



김우호

· 강원대학교 수의과대학 명예교수  
· uhk28@hanmail.net

## 항체와 효소의 특성을 겸비한 효소항체

(Catalytic antibodies: Combine properties of antibodies and enzymes)

- 10월 호에서 계속 -

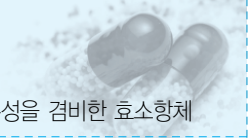
### 4. CAb(abzyme) 및 기타 Ab의 광범위한 응용성

CAb의 첫 발견으로부터 10여년에 걸친 연구의 진전은, 유용한 약제개발에 있어서의 응용가능성으로 이어졌다.

이와 같은 개발은 건강을 위한 진전된 기초의학의 중요성을 강조하는 것으로, CAb의 첫 작성시에는 그 궁극의 치료적 가능성을 아무도 상상하지 못하였었다. Ab는 약제전달의 목적을 위해 생물공학의 repertory의 가장 보증되는 구성요소의 하나가 되고 있다.

Ab가 화학적공정을 위한 program된 촉매제가 될 수 있다는 것이 확인된 이래, 초창기연구의 대부분은, 이들 새로운 생체촉매제(biocatalyst)의 분야와 이용성을 개발하는데 집중되었으나, 근래에 이르러 X-선분석으로 얻어진 많은 정보는 Ab촉매반응의 구조적 기본에 관한 통찰력을 허용하기에 이르렀으며, 일련의 상이한 반응부류를 촉진하는 CAb에 대한 구조-기능의 상관관계에 관한 지식을 진전시켰다(32).

Barbas III를 주축으로 한 이들의 연구는, 투여시 약효를 발휘할 사이도 없이 신속히 생체에서 배출되는 소형 약제분자나 peptide를 장시간 체내에 체류시킬 수 있는 거대 가용성분자인 CAb에



결합시키는 개척적인 방법을 고안해낸 것이다. 이들 잡종(hybrid)분자는 병증야기세포를 죽이며, 약제의 효능을 극적으로 증진시키기 위해 장시간 순환계에서 체류할 수 있는 바람직한 특성들을 지니는 것이다.

Barbas III 등이 설립한 사설 venture회사인 CovX사는 소위 ‘화학적으로 program된 Ab’ (chemically programmed antibodies; cpAbs)제조법으로 암이나 대사질병에 대한 치료제를 개발하고 있다. 이것은 처음으로 인체치료에 사용된 대표적인 CAb생산기법이다. 통상적인 Ab는 세균이나 virus와 같은 일련의 외래병원체를 인식하고 침입자의 존재를 면역계에 경고하나, CAb는 화학적반응을 위해 TSA를 인식하며, 또한 효소와 유사한 화학적반응을 촉매함으로써 chiral drug(鏡面像의 藥劑)와 새로운 치료제의 생산잠재력을 시사하였다(33).

Chirality(그 자신의 거울상위에 중복시킬 수 없는 분자를 뜻함) 또는 ‘handedness’ (잘 쓰는 쪽의 손)라는 용어는 오른손이나 왼손이나 간에 거울상설(mirror-image version)에 존재하는 분자들에 이용된다. Chirality의 논점(論點)은 특히 제약산업에 있어서 중요하다. 한쪽손 version이 극히 안전하고 유익한 반면, 그것의 거울상쪽은 파괴적인 결과를 초래할 수 있다. 이와 같은 CAb의 특별한 성상은 상당수의 흥미로운 화학분야에 문호를 개방하고 있다(34,35). 이들은, 전에는 불가능한 것으로 인식되었던 Ab의 촉매반응을 가능하게 만든 반응성 면역조작(reactive immunization)기법을 사용한 것이다(36,37). 분명히 이 기법은, C-C결합형성을 촉매하는 Ab를 사용할 수 있게 하였으며, CAb는 Ag에 공유결합(covalent bonding) 하도록 만들었다(38). 실로 이것은 C-C결합을 만들기 위한 놀랍도록 단순한 촉매제인 것이다.

이들이 개발한 ‘reactive immunization’ 기법은, CAb가 Ag과 공유결합할 수 있게 함으로써 화학반응의 촉매를 허용하여 새로운 치료제의 생산을 가능케하는 과정인 것이다. 반응성면역조작법이 관건이 되는 특징은, 화학반응을 수행할 수 있는 Ab의 활성부위내의 amino산의 섬세성을 화학적으로 더 명확하게 밝혀내는 것이다. 이렇게 반응성면역조작으로 개발된 Ab는 전에 만들어졌던 것들보다 더 활성적인 촉매제 역할을 하는 것이다.

곧이어 Barbas III 등은 위의 연구의 더 고차원적인 응용방법에 대한 idea를 내놓았다. 복합체를 형성하는데 있어 기질과 Ab의 자기조립(self-assembly)을 유도하는 idea였다. 당시 항암치료법을 위해 여러 제약사들이 integrin분자(세포와 그들 환경간의 안정적 상호작용을 증진시키는 adhesion분자족)에 대응하는 화합물의 개발을 시도하고 있었는데, 그 치료화합물이 암integrin 분자에 결합하는 동안 그것들이 신속히 체외로 배출(어떤 case에서는 15분만에)되는 것이었다. 암의 만성적인 징후로 미루어 이와 같은 합성약제를 투여한다는 것은 곤란한 일이다. 수년간 사용하던 반응성면역조작에 관한 slide들을 점검하던 어느날 Barbas는 돌연 새로운 idea를 떠올렸다. 그것은 한 CAb와 이들 integrin표적약제의 한가지를 함께 붙혀보자는 것이었다.

이들 integrin에 결합한 소형분자를 diketone에 집어넣었을 때, 만약 그것이 Ab에 스스로 부착된다면 그 결합체는 장기간 생체내에서 순환할 것으로 생각하였다(38,39). 이들 연구group은, 강력하며 장기간 작동하는 치료제를 만드는 실로 문제의 자기조립분자를 발견한 것이다(40). 흥미롭게도 그들은, 생체에 투여하기전 in vitro 에서 두 물질을 결합시킨 것에 의해서 뿐만 아니라, mouse의 혈류속에 두 화합물을 각각 별도로 주사하여도 희망하는 복합제로 자기조립을 행하는 것을 볼 수 있었다는 것이다.

이 두가지 case에서 이 잡종분자약제는 Kaposi 육종(sarcoma)과 결장암(colon cancer)의 종양(tumor)을 위축시킴으로써, mouse model의 종양size에 커다란 영향을 미쳤던 것이다. 또한 이들은 소형분자(기존의 항암제)의 단독투여에 비해 화학적으로 program된 복합체(cpAb)가 적어도 1,000배로 증가된 치료효과를 나타내었다고 하면서, 이 접근방법을 인체를 대상으로 하기에 너무 강력하여 추진하기 어렵다고 말하였다.

그러나 CovX사에서 개발된 두가지 잡종화합물(항암제)은 항종양제로서 인체시험에서 입증된 희망적인 결과로 임상전시험이 완수되었으며, CVX-045는 2007년말 제1상시험이 끝났고, CVX-060은 12월중에 제1상시험에 들어간다고 하였으며, 당뇨병(diabetes)치료용의 제3의 화합물도 곧 시험에 들어간다고 보도하였으나, 아직 그 결과를 알아보기 못하였다. 2008년말까지 4가지 새로운 약제가 임상시험을 거칠 것이며, 앞으로 5년내에 1 dozen이상의 신약이 임상시험을 거칠것으로 희망한다고 하였다.

CovX사의 화합물을 뛰어넘어 많은 일련의 질병과 투쟁하기 위한 치료제 개발방법을 제공할 화학적으로 program된 CAb가 현재 속속 개발중에 있다는 것이다. “단일의 Ab에 원하는 소형분자 또는 peptide를 단순히 혼합시킴으로써 치료제를 다양성의 것으로 만들 수 있으며, 그것은 약제를 만들 수 있는 일종의 기관인 셈이다. 그것은 또한 CAb를 주목하는 전적으로 새롭고 반직관적 방도인 것이다” 라고 Barbas는 강조하고 있다.

이 접근방법은 또한 제약산업이 직면하고 있는 경제적실상에 부응하는 관건인 약제개발에 다수의 실제적 이점을 제공할 것이라고 하였다. 그 첫 이점은, 처음에 개발한 약제가 그후 생체에 투여되었을 때 혈류에서 짧은 반감기를 갖게되는 문제점으로 폐기처분되는 수백종류의 화합물들을 구제할 가능성을 cpAb는 제공할 것이라고 하였다.

화학적으로 program된 CAb접근방법에 대한 다른 이점은, 약제개발을 촉진하고 시장출하비용을 절감시키는 것으로, 각 표적에 대응하는 특이적 Ab를 개발하는 것에 비교하여 한 단백질치료제만을 개발하여, 그것에 새로운 소형분자 또는 peptide를 혼합시킴으로써 Ab를 최대한으로 활용하게 하고, 또한 대량으로 생산이 가능하게 하는 것이라고 하였다.

이미 위에서 언급한 바와 같이, CAb의 가장 흥미로운 응용은 종양세포파괴를 위한 특이적 표적

화이다. 암세포에는 정상세포에 없는 종양세포항원(tumor cell Ag)이라고 하는 독특한 Ag결정기를 그들 세포표면에 갖고 있다. 이 Ag에 특이적으로 결합하는 Ab를 이용하여 항암제를 직접 종양에 전달할 수 있다.

CAb의 경우 2가지 분명한 Ag결합부위의 한쪽에는 고도의 친화성으로 종양세포Ag과 결합하게 하고, 다른 한쪽에는 prodrug를 접합시켜 파괴를 촉진시키는 것이다(Fig. 4). 우선 치료 Ab(therapeutic Ab; 또는 Ab therapeutics)가 환자에게 투여되면 그 Ab는 고도의 친화성으로 종양세포에 결합한다. 다음, prodrug가 환자의 혈류에 도입되면 표적화Ab의 부근에서 활성화된다. 이 기법으로 종양은 선별적으로 파괴되며, 반면 건강한 세포들은 항암약제의 독성영향을 피하게 된다.

이와 같이, 조직내로 화학요법제를 선택적으로 전달하기 위한 기존의 방법인 Ab유도 효소 prodrug요법(ADEPT)은 Ab유도 abzyme prodrug요법(Ab-directed abzyme prodrug therapy; ADAPT)으로 대체되고 있다. ADAPT를 통해서 그들의 고도의 반응특이성으로 원치않는 단백질-단백질 상호작용을 차단하는 CAb의 잠재능력이 prodrug를 활성화시키기 위해 개발된 것이다(41,42). 단백질공학기법을 통해서 CAb(abzyme)의 촉매반응은 더욱 증진될 수 있으며, 다분히 자연효소의 활성을 능가할 것으로 기대되고 있다.

분자생물학자들은 IgG분자를 암호화하는 유전자data배열을 cloning하는 방법을 개발하였으며, 면역된 동물로부터 수백만에 이르는 유전자산물이 희망하는 촉매활성을 갖는 Ab산생을 위하

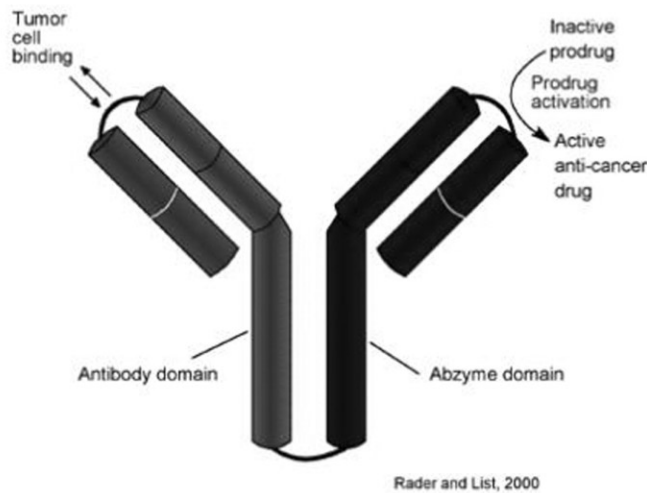


Fig. 4. Anti-cancer tumor-targeting catalytic antibody (Abzyme). ("Concepts in Biochemistry-Cutting Edge" 2000에서 인용).

야 선별되었다고 한다. 후보자가 일차 분리되면 소위, 이들 '재조합Ab' 들은 대량으로 세균세포 등에서 생산될 수 있을 것이다.

이 방도로, 한 Ab유전자는 끝없는 연구를 위해 MAb처럼 'immortalize' (不滅化)될 수 있다.

Cocaine은 뇌를 침범하는 강력한 중독성마약의 일종이며, 그 남용과 과량복용 등은 상당한 사회문제가가 되고 있다. Cocain남용에 대한 효능적 치료법의 개발이 여러가지 문제로 제약되기는 하였지만 지난 10여년에 걸친 면역요법의 연구는 임상시험까지 거치게 되었으며, 그러던 중 7A1과 같은 cocaine을 분해하는 CAb가 등장하게 되었다(43). CAb가 화학과 생물학의 접점(接點)에서 유용한 도구로 출현한 것이다.

Wilson 등(44)은, 완전한 촉매과정동안 cocaine을 비독성 조각으로 분해하는 특이적 cocaine 분해 MAb Fab' fragment의 연속분자구조를 처음으로 밝혀낸 것이다. 이와 같은 CAb 7A1의 구조적변화의 이해는 cocaine중독에 대한 치료법개발에 도움을 주고 있다. 7A1과 같은 CAb는 cocaine의 각각 다른 투요량 후에도 재생하는 그 능력이 cocaine대사에 있어 다른 것들보다 훨씬 효과적이었다고 한다. 약물제제로서 anti-cocaine CAb는 cocaine중독환자를 치료하거나, 과량 사용으로 인한 치사적결과를 반전(反轉)시킬 수 있을 것이다.

Mouse에서 작성된 7A1과 같은 MAb를 인체에 투여하기 위해서는 인간화(humanization) 시켜야 한다. 한 세포표면의 단백분자를 인식하고 결합하는 실험실에서 가공조작된 mouse유래 치료항체(therapeutic Ab)는 인간숙주에게 이물질로 간주되어 Ab산생을 야기할 수 있으므로, 특수한 방법으로 chimera화(mouse/사람 단백질배열비율 30/70)이거나 인간화(90%이상의 인간단백질 배열)시켜 사용해야 한다(45,46). 비만(obesity)과 싸우기 위한 새로운 전략이 2008년 Janda 등의 연구팀에 의해 개발되었다(47). 위(胃)의 hormone인 ghrelin은 대사작용을 통해서 체중증가와 지방축적에 연관되어 있다(48). 이 촉매성 anti-ghrelin Ab는 특이적으로 ghrelin단백분자를 찾아내어 분해시킨다는 것이다. Janda 등은, 이 발견이 Ab의존치료제의 정당성을 입증할 뿐만 아니라, 이 anti-ghrelin CAb가 비만환자의 체중감소목표에 도달하게 하고 유지시키는데 도움을 줄것이라고 하였다. Texas대학의 Paul연구팀은 2008년, HIV(AIDS 병원virus) coat의 일부분인 gp120의 CD4의 super Ag영역을 파괴시키는 CAb를 제조하였다고 보고하였다(49).

HIV의 이 구성분은 세포성면역에 있어 관건이 되는 세포인 T lymph구의 흡착점이므로 변화하지 않는다. 그들은 HIV의 치명적급소(Achilles heel)를 정밀폭격하는 방법을 규명하였다고 말하였다. 한번 면역저항성이 감약되면 환자는 HIV protein coat의 매우 변화적인 부분에 대한 Ab는 산생하지만, 그것들을 신속히 변이하는 virus의 능력에 대해서는 무력한 것이다. 변치않는 gp120은 HIV가 세포에 흡착하는데 필연적이기 때문에 HIV의 변이집단 전역에 걸쳐 공격받기 쉬운 것이다.



CAb는, 결합부위에 흡착하는 이상의 활성을 지니는 것으로, HIV를 불활화시키고 흡착부위를 파괴하면서 또 다른 HIV에 흡착할 수 있다는 것이다. 결과적으로, 한 CAb가 수천의 HIV입자를 파괴할 수 있는 것이다.

또한 다른 연구group은, 대부분의 HIV strain들을 중화시키는 Ab를 개발하였다고 보고하였다(50,51). 중화Ab는 획득면역세포에 의해서 혈류중에 분비된 후 virus에 접하는 가용성단백질이다. 혈류중에서 Ab는 순환하는 virus입자와 결합함으로써 사람세포로의 감염을 방지하고, 결국 그 virus입자를 파괴한다.

중화Ab는 virus가 세포에 침입하기 전에 공격하므로, 만약 Ab가 그 virus에 노출되기 전에 존재한다면 HIV감염을 방지할 수 있다. 생체는 HIV에 대응해서 많은 Ab를 만들지만 그 virus를 중화시키기에는 거의 무력하다, 그럼에도 불구하고 어떤 HIV감염환자의 면역계는 유효한 중화 Ab들을 산생하는 것이다.

이들 중 하나가 4E10으로서, 이 Ab는 매우 광범위한 활성을 지니고 있어서, 전세계의 거의 100가지의 상이한 HIV strain들을 중화시킨다고 그들은 말하고 있다.

TSRI내 Skaggs연구소의 Wilson연구팀은, 고도로 보존된 influenza(flu) virus의 epitope를 인식하는 'CR6261'이라는 Ab를 개발하였다고 금년 4월에 보고하였다(52). 이 Ab는 1918년의 Spain flu virus(H1)에서부터 2004년 Vietnam에서 닭으로부터 사람으로 감염된 H5 flu virus subtype에 이르기까지의 광범위한 virus strain(subtype)들에 흡착하는 활성을 갖는다고 하였다. 즉, 광범위한 flu strain들을 공격하는 면역분자를 발견한 것이다. 어떤 사람의 혈액으로부터 Ab를 분리하기 위해 phage display, 그리고 과거보다도 훨씬 빠르게 미생물에 대한 Ab의 구조를 해석하는데 도움을 주는 최첨단의 robotic crystallization lab.와 같은 현대적도구를 사용하였기 때문에 가능하였다고, Wilson은 말하고 있다.

광범위한 활성을 갖는 flu virus에 대한 Ab를 찾아내기 위해, 전에 H5 조류flu에 접촉한 적이 없는 지원자에게서 virus와 상호작용하는 Ab를 찾기위해 Ab library까지 만들어 사전에 면역조작된 건강한 지원자의 백혈구추출물을 만들었다. 최근에 H1 flu virus에 대한 vaccine이 접종된 지원자에게서 그와 같은 Ab가 발견되어 분리되었으며, CR6261로 명명되었던 것이다(그들은 'supermaantibody' 라고 호칭).

다음 단계는, CR6261 Ab가 어떻게 광범위한 flu virus들을 인식하고 반응하느냐하는 문제였다. 그들은 두가지 결정구조(crystal structure)를 해석하는데 성공하였다. 즉, 1918년 범(汎)세계적유행(pandemic)을 일으킨 H1 virus에 결합하는 Ab와 2004년 Vietnam H5 avian flu virus의 HA에 접착하는 Ab가 그것들이다. HA단백의 다른 부위와의 반응을 억압하고 보존된 epitope에 대한 면역계의 공격을 증가시키는 것이 중요한 point였다.

그들은, 이 CR6261 Ab가 flu virus의 16개 subtype의 대부분에 대해 작동하는 것을 시현하였다. 그들은, 이 Ab를 치료제로 사용하였을 때 즉각적인 방어를 이루게 함은 물론 flu virus에 대응하는 교차방어적이고 지속적인 flu vaccine의 개발을 시도하고 있다고 하였다.

2003년 초 TSRI의 Mayfield연구팀은, 담수성 단세포 녹조(green algae)류의 1종인 *Chlamydomonas reinhardtii* 에서 사람용 Ab를 저비용으로 대량 산생시키는 방법을 처음으로 개발하였다고 보고하였다(53).


이 Ab는 anti-herpes (HSV-1, HSV-2) 국부용 cream 및 다른 anti-herpes 치료제로서 작용하지만, 더욱 중요한 것은 장차 다양한 사람의 Ab 및 여러 가지 단백질을 대량으로 생산할 수 있는 녹조류에서의 발현기법을 개발한 것이라고 말하고 있다. 사실 이 기법은 사람의 치료용 단백질을 산생할 수 있는 신속하고 새로운 유효한 방도일 것이다(54,55).

이 기법은, 과거에 행하였던 것보다도 훨씬 저렴한 비용으로 Ab, 가용성의 수용체(receptor) 및 기타 단백질분자들을 생산할 수 있으므로, 새로운 종류의 치료제의 작성에 접근하기 쉬울 것이라고 말하고 있다. 흔히 다량의 단백질을 제조하고자 할 때 단순한 발현체인 세균을 이용하려고 하지만, 세균세포는 정확한 구조의 거대 단백질을 만들 장치(machinery)를 가지고있지 못하기 때문에 Ab처럼 크고 복잡한 단백질분자를 만들어 낼 수 없는 것이다.

Algae는 C원으로 공기에서 CO<sub>2</sub>를, energy원으로는 태양광을 이용하기 때문에 쉽게 저렴한 비용으로 단백질을 생산할 수 있어, 한번 원하는 단백질분자를 분비하게끔 장치를 수정하여 배양하면 엄청난 양으로 발육시킬 수 있다는 것이다(56). 사실 새로운 항암, 항염증, 항관절염 등을 위한 단백질화합물이 현재 200종을 넘고 있다.

예컨대, 'omalizumab' 라고 하는 항IgE Ab는 allergy성 비염(rhinitis) 및 천식(asthma)의 치료제로서 매우 유효한 임상효과를 나타내고 있지만, 현재의 기술로는 소량밖에 생산할 수 없고, 또한 생산비용이 너무 높기 때문에 그 이용성이 매우 제한적일 수 밖에 없다. 단백질분자를 산생하게끔 algae의 내부장치를 수정하기 위해서는, 태양광선과 CO<sub>2</sub>를 이용하여 식물구성분으로 개변시키는 algae세포내의 소기관인 chloroplast(엽록체)의 유전체속에 원하는 유전자를 삽입해야 한다. 그러면 algae세포는 chloroplast속에서 Ab구성분을 발현시켜 조립하게 되므로, (후에 그것들을 온전(穩全)하게 순화시키면 된다. (이와 같은 근본적 기술을 이용하여 앞으로 국내에서도 각종 치료용 단백질을 획득하는 연구가 활발해지기를 바라는 마음 간절하다).

Barbas연구팀(TSRI)은, 흑색종(melanoma) 및 colon cancer(結腸癌)에 걸린 mouse들을 사용하여 새로운 type의 vaccine접종법인 'covalent immunization' (공유결합 면역조작법)을 개발하였다고 지난 3월 보고하였다(57). 그들은 전반적으로 면역응답을 제공하는 화학물질을 mouse에 주사한 다음, 특이적인 암세포를 인식하게끔 design된 2종류의 'adapter'분자(integrin

ligand)를 재차 주사하였다. 결과적으로, 보조요법 없이 유의로운 치료응답이 관찰되었다고 한다. 이 기법은 세균, virus, toxin 및 암세포 등에 대한 면역과 vaccine접종 사이에 생기는 면역 형성 지체기(lag time)를 극복할 수 있는 즉각적인 면역형성 즉, 'instant immunity'를 이룰 수 있다는 것이다. 아직 동물실험단계이기는 하지만 이들은, vaccine학에 대해 화학적으로 조정되는 접근법이 기존의 생물학적 접근법보다 질병대응에 있어 더욱 유효한 방어용 vaccine의 개발과 발전의 길을 제공할 것이라고 말하고 있다. 

#### 참고문헌

- 1). Wentworth AD. et al. 2000. Antibodies have the intrinsic capacity to destroy antigens. Proc Natl Acad Sci USA, 97:10930-35.
- 2). Wentworth Jr. P. et al. 2002. Evidence for antibody-catalyzed ozone formation in bacterial killing and inflammation, Science 298:2195-99.
- 3). Lerner RA, Eschebmoser A. 2003. Ozone in biology. Proc Natl Acad Sci USA, 100:3013-15.
- 4). Marx J. 2002. Antibodies kill by producing ozone. Science 298:1319.
- 5). Nathan C. 2002. Catalytic antibody bridges innate and adaptive immunity. Science 298:2143-44.
- 6). Babior BM. et al. 2003. Investigating antibody-catalyzed ozone generation by human neutrophils. Proc Natl Acad Sci USA, 100:3031-34.
- 7). Yamashita K. et al. 2008. Ozone production by amino acids contributes to killing of bacteria, Proc Natl Acad Sci USA, 105:16912-17.
- 8). Wentworth Jr. P. et al. 2001. Antibody catalysis of the oxidation of water, Science 293:1806-11.
- 9). Sunnen G. 2005. Ozone, a physiological gas, is created in vivo, Ozonics International, pp. 5.
- 10). Jencks WP. 1969. Catalysis in chemistry and enzymology. p. 288.
- 11). Kohler G, Milstein C. 1975. Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. Nature 256:495-497.
- 12). Tramontano A. et al. 1986. Catalytic antibody. Science 234:1566-70.
- 13). Pollack SJ. et al. 1986. Selective catalysis by an antibody. Science 234:1970-73.
- 14). Lerner RA. et al. 1991. At the crossroads of chemistry and immunology: catalytic antibodies. Science 252:659-667.
- 15). Schultz PG, Lerner RA. 1995. From molecular diversity to catalysis: lessons from the immune system, Science 269:1835-42.
- 16). Wirsching P. et al. An unexpectedly efficient catalytic antibody operating by ping-pong and induced fit mechanisms, Science 252:680-685.
- 17). Barbas III CF. et al. 1997. Immune versus natural selection: Antibody aldolases with enzymatic rates but broader scope. Science 278:2085-92.



- 18). Hilvert D. 2000. Catalyzing a wide range of reactions, from hydrolysis of esters, carbonates and activated amides to stereoselective carbon-carbon bond formation, prodrug activation and detoxification in vivo. *Ann Rev Biochem.* 69:751-793.
- 19). Keinan E, Lerner RA. 1996. The first decade of antibody catalysis: Perspective and prospects. *Isr J Chem.* 36:113.
- 20). Janda KD, et al. 1988. Induction of an antibody that catalyzed the hydrolysis of an amide bond. *Science* 241:1188-91.
- 21). Shokat KM, Schultz PG. 1990. Catalytic antibody. *Annu Rev Immunol.* 8:335-363.
- 22). Lerner RA, Barbas III CF. 1996. Using the process of reactive immunization to induce catalytic antibodies with complex mechanisms: Aldolases. *Acta Chemica Scandinavica* 50:672-678.
- 23). Johnson G, Moore SW. 2002. Idiotypic mimicry of a catalytic antibody active site. *Molec Immunol.* 39:273-288.
- 24). Lienhard GE. 1973. Enzymatic catalysis and transition-state theory. *Science* 180:149-154.
- 25). Pollack SJ, Schultz PG. 1987. Antibody catalysis by transition state stabilization. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol.* 52:97-104.
- 26). Schramm VL. 1998. Enzymatic transition states and transition state analog design. *Annu Rev Biochem.* 67:693-720.
- 27). Nevinsky GA et al. 2000. Catalytic antibody (abzymes) induced by stable transition-state analogs. *Biochem. (Mosc).* 65:1233-44.
- 28). Ollier P, et al. 1985. The idiotypic network and the internal image: possible regulation of a germ-line network by paucigene encoded Ab2 (anti-idiotypic) antibodies in the GAT system. *EMBO J.* 4:3681-88.
- 29). Friboulet A et al. 1994. Abzyme generation using an anti-idiotypic antibody as the "internal image" of an enzyme active site. *Appl Biochem Biotechnol.* 47:229-37.
- 30). Tsumuraya T, Fujii I. 2008. Molecular basis for transition-state stabilization in catalytic antibodies. *Bull Chem Soc Jap.* 81:1039-52.
- 31). Alexander V, et al. 2000. Enzyme mimicry by the antiidiotypic antibody approach. *Proc Natl Acad Sci USA* 97:13526-31.
- 32). Rader C, et al. 2003. Chemically programmed monoclonal antibodies for cancer therapy : Adaptor immunotherapy based on a covalent antibody catalyst. *Proc Natl Acad Sci USA.* 100:5395-5400.
- 33). Utsumi N, et al. 2007. A way to highly enantiomerically enriched aza-Morita-Baylis-Hillman-type products. *Angrew Chem Inst Ed.* 46:1878
- 34). Wagner J, et al. 1995. Effect aldolase catalytic antibodies that use the enamine mechanism of natural enzymes. *Science* 270:1797-1800.
- 35). Guo P, et al. 2006. Breaking the one antibody-one target oxiom. *Proc Natl Acad Sci USA.* 103:11009-14.
- 36). Wirsching P, et al. 1995. Reactive immunization. *Science* 270:1775-83.
- 37). List RA, et al. 2000. Proline-catalyzed direct asymmetric aldol reactions. *J Am Chem Soc.* 122:2395-96.
- 38). Bardi JS. 2003. Programmable antibodies - a hybrid cancer therapy. *TSRI-News and Views.* p. 1-3.
- 39). Sinha SC, et al. Preparation of integrin  $\alpha(v)\beta(3)$ -targeting Ab38C2 constructs. *Nature Protocols* 2:449-456.
- 40). Abrahams S, et al. 2007. Synthesis of the next-generation therapeutic antibodies that combine cell targeting and antibody-catalyzed prodrug activation. *Proc Natl Acad Sci USA.* 104:5584-89.

- 41). Wentworth P, et al. 1996. Toward antibody-directed "abzyme" prodrug therapy, ADAPT: Carbamate prodrug activation by a catalytic antibody and its in vitro application to human tumor cell killing. *Proc Natl Acad Sci USA*, 93:799-803.
- 42). Blackburn GM, et al. 1996. The medical potential of catalytic antibodies. *Pure Appl Chem*, 68:2009-16.
- 43). Matsushita M, et al. 2001. Cocaine catalytic antibodies: the primary importance of linker effects. *Bioorg Med Chem Lett*, 11:87-90.
- 44). Zhu X, et al. 2006. Complete reaction cycle of a cocaine catalytic antibody at atomic resolution. *Structure* 14:205-216.
- 45). Aldridge S. 2009. Therapeutic antibodies: the next generation. *Pharm Tech Europe* p. 1-2.
- 46). Clark M. 2000. [www.path.com.ac.uk/~mrc7/humanisation,antibodies.html](http://www.path.com.ac.uk/~mrc7/humanisation,antibodies.html) : Antibodies for Therapeutic Application. p. 1-4. 68:2009-16.
- 47). Mayorve A, et al. 2008. Catalytic antibody degradation of ghrelin increases whole-body metabolic rate and refeeding infesting mice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 105:17487-92.
- 48). Gil-Campos M, et al. 2006. Ghrelin: a hormone regulating food intake and energy homeostasis. *Brit J Nutrition* 96:201-226.
- 49). Plangue S, et al. 2008. Catalytic antibodies to HIV: Physiological role and potential clinical utility. *Autoimm Rev*, 7:473-479.
- 50). Rosa MF, et al. 2005. Broadly neutralizing anti-HIV antibody 4E10 recognizes a helical conformation of a highly conserved fusion-associated motif in gp41. *Immunity* 22:163-173.
- 51). Brunel FM, et al. 2006. Structure-function analysis of the epitope for 4E10, a broadly neutralizing human immunodeficiency virus type 1 antibody. *Jour Virol*, 80:1680-87.
- 52). Ekiert DC, et al. 2009. Antibody recognition of a highly conserved influenza virus epitope. *Science* 324:246-251.
- 53). Mayfield SP, et al. 2003. Expression and assembly of a fully active antibody in algae. *Proc Natl Acad Sci USA*, 100:438-442.
- 54). Mayfield SF, Franklin SE. 2005. Expression of human antibodies in eukaryotic micro-algae. *Vaccine* 23:1828-32.
- 55). Manuell AL, et al. 2007. Robust expression of a bioactive mammalian protein in *Chlamydomonas* chloroplast. *Plant Biotechnol Jour*, 5:402-412.
- 56). Mayfield SP, et al. 2007. *Chlamydomonas reinhardtii* chloroplast as protein factories. *Current Opinion Biotechnol*, 18:126-133.
- 57). Popkov M, et al. 2009. Instant immunity through chemically progeammable vaccination and covalent self-assembly. *Proc Natl Acad Sci USA*, 106:4378-83.