



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2010년04월07일
(11) 등록번호 10-0951067
(24) 등록일자 2010년03월29일

(51) Int. Cl.

C07K 16/24 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2002-7010336
(22) 출원일자 2001년02월09일
 심사청구일자 2006년02월09일
(85) 번역문제출일자 2002년08월09일
(65) 공개번호 10-2003-0021153
(43) 공개일자 2003년03월12일
(86) 국제출원번호 PCT/US2001/004170
(87) 국제공개번호 WO 2001/58956
 국제공개일자 2001년08월16일
(30) 우선권주장
 60/181,608 2000년02월10일 미국(US)
(56) 선행기술조사문현
 EP00974600 A2*

*는 심사관에 의하여 인용된 문현

전체 청구항 수 : 총 53 항

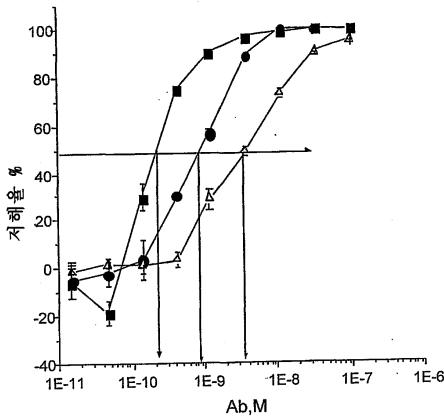
심사관 : 김지윤

(54) 사람 인터류킨-18에 결합하는 항체 및 이를 제조하고 사용하는 방법

(57) 요약

사람 인터류킨-18(hIL-18)에 결합하는 항체, 특히 사람 IL-18의 에피토프(들)에 결합하는 항체를 제공한다. 당해 항체는, 예를 들어, 완전 사람 항체, 재조합 항체 또는 모노클로날 항체일 수 있다. 바람직한 항체는 hIL-18에 대해 높은 친화성을 가지고, 시험관내 및 생체내 hIL-18 활성을 중화시킨다. 본 발명의 항체는 완전 길이 항체 또는 이의 항원-결합 부분일 수 있다. 본 발명의 항체를 제조하고 사용하는 방법을 제공한다. 본 발명의 항체 또는 항체 부분은, 예를 들어, hIL-18 활성이 유해한 질환을 앓고 있는 사람 환자에서 hIL-18을 검출하고 hIL-18 활성을 저해하는데 유용하다.

대 표 도 - 도5



(72) 발명자

로구스카마이크

미국매사추세츠주01721애쉬랜드힐데일로드16

화이트마이클

미국매사추세츠주01701

프레이밍햄안젤리카드라이브30

라브코프스키보리스

미국매사추세츠주01752말보로브로드메도우로드107

에이-5

잘펠트요한

미국매사추세츠주01536노쓰그래프턴올드웨스트보로로드177

던컨알렉산더로버트

영국캠브리지씨비25에이치에이치리틀海淀포드가든필즈8

브로클허스트시몬마크

영국캠브리지씨비15알에이치풀번헌트스밀38

맨코비치존

미국매사추세츠주01810엔도버로웰스트리트416

쇼록셀리아파트리시아

영국캠브리지씨비58엘에프스탠리로드17

톰순줄리아엘리자베쓰

영국캠브리지씨비24엘티휘틀스포드하이스트리트6시바이즈코티지

레나드시몬니콜라스

영국캠브리지셔씨비16엔에프린턴베이커스레이1

(81) 지정국

국내특허 : 아랍에미리트, 안티구와바부다, 알바니아, 아르메니아, 오스트리아, 오스트레일리아, 아제르바이잔, 보스니아 헤르체고비나, 바베이도스, 불가리아, 브라질, 벨라루스, 벨리즈, 캐나다, 스위스, 중국, 코스타리카, 쿠바, 체코, 독일, 덴마크, 도미니카, 알제리, 에스토니아, 스페인, 핀란드, 영국, 그라나다, 그루지야, 가나, 감비아, 크로아티아, 헝가리, 인도네시아, 이스라엘, 인도, 아이슬랜드, 일본, 케냐, 키르키즈스탄, 북한, 대한민국, 카자흐스탄, 세인트루시아, 스리랑카, 리베이라, 레소토, 리투아니아, 룩셈부르크, 라트비아, 모로코, 몰도바, 마다가스카르, 마케도니아공화국, 몽고, 말라위, 멕시코, 모잠비크, 노르웨이, 뉴질랜드, 폴란드, 포르투칼, 루마니아, 러시아, 수단, 스웨덴, 싱가포르, 슬로베니아, 슬로바키아, 시에라리온, 타지키스탄, 투르크멘, 터키, 트리니아드토바고, 탄자니아, 우크라이나, 우간다, 미국, 우즈베키스탄, 베트남, 세르비아 앤 몬테네그로, 남아프리카, 짐바브웨

AP ARIPO특허 : 가나, 감비아, 케냐, 레소토, 말라위, 모잠비크, 수단, 시에라리온, 스와질랜드, 탄자니아, 우간다, 짐바브웨

EA 유라시아특허 : 아르메니아, 아제르바이잔, 벨라루스, 키르키즈스탄, 카자흐스탄, 몰도바, 러시아, 타지키스탄, 투르크멘

EP 유럽특허 : 오스트리아, 벨기에, 스위스, 사이프러스, 독일, 덴마크, 스페인, 핀란드, 프랑스, 영국, 그리스, 아일랜드, 이탈리아, 룩셈부르크, 모나코, 네덜란드, 포르투칼, 스웨덴, 터키

OA OAPI특허 : 부르키나파소, 베닌, 중앙아프리카, 콩고, 코트디브와르, 카메룬, 가봉, 기니, 기니비사우, 말리, 모리타니, 니제르, 세네갈, 차드, 토고

특허청구의 범위

청구항 1

삭제

청구항 2

삭제

청구항 3

삭제

청구항 4

삭제

청구항 5

삭제

청구항 6

삭제

청구항 7

삭제

청구항 8

삭제

청구항 9

삭제

청구항 10

삭제

청구항 11

삭제

청구항 12

삭제

청구항 13

삭제

청구항 14

삭제

청구항 15

삭제

청구항 16

삭제

청구항 17

삭제

청구항 18

삭제

청구항 19

삭제

청구항 20

삭제

청구항 21

삭제

청구항 22

서열 9의 아미노산 서열, 또는 H30에서 A, R, N, D, C, G, H, I, F, P, S 또는 V; H31에서 A, C, H, S, T 또는 Y; H32에서 R, N, C, H, P, S 또는 T; H33에서 N, D, C, Q, H, L, M, F, S 또는 V; 및 H35에서 N, D, L 또는 F로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 하나 이상의 아미노산 치환에 의해 서열 9로부터 변형된 서열을 포함하는 중쇄 CDR1 도메인;

서열 10의 아미노산 서열, 또는 H52에서 T; H52a에서 R, Q, L, S, T 또는 W; H53에서 A, R, N, L, P, S 또는 Y; H54에서 A, R, N, D, Q, L, K, M, P, S 또는 Y; H56에서 A, R, N, C, G, H, I, L 또는 F; 및 H58에서 A, R, Q, E, H, I, L, K, M, F, S, T, Y, P, S, T, W, Y 또는 V로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 하나 이상의 아미노산 치환에 의해 서열 10으로부터 변형된 서열을 포함하는 중쇄 CDR2 도메인; 및

서열 11의 아미노산 서열, 또는 H95에서 A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C; H96에서 A, R, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C; H97에서 A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C; 및 H98에서 R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 하나 이상의 아미노산 치환에 의해 서열 11로부터 변형된 서열을 포함하는 중쇄 CDR3 도메인으로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 CDR1, CDR2 및 CDR3 도메인을 포함하는 중쇄 가변영역; 및

서열 12의 아미노산 서열, 또는 L30에서 N, D, C, G, I, L, S, W 또는 Y; L31에서 R, N, D, C, G, H, I, L, P, S, T 또는 Y; L32에서 R, N, D, E, G, I, L, P, S, T 또는 V; 및 L34에서 A, R, N, D, E, H, I, L, K, M, F, P, S, T, Y 또는 V로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 하나 이상의 아미노산 치환에 의해 서열 12로부터 변형된 서열을 포함하는 경쇄 CDR1 도메인;

서열 13의 아미노산 서열, 또는 L50에서 A, N, I, L, F, P, S, W, Y 또는 V; L52에서 A, R, D, E, H, I, L, M, F, P, S, T 또는 V; L53에서 A, R, C, I, L, K, M, P, S 또는 T; 및 L55에서 A, R, N, D, C, G, H, I, L, S, T 또는 Y로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 하나 이상의 아미노산 치환에 의해 서열 13으로부터 변형된 서열을 포함하는 경쇄 CDR2 도메인; 및

서열 14의 아미노산 서열, 또는 L89에서 A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C; L90에서 A, R, E, Q, Y, V, H, P, W 또는 C; L91에서 R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C; L92에서 A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C; L93에서 A, R, E, Q, Y, V, H, P, W 또는 C; L94에서 A, R, E, Q, Y, V, H, P, W 또는 C; L95에서 A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C; L95a에서 A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C; L95b에서 A, R, E, Q, S, Y, V, P, W 또는 C; L96에서 A, R, E, Q, S, Y, H, P, W 또는 C; 및 L97에서 A, R, E, Q, S, Y, H, P, W 또는 C로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 하나 이상의 아미노산 치환에 의해 서열 14로부터 변형된 서열을 포함하는 경쇄 CDR3 도메인으로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 CDR1, CDR2 및 CDR3 도메인을 포함하는 경쇄 가변영역을 포함하는, 분리된 사람 항체 또는 이의 항원-결합 부분.

청구항 23

삭제

청구항 24

삭제

청구항 25

삭제

청구항 26

삭제

청구항 27

삭제

청구항 28

삭제

청구항 29

삭제

청구항 30

서열 15의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(LCVR: light chain variable region) 및 서열 16의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(HCVR: heavy chain variable region)을 포함하고, 서열 1 또는 서열 33의 아미노산 서열을 포함하는 사람 IL-18의 에피토프 또는 이의 부분을 포함하는 항원에 결합하는, 분리된 사람 항체 또는 이의 항원-결합 부분.

청구항 31

서열 15의 아미노산 서열을 갖는 경쇄 가변 영역(LCVR) 및 서열 17의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역(HCVR)을 포함하고, 서열 1 또는 서열 33의 아미노산 서열을 포함하는 사람 IL-18의 에피토프 또는 이의 부분을 포함하는 항원에 결합하는, 분리된 사람 항체 또는 이의 항원-결합 부분.

청구항 32

서열 20의 아미노산 서열, 또는 H31에서 A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C; H32에서 A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C; H33에서 A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C; 및 H35에서 A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 하나 이상의 아미노산 치환에 의해 서열 20으로부터 변형된 서열을 포함하는 중쇄 CDR1 도메인;

서열 21의 아미노산 서열, 또는 H50에서 A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C; H51에서 A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C; H52에서 A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C; H52a에서 A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C; H53에서 A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C; H54에서 A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C; H56에서 A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C; 및 H58에서 A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 하나 이상의 아미노산 치환에 의해 서열 21로부터 변형된 서열을 포함하는 중쇄 CDR2 도메인; 및

서열 22의 아미노산 서열, 또는 H95에서 A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C; H96에서 A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C; H97에서 A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C; H98에서 A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C; H99에서 A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C; H100에서 A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C; H100a에서 A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C; H101에서 A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C; 및 H102에서 A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 하나 이상의 아미노산 치환에 의해 서열 22로부터 변형된 서열을 포함하는 중쇄 CDR3 도메인으로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 CDR1, CDR2 및 CDR3 도메인을 포함하는 중쇄 가변영역; 및

서열 23의 아미노산 서열, 또는 L30에서 A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C; L31에서 A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C; L32에서 R, E, Q, S, Y, V, H, P, W, C 또는 G; L34에서 A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 하나 이상의 아미노산 치환에 의해 서열 23으로부터 변형된 서열을 포함하는 경쇄 CDR1 도메인;

서열 24의 아미노산 서열, 또는 L50에서 A, R, E, Q, S, Y, V, H, P 또는 C; L52에서 A, R, E, S, Y, V, H, P, W 또는 C; L53에서 A, R, E, S, Y, V, H, P, W, C 또는 N; 및 L55에서 A, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 하나 이상의 아미노산 치환에 의해 서열 24로부터 변형된 서열을 포함하는 경쇄 CDR2 도메인; 및

서열 25의 아미노산 서열, 또는 L89에서 A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C; L90에서 A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C; L91에서 A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C; L92에서 A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C; L93에서 A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C; L94에서 A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C; L95에서 A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C; L95a에서 A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C; L95b에서 A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C; L96에서 A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C; L97에서 A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 하나 이상의 아미노산 치환에 의해 서열 25로부터 변형된 서열을 포함하는 경쇄 CDR3 도메인으로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 CDR1, CDR2 및 CDR3 도메인을 포함하는 경쇄 가변영역을 포함하는, 분리된 사람 항체 또는 이의 항원-결합 부분.

청구항 33

삭제

청구항 34

삭제

청구항 35

삭제

청구항 36

삭제

청구항 37

서열 29의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(LCVR) 및 서열 26의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(HCVR)을 포함하고, 서열 1 또는 서열 33의 아미노산 서열을 포함하는 사람 IL-18의 에피토프 또는 이의 부분을 포함하는 항원에 결합하는, 분리된 사람 항체 또는 이의 항원-결합 부분.

청구항 38

서열 29의 아미노산 서열을 갖는 경쇄 가변 영역(LCVR) 및 서열 27의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역(HCVR)을 포함하고, 서열 1 또는 서열 33의 아미노산 서열을 포함하는 사람 IL-18의 에피토프 또는 이의 부분을 포함하는 항원에 결합하는, 분리된 사람 항체 또는 이의 항원-결합 부분.

청구항 39

제22항, 제30항, 제31항, 제32항, 제37항 및 제38항 중의 어느 한 항의 아미노산 서열을 암호화하는 분리된 핵산.

청구항 40

제39항에 있어서, 상기 핵산이 재조합 발현 백터내에 존재하는 분리된 핵산.

청구항 41

제40항의 재조합 발현 백터가 도입되어진 분리된 숙주 세포.

청구항 42

제41항의 숙주 세포를 사람 IL-18에 결합하는 항체가 당해 세포에 의해 합성될 때까지 배양 배지에서 배양함을 포함하여, 사람 IL-18에 결합하는 항체를 합성하는 방법.

청구항 43

삭제

청구항 44

제22항, 제30항, 제31항, 제32항, 제37항 및 제38항 중의 어느 한 항의 항체 또는 이의 항원-결합 부분 및 약제학적으로 허용되는 단체를 포함하는, 류마티스양 관절염, 골관절염, 소아 만성 관절염, 라임 관절염, 건선성 관절염, 반응성 관절염, 척추관절증, 전신성 홍반성 낭창, 크론 질환, 궤양성 대장염, 염증성 장 질환, 인슐린 의존성 당뇨병, 갑상선염, 천식, 알레르기성 질환, 건선, 피부염, 경피증, 이식편 대 숙주 질환, 기관 이식 거부증, 기관 이식과 관련된 급성 또는 만성 면역 질환, 유육종증, 아테롬성 동맥경화증, 파종성 혈관내 응고, 가와사키 질환, 그레이브 질환, 신증후군, 만성 피로 증후군, 베게너 육아종증, 헤노호-쉔라인 자반증, 신장의 현미경적 혈관염, 만성 활동성 간염, 포도막염, 패혈성 속, 독성 속 증후군, 패혈증 증후군, 악액질, 감염성 질환, 기생충성 질환, 후천성 면역결핍 증후군, 급성 횡단성 척수염, 헌팅턴 무도병, 파킨슨 질환, 알츠하이머 질환, 뇌졸중, 원발성 담즙성 간경변, 용혈성 빈혈, 악성 종양, 심부전, 심근경색, 애디슨 질환, 산발성 질환, 다분비선 결핍증 I형 및 다분비선 결핍증 II형, 슈미트 증후군, 성인성 (급성) 호흡 곤란 증후군, 탈모증, 원형 탈모증, 혈청반응 음성 관절증, 관절증, 라이터 질환, 건선성 관절증, 궤양성 대장염성 관절증, 장병증성 활막염, 클라미디아, 예르시니아 및 살모넬라 관련된 관절증, 척추관절증, 아테롬성 질환/아테롬성 동맥경화증, 아토피성 알레르기, 자가면역성 수포성 질환, 심상성 천포창, 낙엽성 천포창, 유천포창, 선상 IgA 질환, 자가면역성 용혈성 빈혈, 쿰스 양성 용혈성 빈혈, 후천성 악성 빈혈, 소아 악성 빈혈, 근통성 뇌염/로열 프리 질환(Royal Free Disease), 만성 점막피부 칸디다증, 거대 세포 동맥염, 원발성 경화성 간염, 잠재성 자가면역성 간염, 후천성 면역결핍 질환 증후군, 후천성 면역결핍 관련된 질환, C형 간염, 공통 가변성 면역결핍증(공통 가변성 저감마글로불린혈증), 확장형 심근증, 여성 불임증, 난소 부전, 조기 난소 부전, 섬유성 폐 질환, 잠재성 섬유성 폐포염, 염증 후 간질성 폐 질환, 간질성 폐렴, 결합 조직 질환 관련된 간질성 폐 질환, 혼합 결합 조직 질환 관련된 폐 질환, 전신성 경화증 관련된 간질성 폐 질환, 류마티스양 관절염 관련된 간질성 폐 질환, 전신성 홍반성 낭창 관련된 폐 질환, 피부근염/다발성 근염 관련된 폐 질환, 쇼그렌 질환 관련된 폐 질환, 강직성 척추염 관련된 폐 질환, 혈관염성 미만성 폐 질환, 혈철증(haemosiderosis) 관련된 폐 질환, 약물-유도된 간질성 폐 질환, 방사선 섬유증, 폐쇄성 기관지염, 만성 호산구성 폐렴, 림프구 침윤성 폐 질환, 감염후 간질성 폐 질환, 통풍성 관절염, 자가면역성 간염, 1형 자가면역성 간염(전형적 자가면역성 또는 루푸스양 간염), 2형 자가면역성 간염(항-LKM 항체 간염), 자가면역 매개된 저혈당증, B형 인슐린 저항성과 흑색 극세포증, 부갑상선기능저하증, 기관 이식과 관련된 급성 면역 질환, 기관 이식과 관련된 만성 면역 질환, 골관절증, 원발성 경화성 담관염, 건선 1형, 건선 2형, 특발성 백혈구감소증, 자가면역성 호중구감소증, 신장 질환 NOS, 사구체신염, 신장의 현미경적 혈관염, 라임 질환, 원판상 홍반성 낭창, 특발성 또는 NOS 남성 불임증, 정자 자가면역, 다발성 경화증(모든 아유형), 교감신경성 안염, 결합 조직 질환에 속발성인 폐 고혈압, 굿페스처(Good pasture's) 증후군, 결절성 다발성동맥염의 폐 정후, 급성 류마티스성 열, 류마티스양 척추염, 스틸 질환, 전신성 경화증, 쇼그렌 증후군, 다카야스 질환/동맥염, 자가면역성 혈소판감소증, 특발성 혈소판감소증, 자가면역성 갑상선 질환, 갑상선기능항진증, 갑상선종성 자가면역성 갑상선기능저하증(하시모토 질환), 위축성 자가면역성 갑상선기능저하증, 원발성 점액수종, 수정체성 포도막염, 원발성 혈관염, 백반증, 급성 간 질환, 만성 간 질환, 알레르기 및 천식, 정신장애 및 Th2형 및 Th1형 매개된 질환으로 이루어진 그룹으로부터 선택되는, IL-18 활성이 유해한 질환을 치료하기 위한 약제학적 조성물.

청구항 45

제44항에 있어서, IL-18 활성이 유해한 질환을 치료하기 위한 하나 이상의 부가의 치료제를 추가로 포함하는 약제학적 조성물.

청구항 46

제45항에 있어서, 부가의 치료제가 사람 IL-12에 결합할 수 있는 항체 또는 이의 단편, 메토트렉세이트, 항-

TNF, 코르티코스테로이드, 사이클로스포린, 라파마이신, FK506 및 비스테로이드성 소염제로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 약제학적 조성물.

청구항 47

삭제

청구항 48

삭제

청구항 49

삭제

청구항 50

삭제

청구항 51

삭제

청구항 52

삭제

청구항 53

삭제

청구항 54

분리된 생물학적 샘플을 제22항, 제30항, 제31항, 제32항, 제37항 및 제38항 중의 어느 한 항의 항체 또는 이의 항원-결합 부분과 접촉시켜 사람 IL-18 활성을 검출하는 단계를 포함하여, 분리된 생물학적 샘플 내에서 사람 IL-18 활성을 검출하는 방법.

청구항 55

삭제

청구항 56

삭제

청구항 57

삭제

청구항 58

삭제

청구항 59

삭제

청구항 60

삭제

청구항 61

제44항에 있어서, 정신 장애가 우울증 또는 정신분열증인 약제학적 조성물.

청구항 62

삭제

청구항 63

삭제

청구항 64

서열 20의 아미노산 서열, 또는 H31에서 A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C; H32에서 A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C; H33에서 A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C; 및 H35에서 A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 하나 이상의 아미노산 치환에 의해 서열 20으로부터 변형된 서열을 포함하는 중쇄 CDR1 도메인;

서열 21의 아미노산 서열, 또는 H50에서 A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C; H51에서 A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C; H52에서 A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C; H52a에서 A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C; H53에서 A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C; H54에서 A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C; H56에서 A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C; 및 H58에서 A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 하나 이상의 아미노산 치환에 의해 서열 21로부터 변형된 서열을 포함하는 중쇄 CDR2 도메인; 및

서열 22의 아미노산 서열, 또는 H95에서 A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C; H96에서 A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C; H97에서 A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C; H98에서 A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C; H99에서 A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C; H100에서 A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C; H100a에서 A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C; H101에서 A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C; 및 H102에서 A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 하나 이상의 아미노산 치환에 의해 서열 22로부터 변형된 서열을 포함하는 중쇄 CDR3 도메인으로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 CDR1, CDR2 및 CDR3 도메인을 포함하는 중쇄 가변영역; 및

서열 12의 아미노산 서열, 또는 L30에서 N, D, C, G, I, L, S, W 또는 Y; L31에서 R, N, D, C, G, H, I, L, P, S, T 또는 Y; L32에서 R, N, D, E, G, I, L, P, S, T 또는 V; 및 L34에서 A, R, N, D, E, H, I, L, K, M, F, P, S, T, Y 또는 V로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 하나 이상의 아미노산 치환에 의해 서열 12로부터 변형된 서열을 포함하는 경쇄 CDR1 도메인;

서열 13의 아미노산 서열, 또는 L50에서 A, N, I, L, F, P, S, W, Y 또는 V; L52에서 A, R, D, E, H, I, L, M, F, P, S, T 또는 V; L53에서 A, R, C, I, L, K, M, P, S 또는 T; 및 L55에서 A, R, N, D, C, G, H, I, L, S, T 또는 Y로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 하나 이상의 아미노산 치환에 의해 서열 13으로부터 변형된 서열을 포함하는 경쇄 CDR2 도메인; 및

서열 14의 아미노산 서열, 또는 L89에서 A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C; L90에서 A, R, E, Q, Y, V, H, P, W 또는 C; L91에서 R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C; L92에서 A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C; L93에서 A, R, E, Q, Y, V, H, P, W 또는 C; L94에서 A, R, E, Q, Y, V, H, P, W 또는 C; L95에서 A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C; L95a에서 A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C; L95b에서 A, R, E, Q, S, Y, V, P, W 또는 C; L96에서 A, R, E, Q, S, Y, H, P, W 또는 C; 및 L97에서 A, R, E, Q, S, Y, H, P, W 또는 C로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 하나 이상의 아미노산 치환에 의해 서열 14로부터 변형된 서열을 포함하는 경쇄 CDR3 도메인으로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 CDR1, CDR2 및 CDR3 도메인을 포함하는 경쇄 가변영역을 포함하는, 분리된 사람 항체 또는 이의 항원-결합 부분.

청구항 65

서열 9의 아미노산 서열, 또는 H30에서 A, R, N, D, C, G, H, I, F, P, S 또는 V; H31에서 A, C, H, S, T 또는 Y; H32에서 R, N, C, H, P, S 또는 T; H33에서 N, D, C, Q, H, L, M, F, S 또는 V; 및 H35에서 N, D, L 또는 F로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 하나 이상의 아미노산 치환에 의해 서열 9로부터 변형된 서열을 포함하는 중쇄 CDR1 도메인;

서열 10의 아미노산 서열, 또는 H52에서 T; H52a에서 R, Q, L, S, T 또는 W; H53에서 A, R, N, L, P, S 또는 Y; H54에서 A, R, N, D, Q, L, K, M, P, S 또는 Y; H56에서 A, R, N, C, G, H, I, L 또는 F; 및 H58에서 A, R,

Q, E, H, I, L, K, M, F, S, T, Y, P, S, T, W, Y 또는 V로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 하나 이상의 아미노산 치환에 의해 서열 10으로부터 변형된 서열을 포함하는 중쇄 CDR2 도메인; 및

서열 11의 아미노산 서열, 또는 H95에서 A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C; H96에서 A, R, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C; H97에서 A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C; 및 H98에서 R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 하나 이상의 아미노산 치환에 의해 서열 11로부터 변형된 서열을 포함하는 중쇄 CDR3 도메인으로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 CDR1, CDR2 및 CDR3 도메인을 포함하는 중쇄 가변영역; 및

서열 23의 아미노산 서열, 또는 L30에서 A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C; L31에서 A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C; L32에서 R, E, Q, S, Y, V, H, P, W, C 또는 G; L34에서 A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 하나 이상의 아미노산 치환에 의해 서열 23으로부터 변형된 서열을 포함하는 경쇄 CDR1 도메인;

서열 24의 아미노산 서열, 또는 L50에서 A, R, E, Q, S, Y, V, H, P 또는 C; L52에서 A, R, E, S, Y, V, H, P, W 또는 C; L53에서 A, R, E, S, Y, V, H, P, W, C 또는 N; 및 L55에서 A, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 하나 이상의 아미노산 치환에 의해 서열 24로부터 변형된 서열을 포함하는 경쇄 CDR2 도메인; 및

서열 25의 아미노산 서열, 또는 L89에서 A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C; L90에서 A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C; L91에서 A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C; L92에서 A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C; L93에서 A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C; L94에서 A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C; L95에서 A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C; L95a에서 A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C; L95b에서 A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C; L96에서 A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C; L97에서 A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 하나 이상의 아미노산 치환에 의해 서열 25로부터 변형된 서열을 포함하는 경쇄 CDR3 도메인으로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 CDR1, CDR2 및 CDR3 도메인을 포함하는 경쇄 가변영역을 포함하는, 분리된 사람 항체 또는 이의 항원-결합 부분.

청구항 66

삭제

청구항 67

삭제

청구항 68

삭제

청구항 69

제22항, 제30항, 제31항, 제32항, 제37항, 제38항, 제64항 및 제65항 중의 어느 한 항에 있어서, 항체가 중화 항체인, 분리된 사람 항체 또는 이의 항원-결합 부분.

청구항 70

제22항, 제30항, 제31항, 제32항, 제37항, 제38항, 제64항 및 제65항 중의 어느 한 항에 있어서, 항체가 재조합 항체인, 분리된 사람 항체 또는 이의 항원-결합 부분.

청구항 71

제22항, 제30항, 제31항, 제32항, 제37항, 제38항, 제64항 및 제65항 중의 어느 한 항에 있어서, 항체가 모노클로날 항체인, 분리된 사람 항체 또는 이의 항원-결합 부분.

청구항 72

제22항, 제30항, 제31항, 제32항, 제37항, 제38항, 제64항 및 제65항 중의 어느 한 항에 있어서, 표면 플라즈몬 공명에 의해 측정된 경우 0.1s^{-1} 이하의 k_{off} 속도 상수로 사람 IL-18로부터 해리되고/해리되거나, $1 \times 10^{-6}\text{M}$ 이하

의 IC_{50} 으로 사람 IL-18 활성을 억제하는, 분리된 사람 항체 또는 이의 항원-결합 부분.

청구항 73

제22항, 제30항, 제31항, 제32항, 제37항, 제38항, 제64항 및 제65항 중의 어느 한 항에 있어서, 표면 플라즈몬 공명에 의해 측정된 경우 $1 \times 10^{-2} \text{ s}^{-1}$ 이하의 k_{off} 속도 상수로 사람 IL-18로부터 해리되고/해리되거나, $1 \times 10^{-7} \text{ M}$ 이하의 IC_{50} 으로 사람 IL-18 활성을 억제하는, 분리된 사람 항체 또는 이의 항원-결합 부분.

청구항 74

제22항, 제30항, 제31항, 제32항, 제37항, 제38항, 제64항 및 제65항 중의 어느 한 항에 있어서, 표면 플라즈몬 공명에 의해 측정된 경우 $1 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ 이하의 k_{off} 속도 상수로 사람 IL-18로부터 해리되고/해리되거나, $1 \times 10^{-8} \text{ M}$ 이하의 IC_{50} 으로 사람 IL-18 활성을 억제하는, 분리된 사람 항체 또는 이의 항원-결합 부분.

청구항 75

제22항, 제30항, 제31항, 제32항, 제37항, 제38항, 제64항 및 제65항 중의 어느 한 항에 있어서, 표면 플라즈몬 공명에 의해 측정된 경우 $1 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ 이하의 k_{off} 속도 상수로 사람 IL-18로부터 해리되고/해리되거나, $1 \times 10^{-9} \text{ M}$ 이하의 IC_{50} 으로 사람 IL-18 활성을 억제하는, 분리된 사람 항체 또는 이의 항원-결합 부분.

청구항 76

제22항, 제30항, 제31항, 제32항, 제37항, 제38항, 제64항 및 제65항 중의 어느 한 항에 있어서, 표면 플라즈몬 공명에 의해 측정된 경우 $1 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ 이하의 k_{off} 속도 상수로 사람 IL-18로부터 해리되고/해리되거나, $1 \times 10^{-10} \text{ M}$ 이하의 IC_{50} 으로 사람 IL-18 활성을 억제하는, 분리된 사람 항체 또는 이의 항원-결합 부분.

청구항 77

제22항, 제30항, 제31항, 제32항, 제37항, 제38항, 제64항 및 제65항 중의 어느 한 항에 있어서, 표면 플라즈몬 공명에 의해 측정된 경우 $1 \times 10^{-6} \text{ s}^{-1}$ 이하의 k_{off} 속도 상수로 사람 IL-18로부터 해리되고/해리되거나, $1 \times 10^{-11} \text{ M}$ 이하의 IC_{50} 으로 사람 IL-18 활성을 억제하는, 분리된 사람 항체 또는 이의 항원-결합 부분.

청구항 78

제69항의 아미노산 서열을 암호화하는 분리된 핵산.

청구항 79

제70항의 아미노산 서열을 암호화하는 분리된 핵산.

청구항 80

제71항의 아미노산 서열을 암호화하는 분리된 핵산.

청구항 81

제72항의 아미노산 서열을 암호화하는 분리된 핵산.

청구항 82

제73항의 아미노산 서열을 암호화하는 분리된 핵산.

청구항 83

제74항의 아미노산 서열을 암호화하는 분리된 핵산.

청구항 84

제75항의 아미노산 서열을 암호화하는 분리된 핵산.

청구항 85

제76항의 아미노산 서열을 암호화하는 분리된 핵산.

청구항 86

제77항의 아미노산 서열을 암호화하는 분리된 핵산.

청구항 87

분리된 생물학적 샘플을 제69항의 항체 또는 이의 항원-결합 부분과 접촉시켜 사람 IL-18 활성을 검출하는 단계를 포함하여, 분리된 생물학적 샘플 내에서 사람 IL-18 활성을 검출하는 방법.

청구항 88

분리된 생물학적 샘플을 제70항의 항체 또는 이의 항원-결합 부분과 접촉시켜 사람 IL-18 활성을 검출하는 단계를 포함하여, 분리된 생물학적 샘플 내에서 사람 IL-18 활성을 검출하는 방법.

청구항 89

분리된 생물학적 샘플을 제71항의 항체 또는 이의 항원-결합 부분과 접촉시켜 사람 IL-18 활성을 검출하는 단계를 포함하여, 분리된 생물학적 샘플 내에서 사람 IL-18 활성을 검출하는 방법.

청구항 90

분리된 생물학적 샘플을 제72항의 항체 또는 이의 항원-결합 부분과 접촉시켜 사람 IL-18 활성을 검출하는 단계를 포함하여, 분리된 생물학적 샘플 내에서 사람 IL-18 활성을 검출하는 방법.

청구항 91

분리된 생물학적 샘플을 제73항의 항체 또는 이의 항원-결합 부분과 접촉시켜 사람 IL-18 활성을 검출하는 단계를 포함하여, 분리된 생물학적 샘플 내에서 사람 IL-18 활성을 검출하는 방법.

청구항 92

분리된 생물학적 샘플을 제74항의 항체 또는 이의 항원-결합 부분과 접촉시켜 사람 IL-18 활성을 검출하는 단계를 포함하여, 분리된 생물학적 샘플 내에서 사람 IL-18 활성을 검출하는 방법.

청구항 93

분리된 생물학적 샘플을 제75항의 항체 또는 이의 항원-결합 부분과 접촉시켜 사람 IL-18 활성을 검출하는 단계를 포함하여, 분리된 생물학적 샘플 내에서 사람 IL-18 활성을 검출하는 방법.

청구항 94

분리된 생물학적 샘플을 제76항의 항체 또는 이의 항원-결합 부분과 접촉시켜 사람 IL-18 활성을 검출하는 단계를 포함하여, 분리된 생물학적 샘플 내에서 사람 IL-18 활성을 검출하는 방법.

청구항 95

분리된 생물학적 샘플을 제77항의 항체 또는 이의 항원-결합 부분과 접촉시켜 사람 IL-18 활성을 검출하는 단계를 포함하여, 분리된 생물학적 샘플 내에서 사람 IL-18 활성을 검출하는 방법.

청구항 96

제64항 또는 제65항의 아미노산 서열을 암호화하는 분리된 핵산.

청구항 97

제96항에 있어서, 상기 핵산이 재조합 발현 벡터내에 존재하는 분리된 핵산.

청구항 98

제97항의 재조합 발현 벡터가 도입되어진 분리된 숙주 세포.

청구항 99

제98항의 숙주 세포를 사람 IL-18에 결합하는 항체가 당해 세포에 의해 합성될 때까지 배양 배지에서 배양함을 포함하여, 사람 IL-18에 결합하는 항체를 합성하는 방법.

청구항 100

제64항 또는 제65항의 항체 또는 이의 항원-결합 부분 및 약제학적으로 허용되는 단체를 포함하는, 류마티스양 관절염, 골관절염, 소아 만성 관절염, 라임 관절염, 건선성 관절염, 반응성 관절염, 척추관절증, 전신성 홍반성 낭창, 크론 질환, 궤양성 대장염, 염증성 장 질환, 인슐린 의존성 당뇨병, 갑상선염, 천식, 알레르기성 질환, 건선, 피부염, 경피증, 이식편 대 숙주 질환, 기관 이식 거부증, 기관 이식과 관련된 급성 또는 만성 면역 질환, 유육종증, 아테롬성 동맥경화증, 파종성 혈관내 응고, 가와사키 질환, 그레이브 질환, 신증후군, 만성 피로 증후군, 베게너 육아종증, 해노흐-헨라인 자반증, 신장의 현미경적 혈관염, 만성 활동성 간염, 포도막염, 패혈성 속, 독성 속 증후군, 패혈증 증후군, 악액질, 갑염성 질환, 기생충성 질환, 후천성 면역결핍증후군, 급성 횡단성 척수염, 헌팅턴 무도병, 파킨슨 질환, 알츠하이머 질환, 뇌출증, 원발성 담즙성 간경변, 용혈성 빈혈, 악성 종양, 심부전, 심근경색, 애디슨 질환, 산발성 질환, 다분비선 결핍증 I형 및 다분비선 결핍증 II형, 슈미트 증후군, 성인성 (급성) 호흡 곤란 증후군, 탈모증, 원형 탈모증, 혈청반응 음성 관절증, 관절증, 라이터 질환, 건선성 관절증, 궤양성 대장염성 관절증, 장병증성 활막염, 클라미디아, 예르시니아 및 살모넬라 관련된 관절증, 척추관절증, 아테롬성 질환/아테롬성 동맥경화증, 아토피성 알레르기, 자가면역성 수포성 질환, 심상성 천포창, 낙엽성 천포창, 유천포창, 선상 IgA 질환, 자가면역성 용혈성 빈혈, 쿰스 양성 용혈성 빈혈, 후천성 악성 빈혈, 소아 악성 빈혈, 근통성 뇌염/로열 프리 질환(Royal Free Disease), 만성 접막피부 칸디다증, 거대 세포 동맥염, 원발성 경화성 간염, 잠재성 자가면역성 간염, 후천성 면역결핍 질환 증후군, 후천성 면역결핍 관련된 질환, C형 간염, 공통 가변성 면역결핍증(공통 가변성 저감마글로불린혈증), 확장형 심근증, 여성 불임증, 난소 부전, 조기 난소 부전, 섬유성 폐 질환, 잠재성 섬유성 폐포염, 염증 후 간질성 폐 질환, 간질성 폐렴, 결합 조직 질환 관련된 간질성 폐 질환, 혼합 결합 조직 질환 관련된 폐 질환, 전신성 경화증 관련된 간질성 폐 질환, 류마티스양 관절염 관련된 간질성 폐 질환, 전신성 홍반성 낭창 관련된 폐 질환, 피부근염/다발성 근염 관련된 폐 질환, 쇼그렌 질환 관련된 폐 질환, 강직성 척추염 관련된 폐 질환, 혈관염성 미만성 폐 질환, 혈관증(haemosiderosis) 관련된 폐 질환, 약물-유도된 간질성 폐 질환, 방사선 섬유증, 폐쇄성 기관지염, 만성 호산구성 폐렴, 럼프구 침윤성 폐 질환, 감염후 간질성 폐 질환, 통풍성 관절염, 자가면역성 간염, 1형 자가면역성 간염(전형적 자가면역성 또는 루푸스양 간염), 2형 자가면역성 간염(항-LKM 항체 간염), 자가면역 매개된 저혈당증, B형 인슐린 저항성과 흑색 극세포증, 부갑상선기능저하증, 기관 이식과 관련된 급성 면역 질환, 기관 이식과 관련된 만성 면역 질환, 골관절증, 원발성 경화성 담관염, 건선 1형, 건선 2형, 특발성 백혈구감소증, 자가면역성 호중구감소증, 신장 질환 NOS, 사구체신염, 신장의 현미경적 혈관염, 라임 질환, 원판상 홍반성 낭창, 특발성 또는 NOS 남성 불임증, 정자 자가면역, 다발성 경화증(모든 아유형), 교감신경성 안염, 결합 조직 질환에 속발성인 폐 고혈압, 굿페스쳐(Good pasture's) 증후군, 결절성 다발성동맥염의 폐 징후, 급성 류마티스성 열, 류마티스양 척추염, 스틸 질환, 전신성 경화증, 쇼그렌 증후군, 다카야스 질환/동맥염, 자가면역성 혈소판 감소증, 특발성 혈소판감소증, 자가면역성 갑상선 질환, 갑상선기능항진증, 갑상선종성 자가면역성 갑상선기능 저하증(하시모토 질환), 위축성 자가면역성 갑상선기능저하증, 원발성 점액수종, 수정체성 포도막염, 원발성 혈관염, 백반증, 급성 간 질환, 만성 간 질환, 알레르기 및 천식, 정신 장애 및 Th2형 및 Th1형 매개된 질환으로 이루어진 그룹으로부터 선택되는, IL-18 활성이 유해한 질환을 치료하기 위한 약제학적 조성물.

청구항 101

제100항에 있어서, IL-18 활성이 유해한 질환을 치료하기 위한 하나 이상의 부가의 치료제를 추가로 포함하는 약제학적 조성물.

청구항 102

제101항에 있어서, 부가의 치료제가 사람 IL-12에 결합할 수 있는 항체 또는 이의 단편, 메토트렉세이트, 항-TNF, 코르티코스테로이드, 사이클로스포린, 라파마이신, FK506 및 비스테로이드성 소염제로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 약제학적 조성물.

청구항 103

분리된 생물학적 샘플을 제64항 또는 제65항의 항체 또는 이의 항원-결합 부분과 접촉시켜 사람 IL-18 활성을 검출하는 단계를 포함하여, 분리된 생물학적 샘플 내에서 사람 IL-18 활성을 검출하는 방법.

청구항 104

제100항에 있어서, 정신 장애가 우울증 또는 정신분열증인 약제학적 조성물.

명세서

[0001] 관련된 특허원

본원은 발명의 명칭이 "사람 인터류킨-18에 결합하는 항체 및 이를 제조하고 사용하는 방법"이며, 이의 내용이 참조로 본원에 인용되어 있는, 2000년 2월 10일에 출원된 미국 특허원 제60/181,608호를 우선권으로 청구한다. 또한, 본원 전체에 인용된 바와 같은 참고 문헌, 허여된 특허 및 공개된 특허원을 포함한 모든 인용된 참고물의 내용은 참고로 본원에 명백하게 인용되어 있다.

기술 분야

[0003] 인터류킨-18(IL-18)은 원래 인터페론-감마 유도 인자(IGIF)로서 1989년에 기술되었고, 인터페론 감마를 유도하는 능력 이외에 다양한 기능을 갖는 전염증성 사이토킨이다. 이를 생물학적 특성은 NF- κ b의 활성화, Fas 리간드 발현, CC 및 CXC 케모킨의 유도, 및 적격한 사람 면역결핍 바이러스의 증가된 생산을 포함한다.

[0004] T 세포 및 대식세포에서의 인터페론 감마 생산을 유도하는 IL-18의 능력으로 인해, IL-18은 Th-1형 면역 반응에서 중요한 역할을 하고, 선천성 및 후천성 면역 둘 다에 관여한다. IL-18은 구조 및 기능 둘 다와 관련하여 IL-1 계열과 관련이 있다. IL-18의 구조, 기능 및 생물학적 활성의 조사를 위해, 문헌[참조예: Dinarello, C. et al. (1998) J. Leukoc. Biol. 63:658-654; Dinarello, C.A. (1999) Methods 19:121-132; and Dinarello, C.A. (1999) J. Allergy Clin. Immunol. 103:11-24]을 참조한다.

[0005] 각종 사람 면역 반응에서 IL-18을 사용하여 조절하는 것이 바람직할 것이다. 특히, IL-18에 결합하여 이를 중화시키는 항체가 그 중에서도 바람직하다. 또한, 쥐 IL-18 항체는 마우스 항체의 사람에의 투여와 관련된 문제점, 예를 들어, 짧은 혈청 반감기, 특정한 사람 이펙터(effecter) 기능의 유도 불능 및 사람에서의 마우스 항체에 대한 원치 않는 면역 반응("사람 항-마우스 항체"(HAMA: human anti-mouse antibody)" 반응)의 유도로 인해 생체내에서의 이의 사용이 제한된다.

[0006] 일반적으로는, 사람에서의 완전-쥐 항체의 사용과 관련된 문제점을 극복하기 위한 시도는 항체를 보다 "사람-유사"하도록 유전자 조작함을 포함한다. 예를 들어, 항체 쇄의 가변 영역이 쥐-유래되고, 항체 쇄의 불변 영역이 사람-유래된 키메라 항체가 제조되었다[참조: Junghans, et al. (1990) Cancer Res. 50:1495-1502; Brown et al., (1991) Proc. Natl. Acad. Sci. 88:2663-2667; Kettleborough et al. (1991) Protein Engineering. 4: 773-783]. 그러나, 이들 키메라 및 사람화 항체는 여전히 소정의 쥐 서열을 보유하기 때문에, 특히 장기간 투여될 경우에, 이들은 여전히 원치 않는 면역 반응, 즉 사람 항-키메라 항체(HAMA) 반응을 유도할 수 있다.

[0007] 쥐 항체 또는 이의 유도체(예를 들어, 키메라 또는 사람화 항체)에 대해 바람직한 IL-18 저해제는 장기간 사용하더라도 HAMA 반응을 유도하지 않아야 하기 때문에, 이러한 제제는 완전 사람 항-IL-18 항체일 것이다. 그러나, 이러한 항체는 당해 분야에 아직 기술된 바 없으며, 따라서, 여전히 요망되고 있다.

[0008] 발명의 요약

본 발명은 사람 IL-18에 결합하는 항체와 같은 화합물, 및 이러한 화합물 또는 항체를 제조하고 사용하는 방법에 관한 것이다.

- [0010] 한 국면에 있어서, 본 발명은 서열 70 또는 서열 71에 제시되어 있는 바와 같은 사람 IL-18의 N- 또는 C-말단부를 포함하는 사람 IL-18 아미노산 서열 또는 이의 부분에 결합할 수 있는 화합물에 관한 것이다. 한 양태에 있어서, 당해 화합물은 소형 분자, 웹타이드, 폴리웹타이드, 항체, 또는 항체 단편, 예를 들어, 완전 사람 항체 또는 단편이다.
- [0011] 또 다른 국면에 있어서, 본 발명은 사람 IL-18에 결합할 수 있는 사람 모노클로날 항체 또는 이의 항원-결합 부분에 관한 것이다. 다른 양태에 있어서, 항체 또는 이의 단편은 플라즈몬 공명에 의해 측정된 바와 같이 0.1s^{-1} 이하, $1 \times 10\text{E-2 s-1}$ 이하, $1 \times 10\text{E-3 s-1}$ 이하, $1 \times 10\text{E-4 s-1}$ 이하, $1 \times 10\text{E-5 s-1}$ 이하, $1 \times 10\text{E-6 s-1}$ 이하의 K_{off} 속도 상수로 사람 IL-18로부터 해리되거나, $1 \times 10\text{E-6}$ 이하, $1 \times 10\text{E-7}$ 이하, $1 \times 10\text{E-8}$ 이하, $1 \times 10\text{E-9}$ 이하, $1 \times 10\text{E-10}$ 이하 또는 $1 \times 10\text{E-11}$ 이하의 IC_{50} 으로 사람 IL-18 활성을 저해한다.
- [0012] 또 다른 국면에 있어서, 본 발명은 아미노산 PLFEDMTDSDCRDNA(서열 1), VIRNLNDQVLFIDQ(서열 33)를 포함하는 사람 IL-18의 에피토프 또는 이의 부분에 결합하는 분리된 항체 또는 이의 항원-결합 부분에 관한 것이다. 바람직하게는, 상기 항체는 중화 항체이다. 바람직하게는, 상기 항체는 사람 항체이다. 다양한 양태에 있어서, 상기 항체는 재조합 항체(예를 들어, 일본쇄 항체(scFv)) 또는 모노클로날 항체이다.
- [0013] 다른 양태에 있어서, 분리된 항체 또는 이의 항원-결합 부분은 사람 IL-18의 에피토프 또는 이의 부분에 결합하고, 여기서, 항체 또는 이의 항원-결합 부분은 표면 플라즈몬 공명에 의해 측정된 바와 같이 0.1s^{-1} 이하의 K_{off} 속도 상수로 사람 IL-18로부터 해리되거나, $1 \times 10^{-6}\text{M}$ 이하의 IC_{50} 으로 사람 IL-18 활성을 저해한다. 또는, 항체 또는 이의 항원-결합 부분은 표면 플라즈몬 공명에 의해 측정된 바와 같이 $0.1 \times 10^{-2}\text{s}^{-1}$ 이하의 K_{off} 속도 상수로 사람 IL-18로부터 해리될 수 있거나, $1 \times 10^{-7}\text{M}$ 이하의 IC_{50} 으로 사람 IL-18 활성을 저해할 수 있다. 또는, 항체 또는 이의 항원-결합 부분은 표면 플라즈몬 공명에 의해 측정된 바와 같이 $1 \times 10^{-3}\text{s}^{-1}$ 이하의 K_{off} 속도 상수로 사람 IL-18로부터 해리될 수 있거나, $1 \times 10^{-8}\text{M}$ 이하의 IC_{50} 으로 사람 IL-18 활성을 저해할 수 있다. 또는, 항체 또는 이의 항원-결합 부분은 표면 플라즈몬 공명에 의해 측정된 바와 같이 $0.1 \times 10^{-4}\text{s}^{-1}$ 이하의 K_{off} 속도 상수로 사람 IL-18로부터 해리될 수 있거나, $1 \times 10^{-9}\text{M}$ 이하의 IC_{50} 으로 사람 IL-18 활성을 저해할 수 있다. 또는, 항체 또는 이의 항원-결합 부분은 표면 플라즈몬 공명에 의해 측정된 바와 같이 $0.1 \times 10^{-5}\text{s}^{-1}$ 이하의 K_{off} 속도 상수로 사람 IL-18로부터 해리될 수 있거나, $1 \times 10^{-10}\text{M}$ 이하의 IC_{50} 으로 사람 IL-18 활성을 저해할 수 있다. 또는, 항체 또는 이의 항원-결합 부분은 표면 플라즈몬 공명에 의해 측정된 바와 같이 $1 \times 10^{-6}\text{s}^{-1}$ 이하의 K_{off} 속도 상수로 사람 IL-18로부터 해리될 수 있거나, $1 \times 10^{-11}\text{M}$ 이하의 IC_{50} 으로 사람 IL-18 활성을 저해할 수 있다.
- [0014] 본 발명의 또 다른 국면은 사람 IL-18의 에피토프에 결합할 수 있는 하나 이상의 가변 영역 CDR 도메인을 함유하는 분리된 사람 항체 또는 이의 항원-결합 부분에 관한 것이다. 관련된 양태에 있어서, 분리된 항체 또는 이의 항원-결합 부분은, 예를 들어, 표 7-8 및 10-11에 표시되어 있는 카벳(Kabat) 위치 중 한 위치에 또는 인접한 위치에서 하나 이상의 아미노산 치환 또는 삽입을 가질 수 있는 표 6 또는 표 9에 제시되어 있는 바와 같은 중쇄 및/또는 경쇄 CDR1 도메인, CDR2 도메인 또는 CDR3 도메인을 갖는다. 바람직한 양태에 있어서, 분리된 항체 또는 이의 항원-결합 부분은 서열 29의 아미노산 서열을 함유하는 경쇄 가변 영역(LCVR: light chain variable region) 및 서열 26의 아미노산 서열을 함유하는 중쇄 가변 영역(HCVR: heavy chain variable region)을 함유한다. 또 다른 바람직한 양태에 있어서, 분리된 항체 또는 이의 항원-결합 부분은 서열 29의 아미노산 서열을 갖는 경쇄 가변 영역(LCVR) 및 서열 27의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역(HCVR)을 함유한다.
- [0015] 본 발명의 또 다른 국면은 본 발명의 항체 또는 이의 항원-결합 부분 및 약제학적으로 허용되는 담체를 함유하는 약제학적 조성물에 관한 것이다. 한 양태에 있어서, 당해 약제학적 조성물은 IL-18 활성이 유해한 질환을 치료하기 위한 1종 이상의 부가의 치료제를 추가로 포함한다.
- [0016] 본 발명의 또 다른 국면은 사람 인터류킨-18(IL-18)에 결합하는 항체를 제조하는 방법에 관한 것이다. 본 발명

은 항체 레퍼토리를 아미노산 PLFEDMTSDCRDNA(서열 1), VIRNLNDQVLFIDQ(서열 33)를 포함하는 사람 IL-18의 에피토프 또는 이의 부분을 포함하는 항원에 노출시키는 단계; 및 항체 레퍼토리로부터 아미노산 PLFEDMTSDCRDNA(서열 1), VIRNLNDQVLFIDQ(서열 33)를 포함하는 사람 IL-18의 에피토프 또는 이의 부분에 결합하는 항체를 선택하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다.

[0017] 한 양태에 있어서, 상기 항체 레퍼토리는 동물 내의 생체내 레퍼토리이고, 상기 방법은 동물을 아미노산 PLFEDMTSDCRDNA(서열 1), VIRNLNDQVLFIDQ(서열 33), 사람 IL-18의 N- 또는 C-말단 부분(서열 70-71)을 포함하는 사람 IL-18의 에피토프 또는 이들 에피토프 중 하나의 부분을 포함하는 항원으로 면역화시킴을 포함한다. 또 다른 양태에 있어서, 상기 항체 레퍼토리는 재조합 항체 라이브리이고, 상기 방법은 당해 라이브리를 아미노산 PLFEDMTSDCRDNA(서열 1), VIRNLNDQVLFIDQ(서열 33), 서열 31-32 및 34-60에 제시되어 있는 웹타이드를 갖는 사람 IL-18의 에피토프, 또는 상기한 것들 중의 하나의 부분을 함유하는 항원을 사용하여 선별함을 포함한다. 바람직하게는, 상기 라이브리를 사람 항체 라이브리이다.

[0018] 또 다른 국면에 있어서, 본 발명은 임의의 상기한 국면의 항체, 예를 들어, 중쇄 및/또는 경쇄 가변 영역 또는 이의 부분을 암호화하는 분리된 핵산을 제공한다. 관련된 양태에 있어서, 항-IL-18 항체 또는 이의 부분을 암호화하는 분리된 핵산은, 예를 들어, 숙주 세포내에서의 발현을 위한 재조합 발현 백터내에 존재한다.

[0019] 이와 같이, 또 다른 국면에 있어서, 본 발명은 사람 IL-18에 결합하는 항체가 숙주 세포에 의해 합성될 때까지 숙주 세포를 배양 배지에서 배양함으로써, 사람 IL-18에 결합하는 항체를 합성하기 위해 재조합 발현 백터를 도입시킨 상기한 숙주 세포를 사용하는 방법에 관한 것이다.

[0020] 본 발명의 또 다른 국면은 사람 IL-18을 본 발명의 항체 또는 이의 항원-결합 부분과 접촉시켜, 사람 IL-18 활성을 저해함을 포함하여, 사람 IL-18 활성을 저해하는 방법에 관한 것이다.

[0021] 본 발명의 또 다른 국면은 본 발명의 항체 또는 이의 항원-결합 부분을 IL-18 활성이 유해한 질환을 앓고 있는 사람 환자에게 투여함으로써, 사람 환자에서 사람 IL-18 활성을 저해함을 포함하여, 상기 사람 환자에서 사람 IL-18 활성을 저해하는 방법에 관한 것이다. 한 양태에 있어서, 항-IL-18 항체를, 예를 들어, 항-IL-12 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 메토트렉세이트, 항-TNF 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 코르티코스테로이드, 사이클로스포린, 리파마이신, FK506 또는 비-스테로이드성 소염제와 같은 부가의 제제의 투여 이전에, 동시에 또는 이후에 투여할 수 있다.

발명의 상세한 설명

[0027] 본 발명은 IL-18 매개된 시그널 전달에 대한 중화 항체를 생성시킬 수 있는 웹타이드 에피토프의 선택, 이들 에피토프에 대한 항체의 제조법 및 IL-18과 관련된 질환을 치료하기 위한 용도를 포함한 이러한 항체의 용도에 관한 것이다. 에피토프를 선택하는 전략은 IL-18 단백질 및 이의 상응하는 수용체의 상동체 모델의 작제를 포함한다. 다음, 육안 검사 및 컴퓨터에 의한 평가의 조합을 이용하여, 합성 및 항체 생성에 대해 대표적인 웹타이드 절편을 선택한다. 본원에 제시되어 있는 아미노산 서열은 표준 1문자 약자 코드를 사용한다.

IL-18 에피토프의 선택

[0029] 프로그램 Modeler[참조: Sali, A. et al., Evaluation of comparative protein modeling by MODELLER. Proteins: Struct., Funct., Genet. (1995), 23(3), pp. 318-26. CODEN: PSFGEY; ISSN: 0887-3585]를 이용하여 IL-18 및 IL-18 수용체 둘 다에 대한 상동체 모델을 생성시킨다. IL-1 β 의 X선 결정 구조[참조: Priestle, J., et al., The three-dimensional structure of human interleukin-1. β . refined to 2.0 .ANG. resolution. Prog. Clin. Biol. Res. (1990), 349 (Cytokines Lipocortins Inflammation Differ.), pp. 297-307] 및 IL-1RA의 X선 결정 구조[참조: Schreuder, H. et al., Refined crystal structure of the interleukin-1 receptor antagonist: presence of a disulfide link and a cis-proline. Eur. J. Biochem. (1995), 227(3), pp. 838-47]가 입수 가능하며, IL-18의 모델 작제를 위한 참조 좌표로서 사용한다. IL-1 수용체 구조[참조: Vigers, G., et al. Crystal structure of the type-I interleukin-1-receptor complexed with interleukin-1. β . Nature (London) (1997), 386(6621), pp. 190-194]를 사용하여, IL-18 수용체를 모델링한다.

[0030] IL-18 및 IL-18 수용체에 대한 구조 모델 구축을 추가로 아래에 기술한다.

[0031] IL-18 모델 구축

[0032] 상기 2가지 단백질(즉, IL-1 β 및 IL-18)을 갖는 전체 서열 상동성은 낮으나, IL-18이 IL-1 계열의 일원이고[참조: Dinarello, C.A. IL-18: a TH1-inducing, proinflammatory cytokine and new member of the IL-1 family. J. Allergy Clin. Immunol. (1999), 103(1, Pt. 1), pp. 11-24], 전체 단백질 폴드가 매우 유사하다는 강력한 증거가 있다. IL-1 β 와 마찬가지로, IL-18은 처음에 프로 형태로 분비된다. 프로-IL-1 β 및 프로-IL-18은 IL-1 β -전환 효소(ICE)에 의해 활성화된다[참조: Fantuzzi, G. and Dinarello, C.A. Interleukin-18 and interleukin-1 β : two cytokine substrates for ICE(caspase-1). J. Clin. Immunol. (1999), 19(1), pp.1-11]. 또한, IL-1 수용체 및 IL-18 수용체가 유사한 것으로 공지되어 있다[참조: Dinarello, C.A. et al. Overview of interleukin-18: more than an interferon- γ inducing factor. J. Leukocyte Biol. (1998), 63(6), 658-664]. IL-1 β 는 IL-18 수용체에 결합할 수 있다. 최종적인 주장으로서, IL-1 β 및 IL-1RA는 이들 2가지 단백질 사이의 전체 서열 상동성이 IL-18과의 서열 상동성과 동등하더라도, 동일한 폴드를 나타낸다. 3 가지 단백질(즉, IL-18, IL-1 β 및 IL-1RA) 사이의 서열 정렬을 프로그램 InsightII를 사용하여 수동으로 작제한다. 이러한 정렬은 표 1에서 볼 수 있다:

표 1

IL-1 β 및 IL-1RA에 대응하는 IL-18에 대한 서열 정렬

24				
IL-18:	YFGK-LESKLS-VIRNLNDQVLFTDQGNRPLFE--DMT-DSDCRD--NAP			
IL-1 β :	AP-VRS-LNCTLRDSQQKSLVMS-G--P-YELKALHLQGQ--D--MEQ			
IL-1RA:	SSKMQA-FR--IWDVNQKTFYLR-N--N--QLVAGYLQGP--NVNLEE			
80				
IL-18:	RTIFTIISMY-KDSQPRG-MAVTISVKCEKISTLSC----ENK-IIISFKEM			
IL-1 β :	QVVFSMS-FVQGEESNDKIPVALGLK-EKNLYLSCVLK-DDKPTLQLESV			
IL-1RA:	KI--DV---VP-IEPH---ALFLGIH-GGKMCILSCV-KSGDETRLQLEAV			
123				
IL-18:	NPPDNI-KDTKSDIIF-FQRSPVPGHDNKMQFESSSYEGYFLACE-KERDL			
IL-1 β :	DPKNYP-KK-KMEKRFVFNK-I-EINNKLEFESAQFPNWYISTS-QAENM			
IL-1RA:	NITDLSNR-KQDKRFAFIR-S-DSGPTTSFESAACPGWFLCTAMEADQ-			
170				
IL-18:	FKLILKKED-ELGDRSIM-FTVQNED	(서열 4)		
IL-1 β :	-PVFL--GG-TKGGQDITDFTMQFVSS	(서열 5)		
IL-1RA:	-PVSL--TNMPDEGVMVTKFYFQED	(서열 6)		

[0033]

[0034] 상기 서열들 사이의 서열 상동성은 표 2에 기재되어 있다. 상단 삼각형은 엄격한 서열 동일성 백분율이고, 하단 삼각형은 온건한 서열 상동성 백분율이다. 표 1에 기록되어 있는 전체 서열 중 일부분만을 표 2에서 검토한다. 위에서 언급한 바와 같이, 전체적인 상동성은 낮지만, 상기 계열에 걸쳐 일관된다.

표 2

[0035]

IL-1 계열 일원 사이의 서열 상동성

분자	IL-18	IL-1 β	IL-1RA	IL-1 Rec	IL-18 Rec
IL-18	-	20.0	21.8	-	-
IL-1 β	53.5	-	27.5	-	-
IL-1RA	50.6	64.4	-	-	-
IL-1 Rec	-	-	-	-	26.1
IL-18 Rec	-	-	-	50.5	-

[0036] 생성된 IL-18 구조는 IL-1 β 및 IL-1RA와 함께 도 1에 도시한다. 프로그램 What_Check[참조: Hooft, R. W. et al., Errors in Protein Structures. Nature (1996) 381, pp. 272]에 의해 평가된 바와 같은 전체적인 특질은 적합하나, 조금 낮다(하기 표 3 참조).

표 3

[0037] What_Check로부터의 구조 Z-점수(양수는 평균보다 우수한 것이다)

	IL-1 β	IL-1RA	IL-1 Rec	IL-18(모델)	IL-18 Rec(모델)
팩킹 특성	-1.6	-2.3	-3.6	-5.5	-5.7
라마찬드란 플롯	-2.0	-1.3	-2.9	-3.3	-2.3
로타미 정상성	-1.6	-0.8	-1.5	-0.6	-0.6
골격 배좌	-1.7	+0.5	-1.6	-5.6	-2.7

[0038] 그러나, What_Check에 의한 참조 구조의 평가는 또한 낮으며, 이는 당해 단백질 폴드가 참조 구조의 데이터베이스에서 불량하게 나타남을 제시한다. 그러나 명백하게, 낮은 서열 상동성은 전체 단백질 폴드에서의 신뢰에도 불구하고 보다 멀 완벽한 최종 구조의 원인이 된다. 그러나, 항체 생성에 대한 에피토프를 선택하는 목적을 위해, 상기 구조는 충분한 것으로 간주된다.

IL-18 수용체 모델 구축

[0040] IL-18 수용체의 구조는 또한 프로그램 Modeler를 이용하여 생성시킨다. 참조 좌표는 IL-1 수용체로부터 유래한다. 이들 수용체와 관련된 사이토킨의 경우에서와 같이, 전체 서열 동일성은 낮으나, 정렬을 생성시키기에는 충분하다. 서열 상동성 낮은 상기 표 2에 포함되어 있다. 정렬은 프로그램 InsightII를 이용하여 수동으로 생성시키고, 표 4에 제시한다.

표 4

IL-1 수용체에 대응하는 IL-18 수용체에 대한 서열 정렬

```

22
IL-18 Rec: CTSRPHITVVEGEPFYLKHCSCLAHIEIETTKSWYKSSGSQEHVELNPR
IL-1 Rec : CKEREKIIILVSSANEIDVRPCPLNPNEHKGTITWYKDD-SKTPVSTEQA
72
IL-18 Rec: SSSRIALHDCVLEFWPVELNDTGSYFFQMKNYTOKWKLNIRRNKHS---
IL-1 Rec : S--RIHQHKEKLWFPVPAKVEDSGHYYCVVRNNSYCLRIKISAKFVENEPN
119
IL-18 Rec: -CFTERQVTSKIVEVKFFQITCENSYYQTLVNST---SLYKNCKKLLL
IL-1 Rec : ICYNAQAFKQKLPVAGDGGLVCPYMEFFKNNENNELPKLQWYKDCKPLLL
163
IL-18 Rec: EN-----NKNPTIKKNAEFEDQGYYSCVHFLHHNGKLFNITKTFNITIVE
IL-1 Rec : DNIHFSGVKDRLIVMNVAEKHRGNYTCHASYTYLGKQYPITRVIEFITLE
209
IL-18 Rec: DRSNIVPVLLGPKLNHVAVELGKNVRLNCNSALLNEEDVIYWMF-GEE-NG
IL-1 Rec : ENKPTRPVIVSPANETMEVDLGSQIQQLICNVTGQLSDIAWKWNGSVIDE
257
IL-18 Rec: SDPNIHEE-KEMRIMTPEGKWHASKVLRRIENIGESNLNVLYNCTVASTGG
IL-1 Rec : DDPVLGEDYYSVENPANKRRSLTIVLNISEIESRFYKHPFTCFAKNTHG
306
IL-18 Rec: TDTKSFILVRKAD (서열 7)
IL-1 Rec : IDAAAYIQLIYPVT (서열 8)

```

[0041]

[0042] Modeler 프로그램을 이용하여 측정한 바와 같은 IL-18 수용체의 구조의 전체적인 특질은 적합하나, 한편 What_Check에 따르는 점수는 다소 낮다(상기 표 3 참조). 전체 폴드에 둘 수 있는 신뢰는 본질적으로 IL-1 β 가 IL-1 및 IL-18 수용체에 결합한다는 사실로부터 유래한다. 낮은 서열 상동성은 명백히 최종 구조의 특질을 원인으로 하나, 상기한 관련된 사이토킨의 경우에서와 같이, 이러한 현재의 구조는 충분한 것으로 간주된다. 추가의 실행으로서, LT28에 의해 결합된 IL-18 웹타이드 에피토프(서열 33)를 IL-18 수용체와 복합체를 형성한 경

우에 모델링한다(도 3). 최종 실행으로서, IL-18/IL-18 수용체 복합체의 모델을 IL-1 β /IL-1 수용체 구조를 기초로 하여 생성시킨다(도 4). 이러한 구조는 사이토킨 구조 및 수용체 구조를 중첩시킴으로써 생성시킨다. 최종 구조의 에너지 최소화를 위한 시도는 하지 않는다.

[0043] 펩타이드 에피토프 선택

[0044] 구조 모델을 생성시키는 주요 목적은 본질적으로 가시적 점수를 기초로 하여 적합한 펩타이드를 선택할 수 있도록 하는 것이다. 둘 다 친수성이고 수용체/사이토킨 복합체내에 매몰되어 있는, 단백질의 용매 노출된 절편 및 단백질의 부분을 고려한다. 고려된 최종 요소는 선택성 척도를 기준으로 한다. 선택된 펩타이드 에피토프는 계열의 다른 일원의 유사한 부분과 서열면에서 상이하여야 한다. 이러한 척도를 기준으로 하여, IL-18으로부터의 펩타이드를 선택한다. 또한, 완전 길이 사람 IL-18(서열 61)을 제시하는 펩타이드의 포괄적인 중복 패널(서열 31-60)을 또한 제조하고, 이러한 IL-18 관련된 펩타이드 전체의 서열을 하기 표 5에 제시한다.

표 5

[0045] IL-18을 제시하는 선택된 펩타이드

펩타이드 서열	서열 동정 번호
PLFEDMTSDCRDNA	(서열 1)
CPLFEDMTSDCRDNA	(서열 2)
PLFEDMTSDCR	(서열 3)
YFGKLESKLSVIRN	(서열 31)
ESKLSVIRNLNDQV	(서열 32)
VIRNLNDQVLFIDQ(LT28 결합 에피토프)	(서열 33)
NDQVLFIDQGNRPL	(서열 34)
FIDQGNRPLFEDMT	(서열 35)
NRPLFEDMTSDCR(2E1 결합 에피토프)	(서열 36)
EDMTDSDCRDNAPR	(서열 37)
SDCRDNAPRTIFII	(서열 38)
NAPRTIFIIISMYKD	(서열 39)
IFIISMYKDSQPRG	(서열 40)
MYKDSQPRGMAVTI	(서열 41)
QPRGMAVTISVKCE	(서열 42)
AVTISVKCEKISTL	(서열 43)
VKCEKISTLSCENK	(서열 44)
ISTLSCENKIIISFK	(서열 45)
CENKIIISFKEMNPP	(서열 46)
ISFKEMNPPDNIKD	(서열 47)
MNPPDNIKDTKSDI	(서열 48)
NIKDTKSDIIFFQR	(서열 49)
KSDIIFFQRSPVPGH	(서열 50)
FFQRSPVPGHDNKMQ	(서열 51)
VPGHDNKMQFESSS	(서열 52)
NKMQFESSSYEGYF	(서열 53)
ESSSYEGYFLACEK	(서열 54)
EGYFLACEKERDLF	(서열 55)
ACEKERDLFKLILK	(서열 56)
RDLFKLILKEDEL	(서열 57)
LILKKEDELGDRSI	(서열 58)
EDELGDRSIMFTVQ	(서열 59)
DRSIMFTVQNED	(서열 60)
YFGKLESKLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTSDCRDNAPRTIFIIISMYKDSQP	(서열 61)
RGMAVTISVKCEKISTLSCENKIIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFFQRSPVPGHDNKMQ	볼드체로 나타낸
FESSSYEGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNED	LT28 및 2E1 에피토프

[0046] 서열 2에 제시된 IL-18 펩타이드의 N-말단 시스테인은 천연 IL-18 서열의 부분이 아니나, 접합 부위로서 첨가할 수 있다. 따라서, 천연 IL-18 아미노산 서열내에서, 선택된 에피토프에 상응하는 영역은 아미노산 서열

PLFEDMTSDCRDNA(서열 1)를 갖는 아미노산 잔기를 포함한다.

[0047] IL-18 수용체와 복합체를 형성한 IL-18 웨타이드(서열 1)의 도식적 모델은 도 2에 도시하며, 상기 웨타이드에 에피토프를 암흑색으로 나타낸다.

[0048] 후속적인 항원성 산출을 IL-18 웨타이드 서열 상에서 수행하며, 이의 결과는 상기 웨타이드가 특히 높은 점수를 획득하는 것으로 나타난다. 상기 웨타이드를 합성하여, 래빗 숙주내에서 항체를 생성시키는 에피토프로서 사용한다. 도 2 및 도 3에 도시된 바와 같은, PLFEDMTSDCRDNA(서열 1) 또는 YFGKLESKLSVIRN(서열 31)을 사용하고 동계 수용체, 즉, IL-18 수용체와 비교하여 수득된 IL-18 웨타이드 분자 모델링 데이터는 중화 항체 또는 화합물이 어떠한 잔기와 상호작용할 수 있는지에 관한 지시를 제공한다.

[0049] 웨타이드 에피토프 선택을 위한 대체 방법은 어떠한 분자 모델링없이 면역선택을 이용하여 대표적인 웨타이드의 패널을 선별함으로써 달성할 수 있다. 한 접근법에 있어서, 전체 단백질 서열을 나타내는 중복 웨타이드를 사용할 수 있다. 보다 한정된 접근법에 있어서, 단지 소정의 에피토프만이 웨타이드의 패널에서 나타난다. 연합 접근법에 있어서, 분자 모델링을 사용하여, 중요할 것 같은 에피토프를 동정할 수 있다. 다음, 동정된 에피토프(들) 서열을 사용하여, 동정된 에피토프(들)를 나타내는 웨타이드의 패널(예를 들어, 중복 웨타이드)을 차제할 수 있다. 목적하는 웨타이드 서열의 제조 방법은 당해 분야에 공지된 표준 기술을 이용하여 수행할 수 있다.

[0050] 결합 웨타이드 또는 웨타이드들(예를 들어, 중복 웨타이드의 패널)이 선택되면, 동계 수용체에 대한 면역선택을 수행할 수 있다. 또는, 면역선택을 특정의 결합 친화성을 갖는 웨타이드를 동정할 수 있도록 선택된 동계 수용체를 사용하여 수행할 수 있다. 임의의 회수의 면역선택을 목적하는 수용체 또는 목적하는 웨타이드를 추가의 연구로 후보 결합 분자로서 동정할 수 있도록 이용할 수 있다. 단백질-단백질 상호작용을 분석하고, 후보 결합 분자를 동정하고/하거나 결합 친화도의 점수를 평가하기 위한 이러한 "베이트(bait)" 및 "프레이(prey)" 기술은 당해 분야에 기술되어 있다. 한 바람직한 기술은 본원에 기술된 바와 같은 파아지 표시법을 이용할 수 있다.

항-IL-18-항체

[0052] 본 발명은 IL-18에 결합하는 항체뿐만 아니라 이의 항체 부분을 제공한다. 바람직하게는, 항체 또는 이의 부분은 분리된 항체이다. 바람직하게는, 항체 또는 이의 부분은 중화 항체이다.

[0053] 본원에 사용된 바와 같은 용어 "항체"는 4종의 폴리웨타이드 쇄, 즉, 디설파이드 결합에 의해 서로-연결된 2종의 중쇄(H) 및 2종의 경쇄(L)로 구성되어 있다. 각각의 중쇄는 중쇄 가변 영역(본원에서는 HCVR 또는 VH로 약칭함) 및 중쇄 불변 영역으로 구성되어 있다. 중쇄 불변 영역은 3종의 도메인, CH1, CH2 및 CH3으로 구성되어 있다. 각각의 경쇄는 경쇄 가변 영역(본원에서는 LCVR 또는 VL로 약칭함) 및 경쇄 불변 영역으로 구성되어 있다. 경쇄 불변 영역은 1종의 도메인, CL로 구성되어 있다. VH 및 VL 영역은 추가로 프레임워크 영역(FR: framework region)으로 명명되는 보다 더 보존성인 영역이 점재되어있는 상보성 결정 영역(CDR: complementarity determining region)으로 명명되는 초가변성 영역으로 세분될 수 있다. 각각의 VH 및 VL은 아미노산-말단으로부터 카복시-말단 방향으로 FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4의 순서로 3종의 CDR 및 4종의 FR로 구성되어 있다.

[0054] 본원에 사용된 바와 같은 용어 항체의 "항원-결합 부분"(또는 단순히 "항체 부분")은 항원(예를 들어, hIL-18)에 특이적으로 결합하는 능력을 보유하는 항체의 하나 이상의 단편을 의미한다. 항체의 항원-결합 기능은 완전 길이 항체의 단편에 의해 수행될 수 있음이 제시되어 있다. 용어 항체의 "항원-결합 부분"에 포함되는 결합 단편의 예는 (i) VL, VH, CL 및 CH1 도메인으로 이루어진 1가 단편인 Fab 단편; (ii) 힌지 영역에서 디설파이드 브릿지에 의해 연결된 2개의 Fab 단편을 포함하는 2가 단편인 $F(ab')_2$ 단편; (iii) VH 및 CH1 도메인으로 이루어진 Fd 단편; (iv) 항체의 단일 암(arm)의 VL 및 VH 도메인으로 이루어진 Fv 단편; (v) VH 도메인으로 이루어진 dAb 단편[참조: Ward et al., (1989) *Nature* 341:544-546]; 및 (vi) 분리된 상보성 결정 영역(CDR)을 포함한다. 추가로, Fv 단편의 2종의 도메인, VL 및 VH는 별개의 유전자에 의해 암호화되지만, 이들은 VL 및 VH 영역 쌍이 1가 분자를 형성하는 단일 단백질 쇄[단일 쇄 Fv(scFv)로서 공지되어 있음; 참조예: Bird et al. (1988) *Science* 242:423-426; and Huston et al. (1988) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:5879-5883]로서 제조될 수 있게 하는 합성 링커에 의해 재조합 방법을 이용하여 연결할 수 있다. 이러한 단일 쇄 항체를 또한 용어 항체의 "항원-결합 부분"에 포함시키고자 한다. 단일 쇄 항체의 다른 형태, 예를 들어, 디아바디(diabody)가 또한 포함된다. 디아바디는 VH 및 VL 도메인이 단일 폴리웨타이드 쇄 상에서 발현되나, 너무 짧아 동일한 쇄 상에서 2종의 도메인 사이를 쌍으로 합칠 수 없어, 이 때문에 도메인을 다른 쇄의 상보성 도메인과 쌍으로 합치

고, 2개의 항원 결합 부위를 생성시키는 링커를 사용하는 2가, 이특이적(bispecific) 항체이다[참조예: Hollinger, P., et al. (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:6444-6448; Poljak, R.J., et al. (1994) Structure 2:1121-1123].

[0055] 또한, 항체 또는 이의 항원-결합 부분은 항체 또는 항체 부분의 하나 이상의 다른 단백질 또는 웨타이드와의 공유 또는 비공유 결합에 의해 형성된 보다 대형 면역부착 분자의 일부일 수 있다. 이러한 면역부착 분자의 예는 사량체성 scFv 분자의 제조를 위한 스트렙트아비딘 코어 영역의 사용[참조: Kipriyanov, S.M. et al. (1995) Human Antibodies and Hybridomas 6:93-101] 및 2가 및 비오티닐화 scFv 분자의 제조를 위한 시스테인 잔기, 마커 웨타이드 및 C-말단 폴리히스티딘 tag의 사용[참조: Kipriyanov, S.M. et al. (1994) Mol. Immunol. 31:1047-1058]을 포함한다. Fab 및 $F(ab')_2$ 단편과 같은 항체 부분은 통상의 기술, 예를 들어, 전체 항체의 파파인 또는 웨신 분해를 이용하여 전체 항체로부터 제조할 수 있다. 더구나, 항체, 항체 부분 및 면역부착 분자는 본원에 기술된 바와 같은 표준 재조합 DNA 기술을 이용하여 수득할 수 있다.

[0056] 본원에 사용된 바와 같은 "분리된 항체"는 상이한 항원 특이성을 갖는 다른 항체를 실질적으로 함유하지 않는 항체(예를 들어, hIL-18 이외의 항원에 특이적으로 결합하는 항체를 실질적으로 함유하지 않는, hIL-18에 특이적으로 결합하는 분리된 항체)를 의미한다. 그러나, hIL-18에 특이적으로 결합하는 분리된 항체는 다른 항원, 예를 들어, 다른 종으로부터의 IL-18 분자에 가교결합할 수 있다. 또한, 당해 분리된 항체는 다른 세포 물질 및/또는 화학물질을 실질적으로 함유하지 않을 것이다. 또한, 당해 분리된 항체, 예를 들어, 분리된 사람 항체는, 예를 들어, 가변 영역, CDR 도메인 또는 상이한 사람 공급원으로부터 유리된 이소타입이 모체 사람 항체에 이식되어 있는 키메라 항체일 수 있다.

[0057] 본원에 사용된 바와 같은 "화합물"은 항체와 같은 결합 분자, 예를 들어, 폴리클로날 항체, 모노클로날 항체, 이의 결합 단편(예를 들어, Fab 단편), 단일 쇄 항체(예를 들어, scFv), 웨타이드 또는 웨타이드 유사물, 및 비-웨타이드계 분자, 예를 들어, 리간드 결합 활성을 갖는 소형 분자를 의미한다.

[0058] 본원에 사용된 바와 같은 "중화 항체"(또는 "hIL-18 활성"을 중화시키는 항체")는 hIL-18에 결합하여 hIL-18의 생물학적 활성의 저해를 야기시키는 항체를 의미한다. 상기 hIL-18의 생물학적 활성의 저해는 hIL-18 생물학적 활성의 하나 이상의 지표를 측정함으로써 평가할 수 있다. 이러한 hIL-18 생물학적 활성의 지표는 당해 분야에 공지된 수 가지 표준 시험관내 또는 생체내 검정법 중 하나 이상에 의해 평가할 수 있다.

[0059] 본원에 사용된 바와 같은 용어 "표면 플라즈몬 공명"은, 예를 들어, BIACore 시스템(Pharmacia Biosensor AB, Uppsala, Sweden and Piscataway, NJ)을 이용하여 바이오센서 매트릭스내에서 단백질 농도의 변화를 검출함으로써 실시간 생체특이적 상호작용의 분석을 가능하게 하는 광학적 현상을 의미한다. 추가의 설명을 위해, 문헌 [Jonsson, U., et al. (1991) Ann. Biol. Clin. 51:19-26; Jonsson, U. et al. (1991) Biotechniques 11:620-627; Johnsson, B., et al. (1995) J. Mol. Recognit. 8:125-131; and Jonnson, B., et al. (1991) Anal. Biochem. 198:268-277]을 참조한다.

[0060] 본원에 사용된 바와 같은 용어 " K_{off} "는 항체/항원 복합체로부터의 항체의 해리에 대한 분리를 상수를 의미한다.

[0061] 본원에 사용된 바와 같은 용어 " K_d "는 특유한 항체-항원 상호작용의 해리 상수를 의미한다.

[0062] 한 국면에 있어서, 본 발명은 아미노산 PLFEDMTSDCRDNA(서열 1) 또는 VIRNLNDQVLFIDQ(서열 33)를 포함하는 사람 IL-18의 에피토프 또는 이들 에피토프 중 한 에피토프의 부분에 결합하는 분리된 항체 또는 이의 항원-결합 부분에 관한 것이다. 바람직하게는, 상기 항체는 중화 항체이다. 바람직하게는, 상기 항체는 사람 항체이다. 다양한 양태에 있어서, 상기 항체는 재조합 항체 또는 모노클로날 항체이다.

[0063] 다른 양태에 있어서, 분리된 항체 또는 이의 항원-결합 부분은 아미노산 PLFEDMTSDCRDNA(서열 1)를 포함하는 사람 IL-18의 에피토프에 결합하고, 여기서, 항체 또는 이의 항원-결합 부분은 표면 플라즈몬 공명에 의해 측정된 바와 같이 0.1s^{-1} 이하의 K_{off} 속도 상수로 사람 IL-18로부터 해리되거나, $1 \times 10^{-6}\text{M}$ 이하의 IC_{50} 으로 사람 IL-18 활성을 저해한다. 또는, 항체 또는 이의 항원-결합 부분은 표면 플라즈몬 공명에 의해 측정된 바와 같이 $1 \times 10^{-2}\text{s}^{-1}$ 이하의 K_{off} 속도 상수로 사람 IL-18로부터 해리될 수 있거나, $1 \times 10^{-7}\text{M}$ 이하의 IC_{50} 으로 사람 IL-18 활성을 저해할 수 있다. 또는, 항체 또는 이의 항원-결합 부분은 표면 플라즈몬 공명에 의해 측정된 바와 같이 $1 \times 10^{-3}\text{s}^{-1}$ 이하의 K_{off} 속도 상수로 사람 IL-18로부터 해리될 수 있거나, $1 \times 10^{-8}\text{M}$ 이하의 IC_{50} 으로 사람 IL-18 활

성을 저해할 수 있다. 또는, 항체 또는 이의 항원-결합 부분은 표면 플라즈몬 공명에 의해 측정된 바와 같이 $1 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ 이하의 K_{off} 속도 상수로 사람 IL-18로부터 해리될 수 있거나, $1 \times 10^{-9} \text{ M}$ 이하의 IC_{50} 으로 사람 IL-18 활성을 저해할 수 있다. 또는, 항체 또는 이의 항원-결합 부분은 표면 플라즈몬 공명에 의해 측정된 바와 같이 $1 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ 이하의 K_{off} 속도 상수로 사람 IL-18로부터 해리될 수 있거나, $1 \times 10^{-10} \text{ M}$ 이하의 IC_{50} 으로 사람 IL-18 활성을 저해할 수 있다. 또는, 항체 또는 이의 항원-결합 부분은 표면 플라즈몬 공명에 의해 측정된 바와 같이 $1 \times 10^{-6} \text{ s}^{-1}$ 이하의 K_{off} 속도 상수로 사람 IL-18로부터 해리될 수 있거나, $1 \times 10^{-11} \text{ M}$ 이하의 IC_{50} 으로 사람 IL-18 활성을 저해할 수 있다.

[0064] 동정된 항IL-18 항체의 친화성 성질

본 발명은 또한 IL-18 에피토프에 결합할 때 동정된 항체의 추가의 변경을 제공한다. 동정된 항-IL-18 항체의 변경은 결합 및/또는 중화 활성을 증진시킨다.

[0066] 치료학적 조성물 및 투여 방법

본 발명은 또한 본 발명의 항체 또는 이의 항원-결합 부분 및 약제학적으로 허용되는 담체를 포함하는 약제학적 조성물을 제공한다. 한 양태에 있어서, 당해 약제학적 조성물은 IL-18 활성이 유해한 질환을 치료하기 위한 1종 이상의 부가의 치료제를 추가로 포함한다.

본 발명의 항체 및 항체 부분을 환자에게 투여하기에 적합한 약제학적 조성물에 혼입할 수 있다. 전형적으로는, 당해 약제학적 조성물은 본 발명의 항체 또는 항체 부분 및 약제학적으로 허용되는 담체를 포함한다. 본원에서 사용된 바와 같은 "약제학적으로 허용되는 담체"는 생리학적으로 적합한 모든 용매, 분산 매질, 피복제, 항균제 및 항진균제, 등장제, 흡수 지연제 등을 포함한다. 약제학적으로 허용되는 담체의 예는 물, 염수, 인산염 완충 염수, 텍스트로스, 글리세롤, 에탄올 등 중 하나 이상뿐만 아니라 이의 배합물을 포함한다. 다수의 경우에 있어서, 조성물 중에 등장제, 예를 들어, 슈가, 폴리알콜, 예를 들어, 만니톨, 솔비톨, 또는 염화나트륨을 포함하는 것이 바람직할 것이다. 약제학적으로 허용되는 담체는 항체 또는 항체 부분의 저장 수명 또는 효능을 증강시키는 소량의 보조 물질, 예를 들어, 습윤화제 또는 유화제, 방부제 또는 완충제를 추가로 포함할 수 있다.

본 발명의 항체 및 항체 부분을 비경구 투여에 적합한 약제학적 조성물에 혼입시킬 수 있다. 바람직하게는, 항체 또는 항체-부분은 항체 0.1 내지 250mg/ml를 함유하는 주사액으로서 제조할 수 있다. 주사액은 플린트 (flint) 또는 앰버(amber) 바이알, 앰플 또는 예비충전된 시린지내에 액체 또는 동결건조된 투여 형태로 구성될 수 있다. 완충제는 pH 5.0 내지 7.0(최적으로 pH 6.0)의 L-히스티딘(1-50mM), 최적으로 5-10mM일 수 있다. 다른 적합한 완충제는 석신산나트륨, 시트르산나트륨, 인산나트륨 또는 인산칼륨을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다. 염화나트륨을 사용하여, 용액의 독성을 0-300mM(최적으로 액체 투여 형태의 경우 150mM)의 농도로 변경할 수 있다. 동결방지제, 주로 0-10% 수크로스(최적으로 0.5-1.0%)를 동결건조된 투여 형태를 위해 포함할 수 있다. 다른 적합한 동결방지제는 트레할로스 및 락토스를 포함한다. 벌킹 제제, 주로 1-10% 만니톨(최적으로 2-4%)을 동결건조된 투여 형태를 위해 포함할 수 있다. 안정화제, 주로 1-50mM L-메티오닌(최적으로 5-10mM)을 액체 및 동결건조된 투여 형태 둘 다에서 사용할 수 있다. 다른 적합한 벌킹 제제는 글리신, 아르기닌을 포함하고, 계면활성제는 0-0.05% 폴리소르베이트-80(최적으로 0.005-0.01%)으로서 포함할 수 있다. 추가의 계면활성제는 폴리소르베이트 20 및 BRIJ 계면활성제를 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다.

본 발명의 조성물은 다양한 형태로 존재할 수 있다. 이들은, 예를 들어, 액체, 반고체 및 고체 투여 형태, 예를 들어, 액제(예를 들어, 주사액 및 주입액), 분산제 또는 혼탁제, 정제, 환제, 산제, 리포좀 및 좌제를 포함한다. 바람직한 형태는 의도된 투여 방식 및 치료학적 용도에 따라 달라진다. 전형적인 바람직한 조성물은 다른 항체로의 사람의 수동 면역학에 사용되는 것과 유사한 조성물과 같은 주사액 또는 주입액 형태로 존재할 수 있다. 바람직한 투여 방식은 비경구(예를 들어, 정맥내, 피하, 복강내, 근육내)이다. 바람직한 양태에 있어서, 항체를 정맥내 주입 또는 주사에 의해 투여한다. 또 다른 바람직한 양태에 있어서, 항체를 근육내 또는 피하 주사에 의해 투여한다.

치료학적 조성물은 전형적으로는 제조 및 저장 조건하에 무균이고 안정하여야 한다. 당해 조성물은 액제, 미세 유제, 분산제, 리포좀 또는 높은 약물 농도에 적합한 다른 정렬된 구조로서 제형화시킬 수 있다. 무균 주사액

은 활성 화합물(즉, 항체 또는 항체 부분)을 위에서 열거한 성분들 중 하나 또는 이들의 배합물과 함께 적합한 용매에 필요량으로 혼입한 다음, 필요에 따라, 여과 멀균 시킴으로써 제조할 수 있다. 일반적으로는, 분산제는 활성 화합물을 기본 분산 매질 및 위에서 열거한 것들로부터의 요구되는 다른 성분을 함유하는 무균 비히클내에 혼입함으로써 제조한다. 무균 주사액의 제조를 위한 무균의 동결건조된 산체의 경우에 있어서, 바람직한 제조 방법은 활성 성분과 함께 이의 미리 멀균 여과시킨 용액으로부터의 임의의 부가의 목적하는 성분의 분말을 산출하는 진공 건조 및 분무-건조이다. 용체의 적합한 유동성은, 예를 들어, 레시틴과 같은 피복제의 사용에 의해, 분산제의 경우에 요구되는 입자 크기의 유지에 의해 및 계면활성제의 사용에 의해 유지시킬 수 있다. 주사가능한 조성물의 연장된 흡수는 흡수를 지연하는 제제, 예를 들어, 모노스테아레이트 염 및 젤라틴을 조성물내에 포함시킴으로써 성취할 수 있다.

[0072] 본 발명의 항체 및 항체-부분은 당해 분야에 공지된 각종 방법에 의해 투여할 수 있으나, 다수의 치료학적 용도의 경우에, 바람직한 투여 경로/방식은 피하 주사, 정맥내 주사 또는 주입이다. 당업자에 의해 인지될 수 있는 바와 같이, 투여 경로 및/또는 방식은 목적하는 결과에 따라 달라질 수 있다. 특정의 양태에 있어서, 임플란트, 경피 패취 및 미세캡슐화 전달 시스템을 포함한 조절된 방출성 제형과 같이 활성 화합물을 화합물을 신속한 방출에 대해 보호할 수 있는 담체를 사용하여 제조할 수 있다. 생체분해성, 생체적합성 중합체, 예를 들어, 에틸렌 비닐 아세테이트, 다가무수물, 폴리글리콜산, 콜라겐, 폴리오르토에스테르 및 폴리락트산을 사용할 수 있다. 이러한 제형을 제조하는 다수의 방법은 특허를 받았거나 당해 분야의 숙련가에게 일반적으로 공지되어 있다[참조예: Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems, J.R. Robinson, ed., Marcel Dekker, Inc., New York, 1978].

[0073] 특정의 양태에 있어서, 본 발명의 항체 또는 항체 부분을, 예를 들어, 불활성 희석제 또는 동화가능한 식용 담체와 함께 경구 투여할 수 있다. 당해 화합물(및 필요한 경우에 기타 성분)을 또한 경질 또는 연질 셀 젤라틴 캡슐내에 봉입하거나, 정제로 압착하거나, 환자의 음식에 직접 혼입할 수 있다. 치료학적 경구 투여의 경우에, 당해 화합물을 부형제와 함께 혼입하여, 섭취가능한 정제, 협축 정제, 트로키제, 캡슐제, 엘릭시르제, 혼탁제, 시럽제, 웨이퍼제 등의 형태로 사용할 수 있다. 비경구 투여 이외의 방식에 의해 본 발명의 화합물을 투여하기 위해, 당해 화합물을 이의 불활성화를 방지하기 위한 물질로 피복하거나, 당해 화합물을 이러한 물질과 공동투여하는 것이 필요할 수 있다.

[0074] 부가의 활성 화합물을 또한 조성물에 혼입할 수 있다. 특정의 양태에 있어서, 본 발명의 항체 또는 항체 부분을 IL-18 활성이 유해한 질환을 치료하는데 유용한 1종 이상의 부가의 치료제와 함께 공동제형화하고/하거나 공동투여한다. 예를 들어, 본 발명의 항-hIL-18 항체 또는 항체 부분을 다른 표적에 결합하는 1종 이상의 부가의 항체(예를 들어, 다른 사이토킨에 결합하거나 세포 표면 분자에 결합하는 항체)와 공동제형화하고/하거나 공동 투여할 수 있다. 또한, 본 발명의 1종 이상의 항체를 2종 이상의 상기 치료제와 함께 사용할 수 있다. 이러한 병용 요법은 투여된 치료제의 보다 낮은 투여량을 유리하게 사용하여, 각종 단독 요법과 관련된 가능한 독성 또는 합병증을 방지할 수 있다.

치료학적 용도

[0075] 인터류킨 18은 면역 및 염증성 인자를 포함한 다양한 질환과 관련된 병리에서 중요한 역할을 한다. 이들 질환은 류마티스성 관절염, 골관절염, 소아 만성 관절염, 라임 관절염, 건선성 관절염, 반응성 관절염, 척추관절증, 전신성 홍반성 낭창, 크론 질환, 궤양성 대장염, 염증성 장 질환, 인슐린 의존성 당뇨병, 갑상선염, 천식, 알레르기성 질환, 건선, 피부염, 경피증, 이식편 대 숙주 질환, 기관 이식 거부증, 기관 이식과 관련된 급성 또는 만성 면역 질환, 유육종증, 아테롬성 동맥경화증, 파종성 혈관내 응고, 가와사키 질환, 그레이브 질환, 신증후군, 만성 피로 증후군, 베게너 육아종증, 헤노흐-쉔라인 자반증, 신장의 혈관경적 혈관염, 만성 활동성 간염, 포도막염, 패혈성 속, 독성 속 증후군, 패혈증 증후군, 악액질, 감염성 질환, 기생충성 질환, 후천성 면역결핍증후군, 급성 횡단성 척수염, 헌팅턴 무도병, 파킨슨 질환, 알츠하이머 질환, 뇌졸중, 원발성 담즙성 간경변, 용혈성 빈혈, 악성 종양, 심부천, 심근경색, 애디슨 질환, 산발성 질환, 다분비선 결핍증 I형 및 다분비선 결핍증 II형, 슈미트 증후군, 성인성(급성) 호흡 곤란 증후군, 탈모증, 원형 탈모증, 혈청반응 음성 관절증, 관절증, 라이터 질환, 건선성 관절증, 궤양성 대장염성 관절증, 장병증성 활막염, 클라미디아, 예르시니아 및 살모넬라 관련된 관절증, 척추관절증, 아테롬성 질환/아테롬성 동맥경화증, 아토피성 알레르기, 자가면역성 수포성 질환, 심상성 천포창, 낙엽성 천포창, 유천포창, 선상 IgA 질환, 자가면역성 용혈성 빈혈, 쿰스 양성 용혈성 빈혈, 후천성 악성 빈혈, 소아 악성 빈혈, 근통성 뇌염/로열 프리 질환(Royal Free Disease), 만성 점막폐부 칸디다증, 거대 세포 동맥염, 원발성 경화성 간염, 잠재성 자가면역성 간염, 후천성 면역결핍 질환 증후군, 후천성 면역결핍 관련된 질환, C형 간염, 공통 가변성 면역결핍증(공통 가변성 저감마글로불린혈증), 확장형 심근증,

여성 불임증, 난소 부전, 조기 난소 부전, 섬유성 폐 질환, 잠재성 섬유성 폐포염, 염증 후 간질성 폐 질환, 간질성 폐렴, 결합 조직 질환 관련된 간질성 폐 질환, 혼합 결합 조직 질환 관련된 폐 질환, 전신성 경화증 관련된 간질성 폐 질환, 류마티스성 관절염 관련된 간질성 폐 질환, 전신성 홍반성 낭창 관련된 폐 질환, 피부근염/다발성 근염 관련된 폐 질환, 쇼그렌 질환 관련된 폐 질환, 강직성 척추염 관련된 폐 질환, 혈관염성 미만성 폐 질환, 혈청증(haemosiderosis) 관련된 폐 질환, 약물-유도된 간질성 폐 질환, 방사선 섬유증, 폐쇄성 기관지염, 만성 호산구성 폐렴, 림프구 침윤성 폐 질환, 감염후 간질성 폐 질환, 통풍성 관절염, 자가면역성 간염, 1형 자가면역성 간염(전형적 자가면역성 또는 루푸스양 간염), 2형 자가면역성 간염(항-LKM 항체 간염), 자가면역 매개된 저혈당증, B형 인슐린 저항성과 흑색 극세포증, 부갑상선기능저하증, 기관 이식과 관련된 급성 면역 질환, 기관 이식과 관련된 만성 면역 질환, 골관절증, 원발성 경화성 담관염, 건선 1형, 건선 2형, 특발성 백혈구감소증, 자가면역성 호중구감소증, 신장 질환 NOS, 사구체신염, 신장의 현미경적 혈관염, 라임 질환, 원판상 홍반성 낭창, 특발성 또는 NOS 남성 불임증, 정자 자가면역, 다발성 경화증(모든 아유형), 교감신경성 안염, 결합 조직 질환에 속발성인 폐 고혈압, 굿파스쳐(Good pasture's) 증후군, 결절성 다발성동맥염의 폐 징후, 급성 류마티스성 열, 류마티스성 척추염, 스틸 질환, 전신성 경화증, 쇼그렌 증후군, 다카야스 질환/관절염, 자가면역성 혈소판감소증, 특발성 혈소판감소증, 자가면역성 갑상선 질환, 갑상선기능항진증, 갑상선종성 자가면역성 갑상선기능저하증(하시모토 질환), 위축성 자가면역성 갑상선기능저하증, 원발성 점액수종, 수정체성 포도막염, 원발성 혈관염 및 백반증을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다. 본 발명의 사람 항체 및 항체 부분을 사용하여, 자가면역성 질환, 특히 류마티스성 척추염, 알레르기, 자가면역성 당뇨병, 자가면역성 포도막염, 급성 간 질환, 만성 간 질환, 알레르기 및 천식을 포함한 염증과 관련된 질환, 정신 장애(예를 들어, 우울증 및 정신분열증), 및 Th2형 및 Th1형 매개된 질환을 치료할 수 있다.

[0077] 바람직하게는, 본 발명의 항체 또는 이의 항원-결합 부분을 사용하여, 류마티스성 관절염, 크론 질환, 다발성 경화증, 인슐린 의존성 당뇨병 및 건선을 치료한다.

[0078] 본 발명의 항체 또는 항체 부분을 또한 자가면역성 및 염증성 질환의 치료에 유용한 1종 이상의 부가의 치료제와 함께 투여할 수 있다.

[0079] 본 발명의 항체 또는 이의 항원 결합 부분을 상기한 질환을 치료하기 위해 단독으로 또는 함께 사용할 수 있다. 본 발명의 항체 또는 이의 항원 결합 부분을 단독으로 또는 이들의 의도된 목적을 위해 당업자에 의해 선택된 부가의 제제, 예를 들어, 치료제와 함께 사용할 수 있음을 인지하여야 한다. 예를 들어, 부가의 제제는 본 발명의 항체에 의해 치료할 질환 또는 상태를 치료하는데 유용한 것으로 당해 분야에 인지된 치료제일 수 있다. 부가의 제제는 또한 치료학적 조성물에 유리한 특성을 제공하는 제제, 예를 들어, 조성물의 점도에 영향을 미치는 제제일 수 있다.

[0080] 또한, 본 발명에 포함되어야 하는 배합물은 이들의 의도된 목적에 유용한 배합물임을 인지하여야 한다. 아래에 제시된 제제는 목적을 위해 예시적인 것이지, 한정하고자 하는 것은 아니다. 본 발명의 일부인 배합물은 본 발명의 항체 및 아래에 목록으로부터 선택된 1종 이상의 부가의 제제일 수 있다. 배합물이 형성된 조성물의 이의 의도된 기능을 수행할 수 있도록 하는 것인 경우에, 당해 배합물은 또한 1종 이상의 부가의 제제, 예를 들어, 2종 또는 3종의 부가의 제제일 수 있다.

[0081] 바람직한 배합물은 이부프로펜과 같은 약물을 포함한 NSAID로도 명명되는 비-스테로이드성 항염증성 약물이다. 다른 바람직한 배합물은 프레드니솔론을 포함한 코르티코스테로이드이고; 본 발명의 항-IL-18 항체를 함께 사용하여 환자를 치료할 경우에 필요로 하는 스테로이드 투여량을 점감시킴으로써 스테로이드 사용의 익히 공지된 부작용을 감소시키거나 제거할 수도 있다. 본 발명의 항체 또는 항체 부분을 배합할 수 있는 류마티스성 관절염 치료제의 비제한적인 예는 사이토킨 억제 항염증성 약물(들)(CSAID); 다른 사람 사이토킨 또는 성장 인자, 예를 들어, TNF, LT, IL-1, IL-2, IL-6, IL-7, IL-8, IL-12, IL-15, IL-16, EMAP-II, GM-CSF, FGF 및 PDGF에 대한 항체 또는 길항체를 포함한다. 본 발명의 항체 또는 이의 항원-결합 부분을 세포 표면 분자, 예를 들어, CD2, CD3, CD4, CD8, CD25, CD28, CD30, CD40, CD45, CD69, CD80(B7.1), CD86(B7.2), CD90, 또는 CD154를 포함한 이들의 리간드(gp39 또는 CD40L)와 같은 세포 표면 분자에 대한 항체와 배합할 수 있다.

[0082] 치료제의 바람직한 배합물은 자가면역성 및 후속적 염증성 캐스케이드 중의 상이한 시점에서 간섭할 수 있으며, 바람직한 예는 TNF 길항제 유사 키메라, 사람화 또는 사람 TNF 항체, D2E7(PCT 공개공보 제W097/29131호), CA2(RemicadeTM), CDP 571, 및 가용성 p55 또는 p75 TNF 수용체, 이의 유도체(p75TNFR IgG(EnbrelTM) 또는 p55TNFR IgG(Lenercept), 및 또한 TNF α 전환 효소(TACE) 저해제를 포함하고; 유사하게는 IL-1 저해제(인터류킨-1-전환 효소 저해제, IL-1RA 등)가 동일한 이유로 유효할 수 있다. 다른 바람직한 배합물은 인터류킨 11을 포

함한다. 또 다른 바람직한 배합물은 IL-18 기능과 병행하여, 이에 의존하여 또는 이와 동시에 작용할 수 있는 자가면역 반응의 다른 키 플레이어이고; IL-12 항체 또는 가용성 IL-12 수용체를 포함한 IL-18 길항체, 또는 IL-18 결합 단백질이 특히 바람직하다. IL-12 및 IL-18은 중복 부분을 가지나, 둘에 대한 길항체의 별개의 기능 및 이들의 배합물이 가장 효과적일 수 있다. 또 다른 바람직한 배합물은 비결핍 항-CD4 저해제이다. 또 다른 바람직한 배합물은 항체, 가용성 수용체 또는 길항성 리간드를 포함한 공자극 경로 CD80(B7.1) 또는 CD86(B7.2)의 길항체를 포함한다.

[0083] 본 발명의 항체 또는 이의 항원 결합 부분을 또한 메토트렉세이트, 6-MP, 아자티오프린, 세파살라진, 메살라진, 올살라진, 클로로퀴닌/하이드록시클로로퀸, 펜실라민, 아우로티오말레이트(근육내 및 경구), 아자티오프린, 코치신, 코르티코스테로이드(경구, 흡입 및 국소 주사), 베타-2-아드레날린 수용체 효능제(살부타몰, 테르부틸린, 살메테랄), 크산틴(테오필린, 아미노필린), 크로모글리케이트, 네도크로밀, 케토티펜, 이프라트로퓸 및 옥시트로퓸, 사이클로스포린, FK506, 라파마이신, 마이코페놀레이트 모페틸, 레플루노마이드, NSAID, 예를 들어, 일부 프로펜, cox-2 저해제, cox-2 선택적 저해제(예를 들어, 로페록시브(VIOXX™, Merck & Co., Inc.)), 코르티코스테로이드, 예를 들어, 프레드니솔론, 포스포디에스테라제 저해제, 아데노신 효능제, 항혈전제, 보체 저해제, 아드레날린성 제제, TNF α 또는 IL-1과 같은 전염증성 사이토킨에 의해 시그널전달을 간섭하는 제제(예를 들어, IRAK, NIK, IKK, p38 또는 MAP 키나제 저해제), IL-1 β 전환 효소 저해제, TNF α 전환 효소(TACE) 저해제, T-세포 시그널전달 저해제, 예를 들어, 키나제 저해제, 메탈로프로테이나제 저해제, 세파살라진, 아자티오프린, 6-머캅토푸린, 안지오텐신 전환 효소 저해제, 가용성 사이토킨 수용체 및 이의 유도체(예를 들어, 가용성 p55 또는 p75 TNF 수용체 및 유도체 p75TNFR IgG(Enbrel™ 및 p55TNFR IgG(Lenercept))), sIL-1RI, sIL-1RII, sIL-6R) 및 항염증성 사이토킨(예를 들어, IL-4, IL-10, IL-11, IL-13 및 TGF β)과 같은 제제와 배합할 수 있다. 바람직한 배합물은 메토트렉세이트 또는 레플루노마이드, 경증 또는 중증 류마티스성 관절염 경우에는 사이클로스포린을 포함한다.

[0084] 본 발명의 항체 또는 항체 부분을 배합할 수 있는 염증성 장 질환용 치료제의 비제한적 예는 부데노사이드; 표피 성장 인자; 코르티코스테로이드; 사이클로스포린; 세파살라진; 아미노살리실레이트; 6-머캅토푸린; 아자티오프린; 메트로니다졸; 리폭시제나제 저해제; 메살라민; 올살라진; 밸살라자이드; 항산화제; 트롬복산 저해제; IL-1 수용체 길항제; 항-IL-1 β 모노클로날 항체; 항-IL-6 모노클로날 항체; 성장 인자; 엘라스타제 저해제; 피리디닐-이미다졸 화합물; 다른 사람 사이토킨 또는 성장 인자, 예를 들어, TNF, LT, IL-1, IL-2, IL-6, IL-7, IL-8, IL-12, IL-15, IL-16, EMAP-II, GM-CSF, FGF 및 PDGF에 대한 항체 또는 길항제를 포함한다. 본 발명의 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 세포 표면 분자, 예를 들어, CD2, CD3, CD4, CD8, CD25, CD28, CD30, CD40, CD45, CD69, CD90 또는 이들의 리간드에 대한 항체와 배합할 수 있다. 본 발명의 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 또한 메토트렉세이트, 사이클로스포린, FK506, 라파마이신, 마이코페놀레이트 모페틸, 레플루노마이드, NSAID, 예를 들어, 일부 프로펜, 코르티코스테로이드, 예를 들어, 프레드니솔론, 포스포디에스테라제 저해제, 아데노신 효능제, 항혈전제, 보체 저해제, 아드레날린성 제제, TNF α 또는 IL-1과 같은 전염증성 사이토킨에 의해 시그널전달을 간섭하는 제제(예를 들어, IRAK, NIK, IKK, p38 또는 MAP 키나제 저해제), IL-1 β 전환 효소 저해제, TNF α 전환 효소 저해제, T-세포 시그널전달 저해제, 예를 들어, 키나제 저해제, 메탈로프로테이나제 저해제, 세파살라진, 아자티오프린, 6-머캅토푸린, 안지오텐신 전환 효소 저해제, 가용성 사이토킨 수용체 및 이의 유도체(예를 들어, 가용성 p55 또는 p75 TNF 수용체, sIL-1RI, sIL-1RII, sIL-6R) 및 항염증성 사이토킨(예를 들어, IL-4, IL-10, IL-11, IL-13 및 TGF β)과 같은 제제와 배합할 수 있다.

[0085] 항체 또는 항원 결합 부분을 배합할 수 있는 크론 질환용 치료제의 바람직한 예는 TNF 길항제, 예를 들어, 항-TNF 항체, D2E7(PCT 공개공보 제W097/29131호), CA2(Remicade™), CDP 571, TNFR-Ig 작제물(p75TNFR IgG(Enbrel™) 및 p55TNFR IgG(Lenercept)) 저해제 및 PDE4 저해제를 포함한다. 본 발명의 항체 또는 이의 항원 결합 부분을 코르티코스테로이드, 예를 들어, 부데노사이드 및 엑사메타손과 배합할 수 있다. 본 발명의 항체 또는 이의 항원 결합 부분을 또한 세파살라진, 5-아미노살리실산 및 올살라진과 같은 제제, 및 IL-1과 같은 전염증성 사이토킨의 합성 또는 작용을 간섭하는 제제, 예를 들어, IL-1 β 전환 효소 저해제 및 IL-1ra와 배합할 수 있다. 본 발명의 항체 또는 이의 항원 결합 부분을 또한 T 세포 시그널전달 저해제, 티로신 키나제 저해제인 6-머캅토푸린과 함께 사용할 수 있다. 본 발명의 항체 또는 이의 항원 결합 부분을 IL-1과 배합할 수 있다.

[0086] 본 발명의 항체 또는 항체 부분을 배합할 수 있는 다발성 경화증 치료제의 비제한적인 예는 코르티코스테로이드; 프로드니솔론; 메틸프로드니솔론; 아자티오프린; 사이클로포스파마이드; 사이클로스포린; 메토트렉세이트; 4-아미노페리딘; 티자니딘; 인터페론- β 1a(Avonex; Biogen); 인터페론- β 1b(Betaseron; Chiron/Berlex); 공중합체 1(Cop-1; Copaxone; Teva Pharmaceutical Industries, Inc.); 고압 산소; 정맥내 면

역글로불린; 클라브리빈; 다른 사람 사이토킨 또는 성장 인자, 예를 들어, TNF, LT, IL-1, IL-2, IL-6, IL-7, IL-8, IL-12, IL-15, IL-16, EMAP-II, GM-CSF, FGF 및 PDGF에 대한 항체 또는 길항제를 포함한다. 본 발명의 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 세포 표면 분자, 예를 들어, CD2, CD3, CD4, CD8, CD25, CD28, CD30, CD40, CD45, CD69, CD90 또는 이들의 리간드에 대한 항체와 배합할 수 있다. 본 발명의 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 또한 메토트랙세이트, 사이클로스포린, FK506, 라파마이신, 마이코페놀레이트 모페틸, 레플루노마이드, NSAID, 예를 들어, 이부프로펜, 코르티코스테로이드, 예를 들어, 프레드니솔론, 포스포디에스테라제 저해제, 아데노신 효능제, 항혈전제, 보체 저해제, 아드레날린성 제제, TNF α 또는 IL-1과 같은 전염증성 사이토킨에 의해 시그널전달을 간섭하는 제제(예를 들어, IRAK, NIK, IKK, p38 또는 MAP 키나제 저해제), IL-1 β 전환 효소 저해제, TACE 저해제, T-세포 시그널전달 저해제, 예를 들어, 키나제 저해제, 메탈로프로테이나제 저해제, 설파실라진, 아자티오프린, 6-미캡토푸린, 안지오텐신 전환 효소 저해제, 가용성 사이토킨 수용체 및 이의 유도체(예를 들어, 가용성 p55 또는 p75 TNF 수용체, sIL-1RI, sIL-1RII, sIL-6R) 및 항염증성 사이토킨(예를 들어, IL-4, IL-10, IL-11, IL-13 및 TGF β)과 같은 제제와 배합할 수 있다.

[0087] 본 발명의 항체 또는 항체 부분을 배합할 수 있는 다발성 경화증 치료제의 바람직한 예는 인터페론- β , 예를 들어, 인터페론- β 1a 및 인터페론- β 1b; 코파손, 코르티코스테로이드, IL-1 저해제, TNF 저해제, 및 CD40 리간드 및 CD80에 대한 항체를 포함한다.

[0088] 본 발명의 약제학적 조성물은 본 발명의 항체 또는 항체 부분의 "치료학적 유효량" 또는 "예방적 유효량"을 포함할 수 있다. "치료학적 유효량"은 목적하는 치료 결과를 달성하기 위해 필요한 투여량 및 시간 동안에 유효한 양을 의미한다. 항체 또는 항체 부분의 치료학적 유효량은 개체의 질환 상태, 연령, 성별 및 체중과 같은 인자, 및 개체에서 목적하는 반응을 유도하는 항체 또는 항체 부분의 능력에 따라 달라질 수 있다. 치료학적 유효량은 또한 항체 또는 항체 부분의 치료학적으로 유익한 효과가 독성 또는 유해 효과를 능가하는 양이다.

"예방적 유효량"은 목적하는 예방 결과를 달성하기 위해 필요한 투여량 및 시간 동안에 유효한 양을 의미한다. 전형적으로는, 예방적 투여량은 질환의 초기 단계 전에 또는 초기 단계에 환자에서 사용되기 때문에, 예방적 유효량은 치료학적 유효량 미만일 것이다.

[0089] 투여 방법은 최적의 목적하는 반응(예를 들어, 치료 또는 예방 반응)을 제공하도록 조정할 수 있다. 예를 들어, 일시에 다량을 투여할 수 있거나, 다수의 분할된 투여량을 경시적으로 투여할 수 있거나, 투여량을 치료 상황의 요구에 의해 나타나는 바와 같이 비례적으로 감소시키거나 증가시킬 수 있다. 투여의 용이성 및 투여량의 균일성을 위해 투여량 단위로 비경구 조성물을 제형화하는 것이 특히 유리하다. 본원에 사용된 바와 같은 투여량 단위 형태는 치료할 포유류 환자에 대한 단일 투여량으로서 적합한 물리학적으로 별개의 단위를 의미하고; 각각의 단위는 필요로 하는 약제학적 담체와 함께 목적하는 치료 효과를 생성시키도록 계산된 활성 화합물의 미리 결정된 양을 함유한다. 본 발명의 투여량 단위 형태에 대한 상술은 (a) 활성 화합물의 특유한 특성 및 달성하고자 하는 특정의 치료 또는 예방 효과, 및 (b) 개체에서 감수성의 치료를 위해 상기한 활성 화합물을 합성하는 분야에서 고유한 제한에 의해 지시되고 이들에 직접적으로 의존하여 결정된다.

[0090] 본 발명의 항체 또는 항체 부분의 치료학적 또는 예방적 유효량에 대한 예시적인 비제한적 범위는 0.1-20mg/kg, 보다 바람직하게는 1-10mg/kg이다. 투여량 값은 완화시킬 상태의 유형 및 중증도에 따라 달라질 수 있음을 주목하여야 한다. 또한, 임의의 특유한 환자에 대해 특이적 투여 방법이 개체의 필요성 및 투여하거나 조성물의 투여를 지시하는 사람의 전문적인 판단에 따라 경시적으로 조정하여야 하고, 본원에 제시된 투여량 범위는 단지 예시를 위한 것이지, 청구된 조성물의 범주 또는 실용을 한정하고자 하는 것이 아님을 인지하여야 한다.

항-IL-18 항체를 제조하는 방법

[0091] 본 발명의 항-IL-18 항체는 항체를 제조하고, 서브섹션 I에 기술된 IL-18 웨პ타이드 에피토프, 즉, 아미노산 PLFEDMTDSDCRDNA(서열 1)를 포함하는 사람 IL-18의 에피토프를 포함하는 항원을 사용하는 분야에서 공지된 다양한 기술 중 어느 하나를 이용하여 제조한다.

[0093] 일반적으로는, 사람 인터류킨-18(IL-18)을 제조하는 본 발명의 방법은,

[0094] 항체 레퍼토리를 아미노산 PLFEDMTDSDCRDNA(서열 1) 또는 이의 부분(서열 3 또는 서열 33)을 포함하는 사람 IL-18의 에피토프를 포함하는 항원에 노출시키는 단계 및

[0095] 당해 항체 레퍼토리로부터 아미노산 PLFEDMTDSDCRDNA(서열 1) 또는 이의 부분(서열 3 또는 서열 33)을 포함하는 사람 IL-18의 에피토프에 결합하는 항체를 선택하는 단계를 포함한다.

[0096] 한 양태에 있어서, 상기 항체 레퍼토리는 동물 내의 생체내 레퍼토리이고, 상기 방법은 동물을 아미노산

PLFEDMTSDCRDNA(서열 1)를 포함하는 사람 IL-18의 에피토프를 포함하는 항원으로 면역화시킴을 포함한다. 또 다른 양태에 있어서, 상기 항체 레퍼토리는 재조합 항체 라이브러리이고, 상기 방법은 당해 라이브러리를 아미노산 PLFEDMTSDCRDNA(서열 1)를 포함하는 사람 IL-18의 에피토프를 포함하는 항원을 사용하여 선별함을 포함한다. 바람직하게는, 상기 라이브러리는 사람 항체 라이브러리이다.

[0097] 동물을 항원으로 면역화시켜, 이에 의해 항원에 특이적인 항체를 생성시키는 방법은 당해 분야에 익히 공지되어 있다. 아미노산 PLFEDMTSDCRDNA(서열 1)를 포함하는 사람 IL-18의 에피토프를 포함하는 IL-18 항원을 동물에게 투여하여, 폴리클로날 항체 및 당해 폴리클로날 항체로부터 에피토프에 결합하는 항체를 선택함으로써(예를 들어, hIL-18의 아미노산 PLFEDMTSDCRDNA(서열 1)를 포함하는 웨بت아이드를 포함하는 칼럼을 통하여 폴리클로날 항혈청을 통과시킴으로써) 분리할 수 있는 에피토프에 결합하는 특이적 항체를 유도할 수 있다. 폴리클로날 항체를 유도하는데 사용되는 항원은 무손상(즉, 완전 길이) hIL-18일 수 있거나, 관심의 대상인 에피토프를 포함하는 hIL-18의 부분, 예를 들어, hIL-18의 아미노산 PLFEDMTSDCRDNA(서열 1)를 포함하는 합성 웨بت아이드일 수 있다. 게다가, 에피토프에 대한 모노클로날 항체는, 표준 하이브리도마 기술 및 예를 들어, 당해 하이브리도마를 hIL-18의 아미노산 PLFEDMTSDCRDNA(서열 1)를 포함하는 웨بت아이드로 선별하고, 상기 웨بت아이드에 특이적으로 결합하는 항체를 선택함에 의한, 관심의 대상인 에피토프에 특이적으로 결합하는 항체를 분비하는 하이브리도마의 선택을 이용하여 상기한 동물로부터 제조할 수 있다.

[0098] 항체 라이브러리를 선별하여 바람직한 결합 특이성을 갖는 항체를 동정하는 시험관내 방법을 또한 이용하여, 본 발명의 항체를 제조할 수 있다. 이러한 재조합 항체 라이브러리의 선별 방법은 당해 분야에 익히 공지되어 있으며, 내용이 참고로 본원에 인용되어 있는 문헌[참조예: Ladner et al. U.S. Patent No. 5,223,409; Kang et al. PCT Publication No. WO 92/18619; Dower et al. PCT Publication No. WO 91/17271; Winter et al. PCT Publication No. WO 92/20791; Markland et al. PCT Publication No. WO 92/15679; Breitling et al. PCT Publication No. WO 93/01288; McCafferty et al. PCT Publication No. WO 92/01047; Garrard et al. PCT Publication No. WO 92/09690; Fuchs et al. (1991) Bio/Technology 9:1370-1372; Hay et al. (1992) Hum Antibod Hybridomas 3:81-85; Huse et al. (1989) Science 246:1275-1281; McCafferty et al., Nature (1990) 348:552-554; Griffiths et al. (1993) EMBO J 12:725-734; Hawkins et al. (1992) J Mol Biol 226:889-896; Clackson et al. (1991) Nature 352:624-628; Gram et al. (1992) PNAS 89:3576-3580; Garrad et al. (1991) Bio/Technology 9:1373-1377; Hoogenboom et al. (1991) Nuc Acid Res 19:4133-4137; and Barbas et al. (1991) PNAS 88:7978-7982, and PCT Publication No. WO 97/29131]에 기술되어 있는 방법을 포함한다.

[0099] 재조합 항체 라이브러리는 아미노산 PLFEDMTSDCRDNA(서열 1)의 에피토프를 포함하는 IL-18 또는 IL-18의 부분으로 면역화된 환자로부터 유래할 수 있다. 또는, 재조합 항체 라이브러리는 실험을 받은 적이 없는 환자, 즉, IL-18로 면역화된 적이 없는 환자로부터 유래한 것, 예를 들어, 사람 IL-18로 면역화된 적이 없는 사람 환자로부터의 사람 항체 라이브러리일 수 있다. 본 발명의 항체는 사람 IL-18의 아미노산 PLFEDMTSDCRDNA(서열 1)의 에피토프를 사용하여 재조합 항체 라이브러리를 선별하고, 이에 의해 당해 에피토프를 인식하는 항체를 선별함으로써 선택한다. 상기 선별 및 선택을 수행하는 방법은 당해 분야에 익히 공지되어 있으며, 예를 들어, 선행 단락에 기재된 참고문헌에 기술되어 있다.

[0100] hIL-18에 대해 특유한 결합 친화성을 갖는 본 발명의 항체를 선택하기 위해, 당해 분야에 공지된 표면 플라즈몬 공명법을 사용할 수 있다. hIL-18에 대한 특유한 중화 활성을 갖는 항체를 선택하기 위해, hIL-18 활성의 저해를 평가하는데 있어서, 당해 분야에 공지된 표준 방법을 사용할 수 있다. 또한, 사람 면역글로불린 레퍼토리를 암호화하도록 형질전환에 의해 변형된 마우스를 면역화시키고, 이에 의해 유기체가 면역원에 반응하여 사람 항체를 완전히 발현시킬 수 있게 하는 방법이 당해 분야에 공지되어 있다[참조예: 미국 특허 제5,877,397호 및 제6,150,584호].

항-IL-18 항체의 용도

[0102] hIL-18에 결합하는 이들의 능력을 가정하면, 본 발명의 항-hIL-18 항체 또는 이의 부분을 사용하여, 통상의 면역검정법, 예를 들어, 효소 결합 면역흡착 검정법(ELISA), 방사선면역 검정법(RIA) 또는 조직 면역조직화학법을 이용하여 (예를 들어, 생물학적 샘플, 예를 들어, 혈청 또는 혈장내에서) hIL-18을 검출할 수 있다. 본 발명은 생물학적 샘플을 본 발명의 항체 또는 항체 부분과 접촉시키는 단계 및 hIL-18에 결합된 항체(또는 항체 부분) 또는 미결합된 항체(또는 항체 부분)을 검출하여, 이에 의해 생물학적 샘플내에서 hIL-18을 검출하는 단계를 포함하여, 생물학적 샘플내에서 hIL-18을 검출하는 방법을 제공한다. 항체는 검출가능한 물질로 직접 또

는 간접적으로 표지화시켜, 결합되거나 미결합된 항체의 검출을 용이하게 한다. 적합한 검출가능한 물질은 각종 효소, 보조군, 형광 물질, 발광 물질 및 방사능 물질을 포함한다. 적합한 효소의 예는 서양 고추냉이 퍼옥시다제, 알칼리성 포스파타제, β -갈락토시다제 또는 아세틸콜린에스테라제를 포함하고, 적합한 보조군 복합체의 예는 스트렙트아비딘/비오틴 및 아비딘/비오틴을 포함하고; 적합한 형광 물질의 예는 웜밸리페론, 플루오레세인, 플루오레세인 이소티오시아네이트, 로다민, 디클로로트리아지닐아민 플루오레세인, 단실 클로라이드 또는 피코에리트린을 포함하고; 발광 물질의 예는 루미놀을 포함하고; 적합한 방사능 물질의 예는 ^{125}I , ^{131}I , ^{35}S , ^{32}P , ^{33}P 또는 ^3H 를 포함한다.

[0103] 항체를 표지화시키기 위한 대체법으로, 검출가능한 물질로 표지화된 rhIL-18 표준물 및 비표지화된 항-hIL-18 항체를 이용하는 경쟁 면역검정법에 의해 hIL-18을 생체액내에서 검정할 수 있다. 당해 검정법에 있어서는, 생물학적 샘플, 표지화된 rhIL-18 표준물 및 항-hIL-18 항체를 배합하고, 비표지화된 항체에 결합된 표지화된 rhIL-18 표준물의 양을 측정한다. 생물학적 샘플 중의 hIL-18의 양은 항-hIL-18 항체에 결합된 표지화된 rhIL-18 표준물의 양에 반비례한다.

[0104] 본 발명의 항체 및 항체 부분은 바람직하게는 시험관내 및 생체내 둘 다에서 hIL-18 활성을 중화시킬 수 있다. 따라서, 본 발명의 이러한 항체 및 항체 부분을 사용하여, hIL-18 활성을, 예를 들어, hIL-18을 함유하는 세포 배양물내에서, 사람 환자내에서 또는 본 발명의 항체가 교차 반응하는 IL-18을 갖는 다른 포유류 환자내에서 저해할 수 있다. 한 양태에 있어서, 본 발명은 IL-18을 본 발명의 항체 또는 항체 부분과 접촉시켜, IL-18 활성을 저해함을 포함하여, IL-18 활성을 저해하는 방법을 제공한다. 바람직하게는, IL-18은 사람 IL-18이다. 예를 들어, hIL-18을 함유하거나, 함유하는 것으로 추측되는 세포 배양물 중에서, 본 발명의 항체 또는 항체 부분을 배양 배지에 첨가하여, 배양물 중에서 hIL-18 활성을 저해할 수 있다.

[0105] 또 다른 양태에 있어서, 본 발명은 IL-18 활성이 유해한 질환을 앓고 있는 환자에서 IL-18 활성을 저해하는 방법을 제공한다. 본 발명은 본 발명의 항체 또는 항체 부분을 상기 질환을 앓고 있는 환자에게 투여함으로써, 상기 환자에서 IL-18 활성을 저해함을 포함하여, 상기 질환을 앓고 있는 환자에서 IL-18 활성을 저해하는 방법을 제공한다. 바람직하게는, IL-18은 사람 IL-18이고, 환자는 사람 환자이다. 또는, 환자는 본 발명의 항체가 교차 반응하는 IL-18을 발현시키는 포유동물일 수 있다. 또한, 환자는 hIL-18이 (예를 들어, hIL-18의 투여 또는 hIL-18 형질전환 유전자의 발현에 의해) 도입되어 있는 포유동물일 수 있다. 본 발명의 항체는 치료 목적으로 사람 환자에게 투여할 수 있다. 또한, 본 발명의 항체는 항체를 수의학적 목적 또는 사람 질환의 동물 모델로서 교차 반응시킨 IL-18을 발현시키는 비-사람 포유동물에게 투여할 수 있다. 후자와 관련하여, 이러한 동물 모델은 본 발명의 항체의 치료 효능을 평가하는데(예를 들어, 투여량 및 투여 시간을 시험하는데) 유용할 수 있다.

[0106] 특히, 동물에서 IL-18 활성을 조절하기 위한 특정의 동물 모델은 사람 말초 혈액 단핵 세포로 이식된 NOD-SCID 마우스를 사용한다. 다음, (혈청 중의 사람 IgG 역가에 의해 측정된 바와 같이) 생착한지 2주 또는 4주 후에 마우스에 LPS(리포폴리사카라이드)를 주사한다. 4 내지 6시간 이후에 LPS-유도된 사람 인터페론-감마 혈청 역가를 측정한다. 항-IL-18 항체(예를 들어, IL-18 중화 항체)의 유효성(효능)을 LPS 챌린지 1일 전에 항체를 주사(복강내)한 다음, 시험 동물을 대조군과 비교하여 인터페론-감마 혈청 역가(IL-18 생체내 활성의 기능)의 감소에 대해 모니터링함으로써 결정한다[참조예: Holmes et al., Hybridoma, 19:363367(2000)].

[0107] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "IL-18 활성이 유해한 질환"은 상기 질환을 앓고 있는 환자에서 IL-18의 존재가 질환의 병리생리적 원인이 되거나 질환 악화의 원인이 되는 인자인 것으로 제시되었거나 추측되는 질환 및 기타 질환을 포함하는 것으로 의도된다. 따라서, IL-18 활성이 유해한 질환은 IL-18 활성의 저해가 질환의 증상 및/또는 진행을 완화시키는 것으로 예상되는 질환이다. 이러한 질환은, 예를 들어, 상기한 바와 같은 항-IL-18 항체를 사용하여 검출할 수 있는 질환을 앓고 있는 환자의 생체액 중의 IL-18의 농도에서의 증가(예를 들어, 환자의 혈청, 혈장, 혈액 등 중의 IL-18 농도의 증가)에 의해 입증될 수 있다.

[0108] 본 발명의 항체로 치료할 수 있는 질환의 비제한적 예는 본 발명의 항체의 약제학적 조성물에 관한 상기 섹션에서 논의된 질환을 포함한다.

[0109] 본 발명의 다른 특성은 하기 실시예로부터 명백해질 것이나, 이는 한정하기 위한 것으로 해석되어서는 안된다.

실시예

[0110] 일반적으로는, 본 발명의 시행은 달리 지시하지 않는 한, 화학, 분자 생물학, 재조합 DNA 기술, PCR 기술, 면역학(특히, 예를 들어, 항체 기술) 및 임의의 필요한 세포 배양 또는 축산 기술을 사용하며, 이러한 기술은 당해 분야의 기술 범위내에 있으며, 문헌[참조예: Sambrook, Fritsch and Maniatis, Molecular Cloning: Cold Spring Harbor Laboratory Press (1989); DNA Cloning, Vols. 1 and 2, (D.N. Glover, Ed. 1985); Oligonucleotide Synthesis (M.J. Gait, Ed. 1984); PCR Handbook Current Protocols in Nucleic Acid Chemistry, Beaucage, Ed. John Wiley & Sons (1999) (Editor); Oxford Handbook of Nucleic Acid Structure, Neidle, Ed., Oxford Univ Press (1999); PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications, Innis et al., Academic Press (1990); PCR Essential Techniques: Essential Techniques, Burke, Ed., John Wiley & Son Ltd (1996); The PCR Technique: RT-PCR, Siebert, Ed., Eaton Pub. Co. (1998); Quantitative PCR Protocols, Kochanowski et al., Eds., Humana Press (1999); Clinical Applications of PCR, Lo, Ed., Humana Press (1998); Antibody Engineering Protocols (Methods in Molecular Biology), 510, Paul, S., Humana Pr (1996); Antibody Engineering: A Practical Approach (Practical Approach Series, 169), McCafferty, Ed., Irl Pr (1996); Antibodies: A Laboratory Manual, Harlow et al., C.S.H.L. Press, Pub. (1999); Current Protocols in Molecular Biology, eds. Ausubel et al., John Wiley & Sons (1992); Large-Scale Mammalian Cell Culture Technology, Lubiniecki, A., Ed., Marcel Dekker, Pub., (1990); and Manipulating the Mouse Embryo, Hogan et al., C.S.H.L. Press, Pub (1994)]에 충분히 설명되어 있다.

[0111] 실시예 전반에 걸쳐, 달리 지시하지 않는 한, 상기 물질 및 방법을 사용한다.

[0112] 실시예 1

[0113] 항-IL-18 항체의 분리

[0114] hIL-18에 대한 항체는 사람 B 세포(예를 들어, 편도선 및 비장)로부터 유래된 mRNA로부터의 VL 및 VH cDNA를 사용하여 제조된 별개의 scFv 파아지 디스플레이 라이브러리를 선별함으로써 분리하였다. 라이브러리의 작제 및 선택 방법은 문헌[참조: Vaughan et al. (1996) Nature Biotech. 14: 309-314]에 기술되어 있다.

[0115] 라이브러리를 완전 길이 사람 IL-18(서열 61), IL-18의 웨타이드 에피토프(서열 1-3) 또는 IL-18을 제시하는 15개의 중복 아미노산 웨타이드의 패널(이의 에피토프 서열은 표 5에 제시되어 있다; 서열 31-60)을 사용하여 선별하였다. IL-18 특이적 항체를 표준 과정[참조: Marks et al., (1991) J. Mol. Biol. 222: 581-597]을 이용하여 항원을 면역튜브 상에 피복시킴으로써 선택하였다. scFv 라이브러리를 IL-18, IL-18의 웨타이드 에피토프 또는 상당한 수의 IL-18 특이적 결합체를 생성시키는 IL-18 웨타이드 패널을 사용하여 선별하였다. 수개의 상이한 클론형을 선택하고, 제한 효소 분해 패턴에 의해 결정하고, DNA 서열화에 의해 확인하였다.

[0116] 완전 길이 IL-18 또는 이의 대표적인 웨타이드에 우선적으로 결합하는 IL-18 항체를 동정하기 위해, scFv를 함유하는 상등액을 ELISA로 비오틴-포획된 IL-18 상에서 적정하여, 결합 특성을 결정하였다.

[0117] 2종의 항-IL-18 단일 쇄 항체가 수득되는데, 여기서, 웨타이드 에피토프 및 웨타이드 패널을 사용하여 독립적으로 분리된 제1 항체를 2E1로 명명하고, 완전 길이 IL-18을 사용하여 분리된 제2 항-IL-18 항체를 LT28로 명명하였다. 이러한 모체 항-IL-18 항체를 추가의 연구 및 변형을 위해 선택하였다.

[0118] 실시예 2

[0119] 항-18 항체의 친화성 성숙

[0120] 동정된 IL-18 결합 활성을 갖는 항체 2E1의 단일 쇄 Fv 버전 및 표 6에 제시되어 있는 중쇄 및 경쇄 서열을 IL-18 활성의 증진된 중화를 위해 변형시켰다.

丑 6A

단일 쇄 항-IL-18 항체 2E1의 서열

2E1 중쇄
(서열 18)

CDR1 (서열 9)
QVQLVQSGAEVKKPGASMVKVSCKTSGYTFTGYYIHWVRAHGQGFEWI

CDR2 (서열 10) CDR3 (서열 11)
GRLNPTGDANFAEKFQGRVALTRDTSISTAYLQLDLSLKSDDAVYYCAGKEGAWGQ
TLTVVSS

[0121]

丑 6B

단일 쇄 항-IL-18 항체 2E1의 서열

2E1 경쇄
(서열 19)

CDR1 (서열 12) CDR2 (서열 13)
SSELTQDPAVSVALGQTVRITCGDSLRHFYPNWYQQKPGQAPVLVIYGKNNRPS

CDR3 (서열 14)
GIPDRFSGSGSGNTGSLTITGAQAEDEADYYCGSRDSSGIHVVFGGGTKVTVLG

[0122]

[0123] 항-IL-18 항체 2E1을 IL-18 웹타이드, 및 순차적으로 IL-18을 제시하는 중복 웹타이드 패널을 사용하여 독립적으로 선택하였다(표 6 참조).

[0124] 돌연변이 유발을 위해 선택된 중쇄 가변 영역의 특이적 아미노산 잔기는 표 7에 요약한다. 특히, 중쇄 영역과 관련하여, 별개의 아미노산 치환을 CDR1의 위치 H30, H31, H32, H33 및 H35, CDR2의 위치 H52, H52a, H53, H54, H56 및 H58, 및 CDR3의 H95, H96, H97 및 H98에서 시험하였다.

[0125] 돌연변이 유발을 위해 선택된 경쇄 아미노산 잔기와 관련하여, 별개의 아미노산 치환을 CDR1의 위치 L30, L31, L32 및 L34, CDR2의 위치 L50, L52, L53 및 L55, 및 CDR3의 위치 L89, L90, L91, L92, L93, L94, L95, L95a, L95b, L96 및 L97에서 시험하였다.

五 7

[0126]

중쇄 돌연변이	
CDR/카펫 위치	치환된 잔기
CDR1	
H30	A, R, N, D, C, G, H, I, F, P, S 또는 V
H31	A, C, H, S, T 또는 Y
H32	R, N, C, H, P, S 또는 T
H33	N, D, C, Q, H, L, M, F, S 또는 V
H35	N, D, L 또는 F
CDR2	
H52	T
H52a	R, Q, L, S, T 또는 W
H53	A, R, N, L, P, S 또는 Y
H54	A, R, N, D, Q, L, K, M, P, S 또는 Y
H56	A, R, N, C, G, H, I, L 또는 F

H58	A, R, Q, E, H, I, L, K, M, F, S, T, Y, P, S, T, W, Y 또는 V
CDR3	
H95	A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C
H96	A, R, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C
H97	A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C
H98	R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C

표 8

[0127] 2E1에 도입된 경쇄 아미노산 치환

경쇄 돌연변이	
CDR/카벳 위치	치환된 잔기
CDR1	
L30	N, D, C, G, I, L, S, W 또는 Y
L31	R, N, D, C, G, H, I, L, P, S, T 또는 Y
L32	R, N, D, E, G, I, L, P, S, T 또는 V
L34	A, R, N, D, E, H, I, L, K, M, F, P, S, T, Y 또는 V
CDR2	
L50	A, N, I, L, F, P, S, W, Y 또는 V
L52	A, R, D, E, H, I, L, M, F, P, S, T 또는 V
L53	A, R, C, I, L, K, M, P, S 또는 T
L55	A, R, N, D, C, G, H, I, L, S, T 또는 Y
CDR3	
L89	A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C
L90	A, R, E, Q, Y, V, H, P, W 또는 C
L91	R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C
L92	A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C
L93	A, R, E, Q, Y, V, H, P, W 또는 C
L94	A, R, E, Q, Y, V, H, P, W 또는 C
L95	A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C
L95a	A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C
L95b	A, R, E, Q, S, Y, V, P, W 또는 C
L96	A, R, E, Q, S, Y, H, P, W 또는 C
L97	A, R, E, Q, S, Y, H, P, W 또는 C

[0128] 치환을 표준 기술[예를 들어, 문헌(참조: Taylor et al., Nucleic Acids Res. 13: 8764-8758 (1985); Nakamaye et al., Nucleic Acids Res. 14: 9679-9698 (1986); and Olsen et al., Methods in Enzymology, 217: 189 (1993))에 기술된 바와 같음]을 이용하여 도입하였다. 요약하면, 제공된 코돈에 대한 올리고뉴클레오타이드 축퇴물을 돌연변이 유발시킬 각각의 위치에 합성하였다. 일본쇄 DNA 주형을 항체 2E1 유전자의 단일 쇄 Fv 베션을 함유하는 원래 플라스미드로부터 제조하였다. 모체 2E1 항체 중쇄 및 경쇄의 핵산 서열은 서열 62 및 서열 64에 제시되어 있다. 다음, 돌연변이 올리고뉴클레오타이드를 사용하여, 상보성 DNA 쇄 및 궁극적으로 이 본쇄 플라스미드를 생성시켜, 항체의 제공된 코돈내에서의 축퇴 또는 상이한 돌연변이를 도입하였다. 특히, 2E1의 중쇄 및 경쇄의 CDR3 영역을 제조업체의 지시사항에 따라 QuickChange Kit(Stratagene)를 이용하여 변형시켰다.

[0129] 다음, 상당하는 수의 클론(즉, 7 내지 36개의 클론)을 각각의 돌연변이 유발 반응으로부터 서열화시키고, 모체 2E1 단일 쇄 항체 서열로부터의 변화를 나타내는 클론을 세균내에서 발현시키고, 상기한 바와 같은 추가의 시험관내 및 생체내 시험을 위해 정제하였다.

[0130] 완전 길이 IL-18 리간드를 사용하는 또 다른 선별법에 있어서, 제2 항-IL-18 항체를, 친화성 성숙을 이용하여 추가의 개선을 위해 동정하고 선택하였다. 특히, 상기한 기술을 이용하여, 표 9에 제시되어 있는 중쇄 및 경쇄 서열(및 서열 66 및 서열 68에 제시되어 있는 핵산 서열)을 갖는 LT28 항체를 추가로 변형시켰다.

표 9A

단일 쇄 항-IL-18 항체 LT28의 서열

LT28 중쇄 (서열 28)	
CDR1 (서열 20)	CDR2 (서열 21)
LVQPGGSLRLSCAASGFTFS <u>SYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKG</u>	
CDR3 (서열 22)	
RFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR <u>DDDDYDFDYWGRGTMVTVSS</u>	

[0131]

표 9B

단일 쇄 항-IL-18 항체 LT28의 서열

LT28 경쇄 (서열 29)	
CDR1 (서열 23)	CDR2 (서열 24)
QSVLTQPPSASGTPGQRVTISC <u>SGSSSNIGINAVNWYQOLPGTAPKLLIYGNDQRPS</u>	
CDR3 (서열 25)	
GVPDRFSGSKSGTSASLAI <u>SGPVFGGGTKLTVLG</u>	

[0132]

[0133]

중쇄 영역과 관련하여, 아미노산 치환을 CDR1의 H31, H32, H33 및 H35, CDR2의 위치 H50, H51, H52, H52a, H53, H54, H56 및 H58, 및 CDR3의 H95, H96, H97, H98, H99, H100, H100a, H101 및 H102에서 도입하였다.

[0134]

돌연변이를 위해 선택된 경쇄 잔기와 관련하여, 아미노산 치환을 CDR1의 위치 L30, L31, L32 및 L34, CDR2의 위치 L50, L52, L53 및 L55, 및 위치 L89, L90, L91, L92, L93, L94, L95, L95a, L95b, L96 및 L97에서 도입하였다.

표 10

[0135]

LT28에 도입된 중쇄 아미노산 치환

중쇄 돌연변이	
CDR/카벳 위치	치환된 잔기
CDR1	
H31	A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C
H32	A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C
H33	A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C
H35	A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C
CDR2	
H50	A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C
H51	A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C
H52	A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C
H52a	A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C
H53	A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C
H54	A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C
H56	A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C
H58	A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C
CDR3	
H95	A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C

H96	A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C
H97	A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C
H98	A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C
H99	A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C
H100	A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C
H100a	A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C
H101	A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C
H102	A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W 또는 C

표 11

[0136] LT28에 도입된 경쇄 아미노산 치환

경쇄 돌연변이	
CDR/카벳 위치	치환된 잔기
CDR1	
L30	A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W, C
L31	A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W, C
L32	R, E, Q, S, Y, V, H, P, W, C, G
L34	A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W, C
CDR2	
L50	A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, C
L52	A, R, E, S, Y, V, H, P, W, C
L53	A, R, E, S, Y, V, H, P, W, C, N
L55	A, E, Q, S, Y, V, H, P, W, C
CDR3	
L89	A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W, C
L90	A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W, C
L91	A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W, C
L92	A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W, C
L93	A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W, C
L94	A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W, C
L95	A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W, C
L95a	A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W, C
L95b	A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W, C
L96	A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W, C
L97	A, R, E, Q, S, Y, V, H, P, W, C

[0137] 치환을 상기한 바와 같이 도입하였다. 다음, 상당하는 수의 클론을 각각의 돌연변이 유발 반응으로부터 서열화시키고, 모체 LT28 단일 쇄 항체 서열로부터의 변화를 나타내는 클론을 세균내에서 발현시키고, 하기한 바와 같은 추가의 시험을 위해 정제하였다.

[0138] 실시예 3

IL-18에의 사람 항체의 결합 활성

[0140] 리간드(바이오센서 매트릭스 상에 고정화된 비오티닐화 재조합 사람 IL-18(rhIL-18))와 분석물(용액 중의 항체)간의 실시간 결합 상호작용을 BIACore 시스템(Pharmacia Biosensor AB, Uppsala, Piscataway, NJ)을 이용하는 표면 플라즈몬 공명(SPR)에 의해 측정하였다. 당해 시스템은 SPR의 광학 특성을 이용하여, 텍스트란 바이오센서 매트릭스내에서의 단백질 농도의 변화를 검출하였다. 단백질을 공지된 농도로 텍스트란 매트릭스에 공유 결합시켰다. 항체를 텍스트란 매트릭스를 통해 주사하고, 주사된 항체와 고정화된 리간드간의 특이적 결합으로 증가된 매트릭스 단백질 농도 및 결과로서 SPR 시그널의 변화를 야기시켰다. SPR 시그널의 이러한 변화는 공명 단위(RU)로서 기록하고, 센서그램의 y축을 따라 시간에 대해 표시한다.

[0141] 비오티닐화 rhIL-18을 바이오센서 매트릭스 상에 용이하게 고정화시키기 위해, 먼저 100mM N-하이드록시석신이미드(NHS) 및 400mM N-에틸-N'-(3-디에틸아미노프로필)카보디이미드 하이드로클로라이드(EDC)를 함유하는 매트

릭스 상에서 카복실 그룹을 활성화시킴으로써, 스트렙트아비딘을 유리 아민 그룹을 통해 텍스트란 매트릭스에 공유 결합시켰다. 다음, 스트렙트아비딘을 활성화 매트릭스를 가로질러 주사하였다. 아세트산나트륨(pH4.5)으로 희석시킨 스트렙트아비딘(25 μ g/ml) 35 μ l 를 활성화 바이오센서를 가로질러 주사하고, 단백질 상의 유리 아민을 활성화 카복실 그룹에 직접 결합시켰다. 미반응 매트릭스 EDC-에스테르를 1M 에탄올아민의 주사에 의해 탈활성화시켰다. 스트렙트아비딘-결합된 바이오센서 칩은 또한 시판된다[구입원: Pharmacia BR-1000-16, Pharmacia Biosensor, Piscataway, NJ].

[0142] 먼저 비오틴(D-비오틴-ε-아미노카프론산 N-하이드록시석신이미드 에스테르; Boehringer Mannheim Cat. No. 1008 960) 5.0mg을 디메틸설포사이드 500 μ l에 용해시켜, 10mg/ml 용액을 제조함으로써, 비오틴화 rhIL-18을 제조하였다. 비오틴 대 rhIL-18의 2:1 몰비를 위해 rhIL-18(2.65mg/ml에서) 1ml당 비오틴 10 μ l 를 첨가하였다. 반응물을 온화하게 혼합하고, 암실내에서 실온에서 2시간 동안 배양하였다. PD-10 칼럼, Sephadex G-25M(Pharmacia Catalog No. 17-9851-01)을 냉 PBS 25ml로 평형화시키고, 칼럼당 rhIL-18-비오틴 2ml를 로딩시켰다. 칼럼은 10 x 1ml 냉 PBS로 용출시켰다. 분획을 수집하고, OD280(1.0 OD = 1.25mg/ml)에서 판독하였다. 적합한 분획을 풀링시키고, 사용할 때까지 -80°C에서 저장하였다.

[0143] 스트렙트아비딘을 통해 매트릭스 상에 고정화시킬 비오틴화 rhIL-18을 0.05% (BIAcore) 계면활성제 P20(Pharmacia BR-1000-54, Pharmacia Biosensor, Piscataway, NJ)이 보충된 PBS 러닝 완충액(Gibco Cat. No. 14190-144, Gibco BRL, Grand Island, NY)으로 희석시켰다. 고정화된 rhIL-18에 결합하는 rhIL-18-특이적 항체의 능력을 측정하기 위해, 결합 검정법을 다음과 같이 수행하였다. 비오틴화 rhIL-18의 분액(25nM; 10 μ l 분액)을 5 μ l/분의 유속으로 스트렙트아비딘-결합된 텍스트란 매트릭스를 통해 주사하였다. 단백질의 주사 전 및 직후에, PBS 완충액을 각각의 유동 세포를 통해 단독으로 유동시켰다. 기준선과 비오틴화 rhIL-18 주사 완료 후 약 30초 뒤 사이의 시그널의 순수한 차이는 결합가를 나타내는 것으로 고려하였다. 고정화된 비오틴화 rhIL-18에의 직접적인 rhIL-18-특이적 항체 결합을 측정하였다. 항체(20 μ g/ml)를 PBS 러닝 완충액으로 희석시키고, 25 μ l 분액을 5 μ l/분의 유속으로 고정화된 단백질 매트릭스를 통해 주사하였다. 항체의 주사 전 및 직후에, PBS 완충액을 각각의 유동 세포를 통해 단독으로 유동시켰다. 기준선 시그널과 항체 주사 완료 후 시그널간의 순수한 차이는 특정한 샘플의 결합가를 나타내는 것으로 고려하였다. 바이오센서 매트릭스는 다음 샘플의 주사 전에 100mM HCl을 사용하여 재생시켰다. 분리율(K_{off}), 결합율(K_{on}), 결합 속도(K_a) 및 해리 속도(K_d) 상수를 측정하기 위해, BIAcore 동역학 평가 소프트웨어(버전 2.1)를 사용하였다.

[0144] 모 항체 2E1 및 LT28(및 대조군)과 비교한, 비오틴화 rhIL-18에 결합하는 증진된 후보 항-IL-18 항체의 대표적인 결과를 아래 표 12에 기술하였다. 비교를 위해, 세포-이용 중화 검정법으로부터의 IC₅₀ 값을 또한 포함하고, 이를 실시에 4에 기술하였다. 모든 클론은 하기한 Biacore 분석법 및 세포-이용 검정법을 사용하여 시험을 위한 단일 쇄 Fv 항체로서 제조하였다. 기재된 모체 클론은 비변형된 모체 중쇄 및 경쇄를 포함하는 한편, 단일 쇄 돌연변이체는 하나의 모쇄 및 하나의 돌연변이된 쇄를 함유하고, 이때 돌연변이된 쇄에는 중쇄(H) 또는 경쇄(L) 표시 뒤에, 카벳 위치 및 아미노산 치환의 특성을 표시한다.

표 12

2E1 및 LT28로부터 유래된 항-IL-18 항체의 결합

항체 클론	결합율($M^{-1} s^{-1}$)	분리율(s^{-1})	$K_d(M)$	IC_{50} [†]
2E1 모체 및 돌연변이체				
2E1(모체) ScFv	2.6E+3	6.42E-03	1.5E-07	3.3E-8M
2E1(모체) IgG				9.0E-10M
L34S		1.69E-04		1.5E-8M
H53R		2.34E-03		2.5E-8M
H53Y		-		1.5E-8M
H58Q		-		1.6E-8M
L34S + H53R(2E1RS)	2.7E+03	6.82E-05	2.3E-08	3.0E-09M
L34S + H58Q		-		1.5E-8M
L34S + H53Y		5.28E-05		6.7E-9M
H53R + H58Q		-		1.2E-8M
H53Y + H58Q		-		1.2E-8M

L34S + H53R + H58Q		6.18E-05		2.8E-9M
L34S + H53Y + H58Q		-		8.0E-9M
L90C				4x
L93C				2-4x
L94P, Q 또는 R				2-4x
L95R, Y				3-8x
L95bE, W				2-4x
LT28 모체 및 돌연변이체				
LT28(모체)	1.3E+04	4.8E-04	3.9E-08	9.0E-8M
H54Q				2-3x
H58W				2-3x
		1		
125-2H	1.7E+05	1.1E-04	6.2E-10	2.E-10M
318-M	1.2E+04	1.1E-04	9.6E-09	4.0E-9M

* 모체와 비교하여 몇배로 증진되어 나타나는 특정의 값

[0146]

실시예 4

[0147]

항-IL-18 항체의 중화 활성

[0148]

본 발명의 항-사람 IL-18 항체의 중화 활성을 조사하기 위해, IL-18 활성을 모니터링하기 위한 당해 분야에 인지된 검정법을 이용하였다.

[0149]

요약하면, 당해 검정법은 표준 기술[예를 들어, 10% 소 태아 혈청(Bio Whittaker #14-501F); 2mM L-글루타민(Gibco #25030-081); 50단위/ml 폐니실린, 50ng/ml 스트렙토마이신(Gibco #15070-063); 및 .075% 중탄산나트륨이 보충된 RPMI 1640 배양 배지 Gibco #21870-076을 사용]에 따라 배양한 KG1 세포(ATCC #CCL-246, 골수성 백혈병 골수 세포)를 사용하였다.

[0150]

IL-18 중화를 시험하기 위해, 20ng/ml hTNF-알파(Lot# 19130132)로 자극된 3 x 10E5 KG-1 세포를 항-IL-18 항체(4x 농도) 50ul 및 IL-18(4x 농도 = 8ng/ml) 50ul와 함께 37°C에서 1시간 또는 16-20시간 동안 배양하였다. 유도된 hIFN-감마 생성의 작용으로서 발생된 IL-18 중화량을 측정하기 위해, 제조업체의 지시사항에 따라 통상의 Elisa 키트(R & D #DIF00/Endogen #EH-IFNG)를 사용하여 ELISA를 수행하고, hIFN-감마 생성율을 표준 곡선으로부터 계산하였다(pg/ml).

[0151]

전체 중에서, 4개의 돌연변이체 항체, 즉, 2E1 유래된 L34S, H53R, H53Y 및 H58Q가 모체 2E1 항체보다 더 큰 IL-18 중화 효능을 갖는 것으로 나타났다(표 12 참조). KG-1 검정법을 이용하여 IC₅₀ 값에서의 증진은 2 내지 5배의 범위이고, 유사한 증진된 결합 결과는 BIACore 분석법을 이용하여 측정하였다.

[0152]

다양한 돌연변이 연합 클론을 또한 제조하고 시험하며, 이의 결과를 표 12에 요약한다. 가장 우수한 연합 클론 L34S-H53R은 KG-1 세포-이용 검정법 및 BIACore 분석법 둘 다에서 모체 항체 2E1보다 10배 이상 증진되는 것으로 나타난다. 생성된 항체는 2E1RS의 명칭으로 명시한다.

[0153]

2E1의 수개의 다른 변이체 클론은 KG-1 검정법을 이용하여 측정한 바와 같이 효능면, 즉, IL-18 중화면에서 증진을 나타낸다. 돌연변이체 L95Y는 모체 2E1 항체보다 5 내지 8배 우수한 IC₅₀ 값을 제공하였다. 수개의 다른 돌연변이체는 2 내지 3배의 증진을 제공하며, 이들은 2E1 돌연변이체 H96A, H96Q, H96S, H98S, L90C, L90W, L93C, L94P, L94Q, L94R, L94W, L95R, L95aA, L95aH, L95aP, L95aR, L95aW, L95bE, L95bW, L95bY, L95C 및 L97E이다.

[0154]

ScFv 항체 또는 IgG 항체 형태의 2E1의 결합을 또한 비교한다(도 5 참조)

[0155]

또한, LT28 모체로부터 유래된 2개의 돌연변이체는 모체 항체와 비교하여 증진된 IL-18 중화 활성을 가진다.

[0156]

이러한 결과는 완전 사람 IL-18 중화 항체를 본 발명의 방법 및 조성물을 사용하여 수득할 수 있음을 입증하였다.

[0157]

등가물

[0158] 당해 분야의 숙련가는 단지 통상적인 실험법을 이용하여 본원에 기술된 본 발명의 구체적 양태에 대한 다수의 등가물을 인지할 수 있거나 확인할 수 있다. 이러한 등가물은 다음 청구의 범위에 의해 포함되도록 한다.

도면의 간단한 설명

[0022] 도 1은 IL-1 β (좌측) 및 IL1RA(우측)와 비교한 바의 IL-18(중앙)의 구조 모델을 도시한다.

[0023] 도 2는 IL-18 수용체와 복합체를 형성한 IL-18의 구조 모델을 도시하며, 여기서, IL-18의 아미노산 PLFEDMTDSDCRDNA(서열 1)를 포함하는 펩타이드 에피토프가 암회색으로 표시되어 있다. 당해 펩타이드 에피토프는 항-IL-18 항체 2E1에 의해 결합되어 있다.

[0024] 도 3은 IL-18 수용체와 복합체를 형성한 IL-18의 구조 모델을 도시하며, 여기서, IL-18의 아미노산 YFGKLESKLSVIRN(서열 33)을 포함하는 펩타이드 에피토프가 암회색으로 표시되어 있다. 당해 펩타이드 에피토프는 항-IL-18 항체 LT28에 의해 결합되어 있다.

[0025] 도 4는 IL-18 수용체와 복합체를 형성한 완전 길이 IL-18의 구조 모델을 도시한다. 구형 담회색 및 암회색 에피토프는 IL-18의 N 및 C 말단 접촉 에피토프(각각, 서열 70 및 71)를 나타낸다.

[0026] 도 5는 IL-18의 생물학적 작용을 중화시키는데 있어서 3종의 상이한 항-IL-18 항체의 효능을 KG1 세포에서의 IFN- γ 유도의 저해 함수로서 도시한다. 항체 125H(박스) 및 IgG 항체로서의 2E1 항체(원형) 또는 단일쇄 항체로서의 2E1 항체(삼각형)에 대한 IC₅₀ 값은 각각 2.1E-10, 9.0E-10 및 3.3E-9이다.

도면

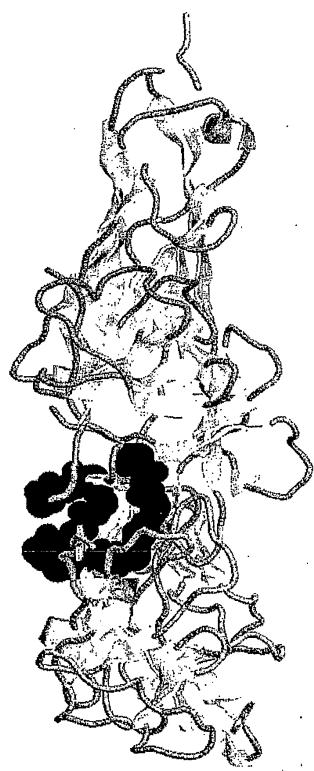
도면1

IL-1 β

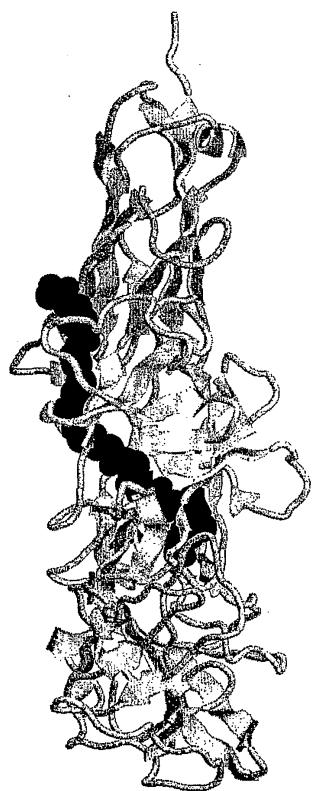
IL-18

IL-1RA

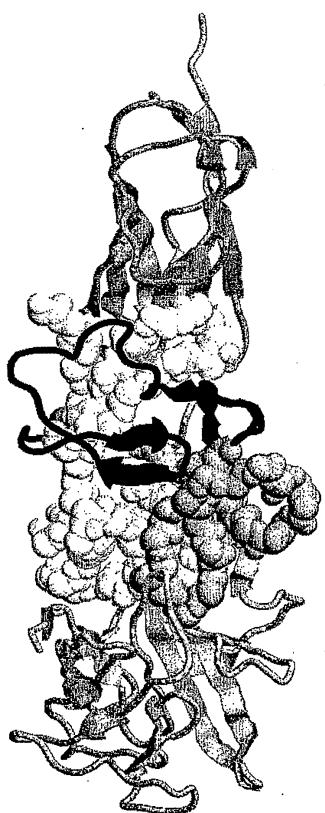
도면2



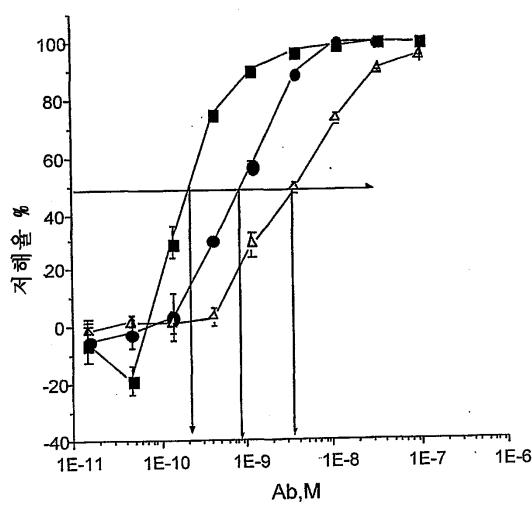
도면3



도면4



도면5



서 열 목록

- <110> Abbott Laboratories
- <120> Antibodies that bind human interleukin-18 and methods of making and using
- <130> 5-1998-071792-8
- <150> US 60/181,608

<151> 2000-02-10

<160> 71

<170> KOPATIN 1.71

<210> 1

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

Pro Leu Phe Glu Asp Met Thr Asp Ser Asp Cys Arg Asp Asn Ala
1 5 10 15

<210> 2

<211> 16

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 2

Cys Pro Leu Phe Glu Asp Met Thr Asp Ser Asp Cys Arg Asp Asn Ala

1 5 10 15

<210> 3

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 3

Pro Leu Phe Glu Asp Met Thr Asp Ser Asp Cys Arg
1 5 10

<210> 4

<211> 157

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 4

Tyr Phe Gly Lys Leu Glu Ser Lys Leu Ser Val Ile Arg Asn Leu Asn
1 5 10 15

Asp Gln Val Leu Phe Ile Asp Gln Gly Asn Arg Pro Leu Phe Glu Asp

20 25 30

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

Ile Ser Phe Lys Glu Met Asn Pro Pro Asp Asn Ile Lys Asp Thr Lys

85 90 95

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

Gly Asp Arg Ser Ile Met Phe Thr Val Gln Asn Glu Asp

145 150 155

<210> 5

<211> 153

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 5

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

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

Glu Ser Ala Gln Phe Pro Asn Trp Tyr Ile Ser Thr Ser Gln Ala Glu
 115 120 125
 Asn Met Pro Val Phe Leu Gly Gly Thr Lys Gly Gln Asp Ile Thr
 130 135 140
 Asp Phe Thr Met Gln Phe Val Ser Ser
 145 150
 <210> 6
 <211> 145
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 6
 Ser Ser Lys Met Gln Ala Phe Arg Ile Trp Asp Val Asn Gln Lys Thr
 1 5 10 15

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

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

Asp
 145
 <210> 7
 <211> 297
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 7
 Cys Thr Ser Arg Pro His Ile Thr Val Val Glu Gly Glu Pro Phe Tyr
 1 5 10 15

Leu Lys His Cys Ser Cys Ser Leu Ala His Glu Ile Glu Thr Thr Thr
 20 25 30

Lys Ser Trp Tyr Lys Ser Ser Gly Ser Gln Glu His Val Glu Leu Asn
 35 40 45

Pro Arg Ser Ser Ser Arg Ile Ala Leu His Asp Cys Val Leu Glu Phe
 50 55 60

Trp Pro Val Glu Leu Asn Asp Thr Gly Ser Tyr Phe Phe Gln Met Lys
 65 70 75 80

Asn Tyr Thr Gln Lys Trp Lys Leu Asn Val Ile Arg Arg Asn Lys His
 85 90 95

Ser Cys Phe Thr Glu Arg Gln Val Thr Ser Lys Ile Val Glu Val Lys
 100 105 110

Lys Phe Phe Gln Ile Thr Cys Glu Asn Ser Tyr Tyr Gln Thr Leu Val
 115 120 125

Asn Ser Thr Ser Leu Tyr Lys Asn Cys Lys Lys Leu Leu Leu Glu Asn
 130 135 140

Asn Lys Asn Pro Thr Ile Lys Lys Asn Ala Glu Phe Glu Asp Gln Gly
 145 150 155 160

Tyr Tyr Ser Cys Val His Phe Leu His His Asn Gly Lys Leu Phe Asn
 165 170 175

Ile Thr Lys Thr Phe Asn Ile Thr Ile Val Glu Asp Arg Ser Asn Ile
 180 185 190

Val Pro Val Leu Leu Gly Pro Lys Leu Asn His Val Ala Val Glu Leu
 195 200 205

Gly Lys Asn Val Arg Leu Asn Cys Ser Ala Leu Leu Asn Glu Glu Asp
 210 215 220

Val Ile Tyr Trp Met Phe Gly Glu Glu Asn Gly Ser Asp Pro Asn Ile
 225 230 235 240

His Glu Glu Lys Glu Met Arg Ile Met Thr Pro Glu Gly Lys Trp His
 245 250 255

Ala Ser Lys Val Leu Arg Ile Glu Asn Ile Gly Glu Ser Asn Leu Asn
 260 265 270

Val Leu Tyr Asn Cys Thr Val Ala Ser Thr Gly Gly Thr Asp Thr Lys
 275 280 285

Ser Phe Ile Leu Val Arg Lys Ala Asp
 290 295

<210>

8

<211> 310

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 8

Cys Lys Glu Arg Glu Glu Lys Ile Ile Leu Val Ser Ser Ala Asn Glu
 1 5 10 15

Ile Asp Val Arg Pro Cys Pro Leu Asn Pro Asn Glu His Lys Gly Thr
 20 25 30

Ile Thr Trp Tyr Lys Asp Asp Ser Lys Thr Pro Val Ser Thr Glu Gln
 35 40 45

Ala Ser Arg Ile His Gln His Lys Glu Lys Leu Trp Phe Val Pro Ala

 50 55 60

Lys Val Glu Asp Ser Gly His Tyr Tyr Cys Val Val Arg Asn Ser Ser
 65 70 75 80

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

180	185	190	
Phe Ile Thr Leu Glu Glu Asn Lys Pro Thr Arg Pro Val Ile Val Ser			
195	200	205	
Pro Ala Asn Glu Thr Met Glu Val Asp Leu Gly Ser Gln Ile Gln Leu			
210	215	220	
Ile Cys Asn Val Thr Gly Gln Leu Ser Asp Ile Ala Tyr Trp Lys Trp			
225	230	235	240
Asn Gly Ser Val Ile Asp Glu Asp Asp Pro Val Leu Gly Glu Asp Tyr			

245	250	255
Tyr Ser Val Glu Asn Pro Ala Asn Lys Arg Arg Ser Thr Leu Ile Thr		
260	265	270
Val Leu Asn Ile Ser Glu Ile Glu Ser Arg Phe Tyr Lys His Pro Phe		
275	280	285
Thr Cys Phe Ala Lys Asn Thr His Gly Ile Asp Ala Ala Tyr Ile Gln		
290	295	300
Leu Ile Tyr Pro Val Thr		

```

305
<210> 9
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 9
Thr Gly Tyr Tyr Ile His
      1           5
<210> 10
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 10
Gly Arg Leu Asn Pro Thr Thr Gly Asp Ala Asn Phe Ala Glu Lys Phe
      1           5           10           15
Gln
<210> 11
<211> 4
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 11

```

Lys Glu Gly Ala
1

<210> 12
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 12

Gln Gly Asp Ser Leu Arg His Phe Tyr Pro Asn
 1 5 10

<210> 13
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 13

Gly Lys Asn Asn Arg Pro Ser
 1 5

<210> 14
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 14

Gly Ser Arg Asp Ser Ser Gly Ile His Val Val

1 5 10

<210> 15
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 15

Gln Gly Asp Ser Leu Arg His Phe Tyr Ser Asn
 1 5 10

<210> 16
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 16

Gly Arg Leu Asn Pro Arg Thr Gly Asp Ala Asn Phe Ala Glu Lys Phe
 1 5 10 15

Gln
 <210> 17
 <211> 17

<212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 17

Gly Arg Leu Asn Pro Arg Thr Gly Asp Ala Gln Phe Ala Glu Lys Phe
 1 5 10 15

Gln
 <210> 18
 <211> 113
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 18

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

Ser Met Lys Val Ser Cys Lys Thr Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr

20 25 30
 Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala His Gly Gln Gly Phe Glu Trp Ile
 35 40 45

Gly Arg Leu Asn Pro Thr Thr Gly Asp Ala Asn Phe Ala Glu Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Ala Leu Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Leu Asp Ser Leu Lys Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95
 Ala Gly Lys Glu Gly Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
 100 105 110

Ser

<210> 19

<211> 109

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 19

Ser Ser Glu Leu Thr Gln Asp Pro Ala Val Ser Val Ala Leu Gly Gln
 1 5 10 15
 Thr Val Arg Ile Thr Cys Gln Gly Asp Ser Leu Arg His Phe Tyr Pro

20 25 30
 Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr
 35 40 45

Gly Lys Asn Asn Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60

Gly Ser Gly Asn Thr Gly Ser Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu
 65 70 75 80
 Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Ser Arg Asp Ser Ser Gly Ile His

85 90 95
 Val Val Phe Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly
 100 105

<210> 20

<211> 4

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 20

Ser Tyr Ala Met

1

<210> 21

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 21

Ala Ile Ser Gly Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 22

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 22

Asp Asp Asp Asp Tyr Asp Phe Asp Tyr

1

5

<210> 23

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 23

Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ile Asn Ala Val Asn

1 5 10

<210> 24

<211> 6

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 24

Gly Asn Asp Gln Arg Pro

1 5

<210> 25

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 25

Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu Ser Gly Pro Val

1 5 10

<210> 26

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 26

Ala Ile Ser Gly Ser Gln Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 27

<211> 17

<212> PRT

<213>

Homo sapiens

<400> 27

Ala Ile Ser Gly Ser Gly Ser Thr Trp Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 28

<211> 108

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 28

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

1 5 10 15

Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly

20 25 30

Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr
35 40 45Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn
50 55 60Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp
65 70 75 80Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Asp Asp Tyr Asp Phe Asp
85 90 95Tyr Trp Gly Arg Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
100 105

<210> 29

<211> 111

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 29

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

1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Asn Ile Gly Ile Asn
20 25 30

Ala Val Asn Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu

35 40 45

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

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

100 105 110

<210> 30

<211> 235

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 30

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

1 5 10 15

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

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly

225 230 235

<210> 31
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 31

Tyr Phe Gly Lys Leu Glu Ser Lys Leu Ser Val Ile Arg Asn
 1 5 10

<210> 32
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 32

Glu Ser Lys Leu Ser Val Ile Arg Asn Leu Asn Asp Gln Val
 1 5 10

<210> 33
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 33

Val Ile Arg Asn Leu Asn Asp Gln Val Leu Phe Ile Asp Gln

1 5 10
 <210> 34
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 34

Asn Asp Gln Val Leu Phe Ile Asp Gln Gly Asn Arg Pro Leu
 1 5 10

<210> 35
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 35

Phe Ile Asp Gln Gly Asn Arg Pro Leu Phe Glu Asp Met Thr
 1 5 10

<210> 36
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 36

Asn Arg Pro Leu Phe Glu Asp Met Thr Asp Ser Asp Cys Arg

1 5 10
 <210> 37
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 37

Glu Asp Met Thr Asp Ser Asp Cys Arg Asp Asn Ala Pro Arg
 1 5 10

<210> 38
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 38

Ser Asp Cys Arg Asp Asn Ala Pro Arg Thr Ile Phe Ile Ile
 1 5 10
 <210> 39
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 39
 Asn Ala Pro Arg Thr Ile Phe Ile Ile Ser Met Tyr Lys Asp

1 5 10
 <210> 40
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 40

Ile Phe Ile Ile Ser Met Tyr Lys Asp Ser Gln Pro Arg Gly
 1 5 10

<210> 41
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 41

Met Tyr Lys Asp Ser Gln Pro Arg Gly Met Ala Val Thr Ile
 1 5 10

<210> 42
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 42

Gln Pro Arg Gly Met Ala Val Thr Ile Ser Val Lys Cys Glu

1 5 10
 <210> 43
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 43

Ala Val Thr Ile Ser Val Lys Cys Glu Lys Ile Ser Thr Leu
 1 5 10

<210> 44
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 44

Val Lys Cys Glu Lys Ile Ser Thr Leu Ser Cys Glu Asn Lys
 1 5 10

<210> 45
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 45

Ile Ser Thr Leu Ser Cys Glu Asn Lys Ile Ile Ser Phe Lys

1 5 10
 <210> 46
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 46

Cys Glu Asn Lys Ile Ile Ser Phe Lys Glu Met Asn Pro Pro
 1 5 10

<210> 47

<211> 14

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 47

Ile Ser Phe Lys Glu Met Asn Pro Pro Asp Asn Ile Lys Asp
 1 5 10

<210> 48

<211> 14

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 48

Met Asn Pro Pro Asp Asn Ile Lys Asp Thr Lys Ser Asp Ile

1 5 10

<210> 49

<211> 14

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 49

Asn Ile Lys Asp Thr Lys Ser Asp Ile Ile Phe Phe Gln Arg
 1 5 10

<210> 50

<211> 14

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 50

Lys Ser Asp Ile Ile Phe Phe Gln Arg Ser Val Pro Gly His
 1 5 10

<210> 51

<211> 14

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 51

Phe Phe Gln Arg Ser Val Pro Gly His Asp Asn Lys Met Gln

1 5 10

<210> 52

<211> 14

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 52

Val Pro Gly His Asp Asn Lys Met Gln Phe Glu Ser Ser Ser
 1 5 10

<210> 53

<211> 14

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 54

Asn Lys Met Gln Phe Glu Ser Ser Ser Tyr Glu Gly Tyr Phe
 1 5 10

<210> 54

<211> 14

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 54

Glu Ser Ser Ser Tyr Glu Gly Tyr Phe Leu Ala Cys Glu Lys

1 5 10

<210> 55

<211> 14

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 55

Glu Gly Tyr Phe Leu Ala Cys Glu Lys Glu Arg Asp Leu Phe

1 5 10

<210> 56

<211> 14

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 56

Ala Cys Glu Lys Glu Arg Asp Leu Phe Lys Leu Ile Leu Lys

1 5 10

<210> 57

<211> 14

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 57

Arg Asp Leu Phe Lys Leu Ile Leu Lys Lys Glu Asp Glu Leu

1 5 10

<210> 58

<211> 14

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 58

Leu Ile Leu Lys Lys Glu Asp Glu Leu Gly Asp Arg Ser Ile

1 5 10

<210> 59

<211> 14

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 59

Glu Asp Glu Leu Gly Asp Arg Ser Ile Met Phe Thr Val Gln

1 5 10

<210> 60

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 60

Asp Arg Ser Ile Met Phe Thr Val Gln Asn Glu Asp

1 5 10

<210> 61

<211> 157

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 61

Tyr Phe Gly Lys Leu Glu Ser Lys Leu Ser Val Ile Arg Asn Leu Asn

1 5 10 15

Asp Gln Val Leu Phe Ile Asp Gln Gly Asn Arg Pro Leu Phe Glu Asp

20 25 30

Met Thr Asp Ser Asp Cys Arg Asp Asn Ala Pro Arg Thr Ile Phe Ile

35

40

45

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

Met Gln Phe Glu Ser Ser Tyr Glu Gly Tyr Phe Leu Ala Cys Glu			
115	120	125	

Lys Glu Arg Asp Leu Phe Lys Leu Ile Leu Lys Lys Glu Asp Glu Leu			
130	135	140	

Gly Asp Arg Ser Ile Met Phe Thr Val Gln Asn Glu Asp			
145	150	155	

<210> 62

<211> 341

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(339)

<400> 62

cag gtc cag ctg gtg cag tct ggg gct gag gtg aag aag cct ggg gcc 48

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

tcg atg aaa gtc tcc tgt aag act tct gga tac acc ttc acc ggc tat	96		
Ser Met Lys Val Ser Cys Lys Thr Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr			
20	25	30	

tat atc cac tgg gtg cga cag gcc cct gga cag gga ttc gag tgg ata	144		
Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Phe Glu Trp Ile			
35	40	45	

gga cgg ctc aac ccc acc act ggt gac gca aat ttt gca gaa aag ttt	192		
Gly Arg Leu Asn Pro Thr Thr Gly Asp Ala Asn Phe Ala Glu Lys Phe			
50	55	60	

cag ggc agg gtc gcc ctg acc aga gac acg tcc atc agc aca gcc tat	240		
Gln Gly Arg Val Ala Leu Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr			
65	70	75	80

tta caa cta gac agc ctc aaa tct gac gac acg gcc gta tat tat tgt	288		
Leu Gln Leu Asp Ser Leu Lys Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys			
85	90	95	

gcg gga aaa gag ggt gcc tgg ggc cag ggc acc ctg gtc acc gtc tcg	336		
Ala Gly Lys Glu Gly Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser			
100	105	110	

agt gg 341

Ser

<210> 63

<211> 113

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 63

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

1	5	10	15	
Ser Met Lys Val Ser Cys Lys Thr Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr 20 25 30				
Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Phe Glu Trp Ile 35 40 45				
Gly Arg Leu Asn Pro Thr Thr Gly Asp Ala Asn Phe Ala Glu Lys Phe 50 55 60				
Gln Gly Arg Val Ala Leu Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr 65 70 75 80				
Leu Gln Leu Asp Ser Leu Lys Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys 85 90 95				
Ala Gly Lys Glu Gly Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser 100 105 110				
Ser				
<210> 64				
<211> 327				
<212> DNA				
<213> Homo sapiens				
<220>				
<221> CDS				
<222> (1)..(327)				
<400> 64				
tct tct gag ctg act cag gac cct gct gtg tct gtg gcc ttg gga cag 48				
Ser Ser Glu Leu Thr Gln Asp Pro Ala Val Ser Val Ala Leu Gly Gln 1 5 10 15				
aca gtc agg atc aca tgc caa gga gac agc ctc aga cac ttt tat cca 96 Thr Val Arg Ile Thr Cys Gln Gly Asp Ser Leu Arg His Phe Tyr Pro 20 25 30				
aac tgg tac cag cag aag cca gga cag gcc cct gta ctt gtc atc tat 144 Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr 35 40 45				
ggt aaa aac aat cgg ccc tca ggg atc cca gac cga ttc tct ggc tcc 192 Gly Lys Asn Asn Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser 50 55 60				
ggc tca gga aac aca ggt tcc ttg acc atc act ggg gcc cag gcg gaa 240 Gly Ser Gly Asn Thr Gly Ser Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu 65 70 75 80				
gat gag gct gac tat tac tgt ggc tcc cgg gac agc agt ggt atc cat 288 Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Ser Arg Asp Ser Ser Gly Ile His				
85 90 95				
gtg gta ttc ggc gga ggg acc aag gtc acc gtc cta ggt Val Val Phe Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly 327				
100 105				
<210> 65				
<211> 109				
<212> PRT				
<213> Homo sapiens				
<400> 65				
Ser Ser Glu Leu Thr Gln Asp Pro Ala Val Ser Val Ala Leu Gly Gln 1 5 10 15				
Thr Val Arg Ile Thr Cys Gln Gly Asp Ser Leu Arg His Phe Tyr Pro				

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

85	90	95	
Val Val Phe Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly			
100	105		

<210> 66

<211> 354

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(354)

<400> 66

gag gtg cag ctg ttg gag tct ggg gga ggc ttg gta cag cct ggg ggg	48		
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly			
1	5	10	15

tcc ctg aga ctc tcc tgt gca gcc tct gga ttc acc ttt agc agc tat	96		
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr			
20	25	30	

gcc atg agc tgg gtc cgc cag gct cca ggg aag ggg ctg gag tgg gtc	144		
Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val			
35	40	45	

tca gct att agt ggt agt ggt agc aca tac tac gca gac tcc gtg	192
Ser Ala Ile Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val	

50	55	60	
aag ggc cgg ttc acc atc tcc aga gac aat tcc aag aac acg ctg tat	240		
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr			
65	70	75	80
ctg caa atg aac agc ctg aga gcc gag gac acg gcc gtg tat tac tgt	288		
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys			
85	90	95	
gcg aga gat gac gat gac tac gac ttt gac tac tgg ggc cgg ggg aca	336		

Ala Arg Asp Asp Asp Asp Tyr Asp Phe Asp Tyr Trp Gly Arg Gly Thr			
100	105	110	

atg gtc acc gtc tcg agt	354		
Met Val Thr Val Ser Ser			
115			

<210> 67

<211> 118

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 67

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

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

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

85 90 95
 Ala Arg Asp Asp Asp Asp Tyr Asp Phe Asp Tyr Trp Gly Arg Gly Thr
 100 105 110

Met Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 68

<211> 334

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(333)

<400> 68

cag tct gtg ttg acg cag ccg ccc tca gcg tct ggg gcc ccc ggt cag 48

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Ala Pro Gly Gln
 1 5 10 15
 agg gtc acc atc tct tgt tct gga agc agc tcc aac atc gga att aat 96
 Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Asn Ile Gly Ile Asn
 20 25 30
 gct gta aac tgg tac cag cag ctc cca gga acg gcc ccc aaa ctc ctc 144
 Ala Val Asn Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
 35 40 45

atc tat ggt aat gat cag cgg ccc tca ggg gtc cct gac cga ttc tct 192
 Ile Tyr Gly Asn Asp Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60
 ggc tcc aag tct ggc acc tca gcc tcc ctg gcc atc agt ggg ctc cag 240
 Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Gln
 65 70 75 80
 tct gag gat gag gct gat tat aac tgt gca gca tgg gat gac agc ctg 288
 Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Asn Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu

85 90 95
 agt ggt ccg gtg ttc ggc gga ggg acc aag ctg acc gtc cta ggt g 334
 Ser Gly Pro Val Phe Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
 100 105 110

<210> 69

<211> 111

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 69

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Ala Pro Gly Gln
 1 5 10 15
 Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Asn Ile Gly Ile Asn

20 25 30
 Ala Val Asn Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
 35 40 45

Ile Tyr Gly Asn Asp Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60
 Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Gln
 65 70 75 80
 Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Asn Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu

85 90 95
 Ser Gly Pro Val Phe Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
 100 105 110

<210> 70

<211> 66

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 70

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

Met Thr Asp Ser Asp Cys Arg Asp Asn Ala Pro Arg Thr Ile Phe Ile
 35 40 45

Ile Ser Met Tyr Lys Asp Ser Gln Pro Arg Gly Met Ala Val Thr Ile
 50 55 60

Ser Val

65

<210> 71

<211> 34

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 71

Phe Leu Ala Cys Glu Lys Glu Arg Asp Leu Phe Lys Leu Ile Leu Lys
 1 5 10 15

Lys Glu Asp Glu Leu Gly Asp Arg Ser Ile Met Phe Thr Val Gln Asn
 20 25 30

Glu Asp