(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2025-0017233
(43) 공개일자 2025년02월04일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/28 (2006.01) *A61K 39/00* (2006.01)
A61K 47/68 (2017.01) *A61P 29/00* (2023.01)
A61P 37/02 (2006.01) *G01N 33/68* (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07K 16/2851 (2013.01)
A61K 47/6803 (2023.08)
(21) 출원번호 10-2024-7042394
(22) 출원일자(국제) 2023년05월24일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2024년12월20일
(86) 국제출원번호 PCT/CN2023/096076
(87) 국제공개번호 WO 2023/227033
국제공개일자 2023년11월30일
(30) 우선권주장
202210599888.X 2022년05월25일 중국(CN)
202211318610.7 2022년10월26일 중국(CN)

(71) 출원인
듀얼리티 바이올로직스 (쑤저우) 컴퍼니 리미티드
중국 215000 지앙수, 쑤저우 인더스트리얼 파크 쑤저우, 진구 로드, 넘버 99, 바이오메디컬 인더스트리얼 파크 페이즈 3, 존 비, 빌딩 3, 유닛 301
(72) 발명자
리 시
중국, 상하이 201204, 푸동 뉴 에어리어, 868 잉후아 로드, 유닛 1106
후아 하이칭
중국, 상하이 201204, 푸동 뉴 에어리어, 868 잉후아 로드, 유닛 1106
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인한얼

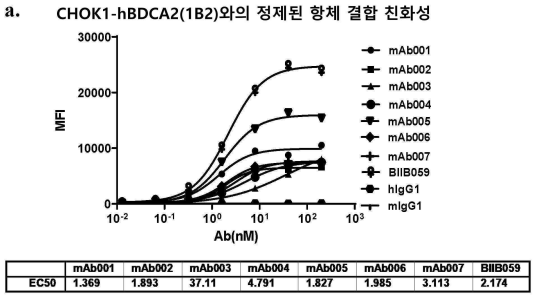
전체 청구항 수 : 총 20 항

(54) 발명의 명칭 **항-BDCA2 항체 및 이의 용도**

(57) 요 약

본 발명은 BDCA2에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편 및 이를 포함하는 조성물을 제공한다. 또한, 본 발명의 항체 또는 항원-결합 단편을 코딩하는 핵산 분자, 본 발명의 항체 또는 항원-결합 단편을 발현시키기 위한 벡터 및 숙주 세포, 본 발명의 항체 또는 항원-결합 단편의 치료 및 진단 방법 및 용도가 제공된다.

대 표 도



	mAb001	mAb002	mAb003	mAb004	mAb005	mAb006	mAb007	BIIB059
EC50	1.369	1.893	37.11	4.791	1.827	1.985	3.113	2.174

(52) CPC특허분류
A61P 29/00 (2023.02)
A61P 37/02 (2018.01)
G01N 33/68 (2013.01)
A61K 2039/505 (2013.01)
(72) 발명자
주 종유안
중국, 상하이 201204, 푸동 뉴 에어리어, 868 잉후아 로드, 유닛 1106
리 지안
중국, 상하이 201204, 푸동 뉴 에어리어, 868 잉후아 로드, 유닛 1106

명 세 서

청구범위

청구항 1

항-BDCA2 항체 또는 이의 항원-결합 단편으로서,

상기 항-BDCA2 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 중쇄 가변 영역 및/또는 경쇄 가변 영역을 포함하고;

상기 중쇄 가변 영역은

(I) 각각 서열번호 11, 서열번호 12 및 서열번호 13에 제시된 아미노산 서열을 갖는 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3; 또는 각각 서열번호 11, 서열번호 12 및 서열번호 13에 제시된 아미노산 서열과 1, 2 또는 3개의 아미노산 차이를 갖는 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3; 또는

(II) 각각 서열번호 19, 서열번호 20 및 서열번호 21에 제시된 아미노산 서열을 갖는 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3; 또는 각각 서열번호 19, 서열번호 20 및 서열번호 21에 제시된 아미노산 서열과 1, 2 또는 3개의 아미노산 차이를 갖는 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3; 또는

(III) 각각 서열번호 25, 서열번호 26 및 서열번호 27에 제시된 아미노산 서열을 갖는 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3; 또는 각각 서열번호 25, 서열번호 26 및 서열번호 27에 제시된 아미노산 서열과 1, 2 또는 3개의 아미노산 차이를 갖는 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3; 또는

(IV) 각각 서열번호 31, 서열번호 32 및 서열번호 33에 제시된 아미노산 서열을 갖는 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3; 또는 각각 서열번호 31, 서열번호 32 및 서열번호 33에 제시된 아미노산 서열과 1, 2 또는 3개의 아미노산 차이를 갖는 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3; 또는

(V) 각각 서열번호 38, 서열번호 39 및 서열번호 40에 제시된 아미노산 서열을 갖는 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3; 또는 각각 서열번호 38, 서열번호 39 및 서열번호 40에 제시된 아미노산 서열과 1, 2 또는 3개의 아미노산 차이를 갖는 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3; 또는

(VI) 각각 서열번호 31, 서열번호 46 및 서열번호 47에 제시된 아미노산 서열을 갖는 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3; 또는 각각 서열번호 31, 서열번호 46 및 서열번호 47에 제시된 아미노산 서열과 1, 2 또는 3개의 아미노산 차이를 갖는 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3; 또는

(VII) 각각 서열번호 31, 서열번호 50 및 서열번호 47에 제시된 아미노산 서열을 갖는 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3; 또는 각각 서열번호 31, 서열번호 50 및 서열번호 47에 제시된 아미노산 서열과 1, 2 또는 3개의 아미노산 차이를 갖는 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3; 또는

(VIII) 각각 서열번호 52, 서열번호 39 및 서열번호 53에 제시된 아미노산 서열을 갖는 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3; 또는 각각 서열번호 52, 서열번호 39 및 서열번호 53에 제시된 아미노산 서열과 1, 2 또는 3개의 아미노산 차이를 갖는 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3; 또는

(IX) 각각 서열번호 25, 서열번호 26 및 서열번호 37에 제시된 아미노산 서열을 갖는 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3; 또는 각각 서열번호 25, 서열번호 26 및 서열번호 37에 제시된 아미노산 서열과 1, 2 또는 3개의 아미노산 차이를 갖는 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3

을 포함하고/하거나;

상기 경쇄 가변 영역은

(I) 각각 서열번호 14, 서열번호 15 및 서열번호 16에 제시된 아미노산 서열을 갖는 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3; 또는 각각 서열번호 14, 서열번호 15 및 서열번호 16에 제시된 아미노산 서열과 1, 2 또는 3개의 아미노산 차이를 갖는 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3; 또는

(II) 각각 서열번호 22, 서열번호 23 및 서열번호 24에 제시된 아미노산 서열을 갖는 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3; 또는 각각 서열번호 22, 서열번호 23 및 서열번호 24에 제시된 아미노산 서열과 1, 2 또는 3개의 아미노산 차이를 갖는 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3; 또는

(III) 각각 서열번호 28, 서열번호 29 및 서열번호 30에 제시된 아미노산 서열을 갖는 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3; 또는 각각 서열번호 28, 서열번호 29 및 서열번호 30에 제시된 아미노산 서열과 1, 2 또는 3개의 아미노산 차이를 갖는 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3; 또는

(IV) 각각 서열번호 34, 서열번호 35 및 서열번호 36에 제시된 아미노산 서열을 갖는 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3; 또는 각각 서열번호 34, 서열번호 35 및 서열번호 36에 제시된 아미노산 서열과 1, 2 또는 3개의 아미노산 차이를 갖는 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3; 또는

(V) 각각 서열번호 41, 서열번호 15 및 서열번호 42에 제시된 아미노산 서열을 갖는 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3; 또는 각각 서열번호 41, 서열번호 15 및 서열번호 42에 제시된 아미노산 서열과 1, 2 또는 3개의 아미노산 차이를 갖는 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3; 또는

(VI) 각각 서열번호 34, 서열번호 48 및 서열번호 49에 제시된 아미노산 서열을 갖는 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3; 또는 각각 서열번호 34, 서열번호 48 및 서열번호 49에 제시된 아미노산 서열과 1, 2 또는 3개의 아미노산 차이를 갖는 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3; 또는

(VII) 각각 서열번호 34, 서열번호 51 및 서열번호 49에 제시된 아미노산 서열을 갖는 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3; 또는 각각 서열번호 34, 서열번호 51 및 서열번호 49에 제시된 아미노산 서열과 1, 2 또는 3개의 아미노산 차이를 갖는 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3; 또는

(VIII) 각각 서열번호 54, 서열번호 55 및 서열번호 42에 제시된 아미노산 서열을 갖는 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3; 또는 각각 서열번호 54, 서열번호 55 및 서열번호 42에 제시된 아미노산 서열과 1, 2 또는 3개의 아미노산 차이를 갖는 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3; 또는

(IX) 각각 서열번호 86, 서열번호 15 및 서열번호 16에 제시된 아미노산 서열을 갖는 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3; 또는 각각 서열번호 86, 서열번호 15 및 서열번호 16에 제시된 아미노산 서열과 1, 2 또는 3개의 아미노산 차이를 갖는 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3

을 포함하는, 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 항체 또는 이의 항원-결합 단편은

(I) 각각 서열번호 52, 서열번호 39 및 서열번호 53에 제시된 아미노산 서열을 갖는 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3를 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 각각 서열번호 54, 서열번호 55 및 서열번호 42에 제시된 아미노산 서열을 갖는 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3를 포함하는 경쇄 가변 영역; 또는

(II) 각각 서열번호 19, 서열번호 20 및 서열번호 21에 제시된 아미노산 서열을 갖는 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3를 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 각각 서열번호 22, 서열번호 23 및 서열번호 24에 제시된 아미노산 서열을 갖는 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3를 포함하는 경쇄 가변 영역; 또는

(III) 각각 서열번호 25, 서열번호 26에 제시된 아미노산 서열을 갖는 HCDR1 및 HCDR2와 각각 서열번호 27 또는 서열번호 37에 제시된 HCDR3를 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 각각 서열번호 28, 서열번호 29 및 서열번호 30에 제시된 아미노산 서열을 갖는 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3를 포함하는 경쇄 가변 영역; 또는

(IV) 각각 서열번호 31, 서열번호 32 및 서열번호 33에 제시된 아미노산 서열을 갖는 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3를 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 각각 서열번호 34, 서열번호 35 및 서열번호 36에 제시된 아미노산 서열을 갖는 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3를 포함하는 경쇄 가변 영역; 또는

(V) 각각 서열번호 38, 서열번호 39 및 서열번호 40에 제시된 아미노산 서열을 갖는 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3를 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 각각 서열번호 41, 서열번호 15 및 서열번호 42에 제시된 아미노산 서열을 갖는 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3를 포함하는 경쇄 가변 영역; 또는

(VI) 각각 서열번호 31에 제시된 아미노산 서열을 갖는 HCDR1, 서열번호 46 또는 서열번호 50에 제시된 HCDR2 및 서열번호 47에 제시된 HCDR3를 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 각각 서열번호 34에 제시된 아미노산 서열을 갖는 LCDR1, 서열번호 48 또는 서열번호 51에 제시된 LCDR2 및 서열번호 49에 제시된 LCDR3를 포함하는 경쇄 가변 영역; 또는

(VII) 각각 서열번호 11, 서열번호 12 및 서열번호 13에 제시된 아미노산 서열을 갖는 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3을

포함하는 중쇄 가변 영역; 및 각각 서열번호 14 또는 서열번호 86에 제시된 아미노산 서열을 갖는 LCDR1, 서열번호 15에 제시된 LCDR2 및 서열번호 16에 제시된 LCDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역

을 포함하는, 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하고;

(I) 상기 중쇄 가변 영역은 서열번호 61에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나, 서열번호 61에 제시된 아미노산 서열과 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성(sequence identity)을 갖는 아미노산 서열을 포함하고; 상기 경쇄 가변 영역은 서열번호 62에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나, 서열번호 62에 제시된 아미노산 서열과 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

(II) 상기 중쇄 가변 영역은 서열번호 65에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나, 서열번호 65에 제시된 아미노산 서열과 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고; 상기 경쇄 가변 영역은 서열번호 66에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나, 서열번호 66에 제시된 아미노산 서열과 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

(III) 상기 중쇄 가변 영역은 서열번호 67에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나, 서열번호 67에 제시된 아미노산 서열과 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고; 상기 경쇄 가변 영역은 서열번호 68에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나, 서열번호 68에 제시된 아미노산 서열과 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

(IV) 상기 중쇄 가변 영역은 서열번호 69에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나, 서열번호 69에 제시된 아미노산 서열과 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고; 상기 경쇄 가변 영역은 서열번호 70에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나, 서열번호 70에 제시된 아미노산 서열과 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

(V) 상기 중쇄 가변 영역은 서열번호 71에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나, 서열번호 71에 제시된 아미노산 서열과 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고; 상기 경쇄 가변 영역은 서열번호 68에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나, 서열번호 68에 제시된 아미노산 서열과 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

(VI) 상기 중쇄 가변 영역은 서열번호 72에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나, 서열번호 72에 제시된 아미노산 서열과 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고; 상기 경쇄 가변 영역은 서열번호 73에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나, 서열번호 73에 제시된 아미노산 서열과 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

(VII) 상기 중쇄 가변 영역은 서열번호 76에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나, 서열번호 76에 제시된 아미노산 서열과 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고; 상기 경쇄 가변 영역은 서열번호 77에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나, 서열번호 77에 제시된 아미노산 서열과 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

(VIII) 상기 중쇄 가변 영역은 서열번호 80에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나, 서열번호 80에 제시된 아미노산 서열과 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고; 상기 경쇄 가변 영역은 서열번호 79에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나, 서열번호 79에 제시된 아미노산 서열과 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

(IX) 상기 중쇄 가변 영역은 서열번호 82에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나, 서열번호 82에 제시된 아미노산 서열과 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고; 상기 경쇄 가변 영역은 서열번호 83에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나, 서열번호 83에 제시된 아미노산 서열과 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는, 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

청구항 4

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 항체 또는 이의 항원-결합 단편이

(I) 서열번호 87-110 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나, 서열번호 87-110 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 서열번호 135-158 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나, 서열번호 135-158 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역; 또는

(II) 서열번호 111-134 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나, 서열번호 111-134 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 서열번호 159-182 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나, 서열번호 159-182 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역; 또는

(III) 서열번호 89에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나, 서열번호 89에 제시된 아미노산 서열과 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 서열번호 137에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나, 서열번호 137에 제시된 아미노산 서열과 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역; 또는

(IV) 서열번호 106에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나, 서열번호 106에 제시된 아미노산 서열과 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 서열번호 154에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나, 서열번호 154에 제시된 아미노산 서열과 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역; 또는

(V) 서열번호 114에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나, 서열번호 114에 제시된 아미노산 서열과 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 서열번호 162에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나, 서열번호 162에 제시된 아미노산 서열과 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역; 또는

(VI) 표 C에 제시된 아미노산 서열의 임의의 조합을 포함하는, 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역

을 포함하는, 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체가 마우스 유래 항체(mouse derived antibody), 키메라 항체(chimeric antibody), 인간화 항체(humanized antibody) 및 완전 인간 항체(fully human antibody)로 이루어진 그룹으로부터 선택되는, 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

청구항 6

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항원-결합 단편이 Fab, Fab', F(ab')2, Fv, scFv 및 sdAb로 이루어진 그룹으로부터 선택되는, 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

청구항 7

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 임의의 IgG 서브타입(subtype), 예를 들면, IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4, 바람직하게는 IgG1 서브타입의 것인, 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

청구항 8

제4항에 있어서, 상기 항체가 하기 서열:

(I) 서열번호 183에 제시된 아미노산 서열을 갖거나 이와 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 중쇄, 및 서열번호 186에 제시된 아미노산 서열을 갖거나 이와 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 경쇄; 또는

(II) 서열번호 184에 제시된 아미노산 서열을 갖거나 이와 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성

을 갖는 중쇄, 및 서열번호 187에 제시된 아미노산 서열을 갖거나 이와 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 경쇄; 또는

(III) 서열번호 185에 제시된 아미노산 서열을 갖거나 이와 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 중쇄, 및 서열번호 188에 제시된 아미노산 서열을 갖거나 이와 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 경쇄

을 포함하거나 이들로 이루어지는, 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

청구항 9

제8항에 있어서, 상기 항체가 하기 서열:

(I) 서열번호 183에 제시된 아미노산 서열과 1, 2 또는 3개의 아미노산 차이를 갖는 중쇄 및 서열번호 186에 제시된 아미노산 서열을 갖는 경쇄; 또는

(II) 서열번호 184에 제시된 아미노산 서열과 1, 2 또는 3개의 아미노산 차이를 갖는 중쇄 및 서열번호 187에 제시된 아미노산 서열을 갖는 경쇄; 또는

(III) 서열번호 185에 제시된 아미노산 서열과 1, 2 또는 3개의 아미노산 차이를 갖는 중쇄 및 서열번호 188에 제시된 아미노산 서열을 갖는 경쇄

를 포함하거나 이들로 이루어지는, 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

청구항 10

제8항에 있어서, 상기 항체가 하기 서열:

(I) 서열번호 191, 서열번호 192 또는 서열번호 193에 제시된 아미노산 서열을 갖는 중쇄 및 서열번호 186에 제시된 아미노산 서열을 갖는 경쇄; 또는

(II) 서열번호 194, 서열번호 195 또는 서열번호 196에 제시된 아미노산 서열을 갖는 중쇄 및 서열번호 187에 제시된 아미노산 서열을 갖는 경쇄

를 포함하거나 이들로 이루어지는, 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

청구항 11

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 따른 항-BDCA2 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 코딩하는(encoding) 폴리뉴클레오타이드 분자.

청구항 12

제11항에 따른 폴리뉴클레오타이드 분자를 포함하는 발현 벡터(expression vector)로서, 바람직하게는 상기 발현 벡터가 진핵생물 발현 벡터인, 발현 벡터.

청구항 13

제11항에 따른 폴리뉴클레오타이드 분자 또는 제12항에 따른 발현 벡터를 포함하는 숙주 세포로서, 바람직하게는 상기 숙주 세포가 진핵 세포, 더욱 바람직하게는 포유류 세포인, 숙주 세포.

청구항 14

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 따른 항-BDCA2 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제조하기 위한 방법으로서,

상기 방법은 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 항체 또는 이의 항원-결합 단편의 발현에 적합한 조건하에서 제13항에 따른 숙주 세포에서 발현시키는 단계, 및 발현된 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 숙주 세포로부터 회수하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 15

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 따른 항-BDCA2 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 포함하는 면역접합체

(immunoconjugate)로서, 상기 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 적어도 하나의 치료제 또는 진단제, 바람직하게는 항염증 약물 또는 면역억제제와 접합되어 있는, 면역접합체.

청구항 16

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 따른 항-BDCA2 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 제11항에 따른 폴리뉴클레오타이드 분자, 제13항에 따른 발현 벡터, 제11항에 따른 숙주 세포, 제13항에 따른 면역접합체 및 약제학적으로 허용되는 담체 또는 부형제를 포함하는, 약제학적 조성물.

청구항 17

대상체(subject)의 면역 세포로부터 사이토카인의 과잉-방출(over-release)을 억제하기 위한 방법으로서,

대상체의 면역 세포를 제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 따른 항-BDCA2 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 제15항에 따른 면역접합체 또는 제16항에 따른 약제학적 조성물과 접촉시키는 단계를 포함하고,

바람직하게는, 상기 면역 세포가 CpG-A 자극된 PBMC 세포인, 방법.

청구항 18

BDCA2 매개 질환, 바람직하게는 염증성 질환의 치료 및/또는 예방을 위한 의약(medicament)의 제조에서의, 제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 따른 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 제15항에 따른 면역접합체 또는 제16항에 따른 약제학적 조성물의 용도로서,

더욱 바람직하게는, 상기 염증성 질환은 전신성 홍반성 루푸스(systemic lupus erythematosus), 원반성 루푸스(discoid lupus), 루푸스 신장염(lupus nephritis), 표피성 홍반성 루푸스(epidermal lupus erythematosus), 류마티스 관절염(rheumatoid arthritis), 염증성 장 질환(inflammatory bowel disease), 전신 경화증(systemic sclerosis)(경피증(scleroderma)), 건선(psoriasis), 제1형 당뇨병(type I diabetes), 피부근염(dermatomyositis) 및 다발근염(polymyositis)으로부터 선택되는, 용도.

청구항 19

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 따른 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 제15항에 따른 면역접합체 또는 제16항에 따른 약제학적 조성물을 포함하는 키트(kit).

청구항 20

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 따른 항체 또는 이의 항원-결합 단편 또는 상기 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 함유하는 검출 조성물을 사용하여 샘플 중의 BDCA2의 존재를 검출하기 위한 방법으로서,

상기 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 또는 상기 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 함유하는 검출 조성물을 샘플과 접촉시키는 단계를 포함하는, 방법.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 모노클로날 항체 및/또는 조작된 항체의 분야에 관한 것이다. 구체적으로, 본 발명은 BDCA2에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편 및 상기 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 포함하는 조성물을 제공한다. 추가로, 본 발명은 본 발명의 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 코딩하는(encoding) 핵산 분자, 본 발명의 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 발현시키기 위한 벡터 및 숙주 세포, 및 본 발명의 항체 또는 이의 항원-결합 단편의 치료 및 진단/검출 방법 및 용도를 제공한다.

배 경 기 술

[0002] 의학 연구가 발전함에 따라, 다양한 질환이 면역계의 기능장애와 관련되어 있는 것으로 밝혀졌고, 면역계에 대한 연구는 병인을 추가로 이해하고 더욱 최적의 치료 옵션을 모색하는 데 도움이 되었다.

[0003] 면역계는 T 세포, B 세포, 자연 킬러 세포, 항원 제시 세포, 수지상 세포, 단핵구 및 대식세포를 포함하지만 이들로 제한되지 않는 다수의 세포 유형으로 구성된 매우 복잡한 시스템이다. 이러한 세포의 상호작용 및 반응은

복잡하고 미묘한 시스템의 제어하에 있다. 세포는 활성화 및 억제 메커니즘과 피드백 루프를 활용하여 반응의 제어를 유지하고, 제어되지 않은 면역 반응(예: 자가면역 질환)에 의해 유발된 부정적 결과를 가능한 한 방지한다. 면역과 관련된 복수의 신호전달 경로에는 다수의 신호전달 분자가 관여하고 이들의 상호작용이 존재한다.

[0004] 혈액 수지상 세포 항원 2(BDCA2)는 인간 형질세포양 수지상 세포(plc.)에서 발현되는 C형 렉틴이다[참조: Dzionek et al., J. Immunol., 165:6037-6046(2000)]. BDCA2는 이의 C-말단의 단일 세포외 탄수화물 인식 도메인(CRD)(이는 II형 C형 렉틴 그룹에 속함), 위치 45의 아스파라긴 잔기로부터 위치 213의 이소류신 잔기까지의 막관통 영역, 및 N-말단의 짧은 세포질 테일(이는 신호전달 모티프를 갖고 있지 않음)로 구성되어 있다. BDCA2는 관련 막관통 어댑터인 FcεRIγ를 통해 세포내 신호를 전달하고, B 세포 수용체(BCR)-유사 신호전달 캐스케이드를 유도한다.

발명의 내용

해결하려는 과제

과제의 해결 수단

[0005] 본 발명의 요약

[0006] 본 발명은 BDCA2에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공하고, 이는 인간 및 사이노몰구스 BDCA2 등에 대한 높은 친화성 및 높은 특이성을 갖는다. 본 발명에 의해 제공되는 항-BDCA2 항체 또는 이의 항원-결합 단편은, 예를 들면, 염증 병태(condition)/질환의 치료에 독립된 단독 요법 또는 다른 요법 및/또는 다른 약제와 조합하여 사용될 수 있다.

[0007] 본원에 기재된 항-BDCA2 항체는 인간 형질세포양 수지상 세포(pDC)에 의한 염증성 사이토카인 및 케모카인의 생성 및/또는 분비를 억제한다. 또한, 본원에 기재된 항-BDCA2 항체는 pDC 표면에서 CD32a 및/또는 CD62L의 수준을 하향-조절할 수 있다. 또한, 본 개시의 항-BDCA2 항체는 pDC의 표면으로부터 BDCA2의 내재화를 매개할 수 있다. 또한, 본원에 기재된 항-BDCA2 항체는 ADCC 또는 CDC에 의해 pDC를 고갈시키기 위해 사용될 수 있으며, 면역 질환, 예를 들면, 염증성 질환 및 자가면역 질환을 치료 또는 예방하기 위해 사용될 수 있다.

[0008] 일 양태에서, 본 발명은 항-BDCA2 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공하고, 상기 항-BDCA2 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 중쇄 가변 영역 및/또는 경쇄 가변 영역을 포함하고;

[0009] 상기 중쇄 가변 영역은

[0010] (I) 각각 서열번호 11, 서열번호 12 및 서열번호 13에 제시된 아미노산 서열을 갖는 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3; 또는 각각 서열번호 11, 서열번호 12 및 서열번호 13에 제시된 아미노산 서열과 1, 2 또는 3개의 아미노산 차이를 갖는 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3; 또는

[0011] (II) 각각 서열번호 19, 서열번호 20 및 서열번호 21에 제시된 아미노산 서열을 갖는 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3; 또는 각각 서열번호 19, 서열번호 20 및 서열번호 21에 제시된 아미노산 서열과 1, 2 또는 3개의 아미노산 차이를 갖는 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3; 또는

[0012] (III) 각각 서열번호 25, 서열번호 26 및 서열번호 27에 제시된 아미노산 서열을 갖는 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3; 또는 각각 서열번호 25, 서열번호 26 및 서열번호 27에 제시된 아미노산 서열과 1, 2 또는 3개의 아미노산 차이를 갖는 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3; 또는

[0013] (IV) 각각 서열번호 31, 서열번호 32 및 서열번호 33에 제시된 아미노산 서열을 갖는 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3; 또는 각각 서열번호 31, 서열번호 32 및 서열번호 33에 제시된 아미노산 서열과 1, 2 또는 3개의 아미노산 차이를 갖는 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3; 또는

[0014] (V) 각각 서열번호 38, 서열번호 39 및 서열번호 40에 제시된 아미노산 서열을 갖는 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3; 또는 각각 서열번호 38, 서열번호 39 및 서열번호 40에 제시된 아미노산 서열과 1, 2 또는 3개의 아미노산 차이를 갖는 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3; 또는

[0015] (VI) 각각 서열번호 31, 서열번호 46 및 서열번호 47에 제시된 아미노산 서열을 갖는 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3; 또는 각각 서열번호 31, 서열번호 46 및 서열번호 47에 제시된 아미노산 서열과 1, 2 또는 3개의 아미노산 차이

를 갖는 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3; 또는

[0016] (VII) 각각 서열번호 31, 서열번호 50 및 서열번호 47에 제시된 아미노산 서열을 갖는 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3; 또는 각각 서열번호 31, 서열번호 50 및 서열번호 47에 제시된 아미노산 서열과 1, 2 또는 3개의 아미노산 차이를 갖는 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3; 또는

[0017] (VIII) 각각 서열번호 52, 서열번호 39 및 서열번호 53에 제시된 아미노산 서열을 갖는 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3; 또는 각각 서열번호 52, 서열번호 39 및 서열번호 53에 제시된 아미노산 서열과 1, 2 또는 3개의 아미노산 차이를 갖는 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3; 또는

[0018] (IX) 각각 서열번호 25, 서열번호 26 및 서열번호 37에 제시된 아미노산 서열을 갖는 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3; 또는 각각 서열번호 25, 서열번호 26 및 서열번호 37에 제시된 아미노산 서열과 1, 2 또는 3개의 아미노산 차이를 갖는 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3

[0019] 을 포함하고/하거나;

[0020] 상기 경쇄 가변 영역은

[0021] (I) 각각 서열번호 14, 서열번호 15 및 서열번호 16에 제시된 아미노산 서열을 갖는 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3; 또는 각각 서열번호 14, 서열번호 15 및 서열번호 16에 제시된 아미노산 서열과 1, 2 또는 3개의 아미노산 차이를 갖는 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3; 또는

[0022] (II) 각각 서열번호 22, 서열번호 23 및 서열번호 24에 제시된 아미노산 서열을 갖는 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3; 또는 각각 서열번호 22, 서열번호 23 및 서열번호 24에 제시된 아미노산 서열과 1, 2 또는 3개의 아미노산 차이를 갖는 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3; 또는

[0023] (III) 각각 서열번호 28, 서열번호 29 및 서열번호 30에 제시된 아미노산 서열을 갖는 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3; 또는 각각 서열번호 28, 서열번호 29 및 서열번호 30에 제시된 아미노산 서열과 1, 2 또는 3개의 아미노산 차이를 갖는 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3; 또는

[0024] (IV) 각각 서열번호 34, 서열번호 35 및 서열번호 36에 제시된 아미노산 서열을 갖는 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3; 또는 각각 서열번호 34, 서열번호 35 및 서열번호 36에 제시된 아미노산 서열과 1, 2 또는 3개의 아미노산 차이를 갖는 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3; 또는

[0025] (V) 각각 서열번호 41, 서열번호 15 및 서열번호 42에 제시된 아미노산 서열을 갖는 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3; 또는 각각 서열번호 41, 서열번호 15 및 서열번호 42에 제시된 아미노산 서열과 1, 2 또는 3개의 아미노산 차이를 갖는 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3; 또는

[0026] (VI) 각각 서열번호 34, 서열번호 48 및 서열번호 49에 제시된 아미노산 서열을 갖는 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3; 또는 각각 서열번호 34, 서열번호 48 및 서열번호 49에 제시된 아미노산 서열과 1, 2 또는 3개의 아미노산 차이를 갖는 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3; 또는

[0027] (VII) 각각 서열번호 34, 서열번호 51 및 서열번호 49에 제시된 아미노산 서열을 갖는 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3; 또는 각각 서열번호 34, 서열번호 51 및 서열번호 49에 제시된 아미노산 서열과 1, 2 또는 3개의 아미노산 차이를 갖는 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3; 또는

[0028] (VIII) 각각 서열번호 54, 서열번호 55 및 서열번호 42에 제시된 아미노산 서열을 갖는 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3; 또는 각각 서열번호 54, 서열번호 55 및 서열번호 42에 제시된 아미노산 서열과 1, 2 또는 3개의 아미노산 차이를 갖는 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3; 또는

[0029] (IX) 각각 서열번호 86, 서열번호 15 및 서열번호 16에 제시된 아미노산 서열을 갖는 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3; 또는 각각 서열번호 86, 서열번호 15 및 서열번호 16에 제시된 아미노산 서열과 1, 2 또는 3개의 아미노산 차이를 갖는 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3

[0030] 을 포함한다.

[0031] 일부 실시형태에서, 본 발명의 항체 또는 이의 항원-결합 단편에서, 상기 항체 또는 이의 항원-결합 단편은

[0032] (I) 각각 서열번호 52, 서열번호 39 및 서열번호 53에 제시된 아미노산 서열을 갖는 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3를 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 각각 서열번호 54, 서열번호 55 및 서열번호 42에 제시된 아미노산 서열을 갖는

LCDR1, LCDR2 및 LCDR3를 포함하는 경쇄 가변 영역; 또는

[0033] (II) 각각 서열번호 19, 서열번호 20 및 서열번호 21에 제시된 아미노산 서열을 갖는 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3를 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 각각 서열번호 22, 서열번호 23 및 서열번호 24에 제시된 아미노산 서열을 갖는 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3를 포함하는 경쇄 가변 영역; 또는

[0034] (III) 각각 서열번호 25, 서열번호 26에 제시된 아미노산 서열을 갖는 HCDR1 및 HCDR2와 각각 서열번호 27 또는 서열번호 37에 제시된 HCDR3를 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 각각 서열번호 28, 서열번호 29 및 서열번호 30에 제시된 아미노산 서열을 갖는 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3를 포함하는 경쇄 가변 영역; 또는

[0035] (IV) 각각 서열번호 31, 서열번호 32 및 서열번호 33에 제시된 아미노산 서열을 갖는 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3를 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 각각 서열번호 34, 서열번호 35 및 서열번호 36에 제시된 아미노산 서열을 갖는 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3를 포함하는 경쇄 가변 영역; 또는

[0036] (V) 각각 서열번호 38, 서열번호 39 및 서열번호 40에 제시된 아미노산 서열을 갖는 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3를 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 각각 서열번호 41, 서열번호 15 및 서열번호 42에 제시된 아미노산 서열을 갖는 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3를 포함하는 경쇄 가변 영역; 또는

[0037] (VI) 각각 서열번호 31에 제시된 아미노산 서열을 갖는 HCDR1, 서열번호 46 또는 서열번호 50에 제시된 HCDR2 및 서열번호 47에 제시된 HCDR3를 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 각각 서열번호 34에 제시된 아미노산 서열을 갖는 LCDR1, 서열번호 48 또는 서열번호 51에 제시된 LCDR2 및 서열번호 49에 제시된 LCDR3를 포함하는 경쇄 가변 영역; 또는

[0038] (VII) 각각 서열번호 11, 서열번호 12 및 서열번호 13에 제시된 아미노산 서열을 갖는 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 각각 서열번호 14 또는 서열번호 86에 제시된 아미노산 서열을 갖는 LCDR1, 서열번호 15에 제시된 LCDR2 및 서열번호 16에 제시된 LCDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역

[0039] 을 포함한다.

[0040] 일부 실시형태에서, 본 발명의 항체 또는 이의 항원-결합 단편에서, 상기 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하고;

[0041] (I) 상기 중쇄 가변 영역은 서열번호 61에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나, 서열번호 61에 제시된 아미노산 서열과 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성(sequence identity)을 갖는 아미노산 서열을 포함하고; 상기 경쇄 가변 영역은 서열번호 62에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나, 서열번호 62에 제시된 아미노산 서열과 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0042] (II) 상기 중쇄 가변 영역은 서열번호 65에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나, 서열번호 65에 제시된 아미노산 서열과 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고; 상기 경쇄 가변 영역은 서열번호 66에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나, 서열번호 66에 제시된 아미노산 서열과 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0043] (III) 상기 중쇄 가변 영역은 서열번호 67에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나, 서열번호 67에 제시된 아미노산 서열과 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고; 상기 경쇄 가변 영역은 서열번호 68에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나, 서열번호 68에 제시된 아미노산 서열과 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0044] (IV) 상기 중쇄 가변 영역은 서열번호 69에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나, 서열번호 69에 제시된 아미노산 서열과 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고; 상기 경쇄 가변 영역은 서열번호 70에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나, 서열번호 70에 제시된 아미노산 서열과 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0045] (V) 상기 중쇄 가변 영역은 서열번호 71에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나, 서열번호 71에 제시된 아미노산 서열과 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고; 상기 경쇄 가변 영역은 서열번호 68에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나, 서열번호 68에 제시된 아미노산 서열과 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0046] (VI) 상기 중쇄 가변 영역은 서열번호 72에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나, 서열번호 72에 제시된 아미노산 서열과 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고; 상기 경쇄 가

변 영역은 서열번호 73에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나, 서열번호 73에 제시된 아미노산 서열과 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0047] (VII) 상기 중쇄 가변 영역은 서열번호 76에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나, 서열번호 76에 제시된 아미노산 서열과 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고; 상기 경쇄 가변 영역은 서열번호 77에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나, 서열번호 77에 제시된 아미노산 서열과 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0048] (VIII) 상기 중쇄 가변 영역은 서열번호 80에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나, 서열번호 80에 제시된 아미노산 서열과 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고; 상기 경쇄 가변 영역은 서열번호 79에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나, 서열번호 79에 제시된 아미노산 서열과 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0049] (IX) 상기 중쇄 가변 영역은 서열번호 82에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나, 서열번호 82에 제시된 아미노산 서열과 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고; 상기 경쇄 가변 영역은 서열번호 83에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나, 서열번호 83에 제시된 아미노산 서열과 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0050] 일부 실시형태에서, 본 발명의 항체 또는 항원-결합 단편에서, 상기 항체 또는 이의 항원-결합 단편은

[0051] (I) 서열번호 87-110 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나, 서열번호 87-110 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 서열번호 135-158 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나, 서열번호 135-158 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역; 또는

[0052] (II) 서열번호 111-134 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나, 서열번호 111-134 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 서열번호 159-182 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나, 서열번호 159-182 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역; 또는

[0053] (III) 서열번호 89에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나, 서열번호 89에 제시된 아미노산 서열과 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 서열번호 137에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나, 서열번호 137에 제시된 아미노산 서열과 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역; 또는

[0054] (IV) 서열번호 106에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나, 서열번호 106에 제시된 아미노산 서열과 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 서열번호 154에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나, 서열번호 154에 제시된 아미노산 서열과 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역; 또는

[0055] (V) 서열번호 114에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나, 서열번호 114에 제시된 아미노산 서열과 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 서열번호 162에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나, 서열번호 162에 제시된 아미노산 서열과 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역

[0056] 을 포함한다.

[0057] 일부 실시형태에서, 본 발명의 항체 또는 항원-결합 단편에서, 상기 항체 또는 항원-결합 단편은

[0058] (I) 서열번호 87-110 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열번호 135-158 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역; 또는

[0059] (II) 서열번호 111-134 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열번호 159-182 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역; 또는

[0060] (III) 서열번호 89에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열번호 137에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역; 또는

[0061] (IV) 서열번호 106에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열번호 154에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역; 또는

[0062] (V) 서열번호 114에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열번호 162에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역

[0063] 을 포함한다.

[0064] 일부 실시형태에서, 본 발명의 항체 또는 이의 항원-결합 단편에서, 상기 항체는 마우스 항체(mouse antibody), 키메라 항체(chimeric antibody), 인간화 항체(humanized antibody) 또는 완전 인간 항체(fully human antibody)로 이루어진 그룹으로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 본 발명의 항체 또는 이의 항원-결합 단편에서, 상기 항체는 인간화 항체이다.

[0065] 일부 실시형태에서, 본 발명의 항체 또는 이의 항원-결합 단편에서, 상기 항원-결합 단편은 Fab, Fab', F(ab')2, Fv, scFv 및 sdAb로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.

[0066] 일부 실시형태에서, 본 발명의 항체 또는 항원-결합 단편에서, 상기 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4와 같은 임의의 IgG 서브타입(subtype), 바람직하게는 IgG1 서브타입의 것이다.

[0067] 일부 실시형태에서, 본 발명의 항체 또는 항원-결합 단편에서, 상기 항체는 하기 서열:

[0068] (I) 서열번호 183에 제시된 아미노산 서열을 갖거나 이와 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 중쇄, 및 서열번호 186에 제시된 아미노산 서열을 갖거나 이와 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 경쇄; 또는

[0069] (II) 서열번호 184에 제시된 아미노산 서열을 갖거나 이와 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 중쇄, 및 서열번호 187에 제시된 아미노산 서열을 갖거나 이와 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 경쇄; 또는

[0070] (III) 서열번호 185에 제시된 아미노산 서열을 갖거나 이와 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 중쇄, 및 서열번호 188에 제시된 아미노산 서열을 갖거나 이와 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 경쇄

[0071] 을 포함하거나 이들로 이루어진다.

[0072] 일부 실시형태에서, 본 발명의 항체 또는 항원-결합 단편에서, 상기 항체는 하기 서열:

[0073] (I) 서열번호 183에 제시된 아미노산 서열을 갖는 중쇄 및 서열번호 186에 제시된 아미노산 서열을 갖는 경쇄; 또는

[0074] (II) 서열번호 184에 제시된 아미노산 서열을 갖는 중쇄 및 서열번호 187에 제시된 아미노산 서열을 갖는 경쇄; 또는

[0075] (III) 서열번호 185에 제시된 아미노산 서열을 갖는 중쇄 및 서열번호 188에 제시된 아미노산 서열을 갖는 경쇄

[0076] 를 포함하거나 이들로 이루어진다.

[0077] 일부 실시형태에서, 본 발명의 항체 또는 항원-결합 단편에서, 상기 항체는 하기 서열:

[0078] (I) 서열번호 183에 제시된 아미노산 서열과 1, 2 또는 3개의 아미노산 차이를 갖는 중쇄 및 서열번호 186에 제시된 아미노산 서열을 갖는 경쇄; 또는

[0079] (II) 서열번호 184에 제시된 아미노산 서열과 1, 2 또는 3개의 아미노산 차이를 갖는 중쇄 및 서열번호 187에 제시된 아미노산 서열을 갖는 경쇄; 또는

[0080] (III) 서열번호 185에 제시된 아미노산 서열과 1, 2 또는 3개의 아미노산 차이를 갖는 중쇄 및 서열번호 188에 제시된 아미노산 서열을 갖는 경쇄

[0081] 를 포함하거나 이들로 이루어진다.

[0082] 일부 실시형태에서, 본 발명의 항체 또는 이의 항원-결합 단편에서, 상기 항체는 하기 서열:

[0083] (I) 서열번호 191, 서열번호 192 또는 서열번호 193에 제시된 아미노산 서열을 갖는 중쇄 및 서열번호 186에 제

시된 아미노산 서열을 갖는 경쇄; 또는

[0084] (II) 서열번호 194, 서열번호 195 또는 서열번호 196에 제시된 아미노산 서열을 갖는 중쇄 및 서열번호 187에 제시된 아미노산 서열을 갖는 경쇄

[0085] 를 포함하거나 이들로 이루어진다.

[0086] 일부 실시형태에서, 본 발명의 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 마우스 항체, 키메라 항체, 인간화 항체 또는 완전 인간 항체 또는 이의 항원-결합 단편이다.

[0087] 일부 실시형태에서, 본 발명의 항체 또는 이의 항원-결합 단편에서, 상기 항원-결합 단편은 Fab, Fab', F(ab')2, Fv, scFv 및 sdAb이다.

[0088] 일부 실시형태에서, 본 발명의 항체 또는 항원-결합 단편에서, 상기 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4와 같은 임의의 IgG 서브타입, 바람직하게는 IgG1 서브타입의 것이다.

[0089] 또 다른 양태에서, 본 발명은 하기 특성 중 하나 이상을 갖는 단리된 항-BDCA2 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다:

[0090] (1) 본 발명의 항-BDCA2 항체 또는 이의 항원-결합 단편 중 어느 하나와 동일한 에피토프 또는 인간 BDCA2 단백질의 전체 또는 부분적으로 중첩하는 에피토프에 결합하는 것;

[0091] (2) 본 발명의 항-BDCA2 항체 또는 이의 항원-결합 단편 중 어느 하나와 인간 BDCA2 단백질의 에피토프에 대한 결합의 경쟁.

[0092] 또 다른 양태에서, 본 발명은 하기 특성 중 하나 이상을 갖는 단리된 항-BDCA2 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다:

[0093] (1) 인간/사이노몰구스 BDCA2 단백질에 높은 친화성으로 결합, 예를 들면, 1.0×10^{-6} M 이하의 KD 값, 5.0×10^{-7} M 이하의 KD 값, 2.5×10^{-7} M 이하의 KD 값, 1.0×10^{-7} M 이하의 KD 값, 5.0×10^{-8} M 이하의 KD 값, 2.5×10^{-8} M 이하의 KD 값, 1.0×10^{-8} M 이하의 KD 값, 5.0×10^{-9} M 이하의 KD 값, 2.5×10^{-9} M 이하의 KD 값, 1.0×10^{-9} M 이하의 KD 값, 5.0×10^{-10} M 이하의 KD 값, 2.5×10^{-10} M 이하의 KD 값, 1.0×10^{-10} M 이하의 KD 값, 1.0×10^{-10} M 이하의 KD 값, 5.0×10^{-10} M 이하의 KD 값을 나타내는 것;

[0094] (2) 인간 PBMC 세포로부터 사이토카인 IFNα의 방출에 대한 CpG-A의 자극을 억제하여, 예를 들면, 표적 세포에 의한 IFNα의 생산이 적어도 10%, 적어도 20%, 적어도 30%, 적어도 40%, 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 감소되도록 하는 것;

[0095] (3) BDCA2와 결합시 세포 표면으로부터 BDCA2의 내재화를 촉진하여, 예를 들면, 세포 표면 상의 BDCA2 분자의 적어도 10%, 적어도 20%, 적어도 30%, 적어도 40%, 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90% 또는 적어도 95%가 내재화되도록 하는 것.

[0096] 일부 실시형태에서, 본 발명의 항체는 모노클로날 항체이다.

[0097] 본 발명은 또한 본원에 기재된 항체 또는 이의 항원-결합 단편의 경쇄 가변 영역 및 중쇄 가변 영역을 포함하는 다중-특이적 항체를 제공한다.

[0098] 본 발명은 또한 본원에 기재된 항체 또는 이의 항원-결합 단편의 경쇄 가변 영역 및 중쇄 가변 영역을 포함하는 일본쇄 항체를 제공한다.

[0099] 본 발명은 또한 치료제 또는 진단제에 접합된 본원에 기재된 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 포함하는 면역접합체(immunoconjugate)를 제공하고, 바람직하게는 상기 치료제 또는 진단제는 항염증 약물 또는 면역억제제이다.

[0100] 추가의 양태에서, 본 발명은 본원에 기재된 항-BDCA2 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 코딩하는 폴리뉴클레오타이드 분자를 제공한다.

[0101] 추가의 양태에서, 본 발명은 본원에 기재된 폴리뉴클레오타이드 분자를 포함하는 발현 벡터(expression vector)를 제공하고, 바람직하게는 상기 벡터는 진핵생물 발현 벡터이다.

[0102] 추가의 양태에서, 본 발명은 본원에 기재된 폴리뉴클레오타이드 분자 또는 본원에 기재된 발현 벡터를 포함하는 숙주 세포를 제공하고, 바람직하게는 상기 숙주 세포는 진핵 세포, 더욱 바람직하게는 포유류 세포이다.

[0103] 또 다른 양태에서, 본 발명은 본원에 기재된 항-BDCA2 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제조하는 방법을 제공하고, 여기서 상기 방법은 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 항체 또는 이의 항원-결합 단편의 발현에 적합한 조건하에 본원에 기재된 숙주 세포에서 발현시키는 단계, 및 발현된 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 숙주 세포로부터 회수하는 단계를 포함한다.

[0104] 추가의 양태에서, 본 발명은 본원에 기재된 항-BDCA2 항체 또는 이의 항원-결합 단편 및 약제학적으로 허용되는 담체 또는 부형제를 포함하는 약제학적 조성물을 제공한다.

[0105] 추가의 양태에서, 본 발명은 하나 이상의 추가 치료제와 함께 본원에 기재된 항체 또는 이의 항원-결합 단편 또는 약제학적 조성물을 포함하는 약제학적 조합을 제공한다.

[0106] 또 다른 양태에서, 본 발명은 대상체(subject)의 면역 세포로부터 사이토카인 IFNα 방출을 억제하는 방법을 제공하고, 상기 방법은 본원에 기재된 항-BDCA2 항체 또는 이의 항원-결합 단편 또는 약제학적 조성물을 대상체의 면역 세포와 접촉시키는 것을 포함하고, 바람직하게는 상기 면역 세포는 CpG-A에 의해 자극된 PBMC 세포이다.

[0107] 또 다른 양태에서, 본 발명은 BDCA2 매개 질환의 치료 및/또는 예방을 위한 의약(medicament)의 제조에서의, 본원에 기재된 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 본원에 기재된 약제학적 조성물 또는 본원에 기재된 약제학적 조합의 용도를 제공하고, 바람직하게는 상기 질환은 염증성 질환이고; 더욱 바람직하게는 상기 염증성 질환은 전신성 홍반성 루푸스(systemic lupus erythematosus), 원반성 루푸스(discoid lupus), 루푸스 신장염(lupus nephritis), 표피성 홍반성 루푸스(epidermal lupus erythematosus), 류마티스 관절염(rheumatoid arthritis), 염증성 장 질환(inflammatory bowel disease), 전신 경화증(systemic sclerosis)(경피증(scleroderma)), 건선(psoriasis), 제1형 당뇨병(type I diabetes), 피부근염(dermatomyositis) 및 다발근염(polymyositis)으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.

[0108] 또 다른 양태에서, 본 발명은 BDCA2 매개 질환의 치료 및/또는 예방에 사용하기 위한 본원에 기재된 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 본원에 기재된 약제학적 조성물 또는 본원에 기재된 약제학적 조합을 제공하고, 바람직하게는 상기 질환은 염증성 질환이고; 더욱 바람직하게는, 상기 염증성 질환은 전신성 홍반성 루푸스, 원반성 루푸스, 표피성 홍반성 루푸스, 루푸스 신장염, 류마티스 관절염, 염증성 장 질환, 전신 경화증(경피증), 건선, 제1형 당뇨병, 피부근염 및 다발근염으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.

[0109] 또 다른 양태에서, 본 발명은 본원에 기재된 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 본원에 기재된 약제학적 조성물 또는 본원에 기재된 약제학적 조합의 치료학적 또는 예방학적 유효량을 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, BDCA2-매개 질환 또는 장애를 치료 및/또는 예방하는 방법을 제공하고, 바람직하게는 상기 질환은 염증성 질환이고; 더욱 바람직하게는 상기 염증성 질환은 전신성 홍반성 루푸스, 원반성 루푸스, 루푸스 신장염, 표피성 홍반성 루푸스, 류마티스 관절염, 염증성 장 질환, 전신 경화증(경피증), 건선, 제1형 당뇨병, 피부근염 및 다발근염으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.

[0110] 추가의 양태에서, 본 발명은, 본원에 기재된 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 본원에 기재된 약제학적 조성물 또는 본원에 기재된 약제학적 조합을 포함하고 바람직하게는 투여 장치를 추가로 포함하는 키트(kit)를 제공한다.

[0111] 또 다른 양태에서, 본 발명은 본원에 기재된 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 또는 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 함유하는 검출 조성물을 사용하여 샘플 중의 BDCA2의 존재를 검출하는 방법을 제공한다.

도면의 간단한 설명

[0112] 도 1은 인간 BDCA2 분자를 발현하는 인간 CHOK1-hBDCA2 안정적으로 감염된 세포에 대한 하이브리도마 항체의 결합을 검출하는 FACS 검정의 결과를 나타낸다. 패널 a-e는 범례에 제시된 바와 같이 각각 상이한 하이브리도마로부터의 항체를 나타낸다.

도 2는 사이노몰구스 BDCA2 분자를 발현하는 안정적으로 감염된 세포 293F-사이노BDCA2에 대한 하이브리도마 항체의 결합을 검출하는 FACS 검정의 결과를 나타낸다. 패널 a-e는 범례에 제시된 바와 같이 각각 상이한 하이브리도마로부터의 항체를 나타낸다.

도 3은 FACS를 통해 검출된 인간 CHOK1-hBDCA2 세포에 대한 항-BDCA2 키메라 항체의 결합 검정의 결과를 나타낸

다. 패널 a 내지 c는 범례에 제시된 바와 같이 각각 상이한 키메라 항체의 결과를 나타낸다.

도 4는 인간화 항체의 내재화 능력의 검출을 나타낸다. 패널 a는 hu005 그룹에서 100nM 농도의 인간화 항체의 결과이다. 패널 b는 hu005 그룹에서 10nM 농도의 인간화 항체의 결과이다. 패널 c는 hu033 그룹에서 100nM 농도의 인간화 항체의 결과이다. 패널 d는 hu033 그룹에서 10nM 농도의 인간화 항체의 결과이다.

도 5는 FACS 검정을 통해 결정한 세포에 대한 Fc-조작된 항체의 결합 능력을 나타낸다. 패널 a는 CHOK1-인간 hBDCA2 세포에 대한 결합의 검정의 결과이다. 패널 b는 293-사이노 BDCA2 세포에 대한 결합의 검정의 결과이다.

도 6은 Fc-조작된 인간화 항체의 내재화 능력에 대한 FACS 검출을 나타낸다. 패널 a는 100nM 농도에서 결정한 인간화 항체의 MFI를 나타낸다. 패널 b는 10nM 농도에서 결정한 인간화 항체의 MFI를 나타낸다. 패널 c는 1nM 농도에서 결정한 인간화 항체의 MFI를 나타낸다. 패널 d는 100nM 농도에서 결정한 인간화 항체의 표면 신호 백분율을 나타낸다. 패널 e는 10nM 농도에서 결정한 인간화 항체의 표면 신호 백분율을 나타낸다. 패널 f는 1nM 농도에서 결정한 인간화 항체의 표면 신호 백분율을 나타낸다.

도 7은 PBMC로부터 SLE-IC-유도된 IFNα 분비의 Fc-조작된 인간화 항체 매개된 억제를 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0113] 정의

[0114] 본 발명의 실시에는, 달리 명시되지 않는 한, 당해 기술범위에 속하는 분자생물학(재조합 기술 포함), 미생물학, 세포생물학, 생화학 및 면역학의 종래의 기술이 사용될 것이다.

[0115] 본 발명을 보다 용이하게 이해할 수 있도록, 특정 기술 및 과학 용어가 하기에 구체적으로 정의되어 있다. 본원에 사용된 기술 및 과학 용어 또는 표현은, 본원의 다른 장소에서 달리 명시적으로 정의되지 않는 한, 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 기술자에게 일반적으로 이해되는 의미를 갖는다. 전문가는 당해 기술분야의 정의 및 용어와 관련하여 적어도 부분적으로는 분자생물학의 최신 프로토콜(Current Protocols in Molecular Biology(Ausubel))을 구체적으로 참조할 수 있다. 아미노산 잔기의 약어는 일반적으로 사용되는 20개의 L-아미노산 중 하나를 지칭하기 위해 당해 기술분야에서 사용되는 표준 3-문자 및/또는 1-문자 코드에 따른다. 특허청구범위를 포함하여 본원에서 사용된 단수 형태는, 문맥에서 달리 명시되지 않는 한, 이의 상응하는 복수 형태를 포함한다.

[0116] "약"이라는 용어는, 수치와 함께 사용되는 경우, 이러한 변동이 개시된 방법을 수행하기에 적절하기 때문에, 지정된 수치보다 5% 작은 하한과 지정된 수치보다 5% 큰 상한을 갖는 범위 내의 수치를 포함하는 것을 의미하고, 이들로 제한되지 않지만, ± 5%, ± 2%, ± 1%, ± 0.1%를 포함한다.

[0117] "및/또는"이라는 용어는 대안 중 1개 또는 2개 이상의 대안의 조합을 의미하는 것으로 이해해야 한다.

[0118] 본원에서 사용되는 바와 같이, "또는"이라는 용어는 상기 정의된 "및/또는"과 동일한 의미를 갖는 것으로 이해해야 한다. 예를 들면, "또는" 또는 "및/또는"은 목록 내의 항목을 구분할 때에 포괄적인 것으로 해석되어야 하고, 즉 요소의 숫자 또는 목록 중 적어도 하나뿐만 아니라, 요소의 숫자 또는 목록 중 하나 이상 및 임의로 추가 비열거된 항목을 포함한다. 특허청구범위에 사용된 "단지 하나" 또는 "정확히 하나" 또는 "이루어진"과 같이 반대되는 것으로 명확하게 표시된 용어만이 목록 내의 1개의 숫자 또는 1개의 요소를 지칭한다.

[0119] 본원에서 사용된 "a" 및 "an"이라는 단어는, 문맥상 반대되는 것으로 명확하게 표시되지 않는 한, "적어도 하나"를 의미하는 것으로 이해해야 한다.

[0120] 본원에서 "BDCA2"라는 용어는 pDC 상에 특이적으로 발현되는 II형 및 C형 렉틴 BDCA2이고, 이는 C-말단의 단일 세포외 탄수화물 인식 도메인(CRD), 위치 45의 아스파라긴 잔기로부터 위치 213의 이소류신 잔기에 이르는 막관통 영역, 및 N-말단의 짧은 세포질 테일(신호 모티프 없음)로 이루어진다. BDCA2는 관련 막관통 어댑터인 FcεRIγ를 통해 세포내 신호를 전달한다. BDCA2의 항체-매개 결합은 FcRI의 인산화 면역수용체 티로신-기반 활성화 모티브(ITAM)로 비장 티로신 키나제(SYK)의 동원을 초래한다. SYK의 활성화는 B 세포 링커(BLNK), 브루톤 티로신 키나제(BTK) 및 포스포리파제 C2(PLC2)의 활성화를 초래하고, 이에 의해 Ca^{2+}의 동원을 초래한다.

[0121] "BDCA2"라는 용어에는 인간 BDCA2의 변이체, 아이소폼, 종 상동체 또는 다른 종의 BDCA2, 및 BDCA2의 적어도 하나의 공통 에피토프를 갖는 유사체가 포함된다. 이 용어는, 달리 명시되지 않는 한, 무처리 전장 BDCA2 뿐만

아니라 세포에서의 처리로부터 발생하는 임의 형태의 BDCA2를 포함한다. 이 용어는 "전장", 무처리 BDCA2뿐만 아니라 세포에서의 처리로부터 발생하는 임의 형태의 BDCA2 또는 이의 임의의 단편(예: 스플라이스 변이체 또는 대립유전자 변이체)을 포함한다. 일 실시형태에서, BDCA2는 인간 또는 사이노몰구스 원숭이 BDCA2의 전장 또는 이의 단편(예를 들면, 신호 펩타이드를 결여하는 이의 성숙 단편)을 지칭한다.

[0122] "면역 반응"이라는 용어는, 예를 들면, 림프구, 항원-제시 세포, 식세포, 과립구 및 상기 언급한 세포 또는 간에 의한 항체, 사이토카인 및 보체를 포함한 가용성 거대분자의 생산의 효과를 지칭하며, 이러한 효과는, 자가면역 또는 병적 염증의 경우, 침입 병원체, 병원체에 감염된 세포 또는 조직, 암 세포 또는 정상 인간 세포 또는 조직의 인체로부터의 선택적 손상, 파괴 또는 제거를 초래한다.

[0123] "인간 형질세포양 수지상 세포(pDC)"라는 용어는 톨-유사 수용체(TLR) 리간드에 반응하여 I형 인터페론(IFN)을 분비하는 골수-유래 세포의 특수한 모집단이다. PDC는 면역 반응의 유도 및 프라이밍과 항원 내성에 관여하는 세포 면역의 중요한 연결 고리이다. PDC는 통상의 DC와는 상이하고, 예를 들면, 이들은 수용체-매개 내재화 등을 통해 항원을 획득한다. 패턴 인식 수용체에 의해 활성화된 pDC에 의해 생산된 I형 인터페론도 항원을 제시할 수 있고, 이에 의해 선천성 면역 반응과 후천성 면역 반응을 연결할 수 있다. 동시에, pDC의 과잉-활성화(over-activation)는, 예를 들면, 자가면역 질환을 유발할 수 있는 면역 반응 프로세스에 부정적 영향을 미칠 수도 있다.

[0124] "신호 전달 경로" 또는 "신호 전달 활동"이라는 용어는 전형적으로 수용체에 대한 성장 인자의 결합과 같은 단백질-단백질 상호작용에 의해 개시되는 생화학적 인과 관계를 지칭하고, 이 관계에 의해 신호는 세포의 한 부분으로부터 또 다른 부분으로 전달된다. 일반적으로, 전달에는 신호 전달을 초래하는 일련의 반응에서 하나 이상의 단백질 상의 하나 이상의 티로신, 세린 또는 트레오닌 잔기의 특이적 인산화가 포함된다. 최후로부터 2번째 프로세스에는 전형적으로 핵 이벤트가 포함되고, 이에 의해 유전자 발현에서의 변화를 초래한다.

[0125] "활성" 또는 "생물학적 활성"이라는 용어, 또는 "생물학적 특성" 또는 "생물학적 특징"이라는 용어는 본원에서 호환적으로 사용되며, 여기에는 에피토프/항원 친화성 및 특이성, 생체내 또는 시험관내에서 BDCA2 활성을 중화 또는 길항하는 능력, IC_{50}, 항체의 생체내 안정성 및 항체의 면역원성 특성을 포함하지만 이들로 제한되지 않는다. 당해 기술분야에 널리 공지된 항체의 다른 식별 가능한 생물학적 특성 또는 특징으로는, 예를 들면, 교차반응성(즉, 일반적으로 표적 펩타이드의 비인간 동족체 또는 다른 단백질 또는 조직과의 교차-반응성) 및 포유류 세포에서 단백질의 높은 발현 수준을 유지하는 능력이 포함된다. 전술한 특성 또는 특징은 당해 기술분야에 널리 공지된 기술을 사용하여 관찰, 결정 또는 평가되며, 이러한 기술에는 ELISA, FACS 또는 BIACORE 플라즈몬 공명 검정, 비제한된 시험관내 또는 생체내 중화 검정, 수용체 결합, 사이토카인 또는 성장 인자의 생산 및/또는 분비, 신호 전달 및 인간, 영장류 또는 기타 기원을 포함하는 상이한 기원의 조직 절편의 면역조직화학이 포함되지만 이들로 제한되지 않는다.

[0126] "항체"라는 용어는 목적하는 생물학적 활성을 갖는 임의 형태의 항체를 지칭한다. 따라서, 이는 가장 넓은 의미로 사용되며, 특히 모노클로날 항체(전장 모노클로날 항체 포함), 폴리클로날 항체, 다중특이적 항체(예: 이중특이적 항체), 인간화 항체, 완전 인간 항체, 키메라 항체 및 카멜화 단일 도메인 항체를 포함하지만 이들로 제한되지 않는다.

[0127] "단리된 항체"라는 용어는 결합 화합물의 정제 상태(state)를 지칭하며, 이 경우, 이 분자가 다른 생체분자, 예를 들면, 핵산, 단백질, 지질, 당 또는 세포 파편 및 성장 배지와 같은 기타 물질을 실질적으로 포함하지 않는 것을 의미한다. "단리된"이라는 용어는, 본원에 기재된 결합 화합물의 실험적 또는 치료적 사용을 현저히 방해할 정도의 양으로 존재하지 않는 한, 이러한 물질이 완전히 없거나 물, 완충액 또는 염이 없는 것을 의미하는 것은 아니다.

[0128] "모노클로날 항체"라는 용어는 실질적으로 균질한 항체 모집단으로부터 수득된 항체, 즉 모집단을 구성하는 개별 항체가 소량 존재할 수 있는 자연 발생 돌연변이를 제외하고는 동일한 항체를 지칭한다. 모노클로날 항체는 매우 특이적인 반면, 종래(폴리클로날) 항체 조제물은 전형적으로 상이한 에피토프에 대한(또는 이에 특이적인) 대량의 항체를 포함한다. "모노클로날"이라는 수식어는 실질적으로 균질한 항체 모집단으로부터 수득된 항체의 특성을 나타내며, 임의의 특정 방법에 의한 항체의 생산을 필요로 하는 것으로 해석되어서는 안 된다.

[0129] "전장 항체"라는 용어는 자연 발생하는 경우 적어도 4개의 펩타이드 쇄를 포함하는 면역글로불린 분자를 지칭하며, 2개의 중(H)쇄와 2개의 경(L)쇄가 디설파이드 결합에 의해 상호 연결되어 있다. 각 중쇄는 중쇄 가변 영역(본원에서 VH로 약칭)과 중쇄 불변 영역(본원에서 CH로 약칭)으로 구성된다. 중쇄 불변 영역은 CH1, CH2, CH3

의 3개 영역으로 구성된다. 각 경쇄는 경쇄 가변 영역(본원에서 VL로 약칭)과 경쇄 불변 영역으로 구성된다. 경쇄 불변 영역은 1개의 도메인 CL으로 구성된다. VH 및 VL 영역은 초가변성을 갖는 상보성 결정 영역(CDR)과, 프레임워크 영역(FR)으로 불리우는 보존성이 더 높은 간격을 둔 영역으로 추가로 세분화될 수 있다. 각 VH 또는 VL 영역은 아미노 말단으로부터 카복실 말단까지 하기의 순서로 3개의 CDR과 4개의 FR로 구성된다: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. 중쇄 및 경쇄의 가변 영역에는 항원과 상호작용하는 결합 도메인이 함유되어 있다. 항체의 불변 영역은 면역 글로불린과, 면역계의 다양한 세포(예: 이펙터 세포) 및 고전적 보체 시스템의 제1 구성성분(C1q)을 포함하는 숙주 조직 또는 인자와의 결합을 매개할 수 있다.

[0130] 항체("모 항체")의 "항원-결합 단편"이라는 용어에는 모 항체의 적어도 일부 결합 특이성을 유지하는 항체의 단편 또는 유도체가 포함된다. 항체의 결합 단편의 예로는, 당해 기술분야에 공지된 바와 같이, Fab, Fab', $F(ab')_2$ 및 Fv 단편; 디아바디; 선형 항체; 일본쇄 항체 분자(예: sc-Fv); 나노바디 및 항체 단편으로부터 형성된 다중특이적 항체 등이 포함되지만 이들로 제한되지 않는다. 본 발명의 일부 바람직한 실시형태에서, 본 발명의 항원-결합 단편은 Fab, Fab', $F(ab')_2$ 및 Fv 단편; 디아바디; 선형 항체; 일본쇄 항체 분자, 예를 들면, sc-Fv; 나노바디 및 항체 단편으로부터 형성된 다중특이적 항체로 이루어진 그룹으로부터 선택된다. 결합 단편 또는 유도체는, 항원의 결합 활성이 몰 농도 기준으로 발현되는 경우, 전형적으로 이의 항원 결합 활성의 적어도 10%를 유지한다. 바람직하게는, 결합 단편 또는 유도체는 모 항체의 항원 결합 친화성의 적어도 20%, 50%, 70%, 80%, 90%, 95% 또는 100% 이상을 유지한다. 또한, 항체의 항원-결합 단편은 생물학적 활성을 현저히 변경시키지 않는 보존적 또는 비보존적 아미노산 치환(항체의 "보존적 변이체" 또는 "기능 보존적 변이체"로 지칭)을 포함할 수 있다는 것도 고려된다. "결합 화합물"이라는 용어는 항체와 이의 결합 단편을 모두 지칭한다.

[0131] "일본쇄 Fv" 또는 "scFv" 항체라는 용어는 항체의 VH 및 VL 도메인을 포함하는 항체 단편을 지칭하고, 이러한 도메인은 단일 폴리펩타이드 쇄에 존재한다. Fv 폴리펩타이드는 일반적으로 scFv가 항원 결합을 위해 목적하는 구조를 형성할 수 있도록 하는 VH 도메인과 VL 도메인 사이에 폴리펩타이드 링커를 추가로 포함한다.

[0132] "도메인 항체"라는 용어는 중쇄 또는 경쇄 가변 영역만을 함유하는 면역학적으로 기능하는 면역글로불린 단편이다. 특정 경우, 2개 이상의 VH 영역이 펩타이드 링커에 공유 결합되어 2가 도메인 항체를 형성한다. 2가 도메인 항체의 2개 VH 영역은 동일하거나 상이한 항원을 표적으로 할 수 있다.

[0133] "2가 항체"라는 용어는 2개의 항원 결합 부위를 포함한다. 특정 경우에, 양쪽 결합 부위가 동일한 항원 특이성을 갖는다. 그러나, 2가 항체는 이중특이적일 수 있다.

[0134] "디아바디"라는 용어는 2개의 항원-결합 부위를 갖는 작은 항체 단편을 지칭하며, 이 단편은 동일한 폴리펩타이드 쇄(VH-VL 또는 VL-VH)에서 경쇄 가변 도메인(VL)에 연결된 중쇄 가변 도메인(VH)을 포함한다. 이 도메인은 동일한 쇄의 2개 도메인 사이에 쌍을 형성할 수 있도록 짧지 않은 링커를 사용하여 또 다른 쇄의 상보적 도메인과 강제로 쌍을 이루고, 2개의 항원 결합 부위를 생성한다.

[0135] 본 개시에서 "마우스 항체" 또는 "하이브리도마 항체"라는 용어는 당해 기술분야의 지식 및 기술에 따라 제조된 BDCA2에 대한 모노클로날 항체이다. 시험 대상체에는 제조시에 BDCA2 항원이 주사되었고, 목적하는 서열 또는 기능적 특성을 갖는 항체를 발현하는 하이브리도마가 단리되었다. 하이브리도마 기술은 양쪽 세포의 주요 특징을 유지하면서 2개 유형의 세포를 융합함으로써 수행된다. 이 2개 유형의 세포는 각각 항원-면역화된 마우스 비장 세포 및 마우스 골수종 세포이다. 특정 항원으로 면역화된 마우스 비장세포(B 림프구)의 주요 특징은 이의 항체 분비 기능이지만, 시험관내에서 연속적 배양은 아니며, 마우스 골수종 세포는 배양 조건하에서 무한 분열 및 증식할 수 있고, 즉 소위 불사멸성을 가질 수 있다. B 세포가 골수종 세포와 융합된 하이브리드 세포만이 선택 배지의 작용하에 배양을 계속할 수 있는 능력을 갖고, 항체 분비 및 세포 불사멸성의 보존을 특징으로 하는 세포 클론을 생성할 수 있다. 일부 실시형태에서, 본 발명은 마우스를 BDCA2 단백질로 면역화시키고, 이어서 마우스의 비장 세포와 골수종 세포를 융합함으로써 양성 항체를 발현할 수 있는 하이브리도마 세포를 수득한다.

[0136] "키메라 항체"라는 용어는 제1 항체의 가변 도메인 및 제2 항체의 불변 도메인을 갖는 항체이고, 상기 제1 항체 및 제2 항체는 상이한 종으로부터 유래한다. 전형적으로, 가변 도메인은 설치류 등의 항체("모 항체")로부터 수득되는 반면, 불변 도메인 서열은 인간 항체로부터 수득되므로, 수득된 키메라 항체는 모 설치류 항체와 비교하여 인간 대상체에서 유해한 면역 반응을 유발할 가능성이 적다. 본 발명의 일부 실시형태에서, 설치류는 마우스 또는 랫트이다. 본 발명의 일부 바람직한 실시형태에서, 항원에 대한 키메라 항체의 친화성은 모 마우스 항체보다 낮지 않거나 거의 낮지 않다.

[0137] "인간화 항체"라는 용어는 인간 및 비인간(예: 마우스, 랫트) 항체로부터의 서열을 모두 함유하는 항체 형태를 지칭한다. 일반적으로, 인간화 항체는 적어도 1개 및 실질적으로 2개의 가변 도메인을 포함하며, 여기서 초가변 루프의 전부 또는 실질적으로 전부는 비인간 면역글로불린의 루프에 상응하고, 프레임워크(FR) 영역의 전부 또는 실질적으로 전부는 인간 면역글로불린 서열의 영역에 상응한다. 인간화 항체는 임의로 인간 면역글로불린 불변 영역(Fc)의 적어도 일부를 포함할 수 있다.

[0138] "완전 인간 항체"라는 용어는 인간 면역글로불린 단백질 서열만을 함유하는 항체를 지칭한다. 완전 인간 항체는 마우스, 마우스 세포 또는 마우스 세포로부터 유래한 하이브리도마에서 생산된 마우스 탄수화물 쇄를 함유할 수 있다. 마찬가지로, "마우스 항체"는 마우스 면역글로불린 서열만을 함유하는 항체를 지칭한다. 대안적으로, 랫트, 랫트 세포 또는 랫트 세포로부터 유래한 하이브리도마에서 생산된 경우, 완전 인간 항체는 랫트 탄수화물 쇄를 포함할 수 있다. 마찬가지로, "랫트 항체"는 랫트 면역글로불린 서열만을 함유하는 항체를 지칭한다.

[0139] "아이소타입" 항체는 중쇄 불변 영역 유전자(예: IgM, IgE, IgG, 예컨대, IgG1, IgG2 또는 IgG4)에 의해 제공되는 항체의 부류를 지칭한다. 아이소타입에는 이러한 부류 중 하나의 변형된 버전도 포함되며, 여기서 Fc 기능을 변경하기 위해, 예를 들면, 이펙터 기능 또는 Fc 수용체에 대한 결합을 증강 또는 감소시키기 위해 변형이 수행된다.

[0140] 본원에서 "Fc 영역"이라는 용어는 불변 영역의 적어도 일부를 함유하는 면역글로불린 중쇄의 C-말단 영역을 정의하기 위해 사용된다. 이 용어는 천연 서열 Fc 영역 및 변이체 Fc 영역을 포함한다. 일부 실시형태에서, 인간 IgG 중쇄 Fc 영역은 Cys226 또는 Pro230으로부터 중쇄의 카복실 말단까지 연장된다. 그러나, Fc 영역의 C-말단 라이신(Lys447)은 존재하거나 존재하지 않을 수 있다(이 단락의 넘버링은, 문헌[참조: Rabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991]에 기재된 바와 같이, EU 넘버링 시스템에 따르고, EU 색인이라고도 함).

[0141] "에피토프"라는 용어는 항체에 특이적으로 결합할 수 있는 단백질 결정인자를 지칭한다. 에피토프는 일반적으로 아미노산 또는 당 측쇄와 같은 다양한 화학적 활성 표면 분자로 구성되고, 일반적으로 특정 3차원 구조적 특성과 특정 전하 특성을 갖고 있다. 입체구조 에피토프 및 비-입체구조 에피토프는, 변성 용매의 존재하에 전자의 결합은 손실되지만 후자의 결합은 손실되지 않는다는 점에서 구별된다.

[0142] 본원에 기재된 바와 같이 "교차 반응"이라는 용어는 인간, 원숭이 및/또는 마우스 기원(마우스 또는 랫트)의 동일한 표적 분자의 항원 단편에 대한 결합을 지칭한다. "교차 반응"은 항원 결합 분자(예: 항체)와 상이한 종에서 발현되는 동족 분자(예: BDCA2)의 종간 반응으로서 이해해야 한다. 인간 BDCA2, 원숭이 및/또는 마우스 BDCA2(마우스 또는 랫트)를 인식하는 모노클로날 항체의 교차 반응의 특이성은 FACS 분석에 의해 결정될 수 있다.

[0143] "친화성" 또는 "결합 친화성"은 결합 쌍의 구성원 사이의 상호작용을 반영하는 고유한 결합 친화성을 지칭한다. 분자 X와 이의 파트너 Y의 친화성은 일반적으로 평형 해리 상수(K_D)로 나타낼 수 있으며, 평형 해리 상수는 해리 및 결합 속도 상수의 비율이다(각각 k_{dis} 및 k_{on}). 친화성은 당해 기술분야에 공지된 일반적 방법에 의해 측정할 수 있다. 본 발명의 일부 실시형태에서, 친화성, 예를 들면, 본 발명의 항체와 항원 사이의 친화성은 표면 플라즈몬 공명(SPR) 기술을 사용하여 측정한다. 본 발명의 일부 바람직한 실시형태에서, 친화성을 측정하기 위한 1개의 특정 방법은 본원의 BIAcore 방법이다.

[0144] 단백질 또는 세포에 "결합하지 않는"이라는 용어는 단백질 또는 세포에 결합하지 않거나 높은 친화성으로 결합하지 않는 것, 즉 단백질 또는 세포에 1.0×10^{-6} M 이상, 더욱 바람직하게는 1.0×10^{-5} M 이상, 더욱 바람직하게는 1.0×10^{-4} M 이상, 1.0×10^{-3} M 이상, 더욱 바람직하게는 1.0×10^{-2} M 이상의 K_D로 결합하는 것을 지칭한다.

[0145] IgG 항체에 대한 "높은 친화성"이라는 용어는 1.0×10^{-6} M 이하, 바람직하게는 5.0×10^{-8} M 이하, 더욱 바람직하게는 1.0×10^{-8} M 이하, 5.0×10^{-9} M 이하, 더욱 바람직하게는 1.0×10^{-9} M 이하의 항원에 대한 K_D를 지칭한다. 다른 항체 아이소폼의 경우, "높은 친화성" 결합은 상이할 수 있다. 예를 들면, IgM 아이소폼에 대한 "높은 친화성" 결합은 10^{-6} M 이하, 바람직하게는 10^{-7} M 이하, 더욱 바람직하게는 10^{-8} M 이하의 K_D를 지칭한다.

[0146] "항체-의존성 세포독성", "항체-의존성 세포-매개 세포독성" 또는 "ADCC"라는 용어는 세포막 표면 항원이 항체

와 결합하는 표적 세포를 면역계 이펙터 세포가 능동적으로 용해하는 세포-매개 면역 방어를 지칭한다.

[0147] "보체 의존성 세포독성" 또는 "CDC"라는 용어는, 막 공격 복합체 형성 및 표적 세포의 용해를 포함하여, 표면 항원에 결합할 때에 고전적 보체 경로를 유도하는 IgG 및 IgM 항체의 이펙터 기능을 지칭한다.

[0148] "핵산", "폴리뉴클레오타이드", "핵산 분자" 및 "폴리뉴클레오타이드 분자"라는 용어는 본원에서 (문맥에서 달리 명시되지 않는 한) 호환적으로 사용되며, 단일- 또는 이중-가닥 형태의 데옥시리보핵산(DNA) 또는 리보핵산(RNA) 및 이들의 폴리머를 지칭한다. 명시적으로 제한되지 않는 한, 이 용어는 참조 핵산과 유사한 결합 특성을 갖고 천연 발생 뉴클레오타이드와 유사한 방식으로 대사되는 천연 뉴클레오타이드의 공지된 유사체를 함유하는 핵산을 포함한다(우리딘이 슈도우리딘으로 대체된 mRNA 분자, 상기 mRNA 분자를 합성하는 방법 및 생체내에서 치료 단백질을 전달하기 위한 방법을 개시하는, 카리코(Kariko) 등의 미국 특허 제8,278,036호 참조). 또한, 특정 핵산 서열은, 달리 명시되지 않는 한, 명시적으로 표시된 서열뿐만 아니라, 보존적으로 변형된 이의 변이체(예: 축퇴 코돈 치환), 대립유전자, 오르톨로그(ortholog), SNP 및 상보적 서열을 암묵적으로 포함한다. 특히, 축퇴 코돈 치환은 하나 이상의 선택된(또는 모든) 코돈의 3번째 위치가 혼합-염기 및/또는 데옥시이노신 잔기로 치환되는 서열을 생성함으로써 달성될 수 있다[참조: Batzer et al., Nucleic Acid Res. 19: 5081 (1991); 260: 2605-2608 (1985); and Rossolini et al. Cell. Probes 8: 91-98(1994)].

[0149] "작제물(construct)"이란 임의의 재조합 폴리뉴클레오타이드 분자(플라스미드, 코스미드, 바이러스, 자율 복제 폴리뉴클레오타이드 분자, 박테리오파지, 또는 선형 또는 환상 단일-가닥 또는 이중-가닥 DNA 또는 RNA 폴리뉴클레오타이드 분자 등)를 지칭하고, 이는 임의의 공급원으로부터 유래하고, 기능적으로 작동하는 방식으로 연결된(즉, 작동 가능하게 연결됨(operably linked)) 하나 이상의 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 게놈과 통합하거나 자율적으로 복제할 수 있다. 본 발명의 일부 바람직한 실시형태에서, 재조합 작제물은 숙주 세포에서 본 발명의 폴리뉴클레오타이드의 전사를 유도 및/또는 지시하는 전사 개시 조절 서열에 작동 가능하게 연결된 본 발명의 폴리뉴클레오타이드를 포함한다. 이종 및 비-이종(즉, 내인성) 프로모터는 모두 본 발명의 폴리뉴클레오타이드의 발현을 유도 및/또는 지시하기 위해 사용될 수 있다.

[0150] "벡터"는 임의의 재조합 폴리뉴클레오타이드 작제물을 지칭하고, 이 작제물은 형질전환의 목적(즉, 이종 DNA를 숙주 세포에 도입하기 위해)을 위해 사용될 수 있다. 벡터의 1개 유형은 "플라스미드"이고, 환상 이중-가닥 DNA 루프를 지칭하며, 추가 DNA 세그먼트가 이 루프에 연결될 수 있다. 또 다른 유형의 벡터는 바이러스 벡터이고, 여기서 추가 DNA 세그먼트는 바이러스 게놈에 연결될 수 있다. 특정 벡터는 이들이 도입된 숙주 세포에서 자율적으로 복제할 수 있다(예: 박테리아 복제 기원을 갖는 박테리아 벡터 및 에피좀 포유류 벡터). 다른 벡터(예: 비-에피좀 포유류 벡터)는 숙주 세포에 도입되면 숙주 세포의 게놈에 통합되고, 따라서 숙주 게놈과 함께 복제된다. 또한, 특정 벡터는 조작 가능하게 연결된 유전자의 발현을 지시할 수 있다. 이러한 벡터를 본원에서 "발현 벡터"라고 지칭한다.

[0151] 본원에서 사용되는 "발현 벡터"라는 용어는 숙주 세포로 형질전환, 형질감염 또는 형질도입될 때에 관심 유전자를 복제 및 발현할 수 있는 핵산 분자를 지칭한다. 발현 벡터는, 벡터의 유지를 보장하고 필요에 따라 숙주에서 증폭을 제공하기 위해, 하나 이상의 표현형 선택가능한 마커 및 복제 기원을 포함한다. 본 발명의 바람직한 실시형태에서, 본 발명의 발현 벡터는 본 발명의 작제물 및/또는 본 발명의 폴리뉴클레오타이드를 포함한다.

[0152] 세포 또는 수용체에 대한 "활성화", "자극" 및 "처리"의 작동은, 문맥에서 달리 또는 명확하게 지시하지 않는 한, 동일한 의미를 가질 수 있다(예: 세포 또는 수용체는 리간드에 의해 활성화, 자극 또는 처리됨). "리간드"에는 천연 및 합성 리간드, 예를 들면, 사이토카인, 사이토카인 변이체, 유사체, 뮤테인 및 항체-유래 결합 화합물이 포함된다. "리간드"에는 또한 소분자, 예를 들면, 사이토카인의 펩티도모방물 및 항체의 펩티도모방물이 포함된다. "활성화"는 외부 또는 환경적 요인뿐만 아니라 내부 메커니즘에 의해 조절되는 세포의 활성화를 지칭할 수 있다. "응답/반응"은, 예를 들면, 생화학적 또는 생리학적 거동(예: 생물학적 구획내 농도, 밀도, 부착 또는 유주, 유전자 발현 속도 또는 분화 상태)의 변화를 포함하는 세포, 조직, 기관 또는 생물의 반응을 지칭하고, 여기서 변화는 활성화, 자극 또는 치료와 관련되어 있거나, 유전자 프로그래밍과 같은 내부 메커니즘과 관련되어 있다.

[0153] 본원에서 사용되는 바와 같이, "BDCA2-매개 질환"이라는 용어는 발병, 진행 또는 유주 과정에서 BDCA2의 관여가 있고, 예를 들면, 활성화(예를 들면, 비정상적 활성화 또는 과도한 활성화), 및 BDCA2의 관여가 직접 또는 간접적으로 하기 효과 중 적어도 하나를 초래하는 질환을 지칭한다: 질환의 개시/발생; 질환의 병리학적 변화의 증가/악화; 질환 영향의 부위/범위의 확장; 질환으로 인한 신체 손상의 악화; 질환에 의한 고통의 증가; 질환에 대한 무감수성/치료 수단에 대한 내성; 질환의 자가-치유력의 저하 및 질환의 예후 악화. 본 발명의 일부 실시

형태에서, BDCA2-매개 질환은 염증성 질환이고; 본 발명의 일부 특정 실시형태에서, BDCA2-매개 질환은 전신성 홍반성 루푸스, 원반성 루푸스, 루푸스 신장염, 표피성 홍반성 루푸스, 류마티스 관절염, 염증성 장 질환, 전신 경화증(경피증), 건선, 제1형 당뇨병, 피부근염 및/또는 다발근염이다.

[0154] 본원에서 사용되는 바와 같이, 질환 또는 장애의 "치료" 또는 "치료"라는 용어는, 일 실시형태에서, 질환 또는 장애를 개선하는 것(즉, 질환 또는 이의 임상 증상 중 적어도 하나의 진행을 지연시키거나 중지 또는 감소시키는 것)을 지칭한다. 또 다른 실시형태에서, "치료" 또는 "치료"는 환자에 의해 식별될 수 없는 물리적 파라미터를 포함하여 적어도 하나의 물리적 파라미터를 경감 또는 개선하는 것을 지칭한다. 또 다른 실시형태에서, "치료" 또는 "치료"는 신체적(예: 식별 가능한 증상의 안정화), 생리적(예: 신체적 파라미터의 안정화) 또는 양쪽 모두에서 질환 또는 장애를 조절하는 것을 지칭한다. 질환의 치료 및/또는 예방을 평가하는 방법은, 본원에서 구체적으로 기재되지 않는 한, 일반적으로 당해 기술분야에 공지되어 있다.

[0155] "대상체"는 임의의 인간 또는 비-인간 동물을 포함한다. "비-인간 동물"이라는 용어에는 모든 척추동물, 예를 들면, 비-인간 영장류, 양, 개, 고양이, 말, 소, 닭, 양서류, 파충류 등의 포유류 및 비-포유류가 포함된다. 본원에서 사용되는 바와 같이, "사이노(cyno)" 또는 "사이노몰구스 원숭이"라는 용어는 사이노몰구스 원숭이 또는 사이노몰구스 원숭이로부터 유래하는 것을 지칭한다.

[0156] 하나 이상의 추가 치료제와 "조합"하는 투여에는 동시(공) 투여 및 임의 순서로 연속 투여가 포함된다.

[0157] "치료학적 유효량", "치료학적 유효 용량" 및 "유효량"은, 본 발명의 BDCA2 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 세포, 조직 또는 대상체에게 단독으로 또는 다른 치료제와 조합하여 투여되는 경우에, 질환 또는 병태의 하나 이상의 증상 또는 질환 또는 상태의 발생을 예방 또는 개선하는 데 효과적인 양을 지칭한다. 치료학적 유효 용량은 또한 증상의 개선을 초래하기에 충분한 양의 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 예를 들면, 관련 의학적 병태를 치료, 치유, 예방 또는 개선하기 위한 양 또는 이러한 병태의 치료, 치유, 예방 또는 개선의 속도를 증가시키기 위한 양을 지칭한다. 치료학적 유효 용량은, 활성 성분을 대상체에게 단독으로 투여하는 경우, 그 성분만을 지칭한다. 치료학적 유효 용량은 조합하여, 순차적 또는 동시에 투여된 경우에 치료 효과를 초래하는 활성 성분의 조합된 양을 지칭한다. 치료제의 유효량은 적어도 10%, 일반적으로 적어도 20%, 바람직하게는 적어도 약 30%, 더욱 바람직하게는 적어도 40%, 가장 바람직하게는 적어도 50%의 진단 기준 또는 파라미터의 증가를 초래할 것이다.

[0158] "약제학적으로 허용되는 담체"는 대상체에게 무독성인, 활성 성분을 제외한 약제학적 제형 또는 조성물 중의 성분을 지칭한다. 약제학적으로 허용되는 담체에는 완충제, 부형제, 안정제 또는 보존제가 포함되지만 이들로 제한되지 않는다.

[0159] **항-BDCA2 항체**

[0160] 일 양태에서, 본 발명은 BDCA2에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다. "항-BDCA2 항체", "항-BDCA2", "BDCA2 항체" 또는 "BDCA2에 결합하는 항체"라는 용어는, 항체가 BDCA2를 표적으로 하는 진단제 및/또는 치료제로서 사용될 수 있도록 충분한 결합력으로 BDCA2 단백질 또는 이의 단편에 결합할 수 있는 항체를 지칭한다.

[0161] 일부 실시형태에서, 본 발명의 항체는 인간 또는 사이노몰구스 BDCA2 단백질에 결합한다. 일부 실시형태에서, 본 발명의 항체는 CHOK1-인간BDCA2 세포 또는 293F-사이노BDCA2 세포에 결합한다. 일부 실시형태에서, 본 발명의 항체는 CpG-A를 억제하여 인간 PBMC 세포를 자극하여 사이토카인 IFNα를 방출한다. 일부 실시형태에서, 본 발명의 항체는 더 큰 내재화 능력을 갖는다.

[0162] 항체를 생산하기 위한 임의의 적합한 방법을 사용하여 본 발명의 항체를 생산할 수 있다. 임의의 적합한 형태의 BDCA2는 항체를 생산하기 위한 면역원(항원)으로 사용될 수 있다. 예시적 및 비제한적 예로서, 임의의 BDCA2 변이체 또는 이의 단편이 면역원으로서 사용될 수 있다. 일부 실시형태에서, 마우스 기원의 모노클로날 항-BDCA2 항체를 생산하는 하이브리도마 세포는 당해 기술분야에 널리 공지된 방법에 의해 생산될 수 있다.

[0163] 마우스와 같은 설치류로부터 유래한 항체는 생체내에서 치료제로서 사용되는 경우 항체의 원치 않는 면역원성을 유발할 수 있으며, 반복적으로 사용하면 인체에서 치료용 항체에 대한 면역 반응을 생성하고, 이러한 면역 반응은 적어도 치료 효능의 상실을 초래하며, 심한 경우에는 치명적인 아나필락시스를 초래할 수 있다. 설치류 항체의 면역원성을 감소시키는 한 가지 방법은 키메라 항체의 생성을 포함하고, 여기서 마우스 가변 영역은 인간 불변 영역에 융합된다[참조: Liu et al. (1987) Proc. Natl. Acad. USA 84: 3439-43]. 그러나, 키메라 항체에서 무손상 설치류 가변 영역의 유지는 환자에서 유해한 면역원성을 유발할 수 있다. 설치류 가변 영역의 상보성

결정 영역(CDR) 루프를 인간 프레임워크 상에 그래프팅(grafting)(즉, 인간화)하는 것은 설치류 서열을 추가로 최소화하기 위해 사용되어 왔다[참조: Jones et al. (1986) Nature 321: 522; Verhoeyen et al. (1988) Science 239: 1534]. 일부 실시형태에서, 본 발명의 항체는 키메라 항체이다. 일부 바람직한 실시형태에서, 본 발명의 항체는 인간화 항체이다. 본 발명의 일부 바람직한 실시형태에서, 항원 인간 BDCA2 또는 사이노몰구스 BDCA2에 대한 본 발명의 마우스 항체, 키메라 항체 및/또는 인간-유래 항체의 친화성은 1.0×10^{-6} M 이하의 K_D 값, 5.0×10^{-7} M 이하의 K_D 값, 2.5×10^{-7} M 이하의 K_D 값, 1.0×10^{-7} M 이하의 K_D 값, 5.0×10^{-8} M 이하의 K_D 값, 2.5×10^{-8} M 이하의 K_D 값, 1.0×10^{-8} M 이하의 K_D 값, 5.0×10^{-9} M 이하의 K_D 값, 2.5×10^{-9} M 이하의 K_D 값, 1.0×10^{-9} M 이하의 K_D 값, 5.0×10^{-10} M 이하의 K_D 값, 2.5×10^{-10} M 이하의 K_D 값, 1.0×10^{-10} M 이하의 K_D 값으로서 구현된다.

[0164] 본 발명의 항-BDCA2 마우스 항체의 경쇄 및 중쇄 가변 영역 및 CDR의 아미노산 서열은 표 2에 나타나 있다.

[0165] 일부 실시형태에서, 본 발명의 키메라 또는 인간화 항체는 상기 제조된 마우스 모노클로날 하이브리도마 항체의 서열에 기초하여 제조될 수 있다. 중쇄 및 경쇄 면역글로불린을 코딩하는 DNA는 관심 마우스 하이브리도마로부터 수득할 수 있고, 표준 분자 생물학 기술을 사용하여 비-마우스(예: 인간) 면역글로불린 서열을 함유하도록 조작할 수 있다.

[0166] 일부 실시형태에서, 하이브리도마-유래 면역글로불린 중쇄 및 경쇄 가변 영역은 키메라 중쇄 및 키메라 경쇄를 수득하기 위해 당해 기술분야에 공지된 방법(예를 들면, 카빌리(Cabilly) 등의 미국 특허 제4호)을 사용하여 인간 IgG 불변 영역에 작동 가능하게 연결될 수 있고, 이에 의해 본 발명의 키메라 BDCA2 항체가 생산된다. 일부 실시형태에서, 본 발명의 키메라 항체는 임의의 인간 IgG 서브타입, 예를 들면, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, 바람직하게는 IgG1로부터 선택된 불변 영역을 포함한다.

[0167] 일부 실시형태에서, 본 발명의 키메라 BDCA2 항체는 키메라 경쇄 및 키메라 중쇄 발현 플라스미드에 의해 형질감염된 "혼합 및 정합된" 발현 세포로부터 수득될 수 있고, 이러한 "혼합 및 정합된" 항체의 BDCA2 결합은 전술한 결합 검정 및 기타 종래의 결합 검정(예: ELISA)을 사용하여 시험할 수 있다.

[0168] 본 발명의 항체의 가변 영역 CDR의 정확한 아미노산 서열 경계는 항체의 3차원 구조 및 CDR 루프의 토폴로지에 기반한 초티아(Chothia)[참조: Chothia et al. (1989) Nature 342: 877-883; Al-Lazikani et al., "Standard conformations for the canonical structures of immunoglobulins", Journal of Molecular Biology, 273, 927-948 (1997)], 항체 서열 다양성에 기반한 카바트(Kabat)[참조: Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 4th ed., U.S. Department of Health and Human Services, National Institutes of Health (1987)], AbM(University of Bath), 컨택트(Contact)(University College London), 국제 이뮤노젠틱스(International ImMunoGeneTics) 데이터베이스(IMGT)(1999 Nucleic Acids Research, 27, 209-212) 및 다수의 결정 구조를 활용한 친화성 전파 클러스터링에 기반한 노스(North) CDR 정의를 포함하는 다수의 널리 공지된 프로토콜을 사용하여 결정될 수 있다.

[0169] 본 발명의 항체의 CDR의 경계는, 달리 명시되지 않는 한, 당해 기술분야의 임의의 프로토콜(예를 들면, 상이한 할당 시스템 또는 조합)에 따라 당업자에 의해 결정될 수 있다.

[0170] 상이한 할당 시스템을 기반으로 수득된 동일한 항체의 가변 영역의 CDR 경계는 상이할 수 있다는 점에 유의해야 한다. 즉, 상이한 할당 시스템 하에 정의된 동일한 항체의 가변 영역의 CDR 서열은 상이할 수 있다. 따라서, 본원에 정의된 특정 CDR 서열을 갖는 항체를 정의하는 경우, 항체의 범위는 또한 가변 영역 서열이 특정 CDR 서열을 포함하지만 상이한 체계(예를 들면, 상이한 할당 시스템 또는 조합)의 적용으로 인해 청구된 CDR 경계가 본원에 정의된 특정 CDR 경계와 상이한 항체도 포함한다.

[0171] 상이한 특이성을 갖는 항체(즉, 상이한 항원마다 상이한 결합 부위)는 상이한 CDR을 갖는다. 그러나, CDR은 항체마다 상이하지만, CDR 내의 제한된 수의 아미노산 위치만이 항원 결합에 직접 관여한다. 최소 중첩 영역은 카바트, 초티아, AbM, 컨택트 및 노스 방법 중 적어도 2개를 사용하여 결정할 수 있고, 이에 의해 항원 결합을 위한 "최소 결합 단위"를 제공할 수 있다. 최소 결합 단위는 CDR의 일부일 수 있다. 나머지 CDR 서열의 잔기는 항체의 구조 및 단백질 중첩에 의해 결정될 수 있고, 이는 당업자에게 명백할 것이다. 따라서, 본원에 제시된 임의의 CDR의 변이체도 본 발명에 의해 고려된다. 예를 들면, 1개 CDR의 변이체에서, 최소 결합 단위의 아미노산 잔기는 변화하지 않을 수 있는 반면, 카바트 또는 초티아 정의에 따른 나머지 CDR 잔기는 보존된 아미노

산 잔기로 대체될 수 있다.

[0172] 다양한 키메라 중쇄 및 경쇄 발현 플라스미드의 혼합 쌍을 사용하여, 항-BDCA2 키메라 항체인 발현 세포를 형질감염시킨다.

[0173] 본원에 기재된 인간화 항체는 당해 기술분야에 공지된 방법을 사용하여 인간 생식세포 프레임워크 영역 내에 삽입된 마우스 CDR 영역을 가질 수 있다(윈터(Winter) 등의 미국 특허 제5,225,539호, 퀸(Queen) 등의 미국 특허 제5,530,101호, 제5,585,089호, 제5,693,762호 및 제6,180,370호 참조).

[0174] 본 발명의 항-BDCA2 인간화 항체 Hu033-03, Hu033-20 및 Hu005-04의 경쇄 및 중쇄 아미노산 서열은 하기에 제시되어 있다. 나머지 인간화 항체의 LC 및 HC의 가변 영역 외부의 서열은 Hu033-03, Hu033-20 및 Hu005-04의 대응하는 서열과 동일하다.

[0175] Hu033-03-HC-IgG1: 서열번호 183(HCDR1-HCDR3의 경우 각각 서열번호 52, 39 및 53)

[0176] EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMSWVRQAPGKGLEWVSTISSGDSYTYYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQIYY
DYAYYFDFWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC
NVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV
VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF
FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0177] Hu033-03-LC: 서열번호 186(LCDR1-LCDR3의 경우 각각 서열번호 54, 55 및 42)

[0178] DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCRASESVSFRTSHLMHWYQQKPGQPPKLLIYGASNLESGVPARFSGSGSETDFTLTINPVEAEDTANYFCQQSIEDPPTF
GGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG
LSSPVTKSFNRGEC

[0179] Hu033-20-HC-IgG1: 서열번호 184(HCDR1-HCDR3의 경우 각각 서열번호 52, 39 및 53)

[0180] EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFRSYGMSWVRQAPGKRLEWVSTISSGDSYTYYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTAVYYCARQIYY
DYAYYFDFWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC
NVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV
VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF
FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0181] Hu033-20-LC: 서열번호 187(LCDR1-LCDR3의 경우 각각 서열번호 54, 55 및 42)

[0182] DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVSFRTSHLMHWYQQKPGQPPKLLIYGASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQSIEDPPTF
GGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG
LSSPVTKSFNRGEC

[0183] Hu005-04-HC-IgG1: 서열번호 185(HCDR1-HCDR3의 경우 각각 서열번호 11, 12 및 13)

[0184] QVQLQQSGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSLTNYGVHWIRQPPGKGLEWIGVIWSGESTDYDAAFISRVTISKDNSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYCARRRSHY
YGYVMDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN
VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV
SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFF
LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0185] Hu005-04-LC: 서열번호 188(LCDR1-LCDR3의 경우 각각 서열번호 86, 15 및 16)

[0186] DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCKASQSIDYdaIGYLNWYQQKPGQPPKLLIYAASNLESGVPARFSGSGSGTDFTLTINPVEANDTANYYCQQSNEDPPTF
GQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG
LSSPVTKSFNRGEC

[0187] 일부 실시형태에서, 아미노산 변화는 아미노산 결실, 삽입 또는 치환을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 발명의 항-BDCA2 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 아미노산 결실, 삽입 또는 치환에 의해 돌연변이되지만, 여전히 특히 상기 서열에 도시된 CDR 영역에서 상기 항체와 적어도 약 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 갖는 것들을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 발명의 항체는, 특정 서열에 도시된 CDR 영역과 비교한 경우, CDR 영역에서 아미노산 결실, 삽입 또는 치환에 의해 돌연변이된 아미노

산이 1개, 2개, 3개, 4개 또는 5개 이하이다. 일부 실시형태에서, 본 발명의 항체는, 특정 서열의 프레임워크 영역과 비교한 경우, 프레임워크 영역에서 아미노산 결실, 삽입 또는 치환에 의해 돌연변이된 아미노산이 1개, 2개, 3개, 4개 또는 5개 이하이다.

[0188] 일부 실시형태에서, 본 발명자들의 인간화 항체 Hu033-03 및 Hu033-20의 Fc 영역은 S239D/I332E, G236A/S239D/I332E 및 G236A/I332E를 포함하여 돌연변이되어 하기 항체: Hu033-03-T1, Hu033-03-T2, Hu033-03-T3, Hu033-20-T1, Hu033-20-T2, Hu033-20-T3을 생성하고, 이의 경쇄 및 중쇄 아미노산 서열은 하기에 나타나 있다:

[0189] Hu033-03-T1-HC: 서열번호 191

[0190] EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMSWVRQAPGKGLEWVSTISSGDSYTYYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQIYY
DYAYYFDFWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC
NVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPDVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV
VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPEEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF
FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0191] Hu033-03-T2-HC: 서열번호 192

[0192] EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMSWVRQAPGKGLEWVSTISSGDSYTYYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQIYY
DYAYYFDFWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC
NVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLAGPDVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV
VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPEEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF
FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0193] Hu033-03-T3-HC: 서열번호 193

[0194] EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMSWVRQAPGKGLEWVSTISSGDSYTYYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQIYY
DYAYYFDFWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC
NVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV
VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPEEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF
FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0195] Hu033-03-T1/T2/T3-LC: 서열번호 186

[0196] DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCRASESVSFRTSHLMHWYQQKPGQPPKLLIYGASNLESGVPARFSGSGSETDFTLTINPVEAEDTANYFCQQSIEDPPTF
GGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG
LSSPVTKSFNRGEC

[0197] Hu033-20-T1-HC: 서열번호 194

[0198] EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFRSYGMSWVRQAPGKRLEWVSTISSGDSYTYYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTAVYYCARQIYY
DYAYYFDFWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC
NVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPDVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV
VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPEEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF
FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0199] Hu033-20-T2-HC: 서열번호 195

[0200] EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFRSYGMSWVRQAPGKRLEWVSTISSGDSYTYYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTAVYYCARQIYY
DYAYYFDFWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC
NVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLAGPDVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV
VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPEEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF
FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0201] Hu033-20-T3-HC: 서열번호 196

[0202] EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFRSYGMSWVRQAPGKRLEWVSTISSGDSYTYYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTAVYYCARQIYY
DYAYYFDFWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC

NVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV
VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPEEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF
FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0203] Hu033-20-T1/T2/T3-LC： 서열번호 187

[0204] DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVSFRTSHLMHWYQQKPGQPPKLLIYGASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQSIEDPPTF
GGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG
LSSPVTKSFNRGEC

[0205] "아미노산 서열 동일성의 퍼센트(%)" 또는 간단히 "동일성"이라는 용어는 아미노산 서열이 최대 퍼센트 서열 동일성을 달성하기 위해 정렬(및 필요한 경우, 갭 도입됨)되는 경우, 참조 아미노산 서열에서 동일한 후보 아미노산 서열에서 아미노산 잔기의 퍼센트로서 정의되고, 서열 동일성의 일부로서 보존적 치환을 고려하지 않는다. 아미노산 서열 동일성의 퍼센트를 결정하기 위해, 당해 기술분야의 다양한 방법을 사용하여 서열을 정렬할 수 있고, 예를 들면, BLAST, BLAST-2, ALIGN 또는 MEGALIGN(DNASTAR) 소프트웨어와 같은 공적으로 입수 가능한 컴퓨터 소프트웨어를 사용할 수 있다. 당업자는 비교되는 서열의 전장에 걸쳐 최대 정렬을 달성하는 데 필요한 임의의 알고리즘을 포함하여 정렬 측정을 위한 적절한 파라미터를 결정할 수 있다.

[0206] 따라서, 일부 실시형태에서, 본 발명의 항체는 하기 표 A의 임의의 조합에 제시된 바와 같이 HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 및 LCDR3을 포함한다.

[0207] [표 A]

조합#	하기 서열(또는 1, 2 또는 3 개의 아미노산 차이를 갖는 서열)을 포함하거나 이들로 이루어지는 HCDR1	하기 서열(또는 1, 2 또는 3 개의 아미노산 차이를 갖는 서열)을 포함하거나 이들로 이루어지는 HCDR2	하기 서열(또는 1, 2 또는 3 개의 아미노산 차이를 갖는 서열)을 포함하거나 이들로 이루어지는 HCDR3	하기 서열(또는 1, 2 또는 3 개의 아미노산 차이를 갖는 서열)을 포함하거나 이들로 이루어지는 LCDR1	하기 서열(또는 1, 2 또는 3 개의 아미노산 차이를 갖는 서열)을 포함하거나 이들로 이루어지는 LCDR2	하기 서열(또는 1, 2 또는 3 개의 아미노산 차이를 갖는 서열)을 포함하거나 이들로 이루어지는 LCDR3
1	서열번호 1	서열번호 2	서열번호 3	서열번호 4	서열번호 5	서열번호 6
2	서열번호 7	서열번호 2	서열번호 8	서열번호 9	서열번호 10	서열번호 6
3	서열번호 11	서열번호 12	서열번호 13	서열번호 14	서열번호 15	서열번호 16
4	서열번호 17	서열번호 12	서열번호 13	서열번호 18	서열번호 15	서열번호 16
5	서열번호 19	서열번호 20	서열번호 21	서열번호 22	서열번호 23	서열번호 24
6	서열번호 25	서열번호 26	서열번호 27	서열번호 28	서열번호 29	서열번호 30
7	서열번호 31	서열번호 32	서열번호 33	서열번호 34	서열번호 35	서열번호 36
8	서열번호 25	서열번호 26	서열번호 37	서열번호 28	서열번호 29	서열번호 30
9	서열번호 38	서열번호 39	서열번호 40	서열번호 41	서열번호 15	서열번호 42
10	서열번호 31	서열번호 43	서열번호 27	서열번호 44	서열번호 45	서열번호 30
11	서열번호 31	서열번호 46	서열번호 47	서열번호 34	서열번호 48	서열번호 49
12	서열번호 31	서열번호 50	서열번호 47	서열번호 34	서열번호 48	서열번호 49
13	서열번호 31	서열번호 46	서열번호 47	서열번호 34	서열번호 51	서열번호 49
14	서열번호 25	서열번호 50	서열번호 47	서열번호 34	서열번호 51	서열번호 49
15	서열번호 31	서열번호 50	서열번호 47	서열번호 34	서열번호 51	서열번호 49
16	서열번호 25	서열번호 50	서열번호 47	서열번호 34	서열번호 51	서열번호 49
17	서열번호 52	서열번호 39	서열번호 53	서열번호 54	서열번호 55	서열번호 42
18	서열번호 25	서열번호 56	서열번호 47	서열번호 34	서열번호 35	서열번호 49
19	서열번호 11	서열번호 12	서열번호 13	서열번호 86	서열번호 15	서열번호 16
20	서열번호 52	서열번호 39	서열번호 53	서열번호 86	서열번호 15	서열번호 16
21	서열번호 11	서열번호 12	서열번호 13	서열번호 54	서열번호 55	서열번호 42

[0208]

[0209] 일부 실시형태에서, 본 발명의 항체는 하기 표 B의 임의의 조합에 나타낸 바와 같이 VH 및 VL을 포함한다.

[0210] [표 B]

조합 #	하기 서열 (또는 이와 적어도 95% 동일한 서열)을 포함하거나 이들로 이루어지는 VH	하기 서열 (또는 이와 적어도 95% 동일한 서열)을 포함하거나 이들로 이루어지는 VL
1	서열번호 61	서열번호 62
2	서열번호 65	서열번호 66
3	서열번호 67	서열번호 68
4	서열번호 69	서열번호 70
5	서열번호 71	서열번호 68
6	서열번호 72	서열번호 73
7	서열번호 76	서열번호 77
8	서열번호 80	서열번호 79
9	서열번호 82	서열번호 83
10	서열번호 87-110 중 **어느 것**	서열번호 135-158 중 **어느 것**
11	서열번호 111-134 중 **어느 것**	서열번호 159-182 중 **어느 것**
12	서열번호 89	서열번호 137
13	서열번호 106	서열번호 154
14	서열번호 114	서열번호 162

[0211]

[0212] 일부 실시형태에서, 본 발명의 항체는 하기 표 C의 임의의 조합에 나타낸 바와 같이 VH 및 VL을 포함한다.

[0213] [표 C]

조합#	하기 서열 (또는 이와 적어도 95% 동일한 서열)을 포함하거나 이들로 이루어지는 VH	하기 서열 (또는 이와 적어도 95% 동일한 서열)을 포함하거나 이들로 이루어지는 VL	조합#	하기 서열 (또는 이와 적어도 95% 동일한 서열)을 포함하거나 이들로 이루어지는 VH	하기 서열 (또는 이와 적어도 95% 동일한 서열)을 포함하거나 이들로 이루어지는 VL
15	서열번호 87	서열번호 135	39	서열번호 111	서열번호 159
16	서열번호 88	서열번호 136	40	서열번호 112	서열번호 160
17	서열번호 89	서열번호 137	41	서열번호 113	서열번호 161
18	서열번호 90	서열번호 138	42	서열번호 114	서열번호 162
19	서열번호 91	서열번호 139	43	서열번호 115	서열번호 163
20	서열번호 92	서열번호 140	44	서열번호 116	서열번호 164
21	서열번호 93	서열번호 141	45	서열번호 117	서열번호 165
22	서열번호 94	서열번호 142	46	서열번호 118	서열번호 166
23	서열번호 95	서열번호 143	47	서열번호 119	서열번호 167
24	서열번호 96	서열번호 144	48	서열번호 120	서열번호 168
25	서열번호 97	서열번호 145	49	서열번호 121	서열번호 169
26	서열번호 98	서열번호 146	50	서열번호 122	서열번호 170
27	서열번호 99	서열번호 147	51	서열번호 123	서열번호 171
28	서열번호 100	서열번호 148	52	서열번호 124	서열번호 172
29	서열번호 101	서열번호 149	53	서열번호 125	서열번호 173
30	서열번호 102	서열번호 150	54	서열번호 126	서열번호 174
31	서열번호 103	서열번호 151	55	서열번호 127	서열번호 175
32	서열번호 104	서열번호 152	56	서열번호 128	서열번호 176
33	서열번호 105	서열번호 153	57	서열번호 129	서열번호 177
34	서열번호 106	서열번호 154	58	서열번호 130	서열번호 178
35	서열번호 107	서열번호 155	59	서열번호 131	서열번호 179
36	서열번호 108	서열번호 156	60	서열번호 132	서열번호 180
37	서열번호 109	서열번호 157	61	서열번호 133	서열번호 181
38	서열번호 110	서열번호 158	62	서열번호 134	서열번호 182

[0214]

[0215] 일부 실시형태에서, BDCA2 항체는 하기 섹션에 기재된 바와 같이, IgG 항체, 예를 들면, IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4 항체 또는 이들의 변형된 버전이다.

[0216] 일부 실시형태에서, Fc 영역 변이체는 본원에 제공된 항체의 Fc 영역에 하나 이상의 아미노산 변형을 도입함으로써 생성될 수 있다. Fc 영역 변이체는 하나 이상의 아미노산 위치에서 아미노산 변형(예를 들면, 치환)을 포함하는 인간 Fc 영역 서열(예를 들면, 인간 IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4 Fc 영역)을 포함할 수 있다.

[0217] 일부 실시형태에서, 항체의 하나 이상의 잔기가 시스테인 잔기로 치환된 시스테인 조작된 항체(예: "티오 MAb(thioMAb)")를 생성하는 것이 바람직할 수 있다.

[0218] 일부 실시형태에서, 본원에 제공된 항체는 당해 기술분야에 공지되고 용이하게 이용할 수 있는 추가의 비-단백질 모이어티를 함유하도록 추가로 변형시킬 수 있다. 항체의 유도체화에 적합한 모이어티는 수용성 중합체가 포함되지만, 이들로 제한되는 것은 아니다. 수용성 중합체의 비제한적 예로는 폴리에틸렌 글리콜(PEG), 에틸렌 글리콜/프로필렌 글리콜의 공중합체, 카복시메틸셀룰로스, 덱스트란, 폴리비닐 알코올, 폴리비닐피롤리돈, 폴리-1,3-디옥산, 폴리-1,3,6-트리옥산, 에틸렌/말레산 무수물 공중합체, 폴리아미노산(호모중합체 또는 랜덤 공중합체), 및 덱스트란 또는 폴리(n-비닐 피롤리돈) 폴리에틸렌 글리콜, 프로필렌 글리콜 호모중합체, 폴리프로필렌 옥사이드/에틸렌 옥사이드 공중합체, 폴리옥시에틸렌 폴리올(예를 들면, 글리세롤), 폴리비닐 알코올 및 이들의 혼합물이 포함되지만, 이들로 제한되는 것은 아니다.

[0219] **항체의 발현**

[0220] 또 다른 양태에서, 본 발명은 본원에 기재된 항-BDCA2 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 코딩하는 폴리뉴클레오타이드 분자를 제공한다. 상기 폴리뉴클레오타이드 분자는 항체의 경쇄 가변 영역 및/또는 중쇄 가변 영역의 아미노산 서열을 코딩하는 폴리뉴클레오타이드 분자, 또는 항체의 경쇄 및/또는 중쇄를 코딩하는 아미노산 서열을 포함하는 폴리뉴클레오타이드 분자를 포함할 수 있다.

[0221] 일부 실시형태에서, 본 발명의 항체를 코딩하는 폴리뉴클레오타이드 분자는 뉴클레오타이드 결실, 삽입 또는 치환에 의해 돌연변이되지만, 여전히 전술한 서열에 도시된 CDR의 대응하는 코딩(coding) 영역과 적어도 약 60, 70, 80, 90, 95 또는 100%의 동일성을 갖는 폴리뉴클레오타이드 분자를 포함한다.

[0222] 추가의 양태에서, 본 발명은 본원에 기재된 바와 같이 폴리뉴클레오타이드 분자를 포함하는 발현 벡터를 제공하고, 바람직하게는 이 벡터는 진핵생물 발현 벡터이다. 일부 실시형태에서, 본원에 기재된 바와 같은 폴리뉴클레오타이드 분자는 하나 이상의 발현 벡터에 포함된다.

[0223] 추가의 양태에서, 본 발명은 본원에 기재된 바와 같은 폴리뉴클레오타이드 분자 또는 본원에 기재된 발현 벡터를 포함하는 숙주 세포를 제공하고, 바람직하게는 숙주 세포는 진핵 세포, 더욱 바람직하게는 포유류 세포이다.

[0224] 또 다른 양태에서, 본 발명은 본원에 기재된 항-BDCA2 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제조하기 위한 방법을 제공하고, 이 방법은 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 발현하기에 적합한 조건하에서 본원에 기재된 숙주 세포에서 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 발현시키는 단계, 및 숙주 세포로부터 발현된 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 회수하는 단계를 포함한다.

[0225] 본 발명은, 아메리칸 타입 컬쳐 컬렉션(American Type Culture Collection; ATCC)으로부터 입수 가능한 다수의 불멸화 세포주를 포함하는, 본 발명의 재조합 항체를 발현하기 위한 포유류 숙주 세포를 제공한다. 여기에는 특히 차이니즈 햄스터 난소(CHO), NSO, SP2/0 세포, HeLa 세포, 베이비 햄스터 신장(BHK) 세포, 원숭이 신장 세포(COS), 인간 간세포암종 세포, A549 세포, 293T 세포 및 기타 다수의 세포주가 포함된다. 포유류 숙주 세포에는 인간, 마우스, 랫트, 개, 원숭이, 돼지, 염소, 소(cow), 말 및 햄스터 세포가 포함된다. 특히 바람직한 세포주는 어느 세포주가 더 높은 발현 수준을 갖는지를 결정함으로써 선택된다.

[0226] 일 실시형태에서, 본 발명은 항-BDCA2 항체를 제조하는 방법을 제공하고, 이 방법은, 발현 벡터가 포유류 숙주 세포에 도입되면 숙주 세포에서 항체의 발현을 가능하게 하기에 충분한 기간 동안 숙주 세포를 배양하거나, 더욱 바람직하게는 숙주 세포가 성장하는 배양 배지 so로 항체를 분비하여 항체를 생산하는 단계를 포함한다.

[0227] 항체는 표준 단백질 정제 방법을 사용하여 배양 배지로부터 회수할 수 있다. 본원에 기재된 바와 같이 제조된 항체 분자는 고성능 액체 크로마토그래피, 이온 교환 크로마토그래피, 겔 전기영동, 친화성 크로마토그래피, 크기 배제 크로마토그래피 등과 같은 공지된 최신 기술을 사용하여 정제할 수 있다. 특정 단백질을 정제하기 위해 사용되는 실제 조건은 순전하, 소수성, 친수성 등과 같은 요인에 따라 달라진다. 이러한 요인은 당업자에게 용이하게 명백할 것이다. 본 발명의 항체 분자의 순도는 크기 배제 크로마토그래피, 겔 전기영동, 고성능 액체 크로마토그래피 등을 포함하는 다수의 널리 공지된 분석 방법 중 어느 하나에 의해 결정될 수 있다.

[0228] 상이한 세포주에 의해 발현되거나 유전자도입 동물에서 발현되는 항체는 서로 상이한 글리코실화를 가질 가능성

이 있다. 그러나, 본원에 제공된 핵산 분자에 의해 코딩되거나 본원에 제공된 아미노산 서열을 포함하는 모든 항체는 항체의 글리코실화 여부에 관계없이 본 발명의 일부이다. 또한, 특정 실시형태에서, 비-푸코실화 항체는 이들이 일반적으로 시험관내 및 생체내에서 푸코실화된 항체보다 더욱 강력한 효능을 갖고, 당 구조가 천연 인간 혈청 IgG의 정상 구성성분이기 때문에 면역원성일 가능성이 낮기 때문에 유리하다.

[0229] **약제학적 조성물 및 약제 제형**

[0230] 또 다른 양태에서, 본 발명은 본원에 기재된 항-BDCA2 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 본원에 기재된 폴리뉴클레오타이드 분자, 본원에 기재된 발현 벡터 또는 본원에 기재된 숙주 세포 및 약제학적으로 허용되는 담체 또는 부형제를 포함하는 약제학적 조성물을 제공한다. 본 발명에 의해 제공되는 항-BDCA2 항체 또는 이의 약제학적 조성물은 공-투여를 위한 제형에 적합한 담체, 부형제 및 기타 약제를 통합할 수 있고, 이에 의해 개선된 전달, 이송, 내성 등을 제공할 수 있음을 이해할 수 있을 것이다.

[0231] "약제학적 조성물"이라는 용어는 그 안에 함유된 활성 성분의 생물학적 활성이 효과적이도록 하는 형태로 존재하고, 제형을 투여하는 대상체에게 허용할 수 없을 정도로 독성이 있는 추가 구성성분을 함유하지 않는 제제를 지칭한다.

[0232] 본원에 기재된 항-BDCA2 항체를 포함하는 약제학적 제형은, 바람직하게는 수용액 또는 동결건조 제형의 형태로, 목적하는 순도를 갖는 본 발명의 항-BDCA2 항체를 하나 이상의 임의의 약제학적으로 허용되는 부형제와 혼합함으로써 제조할 수 있다[참조: Remington's Pharmaceutical Sciences, 16th edition, Osol, A. Ed. (1980)].

[0233] 본 발명의 약제학적 조성물 또는 제형은 하나 이상의 추가 활성 성분을 추가로 포함할 수 있고, 활성 성분은 치료될 특정 적응증에 필요한 것이며, 바람직하게는 서로 악영향을 미치지 않는 상보적 활성을 갖는 활성 성분이다. 일부 실시형태에서, 추가 활성 성분은 면역 체크포인트 억제제, 성장 억제제이고, 의도된 용도에 효과적인 양으로 적합하게는 조합하여 존재한다. 일부 실시형태에서, 본 발명의 약제학적 조성물은 항-BDCA2 항체를 코딩하는 폴리뉴클레오타이드 분자의 조성물을 추가로 포함한다.

[0234] 추가의 양태에서, 본 발명은 본원에 기재된 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 본원에 기재된 폴리뉴클레오타이드 분자, 본원에 기재된 발현 벡터, 본원에 기재된 숙주 세포 또는 본원에 기재된 약제학적 조성물 및 하나 이상의 추가 치료제를 포함하는 약제학적 조합을 제공한다.

[0235] 추가의 양태에서, 본 발명은 본원에 기재된 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 본원에 기재된 폴리뉴클레오타이드 분자, 본원에 기재된 발현 벡터, 본원에 기재된 숙주 세포 또는 본원에 기재된 약제학적 조성물을 포함하는 키트를 제공한다.

[0236] **약제학적 용도 및 치료 방법**

[0237] 본원에 제공된 항-BDCA2 항체 또는 대응하는 면역접합체 중 어느 것은 치료 방법에 사용될 수 있다. 또한, "항체"가 논의되는 경우, 항체를 포함하는 조성물도 포함되는 것으로 이해된다. 본 발명의 항-BDCA2 항체는 본 발명의 임의의 실시형태에 기재된 치료 또는 예방 방법에서 치료학적 유효량 또는 예방학적 유효량으로 사용될 수 있다.

[0238] 추가의 양태에서, 본 발명은 BDCA2-매개 질환의 치료 및/또는 예방을 위한 의약의 제조에서의, 본원에 기재된 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 본원에 기재된 약제학적 조성물 또는 본원에 기재된 약제학적 조합의 용도를 제공하고, 바람직하게는 질환은 염증성 질환이고; 더욱 바람직하게는, 상기 염증성 질환은 전신성 홍반성 루푸스, 원반성 루푸스, 루푸스 신장염, 표피성 홍반성 루푸스, 류마티스 관절염, 염증성 장 질환, 전신 경화증(경피증), 건선, 제1형 당뇨병, 피부근염 및 다발근염으로부터 선택된다.

[0239] 추가의 양태에서, 본 발명은 BDCA2-매개 질환의 치료 및/또는 예방에 사용하기 위한 본원에 기재된 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 본원에 기재된 약제학적 조성물 또는 본원에 기재된 약제학적 조합의 용도를 제공하고, 바람직하게는 상기 질환은 염증성 질환이고; 더욱 바람직하게는, 상기 염증성 질환은 전신성 홍반성 루푸스, 원반성 루푸스, 루푸스 신장염, 류마티스 관절염, 염증성 장 질환, 전신 경화증(경피증), 건선, 제1형 당뇨병, 피부근염 및 다발근염으로부터 선택된다.

[0240] 또 다른 양태에서, 본 발명은 BDCA2-매개 질환 또는 장애를 치료 및/또는 예방하는 방법을 제공하고, 이 방법은 본원에 기재된 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 본원에 기재된 약제학적 조성물 또는 본원에 기재된 약제학적 조합의 치료학적 또는 예방학적 유효량을 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 것을 포함하고, 바람직하게는 상기 질환은 염증성 질환이고; 더욱 바람직하게는, 상기 염증성 질환은 전신성 홍반성 루푸스, 원반성 루푸스,

루푸스 신장염, 표피성 홍반성 루푸스, 류마티스 관절염, 염증성 장 질환, 전신 경화증(경피증), 건선, 제1형 당뇨병, 피부근염 및 다발근염으로부터 선택된다.

[0241] 일부 실시형태에서, 본 발명의 투여 방식에는 경구, 정맥내, 피하, 근육내, 동맥내, 관절내(예를 들면, 관절염 관절내), 흡입, 에어로졸 전달 또는 국소 국소 투여 등이 포함되지만 이들로 제한되는 것은 아니다.

[0242] "치료"라는 용어는 치료되는 개인의 질환의 자연적 경과를 변경시키기 위한 임상적 개입을 지칭한다. 치료의 바람직한 효과에는 질환의 발생 또는 재발의 방지, 증상 완화, 질환의 바람직하지 않거나 직간접적인 병리적 결과의 감소, 질환의 진행 속도 감소, 질환 상태의 개선 또는 완화, 및 예후 완화 또는 개선 등이 포함되지만 이들로 제한되는 것은 아니다. 본 발명의 항체는 하나 이상의 양태에서 병태의 중증도를 감소시킬 수 있고, 즉 치료 효과를 발휘할 수 있다. 특정 실시형태에서, 하기 중 하나 이상이 명백해진다: 환자의 평균 수명(생존)의 증가; 질환 진행의 지연; 의료 필요성의 감소.

[0243] 본 발명은 또한 대상체에게 하나 이상의 치료법(예: 치료 방식 및/또는 다른 치료제)의 치료학적 유효량의 동시 투여를 제공한다. 본 발명의 항체는 단독으로 또는 치료에서 다른 치료제와 조합하여 사용될 수 있다. 일부 실시형태에서, 본 발명의 항체는 적어도 하나의 추가 치료제와 동시에 투여된다.

[0244] **진단 및 검출 방법**

[0245] 또 다른 양태에서, 본 발명은 본원에 기재된 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 사용하여 샘플 중의 BDCA2의 존재를 검출하기 위한 방법을 제공한다. 본원에서 사용되는 "검출"이라는 용어는 정량적 또는 정성적 검출을 포함한다. 일부 실시형태에서, 샘플은 생물학적 샘플이다. 특정 실시형태에서, 생물학적 샘플은 혈액, 혈청 또는 기타 생물학적 기원의 액체 샘플이다. 특정 실시형태에서, 생물학적 샘플은 세포 또는 조직을 포함한다. 특정 실시형태에서, BDCA2는 인간 BDCA2 또는 사이노몰구스 BDCA2이다. 이 방법은 본원에 기재된 항체 또는 이의 항원-결합 단편 또는 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 함유하는 검출 조성물을 샘플과 접촉시키는 단계, 및 BDCA2에 대한 항체 또는 이의 항원-결합 단편의 결합을 초래하는 접합체 또는 결합 신호의 존재 또는 부재를 검출하는 단계를 포함한다. 검출에 사용하기 위해, 본원에 기재된 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 접합체가 형성되었는지를 나타내기 위해 표지될 수 있다. 특정 실시형태에서, 이 방법은 시험관내 또는 생체내 방법일 수 있다.

[0246] 일부 실시형태에서, BDCA2는 치료 전, 예를 들면, 치료 개시 전 또는 치료 간격 후의 특정 치료 전에 검출된다. 일 실시형태에서, 진단 또는 검출 방법에 사용하기 위한 항-BDCA2 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 제공된다.

[0247] 본 발명의 긍정적 진행은 하기에 있다:

[0248] 본 발명의 BDCA2를 표적으로 하는 항체는 하기 이점 중 하나 이상을 포함한다:

[0249] 1. 본 발명의 항체는 선행 기술의 항-BDCA2 항체 BIIB059보다 CHOK1-인간BDCA2 세포 및/또는 293F-사이노BDCA2 세포에 대해 더 강력한 활성 결합을 나타내고;

[0250] 2. 본 발명의 항체는 선행 기술의 항-BDCA2 항체 BIIB059보다 인간 PBMC 세포로부터 사이토카인 IFNα의 CpG-A 자극 방출의 더 강력한 억제를 매개하고;

[0251] 3. 본 발명의 항체는 BDCA2를 발현하는 세포에서 더 높은 내재화 효율을 초래하고;

[0252] 4. 본 발명의 인간화 항체는 선행 기술의 항-BDCA2 항체 BIIB059보다 인간 BDCA2 항원에 대해 더 높은 친화성을 갖는다.

[0253] 5. 마우스, 랫트 및 래빗과 같은 비영장류에서는 BDCA2 유전자의 발현이 없는 반면, BDCA2 항체에 의해 치료된 주요 질환(표피성 홍반성 루푸스 및 전신성 홍반성 루푸스 등)은 영장류의 임의의 약역학 시험 모델에서 성공적으로 확립되지 않았다. 시험관내 및 임상 연구에 따르면, 항체 BIIB059는 시험관내 실험에서 BDCA2 내재화의 유도 및 PBMC의 제1형 인터페론 분비 기능에 대한 억제 효과를 나타내고, 반면 표피성 홍반 루푸스 및 전신성 홍반 루푸스에 대한 임상 실험 연구에서 증상-완화 효과를 달성하며[참조: Werth VP et al. N Engl J Med 2022; 387: 321-31. Furie RA et al. N Engl J Med 2022; 387: 894-904.], 따라서 본 발명의 항-BDCA2 항체는 임상적으로 상기 질환 또는 장애에 대해 더 양호한 치료 효과를 갖는 것으로 추정할 수 있다.

[0254] 본 발명은 상기 특정 실시형태의 모든 조합을 포함한다. 본 발명의 추가 실시형태 및 전체 적용 범위는 하기에서 제공되는 상세한 설명으로부터 명백해질 것이다. 상세한 설명 및 구체적 실시예는 본 발명의 바람직한 실시형태를 나타내지만, 이러한 설명 및 실시예는 본 발명의 정신과 범위 내에서 다양한 변경 및 수정이 본 상세한

설명으로부터 당업자에게 명백해질 것이기 때문에 예시로서만 제공되었음을 이해해야 한다. 인용을 포함하여 본원에서 인용된 모든 출판물, 특허 및 특허 출원은 모든 목적을 위해 그 전체가 참조에 의해 본원에 통합되어 있다. 본 발명의 화합물은 당업자에게 널리 공지된 다양한 합성 방법에 의해 제조될 수 있고, 하기에 열거된 특정 실시형태, 이들을 다른 방법과 결합하여 형성된 것 및 당업자에게 널리 공지된 이들의 균등물을 포함하며, 바람직한 실시형태는 본 발명의 실시예를 포함하지만 이들로 제한되는 것은 아니다.

[0255] 본 발명은 적어도 하기 두문자를 사용한다:

[0256] His-태그는 히스티딘 태그이고;

[0257] Fc 태그는 결정화 가능한 단편 태그이고;

[0258] ECD는 세포외 도메인이고;

[0259] PEI는 폴리에틸렌이민이고;

[0260] BSA는 소(bovine) 혈청 알부민이고;

[0261] PBS는 인산 완충 생리식염수이고;

[0262] FBS는 태아 소 혈청이고;

[0263] CFSE는 카복시플루오레세인 디아세테이트 석신이미딜 에스테르이고;

[0264] APC는 이소성 피코시아닌이고;

[0265] NA-PE는 피코에리스린-표지 뉴트라비딘이고;

[0266] PE는 피코에리스린이고;

[0267] TMB는 3,3',5,5'-테트라메틸벤지딘이고;

[0268] HEPES는 하이드록시에틸 피페라진 에탄설폰산 완충액이고;

[0269] DTT는 디티오트레이톨이다.

[0270] 실시예

[0271] 본 발명은 하기의 실시예에 의해 예시되고, 본 발명을 어떠한 방식으로든 제한하려는 의도가 없으며, 본 발명은 본원에서 상세히 기재되어 있고, 그 구체적인 실시형태도 개시되어 있다. 본 발명의 정신 및 범위를 벗어나지 않으면서, 본 발명의 특정 실시형태에 대한 다양한 변경 및 수정이 이루어질 수 있음이 당업자에게 명백할 것이다.

[0272] **실시예 1: 항-BDCA2 항체의 활성 검출을 위한 재조합 단백질의 제조**

[0273] 인간 BDCA2(hBDCA2 또는 인간 BDCA2)의 세포외 도메인(Asn45-Ile213)을 코딩하는 cDNA 서열은 Genbank 참조 서열에 따라 젠스크립트 코포레이션(Genscript Corporation)에 의해 합성했다. 증폭된 단편은 종래의 클로닝 기술을 사용하여 인간-유래 Fc(hIgG1) 단편을 포함하는 독립적으로 작제된 진핵생물 발현 플라스미드 시스템(pCP-EF1a-CMV-Fcε RIγ)으로 클로닝하고, 재조합 융합 단백질 발현 플라스미드 인간 BDCA2 Fc(pCP-EF1a-BDCA2-CMV-Fcε RIγ)를 생성했다. 인간 BDCA2 Fc 재조합 단백질(Fc 영역이 BDCA2 세포외 도메인에 N-말단 방향으로 위치하고, 링커에 의해 융합됨)은 발현을 위한 발현 세포 293E 및 정제를 위한 크기 배제 크로마토그래피 컬럼을 사용하여 수득하고, 이어서 폴리아크릴아미드 겔 전기영동에 의해 동정했다.

[0274] 사이노몰구스 BDCA2(사이노 BDCA2)의 세포외 도메인(Asn45-Ile212)을 코딩하는 cDNA 서열은 Genbank 참조 서열에 따라 젠스크립트 코포레이션에 의해 합성하고, 6-His 발현 서열을 cDNA의 N-말단에 첨가했다. 이 단편은 종래의 클로닝 기술을 사용하여 독립적으로 작제된 진핵생물 발현 플라스미드 시스템(pCP-EF1a-CMV-Fcε RIγ)에 클로닝되었고, 재조합 융합 단백질 발현 플라스미드 사이노 BDCA2 His(pCP-EF1a-사이노 BDCA2-CMV-Fcε RIγ)가 생성되었다. 사이노 BDCA2 His 재조합 단백질은 발현을 위한 발현 세포 293E 및 정제를 위한 크기 배제 크로마토그래피 컬럼을 사용하여 수득하고, 이어서 폴리아크릴아미드 겔 전기영동에 의해 동정했다.

[0275] 수득된 양쪽 단백질의 농도, 총량 및 내독소 함량이 후속 적용에 적합하다는 것이 확인되었다.

[0276] 서열번호 189에 제시된 인간 BDCA2 Fc의 아미노산 서열 및 인간 BDCA2의 단백질 서열로서 사용된 NCBI 수탁 번호 Q8WTT0, 서열번호 190에 제시된 사이노 BDCA2 His의 아미노산 서열 및 사이노 BDCA2의 단백질 서열로서 사용

된 NCBI 수탁 번호 A0A2K5UWP4-1은 본 발명의 항체의 활성 검정을 위해 사용되었다.

[0277] BDCA2가 특이적으로 결합하는 참조 항체 BIIB059 서열은 특허 US9902775B2로부터 유래되었고, 여기서 중쇄 서열은 특허 서열번호 4에 대응하고, 경쇄 서열은 특허 서열번호 3에 대응하며, 재조합 항체의 종래의 생산 프로세스를 사용하여 생산되었다.

[0278] **실시예 2: 항-BDCA2 항체의 활성 검출을 위한 BDCA2-발현 세포주의 작제**

[0279] 인간 BDCA2를 코딩하는 cDNA 서열은 Genbank 참조 서열에 따라 젠스크립트 코포레이션에 의해 합성했다. 증폭된 단편은 종래의 클로닝 기술을 사용하여 독립적으로 작제된 렌티바이러스 패키징 플라스미드 시스템(PLvx-EF1a-CMV-hFcεRIγ-IRES-puro)에 클로닝하고, 렌티바이러스 패키징 플라스미드 인간 BDCA2(PLvx-EF1a-hBDCA2-CMV-hFcεRIγ-IRES-puro)를 생산하였다.

[0280] 사이노몰구스 BDCA2를 코딩하는 cDNA 서열은 Genbank 참조 서열을 따라 젠스크립트 코포레이션에 의해 합성했다. 증폭된 단편은 종래의 클로닝 기술을 사용하여 독립적으로 작제된 렌티바이러스 패키징 플라스미드 시스템(PLvx-EF1a-CMV-hFcεRIγ-IRES-puro)에 클로닝하고, 렌티바이러스 패키징 플라스미드 사이노 BDCA2(PLvx-EF1a-사이노BDCA2-CMV-사이노FcεRIγ-IRES-puro)를 생산하였다.

[0281] PLvx-EF1a-hBDCA2-CMV-hFcεRIγ-IRES-puro 플라스미드 또는 PLvx-EF1a-사이노BDCA2-CMV-사이노FcεRIγ-IRES-puro를 숙주 세포로서 293T를 사용하여 일시적 방법에 의해 293T 세포에 형질도입했다. 형질감염 후 48시간 및 72시간에서 인간 BDCA2 또는 사이노 BDCA2 발현 바이러스를 함유하는 세포 배양 상청액을 수집하고, 1E8 EU/mL로 농축했다.

[0282] CHOK1 세포를 대수 성장기까지 사전 배양하고, 이어서 소화하고, 6웰 세포 배양 플레이트에 1E5/웰로 플레이팅하고, 밤새 배양하여 부착시켰다. 그 후, 농축된 인간 BDCA2 바이러스를 사전-부착된 6웰 플레이트 세포에 감염량(100μl, 200μl)을 증가시키면서 첨가하고, 감염된 세포를 푸로마이신-함유 배지로 스크리닝하고, 이어서 항원 발현량을 유세포 분석에 의해 측정하고, 세포를 서브클로닝 처리했다. 유세포 분석은 참조 항체 BIIB059를 사용하여 수행되었고, 그 결과는 대조군 hIgG와 비교하여 BDCA2의 유의한 결합을 나타냈다. 항원 발현이 높은 모노클로날을 선택하고, 이후 세포주로서 확장했다.

[0283] 293F 세포를 대수 성장기까지 사전 배양하고, 이어서 소화하고, 6웰 세포 배양 플레이트에 1E5/웰로 플레이팅하고, 밤새 배양하여 부착시켰다. 그 후, 농축된 사이노 BDCA2 바이러스를 사전 부착된 6웰 플레이트 세포에 감염량(100μl, 200μl)을 증가시키면서 첨가하고, 감염된 세포를 푸로마이신-함유 배지로 스크리닝하고, 이어서 유세포 분석에 의해 항원 발현량을 측정하고, 세포를 서브클로닝 처리했다. 유세포 분석은 참조 항체 BIIB059를 사용하여 수행되었고, 그 결과는 대조군 hIgG와 비교하여 BDCA2의 유의한 결합을 나타냈다. 항원 발현이 높은 모노클로날을 선택하고, 이후 세포주로 확장했다.

[0284] **실시예 3: 마우스 하이브리도마 세포의 제조**

[0285] 3.1 마우스의 면역화 및 혈청 역가의 검출

[0286] 3.1.1 마우스의 면역화 프로토콜

[0287] 총 3개 그룹의 마우스(그룹당 5마리)를 면역화당 14일 간격으로 2개 면역화 경로로 면역화했다. 생물학적(pCP-EF1a-BDCA2-CMV-FcεRIγ) + 단백질(인간BDCA2 Fc) 혼합 프로토콜을 5회 사용하여 5마리의 Balb/c 마우스(SLAC로부터 구입, BALB/c, 암컷, 8주)의 그룹 1 및 5마리의 SJL 마우스(SLAC로부터 구입, BALB/c, 암컷, 8주)의 그룹 2: 최초 4회의 생물학적 면역화는 매회 4μg 용량으로; 5회차 단백질 면역화는 25g/마우스 용량으로. 5마리의 SJL 마우스(SLAC로부터 구입, 암컷, 8주)의 그룹 3은 순수 단백질(인간BDCA2 Fc)로 1차 50g/용량 및 2차 25g/용량으로 총 3회 면역화를 위해 면역화했다. 표 1을 참조한다.

[0288] [표 1]

[0289] 마우스의 면역화 프로토콜

면역원	동물 그룹화	균주	경로	용량 (μg/동물)	애주번트
플라스미드 + 단백질 혼합물	G1 (9731,9732,9733,9734,9735)	Balb/c	유전자총 (Gene gun)	4/4/4/4; 25	GM-CSF & FLT3L
	G2 (9736,9737,9738,9739,9740)	SJL			
BDCA2-Fc 단백질	G3 (9946,9947,9948,9949,9950)	SJL	I.P.	50/25/25	CFA/IFA /IFA

[0290]

[0291] 3.1.2 마우스의 면역화 역가의 검출

[0292] 면역화된 마우스로부터의 혈청 샘플을 복수의 시점에서 수집하고, ELISA 및 FACS 검정을 각각 수행했다. 몇몇 검정의 결과(최후의 마우스 혈청 검정(TB)을 주요 참조 인자로서 사용, 상세한 결과는 제시되지 않음)에 기반하여, 총 4마리의 마우스를 선택하고, 2개의 융합을 수행했다: 융합 # F0223은 G1 그룹에서 Balb/c # 9735 및 G2 그룹에서 SJL # 9740의 형광 강도가 가장 높은 마우스 2마리를 선택하고; 융합 # F0511은 G3 그룹에서 SJL # 9947 및 SJL # 9948의 형광 강도가 가장 높은 마우스 2마리를 선택했다.

[0293] 3.2 세포의 융합

[0294] 최후 부스트 투여 후 4일차에 마우스를 희생시킨 후에 비장세포를 수집하고, 림프구-풍부한 현탁액을 생리식염수에서 분쇄한 후에 채취하고, 고효율 전기-융합을 사용한 세포 융합을 위한 종래의 전기-형질도입에 의해 마우스 골수종 세포 Sp2/0과 혼합했다.

[0295] 융합 세포를 HT(하이포크산틴, 티미딘)를 함유한 DMEM 배지에서 희석하고, 96웰 플레이트에 일정 비율로 플레이팅하고, 5% CO_2에서 37℃ 인큐베이터에서 밤새 배양하고, 24시간 후에 2*HAT(하이포크산틴, 메토트렉세이트 및 티미딘을 함유)를 함유한 DMEM 배지를 첨가하여 성공적으로 융합된 세포(하이브리도마 세포)를 스크리닝했다.

[0296] DMEM 완전 배지의 제형은 15% FBS(태아 소 혈청) + 1:50 L-글루타민 + 100 U/mL 페니실린&스트렙토마이신 + 1:100 OPI(옥살로아세테이트, 피루베이트 및 인슐린)이고, 인큐베이터의 조건은 8% CO_2, 37℃였다.

[0297] **실시예 4: 마우스 하이브리도마 세포의 스크리닝 및 항-BDCA2 마우스 항체의 정제**

[0298] 융합 세포를 약 10일간 배양 및 스크리닝한 후에 상청액 중의 BDCA2 항체의 발현을 아쿠멘(Acumen) 레이저 세포 검출기로 검출하고, 검출용 양성 세포는 CHOK1-인간BDCA2이고, 음성 세포는 CHOK1-블랭크이고, 양성 대조군 항체는 참조 항체 BIIB059였다. 아쿠멘 결과에 따라, 양성 클론은 확장 배양을 위해 24-웰 플레이트에 선택하고, 24-웰 플레이트에서 확장 배양으로부터의 상청액은 하기 방법을 사용하여 3일 배양 후 수집했다: 1) CHOK1-인간 BDCA2 세포 및 293F-사이노BDCA2 세포에 대한 결합 활성의 FACS; 2) 인간BDCA2 Fc 단백질 및 사이노BDCA2 His 단백질에 대한 결합 활성의 ELISA; 3) CpG-A가 PBMC에 의한 사이토카인 IFNα의 생산을 자극하는 실험에서 억제 활성의 검출(IFNα의 생산 억제).

[0299] 189개의 하이브리도마 세포를 F0223의 융합으로부터 수득된 폴리클로날 하이브리도마 세포에서 아쿠멘 결합 검정에 의해 스크리닝하였고, 분비된 항체는 hBDCA2에 특이적으로 결합할 수 있다. 결합에 양성인 189개의 하이브리도마 세포를 24-웰 플레이트에서 재-스크리닝하기 위해 추가로 확장한 결과, 28개의 하이브리도마 세포에 의해 발현된 항체는 ELISA 검정에서 hBDCA2 및 사이노 BDCA2와 결합할 수 있고, FACS에서 세포 표면에 발현된 hBDCA2 및 사이노 BDCA2와 결합할 수 있으며, IFNα-차단 실험에서 PBMC 세포로부터의 IFNα 분비의 CpG 유도를 억제할 수 있다는 것을 나타냈다. 이어서, 28개의 하이브리도마 세포를 서브클로닝했다. 서브클론에서 18개의 차단 모노클로날 세포주(mAb001-mAb018로 넘버링됨)를 스크리닝했다.

[0300] 168개의 하이브리도마 세포를 F0511의 융합으로부터 수득된 폴리클로날 하이브리도마 세포에서 아쿠멘(Acumen) 결합 검정에 의해 스크리닝하였고, 분비된 항체는 hBDCA2에 특이적으로 결합할 수 있다. 결합에 양성인 168개의 하이브리도마 세포를 24-웰 플레이트에서 재-스크리닝하기 위해 추가로 확장한 결과, 35개의 하이브리도마 세포에 의해 발현된 항체는 ELISA 검정에서 hBDCA2 및 사이노 BDCA2와 결합할 수 있고, FACS에서 세포 표면에 발현된 hBDCA2 및 사이노 BDCA2와 결합할 수 있으며, IFNα-차단 실험에서 PBMC 세포로부터의 IFNα 분비의 CpG

유도를 억제할 수 있다는 것을 나타냈다. 이어서, 35개의 하이브리도마 세포를 서브클로닝했다. 서브클론에서 16개의 차단 모노클로날 세포주(mAb019-mAb034로 넘버링됨)를 스크리닝했다.

[0301] 2회의 융합 및 스크리닝을 통해 최종적으로 총 34개의 양성 모노클론을 수득했다. 분비된 항체를 정제하고, 농도, 품질, 순도 및 내독소 함량이 후속 실험의 요건을 충족하는지 분석했다.

[0302] **실시예 5: 항-BDCA2 마우스 항체의 성능의 결정**

[0303] 수득된 마우스 항체는 모두 인간BDCA2 Fc 단백질에 대해 양호한 결합 활성을 갖고, ELISA로 측정한 바 EC_{50} < 0.3nM였다. 마우스 항체는 사이노BDCA2 His 단백질에 대해 양호한 결합을 갖고, 대부분의 항체는 ELISA로 측정한 바 EC_{50} <0.5 nM을 나타냈다.

[0304] 모든 마우스 항체는 CHOK1-인간BDCA2 세포에 결합하고(도 1a-1e의 결과를 참조), EC_{50}는 대조군 항체 BIIB059보다 우수하거나 필적하였다. 대부분의 마우스 항체는 293F-사이노BDCA2 세포에 결합하고(도 2a-2e의 결과를 참조), EC_{50}는 대조군 항체 BIIB059보다 우수하거나 필적하였다.

[0305] CHOK1-인간BDCA2 및 293F-사이노BDCA2 세포 둘 다에 결합하는 32개의 항체를 CpG-A 자극된 PBMC 실험에서 사이토카인 IFNα 방출을 억제하는 능력에 대해 시험했다. 이 항체들은 모두 어느 정도의 억제 활성을 가졌다. 이들 중, mAb005, mAb019, mAb020, mAb021, mAb022, mAb024, mAb027, mAb030, mAb033의 사이토카인 방출 억제 IC_{50}는 0.08667nM, 0.003323nM, 0.006146nM, 0.004047nM, 0.006232nM, 0.002744nM, 0.07004nM, 0.004762nM 및 0.004083nM이다.

[0306] 상기 실험 절차는 하기와 같으며, 여기서 mAb001-mAb034는 본 발명의 마우스 항체이고, BIIB059는 전술한 참조 항체이고, hIgG1은 인간 IgG1 음성 대조군이고, mIgG1은 마우스 IgG1 음성 대조군이다.

[0307] 5.1 ELISA에 의한 단백질에 대한 마우스 항체의 결합 활성의 검출

[0308] 인간BDCA2 Fc 단백질 또는 사이노BDCA2 His 단백질을 PBS로 1μg/mL로 희석하고, 100μL/웰로 ELISA 마이크로플레이트에 첨가하고, 4℃에서 밤새 인큐베이팅했다. 플레이트를 37℃에서 2시간 동안 ELISA 차단 용액(1% BSA를 갖는 PBS 인산염 완충액, pH 7.4, 질량 백분율을 나타내는 백분율)으로 차단했다. 항체의 순차적인 10배 단계 희석물을 총 8개 농도(0.0001 nM-100 nM, 0점 대조군을 포함)로 합계 100μL/웰에 첨가했다. 플레이트를 37℃에서 1시간 동안 인큐베이팅한 후, 3회 세척하고, 항-마우스 IgG(Fab 특이적)-HRP(Sigma, A3682, 1:5000 희석) 2차 항체를 100μL/웰에 첨가한 후, 37℃에서 1시간 동안 인큐베이팅했다. 플레이트를 3회 세척하고, TMB 전개액(EL0009, Huzhou Ying Chuang Biotechnology)을 100μL/웰로 첨가하고, 37℃에서 10분간 인큐베이팅한 후에 50μL 1N 염산을 첨가하여 전개 반응을 중지시켰다. OD450nm 값을 ELISA 플레이트 판독기로 판독하고, 그래프패드 프리즘6(GraphPad Prism6)을 사용하여 곡선을 적합시키고, EC_{50} 값을 계산했다.

[0309] 5.2 FACS 방법에 의한 세포에 대한 마우스 항체의 결합 활성의 검출

[0310] 대수 성장기까지 배양된 CHOK1-인간BDCA2 및 293F-사이노BDCA2 세포를 TrypLE로 트립신 처리했다. 세포를 회수하고, FACS 완충액(PBS + 2% FBS)을 사용하여 2×10^6/mL로 재현탁시켰다. 세포를 3799 세포 플레이트(Corning)에 100μL/웰로 첨가하고, 300g에서 원심분리 후 상청액을 폐기했다. 항체를 FACS 완충액(Id.)으로 단계적으로 희석하고, 희석된 항체를 원심분리된 세포에 첨가하고, 세포를 재현탁시켰다. 세포를 4℃에서 1시간 동안 인큐베이팅했다. 인큐베이팅된 세포를 300g에서 5분간 원심분리하고, FACS 완충액으로 2회 세척했다. 100μL 당나귀 항-마우스 IgG(H + L) 고도로 교차-흡착된 2차 항체-알렉사(Alexa) 플루오르 488(Invitrogen, A21202; 1:1000) 2차 항체를 세포에 첨가하고, 이를 4℃에서 1시간 동안 인큐베이팅 후에 FACS 완충액으로 2회 세척하고, PBS로 재현탁시키고, FACS(BD FACS CantoTM II) 장치로 분석했다. 그래프패드 프리즘6을 사용하여 곡선을 적합시키고, EC_{50} 값을 계산했다.

[0311] 5.3. 인간 PBMC 세포로부터 사이토카인 IFNα의 CpG-A-자극된 방출을 억제하는 마우스 항체의 능력

[0312] 1) 동결보존된 인간 PBMC 세포를 회수하고, 완전 배지(1640 + 10% FBS + 1×NEAA + 1×L-글루타민)로 18시간 동안 밤새 인큐베이팅했다. 다음 날, PBMC 세포를 수집하고, 600g에서 8분간 원심분리하고, 상청액을 폐기했다. 세포를 배지(1640 + 10% FBS)와 함께 8×10^6/mL로 재현탁시키고, 3799 세포 배양 플레이트에 100μL/웰로 첨가했다. 시험되는 항체를 배지(1640 + 10% FBS)로 10단계(최종 농도 0.0001 nM-10 nM)로 단계적으로

희석하고, 희석된 항체를 50μL/웰로 PBMC에 첨가했다. 세포를 재현탁시키고, 37℃에서 6시간 동안 인큐베이팅했다. 배지(1640 + 10% FBS)로 희석한 2μM CpG-A(Invitrogen, tlrl-2216-5) 50μL를 각 웰에 첨가하고, 혼합하고, 37℃에서 20시간 동안 계속 인큐베이팅했다. 세포 배양 플레이트를 3일차에 400g에서 5분간 원심분리하고, 세포 배양 상청액을 수집하고, 상청액 중의 사이토카인 IFNα에 대해 검정했다.

[0313] 2) ELISA에 의한 사이토카인 IFNα의 검출

[0314] 항체 MT1/3/5(Mabtech, 3425-1H-20)를 PBS로 4μg/mL로 희석하고, 웰당 100μL로 CORNING ELISA 플레이트에 첨가하고, 4℃에서 밤새 인큐베이팅하여 플레이트를 코팅했다. 이어서, 플레이트의 코팅에 사용된 항체를 폐기하고, 차단 용액(PBS + 1% BSA)을 웰당 300μL로 플레이트에 첨가하고, 4℃에서 밤새 인큐베이팅했다. 시험되는 상청액을 차단 용액으로 적절한 농도(경우에 따라 1:3-1:7로부터 선택)로 희석하고, 코팅된 ELISA 플레이트에 웰당 100μL로 첨가했다. 검출용 IFNα 표준물을 차단 용액으로 2배 단계로 희석하고(최고 농도는 1000pg/mL, 8개의 농도 포인트, 최후 포인트는 0임), 코팅된 ELISA 플레이트에 웰당 100μL로 첨가했다. ELISA 플레이트를 37℃의 인큐베이터에서 1시간 동안 인큐베이팅했다. 플레이트를 3회 세척하고, 검출 항체 MT2/4/6(1:1000)을 웰당 100μL로 첨가하고, 37℃에서 1시간 동안 인큐베이터에서 인큐베이팅했다. 플레이트를 3번 세척하고, 2차 항체 SA-HRP(1:1000)를 웰당 100μL 첨가하고, 37℃에서 0.5시간 동안 인큐베이터에서 인큐베이팅했다. 플레이트를 3회 세척하고, TMB 전개 용액을 웰당 100μL 첨가하고, 적절한 시점에 웰당 50μL의 1M HC1을 첨가하여 반응을 정지시켰다. OD450nm 판독값을 ELISA 플레이트 판독기로 측정하고, 이어서 억제율을 계산하고; 그래프패드 프리즘6을 사용하여 곡선을 적합시키고, EC_{50} 값을 계산했다.

[0315] **실시예 6: 항-BDCA2 마우스 하이브리도마(모노클로날 항체)의 가변 영역 서열의 결정(카바트 표시에 따름)**

[0316] 단백질 및 세포 수준에서 항원과 결합하는 마우스 항체의 능력, 및 PBMC 시스템에서 CpG-A 자극에 의한 사이토카인 IFNα 방출을 억제하는 항체의 능력의 결과에 기반하여 16개의 하이브리도마 모노클론을 VH/VL 서열 결정용으로 선택했다.

[0317] 항-BDCA2 마우스 항체의 가변 영역에 대응하는 DNA 코딩 서열을 축퇴 프라이머 PCR-기반 방법으로 결정했다. 세포를 1000rpm에서 원심분리하여 수집하고, 트리졸(Trizol)에 의해 총 RNA를 추출했다. 총 RNA를 주형으로 사용하여 제1 가닥 cDNA를 합성하고, 이를 후속 주형으로 사용하여 대응하는 가변 영역 DNA 코딩 서열을 pCR에 의해 증폭했다. 증폭 반응에 사용되는 프라이머 서열은 가변 영역의 제1 프레임워크 영역 및 항체의 불변 영역에 상보적이다[참조: Larrick, J.W., et al., 1990, Scand. J. Immunol., 32, 121-128 and Coloma, J. J. et al, (1991) BioTechniques, 11, 152-156]. cDNA 1μl, 10×PCR 완충액 5μl, 상류 및 하류 프라이머 각각 1μl(25pmol), dNTP 1μl, 25mmol PL $MgCl_2$ 1μl, H_2O 39μl을 각각 50μl 반응 시스템에 첨가하고, 95℃에서 10분 동안 사전-변성시키고, Taq 효소 1μl을 첨가하고, PCR 증폭을 위해 온도 순환에 들어갔다. 반응 조건은 94℃ 변성 1분, 58℃ 어닐링 1분, 72℃ 연장 15초, 총 32회 사이클, 이어서 72℃ 인큐베이팅 10분이었다. PCR 생산물을 회수하고, 정제했다. 증폭된 생산물을 서열 분석하여 항-BDCA2 마우스 항체의 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역의 아미노산 서열을 수득했다.

[0318] 컨센서스 서열은 생식세포 및 재정렬된 Ig 가변 영역 서열 데이터베이스에서 NCBI Ig-Blast(http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/igblast/)로 검색했다. 상보성 결정 영역(CDR)의 아미노산 서열은 서열 주석 및 인터넷-기반 서열 분석(http://www.imgt.org/IMGT_vquest/vquest 및 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/igblast/)에 의해 카바트(Kabat)(Wu, T.T and Kabat, E.A. 1970 J. Exp. Med., 132: 211-250) 및 IMGT 시스템(Lefranc M.-P. et al., 1999 Nucleic Acids Research, 27, 209-212)에 기반하여 동정했다.

[0319] 선택된 항-BDCA2 마우스 항체의 경쇄 및 중쇄 가변 영역의 아미노산 서열과 CDR은 표 2에 나타나 있다. 다중 서열 정렬 및 진화 트리 분류를 수행했고, 16개의 모노클로날 항체 서열 중쇄 가변 영역 VH는 그 결과에 따라 주로 5개 주요 클래스로 분류되었다: 1) mAb020, 022, 026; 2) mAb021, 027, 028, 030, 032, 034; 3) mAb019, 024, 033; 4) mAb001, 002; 5) mAb005, 016, 여기서 mAb028과 mAb030의 중쇄 가변 영역은 2개 아미노산만이 상이하고, mAb028과 mAb032는 1개의 아미노산만이 상이하다. 경쇄 가변 영역 VL은 하기의 3개 주요 클래스로 분류할 수 있다: 1) mAb019; 2) mAb021, 027, 028, 030, 032, 034; 3) 기타 항체. 여기서, mAb028, 030, 032의 경쇄 가변 영역의 서열은 동일하다.

[0320] [표 2]

[0321] 항-BDCA2 마우스 항체의 CDR 및 가변 영역의 아미노산 서열(KABAT 프로토콜)

마우스 항체	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCDR2	LCDR3	VH	VL
mAb001	서열번호 1	서열번호 2	서열번호 3	서열번호 4	서열번호 5	서열번호 6	서열번호 57	서열번호 58
mAb002	서열번호 7	서열번호 2	서열번호 8	서열번호 9	서열번호 10	서열번호 6	서열번호 59	서열번호 60
mAb005	서열번호 11	서열번호 12	서열번호 13	서열번호 14	서열번호 15	서열번호 16	서열번호 61	서열번호 62
mAb016	서열번호 17	서열번호 12	서열번호 13	서열번호 18	서열번호 15	서열번호 16	서열번호 63	서열번호 64
mAb019	서열번호 19	서열번호 20	서열번호 21	서열번호 22	서열번호 23	서열번호 24	서열번호 65	서열번호 66
mAb020	서열번호 25	서열번호 26	서열번호 27	서열번호 28	서열번호 29	서열번호 30	서열번호 67	서열번호 68
mAb021	서열번호 31	서열번호 32	서열번호 33	서열번호 34	서열번호 35	서열번호 36	서열번호 69	서열번호 70
mAb022	서열번호 25	서열번호 26	서열번호 37	서열번호 28	서열번호 29	서열번호 30	서열번호 71	서열번호 68
mAb024	서열번호 38	서열번호 39	서열번호 40	서열번호 41	서열번호 15	서열번호 42	서열번호 72	서열번호 73
mAb026	서열번호 31	서열번호 43	서열번호 27	서열번호 44	서열번호 45	서열번호 30	서열번호 74	서열번호 75
mAb027	서열번호 31	서열번호 46	서열번호 47	서열번호 34	서열번호 48	서열번호 49	서열번호 76	서열번호 77
mAb028	서열번호 25	서열번호 50	서열번호 47	서열번호 34	서열번호 51	서열번호 49	서열번호 78	서열번호 79
mAb030	서열번호 31	서열번호 50	서열번호 47	서열번호 34	서열번호 51	서열번호 49	서열번호 80	서열번호 79
mAb032	서열번호 25	서열번호 50	서열번호 47	서열번호 34	서열번호 51	서열번호 49	서열번호 81	서열번호 79
mAb033	서열번호 52	서열번호 39	서열번호 53	서열번호 54	서열번호 55	서열번호 42	서열번호 82	서열번호 83
mAb034	서열번호 25	서열번호 56	서열번호 47	서열번호 34	서열번호 35	서열번호 49	서열번호 84	서열번호 85

[0322]

[0323] **실시예 7: 항-BDCA2 키메라 항체의 작제**

[0324] 서열 검출 결과에 따라 인간-마우스 키메라 항체 작제를 위해 총 12개의 모노클로날 항체 서열을 선택하고, 플라스미드 작제 중에 인간 불변 영역 서열로서 hIgG1 Fc 단편의 서열을 선택했다. 항-BDCA2 마우스 항체의 중쇄 및 경쇄 가변 영역의 코딩 서열은 젠스크립트 코포레이션에 의해 합성되었다. 항체 발현은 숙주 세포로서 expi 293F를 사용하여 수행했다. 수득된 키메라 항체는 각각 mab001c, mab002c, mab005c, mab016c, mab019c, mab020c, mab021c, mab022c, mab024c, mab027c, mab030c 및 mab033c였고, 발현된 키메라 항체는 개별적으로 특성화되었다.

[0325] **실시예 8: 키메라 항체의 스크리닝**

[0326] 8.1. ELISA에 의한 단백질에 대한 항-BDCA2 키메라 항체의 결합 활성의 검출

[0327] 인간BDCA2 Fc 단백질 또는 사이노BDCA2 His 단백질을 PBS로 1μg/mL로 희석하고, 100μL/웰로 ELISA 마이크로플레이트에 첨가하고, 4℃에서 밤새 인큐베이팅했다. 37℃에서 2시간 동안 ELISA 차단 용액(1% BSA를 갖는 PBS 인산염 완충액, pH 7.4, 백분율은 질량 백분율임)으로 차단을 수행했다. 항체의 순차적인 10배 단계 희석물을 8개의 농도 포인트(0.0001nM-100nM, 0 포인트 대조군을 포함)에 대해 첨가했다. 플레이트를 37℃에서 100μL/웰에서 1시간 동안 인큐베이팅했다. 플레이트를 3회 세척하고, 항-인간 IgG(Fab 특이적)-HRP(Sigma, A0293; 1:5000 희석) 2차 항체를 100μL/웰로 첨가하고, 37℃에서 1시간 동안 인큐베이팅했다. 플레이트를 3회 세척하고, TMB 전개액(EL0009, Huzhou Ying Chuang Biotechnology)을 100μL/웰로 첨가하고, 37℃에서 10분간 인큐베이팅한 후에 50μL 1N 염산을 첨가하여 전개 반응을 중지시켰다. OD450nm 값을 ELISA 플레이트 판독기로 판독하고, 그래프패드 프리즘6을 사용하여 곡선을 적합시키고, EC_{50} 값을 계산했다.

[0328] 8.2. FACS 방법에 의한 세포에 대한 키메라 항체의 결합 활성의 검출

[0329] 대수 성장기까지 배양된 CHOK1-인간BDCA2 및 293F-사이노BDCA2 세포를 TrypLE로 트립신 처리했다. 세포를 회수

하고, FACS 완충액(PBS + 2% FBS)을 사용하여 2×10^6/mL로 재현탁시켰다. 세포를 3799 세포 플레이트(Corning)에 100μL/웰로 첨가하고, 300g에서 원심분리 후에 상청액을 폐기했다. 항체를 FACS 완충액(Id.)으로 단계적으로 희석하고, 희석된 항체를 원심분리된 세포에 첨가하고, 세포를 재현탁시켰다. 세포를 4℃에서 1시간 동안 인큐베이팅했다. 인큐베이팅된 세포를 300g에서 5분간 원심분리하고, FACS 완충액으로 2회 세척했다. 100μL 당나귀 항-인간 IgG (H + L) 교차-흡착된 2차 항체-알렉사 플루오르(Alexa Fluor) 488(Sigma, A11013; 1:1000) 2차 항체를 첨가하고, 4℃에서 1시간 동안 인큐베이팅 후에 FACS 완충액으로 2회 세척하고, PBS로 재현탁시키고, FACS(BD FACS CantoTM II) 장치로 분석하고, 그래프패드 프리즘6으로 곡선을 적합시키고, EC_{50} 값을 계산했다.

[0330] 도 3(3a-3c)에 나타낸 바와 같이, 모든 시험된 키메라 항체는 대조군 항체 BIIB059보다 우수하거나 필적하는 EC_{50}으로 CHOK1-인간BDCA2 세포에 결합했다. 동시에, 모든 시험된 키메라 항체는 대조군 항체 BIIB059보다 우수하거나 필적하는 대략 0.3-2nM의 EC_{50}으로 293F-사이노BDCA2 세포에 결합했다.

[0331] 8.3. CpG-A를 억제하여 인간 PBMC 세포로부터 사이토카인 IFNα 방출을 자극하는 키메라 항체의 능력의 검출

[0332] 동결보존된 인간 PBMC 세포를 회수하고, 완전 배지(1640 + 10% FBS + 1×NEAA + 1×L-글루타민)와 함께 18시간 동안 밤새 인큐베이팅했다. 다음 날, PBMC 세포를 수집하고, 600g에서 8분간 원심분리하고, 상청액을 폐기했다. 세포를 배지(1640 + 10% FBS)와 함께 8×10^6/mL로 재현탁시키고, 3799개의 세포 배양 플레이트에 100μL/웰로 첨가했다. 시험되는 항체를 배지(1640 + 10% FBS)로 10 단계로 단계적으로 희석(최종 농도, 0.0001nM-10nM)하고, 희석된 항체를 50μL/웰로 PBMC에 첨가했다. 세포를 재현탁시키고, 37℃에서 6시간 동안 인큐베이팅했다. 50μL 배지(1640 + 10% FBS)로 희석한 2μM CpG-A(Invitrogen, tlrl-2216-5)를 웰당 첨가하고, 충분히 혼합하고, 37℃에서 20시간 동안 계속 인큐베이팅했다. 세포 배양 플레이트를 3일차에 400g에서 5분간 원심분리하고, 세포 배양 상청액을 수집하고, 상청액 중의 사이토카인 IFNα에 대해 검정했다.

[0333] 항체 MT1/3/5(Mabtech, 3425-1H-20)를 PBS로 4μg/mL로 희석하고, 웰당 100μL로 CORNING ELISA 플레이트에 첨가하고, 코팅된 플레이트를 4℃에서 밤새 인큐베이팅했다. 이어서, 플레이트에 코팅된 항체를 폐기하고, 차단 용액(PBS + 1% BSA)을 웰당 300μL로 플레이트에 첨가하고, 4℃에서 밤새 인큐베이팅했다. 시험되는 상청액을 차단 용액으로 적절한 농도(일반적으로 1:3-1:7 범위)로 희석하고, 코팅된 ELISA 플레이트에 웰당 100μL로 첨가했다. IFNα 검출 표준물을 차단 용액으로 2배 단계로 희석하고(최고 농도는 1000 pg/mL임, 8개의 농도 포인트, 최후 포인트는 0임), 코팅된 ELISA 플레이트에 웰당 100μL로 첨가했다. ELISA 플레이트는 37℃에서 1시간 동안 인큐베이터에서 인큐베이팅했다. 플레이트를 3회 세척하고, 검출 항체 MT2/4/6(1:1000)을 웰당 100μL로 첨가하고, 37℃에서 1시간 동안 인큐베이터에서 인큐베이팅했다. 플레이트를 3회 세척하고, 2차 항체 SA-HRP(1:1000)를 웰당 100μL 첨가하고, 37℃에서 0.5시간 동안 인큐베이터에서 인큐베이팅했다. 플레이트를 3회 세척하고, TMB 전개 용액을 웰당 100μL로 첨가하고, 1M HCl을 웰당 50μL 첨가하여 적절한 시간에 반응을 중지했다. OD450nm 판독값을 ELISA 플레이트 판독기로 판독하고, 억제율을 계산하고, 그래프패드 프리즘6을 사용하여 곡선을 적합시키고, EC_{50} 값을 계산했다.

[0334] 시험된 12개의 키메라 항체는 모두 PBMC로부터 CpG-A 자극된 사이토카인 방출의 실험에서 사이토카인 IFNα의 분비를 억제할 수 있었고, mab005c, mab019c, mab020c, mab021c, mab022c, mab024c, mab027c, mab030c 및 mab033c의 IC_{50}은 각각 0.008359nM, 0.01493nM, 0.01853nM, 0.01268nM, 0.03239nM, 0.01677nM, 0.008976nM, 0.01645nM 및 0.008331nM이다.

[0335] 8.4. 키메라 항체의 내재화 능력의 검출

[0336] 대수 성장기까지 배양된 CHOK1-인간BDCA2 세포를 TrypLE로 트립신 처리했다. 세포를 회수하고, FACS 완충액(PBS + 2% FBS)으로 2×10^6/mL로 재현탁시켰다. 세포를 3799 세포 플레이트에 100μL/웰로 첨가하고, 300g에서 원심분리한 후 상청액을 폐기하고, 세포를 아이스박스에 넣어 냉각시켰다. 항체를 FACS 완충액으로 단계적으로 희석하고(3개 농도로 설정: 100nM, 10nM, 1nM; 및 각각 3개 그룹: 0시간 대조군; 4℃, 1시간; 37℃, 1시간), 이어서 아이스박스에 넣어 15분 동안 냉각시키고, 15분 후 원심분리된 세포에 항체를 첨가하고, 세포를 재현탁시키고, 4℃에서 40분 동안 인큐베이팅했다. 인큐베이팅된 세포를 300g에서 5분간 원심분리하고, FACS 완충액으로 2회 세척했다. 0시간 그룹의 세포를 파라포름알데히드로 실온에서 10분간 고정하고, FACS 완충액으로 2회 세척하고; 추가 2개 그룹의 세포를 100μL FACS 완충액으로 재현탁시키고, 각각 4℃ 및 37℃에서 1시간 동안 인

큐베이팅했다. 4℃에서 1시간 및 37℃에서 1시간 동안의 그룹의 세포를 실온에서 10분 동안 파라포름알데히드로 고정하고, FACS 완충액으로 2회 세척했다. 3개 그룹의 세포에 2차 항체 염소 항-인간 IgG(H + L) 교차-흡착된 2차 항체-알렉사 플루오르 488(Sigma, A11013; 1:1000) 100μL를 동시에 첨가하고, 4℃에서 1시간 동안 인큐베이팅했다. 세포를 FAC 완충액으로 2회 세척하고, 이어서 PBS로 재현탁시키고, FACS 장치로 분석하고, 표면 신호의 백분율을 계산했다.

[0337] 키메라 항체의 내재화는 100nM, 10nM 및 1nM 농도에서 발생했고, 12개의 키메라 항체 능력은 양성 대조군 항체 BIIB059와 큰 차이가 없거나 약간 더 양호했다. 세포 표면 신호 값은 37℃에서 100nM로 1시간 동안 내재화했을 때에 50% 내지 60%였다.

[0338] 실시예 9: 항체의 가변 영역의 인간화

[0339] 항체의 가변 영역의 인간화를 위해, 먼저 마우스 항체의 cDNA 서열과 상동성인 인간 생식세포 IgG 유전자를 NCBI(http://www.ncbi.nlm.nih.gov/igblast/) 웹사이트의 인간 면역글로불린 유전자 데이터베이스에서 검색하고, 이어서 카바트(Kabat) 넘버링 체계 또는 IMGT 넘버링 체계에 의해 정확한 경계를 정의했다. 원칙적으로, 마우스 항체와 상동성이 높은 인간 IGHV를 인간화 주형으로 선택하고, 항체의 가변 영역의 인간화를 CDR 그래프팅에 의해 수행한다.

[0340] 상기에서 수득된 마우스 항체의 서열로부터 인간화를 위해 mAb005 및 mAb033을 선택했다. 인간화 프로세스의 단계는 다음과 같다: A. 마우스 항체의 유전자 서열을 인간 생식세포 항체의 유전자 서열과 정렬하여 상동성이 높은 서열을 발견하고; b. HLA-DR 친화성을 조사하여 친화성이 낮은 인간 생식세포 프레임워크 서열을 선택하는 분석; c. 분자 도킹을 적용하여, 공간적 입체 결합 접근법을 조사하기 위해 인 실리코(in silico) 기술을 활용하여 가변 영역 및 이들의 주변의 프레임워크 아미노산 서열을 분석했다. 정전기력, 반데르발스 힘, 친수성 및 엔트로피 값을 계산하여 분석함으로써 인간 BDCA2와 작용하여 공간적 프레임워크를 유지할 수 있는 마우스 항체 유전자 서열의 주요 아미노산을 수득하고, 이어서 이들 아미노산을 선택된 인간 생식세포 유전자 프레임워크에 다시 그래프팅하고, 반드시 유지되어야 하는 프레임워크 영역의 아미노산 부위를 이에 기초하여 동정하고, 이어서 인간화 항체를 합성했다. 이를 기반으로, 다양한 인간화 항체 가변 영역 서열을 수득하고, 인간화 항-BDCA2 항체의 설계된 가변 영역의 다양한 조합에 의해, 가변 영역 아미노산 서열이 표 3에 명시된 인간화 항-BDCA2 항체를 수득했다.

[0341] Hu005 계열 인간화 항체(KABAT 체계)의 가변 영역의 CDR은 하기에 나타나 있다:

[0342] HCDR1: NYGVH (서열번호 11)

[0343] HCDR2: VIWSGESTDYDAAFIS (서열번호 12)

[0344] HCDR3: RRSHYYGYVMDY (서열번호 13)

[0345] LCDR1; KASQSIDYDAIGYLN (서열번호 86)

[0346] LCDR2: AASNLES (서열번호 15)

[0347] LCDR3: QQSNEDPPT (서열번호 16)

[0348] Hu003 계열 인간화 항체(KABAT 체계)의 가변 영역의 CDR은 하기에 나타나 있다:

[0349] HCDR1: SYGMS (서열번호 52)

[0350] HCDR2: TISSGDSYTYYPDSVKG (서열번호 39)

[0351] HCDR3: QIYYDYAYYFDF (서열번호 53)

[0352] LCDR1: RASESVSFRTSHLMH (서열번호 54)

[0353] LCDR2: GASNLES (서열번호 55)

[0354] LCDR3: QQSEDPPT (서열번호 42)

[0355] [표 3]

[0356] 항-BDCA2 인간화 항체의 가변 영역의 아미노산 서열

항체	VH	VL	항체	VH	VL	항체	VH	VL
Hu033-01	서열번호 87	서열번호 135	Hu033-17	서열번호 103	서열번호 151	Hu005-09	서열번호 119	서열번호 167
Hu033-02	서열번호 88	서열번호 136	Hu033-18	서열번호 104	서열번호 152	Hu005-10	서열번호 120	서열번호 168
Hu033-03	서열번호 89	서열번호 137	Hu033-19	서열번호 105	서열번호 153	Hu005-11	서열번호 121	서열번호 169
Hu033-04	서열번호 90	서열번호 138	Hu033-20	서열번호 106	서열번호 154	Hu005-12	서열번호 122	서열번호 170
Hu033-05	서열번호 91	서열번호 139	Hu033-21	서열번호 107	서열번호 155	Hu005-13	서열번호 123	서열번호 171
Hu033-06	서열번호 92	서열번호 140	Hu033-22	서열번호 108	서열번호 156	Hu005-14	서열번호 124	서열번호 172
Hu033-07	서열번호 93	서열번호 141	Hu033-23	서열번호 109	서열번호 157	Hu005-15	서열번호 125	서열번호 173
Hu033-08	서열번호 94	서열번호 142	Hu033-24	서열번호 110	서열번호 158	Hu005-16	서열번호 126	서열번호 174
Hu033-09	서열번호 95	서열번호 143	Hu005-01	서열번호 111	서열번호 159	Hu005-17	서열번호 127	서열번호 175
Hu033-10	서열번호 96	서열번호 144	Hu005-02	서열번호 112	서열번호 160	Hu005-18	서열번호 128	서열번호 176
Hu033-11	서열번호 97	서열번호 145	Hu005-03	서열번호 113	서열번호 161	Hu005-19	서열번호 129	서열번호 177
Hu033-12	서열번호 98	서열번호 146	Hu005-04	서열번호 114	서열번호 162	Hu005-20	서열번호 130	서열번호 178
Hu033-13	서열번호 99	서열번호 147	Hu005-05	서열번호 115	서열번호 163	Hu005-21	서열번호 131	서열번호 179
Hu033-14	서열번호 100	서열번호 148	Hu005-06	서열번호 116	서열번호 164	Hu005-22	서열번호 132	서열번호 180
Hu033-15	서열번호 101	서열번호 149	Hu005-07	서열번호 117	서열번호 165	Hu005-23	서열번호 133	서열번호 181
Hu033-16	서열번호 102	서열번호 150	Hu005-08	서열번호 118	서열번호 166	Hu005-24	서열번호 134	서열번호 182

[0357]

[0358] **실시예 10: 인간화 항-BDCA2 항체의 스크리닝**

[0359] 10.1. BDCA2에 대한 인간화 항체의 결합 활성

[0360] 대수 성장기까지 배양된 CHOK1-인간BDCA2 및 293F-사이노BDCA2 세포를 TrypLE로 트립신 처리했다. 세포를 회수하고, FACS 완충액(PBS + 2% FBS)을 사용하여 2×10^{6}/mL로 재현탁시켰다. 재현탁된 세포를 3799 세포 플레이트에 100μL/웰로 첨가하고, 상청액은 300g에서 원심분리 후에 폐기했다. 검출되는 항체를 FACS 완충액으로 5배 단계로 희석하고(최종 농도는 0.012nM-200nM), 희석된 항체를 원심분리된 세포에 첨가하고, 세포를 재현탁시켰다. 세포를 4℃에서 1시간 동안 인큐베이팅했다. 인큐베이팅된 세포를 300g에서 5분간 원심분리하고, FACS 완충액으로 2회 세척했다. 100μL 염소 항-인간 IgG(H + L) 교차-흡착된 2차 항체, 알렉사 플루오르 488(Sigma, A11013; 1:1000) 2차 항체를 첨가하고, 4℃에서 1시간 동안 인큐베이팅한 후에 FACS 완충액으로 2회 세척했다. 세포를 PBS로 재현탁시키고, 이어서 세포 표면에 결합된 항체의 형광 신호를 FACS(BD FACS CantoTM II) 장치로 분석하고, 그래프패드 프리즘6으로 곡선을 적합시켜, BDCA2 항원에 결합하는 항체의 EC_{50} 값을 계산했다. BIIB059 항체를 양성 대조군으로 선택하고, hIgG1을 음성 대조군으로 선택했다.

[0361] mAb033 서열의 인간화 후에 수득된 후보 항체(CHOK1-인간BDCA2 및 293F-사이노BDCA2 세포에 결합하는 이의 활성은 양성 대조군 BIIB059 항체보다 더 높았다)는 표 4에 나타나 있다. 인간 BDCA2에 대한 항체 친화성은 SPR을 사용하여 결정하고, 선택된 항체는 양성 대조군 BIIB059 항체보다 인간 BDCA2에 대해 더 강력한 친화성을 나타냈다.

[0362] [표 4]

[0363] BDCA2에 대한 mAb033 계열 인간화 항체의 결합 활성

항체 수	CHOK1-hBDCA2 EC_{50} (nM)	293F-사이노BDCA2 EC_{50} (nM)
BIIB059	1.30	1.63
hIgG1	-	-
mAb033c	0.26	0.56
Hu033-02(BM2)	0.44	1.20
Hu033-03(BM3)	0.50	1.40
Hu033-04(BM0)	0.61	1.33
Hu033-06(BM3)	0.62	1.41
Hu033-08(BM2)	0.62	1.53
Hu033-10(BM4)	0.51	1.27
Hu033-12(BM2)	0.45	1.07
Hu033-13(BM4)	0.68	1.13
Hu033-15(BM2)	0.76	1.27
Hu033-16(BM4)	0.63	1.37
Hu033-20(BM3)	0.64	1.22
Hu033-23(BM3)	0.79	1.24

[0364]

[0365] 주: "-"는 검출되지 않은 것을 나타낸다.

[0366] 표 5에 제시된 바와 같이, mAb005 서열의 인간화로부터 수득된 후보 항체는 양성 대조군 BIIB059 항체보다 더 양호한 EC_{50} 값으로 CHOK1-인간BDCA2 세포에 결합했다. 동시에, mAb005 서열의 인간화로부터 수득된 후보 항체는 293F-사이노BDCA2 세포에 대해서도 더 양호한 결합 활성을 나타냈다.

[0367] [표 5]

[0368] BDCA2에 대한 mAb005 계열 인간화 항체의 결합 활성

항체 수	CHOK1-hBDCA2 EC_{50} (nM)
mAb005c	2.2
BIIB059	3.1
hu005-03(BM4)	2.1
hu005-04(BM6)	2.3
hu005-07(BM5)	2.0
hu005-08(BM7)	2.3
hu005-24(BM6)	1.9

[0369]

[0370] 10.2. CpG-A를 억제하여 인간 PBMC 세포로부터 사이토카인 IFNα 방출을 자극하는 인간화 항체의 능력

[0371] 인간 PBMC 세포로부터 사이토카인 IFNα 방출의 CpG-A 자극을 억제하는 기능 검정을 위해 일련의 인간화 후보 항체 분자를 선택했다. 동결보존된 인간 PBMC 세포를 회수하고, 완전 배지(1640 + 10% FBS + 1×NEAA + 1×L-글루타민)로 18시간 동안 밤새 인큐베이팅했다. 다음 날, PBMC 세포를 수집하고, 600g에서 8분간 원심분리하고, 상청액을 폐기했다. 세포를 배지(1640 + 10% FBS)와 함께 8×10^6/mL로 재현탁시키고, 3799 세포 배양 플레이트에 100μL/웰로 첨가했다. 시험되는 항체를 배지(1640 + 10% FBS)로 10배 단계(0.0001nM-10nM 및 0포인트 대조군)로 희석하고, 희석된 항체를 50μL/웰로 PBMC에 첨가했다. 세포를 재현탁시키고, 37℃에서 6시간 동안 인큐베이팅했다. 50μL 배지(1640 + 10% FBS)로 희석한 2μM CpG-A(Invitrogen, tlrl-2216-5)를 웰당 첨가하고, 충분히 혼합하고, 37℃에서 20시간 동안 계속 인큐베이팅했다. 세포 배양 플레이트를 3일차에 400g에서 5분간 원심분리하고, 세포 배양 상청액을 수집하고, 상청액 중의 사이토카인 IFNα에 대해 검정했다. 양성 대조군으로 BIIB059 항체를 선택하고, 음성 대조군으로 hIgG1 항체를 선택했다.

[0372] 항체 MT1/3/5(Mabtech, 3425-1H-20)를 PBS로 4μg/mL로 희석하고, 웰당 100μL로 CORNING ELISA 플레이트에 첨

가하고, 코팅된 플레이트를 4℃에서 밤새 인큐베이팅했다. 이어서, 플레이트에 코팅된 항체를 폐기하고, 차단 용액(PBS + 1% BSA)을 웰당 300μL로 플레이트에 첨가하고, 4℃에서 밤새 인큐베이팅했다. 시험되는 상청액을 차단 용액으로 적절한 농도(일반적으로 1:3-1:7 범위)로 희석하고, 코팅된 ELISA 플레이트에 웰당 100μL로 첨가했다. IFNα 검출 표준물을 차단 용액으로 2배 단계로 희석하고(최고 농도는 1000pg/mL, 8개의 농도 포인트, 최후 포인트는 0임), 코팅된 ELISA 플레이트에 웰당 100μL로 첨가했다. ELISA 플레이트를 37℃의 인큐베이터에서 1시간 동안 인큐베이팅했다. 플레이트를 3회 세척하고, 검출 항체 MT2/4/6(1:1000)을 웰당 100μL로 첨가하고, 37℃에서 1시간 동안 인큐베이터에서 인큐베이팅했다. 플레이트를 3회 세척하고, 2차 항체 SA-HRP(1:1000)를 웰당 100μL 첨가하고, 이어서 37℃에서 0.5시간 동안 인큐베이터에서 인큐베이팅했다. 플레이트를 3회 세척하고, TMB 전개 용액을 웰당 100μL로 첨가하고, 1M HC1을 웰당 50μL 첨가하여 적절한 시간에 반응을 정지시켰다. OD450nm 판독값은 ELISA 플레이트 판독기로 판독하고, 그래프패드 프리즘6으로 곡선을 적합시켰다. OD 값에 대응하는 10nM 항체의 농도를 선택하고, 최대 억제는 억제율 = (OD (IgG1)-OD (Ab))/OD (IgG1)로 계산했다.

[0373] 시험된 모든 인간화 항체는 PBMC 실험에서 CpG-A 자극된 사이토카인 방출에서 사이토카인 IFNα 분비를 억제할 수 있었고, EC_{50} 값이 양성 대조군 항체 BIIB059보다 낮았으며, 그 결과는 표 6에 추가로 나타나 있다.

[0374] [표 6]

[0375] 인간화 항체는 인간 PBMC로부터 CpG-A 자극된 사이토카인 IFNα 방출을 억제했다.

[0376]

항체 수	EC_{50} (nM)
BIIB059	0.04
hIgG1	-
mAb033c	0.02
Hu033-02(BM2)	0.02
Hu033-03(BM3)	0.01
Hu033-04(BM0)	0.03
Hu033-06(BM3)	0.02
Hu033-08(BM2)	0.02
Hu033-10(BM4)	0.01
Hu033-12(BM2)	0.02
Hu033-13(BM4)	0.01
Hu033-15(BM2)	0.02
Hu033-16(BM4)	0.01
Hu033-20(BM3)	0.01
Hu033-23(BM3)	0.03

[0377] 주: "-"는 검출되지 않은 것을 나타낸다.

[0378] 10.3. 인간화 항체의 내재화 능력의 검출

[0379] 대수 성장기까지 배양된 CHOK1-인간BDCA2 세포를 TrypLE로 트립신 처리했다. 세포를 회수하고, FACS 완충액(PBS + 2% FBS)으로 2×10^6/mL로 재현탁시켰다. 세포를 3799 세포 플레이트에 100μL/웰로 첨가하고, 300g에서 원심분리한 후에 상청액을 폐기하고, 세포를 아이스 박스에 넣어 냉각시켰다. 항체를 FACS 완충액으로 단계적으로 희석하고(2개 농도로 설정: 100nM, 10nM; 및 각각 3개 그룹: 0시간; 4℃, 1시간; 37℃, 1시간), 이어서 아이스 박스에 넣어 15분 동안 냉각시키고, 15분 후에 원심분리된 세포에 항체를 첨가하고, 세포를 재현탁시키고, 4℃에서 40분 동안 인큐베이팅했다. 인큐베이팅된 세포를 300g에서 5분간 원심분리하고, FACS 완충액으로 2회 세척했다. 0시간 그룹의 세포를 파라포름알데히드로 실온에서 10분간 고정하고, FACS 완충액으로 2회 세척하고; 추가 2개 그룹의 세포를 100μL FACS 완충액으로 재현탁시키고, 각각 4℃ 및 37℃에서 1시간 동안 인큐베이팅했다. 4℃에서 1시간 및 37℃에서 1시간의 그룹의 세포를 실온에서 파라포름알데히드로 10분간 고정하고, FACS 완충액으로 2회 세척했다. 3개 그룹의 세포에 2차 항체 염소 항-인간 IgG(H + L) 교차-흡착된 2차 항체-알렉사 플루오르 488(Sigma, A11013; 1:1000) 100μL를 동시에 첨가하고, 4℃에서 1시간 동안 인큐베이팅했다. 세포를 FAC 완충액으로 2회 세척하고, 이어서 PBS로 재현탁시키고, FACS 장치로 분석하고, 표면 신호의 백분율을 계산했다.

[0380] 그 결과는 도 4에 나타나 있고, 인간화 항체의 Hu005 및 Hu033 그룹 모두는 100nM 및 10nM 농도에서 내재화가 발생했으며, 내재화를 매개하는 인간화 항체의 능력은 양성 대조군 항체 BIIB059에 필적했다.

[0381] 10.4. 인간화 항체의 친화성의 검출

[0382] 본 발명의 인간화 항체의 친화성은 BIAcore 실험에 의해 결정되었다: CM5 칩 채널 표면을 50mM NHS와 200mM EDC(아미노 커플링 키트로부터의 NHS 및 EDC)의 1:1 혼합물로 활성화하고, 항-인간 IgG(Fc) 항체(pH 5.0의 아세트산 나트륨 용액에 희석, 농도는 25μg/mL임)를 420초 동안 주입했다. 이어서, 1M 에탄올아민을 10L/min 유속으로 420초 동안 주입하고, 칩의 과잉 활성 카복실 그룹을 차단했다. 인간화 항체는, 작동 완충액을 사용하여 1μg/mL로 희석한 후, 포획을 위해 검출 채널 유동 세포에 10L/분의 유속으로 60초 동안 주입했다. 재조합 인간 BDCA2를 1×HBS-EP + (pH 7.4)로 50 또는 100nM로 희석하고, 1:2 단계로 0.39nM로 희석했다. 각 농도 구배에 대해 시험되는 샘플 hBDCA2를 30μL/분 유속으로 검출 채널에 주입하고, 배경 신호를 제거하기 위해 0 농도의 2개 샘플을 사용했다. 항원과 항체 사이의 결합 및 해리 시간은 각각 180초 및 400초였다. 데이터의 분석은 비아코어 인사이트(Biacore Insight) 평가 소프트웨어(버전 2.0. 15.12933)를 사용하여 수행했다. 곡선 적합을 위해 1:1 결합 모델을 선택하고, 참조 채널(유동 세포 1)의 신호를 차감한 후에 0 농도에서 동역학 파라미터를 계산했다. 검정 결과는 하기 표 7에 나타나 있다.

[0383] [표 7]

[0384] 인간화 항체의 친화성

항체 수	SPR		
Ab NO.	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)
BIIB059	1.67E+05	1.79E-04	1.07E-09
hIgG1			
mAb033c	6.98E+05	7.67E-05	1.10E-10
Hu033-02(BM2)	7.07E+05	1.69E-04	2.39E-10
Hu033-03(BM3)	5.76E+05	1.36E-04	2.36E-10
Hu033-04(BM0)	5.98E+05	1.93E-04	3.23E-10
Hu033-06(BM3)	7.33E+05	1.25E-04	1.70E-10
Hu033-08(BM2)	7.40E+05	1.69E-04	2.29E-10
Hu033-10(BM4)	5.89E+05	1.18E-04	2.00E-10
Hu033-12(BM2)	5.27E+05	1.49E-04	2.83E-10
Hu033-13(BM4)	4.54E+05	1.53E-04	3.38E-10
Hu033-15(BM2)	4.87E+05	2.27E-04	4.67E-10
Hu033-16(BM4)	5.69E+05	1.08E-04	1.91E-10
Hu033-20(BM3)	5.56E+05	1.49E-04	2.68E-10
Hu033-23(BM3)	4.66E+05	2.07E-04	4.44E-10

[0385]

[0386] **실시예 11: 인간화 항-BDCA2 항체의 Fc 돌연변이 및 항체의 스크리닝**

[0387] 실시예 10에서 수득된 인간화 항체 Hu033-03 및 Hu033-20의 경우, FcγRIIA에 대한 친화성을 증가시키기 위해 Fc 부위를 돌연변이용으로 선택했다. 인간화 항체 Hu033-03-T1, Hu033-03-T2, Hu033-03-T3, Hu033-20-T1, Hu033-20-T2 및 Hu033-20-T3을 설계하고, 수득된 중쇄 및 경쇄 코딩 서열은 젠스크립트에 의해 합성되었다. 중쇄 및 경쇄의 아미노산 서열은 표 8에 나타나 있다. 항체 발현을 위한 숙주 세포로서 293F를 선택하고, 발현 후의 정제된 항체에 대해 다양한 특성화 시험을 수행했다.

[0388] [표 8]

[0389] 가변 영역의 아미노산 서열 및 돌연변이 항-BDCA2 인간화 항체의 전장

항체	VH	VL	HC	LC
Hu033-03-T1	서열번호 89	서열번호 137	서열번호 191	서열번호 186
Hu033-03-T2	서열번호 89	서열번호 137	서열번호 192	서열번호 186
Hu033-03-T3	서열번호 89	서열번호 137	서열번호 193	서열번호 186
Hu033-20-T1	서열번호 106	서열번호 154	서열번호 194	서열번호 187
Hu033-20-T2	서열번호 106	서열번호 154	서열번호 195	서열번호 187
Hu033-20-T3	서열번호 106	서열번호 154	서열번호 196	서열번호 187

[0390]

[0391] 11.1. Fc 돌연변이는 FcγRIIA에 대한 항체 친화성을 증가시킨다.

[0392] 항체 동역학 또는 친화성 파라미터는 BIAcore 8K 및 신선하게 고정된 비오티닐화된 인간 FcγRIIA(R167)/FcγRIIA(H167) SA 칩을 사용하여 측정했다. 실험은 25℃에서 1×HBS-EP+(10mM HEPES pH 7.4, 150mM NaCl, 3mM EDTA, 0.05% 계면활성제 P20)의 작동 완충액으로 실행되었다. 항체를 1:2의 비율로 작동 완충액으로 5000nM, 2500nM, 1250nM, 625nM, 321.5nM, 156.25nM, 78.13nM, 39.06nM, 19.53nM 또는 9.77nM의 농도로 희석하고, 각 농도 구배에서 시험된 항체를 30μL/분의 유속으로 유동 세포 1 및 유동 세포 2에 주입했다. 항체의 결합 및 해리 시간은 각각 60초 및 90초였다. 2개의 제로 농도 샘플을 사용하여 배경 신호를 제거했다. 샘플은 다중 사이클 방식으로 주입되었고, 각 분석물은 각 사이클이 종료시에 칩 표면으로부터 완전히 해리될 수 있으며, 재생 단계는 적용되지 않았다. 데이터 분석은 비아코어 인사이트 평가 소프트웨어(버전 2.0.15.12933)를 사용하여 수행했다. 참조 채널(유동 세포 1) 및 2개의 제로 농도 신호를 차감한 후, 곡선 적합 및 동역학 파라미터 계산을 위해 1:1 결합 모델 또는 정상 상태 모델을 사용하여 친화성 분석을 수행했다.

[0393] 인간 FcγRIIA(R167) 및 FcγRIIA(H167) 서브타입 모두에 대한 돌연변이 항체의 친화성은 야생형 Fc와 비교하여 현저히 증가한다. 결과는 표 9-1 및 9-2에 나타나 있다.

[0394] [표 9-1]

[0395] 인간 FcγRIIA(H167)에 대한 항-BDCA2 인간화 항체의 친화성(1:1 결합)

항체	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)	친화도의 배수
Hu033-03-T1	4.70E+05	2.30E-01	4.90E-07	2.3
Hu033-03-T2	5.70E+05	5.85E-02	1.03E-07	10.0
Hu033-03-T3	5.51E+05	8.94E-02	1.62E-07	7.3
Hu033-03	3.61E+05	3.39E-01	9.41E-07	-
Hu033-20-T1	4.94E+05	2.42E-01	4.89E-07	2.5
Hu033-20-T2	6.04E+05	5.77E-02	9.55E-08	12.1
Hu033-20-T3	5.63E+05	8.70E-02	1.54E-07	8.7
Hu033-20	4.39E+05	4.31E-01	9.81E-07	-

[0396]

[0397] [표 9-2]

[0398] 인간 FcγRIIA(R167)에 대한 항-BDCA2 인간화 항체의 친화성(1:1 결합)

항체	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)	친화도의 배수
Hu033-03-T1	7.50E+05	2.32E-01	3.10E-07	4.0
Hu033-03-T2	1.96E+06	8.99E-02	4.58E-08	13.7
Hu033-03-T3	7.41E+05	2.25E-01	3.03E-07	4.4
Hu033-03	1.53E+06	7.82E-01	5.10E-07	=
Hu033-20-T1	7.98E+05	2.49E-01	3.12E-07	5.1
Hu033-20-T2	2.00E+06	8.21E-02	4.11E-08	17.7
Hu033-20-T3	6.83E+05	1.91E-01	2.79E-07	6.3
Hu033-20	1.45E+06	8.38E-01	5.78E-07	=

[0399]

[0400] 11.2. Fc 돌연변이를 갖는 항체는 BDCA2에 대한 결합 친화성을 변화없이 유지한다.

[0401] 인간 BDCA2 및 사이노 BDCA2 발현 세포에 대한 Fc 돌연변이 항체의 결합 능력은 FACA에 의해 검출되었다.

[0402] 실험 방법은 다음과 같다.

[0403] CHOK1-인간BDCA2 및 293F-사이노BDCA2 세포를 TrypLE로 트립신 처리했다. 세포를 회수하고, FACS 완충액(PBS + 2% FBS)으로 2×10^6/mL로 재현탁시켰다. 세포를 3799 세포 플레이트(Corning)에 100 μL/웰로 첨가하고, 상청액을 300g에서 원심분리한 후에 폐기했다. 항체를 개시 농도 200nM에서 1:5 구배로 FACS 완충액으로 희석하고, 희석된 항체를 원심분리된 세포에 첨가하고, 세포를 재현탁시켰다. 세포를 4℃에서 1시간 동안 인큐베이팅했다. 인큐베이팅된 세포를 300g에서 5분간 원심분리하고, FACS 완충액으로 2회 세척했다. 100 μL 당나귀 항-마우스 IgG(H + L) 고도 교차-흡착된 2차 항체-알렉사 플루오르 488(Invitrogen, A21202; 1:1000) 2차 항체를 첨가하고, 4℃에서 1시간 동안 인큐베이팅 후에 FACS 완충액으로 2회 세척하고, PBS로 재현탁시키고, FACS(BD FACS CantoTM II) 장치 및 그래프패드 프리즘6으로 곡선을 적합시키고, EC_{50} 값을 계산했다.

[0404] 인간 BDCA2에 대한 Fc 돌연변이 항체의 결합 능력은 야생형 Fc보다 약간 더 양호하고, 참조 항체 BIIB059보다 현저히 더 양호하다. 사이노 BDCA2에 대한 Fc 돌연변이 항체의 결합 능력은 야생형 Fc 및 BIIB059의 결합 능력보다 우수하다. 결과는 도 5a, 도 5b 및 표 10에 나타나 있다.

[0405] [표 10]

[0406] 인간 BDCA2에 대한 인간화 항-BDCA2 항체의 결합 능력

항체	EC_{50} 인간 BDCA2	EC_{50} 사이노 BDCA2
Hu033-03-T1	1.625	3.321
Hu033-03-T2	1.542	3.064
Hu033-03-T3	1.422	2.728
Hu033-03	1.823	4.002
Hu033-20-T1	1.695	2.808
Hu033-20-T2	1.718	2.861
Hu033-20-T3	1.708	2.711
Hu033-20	1.858	3.201
BIIB059	3.811	4.382
HIgG1	~146.6	~364250

[0407]

[0408] 11.3. Fc 돌연변이 후에도 항체의 내재화 능력은 변하지 않는다.

[0409] 각 항체의 내재화 능력은 FACS를 사용하여 검출했다.

[0410] CHOK1-인간BDCA2 세포를 TrypLE로 트립신 처리했다. 세포를 회수하고, FACS 완충액(PBS + 2% FBS)으로 2×10^6/mL로 재현탁시켰다. 세포를 3799 세포 플레이트에 100 μL/웰로 첨가하고, 300g에서 원심분리한 후에 상청액을 폐기하고, 세포를 아이스박스에 넣어 냉각시켰다. 항체를 FACS 완충액으로 1nM, 10nM 또는 100nM으로 단

계적으로 희석하고(각 항체 농도에 대해 5개 세트의 검출 조건을 설정: 0시간; 4℃, 1시간; 37℃, 1시간; 4℃, 4시간; 37℃, 4시간), 이어서 아이스 박스에 넣어 15분 동안 냉각시키고, 15분 후에 원심분리된 세포에 항체를 첨가하고, 세포를 재현탁시키고, 4℃에서 40분 동안 인큐베이팅했다. 인큐베이팅된 세포를 300g에서 5분간 원심분리하고, FACS 완충액으로 2회 세척했다. 0시간 그룹의 세포를 파라포름알데히드로 실온에서 10분간 고정하고, FACS 완충액으로 2회 세척하고; 추가 4개의 세포 그룹을 100μL FACS 완충액으로 재현탁시키고, 각각 4℃ 및 37℃에서 1시간 또는 4시간 동안 인큐베이팅했다. 상기 기간 동안 4℃ 및 37℃에서 그룹의 세포를 실온에서 파라포름알데히드로 10분간 고정하고, FACS 완충액으로 2회 세척했다. 5개 그룹의 세포를 2차 항체 염소 항-인간 IgG(H + L) 교차-흡착된 2차 항체-알렉사 플루오르 488(Sigma, A11013; 1:1000) 100μL와 동시에 첨가하고, 4℃에서 1시간 동안 인큐베이팅했다. 세포를 FAC 완충액으로 2회 세척하고, 이어서 PBS로 재현탁시키고, FACS 장치로 분석하고, 표면 신호의 백분율을 계산했다.

[0411] Fc 돌연변이 항체는 100nM, 10nM 및 1nM의 농도에서 내재화되는 것으로 판명되었다. 3개 유형의 Fc의 변형은 항체 내재화에 영향을 미치지 않는다. 상세한 내용은 도 6a-6f를 참조한다.

[0412] **11.4. Fc 돌연변이 항체는 인간 PBMC 세포로부터 사이토카인 IFNα의 항체 복합체 SLE-IC-자극 방출에 대해 더 강력한 억제 효과를 갖는다.**

[0413] 인간 PBMC 세포로부터 사이토카인 IFNα의 항체 복합체-자극된 방출을 억제하는 Fc 변형 항체의 기능이 검출되었다. 동결보존된 인간 PBMC 세포를 회수하고, 완전 배지(1640 + 10% FBS + 1×NEAA + 1×L-글루타민)로 18시간 동안 밤새 인큐베이팅했다. 다음 날, PBMC 세포를 수집하고, 600g에서 8분간 원심분리하고, 상청액을 폐기했다. 세포를 배지(1640 + 10% FBS)와 함께 8×10^{6}/mL로 재현탁시키고, 3799 세포 배양 플레이트에 100μL/웰로 첨가했다. 시험되는 항체를 배지(1640 + 10% FBS)로 5배 구배(0.0032nM-10nM 및 0 대조군)로 희석하고, 희석된 항체를 50μL/웰로 PBMC에 첨가했다. 세포를 재현탁시키고, 37℃에서 6시간 동안 인큐베이팅했다. 50μL 배지(1640 + 10% FBS)로 희석한 SLE-IC(10μl 항-RNP 항체(RayBiotech, MD-14-0513)와 혼합한 2.5μl Sm/RNP-항원(AROTEC, ART01-10))를 웰당 첨가하고, 충분히 혼합하고, 37℃에서 20시간 동안 계속 인큐베이팅했다. 세포 배양 플레이트를 3일차에 400g에서 5분간 원심분리하고, 세포 배양 상청액을 수집하고, 상청액 중의 사이토카인 IFNα에 대해 검정했다. 양성 대조군으로 BIIB059 항체를 선택하고, 음성 대조군으로 hIgG1 항체를 선택했다.

[0414] 상청액 중의 사이토카인 IFNα를 검출하고, 항체 MT1/3/5(Mabtech, 3425-1H-20)를 PBS로 4μg/mL로 희석하고, 웰당 100μL로 CORNING ELISA 플레이트에 첨가하고, 4℃에서 밤새 인큐베이팅했다. 이어서, 플레이트에 코팅된 항체를 폐기하고, 차단 용액(PBS + 1% BSA)을 웰당 300μL로 플레이트에 첨가하고, 4℃에서 밤새 인큐베이팅했다. 시험되는 상청액을 차단 용액으로 적절한 농도(경우에 따라 1:3-1:7로부터 선택)로 희석하고, 코팅된 ELISA 플레이트에 웰당 100μL로 첨가했다. IFNα 검출 표준물을 차단 용액으로 2배 단계로 희석하고(최고 농도는 1000pg/mL임, 8개 농도 포인트, 최후 포인트는 0임), 코팅된 ELISA 플레이트에 웰당 100μL로 첨가했다. ELISA 플레이트를 37℃의 인큐베이터에서 1시간 동안 인큐베이팅했다. 플레이트를 3회 세척하고, 검출 항체 MT2/4/6(1:1000)을 웰당 100μL로 첨가하고, 37℃에서 1시간 동안 인큐베이터에서 인큐베이팅했다. 플레이트를 3회 세척하고, 2차 항체 SA-HRP(1:1000)를 웰당 100μL로 첨가하고, 이어서 37℃에서 0.5시간 동안 인큐베이터에서 인큐베이팅했다. 플레이트를 3회 세척하고, TMB 전개 용액을 웰당 100μL로 첨가하고, 1M HCl을 적절한 시간에 웰당 50μL로 첨가했다. OD_{450nm} 판독값은 ELISA 플레이트 판독기로 판독하고, 곡선을 그래프패드 프리즘 6으로 적합시켜 EC_{50}를 계산했다.

[0415] Fc 변형 항체는 야생형 Fc 항체 및 BIIB059 항체와 비교하여 SLE-IC 자극 조건에서 더욱 강력한 IFNα 억제 효과를 갖고, 0.016nM에서 완전한 IFNα 분비 억제를 달성한다. 상세한 내용은 도 7 및 표 11을 참조한다.

[0416] [표 11]

[0417] 돌연변이 인간화 항체는 SLE-IC에 의해 자극된 인간 PBMC 세포로부터 사이토카인 IFNα의 방출을 억제한다.

항체 농도 (nM)	Hu033-03-T3	Hu033-03-T2	Hu033-03-T1	Hu033-03	Hu033-20-T2	Hu033-20-T3	Hu033-03-T1	Hu033-20	BIIB059	hIgG1
10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	182±38
2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	150±31.6
0.4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	162.4±8.5
0.08	-	-	-	33±19.6	-	-	-	11.2±15.8	-	N.A.
0.016	-	-	-	27±20.5	-	-	-	27.8±39.3	17.7±25	N.A.
0.0032	92.6±21	40.6±1	71.5±10.1	119.8±26.5	33.8±0.9	59.8±34.3	86.8±1	127±20	113.1±39.7	N.A.

[0418]

[0419] 주: "-"는 검출 한계 미만인 것을 나타내고, "N.A."는 검출되지 않은 것을 나타낸다.

[0420] 본 발명에 기재된 방법 및 시스템의 다양한 수정 및 변형은 본 발명의 범위 및 정신을 벗어나지 않고도 당업자에게 명백할 것이다. 본 발명은 특정의 바람직한 실시형태와 관련하여 제시되었지만, 청구된 발명은 이러한 특정 실시형태로 부적절하게 제한되어서는 안된다는 것을 이해해야 한다. 실제, 본 발명을 실시하기 위해 기재된 모드의 다양한 변형은 분자생물학, 면역학 또는 관련 분야의 당업자에게 명백하고, 첨부된 특허청구범위의 범위 내에 속하는 것으로 의도된다.

[0421] 서열 목록(모두 아미노산 서열이다. 서열의 정의/설명은 전술한 섹션을 참조한다):

서열번호	서열
서열번호 1	DFSMH
서열번호 2	WINTETGEPTYADDFKG
서열번호 3	GGDGHPYWYFAV
서열번호 4	RASQSVSTSSYSYMH
서열번호 5	YASILES
서열번호 6	QHSWEIPFT
서열번호 7	DYSMH
서열번호 8	GGDGFPYWYFNV
서열번호 9	RASQSVSTSSNSYIH
서열번호 10	YASNLDS
서열번호 11	NYGVH
서열번호 12	VIWSGESTDYDAAFIS
서열번호 13	RRSHYYGYVMDY
서열번호 14	KASQSIDYDGIGYLN
서열번호 15	AASNLES
서열번호 16	QQSNEDPPT
서열번호 17	SYGVH
서열번호 18	KASQSVDYDGVGYLN
서열번호 19	DYYMY
서열번호 20	YISYSGDSTYYPDTVKG
서열번호 21	HSPSFPYYFDY
서열번호 22	SASSSVSYMH
서열번호 23	EISKLAS
서열번호 24	QLWNYPLIT
서열번호 25	SGYYWN
서열번호 26	YISFDGTYNYNPSLKD
서열번호 27	GVDYPNAIDW
서열번호 28	RASESVSMHVTHLIH
서열번호 29	VASNLES
서열번호 30	QQSFEDPWT
서열번호 31	SAYYWN
서열번호 32	YITYDGNNYYSPSLKN
서열번호 33	GGDYDDGGFAF
서열번호 34	RASGNIHNYLA
서열번호 35	NAKSLVD
서열번호 36	QHFWIVPYT
서열번호 37	GVDYPKAMDW
서열번호 38	SFGMS
서열번호 39	TISSGDSYTYYPDSV
서열번호 40	QIYYDYAYYFDY
서열번호 41	RASESVSFRSSHLMH

[0422]

서열번호 42	QQSIEDPPT
서열번호 43	YISYDGSNNYNPSLKN
서열번호 44	RASESVSIHGTHLMH
서열번호 45	VASYLES
서열번호 46	YITYDGSNNYNPSLKN
서열번호 47	GGDYDDGGFAY
서열번호 48	NAKTLVD
서열번호 49	QHFWIIPYT
서열번호 50	YISYDGSNYYNPSLKN
서열번호 51	NAKTLAD
서열번호 52	SYGMS
서열번호 53	QIYYDYAYYFDF
서열번호 54	RASESVSFRTSHLMH
서열번호 55	GASNLES
서열번호 56	YITYDGSNNYNPSLKD
서열번호 57	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTDFSMHWVKQAPGKGLKWMGWINTETGE PTYADDFKGRFAFSLETSASTAFLQINNLKNDDTTTYFCSRGGDGHPYWYFAVWGAGT TVTVSS
서열번호 58	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASQSVSTSSYSYMHWYQQKPGQPPKLLIKYASILESG VPARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDTATYYCQHSWEIPFTFGSGTKLEIK
서열번호 59	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCRASGYSFTDYSMHWVKQAPGKGLKWVGWINTETGEP TYADDFKGRFALSLETSATSAYLQINNLKNEDTATYFCARGGDGFPYWYFNVWGAGTT VTVSS
서열번호 60	DIVLTQSPTSLAVSLGQRTNISCRASQSVSTSSNSYIHWYQQKPGQPPKLLIKYASNLDSG VPARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDTSTYYCQHSWEIPFTFGSGTKLEIK
서열번호 61	QVQLKQSGPGLVQPSQSLSITCTVSGFSLTNYGVHWVRQSPGKGLEWLGVIWSGESTD YDAAFISRLSISKDNSKSQVFFKMNSLQADDSAIYYCARRRSHYYGYVMDYWGQGTS VTVSS
서열번호 62	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCKASQSIDYDGIGYLNWYQHKPGQPPKLLIYAASNLES GIPARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDAATYYCQQSNEDPPTFGSGTKLEIK
서열번호 63	QVQLKQSGPGLVQPSQSLSITCTVSGFSLTSYGVHWVRQSPGKGLEWLGVIWSGESTD YDAAFISRLSISKDNSKSQVFFRMNSLQADDSAIYYCARRRSHYYGYVMDYWGQGTS VTVSS
서열번호 64	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCKASQSVDYDGVGYLNWYQHKPGQPPKLLIYAASNLE SGIPARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDAATYYCQQSNEDPPTFGSGTKLEIK
서열번호 65	EVKLVESGGDLVQPGGSLKLSCAASGFTFSDYYMYWVRQTPEKRLEWVAYISYSGDST YYPDTVKGRFTISRDNAKNTLFLQMSRLKSEDTAMYYCARHSPSFPYYFDYWGQGTAL TVSS
서열번호 66	EIVLTQSPAITAASLGQKVTITCSASSSVSYMHWYQQKSGTSPKPWIYEISKLASGVPAR FSGSGSGTSYSLTISSMEAEDAAIYYCQLWNYPLITFGGGTNLEIK
서열번호 67	DVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCSVTGYSIASGYYWNWIRQFPGNKLEWMGYISFDGTY NYNPSLKDRFSITRDTSKNQFFLKLNSVTTEDTATYYCARGVDYPNAIDWWGQGTSVT VSS
서열번호 68	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESVSMHVTHLIHWYQQKPGQPPKLLIYVASNLES GVPARFSGSGSETDFTLNIHPVEEEDAATYFCQQSFEDPWTFGGGTKLEIK
서열번호 69	DVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCSVTGYSITSAYYWNWIRQFPGNKLECMGYITYDGNN YYSPSLKNRISITRDTSKNQFFLNLNSVTTEDTATYFCARGGDYDDGGFAFWGQGTLVT

[0423]

	VSA
서열번호 70	DIQMTQSPASLSASVGETVTITCRASGNIHNYLAWYHQKQGKSPQLLVYNAKSLVDGV PSRFSGSGSGTQYSLRINSLQPEDFGSYYCQHFWIVPYTFGGGTKLEII
서열번호 71	DVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCSVTGYSITSGYYWNWIRQFPGNKLEWMGYISFDGTY NYNPSLKDRFSITRDTSKNQFFLKLNSVTTEDTATYYCARGVDYPKAMDWWGQGTSV TVSS
서열번호 72	EVQLVESGGDLVKPGGSLKLSCAASGFTFSSFGMSWVRQTPDKRLDWVATISSGDSYT YYPDSVKGRFSISRDNAKNTLYLQMSSLKSEDTAVYYCARQIYYDYAYYFDYWGQGTT LTVSS
서열번호 73	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESVSFRSSHLMHWYRQKPGQPPKLLIYAASNLES GVPARFSGSGSETDFTLNIHPVEEEDAAAYFCQQSIEDPPTFGGGTKLEIK
서열번호 74	DVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCSVTGYSITSAYYWNWIRQFPGHKLEWMGYISYDGSN NYNPSLKNRISITRDTSKNQFFLKLNSVTTEDTATYHCARGVDYPNAIDWWGQGTSLTV SS
서열번호 75	DIVLTQSPTSLTVSLGQRATISCRASESVSIHGTHLMHWYQQKPGQPPKLLIYVASYLES GVPARFSGSGSETDFSLNIHPVEEEDAATYFCQQSFEDPWTFGGGTKLEIK
서열번호 76	DVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCSVTGYSITSAYYWNWVRQFPGNQLECMGYITYDGSN NYNPSLKNRISITRDTSKNQFFLKLNSVTTEDTATYYCVRGGDYDDGGFAYWGQGTLVT VSA
서열번호 77	DIQMTQSPASLSASVGETVTITCRASGNIHNYLAWYQQKQGKSPQLLVYNAKTLVDGV PSRFSGSGSGTEYSLKINSLQPEDFGIYFCQHFWIIPYTFGGGTKLEIR
서열번호 78	DVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCSVTGYSISSGYYWNWIRQFPGNKLECMGYISYDGSNY YNPSLKNRISITRDTSKNQFFLSLNSVTTEDTATYFCVRGGDYDDGGFAYWGQGTLVTV SA
서열번호 79	DIQMTQSPASLSASVGETVTITCRASGNIHNYLAWYQQKQGKSPQLLVYNAKTLADGV PSRFSGSGSETQYSLKINSLQPEDFGNYFCQHFWIIPYTFGGGTKLEIK
서열번호 80	DVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCSVTGYSITSAYYWNWIRQFPGNKLECMGYISYDGSNY YNPSLKNRISITRDTSKNQFFLSLNSVTTEDTATYFCVRGGDYDDGGFAYWGQGTLVTV SA
서열번호 81	DVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCSVTGYSITSGYYWNWIRQFPGNKLECMGYISYDGSNY YNPSLKNRISITRDTSKNQFFLSLNSVTTEDTATYFCVRGGDYDDGGFAYWGQGTLVTV SA
서열번호 82	EVQMVESGGDLVKPGDSLKLSCAASGFTFRSYGMSWVRQTPDKRLEWVATISSGDSYT YYPDSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMSSLKSEDTALYYCARQIYYDYAYYFDFWGQGTT LTVSS
서열번호 83	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESVSFRTSHLMHWYQQKPGQPPKLLIYGASNLES GVPARFSGSGSETDFTLNIHPVEEEDAAAYFCQQSIEDPPTFGGGTKLEIK
서열번호 84	DVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCSVTGYSITSGYYWNWIRQFPGNKLECMGYITYDGSN NYNPSLKDRISITRDTSKNQFFLKLNSVTTEDTATYYCARGGDYDDGGFAYWGHGTLVT VSA
서열번호 85	DIQMTQSPVSLSASVGETVTITCRASGNIHNYLAWYQQKQGKSPQLLVYNAKSLVDGV PSRFSGSGSGTQYSLKINSLQPEDFGSYYCQHFWIIPYTFGGGTKLEIK
서열번호 86	KASQSIDYDAIGYLN
서열번호 87	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMSWVRQAPGKGLEWVSTISSGDSYT YYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQIYYDYAYYFDFWGQGTT VTVSS
서열번호 88	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMSWVRQAPGKGLEWVSTISSGDSYT YYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQIYYDYAYYFDFWGQGTT VTVSS

[0424]

서열번호 89	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMSWVRQAPGKGLEWVSTISSGDSYT YYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQIYYDYAYYFDFWGQGTT VTVSS
서열번호 90	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMSWVRQAPGKGLEWVSTISSGDSYT YYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQIYYDYAYYFDFWGQGTT VTVSS
서열번호 91	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMSWVRQAPGKGLEWVSTISSGDSYT YYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQIYYDYAYYFDFWGQGTT VTVSS
서열번호 92	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMSWVRQAPGKGLEWVSTISSGDSYT YYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQIYYDYAYYFDFWGQGTT VTVSS
서열번호 93	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMSWVRQAPGKGLEWVSTISSGDSYT YYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQIYYDYAYYFDFWGQGTT VTVSS
서열번호 94	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMSWVRQAPGKGLEWVSTISSGDSYT YYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQIYYDYAYYFDFWGQGTT VTVSS
서열번호 95	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFRSYGMSWVRQAPGKRLEWVSTISSGDSYT YYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQIYYDYAYYFDFWGQGTT VTVSS
서열번호 96	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFRSYGMSWVRQAPGKRLEWVSTISSGDSYT YYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQIYYDYAYYFDFWGQGTT VTVSS
서열번호 97	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFRSYGMSWVRQAPGKRLEWVSTISSGDSYT YYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQIYYDYAYYFDFWGQGTT VTVSS
서열번호 98	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFRSYGMSWVRQAPGKRLEWVSTISSGDSYT YYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQIYYDYAYYFDFWGQGTT VTVSS
서열번호 99	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFRSYGMSWVRQAPGKRLEWVSTISSGDSYT YYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQIYYDYAYYFDFWGQGTT VTVSS
서열번호 100	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFRSYGMSWVRQAPGKRLEWVSTISSGDSYT YYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQIYYDYAYYFDFWGQGTT VTVSS
서열번호 101	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFRSYGMSWVRQAPGKRLEWVSTISSGDSYT YYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQIYYDYAYYFDFWGQGTT VTVSS
서열번호 102	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFRSYGMSWVRQAPGKRLEWVSTISSGDSYT YYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQIYYDYAYYFDFWGQGTT VTVSS
서열번호 103	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFRSYGMSWVRQAPGKRLEWVSTISSGDSYT YYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTAVYYCARQIYYDYAYYFDFWGQGTT VTVSS
서열번호 104	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFRSYGMSWVRQAPGKRLEWVSTISSGDSYT YYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTAVYYCARQIYYDYAYYFDFWGQGTT VTVSS
서열번호 105	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFRSYGMSWVRQAPGKRLEWVSTISSGDSYT YYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTAVYYCARQIYYDYAYYFDFWGQGTT VTVSS

[0425]

서열번호 106	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFRSYGMSWVRQAPGKRLEWVSTISSGDSYT YYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTAVYYCARQIYYDYAYYFDFWGQGTT VTVSS
서열번호 107	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFRSYGMSWVRQAPGKRLEWVSTISSGDSYT YYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTAVYYCARQIYYDYAYYFDFWGQGTT VTVSS
서열번호 108	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFRSYGMSWVRQAPGKRLEWVSTISSGDSYT YYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTAVYYCARQIYYDYAYYFDFWGQGTT VTVSS
서열번호 109	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFRSYGMSWVRQAPGKRLEWVSTISSGDSYT YYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTAVYYCARQIYYDYAYYFDFWGQGTT VTVSS
서열번호 110	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFRSYGMSWVRQAPGKRLEWVSTISSGDSYT YYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTAVYYCARQIYYDYAYYFDFWGQGTT VTVSS
서열번호 111	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISNYGVHWIRQPPGKGLEWIGVIWSGESTDY DAAFISRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARRRSHYYGYVMDYWGQGTTVT VSS
서열번호 112	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISNYGVHWIRQPPGKGLEWIGVIWSGESTDY DAAFISRVTISKDNSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARRRSHYYGYVMDYWGQGTTVT VSS
서열번호 113	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSITNYGVHWIRQPPGKGLEWIGVIWSGESTDY DAAFISRVTISKDNSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYCARRRSHYYGYVMDYWGQGTTV TVSS
서열번호 114	QVQLQQSGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSLTNYGVHWIRQPPGKGLEWIGVIWSGESTDY DAAFISRVTISKDNSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYCARRRSHYYGYVMDYWGQGTTV TVSS
서열번호 115	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISNYGVHWIRQPPGKGLEWIGVIWSGESTDY DAAFISRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARRRSHYYGYVMDYWGQGTTVT VSS
서열번호 116	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISNYGVHWIRQPPGKGLEWIGVIWSGESTDY DAAFISRVTISKDNSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARRRSHYYGYVMDYWGQGTTVT VSS
서열번호 117	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSITNYGVHWIRQPPGKGLEWIGVIWSGESTDY DAAFISRVTISKDNSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYCARRRSHYYGYVMDYWGQGTTV TVSS
서열번호 118	QVQLQQSGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSLTNYGVHWIRQPPGKGLEWIGVIWSGESTDY DAAFISRVTISKDNSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYCARRRSHYYGYVMDYWGQGTTV TVSS
서열번호 119	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISNYGVHWIRQPPGKGLEWIGVIWSGESTDY DAAFISRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARRRSHYYGYVMDYWGQGTTVT VSS
서열번호 120	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISNYGVHWIRQPPGKGLEWIGVIWSGESTDY DAAFISRVTISKDNSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARRRSHYYGYVMDYWGQGTTVT VSS
서열번호 121	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSITNYGVHWIRQPPGKGLEWIGVIWSGESTDY DAAFISRVTISKDNSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYCARRRSHYYGYVMDYWGQGTTV TVSS
서열번호 122	QVQLQQSGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSLTNYGVHWIRQPPGKGLEWIGVIWSGESTDY DAAFISRVTISKDNSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYCARRRSHYYGYVMDYWGQGTTV TVSS

[0426]

서열번호 123	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISNYGVHWIRQPPGKGLEWIGVIWSGESTDY DAAFISRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARRRSHYYGYVMDYWGQGTTVT VSS
서열번호 124	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISNYGVHWIRQPPGKGLEWIGVIWSGESTDY DAAFISRVTISKDNSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARRRSHYYGYVMDYWGQGTTVT VSS
서열번호 125	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSITNYGVHWIRQPPGKGLEWIGVIWSGESTDY DAAFISRVTISKDNSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYCARRRSHYYGYVMDYWGQGTTV TVSS
서열번호 126	QVQLQQSGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSLTNYGVHWIRQPPGKGLEWIGVIWSGESTDY DAAFISRVTISKDNSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYCARRRSHYYGYVMDYWGQGTTV TVSS
서열번호 127	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISNYGVHWIRQPPGKGLEWIGVIWSGESTDY DAAFISRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARRRSHYYGYVMDYWGQGTTVT VSS
서열번호 128	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISNYGVHWIRQPPGKGLEWIGVIWSGESTDY DAAFISRVTISKDNSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARRRSHYYGYVMDYWGQGTTVT VSS
서열번호 129	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSITNYGVHWIRQPPGKGLEWIGVIWSGESTDY DAAFISRVTISKDNSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYCARRRSHYYGYVMDYWGQGTTV TVSS
서열번호 130	QVQLQQSGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSLTNYGVHWIRQPPGKGLEWIGVIWSGESTDY DAAFISRVTISKDNSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYCARRRSHYYGYVMDYWGQGTTV TVSS
서열번호 131	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISNYGVHWIRQPPGKGLEWIGVIWSGESTDY DAAFISRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARRRSHYYGYVMDYWGQGTTVT VSS
서열번호 132	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISNYGVHWIRQPPGKGLEWIGVIWSGESTDY DAAFISRVTISKDNSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARRRSHYYGYVMDYWGQGTTVT VSS
서열번호 133	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSITNYGVHWIRQPPGKGLEWIGVIWSGESTDY DAAFISRVTISKDNSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYCARRRSHYYGYVMDYWGQGTTV TVSS
서열번호 134	QVQLQQSGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSLTNYGVHWIRQPPGKGLEWIGVIWSGESTDY DAAFISRVTISKDNSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYCARRRSHYYGYVMDYWGQGTTV TVSS
서열번호 135	DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCRASESVSFRTSHLMHWYQQKPGQPPKLLIYGASNLES GVPARFSGSGSGTDFTLTINPVEANDTANYYCQQSIEDPPTFGGGTKVEIK
서열번호 136	DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCRASESVSFRTSHLMHWYQQKPGQPPKLLIYGASNLES GVPARFSGSGSETDFTLTINPVEAEDTANYYCQQSIEDPPTFGGGTKVEIK
서열번호 137	DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCRASESVSFRTSHLMHWYQQKPGQPPKLLIYGASNLES GVPARFSGSGSETDFTLTINPVEAEDTANYFCQQSIEDPPTFGGGTKVEIK
서열번호 138	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVSFRTSHLMHWYQQKPGQPPKLLIYGASNLE SGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQSIEDPPTFGGGTKVEIK
서열번호 139	DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVSFRTSHLMHWYQQKPGQPPKLLIYGASNLES GVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYFCQQSIEDPPTFGGGTKVEIK
서열번호 140	DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVSFRTSHLMHWYQQKPGQPPKLLIYGASNLES GVPDRFSGSGSETDFTLTISPLQAEDVAVYFCQQSIEDPPTFGGGTKVEIK
서열번호 141	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASESVSFRTSHLMHWYQQKPGQAPRLLIYGASNLES GIPARFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQSIEDPPTFGGGTKVEIK

[0427]

서열번호 142	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASESVSFRTSHLMHWYQQKPGQAPRLLIYGASNLES GIPARFSGSGSETDFTLTISRLEPEDFAVYFCQQSIEDPPTFGGGTKVEIK
서열번호 143	DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCRASESVSFRTSHLMHWYQQKPGQPPKLLIYGASNLES GVPARFSGSGSGTDFTLTINPVEANDTANYYCQQSIEDPPTFGGGTKVEIK
서열번호 144	DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCRASESVSFRTSHLMHWYQQKPGQPPKLLIYGASNLES GVPARFSGSGSETDFTLTINPVEAEDTANYYCQQSIEDPPTFGGGTKVEIK
서열번호 145	DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCRASESVSFRTSHLMHWYQQKPGQPPKLLIYGASNLES GVPARFSGSGSETDFTLTINPVEAEDTANYFCQQSIEDPPTFGGGTKVEIK
서열번호 146	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVSFRTSHLMHWYQQKPGQPPKLLIYGASNLE SGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQSIEDPPTFGGGTKVEIK
서열번호 147	DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVSFRTSHLMHWYQQKPGQPPKLLIYGASNLES GVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYFCQQSIEDPPTFGGGTKVEIK
서열번호 148	DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVSFRTSHLMHWYQQKPGQPPKLLIYGASNLES GVPDRFSGSGSETDFTLTISPLQAEDVAVYFCQQSIEDPPTFGGGTKVEIK
서열번호 149	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASESVSFRTSHLMHWYQQKPGQAPRLLIYGASNLES GIPARFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQSIEDPPTFGGGTKVEIK
서열번호 150	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASESVSFRTSHLMHWYQQKPGQAPRLLIYGASNLES GIPARFSGSGSETDFTLTISRLEPEDFAVYFCQQSIEDPPTFGGGTKVEIK
서열번호 151	DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCRASESVSFRTSHLMHWYQQKPGQPPKLLIYGASNLES GVPARFSGSGSGTDFTLTINPVEANDTANYYCQQSIEDPPTFGGGTKVEIK
서열번호 152	DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCRASESVSFRTSHLMHWYQQKPGQPPKLLIYGASNLES GVPARFSGSGSETDFTLTINPVEAEDTANYYCQQSIEDPPTFGGGTKVEIK
서열번호 153	DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCRASESVSFRTSHLMHWYQQKPGQPPKLLIYGASNLES GVPARFSGSGSETDFTLTINPVEAEDTANYFCQQSIEDPPTFGGGTKVEIK
서열번호 154	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVSFRTSHLMHWYQQKPGQPPKLLIYGASNLE SGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQSIEDPPTFGGGTKVEIK
서열번호 155	DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVSFRTSHLMHWYQQKPGQPPKLLIYGASNLES GVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYFCQQSIEDPPTFGGGTKVEIK
서열번호 156	DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVSFRTSHLMHWYQQKPGQPPKLLIYGASNLES GVPDRFSGSGSETDFTLTISPLQAEDVAVYFCQQSIEDPPTFGGGTKVEIK
서열번호 157	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASESVSFRTSHLMHWYQQKPGQAPRLLIYGASNLES GIPARFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQSIEDPPTFGGGTKVEIK
서열번호 158	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASESVSFRTSHLMHWYQQKPGQAPRLLIYGASNLES GIPARFSGSGSETDFTLTISRLEPEDFAVYFCQQSIEDPPTFGGGTKVEIK
서열번호 159	DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCKASQSIDYdaIGYLNWYQQKPGQPPKLLIYAASNLESG VPARFSGSGSGTDFTLTINPVEANDTANYYCQQSNEDPPTFGQGTKLEIK
서열번호 160	DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCKASQSIDYdaIGYLNWYQQKPGQPPKLLIYAASNLESG VPARFSGSGSGTDFTLTINPVEANDTANYYCQQSNEDPPTFGQGTKLEIK
서열번호 161	DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCKASQSIDYdaIGYLNWYQQKPGQPPKLLIYAASNLESG VPARFSGSGSGTDFTLTINPVEANDTANYYCQQSNEDPPTFGQGTKLEIK
서열번호 162	DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCKASQSIDYdaIGYLNWYQQKPGQPPKLLIYAASNLESG VPARFSGSGSGTDFTLTINPVEANDTANYYCQQSNEDPPTFGQGTKLEIK
서열번호 163	DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCKASQSIDYdaIGYLNWYQHKPGQPPKLLIYAASNLESG VPARFSGSGSGTDFTLTINPVEANDTANYYCQQSNEDPPTFGQGTKLEIK
서열번호 164	DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCKASQSIDYdaIGYLNWYQHKPGQPPKLLIYAASNLESG VPARFSGSGSGTDFTLTINPVEANDTANYYCQQSNEDPPTFGQGTKLEIK
서열번호 165	DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCKASQSIDYdaIGYLNWYQHKPGQPPKLLIYAASNLESG VPARFSGSGSGTDFTLTINPVEANDTANYYCQQSNEDPPTFGQGTKLEIK

[0428]

서열번호 166	DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCKASQSIDYdaIGYLNWYQHKPGQPPKLLIYAASNLESG VPARFSGSGSGTDFTLTINPVEANDTANYYCQQSNEDPPTFGQGTKLEIK
서열번호 167	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCKASQSIDYdaIGYLNWYQQKPGQAPRLLIYAASNLESGI PARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQSNEDPPTFGQGTKLEIK
서열번호 168	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCKASQSIDYdaIGYLNWYQQKPGQAPRLLIYAASNLESGI PARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQSNEDPPTFGQGTKLEIK
서열번호 169	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCKASQSIDYdaIGYLNWYQQKPGQAPRLLIYAASNLESGI PARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQSNEDPPTFGQGTKLEIK
서열번호 170	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCKASQSIDYdaIGYLNWYQQKPGQAPRLLIYAASNLESGI PARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQSNEDPPTFGQGTKLEIK
서열번호 171	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCKASQSIDYdaIGYLNWYQHKPGQAPRLLIYAASNLESGI PARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQSNEDPPTFGQGTKLEIK
서열번호 172	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCKASQSIDYdaIGYLNWYQHKPGQAPRLLIYAASNLESGI PARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQSNEDPPTFGQGTKLEIK
서열번호 173	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCKASQSIDYdaIGYLNWYQHKPGQAPRLLIYAASNLESGI PARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQSNEDPPTFGQGTKLEIK
서열번호 174	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCKASQSIDYdaIGYLNWYQHKPGQAPRLLIYAASNLESGI PARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQSNEDPPTFGQGTKLEIK
서열번호 175	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKASQSIDYdaIGYLNWYQQKPGQPPKLLIYAASNLES GVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQSNEDPPTFGQGTKLEIK
서열번호 176	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKASQSIDYdaIGYLNWYQQKPGQPPKLLIYAASNLES GVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQSNEDPPTFGQGTKLEIK
서열번호 177	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKASQSIDYdaIGYLNWYQQKPGQPPKLLIYAASNLES GVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQSNEDPPTFGQGTKLEIK
서열번호 178	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKASQSIDYdaIGYLNWYQQKPGQPPKLLIYAASNLES GVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQSNEDPPTFGQGTKLEIK
서열번호 179	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQSIDYdaIGYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASNLES GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSNEDPPTFGQGTKLEIK
서열번호 180	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQSIDYdaIGYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASNLES GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSNEDPPTFGQGTKLEIK
서열번호 181	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQSIDYdaIGYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASNLES GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSNEDPPTFGQGTKLEIK
서열번호 182	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQSIDYdaIGYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASNLES GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSNEDPPTFGQGTKLEIK
서열번호 183	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMSWVRQAPGKGLEWVSTISSGDSYT YYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQIYYDYAYYFDFWGQGTT VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAP ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
서열번호 184	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFRSYGMSWVRQAPGKRLEWVSTISSGDSYT YYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTAVYYCARQIYYDYAYYFDFWGQGTT VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAP ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0429]

서열번호 185	QVQLQQSGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSLTNYGVHWIRQPPGKGLEWIGVIWSGESTDY DAAFISRVTISKDNSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYCARRRSHYYGYVMDYWGQGTTV TVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPE LLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSK LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
서열번호 186	DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCRASESVSFRTSHLMHWYQQKPGQPPKLLIYGASNLES GVPARFSGSGSETDFTLTINPVEAEDTANYFCQQSIEDPPTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
서열번호 187	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVSFRTSHLMHWYQQKPGQPPKLLIYGASNLE SGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQSIEDPPTFGGGTKVEIKRTVAAPSVF IFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSL SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
서열번호 188	DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCKASQSIDYdaIGYLNWYQQKPGQPPKLLIYAASNLESG VPARFSGSGSGTDFTLTINPVEANDTANYYCQQSNEDPPTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
서열번호 189	MDMRVPAQLLGLLLLWFPGSRCPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGKIEGRNFMYSKTVKRLSKLREYQQYHPSLTCVMEGKDIED WSCCPTPWTSFQSSCYFISTGMQSWTKSQKNCSVMGADLVVINTREEQDFIIQNLKRNS SYFLGLSDPGGRRHWQWVDQTPYNENVTFWHSGEPNNLDERCAIINFRSSEEWGWND IHCHVPQKSICKMKKIYI
서열번호 190	MDMRVPAQLLGLLLLWFPGSRCHHHHHHNFMYSKTVKRLSKLQEYQQYYPSLTCVM EGKDMEDWSCCPTPWTSFQSSCYFISTVMQSWTKSQNNCSVMGADLVVINTKEEQDFI TQNLKINSAYFLGLSDPKGWRHWQWVDQTPYNKNVTFWHSGEPNSPDERCAIINFRSE EWGWNDVHCHVPQKSICKMKKIYI
서열번호 191	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMSWVRQAPGKGLEWVSTISSGDSYT YYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQIYYDYAYYFDFWGQGTT VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAP ELLGGPDVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPEEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
서열번호 192	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMSWVRQAPGKGLEWVSTISSGDSYT YYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQIYYDYAYYFDFWGQGTT VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAP ELLAGPDVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPEEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
서열번호 193	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMSWVRQAPGKGLEWVSTISSGDSYT YYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQIYYDYAYYFDFWGQGTT VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA

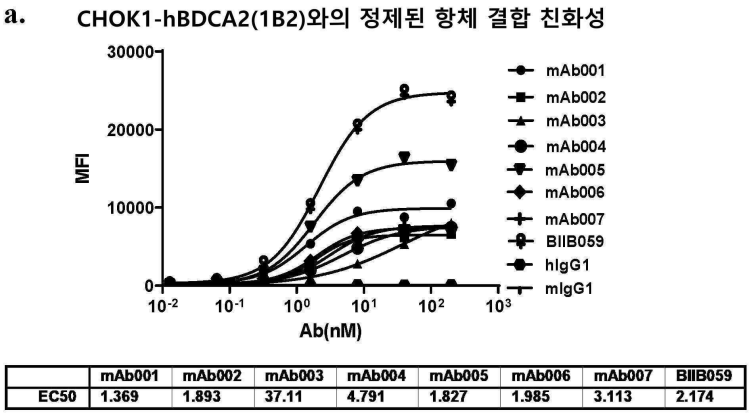
[0430]

	VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAP ELLAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPEEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
서열번호 194	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFRSYGMSWVRQAPGKRLEWVSTISSGDSYT YYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTAVYYCARQIYYDYAYYFDFWGQGTT VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAP ELLGGPDVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPEEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
서열번호 195	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFRSYGMSWVRQAPGKRLEWVSTISSGDSYT YYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTAVYYCARQIYYDYAYYFDFWGQGTT VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAP ELLAGPDVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPEEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
서열번호 196	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFRSYGMSWVRQAPGKRLEWVSTISSGDSYT YYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTAVYYCARQIYYDYAYYFDFWGQGTT VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAP ELLAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPEEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0431]

도면

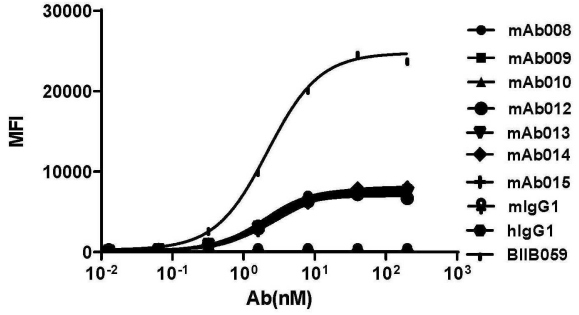
도면1a



	mAb001	mAb002	mAb003	mAb004	mAb005	mAb006	mAb007	BIIB059
EC50	1.369	1.893	37.11	4.791	1.827	1.985	3.113	2.174

도면1b

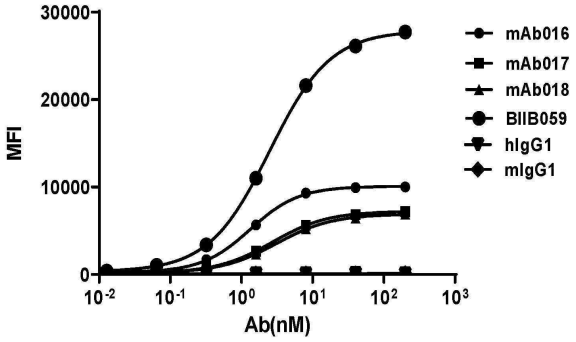
b. CHOK1-hBDCA2 와의 정제된 항체 결합 친화성



	mAb008	mAb009	mAb010	mAb012	mAb013	mAb014	mAb015	BIIB059
EC50	1.941	2.091	1.866	2.055	2.192	2.573	2.979	2.174

도면1c

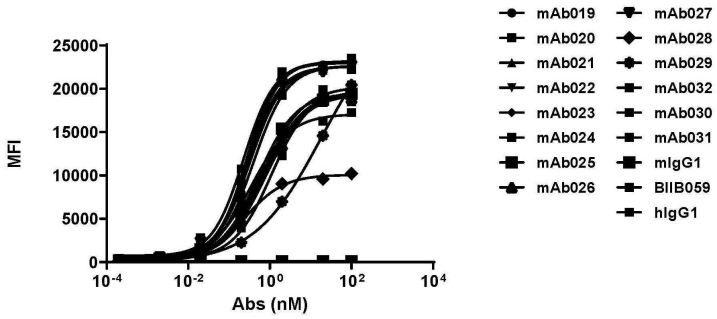
c. CHOK1-hBDCA2(1B2)와의 정제된 항체 결합 친화성



	mAb016	mAb017	mAb018	BIIB059
EC50	1.328	2.705	3.089	2.480

도면1d

d. CHOK1-hBDCA2와의 정제된 항체 결합 친화성

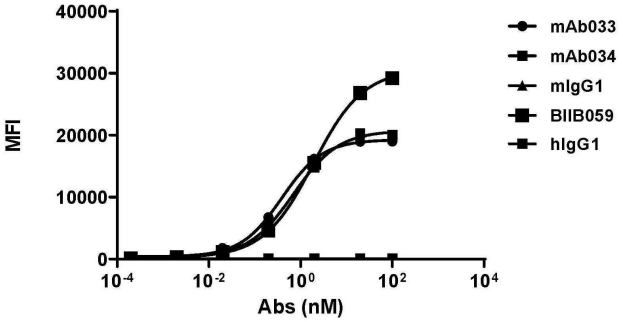


	mAb019	mAb020	mAb021	mAb022	mAb023	mAb024	mAb025
EC50	0.2710	0.7070	0.3284	0.7227	0.6618	0.3430	0.5204

	mAb026	mAb027	mAb028	mAb029	mAb030	mAb031	mAb032	BIIB059
EC50	0.7726	0.3020	0.2507	18.29	0.2928	0.3990	0.2249	1.090

도면1e

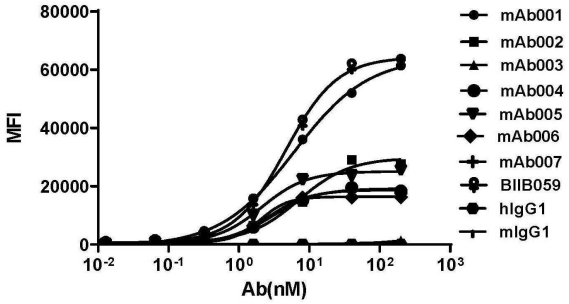
e. CHOK1-hBDCA2와의 정제된 항체 결합 친화성



	mAb033	mAb034	mIgG1	BIIB059	hIgG1
EC50	0.3882	0.7047	~ 175684	1.910	~ 4.327e-062

도면2a

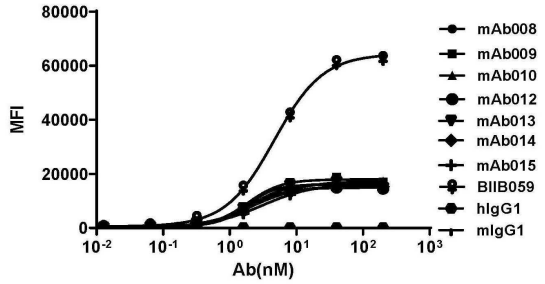
a. 293F-사이노BDCA2와의 정제된 항체 결합 친화성



	mAb001	mAb002	mAb003	mAb004	mAb005	mAb006	mAb007	BIIB059
EC50	6.076	7.047	345248	2.961	2.106	2.019	2.649	4.651

도면2b

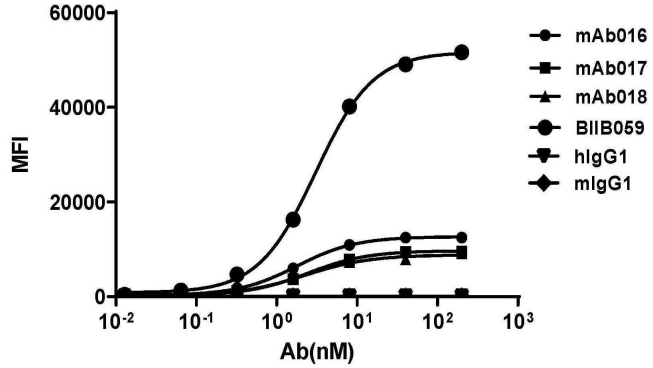
b. 293F-사이노BDCA2와의 정제된 항체 결합 친화성



	mAb008	mAb009	mAb010	mAb012	mAb013	mAb014	mAb015	BIIB059
EC50	2.054	1.868	2.489	1.874	1.804	2.117	3.050	4.651

도면2c

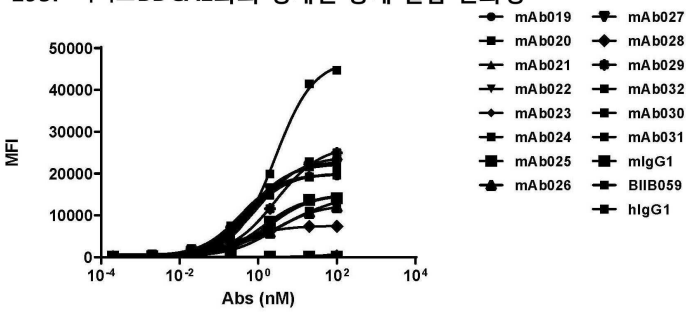
c. 293F-사이노BDCA2와의 정제된 항체 결합 친화성



	mAb016	mAb017	mAb018	BIIB059
EC50	1.781	2.439	2.202	3.047

도면2d

d. 293F-사이노BDCA2와의 정제된 항체 결합 친화성

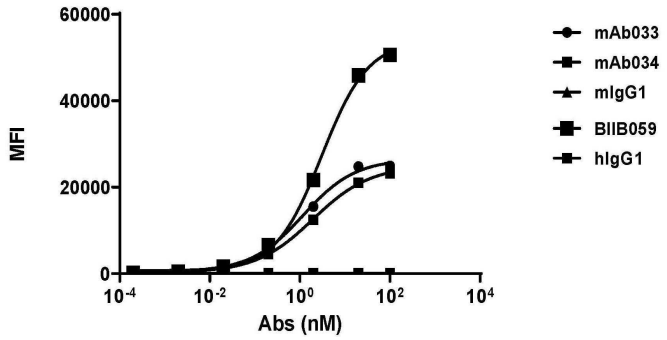


	mAb019	mAb020	mAb021	mAb022	mAb023	mAb024	mAb025
EC50	0.4853	1.902	0.5662	1.964	101373	1.040	1.352

	mAb026	mAb027	mAb028	mAb029	mAb030	mAb031	mAb032	BIIB059
EC50	2.487	0.6805	0.2795	2.802	0.5662	4.144	0.3593	2.742

도면2e

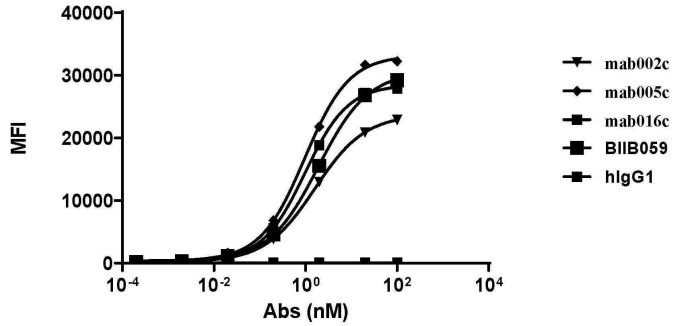
e. 293F-사이노BDCA2와의 정제된 항체 결합 친화성



	mAb033	mAb034	mIgG1	BIIB059	hIgG1
EC50	1.176	1.961	20.63	3.067	~ 21.75

도면3a

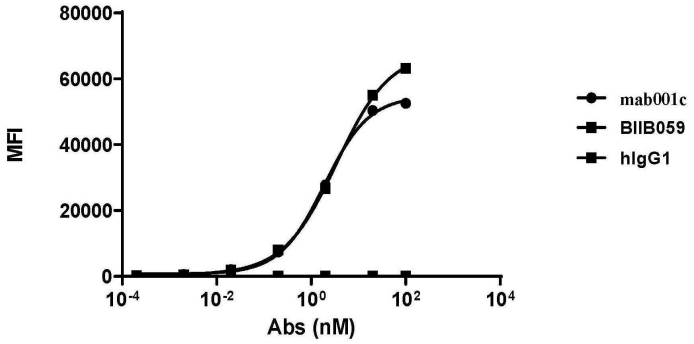
a. CHOK1-hBDCA2에 대한 정제된 Ab의 FACS 결합



	mab002c	mab005c	mab016c	BIIB059	hIgG1
EC50	1.612	0.9639	0.9772	1.910	~4.327e-062

도면3b

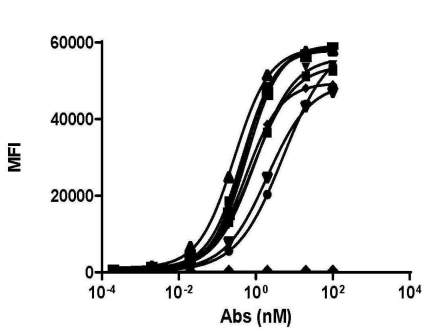
b. CHOK1-hBDCA2에 대한 정제된 Ab의 FACS 결합



	mab001c	BIIB059	hIgG1
EC50	1.897	3.450	~61.26

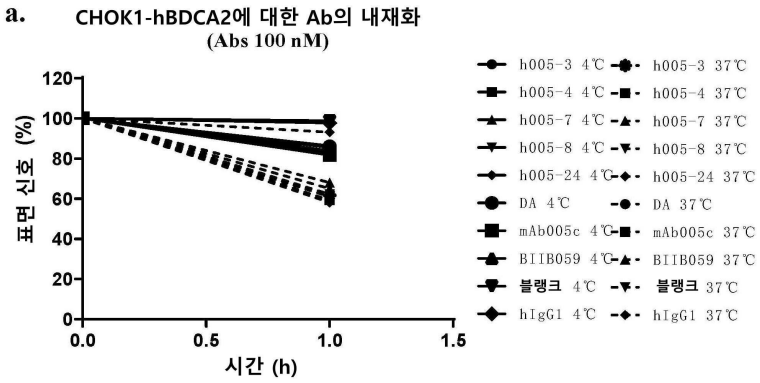
도면3c

c. CHOK1-hBDCA2에 대한 정제된 키메라 Ab의 FACS 결합

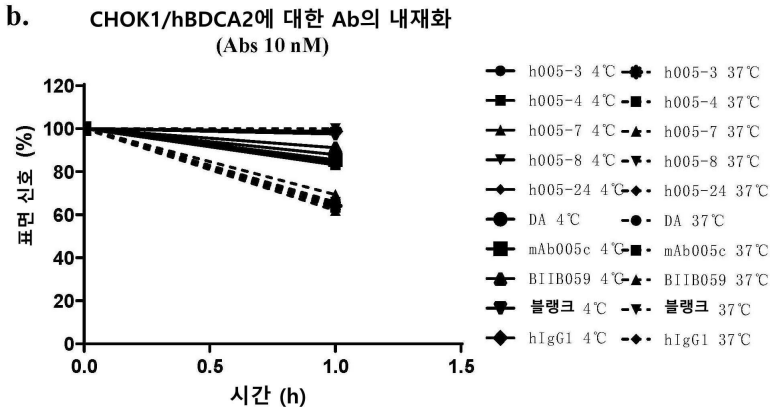


	EC50
mab019c	5.168
mab020c	0.8312
mab021c	0.4789
mab022c	0.9385
mab024c	0.5495
mab027c	0.4430
mab030c	0.5828
mab033c	0.2770
BIIB059	2.001

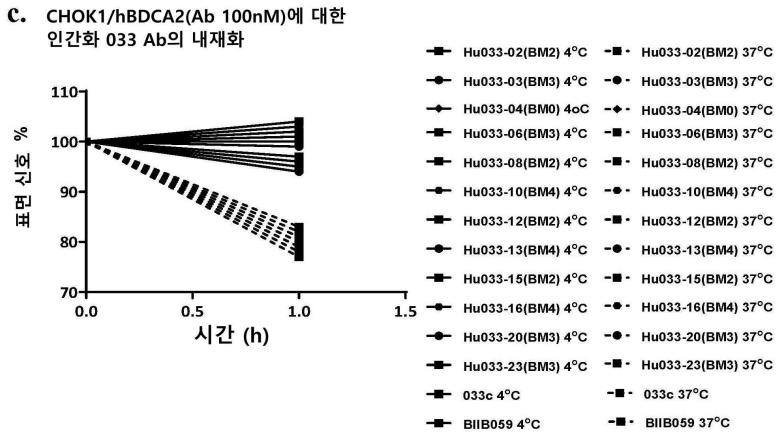
도면4a



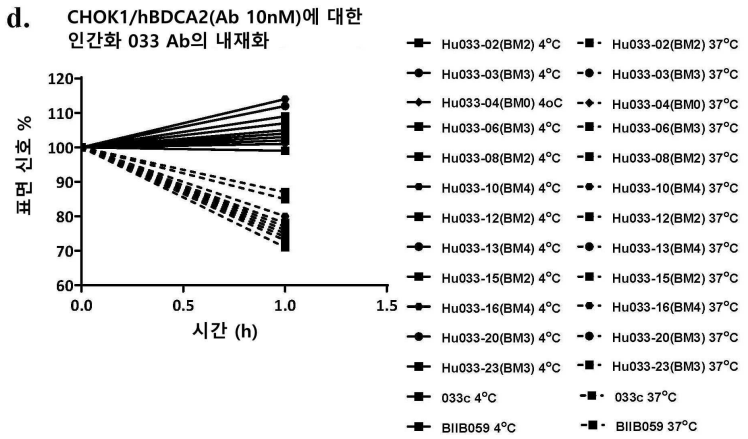
도면4b



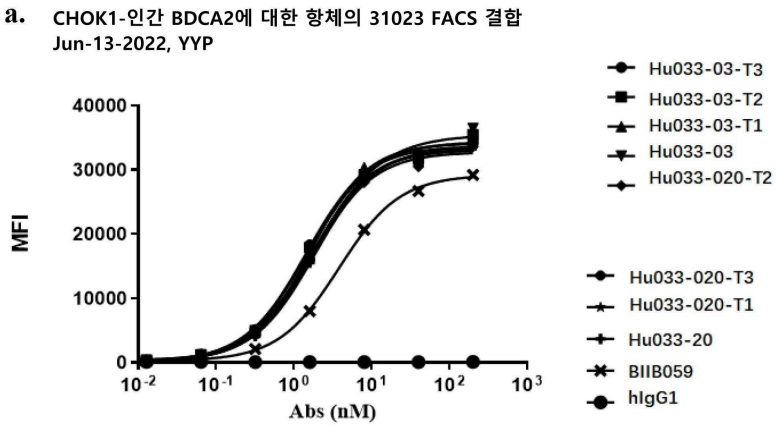
도면4c



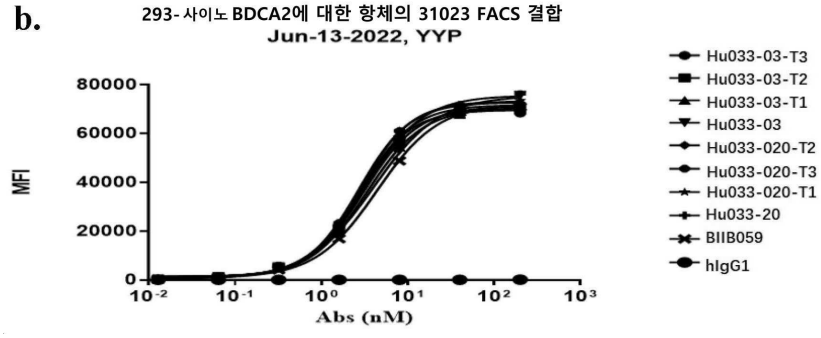
도면4d



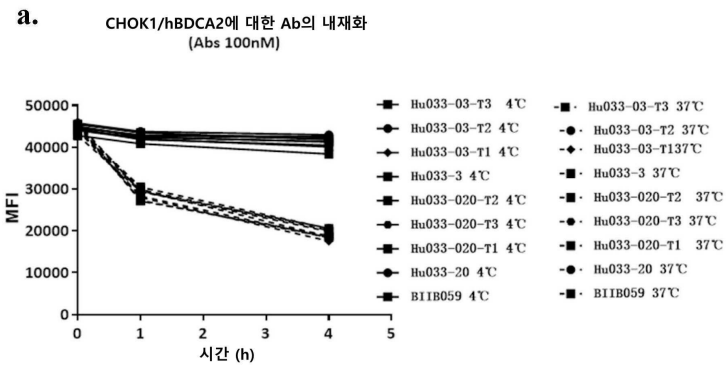
도면5a



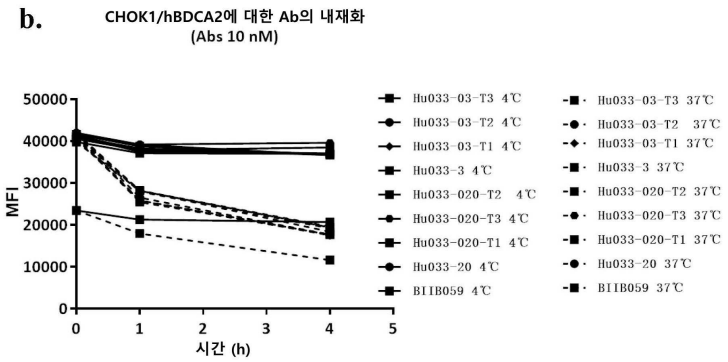
도면5b



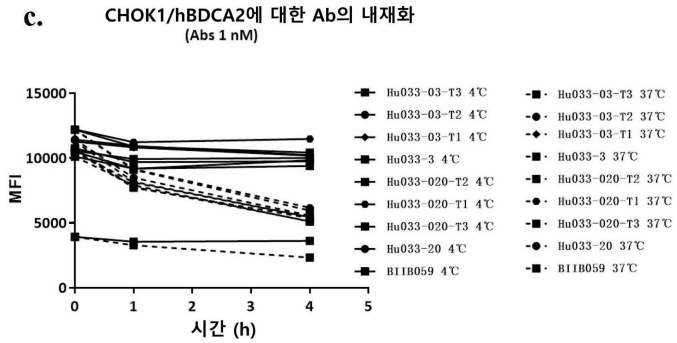
도면6a



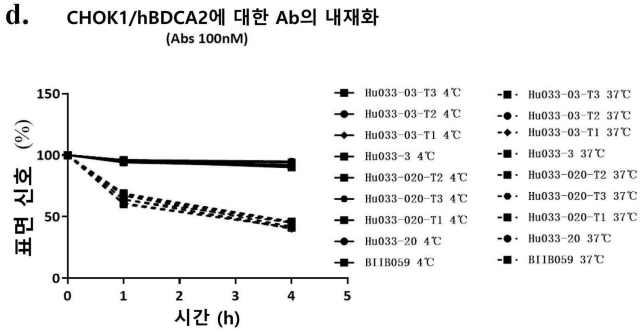
도면6b



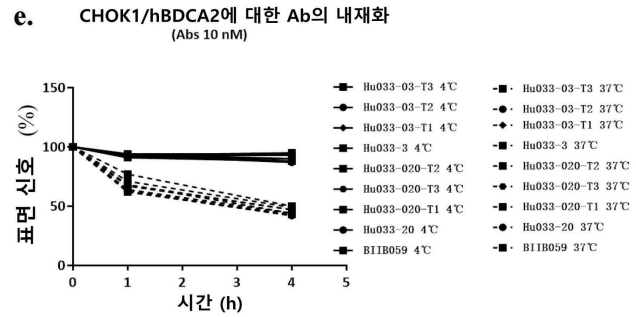
도면6c



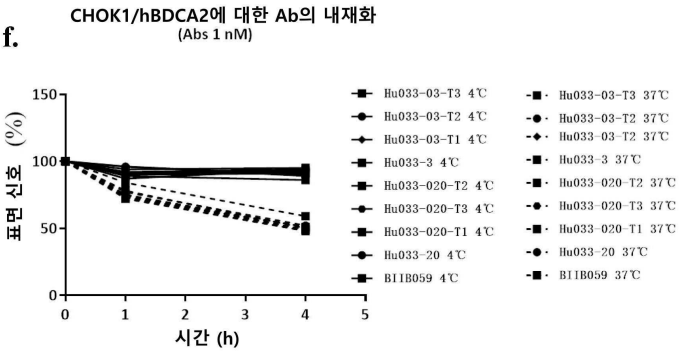
도면6d



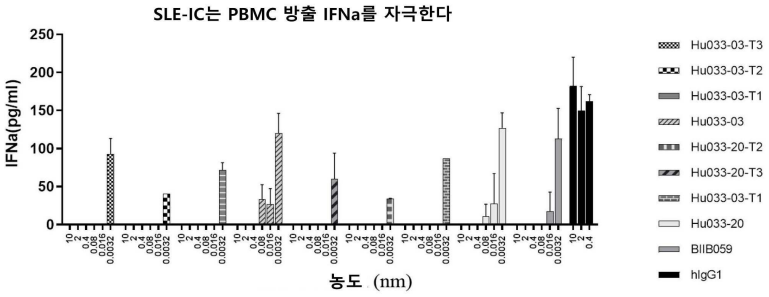
도면6e



도면6f



도면7



서 열 목 록 (첨부)



아이콘을 클릭하시면 서열목록 파일이 열립니다.

본 공보 PDF는 첨부파일을 가지고 있습니다. Acrobat Reader PDF뷰어를 제공하지 않는 브라우저(크롬, 파이어폭스, 사파리 등)의 경우 첨부파일 열기가 제한되어 있으므로 Acrobat Reader PDF뷰어 설치 후 공보 PDF를 다운로드 받아 해당 뷰어에서 조회해주시기 바랍니다.