 기재된 바와 같은 선형 항체일 수 있고, 예를 들어, 단일특이적 또는 이중특이적일 수 있다. 항체 단편을 제조하기 위한 다른 기술은 당업자에게 명백할 것이다.
- [0175] 본 발명에 따르면, 기술은 CD37 에 특이적인 단일-사슬 항체의 생성을 위해 각색될 수 있다 (참고, 미국 특허 번호 4,946,778). 부가적으로, 방법은 CD37, 또는 이의 유사체, 단편, 유사체 또는 상동체에 대한 원하는 특이성을 가지고, 모노클로날 Fab 단편의 빠르고 효과적인 확인을 허용하게 하도록 Fab 발현 라이브러리의 구축을 위해 각색될 수 있다 (Huse, et al., Science 246:1275-1281 (1989)). 항체 단편은 하기를 포함하나 이에 제한되지 않는 당업계의 기술에 의해 제조될 수 있다: (a) 항체 분자의 펩신 소화에 의해 제조되는 F(ab')<sub>2</sub> 단편; (b) F(ab')<sub>2</sub> 단편의 디설파이드 브릿지를 환원시킴으로써 생성되는 Fab 단편, (c) 파파인 및 환원제로의 항체 분자의 처리에 의해 생성되는 Fab 단편, 및 (d) Fv 단편.
- [0176] 본 발명의 목적을 위해, 개질 항체가 항체와 인간 CD37 의 폴리펩티드와의 연합을 제공하는 임의의 유형의 가변 영역을 포함할 수 있다는 것으로 인식해야만 한다. 이와 관련하여, 가변 영역은 임의의 유형의 포유류를 포함하거나 이로부터 유래될 수 있다. 이와 같이, 개질 항체의 가변 영역은 예를 들어, 인간, 쥐과, 비-인간 영장류 (예를 들어, 사이노몰구스 원숭이, 마카크 등), 또는 늑대 (lupine) 기원의 것일 수 있다. 일부 구현예에서, 개질 면역글로불린의 가변 및 불변 영역은 모두 인간이다. 또다른 구현예에서, 양립가능한 항체의 가변 영역 (통상 비-인간 공급원으로부터 유래됨) 은 분자의 결합 특성을 향상시키기 위해 조작되거나 특이적으로 맞춰질 수 있다. 이와 관련하여, 본 발명에서 유용한 가변 영역은 인간화될 수 있거나 또는 다르게는 도입된 아미노산 서열의 내포를 통해 변형될 수 있다. 일부 구현예에서, 개질 항체의 가변 영역은 비-인간 (예를 들어, 쥐과) 일 수 있고, 개질 항체의 불변 영역은 인간일 수 있다.
- [0177] 특정 구현예에서, 중쇄 및 경쇄 모두 중의 가변 도메인은 하나 이상의 CDR 의 적어도 부분적인 대체에 의해, 그리고, 필요한 경우, 부분적인 프레임워크 영역 대체 및 서열 변경에 의해 변경될 수 있다. CDR 이 프레임워크 영역이 유도되는 항체와 동일한 클래스 또는 심지어 서브클래스의 항체로부터 유도될 수 있을지라도, CDR 이 상이한 클래스의 항체로부터 그리고 가능하게는 상이한 종으로부터의 항체로부터 유래되는 것으로 구상된다. 모든 CDR 을, 하나의 가변 도메인의 항원 결합 역량을 또다른 것으로 이동시키기 위해 기증자 가변 영역으로부터의 완전한 CDR 로 대체하는 것이 항상 필수적이지는 않다. 그보다는, 일부 경우에서, 항원 결합 부위의 활성을 유지하는데 필수적인 이들 잔기를 이동시키는 것만 필요하다.
- [0178] 가변 영역에 대한 변화에도 불구하고, 당업자는 본 발명의 개질 항체가, 불변 영역 도메인 중 하나 이상의 분획이 적어도, 원하는 생화학적 특징을 제공하도록 결실 또는 다르게는 변형된 항체 (예를 들어, 전체-길이 항체 또는 이의 면역반응성 단편) 를 포함할 것임을 인지할 것이다. 일부 구현예에서, 개질 항체의 불변 영역은 인간 불변 영역을 포함할 것이다. 불변 영역에 대한 개질은 하나 이상의 도메인 중의 하나 이상의 아미노산의 첨가, 결실 또는 치환을 포함할 수 있다. 즉, 본원에 기재된 개질 항체는 3 개의 중쇄 불변 도메인 (CH1, CH2, 또는 CH3) 중 하나 이상 및/또는 경쇄 불변 도메인 (CL) 에 대한 변형 또는 개질을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 도메인이 부분적으로 또는 전체적으로 결실된 개질 불변 영역이 고려된다. 일부 구현예에서, 개질 항체는 전체 CH2 도메인이 제거된 도메인 결실된 구축물 또는 변이체 ( $\Delta$ CH2 구축물) 을 포함할 것이다. 일부 구현예에서, 생략된 불변 영역 도메인은 부재하는 불변 영역에 의해 전형적으로 부여된 분자 유연성의 일부를 제공하는 짧은 아미노산 스페이서 (예를 들어, 10 개 잔기) 에 의해 대체될 것이다.
- [0179] 특정 구현예에서, 불변 영역의 개질은 증가된 항원 특이성 또는 항체 유연성으로 인한 향상된 국부화를 가능하게 하는 디설파이드 연결 또는 올리고당 모이어티를 제거하는데 사용될 수 있다. 불변 영역에 대한 개질은 당업자의 재량 내에 있는 잘 공지된 생화학적 또는 분자조작 기술을 사용하여 쉽게 행해질 수 있다.
- [0180] 특정 구현예에서, 개질 항체는 CH3 도메인을 각각의 개질 항체의 힌지 영역에 직접적으로 융합시키도록 조작될 수 있다고 명시될 것이다. 다른 구축물에서, 힌지 영역과 개질 CH2 및/또는 CH3 도메인 사이에 펩티드 스페이서를 제공하는 것이 바람직할 수 있다. 예를 들어, CH2 도메인이 결실되고 나머지 CH3 도메인 (개질 또는

비개질됨) 이 5-20 아미노산 스페이서를 가진 힌지 영역에 연결되는 양립가능한 구축물이 발현될 수 있을 것이다. 이러한 스페이서는, 예를 들어, 불변 도메인의 조절 요소가 자유롭게 접근가능하게 남아있거나 힌지 영역이 유연하게 남아있는 것을 확보하도록 첨가될 수 있다.

[0181] 본 발명은 본원에 언급된 마우스, 키메라, 인간화 및 인간 항체, 또는 이의 항체 단편에 실질적으로 상동인 변이체 및 등가물을 추가로 포함한다. 이들은 예를 들어, 보존적 치환 돌연변이, 즉, 유사한 아미노산에 의한 하나 이상의 아미노산의 치환을 함유할 수 있다. 예를 들어, 보존적 치환은 아미노산의 동일한 일반 클래스 내의 또다른 것으로의 치환, 예컨대, 예를 들어, 하나의 산성 아미노산의 또다른 산성 아미노산으로의, 하나의 염기성 아미노산의 또다른 염기성 아미노산으로의 또는 하나의 중성 아미노산의 또다른 중성 아미노산으로의 치환을 말한다. 보존적 아미노산 치환에 의해 의도되는 것은 당업계에 잘 알려져 있다.

[0182] 본 발명의 폴리펩티드는 인간 CD37 에 대항하는, 항체 또는 이의 단편을 포함하는 재조합 폴리펩티드, 중성 폴리펩티드, 또는 합성 폴리펩티드일 수 있다. 본 발명의 일부 아미노산 서열이 단백질의 구조 또는 기능에 상당한 영향을 주지 않으면서 가변될 수 있다는 것이 인지될 것이다. 그러므로, 본 발명은 CD37 단백질에 대항하는 항체 또는 이의 단편의 실질적인 활성을 보이거나 이의 영역을 포함하는 폴리펩티드를 추가로 포함한다. 이러한 돌연변이는 결실, 삽입, 역위, 반복 및 유형 치환을 포함한다.

[0183] 본원에 기재된 단리된 폴리펩티드는 당업계에 공지된 임의의 적합한 방법에 의해 제조될 수 있다. 이러한 방법은 단리된 폴리펩티드 서열을 엔코딩하는 DNA 서열을 구축하고 적합한 형질전환된 숙주에서 이들 서열을 발현시키기 위한 직접 단백질 합성 방법에 이른다. 일부 구현예에서, DNA 서열은 관심의 야생형 단백질을 엔코딩하는 DNA 서열을 단리 또는 합성함으로써 재조합 기술을 사용하여 구축된다. 임의로, 서열은 이의 기능적 유사체를 제공하기 위해 부위-특이적 돌연변이생성에 의해 돌연변이될 수 있다. 예를 들어, Zoeller et al., Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA 81:5662-5066 (1984) 및 U.S. Pat. No. 4,588,585 를 참고한다.

[0184] 일부 구현예에서, 관심의 폴리펩티드를 엔코딩하는 DNA 서열은 올리고뉴클레오티드 합성기를 사용하는 화학 합성에 의해 구축될 것이다. 이러한 올리고뉴클레오티드는 원하는 폴리펩티드의 아미노산 서열에 기반하여 디자인되고, 관심의 재조합 폴리펩티드가 제조될 숙주 세포에서 호의적인 이들 코돈을 선별할 수 있다. 표준 방법은 관심의 단리된 폴리펩티드를 엔코딩하는 단리된 폴리뉴클레오티드 서열을 합성하기 위해 적용될 수 있다. 예를 들어, 완전한 아미노산 서열은 역-번역된 유전자를 구축하는데 사용될 수 있다. 추가로, 특정의 단리된 폴리펩티드에 대해 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 함유하는 DNA 올리고머가 합성될 수 있다. 예를 들어, 원하는 폴리펩티드의 일부에 대해 코딩하는 여러 개의 작은 올리고뉴클레오티드가 합성되고 이후 라이게이션될 수 있다. 개별적인 올리고뉴클레오티드는 전형적으로 상보적 어셈블리에 대한 5' 또는 3' 오버행 (overhang) 을 함유한다.

[0185] 일단 어셈블리된 (합성, 부위-지정 돌연변이생성 또는 또다른 방법에 의한), 관심의 특정 단리된 폴리펩티드를 엔코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열은 발현 벡터 내로 삽입되고 원하는 숙주 중에서 단백질의 발현에 적합한 발현 통제 서열에 작동가능하게 연결될 것이다. 적합한 어셈블리는 뉴클레오티드 서열분석, 제한효소 맵핑, 및 적합한 숙주 중에서 생물학적으로 활성인 폴리펩티드의 발현에 의해 확인될 수 있다. 당업계에 잘 공지되듯이, 숙주 중의 트랜스펙션된 유전자의 높은 발현 수준을 수득하기 위해, 유전자는 선택된 발현 숙주에서 기능적인 전사 및 번역 발현 통제 서열에 작동가능하게 연결되어야만 한다.

[0186] 특정 구현예에서, 재조합 발현 벡터는 인간 CD37 에 대항하는, 항체 또는 이의 단편을 엔코딩하는 DNA 를 증폭 및 발현시키는데 사용된다. 재조합 발현 벡터는 포유류, 미생물, 바이러스 또는 곤충 유전자로부터 유래되는 적합한 전사 또는 번역 조절 요소에 작동가능하게 연결된, 항-CD37 항체, 또는 이의 단편의 폴리펩티드 사슬을 엔코딩하는 합성 또는 cDNA-유래된 DNA 단편을 갖는 복제가능한 DNA 구축물이다. 전사 단위는 일반적으로 (1) 유전자 발현에서 조절 역할을 갖는 유전적 요소 또는 요소들, 예를 들어, 전사 프로모터 또는 인핸서, (2) mRNA 로 전사되고 단백질로 번역되는 구조적 또는 코딩 서열, 및 (3) 하기 상세히 기재되는 바와 같은 적합한 전사 및 번역 개시 및 종결 서열의 어셈블리를 포함한다. 이러한 조절 요소는 전사를 통제하기 위한 오퍼레이터 서열을 포함할 수 있다. 통상 복제 기원에 의해 부여되는 숙주 내에서 복제하기 위한 능력, 및 형질전환체의 인지를 용이하게 하기 위한 선별 유전자가 부가적으로 도입될 수 있다. DNA 영역은 이들이 서로 기능적으로 관련될 경우 작동가능하게 연결된다. 예를 들어, 신호 펩티드 (분비 선도자) 에 대한 DNA 는 이것이 폴리펩티드의 분비에 참여하는 전구체로서 발현되는 경우 폴리펩티드에 대한 DNA 에 작동가능하게 연결되고; 프로모터는 이것이 서열의 전사를 통제하는 경우 코딩 서열에 작동가능하게 연결되고; 또는 리보솜 결합 부위는 이것이 번역을 허용하도록 위치하는 경우 코딩 서열에 작동가능하게 연결된다. 효모 발현 시스템에서

사용하는 것으로 의도되는 구조적 요소는 숙주 세포에 의해 번역된 단백질의 세포외 분비를 가능하게 하는 선도 서열을 포함한다. 대안적으로는, 재조합 단백질이 선도자 또는 수송 서열 없이 발현되는 경우, 이것은 N-말단 메티오닌 잔기를 포함할 수 있다. 상기 잔기는 임의로, 발현된 재조합 단백질로부터 후속적으로 절단되어 최종 생성물을 생성할 수 있다.

[0187] 발현 통제 서열 및 발현 벡터의 선택은 숙주의 선택에 따라 다를 것이다. 광범위한 발현 숙주/벡터 조합이 사용될 수 있다. 진행 숙주에 대해 유용한 발현 벡터는, 예를 들어, SV40, 소 유두종 바이러스, 아데노바이러스 및 사이토메갈로바이러스로부터의 발현 통제 서열을 포함하는 벡터를 포함한다. 박테리아 숙주에 대해 유용한 발현 벡터는 공지된 박테리아 플라스미드, 예컨대 pCR 1, pBR322, pMB9 를 포함하는 에스케리차 콜라이 (*Escherichia coli*) 로부터의 플라스미드 및 이들의 유도체, 폭넓은 숙주 범위 플라스미드, 예컨대 M13 및 사상 단일-사슬 DNA 파지를 포함한다.

[0188] CD37-결합 폴리펩티드 또는 항체 (또는 항원으로서 사용하기 위한 CD37 단백질) 의 발현을 위해 적합한 숙주 세포는 적합한 프로모터의 통제 하에 원핵생물, 효모, 곤충 또는 고차 진핵 세포를 포함한다. 원핵생물은 그람 음성 또는 그람 양성 유기체, 예를 들어 *E. coli* 또는 바실리 (*bacilli*) 를 포함한다. 고차 진핵 세포는 하기 기재되는 바와 같은 포유류 기원의 성립된 세포주를 포함한다. 무-세포 번역 시스템이 또한 사용될 수 있을 것이다. 박테리아, 진균, 효모, 및 포유류 세포 숙주와 사용하기에 적합한 클로닝 및 발현 벡터는 Pouwels et al. (*Cloning Vectors: A Laboratory Manual*, Elsevier, N.Y., 1985) 에 의해 기재되며, 이의 관련 설명은 참고로서 도입된다. 항체 생성을 포함하는 단백질 생성 방법과 관련하여 부가적인 정보는 예를 들어, 미국 특허 공개 번호 2008/0187954, 미국 특허 번호 6,413,746 및 6,660,501, 및 국제 특허 공개 번호 WO 04009823 (이들 각각은 전체가 참고로서 인용됨) 에서 찾을 수 있다.

[0189] 다양한 포유류 또는 곤충 세포 배양 시스템이 또한 유리하게는 재조합 단백질을 발현시키는데 사용된다. 포유류 세포 중의 재조합 단백질의 발현은, 이러한 단백질이 일반적으로 올바르게 폴딩되고, 적합하게 개질되고, 완전하게 기능적이기 때문에 수행될 수 있다. 적합한 포유류 숙주 세포주의 예는 Gluzman (*Cell* 23:175, 1981) 에 의해 기재된 원숭이 신장 세포의 COS-7 세포주, 및 예를 들어, L 세포, C127, 3T3, 중국 햄스터 난소 (CHO), HeLa 및 BHK 세포주를 포함하는 적합한 벡터를 발현할 수 있는 다른 세포주를 포함한다. 포유류 발현 벡터는 비전사된 요소, 예컨대 복제 기원, 발현하고자 하는 유전자에 연결된 적합한 프로모터 및 인핸서, 및 다른 5' 또는 3' 측면 비전사된 사열, 및 5' 또는 3' 비번역된 서열, 예컨대 필수적 리보솜 결합 부위, 폴리아데닐화 부위, 스플라이스 기증자 및 수용자 부위, 및 전사 종결 서열을 포함할 수 있다. 곤충 세포에서의 이종 단백질의 제조를 위한 배칼로바이러스 시스템은 Luckow and Summers, *Bio/Technology* 6:47 (1988) 에 의해 리뷰된다.

[0190] 형질전환된 숙주에 의해 제조되는 단백질은 임의의 적합한 방법에 따라 정제될 수 있다. 이러한 표준 방법은 크로마토그래피 (예를 들어, 이온 교환, 친화도 및 크기 컬럼 크로마토그래피), 원심분리, 차등 용해도, 또는 단백질 정제를 위한 임의의 다른 표준 기술에 의한 것을 포함한다. 친화도 태그, 예컨대 헥사히스티딘, 말토오스 결합 도메인, 인플루엔자 코트 서열 및 글루타티온-S-트랜스페라아제는 적합한 친화도 컬럼을 통과함으로써 용이한 정제를 가능하게 하도록 단백질에 부착될 수 있다. 단리된 단백질은 또한 단백질분해, 핵 자기 공명 및 x-선 결정학과 같은 기술을 사용하여 물리적으로 특징화될 수 있다.

[0191] 예를 들어, 재조합 단백질을 배양 배지로 분비하는 시스템으로부터의 상청액을 시판 단백질 농축 필터, 예를 들어, Amicon 또는 Millipore Pellicon 초여과 유닛을 사용하여 먼저 농축할 수 있다. 농축 단계에 따라, 농축물을 적합한 정제 매트릭스에 적용할 수 있다. 대안적으로, 음이온 교환 수지, 예를 들어, 펜던트 디에틸 아미노에틸 (DEAE) 기를 갖는 매트릭스 또는 기질을 사용할 수 있다. 매트릭스는 아크릴아미드, 아가로오스, 텍스트란, 셀룰로오스 또는 단백질 정제에서 통상 사용되는 다른 유형일 수 있다. 대안적으로는, 양이온 교환 단계가 사용될 수 있다. 적합한 양이온 교환기는 술포프로필 또는 카르복시메틸 기를 포함하는 다양한 불용성 매트릭스를 포함한다. 최종적으로, 소수성 RP-HPLC 매질, 예를 들어, 펜던트 메틸 또는 기타 지방족 기를 갖는 실리카 겔을 사용하는 하나 이상의 역상 고성능 액체 크로마토그래피 (RP-HPLC) 단계가 CD37-결합제를 추가로 정제하기 위해 사용될 수 있다. 상기 정제 단계 중 일부 또는 모두가, 다양한 조합으로 또한 균질 재조합 단백질을 제공하기 위해 사용될 수 있다.

[0192] 박테리아 배양물에서 제조된 재조합 단백질은 예를 들어, 세포 펠렛으로부터의 초기 추출에 이어, 하나 이상의 농축, 염석 (salting-out), 수성 이온 교환 또는 크기 배제 크로마토그래피 단계에 의해 단리될 수 있다. 고성능 액체 크로마토그래피 (HPLC) 가 최종 정제 단계를 위해 사용될 수 있다. 재조합 단백질의 발현에서

사용되는 미생물 세포는 동결-해동 사이클, 초음파분쇄, 기계적 파괴, 또는 세포 용해제의 사용을 포함하는 임의의 통상적인 방법에 의해 파괴될 수 있다.

[0193] 항체 및 다른 단백질의 정제를 위해 당업계에 공지된 방법은 또한 예를 들어, 미국 특허 공개 번호 2008/0312425, 2008/0177048, 및 2009/0187005 (이들 각각은 전체가 본원에 참고로서 인용됨) 에 기재된 것들을 포함한다.

[0194] III. 폴리뉴클레오티드

[0195] 특정 구현예에서, 본 발명은 CD37 에 특이적으로 결합하는 폴리펩티드 또는 그러한 폴리펩티드의 단편을 엔코딩하는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 폴리뉴클레오티드를 포함한다. 예를 들어, 본 발명은 인간 CD37 에 대한 항체를 엔코딩하는 또는 이러한 항체의 단편을 엔코딩하는 핵산 서열을 포함하는 폴리뉴클레오티드를 제공한다.

본 발명의 폴리뉴클레오티드는 RNA 의 형태 또는 DNA 의 형태일 수 있다. DNA 는 cDNA, 게놈 DNA, 및 합성 DNA 를 포함하고; 이중-가닥 또는 단일-가닥일 수 있고, 단일 가닥인 경우에는 코딩 가닥 또는 비-코딩 (안티-센스) 가닥일 수 있다. 일부 구현예에서, 폴리뉴클레오티드는 하나 이상의 내인성 인트론이 걸여된 cDNA 또는 DNA 이다.

[0196] 특정 구현예에서, 본원에 제공되는 폴리뉴클레오티드는 비-자연 발생적이다. 특정 구현예에서, 본원에 제공되는 폴리뉴클레오티드는 제조합적으로 제조된다. 특정 구현예에서, 폴리뉴클레오티드가 단리된다. 특정 구현예에서, 폴리뉴클레오티드는 실질적으로 순수하다.

[0197] 본 발명은 SEQ ID NO:3-11 로 이루어지는 군으로부터 선택되는 서열을 포함하는 폴리펩티드를 엔코딩하는 폴리뉴클레오티드를 제공한다.

[0198] 특정 구현예에서, 폴리뉴클레오티드는 SEQ ID NO:3-5 의 폴리펩티드를 엔코딩하는 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, 폴리뉴클레오티드는 SEQ ID NO:6-8 의 폴리펩티드를 엔코딩하는 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, 폴리뉴클레오티드는 SEQ ID NO:3-5 및 SEQ ID NO: 6-8 의 폴리펩티드를 엔코딩하는 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, 벡터는 SEQ ID NO: 3-8 의 폴리펩티드를 엔코딩하는 폴리뉴클레오티드를 포함한다. 특정 구현예에서, 조성물은 SEQ ID NO:3-5 의 폴리펩티드를 엔코딩하는 폴리뉴클레오티드 및 SEQ ID NO:6-8 의 폴리펩티드를 엔코딩하는 폴리뉴클레오티드를 포함한다. 특정 구현예에서, 조성물은 SEQ ID NO:3-5 의 폴리펩티드를 엔코딩하는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터 및 SEQ ID NO:6-8 의 폴리펩티드를 엔코딩하는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터를 포함한다.

[0199] 특정 구현예에서, 조성물은 SEQ ID NO:9 의 폴리펩티드를 엔코딩하는 폴리뉴클레오티드 및 SEQ ID NO:10 의 폴리펩티드를 엔코딩하는 폴리뉴클레오티드를 포함한다. 특정 구현예에서, 조성물은 SEQ ID NO:9 의 폴리펩티드를 엔코딩하는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터 및 SEQ ID NO:10 의 폴리펩티드를 엔코딩하는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터를 포함한다. 특정 구현예에서, 벡터는 SEQ ID NO:9 의 폴리펩티드를 엔코딩하는 폴리뉴클레오티드 및 SEQ ID NO:10 의 폴리펩티드를 엔코딩하는 폴리뉴클레오티드를 포함한다.

[0200] 본 발명은 SEQ ID NO:13 및 14 에 제공되는 것들로부터 선택되는 서열을 포함하는 폴리뉴클레오티드를 추가로 제공한다.

[0201] muCD37-1B11-2 VH 핵산 서열

gagggttaactgctgcagctggaacctgagctggtagcctggggcctcagtggaagatacctgcaaggcttctggttactcattactgct  
actttatgaactgggtgatacagaccatggaaggccttgagtgattggacgtattaatccttacaatggtgataccttacaaccagaa  
gttcaaggcaaggccacattgactgtagacaaatccttaccacagccacatggagctcctgagcctgacatctgaggactctgccgtct  
attattgtggatccggggatagtggtcctctaggttctctgatgtctggggcagggacctcgtcatcgtctcctcagccaaaacga  
cac (SEQ ID NO:13)

[0202]

[0203] muCD37-1B11-2 VL 핵산 서열

agttattgtgatgccagactcccaaatcctgctgtatcagcaggagacagggttaccataacctgcaaggcagtcagggtgtgagtaat  
gatgtagattggtaccaacaagccaggcagctcctaaactgctgatatactatgcatccaatcgctacactggagtcctgatcgttca  
ctggcagtgatggggacggattcacttgcagcactgtgcaggctgaagacctggcagttatttctgcaccaggattatcctct  
ccgacgttcgggtggaggccaagctggaaatcaaacgggctgat (SEQ ID NO:14)

[0204]

- [0205] 또한 제공되는 것은 SEQ ID NO:13 및 14 중 임의의 하나에 대해 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 일치성을 갖는 폴리뉴클레오티드이다.
- [0206] 또한 제공되는 것은 SEQ ID NO:13 에 대해 적어도 약 90% 일치하는 폴리뉴클레오티드 및 SEQ ID NO:14 에 대해 적어도 약 90% 일치하는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 조성물이다. 또한 제공되는 것은 SEQ ID NO:13 에 대해 적어도 약 95% 일치하는 폴리뉴클레오티드 및 SEQ ID NO:14 에 대해 적어도 약 95% 일치하는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 조성물이다. 또한 제공되는 것은 SEQ ID NO:13 에 대해 적어도 약 96% 일치하는 폴리뉴클레오티드 및 SEQ ID NO:14 에 대해 적어도 약 96% 일치하는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 조성물이다. 또한 제공되는 것은 SEQ ID NO:13 에 대해 적어도 약 97% 일치하는 폴리뉴클레오티드 및 SEQ ID NO:14 에 대해 적어도 약 97% 일치하는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 조성물이다. 또한 제공되는 것은 SEQ ID NO:13 에 대해 적어도 약 98% 일치하는 폴리뉴클레오티드 및 SEQ ID NO:14 에 대해 적어도 약 98% 일치하는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 조성물이다. 또한 제공되는 것은 SEQ ID NO:13 에 대해 적어도 약 99% 일치하는 폴리뉴클레오티드 및 SEQ ID NO:14 에 대해 적어도 약 99% 일치하는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 조성물이다.
- [0207] 또한 제공되는 것은 SEQ ID NO:13 에 대해 적어도 약 90% 일치하는 폴리뉴클레오티드 및 SEQ ID NO:14 에 대해 적어도 약 90% 일치하는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터 또는 벡터들을 포함하는 조성물이다. 또한 제공되는 것은 SEQ ID NO:13 에 대해 적어도 약 95% 일치하는 폴리뉴클레오티드 및 SEQ ID NO:14 에 대해 적어도 약 95% 일치하는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터 또는 벡터들을 포함하는 조성물이다. 또한 제공되는 것은 SEQ ID NO:13 에 대해 적어도 약 96% 일치하는 폴리뉴클레오티드 및 SEQ ID NO:14 에 대해 적어도 약 96% 일치하는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터 또는 벡터들을 포함하는 조성물이다. 또한 제공되는 것은 SEQ ID NO:13 에 대해 적어도 약 97% 일치하는 폴리뉴클레오티드 및 SEQ ID NO:14 에 대해 적어도 약 97% 일치하는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터 또는 벡터들을 포함하는 조성물이다. 또한 제공되는 것은 SEQ ID NO:13 에 대해 적어도 약 98% 일치하는 폴리뉴클레오티드 및 SEQ ID NO:14 에 대해 적어도 약 98% 일치하는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터 또는 벡터들을 포함하는 조성물이다. 또한 제공되는 것은 SEQ ID NO:13 에 대해 적어도 약 99% 일치하는 폴리뉴클레오티드 및 SEQ ID NO:14 에 대해 적어도 약 99% 일치하는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터 또는 벡터들을 포함하는 조성물이다.
- [0208] 또한 제공되는 것은 SEQ ID NO:13 에 언급된 폴리뉴클레오티드 서열 및 SEQ ID NO:14 에 언급된 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 벡터 또는 벡터들을 포함하는 조성물이다.
- [0209] 특정 구현예에서, 폴리뉴클레오티드는, 예를 들어, 숙주 세포로부터 폴리펩티드의 발현 및 분비를 돕는 폴리뉴클레오티드 (예를 들어, 세포로부터 폴리펩티드의 수송 통제를 위해 분비 서열로서 기능하는 선도 서열) 에 동일한 리딩 프레임 내에서 융합된 성숙 폴리펩티드에 대한 코딩 서열을 포함한다. 선도 서열을 갖는 폴리펩티드는 프리-단백질 (preprotein) 이고, 폴리펩티드의 성숙 형태를 형성하기 위해 숙주 세포에 의해 절단된 선도 서열을 가질 수 있다. 폴리뉴클레오티드는 또한 성숙 단백질 더하기 부가적인 5' 아미노산 잔기인 프로-단백질 (proprotein) 을 엔코딩할 수 있다. 프로-서열 (prosequence) 을 갖는 성숙 단백질은 프로-단백질이고 단백질의 비활성 형태이다. 일단 프로-서열이 절단되면, 활성 성숙 단백질이 남는다.
- [0210] 특정 구현예에서, 폴리뉴클레오티드는 예를 들어, 엔코딩된 폴리펩티드의 정제를 허용하는, 마커 서열에 동일한 리딩 프레임 내에서 융합된 성숙 폴리펩티드에 대한 코딩 서열을 포함한다. 예를 들어, 마커 서열은 박테리아 숙주의 경우 마커에 융합된 성숙 폴리펩티드의 정제를 제공하기 위해 pQE-9 벡터에 의해 공급된 헥사-히스티딘 태그일 수 있고, 또는 마커 서열은 포유류 숙주 (예를 들어, COS-7 세포) 가 사용되는 경우 인플루엔자 헤마글루티닌 단백질로부터 유래된 헤마글루티닌 (HA) 태그일 수 있다.
- [0211] 본 발명은 추가로 예를 들어, 단편, 유사체, 및 유도체를 엔코딩하는 상기 기재된 폴리뉴클레오티드의 변이체에 관한 것이다.
- [0212] 폴리뉴클레오티드 변이체는 코딩 영역, 비-코딩 영역, 또는 둘 다 내에 변형을 함유할 수 있다. 일부 구현예에서, 폴리뉴클레오티드 변이체는 침묵 치환, 부가, 또는 결실을 생성하는 변형을 함유하나, 엔코딩된 폴리펩티드의 특성 또는 활성을 변형시키지 않는다. 일부 구현예에서, 뉴클레오티드 변이체는 유전적 코드의 퇴화로 인한 침묵 치환에 의해 생성된다. 폴리뉴클레오티드 변이체는 예를 들어, 특정 숙주에 대한 코돈 발현을 최적화하기 위해, 다양한 이유로 생성될 수 있다 (E. coli 와 같은 박테리아 숙주에 의해 바람직한 것들로 인간 mRNA 중의 코돈의 변화).
- [0213] 본원에 기재된 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터 및 세포가 또한 제공된다.

- [0214] IV. 생물학적 샘플
- [0215] 생물학적 샘플은 종종 고정제로 고정된다. 알데하이드 고정제, 예컨대 포르말린 (포름알데하이드) 및 글루타알데하이드가 전형적으로 사용된다. 알코올 침지와 같은 다른 고정 기술을 사용하여 고정되는 조직 샘플 (Battifora and Kopinski, J. Histochem. Cytochem. (1986) 34:1095) 이 또한 적합하다. 사용되는 샘플은 또한 파라핀에 포매될 수 있다. 하나의 구현예에서, 샘플은 포르말린-고정되고 파라핀-포매된다 (FFPE). 또다른 구현예에서, FFPE 블록을 헤마톡실린 및 에오신 염색한 후, FFPE 코어 샘플에 대한 특정 영역(들)을 선택하기 위해 분석을 위해 하나 이상의 부분을 선택한다. 이들 미립자 시편으로부터의 조직 블록의 제조 방법은 다양한 예후 인자의 이전 IHC 연구에서 사용되고, 및/또는 당업자에게 잘 알려져있다 (예를 들어, Abbondanzo et al., Am J Clin Pathol. 1990 May;93(5):698-702; Allred et al., Arch Surg. 1990 Jan;125(1):107-13 참고).
- [0216] 간략하게는, 임의의 온전한 기관 또는 조직은 상당히 작은 조각으로 절단되고, 조직이 "고정될" 때까지 다양한 시간 동안 다양한 고정제 (예를 들어, 포르말린, 알코올 등) 에 인큐베이션될 수 있다. 샘플은 신체로부터 수술적으로 제거된 사실상 임의의 온전한 조직일 수 있다. 샘플은 조직병리학 실험실에서 정기적으로 사용되는 장비에 맞춰진 합리적으로 작은 조각(들) 로 절단될 수 있다. 절단 조각의 크기는 전형적으로 수 밀리미터에서 수 센티미터의 범위이다. 생물학적 샘플은 또한 유동 추출물, 혈액, 혈장, 혈청, 척수액, 림프액, 및 또는 비장 조제물일 수 있다.
- [0217] V. CD37 발현 및 치료 효능의 연관성
- [0218] 항-CD37 면역콘주게이트는 미국 공개 출원 번호 2011/0256153 (이는 전체가 참조로서 본원에 인용됨) 에 제공된다. 특정 구현예에서, 항-CD37 면역콘주게이트는 IMG529 이다. IMG529 는 huCD37-3 항체 (SEQ ID NO:22-27 에 의해 나타내지는 CDR, SEQ ID NO:28 의 VH 및 SEQ ID NO:29 의 VL 을 포함함), SMCC 링커, 및 DM1 마이탄시노이드를 함유한다. huCD37-3 항체의 서열이 하기에 제시된다.
- huCD37-3 VH-CDR1: TSGVVS (SEQ ID NO:22)  
 huCD37-3 VH-CDR2: VIWGDGSTN (SEQ ID NO:23)  
 huCD37-3 VH-CDR3: GGYSLAH (SEQ ID NO:24)  
 huCD37-3 VL-CDR1: RASENIRSNLA (SEQ ID NO:25)  
 huCD37-3 VL-CDR2: VATNLAD (SEQ ID NO:26)  
 huCD37-3 VL-CDR3: QHYWGTTWT (SEQ ID NO:27)
- [0219]
- huCD37-3 VH v. 1.0:  
 QVQVQESGPGLVAPSQTLSITCTVSGFSLTTSVGSWVRQPPGKGLEWLGVIWGDGSTNYHPSLKS  
 RLSIKKDHSSKQVFLKLNLSLAADTATYYCAKGGYSLAHWGQGLVTVSS (SEQ ID NO:28)  
 huCD37-3 VH v. 1.1:  
 QVQVQESGPGLVAPSQTLSITCTVSGFSLTTSVGSWVRQPPGKGLEWLGVIWGDGSTNYHSSLKS  
 RLSIKKDHSSKQVFLKLNLSLAADTATYYCAKGGYSLAHWGQGLVTVSS (SEQ ID NO:32)  
 huCD37-3 VL:  
 DIQMTQSPSSLSVSGERVITTCRASENIRSNLAWYQKPGKSPKLLVNVATNLADGVPSRFSGS  
 GSGTDYSLKINSLQPEDFGTYTCQHYWGTTWTFGQGTKLEIKR (SEQ ID NO:29)
- [0220]
- [0221] huCD37-3 중쇄 (HC) v. 1.0:  
 QVQVQESGPGLVAPSQTLSITCTVSGFSLTTSVGSWVRQPPGKGLEWLGVIWGDGSTNYHPSLKS  
 RLSIKKDHSSKQVFLKLNLSLAADTATYYCAKGGYSLAHWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSS  
 KSTSGGTAALGLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQT  
 YICNVNHHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV  
 VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN  
 KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY  
 KTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID  
 NO:30)
- [0222]

[0223] huCD37-3 중쇄 (HC) v. 1.1:

QVQVQESGPGLVAPSQTLSTCTVSGFSLTTSVGSVWRQPPGKGLEWLGVIWGDGSTNYHSSLKSLK  
 RLSIKKDHSHSKVFLKLNLSLAADTATYYCAKGGYSLAHWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSS  
 KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQT  
 YICNVNHKPSNTKVDKKEVEPKSCDKTHTCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV  
 VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN  
 KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY  
 KTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID  
 NO:33)

[0224]

[0225] huCD37-3 경쇄 (LC):

DIQMTQSPSSLSVSGERVITTCRASENIRSNLAWYQKPKGKSPKLLVNVATNLADGVPSRFRSGS  
 GSGTDYSLKINSIQPEDFGTYTCQHYWGTTWTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTAS  
 VVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYLSSTLTLSKADYEEKHKVYAC  
 EVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:31)

[0226]

[0227] 특정 구현예에서, 면역곤주게이트는 2010년 2월 18일에 10801 University Boulevard, Manassas, Virginia 20110에서 American Type Culture Collection (ATCC)로 기탁된, ATCC Deposit Designation PTA-10664의 하이브리도마로부터 생성된 CD37 항체, 또는 이의 항원 결합 단편을 함유할 수 있다. 특정 구현예에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 PTA-10664의 하이브리도마로부터 생성된 항체의 VH-CDR 및 VL-CDRS를 포함한다.

[0228]

IMGN529는 현재 백혈병 및 림프종을 치료하기 위한 임상 개발 중이다. IMGN529의 투여 방법은 미국 출원 번호 14/710,354 (공개 번호 2015/0343077), 및 Stathis, et al., "Preliminary Findings from a phase I, multi-center, open-label study of the anti-CD37 antibody-drug conjugate (ADC), IMGN529, in adult patients with relapsed or refractory non-Hodgkin Lymphoma (NHL)," Abstract Number 8526, ASCO Annual Meeting (2014) (이들 각각은 본원에 참고로서 인용됨)에 제공된다.

[0229]

특정 구현예에서, 본 발명은 예를 들어, IHC에서 CD37 발현 수준의 동적 범위를 검출할 수 있는 본원에 제공된, 특히 항체 및 이의 항원-결합 단편을 사용하는, 대상에서의 CD37의 상승된 발현 수준으로 인한 CD37-표적화 치료법에 호의적으로 반응할 것 같은 대상을 확인하기 위한 방법을 제공한다.

[0230]

환자 샘플의 평가 및 이중익식 모델을 사용하는 생체 내 효능과의 연관성은 치료에 좀더 반응할 것 같은 대상을 선택하기 위한 발현 분석의 힘을 입증한다. IHC는 종양 세포 상의 CD37 발현에 대한 점수를 제공한다: 0 (발현 없음) 내지 3 (매우 높은 수준의 발현). CD37 발현에 대해 1, 2, 또는 3의 점수를 가진 샘플 (또는 2 또는 3)은 임상적으로-관련 있는 투여량의 CD37 면역곤주게이트에서 CD37-표적된 항-암 치료법에 반응하는 가망성이 증가되었다 (참고, 예를 들어, WO 2013/149171, 이것은 본원에 참고로서 인용됨). 그러므로, 상승된 CD37 점수를 갖는 개인의 식별은 임상적으로 관련 있는 투여량에 반응할 이들 개인을 확인하는 것을 도울 것이다. 게다가, 좀더 균일한 수준의 CD37의 발현은 치료 이득과의 양호한 연관성을 제공한다. 따라서, 균질 염색 균일성 또는 불균질 염색 균일성으로의 증가된 염색의 조합은 증가된 CD37 발현을 나타낼 수 있다. 예를 들어, 2 헤테로 초과점수는 CD37 치료제에 대한 환자 선별 기준으로서 사용될 수 있다. 부가적으로, 환자 선별 기준은 염색 강도 (예를 들어, 1, 2, 또는 3) 및 균일성 (예를 들어, 불균질 또는 균질 (표 3참고)) 둘 다를 반영하는 특정 수준에서 막 CD37을 발현하는 것으로 밝혀진 샘플 내 세포의 백분율에 근거할 수 있다. 예를 들어, 샘플은 예를 들어, 적어도 2 이상에서 CD37 양성도에 대한 세포 염색의 적어도 25% 또는 2 이상에서 CD37 양성도에 대한 세포 염색의 적어도 75%를 갖는 것으로 특징화될 것이다. 또다른 예에서, 샘플은, 예를 들어, 적어도 3의 CD37 양성도에 대한 세포 염색의 적어도 25% 또는 3에서 CD37 양성도에 대한 세포 염색의 적어도 75%를 갖는 것으로 특징화될 것이다. 또다른 예에서, CD37 발현은 H-점수로 제공된다. 부가적으로, CD37의 면역학적 검출 (면역조직화학에 의한)은 H-점수를 사용하여 점수화될 수 있다. H-점수는 본원에 제공된 계산을 사용하여 염색 강도 점수를 균일성 점수와 조합시킨다. 하기에 좀더 상세히 기재된 바와 같이, H-점수는 1 내지 300의 범위일 수 있다.

[0231]

CD37 발현 분석은 또한 CD37-표적화 항암 치료법의 감소된 수준 ("저 투여량 치료법")이 항종양 반응을 야기하

는데 효과적일 수 있는 환자를 확인하는데 사용될 수 있다. 당업계에 명시되듯이, 화합물은 일반적으로 원하는 치료 반응을 달성하는 최소 투여량으로 투여된다. 이것은 임상적인, 그리고 종종 원치않는, 부작용을 야기하는 치료법에 대해 명확하게 중요하다. 상승된 CD37 발현 수준을 갖는 이들 대상을 인지하는 능력은 CD37-표적화 치료법의 투여량의 잠재적 최소화를 가능하게 하여, 가능한 부작용을 감소시키면서, 치료 효능을 유지한다.

[0232] VI. 면역검출 방법

[0233] 특정 구현예에서, CD37-결합제 (예를 들면, 항체 및 이의 항원-결합 단편) 는 CD37 의 증가된 발현 또는 과발현을 가진 샘플 및/또는 대상을 확인하기 위해 면역검출 방법에서 사용될 수 있다. 면역검출 방법 중 몇몇을 언급하면, 예를 들어, 면역조직화학 (IHC), 효소 연결된 면역흡착 검정 (ELISA), 웨스턴 블롯, 유세포측정, 및 형광 활성화된 세포 분류 (FACS) 를 포함한다.

[0234] 일반적으로, 면역검출 방법은 CD37 을 포함하는 것으로 의심되는 샘플을 수득하고, 면역복합체의 형성을 허용하는데 효과적인 조건 하에서 샘플을 제 1 CD37-결합제 (예를 들면, 항-CD37 항체 또는 이의 항원 결합 단편) 와 접촉시키는 것을 포함한다.

[0235] 항원 검출에 관하여, 분석된 생물학적 샘플은 CD37 을 검출하는 것을 회피하는 임의의 샘플, 예컨대 유동성 추출물, 혈액, 혈장, 혈청, 척수액, 림프액, 조직 절편 또는 시료, 균질화된 조직 추출물, 생검 흡인물, 세포, 분리된 및/또는 정제된 형태 CD37-함유 조성물, 또는 임의의 생체액일 수 있다. 일부 구현예에서, 혈액, 혈장, 또는 림프 샘플 또는 추출물이 사용된다.

[0236] 면역 복합체 (1 차 면역 복합체) 의 형성을 허용하기에 효과적인 조건 하 및 충분한 시간 동안 선택된 생물학적 샘플을 CD37-결합제 (예를 들면, 항-CD37 항체 또는 이의 항원 결합 단편) 와 결합시키는 것은 일반적으로 CD37-결합제 (예를 들면, 항-CD37 항체 또는 이의 항원 결합 단편) 를 샘플에 첨가하고, CD37-결합제 (예를 들면, 항-CD37 항체 또는 이의 항원 결합 단편) 가 존재하는 임의의 CD37 과 면역 복합체를 형성하기에, 즉, 이에 결합하기에 충분히 긴 시간 동안 혼합물을 인큐베이션하는 문제이다. 이 시간 후, 샘플, 예컨대 조직 섹션 또는 유체 추출물, ELISA 플레이트, 또는 웨스턴 블롯은, 1 차 면역 복합체 내에 특이적으로 결합된 오직 이들 CD37-결합제 (예를 들면, 항-CD37 항체 또는 이의 항원 결합 단편) 가 검출되도록 하여, 일반적으로 임의의 비-특이적으로 결합된 CD37-결합제 (예를 들면, 항-CD37 항체 또는 이의 항원 결합 단편) 을 제거하도록 세정될 것이다.

[0237] 일반적으로, 면역복합체 형성의 검출은 당해 분야에서 잘 알려져 있고, 수많은 접근법의 적용을 통해 달성될 수 있다. 검출에 이용된 CD37-결합제 (예를 들면, 항-CD37 항체 또는 이의 항원 결합 단편) 는 그 자체가 검출 가능한 표지에 연결될 수 있는데, 여기서 하나는 이 표지를 단순히 검출할 것이고, 이로써 조성물 중의 1 차 면역 복합체의 양을 측정하는 것을 허용할 것이다. 대안적으로, 1 차 면역 복합체 내에 결합되게 되는 제 1 CD37-결합제 (예를 들면, 항-CD37 항체 또는 이의 항원 결합 단편) 는 제 1 CD37-결합제 (예를 들면, 항-CD37 항체 또는 이의 항원 결합 단편) 에 대해 결합 친화도를 갖는 제 2 결합제 (예를 들면, 항체 또는 이의 항원-결합 단편) 에 의해 검출될 수 있다. 이들 경우에, 제 2 결합제는 검출가능한 표지에 연결될 수 있다. 제 2 결합제 그 자체가 항체 또는 이의 항원-결합 단편인 경우, 이것은 "2차" 항체 또는 이의 항원-결합 단편으로 언급될 수 있다. 1 차 면역 복합체는 2 차 면역 복합체의 형성을 허용하기에 효과적인 조건 하 및 충분한 시간 동안, 표지된, 2 차 결합제와 접촉된다. 2 차 면역 복합체는 이후 일반적으로 임의의 비-특이적으로 결합된 표지된 2 차 결합제를 제거하기 위해 세정되고, 이후 2차 면역 복합체 중의 잔존 표지가 검출된다.

[0238] 추가의 방법은 2-단계 접근법에 의한 1 차 면역 복합체의 검출을 포함한다. 제1 CD37-결합제 (예를 들면, 항-CD37 항체 또는 이의 항원 결합 단편) 에 대한 결합 친화도를 갖는 제 2 결합제 (예를 들면, 항체 또는 이의 항원-결합 단편) 가, 본 명세서에서 기재된 바와 같은 2 차 면역 복합체를 형성하는데 사용된다. 세정 후, 2차 면역 복합체는 제 2 결합제 (예를 들면, 항체 또는 이의 항원-결합 단편) 에 대한 결합 친화도를 갖는 제 3 결합제와, 또다시 면역 복합체 (3 차 면역 복합체) 의 형성을 허용하기에 효과적인 조건 하 및 충분한 시간 동안, 접촉된다. 제 3 결합제는 그에 따라 형성된 3 차 면역 복합체의 검출을 허용하는, 검출가능한 표지에 연결된다. 이 시스템은 이것이 요망되는 경우 신호 증폭을 제공할 수 있다.

[0239] 또다른 구현예에서, 비오틴화된 CD37-결합제 (예를 들면, 항-CD37 항체 또는 이의 항원 결합 단편) 는 CD37 을 검출하기 위해 사용되고, 제2 결합제 (예를 들면, 항체 또는 이의 항원-결합 단편) 는 그 다음 비오틴을 검출하

기 위해 사용된다. 이 방법에서, 시험하고자 하는 샘플을 비오틴화된 CD37-결합제 (예를 들면, 항-CD37 항체 또는 이의 항원 결합 단편) 를 포함하는 용액에 먼저 인큐베이션시킨다. CD37 이 존재하는 경우, 결합제의 일부는 CD37 에 결합하여, 비오틴화된 CD37-결합제-CD37 복합체를 형성한다. 이후 복합체는 스트렙타비딘 (또는 아비딘), 비오틴화된 DNA, 및/또는 상보적 비오틴화된 DNA 의 연속적인 용액 중에 인큐베이션함으로써 증폭되는데, 각각의 단계에서 추가의 비오틴 부위를 항체/항원 복합체에 첨가한다. 증폭 단계는 적합한 수준의 증폭이 달성될 때까지 반복되고, 이 시점에서 샘플을 비오틴에 결합하는 제2 결합제 (예를 들면, 항체 또는 이의 항원-결합 단편) 를 포함하는 용액에서 인큐베이션한다. 상기 제 2 결합제를, 예를 들면 색원체 기질을 사용하는 조직효소학에 의해 항체/항원 복합체의 존재를 검출하도록 사용될 수 있는 효소로 표지한다. 적합한 증폭으로, 콘주게이트를 거시적으로 가시적인 것으로 제조할 수 있다.

[0240] 하나의 구현예에서, 면역조직화학 (IHC) 은 면역학적 검출을 위해 사용된다. IHC 를 사용하여, 샘플 중 CD37 의 검출은 샘플을 탐침 예를 들면, 항-CD37 항체 또는 이의 항원-결합 단편으로 처리함으로써 달성될 수 있다. 탐침은 검출가능한 표지에 직접적으로 또는 간접적으로 연결될 수 있거나, 또는 검출가능한 표지에 직접적으로 또는 간접적으로 연결된 또 다른 탐침에 의해 검출될 수 있다.

[0241] 일부 구현예에서, IHC 는 상이한 수준의 단백질 발현, 예를 들면, 보정된 IHC 사이에서 구별될 수 있다. 일부 구현예에서, IHC 는 저 CD37, 중간 CD37, 또는 고 CD37 발현을 갖는 샘플에 대해 염색 강도를 구별할 수 있다.

[0242] 하나의 구현예에서, CD37 의 면역학적 검출 (면역조직화학에 의한) 은 강도 및 균일성 (염색된 세포 - 막 단독의 퍼센트) 둘다에 대해 점수화된다. 강도에 있어서 CD37 발현에 대한 비교 척도는 0 - 음성, 0-1 - 매우 약한, 1 - 약한, 1-2 - 약한 내지 중간 정도, 2 - 중간 정도, 2-3 - 중간 정도 내지 강한, 3 - 강한 내지 매우 강한 것으로 상관성이 있다. 정량적으로, 점수 0 은 염색이 관측되지 않는 또는 막 염색이 종양 세포의 10% 미만에서 관측되는 것을 나타낸다. 점수 1 또는 1+ 는 희미한/가까스로 인지가 가능한 막 염색이 종양 세포의 10% 초과에서 검출되는 것을 나타낸다. 세포는 그것의 막의 일부에만 염색된다. 점수 1 및 1+ 는 상호 교환적으로 사용된다. 점수 2 의 경우, 약한 내지 중간 정도의 완전한 막 염색이 종양 세포의 10% 초과에서 관측된다. 마지막으로, 점수 3 은 중간 정도 내지 강한 완전한 막 염색이 종양 세포의 10% 초과에서 관측되는 것을 나타낸다. CD37 발현에 대해 0 또는 1 점수를 갖는 이들 샘플은 상승된 CD37 발현을 갖지 않는 것으로 특징화될 수 있는 반면, 2 또는 3 점수를 갖는 샘플은 상승된 CD37 을 갖거나 과발현된 것으로 특징화될 수 있다. 또다른 구현예에서, 본원에서 제공된 항체, 항원-결합 그것의 단편, 또는 폴리펩티드를 사용하여, CD37 발현에 대해 0 점수를 가진 이들 샘플은 상승된 CD37 발현을 갖지 않은 것으로 특징화될 수 있고, 1 점수를 가진 이들 샘플은 CD37 의 증가된 발현을 갖는 것으로 특징화될 수 있고, 2 또는 3 점수를 가진 이들 샘플은 상승된 CD37 을 갖거나 과발현된 것으로 특징화될 수 있다.

[0243] 특정 구현예에서, 대상으로부터 취득된 샘플에서 적어도 2 의 점수는 상기 대상을 항-CD37 치료 레지멘 (예를 들면, IMG529) 으로의 처리를 위한 후보로서 확인한다. 특정 구현예에서, 대상으로부터 취득된 샘플에서 적어도 3 의 점수는 상기 대상을 항-CD37 치료 레지멘 (예를 들면, IMG529) 으로의 처리를 위한 후보로서 확인한다.

[0244] CD37 을 과발현하는 샘플은 또한 세포 당 발현된 CD37 분자의 카피 수, 또는 세포 당 결합된 항체 (ABC) 에 상응하는 면역조직화학 점수에 의해 등급을 매길 수 있고, 생화학적으로 결정될 수 있다.

[0245] CD37 균일성 (퍼센트 세포막 염색) 에 대한 비교 척도는 아래와 같다: 음성 = 0%; 초점 = <25%; 불균질 (헤테로) = 25-75%, 및 균질 (호모) = >75%.

[0246] 특정 구현예에서, 대상으로부터 취득된 샘플 중의 적어도 2 헤테로의 점수는 상기 대상을 항-CD37 치료 레지멘 (예를 들면, IMG529) 으로의 처리를 위한 후보로서 확인한다. 특정 구현예에서, 대상으로부터 취득된 샘플 중의 적어도 2 호모의 점수는 상기 대상을 항-CD37 치료 레지멘 (예를 들면, IMG529) 으로의 처리를 위한 후보로서 확인한다. 특정 구현예에서, 대상으로부터 취득된 샘플 중의 적어도 3 헤테로의 점수는 상기 대상을 항-CD37 치료 레지멘 (예를 들면, IMG529) 으로의 처리를 위한 후보로서 확인한다. 특정 구현예에서, 대상으로부터 취득된 샘플 중의 적어도 3 호모의 점수는 상기 대상을 항-CD37 치료 레지멘 (예를 들면, IMG529) 으로의 처리를 위한 후보로서 확인한다.

[0247] 하나의 구현예에서, CD37 의 면역학적 검출 (면역조직화학에 의한) 은 H-점수를 사용하여 점수화된다. H-점수는 염색 강도 점수 (예를 들면, 0 내지 3 의 점수, 여기서 0 은 염색이 없는 것을 나타내고, 3 은 강한 염색

을 나타냄) 와 막 염색에 대해 양성인 (즉, 균일성) 세포의 백분율을 조합한다. H-점수는 아래와 같이 계산될 수 있다:

[0248] H 점수 = [0\*(강도 0 에서의 세포 염색의 백분율)] + [1\*(강도 1 에서의 세포 염색의 백분율)] + [2\*(강도 2 에서의 세포 염색의 백분율)] + [3\*(강도 3 에서의 세포 염색의 백분율)]. 따라서, H-점수는 0 (세포막 염색 없음) 내지 300 (강도 3 에서의 모든 세포막 염색) 의 범위일 수 있다.

[0249] 예로써, 암을 가진 대상에서의 H-점수는 아래와 같을 수 있다:

[0250] H 점수 = (강도 0 에서 75%) + (강도 1 에서 0%) + (강도 2 에서 0%) + (강도 3 에서 25%) = 75; 또는

[0251] H 점수 = (강도 0 에서 0%) + (강도 1 에서 75%) + (강도 2 에서 0%) + (강도 3 에서 25%) = 150.

[0252] 또다른 예에서, 암을 가진 대상에서의 H-점수는 아래와 같을 수 있다:

[0253] H 점수 = (강도 0 에서 75%) + (강도 1 에서 0%) + (강도 2 에서 25%) + (강도 3 에서 0%) = 50; 또는

[0254] H 점수 = (강도 0 에서 0%) + (강도 1 에서 75%) + (강도 2 에서 25%) + (강도 3 에서 0%) = 125.

[0255] 하나의 구현예에서, CD37 의 면역학적 검출 (면역조직화학에 의한) 은 샘플을 교차하여 퍼센트 양성도 및 강도를 사용하여 점수화된다. 본 구현예에서, 항-CD37 치료 레지멘으로의 치료를 위한 선택은 염색 강도 (예를 들면, 1, 2, 또는 3) 및 균일성 (예를 들면, 불균질 또는 균질 (참조 표 3)) 모두를 반영하는 특정된 수준에서 막 CD37 을 발현하는 것으로 밝혀진 샘플 중 세포의 백분율에 기반한다. 예를 들어, 3 에서 CD37 양성도에 대해 적어도 25% (즉, 25-75% 또는 > 75%) 의 세포 염색을 갖는 샘플은 "3 헤테로" 및 "3 호모" 로서 또는, 집합적으로, "3 에서 적어도 25% 양성" 으로서 특징화될 수 있었다.

[0256] IHC 는 수작업으로 또는 자동화 시스템 (예를 들면, 자동화 스트레이너를 사용함) 을 사용하여 수행될 수 있다. IHC 는 혈액, 혈장, 혈청, 또는 림프액 등으로부터의 세포, 세포 펠렛, 조직, 제제 상에 수행될 수 있다. 일부 구현예에서, 샘플은 고정된 샘플이다. 일부 구현예에서, 샘플은 파라핀 포매된 샘플이다. 일부 구현예에서, 샘플은 포르말린 고정된 및 파라핀 포매된 샘플이다.

[0257] 하나의 구현예에서, 효소-결합 면역 흡수제 검정 (ELISA) 은 면역학적 검출을 위해 사용된다. ELISA 의 근원적인 방법론은 당해 분야에 공지되어 있다. 예를 들어, Lequin R, "Enzyme immunoassay (EIA)/enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)," *Clin. Chem.* 51:2415-2418 (2005) 를 참고하며, 이것은 본원에 그 전문이 참고로서 인용된다. 하나의 예시적인 ELISA 에서, CD37-결합제 (예를 들면, 항체 또는 이의 항원-결합 단편) 는 단백질 친화도를 나타내는 선택된 표면 상에서, 예컨대 폴리스티렌 마이크로타이터 플레이트 중의 웰 상에 고정된다. 그 이후, CD37 을 함유하는 또는 함유하는 것으로 의심되는 시험 샘플, 예컨대 임상 샘플이 웰에 첨가된다. 비-특이적으로 결합된 면역복합체를 제거하기 위해 결합 및 세정 후, 결합된 CD37 이 검출될 수 있다. 검출은 일반적으로, 검출가능한 표지에 연결된, CD37 에 특이적인 제 2 항체 또는 이의 항원-결합 단편의 첨가에 의해 달성된다. 이러한 유형의 ELISA 는 "샌드위치 ELISA" 이다. 검출은 또한 검출가능한 표지에 연결된 제 3 항체 또는 이의 항원-결합 단편과 함께, 제 2 항체 또는 이의 항원-결합 단편의 첨가, 그 다음 제 2 항체 또는 이의 항원-결합 단편에 대한 결합 친화도를 갖는 제 3 항체 또는 이의 항원-결합 단편의 첨가에 의해 달성될 수 있다. 색상 형성은 분광측색분석으로 모니터링하고, 표준 곡선에 대한 보정에 의해 CD37 의 농도와 관련될 수 있다. 또 다른 예시적인 ELISA 에서, 시험 샘플은 웰 표면 상에 고정되고, 그 다음 CD37-결합제 (예를 들면, 항체 또는 이의 항원-결합 단편) 와 접촉된다. 비-특이적으로 결합된 면역복합체를 제거하기 위해 결합 및 세정 후, 결합된 CD37 이 검출된다. 초기 CD37-결합제 (예를 들면, 항체 또는 이의 항원-결합 단편) 가 검출가능한 표지에 연결되는 곳에서, 면역복합체가 직접적으로 검출될 수 있다.

[0258] 또다시, 면역복합체는 제1 결합을 위한 결합 친화도를 갖는 제2 결합제를 사용하여 검출될 수 있으며, 제2 결합제는 검출가능한 표지에 연결된다. 시험 샘플이 고정된 또 다른 ELISA 는 검출 내의 경쟁의 사용을 수반한다. 상기 ELISA 에서, 표지된 CD37-결합제 (예를 들면, 항체 또는 이의 항원-결합 단편) 가 웰들에 첨가되어, CD37 에 결합하고, 그것의 표지에 의해 검출되도록 한다. 샘플 중의 CD37 의 양은 이후 샘플을, 코팅된 웰들로 인큐베이션 전 또는 동안 표지된 CD37-결합제 (예를 들면, 항체 또는 이의 항원-결합 단편) 와 혼합함으로써 결정된다. 샘플 중의 CD37 의 존재는 웰에 대한 결합에 이용가능한 CD37-결합제 (예를 들면, 항체 또는 이의 항원-결합 단편) 의 양을 감소시키고, 따라서 최종적인 신호를 감소시키기 위해 작용한다.

[0259] 하나의 구현예에서, 웨스턴 블롯이 면역학적 검출을 위해 사용된다. 웨스턴 블롯을 위해 단백질이 세포 샘

플로부터 추출되고, 전기영동 (예를 들면, SDS-PAGE) 을 거쳐, 막 (예를 들면, 니트로셀룰로오스 또는 PVDF) 에 블롯팅된다. 막은 이후 CD37-결합제 (예를 들면, 항체 또는 이의 항원-결합 단편) 와 접촉되고, 이것은 직접적으로 표지될 수 있거나, 또는 2차 표지된 결합제에 추가 적용될 수 있다. 검출은 예를 들어, 방사선 사진촬영, 비색 반응, 또는 화학발광에 의해 수행될 수 있다. 상기 방법은 전기영동 동안 아크릴아미드 겔 내의 이동 거리의 지표인 막 상의 상대적인 위치에 의해 기질의 양의 정량화 및 이의 정체의 결정 둘다를 가능하게 한다.

[0260] 하나의 구현예에서, 유세포측정은 면역학적 검출을 위해 사용된다. 따라서, 예를 들어, 세포 당 결합된 항체 (ABC) 의 수는 유세포측정을 사용하여 평가될 수 있다. 세포 당 결합된 항-CD37 항체의 수가 큰 것은 높은 CD37 발현 수준 및 항-CD37 항체 또는 이의 면역콘주게이트로의 처리에 민감하다는 높은 가능성을 나타낼 수 있다.

[0261] 하나의 구현예에서, FACS 는 면역학적 검출을 위해 사용된다. FACS 분석은 세포막 상의 CD37 의 검출을 가능하게 한다. 간단히, CD37-결합제 (예를 들면, 항체 또는 이의 항원-결합 단편) 는 형광단에 연결되고, 검출은 이것이 광 빔을 통해 통과하면서 각각의 세포로부터 방출된 빛의 파장을 판독하는 세포 분류 기계에 의해 수행된다. 상기 방법은 2종 이상의 항체 동시에 사용할 수 있다.

[0262] VII. 검출제

[0263] 본원에 제공된 CD37-결합제는 적어도 하나의 작용제에 연결되어 검출 콘주게이트를 형성할 수 있다. 또한, 본원에 제공된 CD37-결합제는 검출 콘주게이트를 형성하기 위한 적어도 하나의 작용제에 연결된 검출제에 의해 검출될 수 있다. 검출 분자 및 모이어티는 당해 기술에 공지되어 있다. 진단제로서 항체 분자의 효능을 증가시키기 위해, 적어도 하나의 요망된 분자 또는 모이어티와 연결 또는 공유 결합 또는 복합체를 이루는 것이 통상적이다. 그와 같은 분자 또는 모이어티는 비제한적으로, 적어도 하나의 리포터 분자일 수 있다. 리포터 분자는 검정을 사용하여 검출될 수 있는 임의의 모이어티로서 정의된다. 항체에 접합된 리포터 분자의 비-제한적인 예는 효소, 방사능표지, 합텐, 형광 표지, 인광 분자, 화학발광 분자, 발색단, 발광성 분자, 광친화성 분자, 착색된 입자 및/또는 리간드, 예컨대 비오틴을 포함한다.

[0264] 본 발명에서 고려된 항체 또는 항원-결합 단편 검출 콘주게이트는 항체 또는 단편이 발색 기질과 접촉시 착색된 생성물을 발생시킬 2차 결합 리간드 및/또는 효소 (효소 태그) 에 연결된, 시험관내 사용을 위한 것들을 포함한다. 본원에 제공된 CD37 항체 및 이의 항원-결합 단편은 예를 들어, 이들이 CD37 의 동적 범위를 검출하는 것이 가능하기 때문에, 콘주게이트 방법에 특히 유용하다. 적합한 효소의 예는 우레아, 알칼리성 포스파타제, (홀스래디쉬) 수소 페록시디아제 및/또는 글루코스 옥시다제를 포함한다. 일부 구현예에서, 2차 결합 리간드는 비오틴 및/또는 아비딘 및 스트렙타비딘 화합물이다.

[0265] 효소의 경우, 색발현되고 측정된 색상의 양은 존재하는 CD37 의 양의 직접적인 측정일 것이다. HRP 가 표지인 경우, 색상은 예를 들면, 450 nm 흡광도에서, 기질 3,3',5,5'-테트라메틸 벤지딘 (TMB) 을 사용하여 검출될 수 있다. 대안적으로, HRP 에 대한 다른 발색 기질, 예컨대 3,3'-디아미노벤지딘 (DAB) 또는 2,2'-아지노비스(3-에틸벤조티아졸린-6-설폰산) (ABTS). 기질 예컨대 TMB, DAB, 및 ABTS 가 예를 들어, ELISA 를 사용하는 면역검출 방법에서 사용될 수 있다.

[0266] 3,3'-디아미노벤지딘 (DAB) 은 알코올 및 다른 유기 용매에서 고도로 불용성인 갈색 최종 생성물을 생성하는 효소 예컨대 HRP 에 대한 기질이다. DAB 의 산화는 또한 중합을 야기해서, 오스뮴 테트록사이드와 반응하는 능력을 산출하고, 따라서 그것의 염색 강도 및 전자 밀도를 증가시킨다. 중합된 DAB 의 광학 밀도를 강화시키는데 사용되는 여러 금속 및 방법 중에서, 은 설파이드와 조합으로의 금 염화물은 가장 성공적인 것으로 나타난다.

[0267] 3-아미노-9-에틸카바졸 (AEC) 은, 효소 예컨대 HRP 에 대한 기질이고, 산화 시, 알코올 가용성인 장미-적색 최종 생성물을 형성한다. 따라서, AEC 로 가공된 시료는 알코올 또는 알코올성 용액 (예를 들면, Harris' 헤마톡실린) 에 침지되어서는 안된다. 대신에, 수성 대조염색 및 고정 배지가 사용되어야만 한다.

[0268] 4-클로로-1-나프톨 (CN) 은 청색 최종 생성물로서 침전하는 효소 예컨대 HRP 에 대한 기질이다. CN 이 알코올 및 다른 유기 용매에 가용성이기 때문에, 시료는 탈수되고, 알코올성 대조염색에 노출되거나, 또는 유기 용매를 함유하는 고정 배지로 커버슬립 (coverslip) 되어지 않아야만 한다. DAB 와는 달리, CN 은 침전 부위로부터 확산되는 경향이 있다.

[0269] p-페닐렌디아민 디하이드로클로라이드/파이로카테콜 (Hanker-Yates 시약) 은 알코올 및 다른 유기 용매에 불용

성인 청색-흑색 반응 생성물을 산출하는 효소 예컨대 HRP 에 대한 기질이다. 중합된 DAB 와는 달리, 본 반응 생성물은 오스뮴화될 수 있다 (osmicated). 다양한 결과가 면역페록시다아제 기술에서 Harker-Yates 시약으로 달성되었다.

- [0270] 화학발광 기질, 예컨대 ECL 이 사용될 수 있다. 기질 예컨대 ECL 은 예를 들어, 웨스턴 블롯팅을 사용하는 면역검출 방법에서 사용될 수 있다.
- [0271] 결합제 (예를 들면, 항체) 콘쥬게이트로서 사용하기 위해 고려된 예시적인 형광 표지는 Alexa 350, Alexa 430, Alexa 488, AMCA, BODIPY 630/650, BODIPY 650/665, BODIPY-FL, BODIPY-R6G, BODIPY-TMR, BODIPY-TRX, 캐스캐이드 블루 (Cascade Blue), Cy3, Cy5,6-FAM, Dylight 488, 플루오레세인 이소티오시아네이트 (FITC), 녹색 형광 단백질 (GFP), HEX, 6-JOE, 오레곤 그린 488, 오레곤 그린 500, 오레곤 그린 514, 퍼시픽 블루, 파이크에리트린, REG, 로다민 그린, 로다민 레드, 테트라메틸 로다민 (TMR) 레노그래핀, ROX, TAMRA, TET, 테트라메틸로다민, 텍사스 레드, 및 이들 표지의 유도체 (즉, 이소티오시아네이트 또는 콘쥬게이션을 위한 다른 링커로 개질된, 할로겐화된 유사체 등) 를, 예를 들면 포함한다. 예시적인 방사능표지는 삼중수소이다.
- [0272] 아지도 기를 함유하는 분자가 또한, 저 강도 자외선에 의해 생성된 반응성 니트렌 중간체를 통해 단백질에 대한 공유 결합을 형성하는데 사용될 수 있다 (Potter & Haley, 1983). 특히, 퓨린 뉴클레오타이드의 2- 및 8-아지도 유사체는 미정제 세포 추출물 중 뉴클레오타이드 결합 단백질을 확인하기 위한 부위-지정 포토프로브로서 사용되었다 (Owens & Haley, 1987; Atherton et al., 1985). 2- 및 8-아지도 뉴클레오타이드가 또한 정제된 단백질의 뉴클레오타이드 결합 도메인을 맵핑하기 위해 사용되었고 (Khatoun 등, 1989; King 등, 1989; 및 Dholakia 등, 1989), 항체 결합제로서 사용될 수 있다.
- [0273] 본 발명의 다른 구현예에서, CD37-결합제 (예를 들면, 항체 및 이의 항원-결합 단편) 또는 2차 결합제는 핵종 예컨대 삼중수소로 방사능표지된다. 부가적인 구현예에서, 나노금 입자 (예컨대 약 0.5 nm-40 nm 의 크기) 및/또는 양자점 (Hayward, Calif.) 이 이용된다.
- [0274] 일부 구현예에서, CD37 은 Optiview DAB IHC 검출 시약 (Ventanna 카탈로그 # 760-700) 을 사용하여 검출된다.
- [0275] 일부 구현예에서, CD37 은 BenchMark Ultra 염색 시스템을 사용하여 검출된다.
- [0276] 일부 구현예에서, CD37 은 Optiview DAB IHC 검출 시약 (Ventanna 카탈로그 # 760-700) 을 사용하는 BenchMark Ultra 염색 시스템을 사용하여 검출된다.
- [0277] VIII. 조성물 및 키트
- [0278] 본원에서 또한 제공되는 것은 본원에 개시된 방법의 실시에서 사용하기 위한 조성물 및 키트이다. 이러한 키트는 예를 들어, 본 발명의 실시를 지지하기 위한, 하나 이상의 CD37-결합제 (예를 들면, 항체 또는 이의 항원-결합 단편), 완충액, 및/또는 CD37 의 검출을 위한 시약 및 계기 장비를 포함하여, 방법에서 이용된 다양한 시약 중 하나 이상 (전형적으로 농축된 형태로) 이 있는 용기를 포함할 수 있다. 키트는 CD37-결합제에 결합하는 제2 결합제, 및 선택적으로 제2 결합제에 결합하는 제3 결합제를 추가로 포함할 수 있다. CD37-결합제, 제2 결합제, 또는 제3 결합제는 검출시약에 결합될 수 있고, 또는 키트는 검출 시약을 CD37-결합제, 제2 결합제, 또는 제3 결합제에 커플링하기 위한 시약을 포함할 수 있다. 본 발명의 리간드 검출 방법 중 키트 구성요소를 기재하는 표지 또는 지표, 또는 일련의 사용 지침이 또한 전형적으로 포함될 것이고, 이때 지침은 포장 삽입물 및/또는 키트의 패키징 또는 이의 구성성분과 관련될 수 있다.
- [0279] 특정 구현예에서, 키트는 CD37 에 결합하는 제1 항체 또는 항원-결합 단편, 제1 항체 또는 항원-결합 단편에 결합하는 제2 항체 또는 항원-결합 단편, 제2 항체 또는 항원 결합 단편에 결합하는 제3 항체 또는 항원-결합 단편을 포함하고, 여기서 상기 제3 항체 또는 항원-결합 단편은 검출 시약 (예를 들면, 효소 태그), 선택적으로 검출 시약에 대한 기질 (예를 들면, TMB, DAB, 또는 ABTS), 및 선택적으로 CD37 단백질 또는 CD37 을 함유하는 세포 샘플 (예를 들면, 파라핀-포매된 샘플) 에 연결된다. 키트는 암 치료용 치료제, 예컨대 항-CD37 면역 콘쥬게이트를 추가로 포함할 수 있다.
- [0280] 하나의 구현예에서, CD37-결합제는 1B11-2 또는 이의 항원-결합 단편이다. 하나의 구현예에서, CD37-결합제는 1B11-2 로서 동일한 CD37 에피토프에 결합하는 항체 또는 항원-결합 단편이다. 하나의 구현예에서, CD37-결합제는 1B11-2 의 6 개의 CDR 을 포함하는 항체 또는 항원-결합 단편이다. 하나의 구현예에서, CD37-결합제는 1B11-2 의 VH 및 VL 을 포함하는 항체 또는 항원-결합 단편이다.

- [0281] 하나의 구현예에서, CD37-특이적 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 약 0.1 내지 약 20  $\mu\text{g/mL}$ , 약 0.1 내지 약 15  $\mu\text{g/mL}$ , 약 0.1 내지 약 10  $\mu\text{g/mL}$ , 약 0.5 내지 약 20  $\mu\text{g/mL}$ , 약 0.5 내지 약 15  $\mu\text{g/mL}$ , 약 0.5 내지 약 10  $\mu\text{g/mL}$ , 약 1 내지 약 20  $\mu\text{g/mL}$ , 약 1 내지 약 15  $\mu\text{g/mL}$ , 약 1 내지 약 10  $\mu\text{g/mL}$ , 약 2 내지 약 20  $\mu\text{g/mL}$ , 약 2 내지 약 15  $\mu\text{g/mL}$ , 또는 약 2 내지 약 10  $\mu\text{g/mL}$  의 농도로 포함된다. 또다른 구현예에서, CD37-특이적 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 약 1.5  $\mu\text{g/mL}$ , 약 2  $\mu\text{g/mL}$ , 약 3  $\mu\text{g/mL}$ , 약 4  $\mu\text{g/mL}$ , 약 5  $\mu\text{g/mL}$ , 약 6  $\mu\text{g/mL}$ , 약 7  $\mu\text{g/mL}$ , 약 8  $\mu\text{g/mL}$ , 약 9  $\mu\text{g/mL}$ , 또는 약 10  $\mu\text{g/mL}$  의 농도로 포함된다. 또다른 구현예에서, CD37-특이적 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 약 2  $\mu\text{g/mL}$  의 농도로 포함된다. 또다른 구현예에서, CD37-특이적 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 약 10  $\mu\text{g/mL}$  의 농도로 포함된다.
- [0282] 또다른 구현예에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 약 1 내지 약 20  $\mu\text{g/mL}$ , 약 1 내지 약 15  $\mu\text{g/mL}$ , 약 1 내지 약 10  $\mu\text{g/mL}$ , 약 2 내지 약 20  $\mu\text{g/mL}$ , 약 2 내지 약 15  $\mu\text{g/mL}$ , 또는 약 2 내지 약 10  $\mu\text{g/mL}$  의 최종 농도를 달성하기 위한 희석에 대한 지침을 가지고 농축된 용액 내에 포함된다. 또다른 구현예에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 약 1.5  $\mu\text{g/mL}$ , 약 2  $\mu\text{g/mL}$ , 약 3  $\mu\text{g/mL}$ , 약 4  $\mu\text{g/mL}$ , 약 5  $\mu\text{g/mL}$ , 약 6  $\mu\text{g/mL}$ , 약 7  $\mu\text{g/mL}$ , 약 8  $\mu\text{g/mL}$ , 약 9  $\mu\text{g/mL}$ , 또는 약 10  $\mu\text{g/mL}$  의 최종 농도를 달성하기 위한 희석에 대한 지침을 가지고 농축된 용액 내에 포함된다. 또다른 구현예에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 약 2  $\mu\text{g/mL}$  의 최종 농도를 달성하기 위한 희석에 대한 지침을 가지고 농축된 용액 내에 포함된다. 또다른 구현예에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 약 2.1  $\mu\text{g/mL}$  의 최종 농도를 달성하기 위한 희석에 대한 지침을 가지고 농축된 용액 내에 포함된다. 또다른 구현예에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 약 4.2  $\mu\text{g/mL}$  의 최종 농도를 달성하기 위한 희석에 대한 지침을 가지고 농축된 용액 내에 포함된다. 또다른 구현예에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 약 8.4  $\mu\text{g/mL}$  의 최종 농도를 달성하기 위한 희석에 대한 지침을 가지고 농축된 용액 내에 포함된다. 또다른 구현예에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 약 10  $\mu\text{g/mL}$  의 최종 농도를 달성하기 위한 희석에 대한 지침을 가지고 농축된 용액 내에 포함된다. 키트는 또한 CD37 발현의 검출 및 평점을 위한 지침을 포함할 수 있다. 키트는 또한 대조 또는 참조 샘플을 포함할 수 있다. 대조 또는 참조 샘플의 비-제한적인 예는 정상 (정상 대조군) 또는 종양 (양성 대조군) 샘플로부터 유래된 세포 펠렛 또는 조직 배양 세포주를 포함한다. 예시적인 세포주는 CD37 을 발현하는 발현 벡터로 안정적으로 또는 일시적으로 형질감염된 세포주를 포함한다. 추가의 그 예는 실시예에 기재된 세포 펠렛 및 조직 샘플을 포함한다. 양성 세포주는 Daudi 세포 (높은 발현), Ramos 세포 (중간 정도 발현) 및 Namalwa 세포 (중간 정도 내지 낮은 발현) 를 포함한다. 인간 편도는 종자 중심으로서 양성 및 음성 대조군 조직 둘다를 담당하고, 맨틀 구역은 높은 발현을 보이며, 소낭간 영역은 발현을 보이지 않는다. 일부 구현예에서, 대조 또는 참조 샘플은 파라핀-포매된 샘플이다.
- [0283] 일부 구현예에서, 키트는: (a) 인간 CD37 에 대항하는 모노클로날 항체로 구성된 포획 시약; 및 (b) 또한 CD37 모노클로날 항체를 포함할 수 있으나, 또한 CD37 에 결합되는 검출가능한 (표지된 또는 미표지된) 항체를 포함할 수 있는 검출 시약의 기본 요소를 포함하는 포장된 조합이다. 이들 기본 요소는 본원에 정의된다.
- [0284] 하나의 구현예에서, 키트는 포획 시약에 대한 고형 지지체를 추가로 포함할 수 있는데, 이것은 별도의 요소로서 제공될 수 있거나 또는 그 위에 포획 시약이 이미 고정된다. 그러므로, 키트 중의 포획 항체는 고형 지지체 상에 고정될 수 있거나, 또는 이들은 키트와 함께 포함된 또는 키트로부터 개별적으로 제공된 그러한 지지체 상에 고정될 수 있다.
- [0285] 하나의 구현예에서, 포획 시약은 마이크로타이터 플레이트 상에 코팅된다. 검출 시약은 직접적으로 검출된 표지된 항체 또는 상이한 종에서 상승된 미표지된 항체에 대항하여 지정된 표지된 항체에 의해 검출된 미표지된 항체일 수 있다. 표지가 효소인 경우, 키트는 통상적으로 효소에 의해 요구되는 기질 및 보조인자를 포함할 것이고, 표지가 형광단인 경우, 검출가능한 발색단을 제공하는 염료 전구체를 포함할 것이다. 검출 시약이 미표지된 경우, 키트는 검출가능한 항체를 위한 검출 수단, 예컨대, 예를 들면, 형광측정-검출된 포맷으로의, 미표지된 항체에 지정된 표지된 항체를 추가로 포함할 수 있다. 표지가 효소인 경우, 키트는 통상적으로 효소에 의해 요구되는 기질 및 보조인자를 포함할 것이고, 표지가 형광단인 경우, 검출가능한 발색단을 제공하는 염료 전구체를 포함할 것이고, 표지가 비오틴인 경우, 아비딘 예컨대 아비딘, 스트렙타비딘, 또는 HRP 에 콘쥬게이션된 스트렙타비딘 또는 MUG 와 함께  $\beta$ -갈락토시다아제를 포함할 것이다.
- [0286] 하나의 구현예에서, 포획 시약은 CD37 항체 1B11-2 또는 항체 1B11-2 의 서열을 포함하는 항체이다. 하나의 구현예에서, 검출 시약은 CD37 항체 1B11-2 또는 항체 1B11-2 의 서열을 포함하는 항체이다. 또다른 구현예에서, 검출 시약 CD37 항체 1B11-2 또는 항체 1B11-2 의 서열을 포함하는 항체는 비오틴화된다.
- [0287] 또다른 구현예에서, 키트는 하기로 이루어진 군: 효소, 형광단, 방사성 표지, 및 발광단으로부터 선택된 검출

시약을 추가로 포함한다. 또다른 구현예에서, 검출 시약은 하기로 이루어진 군: 비오틴, 디곡시제닌, 플루오레신, 삼중수소, 및 로다민으로부터 선택된다.

- [0288] 키트는 또한 검정을 실시하기 위한 지침, 및/또는 항원 표준으로서의 CD37 단백질, 또는 이의 단편 (예를 들면, CD37 세포의 도메인 또는 GPI 연결 도메인의 모두 또는 일부를 가진 CD37 세포의 도메인), 뿐만 아니라 다른 첨가제 예컨대 안정화제, 세척 및 인큐베이션 완충액, 등을 함유할 수 있다. 하나의 구현예에서, CD37 항원 표준은 본원 실시예에 기재된 CD37-단백질이다. 키트는 또한 CD37 발현의 검출 및 평점을 위한 지침을 포함할 수 있다.
- [0289] 키트의 성분은, 검정 민감성을 실질적으로 최대화하는 시약의 용액 중의 농도를 제공하기 위해 적합하게 다양화된 다양한 시약의 상대적인 양으로, 미리결정된 비로 제공될 수 있다. 특히, 시약은 부형제를 포함하여, 일반적으로 동결건조된, 건조 분말로서 제공될 수 있는데, 이것은 용해 시 시험하고자 하는 샘플과 배합하기 위한 적절한 농도를 갖는 시약 용액을 제공할 것이다.
- [0290] 본원에 기재된 항체 또는 항원-결합 단편을 포함하는 조성물이 또한 제공된다. 하나의 구현예에서, 조성물은 본원에 기재된 항-CD37 항체 또는 항원-결합 단편 및 완충액, 예를 들면, 검출 검정 예컨대 IHC, ELISA, 또는 FACS 에서 사용될 수 있는 완충액을 포함한다. 그와 같은 완충액은 당해 분야의 숙련가에게 공지되고, 희석제를 포함한다. 예로써, IHC 완충액은 예를 들어, 카세인 혈청 또는 알부민 (예컨대 송아지 혈청, 염소 혈청, 또는 BSA), Tween 또는 Triton, PBS 및/또는 소듐 아지드 또는 이들의 임의의 조합을 함유할 수 있다. IHC 완충액은 또한 본원에 제공되고, 당업자에게 공지된다. ELISA 완충액은 또한 본원에 제공되고, 당업자에게 공지된다. ELISA 완충액은 예를 들어, 혈청 또는 알부민 (예컨대 송아지 혈청, 염소 혈청, 또는 BSA), 무지방 건조 밀크, 카세인, 및/또는 젤라틴 또는 이들의 임의의 조합을 함유할 수 있다. 특정 FACS 완충액은 본원에, 예를 들면, 작업예에서 제공된다. FACS 완충액은 또한 예를 들어, 혈청 또는 알부민 (예컨대 송아지 혈청, 염소 혈청, 또는 BSA) 및/또는 소듐 아지드를 함유할 수 있다. FACS 완충액은 또한 PBS, EDTA, 및/또는 DNase 또는 이들의 임의의 조합을 함유할 수 있다.
- [0291] 본 발명의 구현예는 본 개시물의 특정 항체의 제조 및 본 발명의 항체를 사용하는 방법을 상세히 기술하는, 하기 비-제한적인 실시예를 참고로 추가로 정의될 수 있다. 재료 및 방법 모두에 대한 많은 변형이 본 발명의 범주를 벗어나지 않고 실시될 수 있음이 당업자에게 명백할 것이다.
- [0292] IX. 실시예
- [0293] 본원에 기재된 실시예 및 구현예는 단지 설명을 위한 것이고, 이의 견지에서 다양한 변형 또는 변화가 당업자에게 제안될 것이며, 본 출원의 취지 및 범주 내에 있는 것으로 포함되는 것으로 이해된다.
- [0294] 실시예 1: CD37 하이브리도마의 생성
- [0295] 면역조직화학 (IHC) 염색에 적합한 항-인간 CD37 모노클로날 항체 (본 개시내용의 항체) 를 생성하는 하이브리도마를 대략 4,800 개의 하이브리도마로부터 선택하였다. 하이브리도마를 E. 콜라이에서 생산된 재조합 CD37 항원 hCD37-LEL 로의 야생형 Balb/c 마우스의 면역화에 의해 제조하였다. 상기 항원은 정제를 용이하게 하기 위해 3' 말단에 첨가된 6xHis-태그를 가진 CD37 의 아미노산 107 내지 242 를 포함한다 (SEQ ID NO:15). CD37 재조합 단백질로의 면역화는, 부스트 용의 완전한 프로인트 아주반트 (CFA) 또는 불완전한 프로인트 아주반트 (Sigma) 또는 Magic 마우스 아주반트 (Creative Diagnostics) 에 에멀전화한 단백질의 피하 주사에 의해 수행하였다. 일반적으로, 마우스를 융합 전 면역원 3 일의 복강내 주사에 의해 최종 부스트를 받기 전 2 주 간격으로 5 회 면역화하였다.
- [0296] 총 5 회의 독립적인 융합은 면역화된 야생형 Balb/c 마우스 및 췌과 골수종 P3X63Ag8.653 세포 (P3 세포) 로부터 기원한 비장 세포를 사용하여 수행하였다. 세포 융합은 표준 프로토콜에 따라 ECM200 전기융합 기계 (BTX Harvard Apparatus) 를 사용하여 수행하였다. 각각의 융합은 1,000 개 초과 하이브리도마를 산출하였다.
- [0297] 이들 하이브리도마에 의해 생산된 항체는 CD37 항원의 상이한 재조합 버전을 사용하는 ELISA 에 의해 선별되고 확인되었다. hCD37-LEL 은 정제를 용이하게 하기 위해 3' 말단에 첨가되고 (SEQ ID NO:15), E. 콜라이에서 생산된 6xHis-태그를 가진 인간 CD37 의 아미노산 107 내지 242 를 포함한다. hCD37-Fc-LAGA 는 정제를 용이하게 하기 위해 3' 말단에 첨가되고 (SEQ ID NO:17), HEK-293T 세포에서 생산된 인간 IgG1 Fc-도메인을 가진 인간 CD37 의 아미노산 107 내지 235 를 포함한다. hCD37-ECD-Fc 는 정제를 용이하게 하기 위해 3' 말단에 첨가되고 (SEQ ID NO:16), HEK-293T 세포에서 생산된 췌과 IgG2a Fc-도메인을 가진 인간 CD37 의 아미노산 107

내지 235 를 포함한다.

[0298] 고유의 조건에 대해, 재조합 단백질을 50 mM 소듐 비카보네이트 코팅 완충액 (Sigma-Aldrich) 내에 직접 희석하였다. 변성 조건에 대해, 재조합 단백질을 50 mM DTT 를 함유한 1% SDS 중에서 30 분 동안 65°C 에서 인큐베이션한 다음, 50 mM 소듐 비카보네이트 코팅 완충액 내에 희석하기 전에 100 mM 아이오도아세트아미드로 30 분 동안 실온에서 인큐베이션하였다. 각각의 재조합 단백질을 4°C 에서의 밤새 인큐베이션에 의해 마이크로타이터 플레이트 상에 대략 25-100 ng/웰로 고정하였다.

[0299] 플레이트를 0.05% Tween-20 이 보충된 PBS 로 1 회 세정하고, 1% 소 혈청 알부민 (BSA) 이 보충된 PBS 로 차단하였다. 플레이트를 0.05% Tween-20 이 보충된 PBS 로 3회 세정하고, 하이브리도마 상청액을 플레이트에 첨가하였다. 플레이트를 1시간 동안 실온에서 인큐베이션하고, 상기에서와 같이 3회 세정하고, HRP-표지된 염소 항-젯과 2차 항체 (Jackson ImmunoResearch, 1:5,000 으로 희석됨) 와 함께 1시간 동안 실온에서 인큐베이션하였다. 플레이트를 상기에서와 같이 3회 세정하고, 결합된 HRP-콘주게이션된 항체를 HRP-기질 TMB (Bio-FX) 를 첨가함으로써 검출하였다. 플레이트를 대략 10 분 동안 인큐베이션한 다음, 색상 발현을 중지 용액 (Bio-FX) 으로 중단시켰다. 450 nm 에서의 흡광도를 멀티플레이트 리더에서 각각의 플레이트에 대해 측정하였다. 클론 1B11 로부터의 하이브리도마 상청액은 고유 및 변성 조건 모두에 대한 강한 양성 ELISA 신호를 산출하고 (참조 도 1A), 서브클로닝에 대해 선택하였다. 2 개의 서브클론을 클론 1B11: 1B11-2 및 1B11-20 으로부터 수득하였다. 두 서브클론으로부터의 하이브리도마 상청액은 고유 및 변성 조건 모두에 대한 강한 양성 ELISA 신호를 산출하고 (참조 도 1B), 클론 1B11-2 를 추가 분석을 위해 선택하였다.

[0300] 실시예 2: ELISA 에 의한 항-CD37 항체의 특징분석

[0301] 1B11-2 로부터의 항체를 표준 단백질-A 크로마토그래피를 사용하여 정제하였다. Leica Biosystems 에서 판매되는 항-CD37 항체 (제품 코드 NCL-CD37) 를 비교를 위해 사용하였다. 항-CD37 항체의 결합을 항원으로서 사용된 재조합 CD37 단백질로 ELISA 에 의해 검사하였다. 각각의 재조합 단백질을 상기에 기재된 바와 같이 고유의 또는 변성된 조건을 사용하여 소듐 비카보네이트 코팅 완충액 (Sigma-Aldrich) 중의 마이크로타이터 플레이트 상에 대략 25-100 ng/웰로 고정하였다. 플레이트를 0.05% Tween-20 이 보충된 PBS 로 1 회 세정하고, 1% 소 혈청 알부민 (BSA) 이 보충된 PBS 로 차단하였다. 플레이트를 0.05% Tween-20 이 보충된 PBS 로 3 회 세정하고, 정제된 항체를 플레이트에 첨가하였다. 플레이트를 실온에서 1시간 동안 인큐베이션하고, 상기에서와 같이 3회 세정하고, HRP-표지된 염소 항-젯과 2차 항체 (Jackson ImmunoResearch, 1:5,000 로 희석됨) 와 1시간 동안 실온에서 인큐베이션하였다. 플레이트를 상기에서와 같이 3회 세정하고, 결합된 HRP-콘주게이션된 항체를 HRP-기질 TMB (Bio-FX) 을 첨가함으로써 검출하였다. 플레이트를 대략 10 분 동안 인큐베이션한 다음, 색상 발현을 중지 용액 (Bio-FX) 으로 중단시켰다. 450 nm 에서의 흡광도를 멀티플레이트 리더에서 각각의 플레이트에 대해 측정하였다. 대표적인 결과는 고유의 hCD37-Fc-LAGA 및 hCD37-LEL 에 대한 결합에 대해 도 2 에서 제시된다. 항체 1B11-2 는 NCL-CD37 과 비교하여 두 고유의 CD37 단백질에 크게 개선된 친화도로 결합한다. 결과는 변성된 hCD37-LEL 단백질에 대한 결합을 위해 도 3 에 대해 제시된다. 항체 1B11-2 는 NCL-CD37 과 비교하여 변성된 hCD37-LEL 단백질에 개선된 친화도로 결합한다.

[0302] 실시예 3. 항원 에피토프 특징분석

[0303] 항-CD37 항체의 결합은 상기에 기재된 바와 같이 고유의 조건 하에 항원으로서 사용된 재조합 CD37 단백질 hCD37-ECD-S2-Fc 로의 ELISA 에 의해 추가로 검사되었다 (S2 는 아미노산 138 내지 176 을 함유하는, CD37 의 큰 세포외 도메인의 제 2 분절을 지칭함). 대표적인 결과는 도 4 에 제시된다. hCD37-ECD-S2-Fc 는 정제를 용이하게 하기 위해 3' 말단에 부가되고 (SEQ ID NO:18), HEK-293T 세포에서 생산된 젯과 IgG2a Fc-도메인을 가진 인간 CD37 의 아미노산 107 내지 109 및 138 내지 235 를 포함한다. 항체 1B11-2 는 hCD37-ECD-S2-Fc 에 결합하지 않는 반면, NCL-CD37 은 상기 CD37 단백질 단편에 대한 결합을 보유한다. 유사한 결과가 웨스턴 블롯 분석으로 제시되었다.

[0304] 실시예 4. 항-CD37 항체의 면역조직화학 평가

[0305] FFPE CD37 IHC

[0306] 클론 1B11-2 로부터 정제된 항체를 분석하고, IHC 에 의해 Leica's NCL-CD37 마우스 모노클로날 항체와 비교하였다. 분석을 Leica 결합 RX 자동화 염색기 및 표 1 에 열거된 시약 및 조건을 사용하여 수행하였다.

[0307] 표 1. IHC 시약 및 검정 조건

단계	작용/시약 (판매처)	시간
베이킹	온도: 60°C	30 분
탈납	결합 탈납 용액 (Leica) 100% 시약 등급 에탄올 (Arantik)	고정됨
항원 회수	결합 에피토프 회수 1 (pH 6.0 용액 기반 시트레이트 완충액)	20 분
내인성 페록시다아제 차단	페록시드 (Leica)	5 분
시험 품목	Leica Antibody Diluent 에 희석함으로써 제조된 다양한 농도의 항체 ImmunoGen, Inc.	15 분
검출	포스트 1 차 시약 (Leica)	8 분
	중합체 (Leica)	8 분
	혼합 DAB (Leica)	10 분
반대염색	헤마토자일린 (Leica)	5 분

[0308]

[0309]

포르말린 고정 파라핀 포매된 (FFPE) 세포 샘플, 정상 조직, 미만성 거대 B-세포 림프종 환자 종양 생검, 소낭 림프종 환자 종양 생검, 및 만성 림프구성 백혈병/소형 림프구성 림프종 환자 종양 생검을 함유하는 슬라이드를 60°C 에서 베이킹하고, 결합 탈납 용액 (Bond Dewax Solution) 및 100% 에탄올을 사용하여 탈납시켰다. 결합 에피토프 회수 1 (Bond Epitope Retrieval 1) (pH 6.0 용액 기반 시트레이트 완충액) 을 사용하는 열 유도 된 에피토프 회수를 20 분 동안 수행하였고, 내인성 페록시다아제를 과산화물로 5 분 동안 차단하였다. 슬라이드를 ImmunoGen, Inc. 제조된 1B11-2 항체, Leica/Novocastra NCL-CD37 항체 (클론 CT1) 또는 Leica/Novocastra muIgG1 대조군 항체와 함께 다양한 농도에서 15 분 동안 인큐베이션하였다. 결합된 항체를 Leica Bond Refine 검출 시스템으로의 인큐베이션에 의해 검출하였다. 항체의 적용에 이어, 슬라이드를 포스트 1 차 시약 (Post Primary Reagent) (토끼 항-마우스 IgG) 로 8 분 동안, 중합체 (Polymer) (염소 항-토끼 중합체) 로 8 분 동안, 및 DAB (3,3-디아미노벤지딘 테트라하이드로클로라이드) 로 10 분 동안 인큐베이션하였다. 이것은 갈색 색상 신호를 산출하였다. 슬라이드를 5 분 동안 헤마톡실린으로 대조염색하였다.

[0310]

FFPE 정상 비장 및 편도 조직 샘플은 아래에서 요약한 바와 같이 Mercy Health Systems and Ardais Corporationas 로부터 취득된 인간 조직 블록으로부터 유래하였다. FFPE 세포 샘플은 DSMZ (German Collection of Microorganisms and Cell Cultures) 에 의해 공급된 Daudi 및 Ramos 세포주로부터 유래하였고, Namalwa 세포주는 American Tissue Culture Collection 에 의해 공급되었다. 샘플 섹션을 함유하는 슬라이드를 5 μm 에서 마이크로톰 세트를 사용하여 FFPE 블록으로부터 제조하고, 양으로 하전된 슬라이드 상에 고정하였다. 이들 슬라이드를 염색 전에 밤새 공기 건조시켰다. 인간 정상 조직 어레이는 Pantomics 에서 구매하였고, 비-호지킨 림프종 조직 마이크로 어레이는 TriStar Technology Group LLC 에서 구매하였다.

[0311] 표 2. FFPE 시험 샘플

인간 조직 유형	시판 공급처
정상 비장 (2)	Mercy Health Systems
정상 편도선 (3)	Mercy Health Systems (2) 및 Ardaís Corporation (1)
정상 조직 마이크로 어레이	Pantomics
비-호지킨 림프종 조직 마이크로 어레이	TriStar Technology Group LLC

[0312]

[0313]

CD37 염색 강도 및 분포 패턴을 대조 IgG 염색 (비-특이적) 에 대해 점수화하였고, 1B11-2 염색을 Leica's NCL-CD37 마우스 모노클로날 항체로 관측된 염색과 비교하였다. 강도를 0 내지 3 의 척도 (이 중 0 = 염색 없음, 1 = 약한 염색, 2 = 중간 정도 염색, 및 3 = 강한 염색) 로 점수화하였다. 염색의 균일성을 음성 (어떤 세포도 양성 염색을 나타내지 않음), 초점 (세포의 <25% 염색됨), 불균질 (세포의 25-75% 염색됨), 및 균질한 (세포의 >75% 염색됨) 것으로서 점수화하였다. 염색 강도 및 평점 척도는 아래 기재되어 있다. 모든 염색을 위원회 (Board) 보증된 병리학자에 의해 평가하였다.

[0314]

표 3. 염색의 강도 및 균일성

강도 (막 염색 양)		균일성 (양성 세포 %)	
0	음성	0	음성
1	약함	초점	<25%
2	중	불균질 (헤테로)	25-75%
3	강함	균질 (호모)	>75%

[0315]

[0316]

FFPE CD37 IHC 에 대한 정제된 1B11-2 항체의 입증

[0317]

Leica Antibody Diluent (트리스-완충 식염수, 계면활성제, 및 0.35% ProClin™ 950 이 있는 단백질 안정화제) 중 8.4 µg/mL, 4.2 µg/mL, 및 2.1 µg/mL 에서 희석된 클론 1B11-2 로부터의 정제된 항체를, CD37-양성 대조군 샘플 (인간 정상 편도, Daudi 세포, Ramos 세포, 및 Namalwa 세포) 를 염색시키는데 사용하였다. 항체를 CD37-양성 샘플 중의 허용가능한 막 염색 및 특이성에 의해 측정된 CD37 특이성에 대해 평가하였다. 상기 클론을 또한 동일한 CD37 양성 인간 조직 및 세포를 사용하는 Leica Antibody Diluent 중 4.2 µg/mL 로 희석된 NCL-CD37 마우스 mAb (클론 CT1) 와 비교하였다. Leica's NCL-CD37 항체는 각각의 CD37 양성 세포 펠렛에서 허용가능한 막 염색, 및 일부 저 수준 핵 배경과 함께 편도 조직의 배 (germinal) 중심 및 맨틀 구역에서 허용가능한 막 염색 (둘다 CD37 에 대해 양성임), 및 편도의 소낭간 영역에서 염색 없음 (이것은 CD37 음성임) 을 생성하였다. 1B11-2 는 CD37 양성 샘플에서의 허용가능한 막 염색 및 핵 배경 염색의 완전한 결여의 부가된 장점을 가진 양호한 특이성을 나타냈다 (Leica's NCL-CD37 마우스 mAb 와 비교한 1B11-2 의 이미지에 대해 도 5 를 참고함). 1B11-2 는 Leica's NCL-CD37 마우스 모노클로날 항체로 관측된 것과 유사한 패턴으로의 막 염색을 생성하였으나; 상기 막 염색은 Leica's NCL-CD37 항체에 의해 생산된 것보다 더욱 특이적이고, 더욱 명확히 정의되었다. 1B11-2 가 증가된 특이성을 입증하는 편도의 소낭간 영역 중 염색을 생성하지 않았다는 (CD37 발현에 대해 음성임) 것을 명시하는 것이 또한 중요하다. 4.2 µg/mL 의 적합한 염색 농도가 1B11-2 에 대해 실험적으로 결정되었다.

[0318]

Leica Antibody Diluent 중 4.2 µg/mL 로 희석된 1B11-2 를, 특이성을 평가하기 위해 인간 정상 조직 어레이 (Pantomics 에서 구매) 및 인간 편도 및 비장 조직을 염색하기 위해 또한 사용하였다. 다시, 1B11-2 를 동일한 정상 편도 및 비장 조직 상의 Leica Antibody Diluent 중 4.2 µg/mL 로 희석된 Leica's NCL-CD37 마우스 모노클로날 항체 뿐만 아니라 인간 정상 조직 어레이와 비교하였다. 가장 정상인 조직 (편도 및 비장 제외)

에서 Leica's NCL-CD37 마우스 모노클로날 항체는 음성 조직 나머지를 남겨두고 산란된 림프구 세포에서만 염색을 나타내었다. 소장의 파넬트 (paneth) 세포 및 췌장의 섬세포 중에서 관측된 일부 세포질 배경 블러쉬가 있었다 (참조 도 6). Leica's NCL-CD37 항체는 인간 정상 편도의 배 중심 및 맨틀 구역에서 및 비록 일부 저수준 핵 배경이기는 하지만 인간 정상 비장 조직의 변연부에서 허용가능한 막 염색을 생성하였다. 편도의 소낭간 영역에는 또는 비장의 적색 속질에는 Leica's NCL-CD37 항체로의 염색이 존재하지 않았다. 1B11-2 는 인간 정상 편도의 종자 중심 및 맨틀 구역 및 인간 정상 비장 조직의 변연부 및 배경 염색이 전혀 없는 잔존 정상 조직 중 산란된 림프구 염색에서 허용가능한 막 염색을 나타내었다 (참조 도 6). 또한 편도의 소낭간 영역에서 또는 비장의 적색 속질에서 염색이 없었다. 이들 결과는 1B11-2 가 염색 민감성, 특이성, 및 감소된 배경에 관하여 유리하고, 이들 모두 IHC 검정의 높은 품질 성능 및 분석을 위해 중요하다는 것을 입증한다.

[0319] 실시예 5. 인간 종양 샘플을 사용하는 1B11-2 CD37 항체의 IHC 평가.

[0320] 미만성 거대 B-세포 림프종 (n=52), 소낭 림프종 (n=20), 및 만성 림프구성 백혈병/소형 림프구성 림프종 (n=8) (모두 TriStar Technology Group LLC 에서 구매한 비-호지킨 림프종 조직 마이크로어레이에 포함됨) 의 인간 종양 샘플 대표물을 1B11-2 항체를 사용하는 IHC 에 의한 CD37 발현에 대해 평가하였다. CD37 염색 강도 및 점수 분포는 하기 표 4 에 요약된다. 도 7 은 1B11-2 항체로의 미만성 거대 B 세포 림프종 및 소낭 림프종 조직의 염색 예를 보여준다. 이들 결과는 비-호지킨 림프종 환자 조직에서 CD37 발현을 평가하기 위해 IHC 검정에서 사용하기 위한 더욱 특이적인 및 감수성 항체로서의 1B11-2 의 이점을 입증한다.

[0321] 표 4: 점수 분포 (% 양성도)

종양 유형:	미만성 거대 B 세포 림프종 n=52	소낭 림프종 n=20	만성 림프구성 백혈병/소형 림프구성 림프종 n=8
양성 (임의의 강도):	96%	95%	100%
≥ 레벨 2 강도 적어도 25% 종양 세포 염색됨:	58%	35%	50%
≥ 레벨 3 강도 적어도 25% 종양 세포 염색됨:	60%	100%	100%

[0322]

[0323] 1B11-2 항체 및 NCL-CD37 마우스 모노클로날 (Leica) 항체를 비-호지킨 림프종 조직 마이크로 어레이 (TMA) (TriStar Technology Group LLC 에서 구매함) 를 사용하여 비교하였다. IHC 검정 (CD37 검정) 에서 NCL-CD37 항체를 사용하여, 미만성 거대 B 세포 림프종 샘플의 27% (52 개 중 14 개), 소낭 림프종 샘플의 85% (20 개 중 17 개), 및 만성 림프구성 백혈병/소형 림프구성 림프종 샘플의 37% (8 개 중 3 개) 를 최고 카테고리에서 점수화하였다 (적어도 25% 종양 세포에 대해 레벨 3 염색 강도, 표 5). 그에 반해서, Leica Bond Rx 자동화 슬라이드 염색기 상에서 Leica Bond Refine Detection Kit 를 이용하는 상기 기재된 IHC 검정에서 1B11-2 항체는, 최고 카테고리에서 점수화된 염색을 산출하는, 미만성 거대 B 세포 림프종 샘플의 59% (52 개 중 31 개), 소낭 림프종 샘플의 95% (20 개 중 19 개), 및 만성 림프구성 백혈병/소형 림프구성 림프종 샘플의 100% (8 개 중 8 개) 로 증가된 민감성 및 특이성을 가진 염색을 생성하였다 (적어도 25% 종양 세포에 대해 레벨 3 염색 강도, 표 5). 1B11-2 항체는 또한 3 개의 미만성 거대 B 세포 림프종 샘플 중에서 저수준 CD37 발현을 검출할 수 있었던 반면에, Leica's NCL-CD37 항체는 상기 낮은 발현 수준을 검출하는 것이 불가능하였다. 이들 결과는 1B11-2 가 염색 민감성 및 특이성에 관하여 유리하고, CD37 염색의 좀더 동적인 범위를 산출한다는 것을 입증한다.

[0324] 표 5: 비-호지킨 림프종 TMA 에서의 CD37 유병률 비교

점수	미만성 거대 B 세포 림프종 (n=52)		소낭 림프종 (n=20)		만성 림프구성 백혈병/소형 림프구성 림프종 (n=8)	
	NCL-CD37	1B11-2	NCL-CD37	1B11-2	NCL-CD37	1B11-2
양성 (임의의 강도)	47 (90%)	50 (96%)	19 (95%)	19 (95%)	8 (100%)	8 (100%)
≥ 레벨 1 강도 적어도 25% 종양 세포 염색됨:	26 (50%)	11 (21%)	0	0	0	0
≥ 레벨 2 강도 적어도 25% 종양 세포 염색됨:	33 (63%)	30 (58%)	12 (60%)	7 (35%)	7 (88%)	4 (50%)
≥ 레벨 3 강도 적어도 25% 종양 세포 염색됨:	14 (27%)	31 (60%)	17 (85%)	19 (95%)	3 (38%)	8 (100%)

[0325]

[0326]

[0327]

[0328]

실시예 6. 도메인 맵핑

변성 SDS PAGE 웨스턴 블롯팅에 의한 도메인 맵핑

Fc-융합된 CD37-ECD 의 상이한 제제를 인지하는 능력을 1B11-2 에 대해, 변성 SDS PAGE 에서 그 다음 웨스턴 블롯팅 (좌측 패널) 에서, 상업적으로 입수가능한 항-CD37 항체로의 직접적인 비교 (Leica; 우측 패널) 에서 시험하였다. Fc-융합된 CD37-ECD 제제를 70 mM β-머캅토-에탄올을 함유하는 Laemmli 완충액 중에, 100°C 에서 10 분 동안 인큐베이션에 의해 변성시키고, SDS 폴리아크릴아미드 겔 전기영동에 의해 분리하고, 그 다음 PVDF 막으로 전기영동 이동시켰다. 막을 0.1% Tween-20 (TBST) 이 있는 Tris-완충 식염수 중의 5% 무지방 밀크로 1 시간 동안 실온에서 차단하였다. 1 차 항체를 밤새 적용한 다음, 호스 래디쉬 페록시다아제에 컨쥬게이션 된 2차 항-마우스 F(ab)<sub>2</sub> 로 1시간 동안 실온에서 검출하였다. 표준 절차에 따라 향상된 화학발광검출을 사용하여 블롯을 현상하였다. 결과는 도 8 에 제시된다. Leica 항체는 모든 3 개의 Fc-CD37 ECD 제제를 인지하는 반면, 본 발명의 1B11-2 항체는 오직 hCD37-ECD-Fc 및 hCD37-Fc-LAGA 만 인지하나, hCD37-ECD-S2-Fc 는 인지하지 못한다. hCD37-ECD-S2-Fc 제작물에는 CD37 ECD 의 S1 분절 (아미노산 110-137) 이 누락되어 있다. 따라서, 아미노산 110-137 의 영역이 1B11-2 에 의한, 그러나 Leica 항체에 의한 것은 아닌 에피토프 인식에 대한 핵심이다.

[0329]

[0330]

고유한 PAGE 웨스턴 블롯팅에 의한 도메인 맵핑

Fc-융합된 CD37-ECD 의 상이한 제제를 인지하는 능력을 고유의 PAGE 그 다음 1B11-2 에 대한 웨스턴 블롯팅에서 시험하였다. Fc-융합된 CD37-ECD 제제를 NativePage 샘플 완충액에 로딩하고, SDS 폴리아크릴아미드 겔 전기영동에 의해 분리한 다음, PVDF 막으로의 전기영동 이동 또는 쿠마씨 브릴리언트 블루로의 겔 염색을 실시하였다. PVDF 막을 0.1% Tween-20 (TBST) 를 함유한 Tris-완충 식염수 중의 5% 무지방 밀크로 1시간 동안 실온에서 차단하였다. 1 차 항체를 밤새 적용한 다음, 호스 래디쉬 페록시다아제에 컨쥬게이션 된 2차 항-마우스 F(ab)<sub>2</sub> 로 1시간 동안 실온에서 검출하였다. 표준 절차에 따라 향상된 화학발광검출을 사용하여 블롯을 현상하였다. 결과는 도 9 에 제시된다. 변성 SDS PAGE (도 8) 및 ELISA 실험 (참조 도 4) 로부터의 데이터와 일치하게, 본 발명의 1B11-2 항체는 오직 hCD37-ECD-Fc 및 hCD37-Fc-LAGA 만 인지하나, hCD37-ECD-S2-Fc 는 인지하지 못한다. 이들 데이터는 CD37 ECD 의 S1 분절 (아미노산 110-137) 또는 이의 일부가 1B11-2 에 의한 에피토프 인식의 핵심이라는 것을 입증한다 (도 9 의 좌측 패널). 쿠마씨 브릴리언트 블루 겔 염색 (도 9 의 우측 패널) 은 hCD37-ECD-S2-Fc 단백질이 1B11-2 에 의한 검출을 위해 충분한 양으로 존재하였다는 것

을 입증한다.

- [0331] 실시예 7. 항-인간 CD37 항체의 VL 및 VH 영역의 클로닝 및 서열분석
- [0332] 총 세포 RNA 를 제조자의 프로토콜에 따라 RNeasy 키트 (QIAgen) 를 사용하여 상기 기재된,  $5 \times 10^6$  개 세포의 항-인간 CD37 하이브리도마 1B11-2 로부터 제조하였다. 제 1 가닥 cDNA 를 이후 SuperScript III cDNA 합성 키트 (Invitrogen) 를 사용하여 총 RNA 로부터 합성하였다.
- [0333] 하이브리도마 세포로부터 유래된 항체 가변 영역 cDNA 를 증폭시키기 위한 PCR 절차는 Wang et al. ((2000) J Immunol Methods. 233:167-77) 및 Co et al. ((1992) J Immunol. 148:1149-54) 에 기재된 방법에 기반하였다. 가변 경쇄 (VL) 및 가변 중쇄 (VH) 서열을 5' 말단 상의 퇴보 (degenerate) 프라이머 및 3' 말단 상의 컷과 카파 또는 IgG1 불변 영역 특이적인 프라이머에 의해 증폭되었다. PCR 반응을 이후 1% 저 멜트 (melt) 아가로스 젤 상에서 실행한 다음, 300 내지 400 bp 앰플리콘 밴드를 절제하고, 그 뒤에 Zymo DNA mini 칼럼을 사용하여 정제하였다. 정제된 앰플리콘을 두 방향으로부터 가변 영역 cDNA 서열을 생성하기 위해 PCR 반응의 동일한 5' 및 3' 프라이머를 이용하는 서열분석을 위해 Beckman Coulter Genomics 으로 송부하였다.
- [0334] VL 및 VH cDNA 서열을 클로닝하기 위해 사용된 퇴보 프라이머는 5' 말단을 변경하여, 완전한 가변 영역 cDNA 서열을 입증하기 위해 추가의 서열분석 노력이 필요하였다. 예비 서열을 항체 서열이 유래된 컷과 생식계열 서열을 확인하기 위해 NCBI IgBlast 사이트 ([www.ncbi.nlm.nih.gov/igblast/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/igblast/)) 의 검색 쿼리에 입력하였다. 이후 PCR 프라이머를 컷과 항체의 생식계열 연결된 선도 서열에 대해 어닐링하도록 디자인하여, 상기 신규한 PCR 반응이 PCR 프라이머에 의해 불변된 완전한 가변 영역 cDNA 서열을 산출하도록 한다. PCR 반응, 밴드 정제, 및 서열분석을 상기에 기재된 바와 같이 수행하였다.
- [0335] 항-인간 CD37 항체에 대해 수득된 가변 영역 cDNA 서열을, 전체 길이 항체 cDNA 서열을 수득하기 위해 생식계열 불변 영역 서열과 조합하였다. 그 다음 중쇄 및 경쇄의 분자량을 cDNA 서열의 번역으로부터 계산하고, 정제된 컷과 항-인간 CD37 항체의 LC/MS 분석에 의해 수득된 분자량과 비교하였다. 컷과 1B11-2 경쇄 및 중쇄에 대해 관측된 분자량은 기대된 값과 매칭되어, cDNA 서열이 올바르다는 것을 확인해졌다.
- [0336] VH 및 VL CDR 서열은 표 1 및 2 에, 각각 제공된다. VH 및 VL 서열은 표 3 및 4 에, 각각 제공된다. 전체 길이 중쇄 및 경쇄 서열은 표 5 및 6 에, 각각 제공된다. VH 및 VL 의 폴리뉴클레오티드 서열은 표 8 에 제공된다.
- [0337] \* \* \*
- [0338] 본원에 인용된 모든 공개문헌, 특허, 특허 출원, 인터넷 사이트 및 접근 번호/데이터베이스 서열 (폴리뉴클레오티드 및 폴리펩티드 서열 둘다 포함) 은, 각각의 개별 공개문헌, 특허, 특허 출원, 인터넷 사이트, 또는 접근 번호/데이터베이스 서열이 참고에 의해 인용되는 것으로 구체적으로 그리고 개별적으로 표시된다면 동일한 범위로 모든 목적을 위해 그 전체에서 참고에 의해 인용된다.

도면

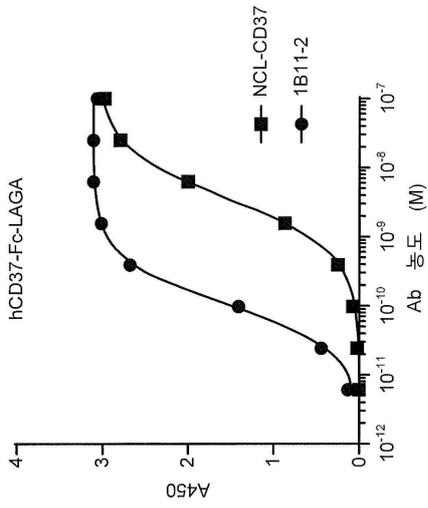
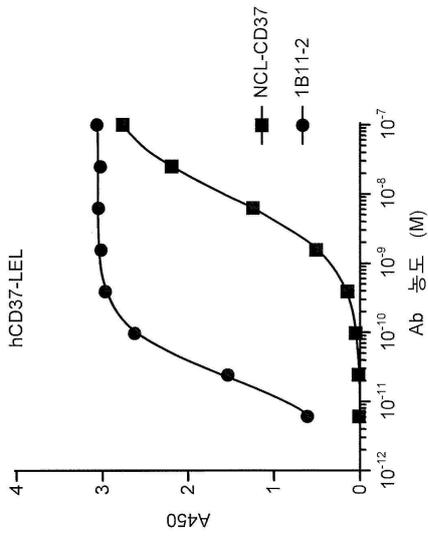
도면1a

항체	농도	hCD37-Fc-LAGA		hCD37-ECD-Fc		hCD37-LEL	
		고유상태	변성됨	고유상태	변성됨	고유상태	변성됨
1B11	상징액	3.0	3.1	3.0	3.1	3.0	1.7
	10 µg/mL	2.8	3.2	2.7	3.1	3.0	2.8
	5 µg/mL	2.6	3.1	2.4	3.1	3.0	2.0
Leica NCL-CD37	2.5 µg/mL	2.4	3.1	2.2	3.1	3.0	1.8

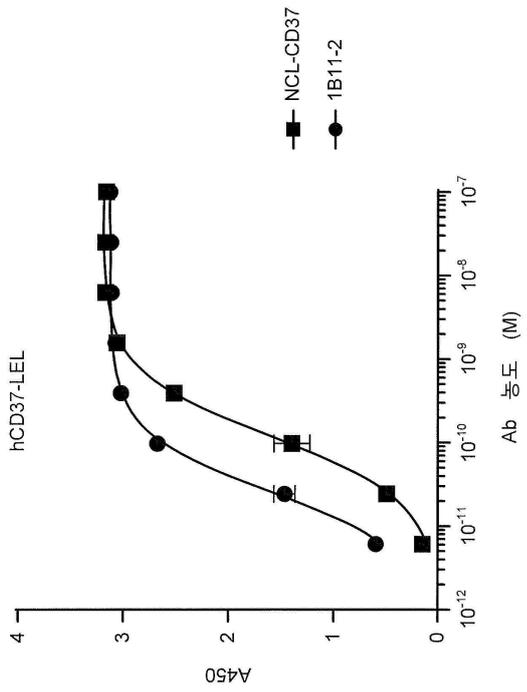
도면1b

항체	농도	hCD37-Fc-LAGA		hCD37-LEL	
		고유상태	변성됨-환원됨	고유상태	변성됨-환원됨
1B11-2	상징액	3.3	3.3	3.2	3.3
1B11-20	상징액	3.2	3.2	3.2	3.2
Leica NCL-CD37	10 µg/mL	2.9	3.3	2.7	3.3
	5 µg/mL	2.5	3.2	2.4	3.2
	2.5 µg/mL	2.1	3.2	2.0	3.2

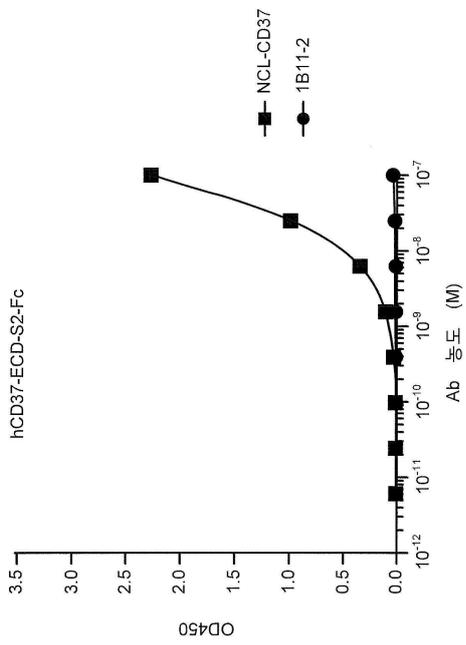
도면2



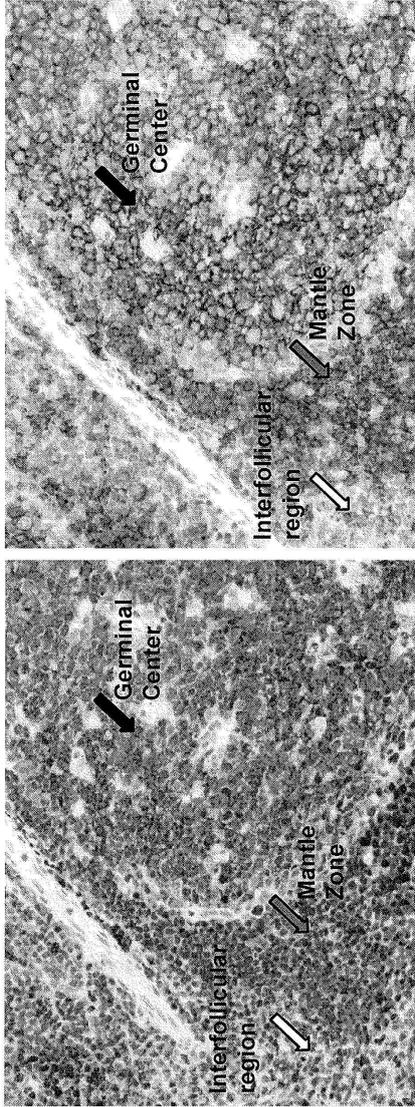
도면3



도면4

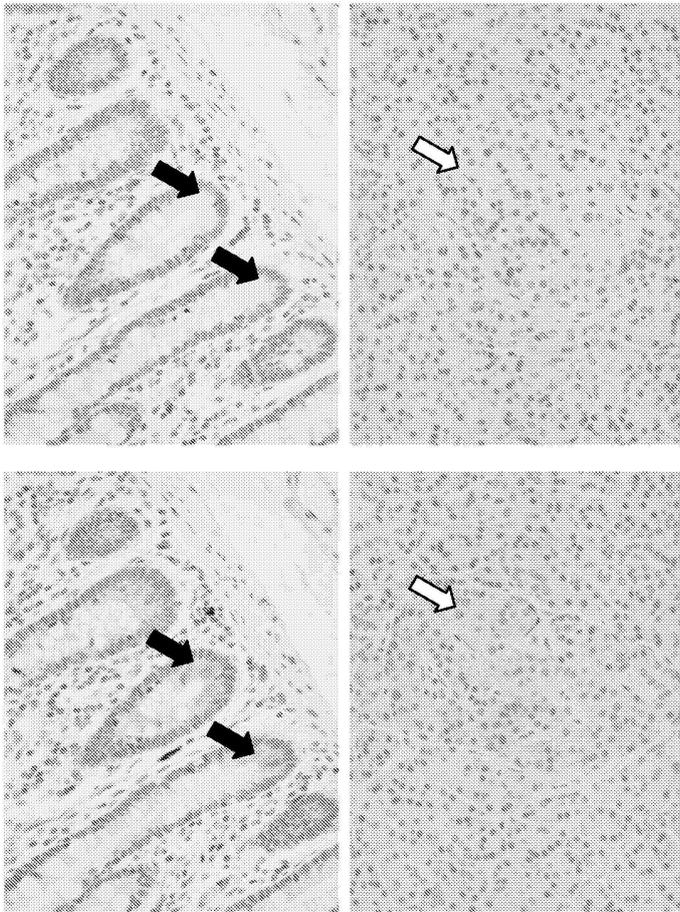


도면5

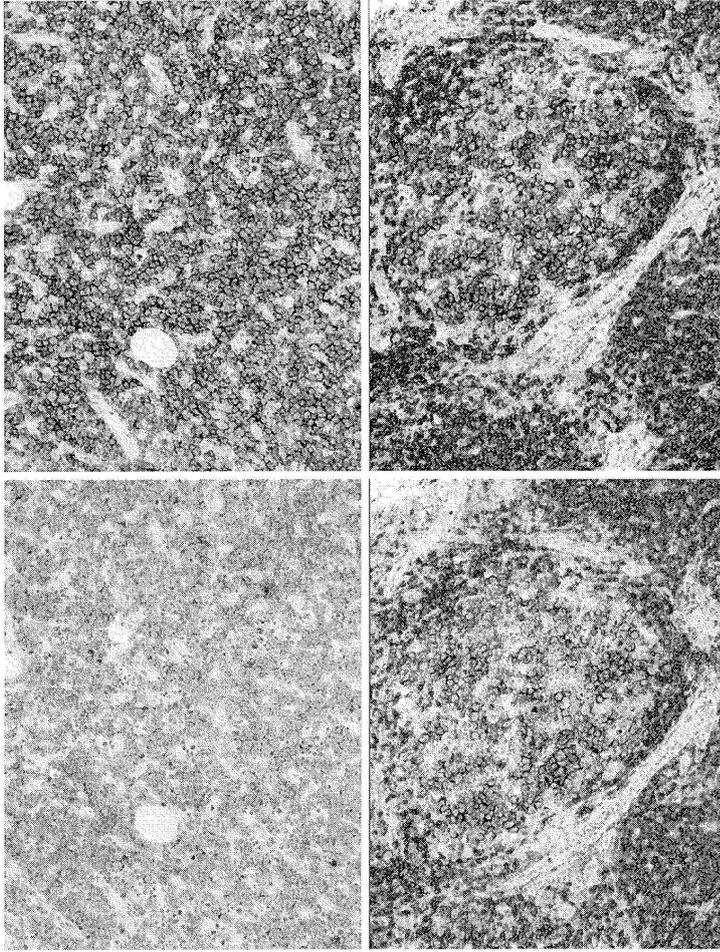


주) Germinal Center: 배 중심  
Mantle Zone: 맨틀 구역  
Interfollicular region: 소낭간 영역

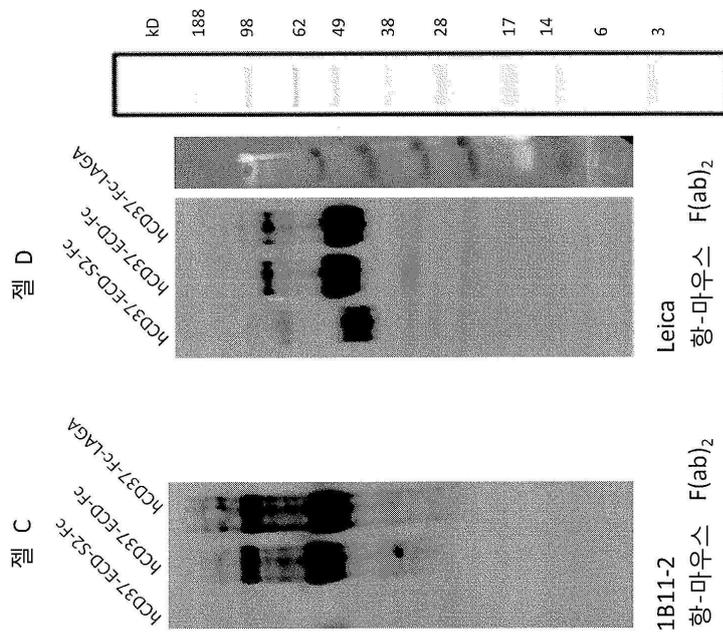
도면6



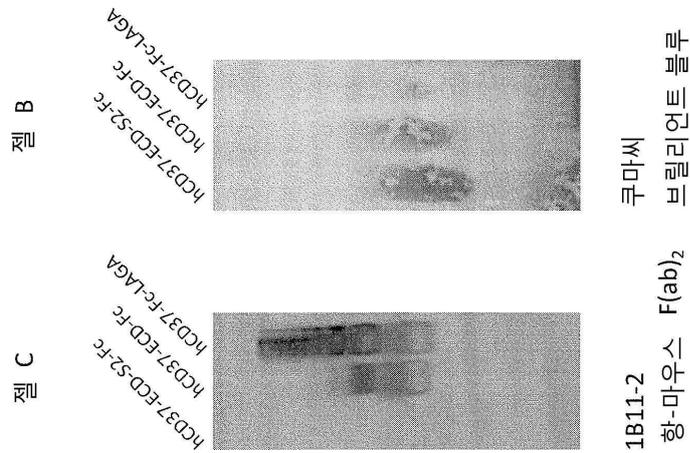
도면7



도면8



도면9



서열 목록

<110> IMMUNOGEN, INC.  
 <120> ANTIBODIES AND ASSAYS FOR DETECTION OF CD37  
 <130> 2921.075PC02  
 <150> 62/212,183  
 <151> 2015-08-31  
 <150> 62/211,455  
 <151> 2015-08-28  
 <160> 34  
 <170> PatentIn version 3.5  
 <210> 1  
 <211> 281  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 1  
 Met Ser Ala Gln Glu Ser Cys Leu Ser Leu Ile Lys Tyr Phe Leu Phe  
 1 5 10 15  
 Val Phe Asn Leu Phe Phe Phe Val Leu Gly Ser Leu Ile Phe Cys Phe  
 20 25 30  
 Gly Ile Trp Ile Leu Ile Asp Lys Thr Ser Phe Val Ser Phe Val Gly  
 35 40 45  
 Leu Ala Phe Val Pro Leu Gln Ile Trp Ser Lys Val Leu Ala Ile Ser  
 50 55 60



<400> 2  
atgtcagccc aggagagctg cctcagcctc atcaagtact tcctcttcgt ttccaacctc 60  
ttcttcttcg tcctcggcag cctgatcttc tgcttcggca tctggatcct cattgacaag 120  
  
accagcttcg tgccttttgt gggcttggcc ttcgtgcctc tgcagatctg gtccaaagtc 180  
ctggccatct caggaatctt caccatgggc atcgccctcc tgggttgtgt gggggcctc 240  
aaggagctcc gctgcctcct gggcctgtat ttgggatgc tgcctcctct gtttgccaca 300  
cagatcacc cagggaatcct catctccact cagcgggccc agctggagcg aagcttgcgg 360  
gacgtcgtag agaaaaccat ccaaaagtac ggcaccaacc cagaggagac cgcggccgag 420  
gagagctggg aciatgtgca gttccagctg cgctgctgcg gctggcacta cccgcaggac 480  
tggttccaag tcctcatcct gagaggtaac gggtcggagg cgcaccgcgt gccttgcctc 540  
  
tgctacaact tgcggcgac caacgactcc acaatcctag ataagtgat ctgccccag 600  
ctcagcaggc ttggacacct ggcgcggtcc agacacagtg cagacatctg cgctgtcctt 660  
gcagagagcc acatctaccg cgagggtgc ggcagggcc tccagaagtg gctgcacaac 720  
aaccttattt ccatagtggg catttgcttg ggcgtcggcc tactcgagct cgggttcatg 780  
acgctctcga tattcctgtg cagaaacctg gaccacgtct acaaccggct cgctcgatac 840  
cgt 843

<210> 3  
<211> 5  
<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> muCD37-1B11-2 VH-CDR1

<400> 3  
Gly Tyr Phe Met Asn  
1 5

<210> 4  
<211> 17  
<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> muCD37-1B11-2 VH-CDR2 (Kabat)

<400> 4  
Arg Ile Asn Pro Tyr Asn Gly Asp Thr Phe Tyr Asn Gln Lys Phe Lys  
1 5 10 15

Gly

<210> 5

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> muCD37-1B11-2 VH -CDR3

<400>

> 5

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

1 5 10

<210> 6

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> muCD37-1B11-2 VL-CDR1

<400> 6

Lys Ala Ser Gln Gly Val Ser Asn Asp Val Asp

1 5 10

<210> 7

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> muCD37-1B11-2 VL-CDR2

<400> 7

Tyr Ala Ser Asn Arg Tyr Thr

1 5

<210>

8

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> muCD37-1B11-2 VL-CDR3

<400> 8

Cys His Gln Asp Tyr Thr Ser Pro Thr

1 5  
 <210> 9  
 <211> 121  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> muCD37-1B11-2 heavy chain variable region (VH)  
 <400> 9  
 Glu Val Gln Leu Leu Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala  
 1 5 10 15  
 Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr  
 20 25 30  
 Phe Met Asn Trp Val Ile Gln Ser His Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile  
 35 40 45  
 Gly Arg Ile Asn Pro Tyr Asn Gly Asp Thr Phe Tyr Asn Gln Lys Phe  
 50 55 60  
 Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Thr Thr Ala His  
 65 70 75 80  
 Met Glu Leu Leu Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Gly Ser Arg Gly Ile Val Ala Ser Ser Arg Phe Phe Asp Val Trp Gly  
 100 105 110  
 Ala Gly Thr Ser Val Ile Val Ser Ser  
 115 120  
 <210> 10  
 <211> 107  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> muCD37-1B11-2 light chain variable region  
 <400> 10  
 Ser Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Lys Phe Leu Leu Val Ser Ala Gly  
 1 5 10 15  
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Gly Val Ser Asn Asp







130 135 140  
 Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu Asn

145 150 155 160  
 Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser Ser

165 170 175  
 Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr

180 185 190  
 Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe

195 200 205  
 Asn Arg Asn Glu Cys

210

<210> 13

<211> 376

<212

> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> muCD37-1B11-2 VH

<400> 13

gaggttcaac tgctgcagtc tggacctgag ctggtgaagc ctggggcttc agtgaagata 60  
 tcttgcgaagg cttctgggta ctcatctact ggctacttta tgaactgggt gatacagagc 120  
 catggaaagg gccttgagtg gattggacgt attaatcctt acaatggtga taccttctac 180  
 aaccagaagt tcaagggcaa ggccacattg actgtagaca aatcctctac cacagccac 240  
 atggagctcc tgagcctgac atctgaggac tctgccgtct attattgtgg atccccgggg 300  
 atagtggctt ccctaggtt cttcgatgic tggggcgcag ggacctcggc catcgctctcc 360

tcagccaaaa cgacac 376

<210> 14

<211> 327

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> muCD37-1B11-2 VL

<400> 14

agtattgtga tgaccagac tcccaaattc ctgcttgat cagcaggaga cagggttacc 60  
 ataacctgca aggccagtca ggggtgtgagt aatgatgtag attggtacca acagaagcca 120

gggcagtctc ctaaactgct gatatactat gcatccaatc gctacactgg agtccctgat 180  
 cgcttcactg gcagtgata tgggacggat ttcactttca gcatcagcac tgtgcaggct 240

gaagacctgg cagtttattt ctgtcaccag gattatacct ctccgacgtt cgggtggagc 300  
 accaagctgg aaatcaaacg ggctgat 327

<210> 15  
 <211> 164  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> hCD37-LEL  
 <400> 15

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

Glu Glu Thr Ala Ala Glu Glu Ser Trp Asp Tyr Val Gln Phe Gln Leu  
 35 40 45

Arg Cys Cys Gly Trp His Tyr Pro Gln Asp Trp Phe Gln Val Leu Ile  
 50 55 60

Leu Arg Gly Asn Gly Ser Glu Ala His Arg Val Pro Cys Ser Cys Tyr  
 65 70 75 80

Asn Leu Ser Ala Thr Asn Asp Ser Thr Ile Leu Asp Lys Val Ile Leu  
 85 90 95

Pro Gln Leu Ser Arg Leu Gly His Leu Ala Arg Ser Arg His Ser Ala  
 100 105 110

Asp Ile Cys Ala Val Pro Ala Glu Ser His Ile Tyr Arg Glu Gly Cys  
 115 120 125

Ala Gln Gly Leu Gln Lys Trp Leu His Asn Asn Leu Ser Phe Leu Glu  
 130 135 140

Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Asn Ser Ala Val Asp His His  
 145 150 155 160

His His His His

<210> 16  
 <211> 368  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence

<220><223> hCD37-ECD-Fc

<400> 16

Gly Pro Glu Phe Leu Ile Ser Thr Gln Arg Ala Gln Leu Glu Arg Ser  
 1 5 10 15

Leu Arg Asp Val Val Glu Lys Thr Ile Gln Lys Tyr Gly Thr Asn Pro  
 20 25 30

Glu Glu Thr Ala Ala Glu Glu Ser Trp Asp Tyr Val Gln Phe Gln Leu  
 35 40 45

Arg Cys Cys Gly Trp His Tyr Pro Gln Asp Trp Phe Gln Val Leu Ile  
 50 55 60

Leu Arg Gly Asn Gly Ser Glu Ala His Arg Val Pro Cys Ser Cys Tyr  
 65 70 75 80

Asn Leu Ser Ala Thr Asn Asp Ser Thr Ile Leu Asp Lys Val Ile Leu  
 85 90 95

Pro Gln Leu Ser Arg Leu Gly His Leu Ala Arg Ser Arg His Ser Ala  
 100 105 110

Asp Ile Cys Ala Val Pro Ala Glu Ser His Ile Tyr Arg Glu Gly Cys  
 115 120 125

Ala Gln Gly Leu Gln Gly Ser Glu Pro Arg Gly Pro Thr Ile Lys Pro

130 135 140

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

Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Leu  
 165 170 175

Ser Pro Ile Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro  
 180 185 190

Asp Val Gln Ile Ser Trp Phe Val Asn Asn Val Glu Val His Thr Ala



Glu Glu Thr Ala Ala Glu Glu Ser Trp Asp Tyr Val Gln Phe Gln Leu  
 35 40 45  
 Arg Cys Cys Gly Trp His Tyr Pro Gln Asp Trp Phe Gln Val Leu Ile  
 50 55 60  
 Leu Arg Gly Asn Gly Ser Glu Ala His Arg Val Pro Cys Ser Cys Tyr  
 65 70 75 80  
 Asn Leu Ser Ala Thr Asn Asp Ser Thr Ile Leu Asp Lys Val Ile Leu  
 85 90 95  
 Pro Gln Leu Ser Arg Leu Gly His Leu Ala Arg Ser Arg His Ser Ala  
 100 105 110  
  
 Asp Ile Cys Ala Val Pro Ala Glu Ser His Ile Tyr Arg Glu Gly Cys  
 115 120 125  
 Ala Gln Gly Leu Gln Gly Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys  
 130 135 140  
 Pro Ala Pro Glu Leu Ala Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro  
 145 150 155 160  
 Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys  
 165 170 175  
 Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp  
 180 185 190  
 Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu  
 195 200 205  
 Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu  
 210 215 220  
 His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn  
 225 230 235 240  
 Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly  
 245 250 255  
  
 Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu  
 260 265 270  
 Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr





<213> Artificial Sequence

<220><223> hCD37

<400> 19

Leu Ile Ser Thr Gln Arg Ala Gln Leu Glu Arg Ser Leu Arg Asp Val

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Trp His Tyr Pro Gln Asp Trp Phe Gln Val Leu Ile Leu Arg Gly Asn

50 55 60

Gly Ser Glu Ala His Arg Val Pro Cys Ser Cys Tyr Asn Leu Ser Ala

65 70 75 80

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

85 90 95

Arg Leu Gly His Leu Ala Arg Ser Arg His Ser Ala Asp Ile Cys Ala

100 105 110

Val Pro Ala Glu Ser His Ile Tyr Arg Glu Gly Cys Ala Gln Gly Leu

115 120 125

Gln

<210> 20

<211> 136

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> hCD37

<400> 20

Leu Ile Ser Thr Gln Arg Ala Gln Leu Glu Arg Ser Leu Arg Asp Val

1 5 10 15

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

20 25 30

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

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

Arg Leu Gly His Leu Ala Arg Ser Arg His Ser Ala Asp Ile Cys Ala  
 100 105 110  
 Val Pro Ala Glu Ser His Ile Tyr Arg Glu Gly Cys Ala Gln Gly Leu  
 115 120 125  
 Gln Lys Trp Leu His Asn Asn Leu  
 130 135

<210> 21  
 <211> 101  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> hCD37

<400> 21  
 Leu Ile Ser Ala Ala Glu Glu Ser Trp Asp Tyr Val Gln Phe Gln Leu  
 1 5 10 15

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

Ala Gln Gly Leu Gln

100

<210> 22

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> huCD37-3 VH-CDR1

<400> 22

Thr Ser Gly Val Ser

1 5

<210> 23

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> huCD37-3 VH-CDR2

<400> 23

Val Ile Trp Gly Asp Gly Ser Thr Asn

1 5

<210> 24

<211> 7

<212> PRT

<213>

Artificial Sequence

<220><223> huCD37-3 VH-CDR3

<400> 24

Gly Gly Tyr Ser Leu Ala His

1 5

<210> 25

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> huCD37-3 VL-CDR1

<400> 25

Arg Ala Ser Glu Asn Ile Arg Ser Asn Leu Ala

1 5 10

<210> 26

<211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> huCD37-3 VL-CDR2  
 <400> 26

Val Ala Thr Asn Leu Ala Asp  
 1 5

<210> 27  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> huCD37-3 VL-CDR3  
 <400> 27

Gln His Tyr Trp Gly Thr Thr Trp Thr  
 1 5

<210> 28  
 <211> 115  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> huCD37-3 VH v. 1.0  
 <400> 28

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

Thr Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Thr Ser

20 25 30  
 Gly Val Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu  
 35 40 45

Gly Val Ile Trp Gly Asp Gly Ser Thr Asn Tyr His Pro Ser Leu Lys  
 50 55 60

Ser Arg Leu Ser Ile Lys Lys Asp His Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu  
 65 70 75 80

Lys Leu Asn Ser Leu Thr Ala Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

Lys Gly Gly Tyr Ser Leu Ala His Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr  
 100 105 110

Val Ser Ser  
 115

<210> 29  
 <211> 108  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> huCD37-3 VL  
 <400> 29

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

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Lys Leu Leu Val  
 35 40 45

Asn Val Ala Thr Asn Leu Ala Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Lys Ile Asn Ser Leu Gln Pro  
 65 70 75 80

Glu Asp Phe Gly Thr Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Trp Gly Thr Thr Trp  
 85 90 95

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

<210> 30  
 <211> 444  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> huCD37-3 Heavy Chain (HC) v. 1.0  
 <400> 30

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

1                    5                    10                    15  
 Thr Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Thr Ser  
                          20                    25                    30  
 Gly Val Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu  
                          35                    40                    45  
  
 Gly Val Ile Trp Gly Asp Gly Ser Thr Asn Tyr His Pro Ser Leu Lys  
                          50                    55                    60  
 Ser Arg Leu Ser Ile Lys Lys Asp His Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu  
 65                    70                    75                    80  
 Lys Leu Asn Ser Leu Thr Ala Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala  
                          85                    90                    95  
 Lys Gly Gly Tyr Ser Leu Ala His Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr  
                          100                    105                    110  
 Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro  
  
                          115                    120                    125  
 Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val  
                          130                    135                    140  
 Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala  
 145                    150                    155                    160  
 Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly  
                          165                    170                    175  
 Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly  
                          180                    185                    190  
  
 Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys  
                          195                    200                    205  
 Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys  
                          210                    215                    220  
 Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu  
 225                    230                    235                    240  
 Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu  
                          245                    250                    255

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys  
 260 265 270  
 Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys  
 275 280 285  
 Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu  
 290 295 300  
 Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys  
 305 310 315 320  
 Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys  
 325 330 335  
  
 Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser  
 340 345 350  
 Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys  
 355 360 365  
 Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln  
 370 375 380  
 Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly  
 385 390 395 400  
 Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln  
  
 405 410 415  
 Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn  
 420 425 430  
 His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
 435 440  
 <210> 31  
 <211> 214  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> huCD37-3 Light Chain  
 <400> 31  
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Val Ser Val Gly

1                    5                    10                    15  
 Glu Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Asn Ile Arg Ser Asn  
                          20                    25                    30  
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Lys Leu Leu Val  
                          35                    40                    45  
 Asn Val Ala Thr Asn Leu Ala Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
                          50                    55                    60  
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Lys Ile Asn Ser Leu Gln Pro  
 65                    70                    75                    80  
 Glu Asp Phe Gly Thr Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Trp Gly Thr Thr Trp  
                          85                    90                    95  
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala  
                          100                    105                    110  
 Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly  
                          115                    120                    125  
 Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala  
                          130                    135                    140  
 Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln  
 145                    150                    155                    160  
  
 Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser  
                          165                    170                    175  
 Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr  
                          180                    185                    190  
 Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser  
                          195                    200                    205  
 Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 210  
 <210>    32  
 <211>    115  
 <212>    PRT  
 <213>    Artificial Sequence

<220><223> huCD37-3 VH v. 1.1

<400> 32

Gln Val Gln Val Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln  
 1 5 10 15  
 Thr Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Thr Ser  
 20 25 30  
 Gly Val Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu  
 35 40 45  
 Gly Val Ile Trp Gly Asp Gly Ser Thr Asn Tyr His Ser Ser Leu Lys  
 50 55 60  
 Ser Arg Leu Ser Ile Lys Lys Asp His Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu  
 65 70 75 80  
 Lys Leu Asn Ser Leu Thr Ala Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala  
 85 90 95  
 Lys Gly Gly Tyr Ser Leu Ala His Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr  
 100 105 110  
 Val Ser Ser  
 115

<210> 33

<211> 444

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> huCD37-3 Heavy Chain (HC) v. 1.1

<400> 33

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

Ser Arg Leu Ser Ile Lys Lys Asp His Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu  
 65 70 75 80

Lys Leu Asn Ser Leu Thr Ala Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala  
 85 90 95

Lys Gly Gly Tyr Ser Leu Ala His Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr  
 100 105 110

Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro  
 115 120 125

Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val  
 130 135 140

Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala

145 150 155 160

Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly  
 165 170 175

Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly  
 180 185 190

Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys  
 195 200 205

Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys  
 210 215 220

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu  
 225 230 235 240

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu  
 245 250 255

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys  
 260 265 270

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys  
 275 280 285

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

290 295 300

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys

305                    310                    315                    320  
 Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys  
                                  325                    330                    335  
 Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser  
                                  340                    345                    350  
 Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys  
                                  355                    360                    365  
  
 Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln  
                                  370                    375                    380  
 Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly  
 385                    390                    395                    400  
 Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln  
                                  405                    410                    415  
 Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn  
                                  420                    425                    430  
 His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

                                 435                    440  
 <210>    34  
 <211>    10  
 <212>    PRT  
 <213>    Artificial Sequence  
 <220><223>    muCD37-1B11-2 VH-CDR2 (AbM)  
 <400>    34

Arg Ile Asn Pro Tyr Asn Gly Asp Thr Phe  
   1                    5                    10