



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 104628855 A

(43) 申请公布日 2015. 05. 20

(21) 申请号 201410812190. 7

A61P 37/02(2006. 01)

(22) 申请日 2009. 05. 05

A61P 25/00(2006. 01)

(30) 优先权数据

A61P 11/00(2006. 01)

61/126, 465 2008. 05. 05 US

61/098, 369 2008. 09. 19 US

(62) 分案原申请数据

200980126177. 3 2009. 05. 05

(71) 申请人 诺维莫尼公司

地址 瑞士日内瓦

(72) 发明人 克尔奇茨托夫·马斯特纳克

奥利维尔·莱格

(74) 专利代理机构 北京坤瑞律师事务所 11494

代理人 封新琴

(51) Int. Cl.

C07K 16/24(2006. 01)

A61K 39/395(2006. 01)

A61P 29/00(2006. 01)

A61P 19/02(2006. 01)

A61P 17/06(2006. 01)

权利要求书2页 说明书60页
序列表30页

(54) 发明名称

抗 IL-17A/IL-17F 交叉反应性抗体及其使用方法

(57) 摘要

本发明涉及抗 IL-17A/IL-17F 交叉反应性抗体及其使用方法。本发明提供识别 IL-17F、IL-17F 同二聚体、IL-17A、IL-17A 同二聚体、和 / 或异二聚体 IL-17A/IL-17F 蛋白质复合物的完全人的单克隆抗体。本发明进一步提供作为治疗剂、诊断剂、和预防剂使用此类单克隆抗体的方法。

1. 一种分离的完全人的单克隆抗体,其结合 IL-17A 同二聚体、IL-17F 同二聚体和 IL-17A/IL-17F 异二聚体复合物,其中该抗体展现 (i) 至少 100pM 或更少的针对 IL-17A 同二聚体的结合亲和力,(ii) 至少 300pM 或更少的针对 IL-17F 同二聚体的结合亲和力,(iii) 至少 400pM 或更少的针对 IL-17A/IL-17F 异二聚体复合物的结合亲和力,(iv) 至少 13nM 或更少的针对 IL-17A 同二聚体的中和能力,(v) 至少 120nM 或更少的针对 IL-17F 同二聚体的中和能力,和 (vi) 至少 31nM 或更少的针对 IL-17A/IL-17F 异二聚体复合物的中和能力。

2. 权利要求 1 的抗体,其中该抗体是 15E6 且包含含有氨基酸序列 SEQ ID NO:85 的 V_H CDR1 序列、包含氨基酸序列 SEQ ID NO:86 的 V_H CDR2 序列、包含氨基酸序列 SEQ ID NO:87 的 V_H CDR3 序列、包含氨基酸序列 SEQ ID NO:110 的 V_L CDR1 序列、包含氨基酸序列 SEQ ID NO:97 的 V_L CDR2 序列和包含氨基酸序列 SEQ ID NO:111 的 V_L CDR3 序列。

3. 权利要求 1 的抗体,其中该抗体是 15E6FK 且包含含有氨基酸序列 SEQ ID NO:85 的 V_H CDR1 序列、包含氨基酸序列 SEQ ID NO:94 的 V_H CDR2 序列、包含氨基酸序列 SEQ ID NO:95 的 V_H CDR3 序列、包含氨基酸序列 SEQ ID NO:110 的 V_L CDR1 序列、包含氨基酸序列 SEQ ID NO:97 的 V_L CDR2 序列和包含氨基酸序列 SEQ ID NO:111 的 V_L CDR3 序列。

4. 一种分离的完全人的单克隆抗体或其片段,其中所述抗体包含:

- (a) 包含氨基酸序列 SEQ ID NO:57、60、66、69、76、79、82、或 85 的 V_H CDR1 区;
 - (b) 包含氨基酸序列 SEQ ID NO:58、61、63、65、67、70、72、74、77、80、83、86、93 或 94 的 V_H CDR2 区;
 - (c) 包含氨基酸序列 SEQ ID NO:59、62、64、68、71、73、75、78、81、84、87、或 95 的 V_H CDR3 区;
 - (d) 包含氨基酸序列 SEQ ID NO:96、101、104、107 或 110 的 V_L CDR1 区;
 - (e) 包含氨基酸序列 SEQ ID NO:97、102、105 或 108 的 V_L CDR2 区;和
 - (f) 包含氨基酸序列 SEQ ID NO:98、99、100、103、106、109、或 111 的 V_L CDR3 区,
- 其中所述抗体结合 IL-17F 和 IL-17A。

5. 一种分离的完全人的单克隆抗体,其包含重链可变序列和轻链可变序列,该重链可变序列包含氨基酸序列 SEQ ID NO:2、6、8、10、14、18、20、24、28、32、38、52、或 54,该轻链可变序列包含氨基酸序列 SEQ ID NO:4、12、16、22、26、30、36、40、或 56,其中所述抗体结合 IL-17F 和 IL-17A。

6. 一种分离的完全人的单克隆抗体或其片段,其中所述抗体包含:

- (a) 包含氨基酸序列 SEQ ID NO:85 或 90 的 V_H CDR1 区;
- (b) 包含氨基酸序列 SEQ ID NO:88 或 91 的 V_H CDR2 区;
- (c) 包含氨基酸序列 SEQ ID NO:89 或 92 的 V_H CDR3 区;
- (d) 包含氨基酸序列 SEQ ID NO:101 或 107 的 V_L CDR1 区;
- (e) 包含氨基酸序列 SEQ ID NO:102 或 108 的 V_L CDR2 区;和
- (f) 包含氨基酸序列 SEQ ID NO:112 或 113 的 V_L CDR3 区,

其中所述抗体结合 IL-17F。

7. 权利要求 6 的抗体,其中所述抗体包含重链可变序列,其包含选自 SEQ ID NO:44 和 48 的氨基酸序列,其中所述抗体进一步包含轻链可变序列,其包含氨基酸序列 SEQ ID NO:46 和 50。

8. 一种药物组合物,其包含前述权利要求任一项的抗体和载体。

9. 一种减轻受试者中与类风湿性关节炎、克罗恩氏病、银屑病、多发性硬化、慢性阻塞性肺病、或哮喘有关的临床适应证的症状的方法,该方法包括以足以减轻与类风湿性关节炎、克罗恩氏病、银屑病、多发性硬化、慢性阻塞性肺病、或哮喘有关的临床适应证的症状的量对有所需要的受试者施用 IL-17A/IL-17F 异二聚体复合物的拮抗剂。

10. 一种减轻受试者中自身免疫性疾病、炎性病症或细胞增殖病症的症状的方法,其中该方法包括以足以减轻自身免疫性疾病、炎性病症或细胞增殖病症的症状的量对有所需要的受试者施用依照权利要求 1-7 任一项的抗体。

抗 IL-17A/IL-17F 交叉反应性抗体及其使用方法

[0001] 本申请是申请日为 2009 年 05 月 05 日、中国申请号为 200980126177.3、发明名称为“抗 IL-17A/IL-17F 交叉反应性抗体及其使用方法”的发明申请的分案申请。

[0002] 相关申请

[0003] 本申请要求 2008 年 5 月 5 日提交的美国临时申请 No. 61/126,465 和 2008 年 9 月 19 日提交的美国临时申请 No. 61/098,369 的权益,通过述及将每一篇的内容完整收入本文。

发明领域

[0004] 本发明一般涉及识别 IL-17F 的单克隆抗体(例如完全人的单克隆抗体)、识别异二聚体 IL-17A/IL-17F 复合物的单克隆抗体(例如完全人的单克隆抗体)、和识别未复合在一起的 IL-17F 和 IL-17A 二者的单克隆抗体(例如完全人的交叉反应性抗体)的生成,及作为治疗剂使用所述单克隆抗体的方法。

[0005] 发明背景

[0006] IL-17A(最初叫作 CTL-8,而且也称作 IL-17)是 IL-17 细胞因子家族的古典/创立成员。在 IL-17A 之外,IL-17 细胞因子家族的成员目前包括共享保守 C 端区但 N 端区段不同的蛋白质 IL-17B、IL-17C、IL-17D、IL-17E(也叫作 IL-25)和 IL-17F。

[0007] IL-17A 和 IL-17F 是该家族在序列和生物学特性这两个方面最密切相关的两个成员。IL-17F 与 IL-17A 在氨基酸水平共享 55% 序列同一性。IL-17A 和 IL-17F 都是作为二硫化物连接的同二聚体分泌的,经由受体 IL-17R、IL-17RC、或由 IL-17R 和 IL-17RC 构成的多聚体受体复合物来发信号。二者还在相同的 T 细胞子集(主要是 Th17CD4⁺T 细胞)上共表达。

[0008] 此外,二者已经相似地被暗示为人类中和人类疾病的小鼠模型中多种炎性和自身免疫性疾病的进展和病理的促成因子。具体而言,IL-17A 和 IL-17F 已经被暗示为触发炎症应答并由此促成多种自身炎性疾病,包括多发性硬化、类风湿性关节炎、和炎性肠病及癌症的主要效应器细胞因子。

[0009] IL-17A 和 IL-17F 二者已证明的体内活性阐释了 IL-17A 和 IL-17F 拮抗剂的临床和/或治疗潜力,及对 IL-17A 和 IL-17F 拮抗剂的需要。具体而言,结合 IL-17A 和 IL-17F 二者并抑制(拮抗性抗体)IL-17A 和 IL-17F 二者的一种或多种免疫学活性的抗体会是有益的。如此,本领域仍然需要与 IL-17A 和 IL-17F 二者和 IL-17A/IL-17F 异二聚体复合物起交叉反应的拮抗剂。

[0010] 发明概述

[0011] 本发明提供特异性结合 IL-17F、IL-17F 同二聚体、IL-17A、IL-17A 同二聚体和/或异二聚体 IL-17A/IL-17F 复合物的单克隆抗体,诸如完全人的单克隆抗体。本发明的抗体能够调控(例如阻断、抑制、降低、拮抗、中和或以其它方式干扰)IL-17、IL-17A 和/或 IL-17A/IL-17F 介导的促炎性细胞因子和/或趋化因子生成。

[0012] 本发明的例示性单克隆抗体包括例如 30D12 抗体、29D8 抗体、1E4 抗体、31A3 抗

体、39F12 抗体、12B12 抗体、15B7 抗体、4H11 抗体、4B11 抗体、8B11 抗体、38B1 抗体、15E6 抗体、5E12 抗体、41B10 抗体、及其变体。此类抗体的变体包括 30D12BF 抗体（具有经过修饰的重链可变区的 30D12 抗体变体）、39F12A 抗体（具有经过修饰的重链可变区的 39F12 抗体变体）、和 15E6FK 抗体（具有经过修饰的轻链可变区的 15E6 抗体变体）。或者，单克隆抗体是与 30D12 抗体、29D8 抗体、1E4 抗体、31A3 抗体、39F12 抗体、12B12 抗体、15B7 抗体、4H11 抗体、4B11 抗体、8B11 抗体、38B1 抗体、15E6 抗体、5E12 抗体、41B10 抗体、及其变体包括 30D12BF 抗体、39F12A 抗体和 15E6FK 抗体结合相同表位的抗体。每一种这些抗体在本文中分别称作“huIL-17A/F”抗体。huIL-17A/F 抗体包括完全人的单克隆抗体，以及人源化单克隆抗体和嵌合抗体。优选的是，抗体是 IgG1。

[0013] 这些抗体显示对人 IL-17F、IL-17A 和 / 或 IL-17A/IL-17F 异二聚体复合物的特异性，而且它们已经显示出抑制 IL-17F、IL-17A 和 / 或 IL-17A/IL-17F 介导的细胞因子生成。这些抗体具有独特的特异性。在一些实施方案中，本发明的 huIL-17A/F 抗体特异性结合单独的 IL-17F 和 IL-17A 二者（即未复合在一起）。在一些实施方案中，本发明的 huIL-17A/F 抗体特异性结合 IL-17F、IL-17F 同二聚体、和 IL-17A/IL-17F 异二聚体复合物。在一些实施方案中，本发明的 huIL-17A/F 抗体特异性结合 IL-17F、IL-17F 同二聚体、IL-17A、IL-17A 同二聚体、和 IL-17A/IL-17F 异二聚体复合物。例如，30D12、29D8、1E4、31A3、39F12、12B12、15B7、4H11、38B1、15E6、30D12BF、4B11、15E6FK、和 39F12A 结合 IL-17F 并与 IL-17A 交叉反应，而且这些抗体还结合 IL-17A/IL-17F 异二聚体复合物。5E12 和 41B10 抗体结合 IL-17F 和 IL-17F 同二聚体，但是不结合 IL-17A 或 IL-17A 同二聚体。41B10 抗体还结合 IL-17A/IL-17F 异二聚体复合物。

[0014] 本发明的完全人的抗体含有重链可变区，其具有氨基酸序列 SEQ ID NO:2、6、8、10、14、18、20、24、28、32、34、38、44、48、52、和 54。本发明的完全人的抗体含有轻链可变区，其具有氨基酸序列 SEQ ID NO:4、12、16、22、26、30、36、40、46、和 56。三个重链 CDR 包括包含与选自 SEQ ID NO:57、60、66、69、76、79、82、85 和 90 的序列至少 90%、92%、95%、97%、98%、99% 或更多相同的氨基酸序列的 CDR1 区；包含与选自 SEQ ID NO:58、61、63、65、67、70、72、74、77、80、83、86、88、91、93 和 94 的序列至少 90%、92%、95%、97%、98%、99% 或更多相同的氨基酸序列的 CDR2 区；和包含与选自 SEQ ID NO:59、62、64、68、71、73、75、78、81、84、87、89、92、和 95 的序列至少 90%、92%、95%、97%、98%、99% 或更多相同的氨基酸序列的 CDR3 区。三个轻链 CDR 包括包含与选自 SEQ ID NO:96、101、104、107 和 110 的序列至少 90%、92%、95%、97% 98%、99% 或更多相同的氨基酸序列的 CDR1 区；包含与选自 SEQ ID NO:97、102、105 和 108 的序列至少 90%、92%、95%、97% 98%、99% 或更多相同的氨基酸序列的 CDR2 区；和包含与选自 SEQ ID NO:98、99、100、103、106、109、111、112 和 113 的序列至少 90%、92%、95%、97% 98%、99% 或更多相同的氨基酸序列的 CDR3 区。

[0015] 本发明特异性结合 IL-17F、IL-17A 和 IL-17A/IL-17F 异二聚体复合物的抗体识别并结合 IL-17F 和 IL-17A 共享的表位。本发明的抗体特异性结合异二聚体 IL-17A/IL-17F 复合物，其中该抗体结合包括人 IL-17F、IL-17A 或二者上一个或多个氨基酸残基的表位。本发明的抗体免疫特异性结合 IL-17F，其中抗体结合包括人 IL-17F 上一个或多个氨基酸残基的表位。本发明的抗体特异性结合 IL-17A，其中抗体结合包括人 IL-17F、IL-17A 或二者上一个或多个氨基酸残基的表位。

[0016] huIL-17A/F 抗体结合在 IL-17F 同二聚体、IL-17A 同二聚体和 IL-17A/IL-17F 异二聚体复合物二者上找到的共同表位。与结合界面处的或以其它方式横跨 IL-17A/IL-17F 异二聚体复合物的表位的抗体不同,huIL-17A/F 抗体特异性结合 IL-17A/IL-17F 异二聚体复合物,而且还识别并结合未复合在一起的 IL-17F 和 IL-17A。如此,huIL-17A/F 抗体不需要 IL-17A/IL-17F 复合物形成来识别 IL-17F 和 / 或 IL-17A。

[0017] huIL-17A/F 抗体展现中和能力并抑制 IL-17F、IL-17A 和 / 或 IL-17A/IL-17F 异二聚体复合物的一种或多种生物学功能。huIL-17A/F 抗体能够结合 IL-17F (包括 IL-17F 同二聚体)、IL-17A (包括 IL-17A 同二聚体)、和 IL-17A/IL-17F 异二聚体复合物中每一项。

[0018] huIL-17A/IL-17F 抗体结合 IL-17A 同二聚体、IL-17F 同二聚体和 IL-17A/IL-17F 异二聚体复合物,而且这些抗体展现 (i) 至少 100pM 或更少的针对 IL-17A 同二聚体的结合亲和力, (ii) 至少 300pM 或更少的针对 IL-17F 同二聚体的结合亲和力, (iii) 至少 400pM 或更少的针对 IL-17A/IL-17F 异二聚体复合物的结合亲和力, (iv) 至少 13nM 或更少的针对 IL-17A 同二聚体的中和能力, (v) 至少 120nM 或更少的针对 IL-17F 同二聚体的中和能力,和 (vi) 至少 31nM 或更少的针对 IL-17A/IL-17F 异二聚体复合物的中和能力。

[0019] 在一些实施方案中, huIL-17A/IL-17F 抗体结合 IL-17A 同二聚体、IL-17F 同二聚体和 IL-17A/IL-17F 异二聚体复合物,而且这些抗体展现 (i) 至少 40pM 或更少的针对 IL-17A 同二聚体的结合亲和力, (ii) 至少 10pM 或更少的针对 IL-17F 同二聚体的结合亲和力,和 (iii) 至少 50pM 或更少的针对 IL-17A/IL-17F 异二聚体的结合亲和力。

[0020] 在一些实施方案中, huIL-17A/IL-17F 抗体结合 IL-17A 同二聚体、IL-17F 同二聚体和 IL-17A/IL-17F 异二聚体复合物,而且这些抗体展现 (i) 至少 15pM 或更少的针对 IL-17A 同二聚体的结合亲和力, (ii) 至少 10pM 或更少的针对 IL-17F 同二聚体的结合亲和力,和 (iii) 至少 30pM 或更少的针对 IL-17A/IL-17F 异二聚体的结合亲和力。

[0021] 在一些实施方案中, huIL-17A/IL-17F 抗体结合 IL-17A 同二聚体、IL-17F 同二聚体和 IL-17A/IL-17F 异二聚体复合物,而且这些抗体展现 (iv) 至少 13nM 或更少的针对 IL-17A 同二聚体的中和能力, (v) 至少 1.9nM 或更少的针对 IL-17F 同二聚体的中和能力,和 (vi) 至少 11nM 或更少的针对 IL-17A/IL-17F 异二聚体复合物的中和能力。

[0022] 在一些实施方案中, huIL-17A/IL-17F 抗体结合 IL-17A 同二聚体、IL-17F 同二聚体和 IL-17A/IL-17F 异二聚体复合物,而且这些抗体展现 (iv) 至少 1.6nM 或更少的针对 IL-17A 同二聚体的中和能力, (v) 至少 1.7nM 或更少的针对 IL-17F 同二聚体的中和能力,和 (vi) 至少 1.1nM 或更少的针对 IL-17A/IL-17F 异二聚体复合物的中和能力。

[0023] 在一些实施方案中, huIL-17A/IL-17F 抗体结合 IL-17A 同二聚体、IL-17F 同二聚体和 IL-17A/IL-17F 异二聚体复合物,而且这些抗体展现 (iv) 至少 0.2nM 或更少的针对 IL-17A 同二聚体的中和能力, (v) 至少 1.2nM 或更少的针对 IL-17F 同二聚体的中和能力,和 (vi) 至少 0.2nM 或更少的针对 IL-17A/IL-17F 异二聚体复合物的中和能力。

[0024] huIL-17A/F 抗体具有下述特征：

[0025] 结合亲和力 (pM)：

[0026]

	所有 *huIL-17A/F 抗体	15E6	15E6FK
--	-------------------	------	--------

IL-17A 同二聚体	100	40	15
IL-17F 同二聚体	300	10	10
IL-17A/IL-17F 异二聚体	400	50	30

[0027] * 所有抗体指下述 huIL-17A/F 抗体:15E6、15E6FK、30D12、30D12BF、39F12、39F12A、和 29E8

[0028] 中和能力 (nM), 如使用 MEF 细胞测定法来测量的:

[0029]

	所有* huIL-17A/F 抗体	除30D12外的 所有* huIL-17A/F 抗体	15E6	15E6FK
IL-17A 同二聚体	13	13	1.6	0.2
IL-17F 同二聚体	120	1.9	1.7	1.2
IL-17A/IL-17F 异二聚体	31	11	1.1	0.2

[0030] * 所有抗体指下述 huIL-17A/F 抗体:15E6、15E6FK、30D12、30D12BF、39F12、39F12A、和 29E8

[0031] 如本文中提到的, 结合亲和力是使用本文中, 例如实施例 5 中所描述的测定法来测定的。如本文中提到的, 中和能力是使用本文中, 例如实施例 7 中所描述的小鼠胚胎成纤维细胞测定法来测定的。

[0032] 在一个优选的实施方案中, huIL-17A/IL-17F 抗体结合 IL-17A 同二聚体、IL-17F 同二聚体和 IL-17A/IL-17F 异二聚体复合物, 而且这些抗体展现 (i) 至少 40pM 或更少的针对 IL-17A 同二聚体的结合亲和力, (ii) 至少 10pM 或更少的针对 IL-17F 同二聚体的结合亲和力, (iii) 至少 50pM 或更少的针对 IL-17A/IL-17F 异二聚体复合物的结合亲和力, (iv) 至少 1.6nM 或更少的针对 IL-17A 同二聚体的中和能力, (v) 至少 1.7nM 或更少的针对 IL-17F 同二聚体的中和能力, 和 (vi) 至少 1.1nM 或更少的针对 IL-17A/IL-17F 异二聚体复合物的中和能力。

[0033] 在一个更优选的实施方案中, huIL-17A/IL-17F 抗体结合 IL-17A 同二聚体、IL-17F 同二聚体和 IL-17A/IL-17F 异二聚体复合物, 而且这些抗体展现 (i) 至少 15pM 或更少的针对 IL-17A 同二聚体的结合亲和力, (ii) 至少 10pM 或更少的针对 IL-17F 同二聚体的结合亲和力, (iii) 至少 30pM 或更少的针对 IL-17A/IL-17F 异二聚体复合物的结合亲和力, (iv) 至少 0.2nM 或更少的针对 IL-17A 同二聚体的中和能力, (v) 至少 1.2nM 或更少的针对 IL-17F 同二聚体的中和能力, 和 (vi) 至少 0.2nM 或更少的针对 IL-17A/IL-17F 异二聚体复合物的中和能力。

[0034] 在一个优选的实施方案中, huIL-17A/IL-17F 抗体是 15E6 抗体或与 15E6 抗体结合相同表位或以其它方式与 15E6 抗体的结合位点交叉竞争的抗体。在一个更优选的实施方案中, huIL-17A/IL-17F 抗体是 15E6FK 抗体或与 15E6 抗体结合相同表位或以其它方式与 15E6FK 抗体的结合位点交叉竞争的抗体。在一个最优选的实施方案中, huIL-17A/IL-17F

抗体具有结合上文所述亲和力和中和条件,而且与 15E6 抗体结合相同表位或以其它方式与 15E6 抗体的结合位点竞争。

[0035] 优选的是, huIL-17A/IL-17F 抗体与 15E6 抗体结合相同表位或以其它方式与 15E6 抗体的结合位点竞争,而且 huIL-17A/IL-17F 抗体还结合 IL-17A 同二聚体、IL-17F 同二聚体和 IL-17A/IL-17F 异二聚体复合物二者,而且这些抗体展现 (i) 至少 40pM 或更少的针对 IL-17A 同二聚体的结合亲和力, (ii) 至少 10pM 或更少的针对 IL-17F 同二聚体的结合亲和力, (iii) 至少 50pM 或更少的针对 IL-17A/IL-17F 异二聚体复合物的结合亲和力, (iv) 至少 1.6nM 或更少的针对 IL-17A 同二聚体的中和能力, (v) 至少 1.7nM 或更少的针对 IL-17F 同二聚体的中和能力,和 (vi) 至少 1.1nM 或更少的针对 IL-17A/IL-17F 异二聚体复合物的中和能力。

[0036] 优选的是, huIL-17A/IL-17F 抗体与 15E6FK 抗体结合相同表位或以其它方式与 15E6FK 抗体的结合位点竞争,而且 huIL-17A/IL-17F 抗体还结合 IL-17A 同二聚体、IL-17F 同二聚体和 IL-17A/IL-17F 异二聚体复合物,而且这些抗体展现 (i) 至少 15pM 或更少的针对 IL-17A 同二聚体的结合亲和力, (ii) 至少 10pM 或更少的针对 IL-17F 同二聚体的结合亲和力, (iii) 至少 30pM 或更少的针对 IL-17A/IL-17F 异二聚体复合物的结合亲和力, (iv) 至少 0.2nM 或更少的针对 IL-17A 同二聚体的中和能力, (v) 至少 1.2nM 或更少的针对 IL-17F 同二聚体的中和能力,和 (vi) 至少 0.2nM 或更少的针对 IL-17A/IL-17F 异二聚体复合物的中和能力。

[0037] 本发明的抗体还包括特异性结合 IL-17F、IL-17A 和 / 或 IL-17A/IL-17F 的完全人的抗体,其中,该抗体在体外展现大于 50% 的对 IL-17F、IL-17A 和 / 或 IL-17A/IL-17F 介导的促炎性细胞因子生成的抑制。例如,本发明的抗体展现大于 55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、或 99% 的对 IL-17 刺激细胞的 IL-6 分泌的抑制。如本文中使用的,术语“促炎性细胞因子”指那些促进炎症和 / 或与炎症有关的免疫调节性细胞因子。促炎性细胞因子和趋化因子包括例如 IL-6、IL-8、G-CSF、和 GM-CSF。促炎性趋化因子包括例如 GRO- α 、GRO-b、LIX、GCP-2、MIG、IP10、I-TAC、和 MCP-1、RANTES、Eotaxin、SDF-1、和 MIP3a。

[0038] 本发明还提供治疗或预防与异常 IL-17、IL-17A 和 / 或 IL-17A/IL-17F 活性 (例如异常促炎性细胞因子生成诸如异常 IL-6 生成) 有关的病理,或减轻与此类病理有关的症状的方法,这通过对想要此类治疗或预防的受试者施用本发明的单克隆抗体 (例如完全人的单克隆抗体) 来进行。要治疗的受试者是例如人。以足以治疗、预防或减轻与病理有关的症状的量施用单克隆抗体。足以在受试者中治疗或预防病理的单克隆抗体量是例如足以降低 IL-17F、IL-17A 和 / 或 IL-17A/IL-17F 信号传导 (例如 IL-17F 诱导的一种或多种促炎性细胞因子 (例如 IL-6) 生成) 的量。如本文中使用的,术语“降低”指本发明的单克隆抗体存在下促炎性细胞因子的生成降低,其中生成是例如局部促炎性细胞因子生成 (例如炎症组织的部位) 或全身促炎性细胞因子生成。当在本发明单克隆抗体的存在下促炎性细胞因子 (例如 IL-6) 生成水平比对照促炎性细胞因子生成水平 (即单克隆抗体缺失下促炎性细胞因子的生成水平) 低大于或等于 5%、10%、20%、25%、30%、40%、50%、60%、70%、75%、80%、90%、95%、99%、或 100% 时, IL-17F、IL-17A 和 / 或 IL-17A/IL-17F 信号传导 (例如 IL-17F 诱导的促炎性细胞因子诸如 IL-6) 降低。使用例如本文中描述的 IL-17 刺激

的小鼠胚胎成纤维细胞 (MEF) 细胞测定法来测量促炎性细胞因子 (例如 IL-6) 生成水平。本领域技术人员会领会, 促炎性细胞因子生成水平可使用多种测定法来测量, 包括例如商品化的 ELISA 试剂盒。

[0039] 使用本发明的单克隆抗体 (例如完全人的单克隆抗体) 治疗和 / 或预防的病理包括例如急性炎症、慢性炎症 (例如与变应性状况和哮喘有关的慢性炎症)、自身免疫性疾病 (例如克罗恩氏病、多发性硬化)、炎性肠病、和移植排斥。

[0040] 依照本发明的药物组合物可包括本发明的抗体和载体。这些药物组合物可包括在试剂盒, 诸如例如诊断试剂盒中。

[0041] 本发明还提供可溶性 IL-17F 蛋白质、用于表达 IL-17F 蛋白质的方法、和用于纯化处于可溶性形式的此类蛋白质的方法。

[0042] 在一些实施方案中, 要治疗的病理是一种或多种自身免疫性疾病、炎性病征和癌症。例如但不限于, 病理是类风湿性关节炎、克罗恩氏病、银屑病、多发性硬化、慢性阻塞性肺病、哮喘、血管发生和癌症。

[0043] 依照本发明的药物组合物可包括本发明的抗体和载体。这些药物组合物可包括在试剂盒, 诸如例如诊断试剂盒中。

[0044] 本领域技术人员会领会, 本发明的抗体具有多种用途。例如, 本发明的蛋白质在病症诸如例如类风湿性关节炎、克罗恩氏病、银屑病、多发性硬化、慢性阻塞性肺病、哮喘、血管发生和癌症中用作治疗剂来预防 IL-17 受体和 / 或 IL-17 受体复合物活化。本发明的抗体还用作诊断试剂盒中的试剂或用作诊断工具, 或者这些抗体可用于竞争测定法以生成治疗性试剂。

[0045] 本发明涉及下述各项。

[0046] 1. 一种分离的完全人的单克隆抗体, 其结合 IL-17A 同二聚体、IL-17F 同二聚体和 IL-17A/IL-17F 异二聚体复合物, 其中该抗体展现 (i) 至少 100pM 或更少的针对 IL-17A 同二聚体的结合亲和力, (ii) 至少 300pM 或更少的针对 IL-17F 同二聚体的结合亲和力, (iii) 至少 400pM 或更少的针对 IL-17A/IL-17F 异二聚体复合物的结合亲和力, (iv) 至少 13nM 或更少的针对 IL-17A 同二聚体的中和能力, (v) 至少 120nM 或更少的针对 IL-17F 同二聚体的中和能力, 和 (vi) 至少 31nM 或更少的针对 IL-17A/IL-17F 异二聚体复合物的中和能力。

[0047] 2. 项 1 的抗体, 其中该抗体展现 (i) 至少 40pM 或更少的针对 IL-17A 同二聚体的结合亲和力, (ii) 至少 10pM 或更少的针对 IL-17F 同二聚体的结合亲和力, 和 (iii) 至少 50pM 或更少的针对 IL-17A/IL-17F 异二聚体的结合亲和力。

[0048] 3. 项 1 的抗体, 其中该抗体展现 (i) 至少 15pM 或更少的针对 IL-17A 同二聚体的结合亲和力, (ii) 至少 10pM 或更少的针对 IL-17F 同二聚体的结合亲和力, 和 (iii) 至少 30pM 或更少的针对 IL-17A/IL-17F 异二聚体的结合亲和力。

[0049] 4. 项 1 的抗体, 其中该抗体展现 (iv) 至少 13nM 或更少的针对 IL-17A 同二聚体的中和能力, (v) 至少 1.9nM 或更少的针对 IL-17F 同二聚体的中和能力, 和 (vi) 至少 11nM 或更少的针对 IL-17A/IL-17F 异二聚体复合物的中和能力。

[0050] 5. 项 1 的抗体, 其中该抗体展现 (iv) 至少 1.6nM 或更少的针对 IL-17A 同二聚体的中和能力, (v) 至少 1.7nM 或更少的针对 IL-17F 同二聚体的中和能力, 和 (vi) 至少 1.1nM 或更少的针对 IL-17A/IL-17F 异二聚体复合物的中和能力。

[0051] 6. 项 1 的抗体,其中该抗体展现 (iv) 至少 0.2nM 或更少的针对 IL-17A 同二聚体的中和能力,(v) 至少 1.2nM 或更少的针对 IL-17F 同二聚体的中和能力,和 (vi) 至少 0.2nM 或更少的针对 IL-17A/IL-17F 异二聚体复合物的中和能力。

[0052] 7. 项 1 的抗体,其中该抗体是 15E6 且包含含有氨基酸序列 SEQ ID NO:85 的 V_H CDR1 序列、包含氨基酸序列 SEQ ID NO:86 的 V_H CDR2 序列、包含氨基酸序列 SEQ ID NO:87 的 V_H CDR3 序列、包含氨基酸序列 SEQ ID NO:110 的 V_L CDR1 序列、包含氨基酸序列 SEQ ID NO:97 的 V_L CDR2 序列和包含氨基酸序列 SEQ ID NO:111 的 V_L CDR3 序列。

[0053] 8. 项 1 的抗体,其中该抗体是 15E6FK 且包含含有氨基酸序列 SEQ ID NO:85 的 V_H CDR1 序列、包含氨基酸序列 SEQ ID NO:94 的 V_H CDR2 序列、包含氨基酸序列 SEQ ID NO:95 的 V_H CDR3 序列、包含氨基酸序列 SEQ ID NO:110 的 V_L CDR1 序列、包含氨基酸序列 SEQ ID NO:97 的 V_L CDR2 序列和包含氨基酸序列 SEQ ID NO:111 的 V_L CDR3 序列。

[0054] 9. 项 1 的抗体,其中该抗体与 15E6 抗体结合相同表位。

[0055] 10. 项 1 的抗体,其中该抗体与 15E6FK 抗体结合相同表位。

[0056] 11. 项 1 的抗体,其中该抗体结合 IL-17A、IL-17F 和 IL-17A/IL-17F 异二聚体复合物并阻止 IL-17F、IL-17A 或 IL-17A/IL-17F 异二聚体复合物之一项或多项结合其受体。

[0057] 12. 一种分离的完全人的单克隆抗体或其片段,其中所述抗体包含:

[0058] (a) 包含氨基酸序列 SEQ ID NO:57、60、66、69、76、79、82、或 85 的 V_H CDR1 区;

[0059] (b) 包含氨基酸序列 SEQ ID NO:58、61、63、65、67、70、72、74、77、80、83、86、93 或 94 的 V_H CDR2 区;

[0060] (c) 包含氨基酸序列 SEQ ID NO:59、62、64、68、71、73、75、78、81、84、87、或 95 的 V_H CDR3 区;

[0061] (d) 包含氨基酸序列 SEQ ID NO:96、101、104、107 或 110 的 V_L CDR1 区;

[0062] (e) 包含氨基酸序列 SEQ ID NO:97、102、105 或 108 的 V_L CDR2 区;和

[0063] (f) 包含氨基酸序列 SEQ ID NO:98、99、100、103、106、109、或 111 的 V_L CDR3 区,

[0064] 其中所述抗体结合 IL-17F 和 IL-17A。

[0065] 13. 项 12 的抗体,其中所述抗体还结合 IL-17A/IL-17F 异二聚体复合物。

[0066] 14. 项 12 的抗体,其中所述抗体是 IgG 同种型。

[0067] 15. 项 12 的抗体,其中所述抗体是 IgG1 同种型。

[0068] 16. 项 12 的抗体,其中所述抗体包含重链可变序列,其包含选自 SEQ ID NO:2、6、8、10、14、18、20、24、28、32、34、38、52、和 54 的氨基酸序列。

[0069] 17. 项 12 的抗体,其中所述抗体进一步包含轻链可变序列,其包含选自 SEQ ID NO:4、12、16、22、26、30、36、40 和 56 的氨基酸序列。

[0070] 18. 一种分离的完全人的单克隆抗体,其包含重链可变序列和轻链可变序列,该重链可变序列包含氨基酸序列 SEQ ID NO:2、6、8、10、14、18、20、24、28、32、38、52、或 54,该轻链可变序列包含氨基酸序列 SEQ ID NO:4、12、16、22、26、30、36、40、或 56,其中所述抗体结合 IL-17F 和 IL-17A。

[0071] 19. 项 18 的抗体,其中所述抗体是 IgG 同种型。

[0072] 20. 项 18 的抗体,其中所述抗体是 IgG1 同种型。

[0073] 21. 一种分离的完全人的单克隆抗体或其片段,其中所述抗体包含:

- [0074] (a) 包含氨基酸序列 SEQ ID NO:85 或 90 的 V_H CDR1 区；
- [0075] (b) 包含氨基酸序列 SEQ ID NO:88 或 91 的 V_H CDR2 区；
- [0076] (c) 包含氨基酸序列 SEQ ID NO:89 或 92 的 V_H CDR3 区；
- [0077] (d) 包含氨基酸序列 SEQ ID NO:101 或 107 的 V_L CDR1 区；
- [0078] (e) 包含氨基酸序列 SEQ ID NO:102 或 108 的 V_L CDR2 区；和
- [0079] (f) 包含氨基酸序列 SEQ ID NO:112 或 113 的 V_L CDR3 区，
- [0080] 其中所述抗体结合 IL-17F。
- [0081] 22. 项 21 的抗体，其中所述抗体不结合 IL-17A 或 IL-17A 同二聚体。
- [0082] 23. 项 21 的抗体，其中所述抗体是 IgG 同种型。
- [0083] 24. 项 21 的抗体，其中所述抗体包含重链可变序列，其包含选自 SEQ ID NO:44 和 48 的氨基酸序列。
- [0084] 25. 项 21 的抗体，其中所述抗体进一步包含轻链可变序列，其包含氨基酸序列 SEQ ID NO:46 和 50。
- [0085] 26. 一种药物组合物，其包含前述项任一项的抗体和载体。
- [0086] 27. 一种减轻受试者中与类风湿性关节炎、克罗恩氏病、银屑病、多发性硬化、慢性阻塞性肺病、或哮喘有关的临床适应证的症状的方法，该方法包括以足以减轻与类风湿性关节炎、克罗恩氏病、银屑病、多发性硬化、慢性阻塞性肺病、或哮喘有关的临床适应证的症状的量对有所需要的受试者施用 IL-17A/IL-17F 异二聚体复合物的拮抗剂。
- [0087] 28. 项 27 的方法，其中所述受试者是人。
- [0088] 29. 项 27 的方法，其中所述拮抗剂是单克隆抗体或其片段。
- [0089] 30. 项 29 的方法，其中所述单克隆抗体是依照项 1-20 任一项的抗体或其片段。
- [0090] 31. 一种减轻受试者中自身免疫性疾病、炎性病症或细胞增殖病症的症状的方法，其中该方法包括以足以减轻自身免疫性疾病、炎性病症或细胞增殖病症的症状的量对有所需要的受试者施用依照项 1-25 任一项的抗体。
- [0091] 32. 项 31 的方法，其中所述受试者是人。
- [0092] 发明详述
- [0093] 本发明提供特异性结合 IL-17F 的单克隆抗体。本发明进一步提供特异性结合未复合在一起的 IL-17F 和 IL-17A 的单克隆抗体（即交叉反应性单克隆抗体）。本发明进一步提供特异性结合 IL-17F 和异二聚体 IL-17A/IL-17F 复合物（在本文中也称作 IL-17A/IL-17F 异二聚体）的单克隆抗体。本发明甚至进一步提供结合 IL-17F、IL-17A 和异二聚体 IL-17A/IL-17F 复合物的交叉反应性单克隆抗体。这些抗体在本文中统称为“huIL-17A/F”抗体。所述抗体是例如完全人的抗体。
- [0094] 本发明的抗体特异性结合 IL-17F，其中该抗体结合包括人 IL-17F 的一个或多个氨基酸残基的表位。本发明的抗体特异性结合 IL-17F 和 IL-17A 二者，其中该抗体结合包括人 IL-17F、人 IL-17A、或二者的一个或多个氨基酸残基的表位。本发明的抗体特异性结合 IL-17F 和异二聚体 IL-17A/IL-17F 复合物二者，其中该抗体结合包括人 IL-17F、IL-17A、或二者的一个或多个氨基酸残基的表位。
- [0095] 本发明的抗体以 $\leq 1 \mu\text{M}$ ，例如 $\leq 100\text{nM}$ ，优选 $\leq 10\text{nM}$ ，和更优选 $\leq 1\text{nM}$ 的平衡结合常数 (K_d) 结合 IL-17F 表位和 / 或 IL-17A 表位。例如，本文中提供的 huIL-17A/F 抗体展

现大致介于 $\leq 1\text{nM}$ 至约 1pM 之间的范围中的 K_d 。

[0096] IL-17F 的晶体结构揭示该蛋白质采取半胱氨酸结折叠,提示与半胱氨酸结蛋白质超家族的关系。然而,IL-17F 的半胱氨酸结基序只利用四个半胱氨酸而非经典的六个半胱氨酸来形成结。与半胱氨酸结家族的其他成员一样,IL-17F 也作为与 IL-17A 的异二聚体存在。认为 IL-17A/IL-17F 异二聚体经由 IL-17R 和 / 或多聚体 IL-17R/IL-17RC 复合物来发信号。最新的证据显示了形成 IL-17A/IL-17F 异二聚体中利用的半胱氨酸残基与 IL-17F 同二聚体形成中利用的半胱氨酸相同。此数据提示 IL-17F 同二聚体或 IL-17A/IL-17F 异二聚体的受体可结合二聚体界面处的保守半胱氨酸残基,与半胱氨酸结家族中的其它蛋白质一样。

[0097] 已经报告了 IL-17 细胞因子家族的众多免疫调节功能,大概是由于它们对许多免疫信号传导分子的诱导。IL-17A 和 IL-17F 共享非常相似的生物学功能。二者促进极其多种细胞(包括成纤维细胞、角质形成细胞、巨噬细胞、上皮细胞和内皮细胞)分泌促炎性细胞因子(例如 IL-6、IL-8、G-CSF、和 GM-CSF)、趋化因子(例如 GRO- α 、GRO-b、LIX、GCP-2、MIG、IP10、I-TAC、和 MCP-1、RANTES、Eotaxin、SDF-1、和 MIP3a)和前列腺素类(例如 PGE2)。二者还显示出调节软骨基质周转。IL-17F 还具有与 IL-17A 截然不同的生物学功能,诸如刺激 T 细胞和外周血单个核细胞(PBMC)增殖和活化,及抑制血管发生的能力。

[0098] 本发明的 huIL-17A/F 抗体用来调控、阻断、抑制、降低、拮抗、中和或以其它方式干扰 IL-17F、IL-17A 和 / 或 IL-17A/IL-17F 异二聚体复合物的生物学活性。IL-17F、IL-17A 和 / 或 IL-17A/IL-17F 的生物学活性包括例如结合 IL-17R、IL-17RC 和 / 或多聚体 IL-17R/IL-17RC 受体复合物,及诱导靶细胞中的细胞因子和 / 或趋化因子表达(例如 IL-6、IL-8、G-CSF、GM-CSF、GRO- α 、GRO-b、LIX、GCP-2、MIG、IP10、I-TAC、和 MCP-1、RANTES、Eotaxin、SDF-1、和 MIP3a)。例如,通过部分或完全调控、阻断、抑制、降低、拮抗、中和、或以其它方式干扰 IL-17F、IL-17A 和 / 或 IL-17A/IL-17F 结合其受体,或者以其它方式部分或完全调控、阻断、抑制、降低、拮抗、中和 IL-17F、IL-17A 和 / 或 IL-17A/IL-17F 复合物信号传导活性,huIL-17A/F 抗体完全或部分抑制 IL-17F、IL-17A 和 / 或 IL-17A/IL-17F 生物学活性。

[0099] 当 IL-17F 抗体存在下的 IL-17F、IL-17A 和 / 或 IL-17A/IL-17F 活性水平同与本文所述 IL-17F 抗体的结合缺失下的 IL-17F、IL-17A 和 / 或 IL-17A/IL-17F 活性水平相比降低至少 95%,例如 96%、97%、98%、99%或 100%时,认为 huIL-17A/F 完全调控、阻断、抑制、降低、拮抗、中和或以其它方式干扰 IL-17F、IL-17A 和 / 或 IL-17A/IL-17F 生物学活性。当 IL-17F 抗体存在下的 IL-17F、IL-17A 和 / 或 IL-17A/IL-17F 活性水平同与本文所述 IL-17F 抗体的结合缺失下的 IL-17F、IL-17A 和 / 或 IL-17A/IL-17F 活性水平相比降低小于 95%,例如 10%、20%、25%、30%、40%、50%、60%、75%、80%、85%或 90%时,认为 huIL-17A/F 抗体部分调控、阻断、抑制、降低、拮抗、中和或以其它方式干扰 IL-17F、IL-17A 和 / 或 IL-17A/IL-17F 活性。

[0100] 当 IL-17F 抗体存在下的 IL-17F、IL-17A 和 / 或 IL-17A/IL-17F 活性水平同与本文所述 IL-17F 抗体的结合缺失下的 IL-17F、IL-17A 和 / 或 IL-17A/IL-17F 活性水平相比降低至少 95%,例如 96%、97%、98%、99%或 100%时,认为 huIL-17A/F 交叉反应性抗体完全调控、阻断、抑制、降低、拮抗、中和或以其它方式干扰 IL-17F、IL-17A 和 / 或 IL-17A/IL-17F 活性。当 IL-17F 抗体存在下的 IL-17F、IL-17A 和 / 或 IL-17A/IL-17F 活性水平同

与本文所述 IL-17F 抗体的结合缺失下的 IL-17F、IL-17A 和 / 或 IL-17A/IL-17F 活性水平相比降低小于 95%，例如 10%、20%、25%、30%、40%、50%、60%、75%、80%、85% 或 90% 时，认为 IL-17F 交叉反应性抗体部分调控、阻断、抑制、降低、拮抗、中和或以其它方式干扰 IL-17F、IL-17A 和 / 或 IL-17A/IL-17F 活性。

[0101] 定义

[0102] 除非另有定义，连同本发明使用的科学和技术术语应具有本领域普通技术人员普遍理解的含义。另外，除非上下文另有要求，单数术语应包括复数，而且复数术语应包括单数。通常，连同本文中描述的细胞和组织培养、分子生物学、及蛋白质和寡或多核苷酸化学和杂交使用的命名及它们的技术就是本领域中众所周知的且普遍使用的那些。使用标准技术来进行重组 DNA、寡核苷酸合成、及组织培养和转化（例如电穿孔、脂转染）。酶促反应和纯化技术是依照制造商的说明书或者如本领域普遍实现或本文所述实施的。在先技术和规程通常是依照本领域公知的常规方法及如本说明书中引用和讨论的各种一般的和更具体的参考文献所述实施的。参见例如 Sambrook 等 Molecular Cloning: A Laboratory Manual (第 2 版, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N. Y. (1989))。连同本文中描述的分析化学、合成有机化学、及医学和药理学化学使用的命名及它们的实验室规程和技术就是本领域中众所周知的且普遍使用的那些。使用标准技术来进行化学合成、化学分析、药物制备、配制、和投递、及患者治疗。

[0103] 如依照本公开内容使用的，除非另外指明，下述术语应理解为具有下述含义：

[0104] 如本文中使用的，术语白介素 -17A、IL-17A、IL17A、IL-17、IL17、CTLA8、CTLA-8、细胞毒性 T 淋巴细胞相关抗原 8 和白介素 -17A 前体同义且可互换使用。每一种这些术语指同二聚体蛋白质，除非另外指明。

[0105] 如本文中使用的，术语白介素 -17F、IL-17F、IL17F、ML-1、ML1、白介素 -24、IL-24、IL24 和白介素 -17F 前体同义且可互换使用。每一种这些术语指同二聚体蛋白质，除非另外指明。

[0106] 如本文中使用的，术语“抗体”指免疫球蛋白分子和免疫球蛋白 (Ig) 分子的免疫学活性部分，即含有特异性结合（与...免疫反应）抗原的抗原结合位点的分子。“特异性结合”或“与...免疫反应”或“针对”意味着抗体与期望抗原的一个或多个抗原决定簇反应且不与其它多肽反应或以低得多的亲和力 ($K_d > 10^{-6}$) 结合。抗体包括但不限于多克隆、单克隆、嵌合、dAb (结构域抗体)、单链、Fab、Fab' 和 F(ab')₂ 片段、scFv、和 Fab 表达文库。

[0107] 已知基本的抗体结构单元包含四聚体。每个四聚体由相同的两对多肽链构成，每对有一条“轻链”（约 25kDa）和一条“重链”（约 50-70kDa）。每条链的氨基端部分包括主要负责抗原识别，约 100 至 110 或更多个氨基酸的可变区。每条链的羧基端部分限定主要负责效应器功能的恒定区。一般而言，自人类获得的抗体分子涉及 IgG、IgM、IgA、IgE 和 IgD 任一类，它们彼此因分子中存在的重链的性质而不同。某些类还有亚类，诸如 IgG₁、IgG₂、和其它。另外，在人类中，轻链可以是 κ 链或 λ 链。

[0108] 如本文中使用的，术语“单克隆抗体” (MAb) 或“单克隆抗体组合物”指一群抗体分子只含有一种分子种类的抗体分子，其由唯一的轻链基因产物和唯一的重链基因产物组成的。具体而言，单克隆抗体的互补决定区 (CDR) 在该群的所有分子中是相同的。MAb 含有能够与抗原的特定表位免疫反应的抗原结合位点，其特征在于独特的对它的结合亲和力。

[0109] 一般而言,自人类获得的抗体分子涉及 IgG、IgM、IgA、IgE 和 IgD 任一类,它们彼此因分子中存在的重链的性质而不同。某些类还有亚类,诸如 IgG₁、IgG₂、和其它。另外,在人类中,轻链可以是 κ 链或 λ 链。

[0110] 术语“抗原结合位点”或“结合部分”指免疫球蛋白分子中参与抗原结合的部分。抗原结合位点是由重链(“H”)和轻链(“L”)N端可变(“V”)区氨基酸残基形成的。重链和轻链V区内称作“高变区”的三个高度多样的区段插在称作“框架区”或“FR”的更保守的侧翼区段之间。如此,术语“FR”指免疫球蛋白中在高变区之间及附近天然找到的氨基酸序列。在抗体分子中,轻链的三个高变区和重链的三个高变区在三维空间中相对于彼此部署以形成抗原结合表面。抗原结合表面与所结合抗原的三维表面互补,而且每一条重链和轻链的三个高变区称作“互补决定区”或“CDR”。将氨基酸指派至每个域依照 Kabat Sequences of Proteins of Immunological Interest(National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1987 和 1991))、或 Chothia & Lesk J. Mol. Biol. 196:901-917(1987)、Chothia 等 Nature 342:878-883(1989) 的定义。

[0111] 如本文中使用的,术语“表位”包括任何能够特异性结合免疫球蛋白或其片段或者 T 细胞受体的蛋白质决定簇。术语“表位”包括任何能够特异性结合免疫球蛋白或 T 细胞受体的蛋白质决定簇。表位决定簇通常由分子诸如氨基酸或糖侧链的化学活性表面成组组成,而且通常具有特定的三维结构特征,以及特定的电荷特征。当解离常数 $\leq 1 \mu\text{M}$, 例如 $\leq 100\text{nM}$, 优选 $\leq 10\text{nM}$ 和更优选 $\leq 1\text{nM}$ 时,就说抗体特异性结合抗原。

[0112] 如本文中使用的,术语“免疫学结合”和“免疫学结合特性”指免疫球蛋白分子和该免疫球蛋白对之特异性的抗原之间发生的非共价相互作用类型。免疫学结合相互作用的强度或亲和力可以在相互作用的解离常数(K_d)方面表述,其中较小的 K_d 代表较大的亲和力。选定多肽的免疫学结合特性可以使用本领域公知的方法来量化。一种此类方法需要测量抗原结合位点/抗原复合物形成和解离的速率,其中那些速率取决于复合配偶的浓度、相互作用的亲和力、和几何参数,它们以两个方向同等地影响速率。如此,“结合速率常数”(K_{on})和“解离速率常数”(K_{off})可通过计算浓度及实际结合和解离速率来确定(参见 Nature 361:186-87(1993))。比 K_{off}/K_{on} 能够消除所有不涉及亲和力的参数,而且等于解离常数 K_d (一般参见 Davies 等 (1990) Annual Rev Biochem 59:439-473)。当平衡结合常数(K_d) $\leq 1 \mu\text{M}$, 优选 $\leq 100\text{nM}$, 更优选 $\leq 10\text{nM}$, 和最优选 $\leq 100\text{pM}$ 至约 1pM 时,如通过测定法诸如放射性配体结合测定法或本领域技术人员知道的类似测定法测量的,就说本发明的抗体特异性结合 IL-17F 同二聚体、IL-A 同二聚体和 / 或 IL-17A/IL-17F 异二聚体。

[0113] 如本文中使用的,术语“分离的多核苷酸”应意味着基因组、cDNA、或合成起源或者其一些组合的多核苷酸,由于其起源,该“分离的多核苷酸”(1) 与在自然界中找到该“分离的多核苷酸”时的多核苷酸的整个或部分不结合,(2) 可操作连接在自然界中不与其连接的多核苷酸,或 (3) 在自然界中不作为更大序列的一部分存在。依照本发明的多核苷酸包括编码 SEQ ID NO:2、6、8、10、14、18、20、24、28、32、34、38、44、48 或 54 中呈现的重链免疫球蛋白分子的核酸分子和编码 SEQ ID NO:SEQ ID NO:4、12、16、22、26、30、36、40、46 或 56 中呈现的轻链免疫球蛋白分子的核酸分子。

[0114] 本文中提到的术语“分离的蛋白质”意味着 cDNA、重组 RNA、或合成起源或者其一些组合的蛋白质,由于其起源或衍生来源,该“分离的蛋白质”(1) 与在自然界中找到的蛋白

质不结合, (2) 不含来自相同来源的其它蛋白质, 例如不含海洋蛋白质, (3) 由来自不同物种的细胞表达, 或 (4) 在自然界中不存在。

[0115] 术语“多肽”在本文中作为上位术语用于指天然蛋白质、多肽序列的片段、或类似物。因此, 天然蛋白质片段、和类似物是上位多肽的下位。依照本发明的多肽包含 SEQ ID NO:2、6、8、10、14、18、20、24、28、32、34、38、44、48、或 54 中呈现的重链免疫球蛋白分子和 SEQ ID NO:SEQ ID NO:4、12、16、22、26、30、36、40、46、50 或 56 中呈现的轻链免疫球蛋白分子, 以及由包含重链免疫球蛋白分子和轻链免疫球蛋白分子 (诸如 κ 轻链免疫球蛋白分子) 的组合形成的抗体分子, 反之亦然, 以及它们的片段和类似物。

[0116] 如本文中使用的, 术语“天然存在的”在应用于对象时指能在自然界中找到对象的事实。例如, 在生物体 (包括病毒) 中存在的, 能自自然界中的来源分离及尚未在实验室中人为地或以其它方式有意修饰的多肽或多核苷酸序列就是天然存在的。

[0117] 如本文中使用的, 术语“可操作连接”指所描述的各成分的位置处于容许它们以它们的预定方式发挥功能的关系。与编码序列“可操作连接”的控制序列是以这样一种方式连接的, 编码序列的表达在与控制序列相容的条件下实现。

[0118] 如本文中使用的, 术语“控制序列”指实现与它们连接的编码序列表达和加工所必需的多核苷酸序列。此类控制序列的性质随宿主生物体而不同, 在原核生物中, 此类控制序列通常包括启动子、核糖体结合位点、和转录终止序列, 在真核生物中, 此类控制序列通常包括启动子和转录终止序列。术语“控制序列”意图最少包括其存在对于表达和加工是至关重要的所有成分, 而且还可包括其存在是有利的别的成分, 例如前导序列和融合配偶序列。如本文中提到的, 术语“多核苷酸”意味着长度至少 10 个碱基的核苷酸 (或是核糖核苷酸或脱氧核苷酸或任一核苷酸类型的修饰形式) 的聚合物。该术语包括单链和双链形式的 DNA。

[0119] 本文中提到的术语“寡核苷酸”包括通过天然存在的和非天然存在的寡核苷酸连接而连接在一起的天然存在的和经过修饰的核苷酸。寡核苷酸是通常包含 200 个碱基或更少长度的多核苷酸子集。优选的是, 寡核苷酸长度为 10 至 60 个碱基, 而且长度最优选 12、13、14、15、16、17、18、19、或 20 至 40 个碱基。寡核苷酸通常是单链的, 例如用作探针, 尽管寡核苷酸可以是双链的, 例如用于构建基因突变体。本发明的寡核苷酸是有义或反义寡核苷酸。

[0120] 本文中提到的术语“天然存在的核苷酸”包括脱氧核糖核苷酸和核糖核苷酸。本文中提到的术语“经过修饰的核苷酸”包括具有经过修饰的或取代的糖基团等等的核苷酸。本文中提到的术语“寡核苷酸连接”包括寡核苷酸连接, 诸如硫代磷酸酯、二硫代磷酸酯、phosphoroselenate、phosphorodiselenate、phosphorothioate、phosphorothioate、phosphorothioate、等等。参见例如 LaPlanche 等, Nucl. Acids Res. 14:9081(1986); Stec 等, J. Am. Chem. Soc. 106:6077(1984); Stein 等, Nucl. Acids Res. 16:3209(1988); Zon 等, Anti Cancer Drug Design 6:539(1991); Zon 等, Oligonucleotides and Analogues: A Practical Approach, pp. 87-108 (F. Eckstein 编, Oxford University Press, Oxford England(1991)); Stec 等, 美国专利 No. 5, 151, 510; Uhlmann 和 Peyman, Chemical Reviews 90:543(1990)。如果需要, 寡核苷酸可包括用于检测的标记物。

[0121] 本文中提到的术语“选择性杂交”意味着可检测和特异性结合。依照本发明的多

核苷酸、寡核苷酸及其片段与核酸链在使对非特定核酸的可检测结合的可评估量最小化的杂交和清洗条件下选择性杂交。高严格性条件可用于实现本领域已知的和本文中讨论的选择性杂交条件。通常,本发明的多核苷酸、寡核苷酸、和片段与感兴趣合适序列之间的核酸序列同源性会是至少 80%,而且更通常优选越来越高的同源性,至少 85%、90%、95%、99%、和 100%。如果两种氨基酸序列的序列之间有部分或完全同一性,那么它们是同源的。例如,当两种序列为最大匹配而比对时,85%同源性意味着 85%的氨基酸是相同的。在使匹配最大化时容许缺口(所匹配的两序列任一中),缺口长度优选 5 或更少,更优选 2 或更少。或者/优选,如果使用程序 ALIGN 及突变数据矩阵和缺口罚分 6 或更大,两种蛋白质序列(或自它们衍生的、长度为至少 30 个氨基酸的多肽序列)具有大于 5(以标准偏差单位计)的比对得分,那么它们是同源的,如此术语中本文中所使用的。参见 Dayhoff, M. O., in *Atlas of Protein Sequence and Structure*, pp. 101-110 (Volume 5, National Biomedical Research Foundation (1972)) 及该卷的增刊 2 第 1-10 页。如果两种序列或其部分的序列在使用 ALIGN 程序最佳比对时大于或等于 50%相同,那么它们是更优选同源的。术语“对应”在本文中用于表示多核苷酸序列与整个或部分参照多核苷酸序列同源(即相同,不是严格进化相关的),或者多肽序列与参照多肽序列相同。与之形成对照,术语“互补”在本文中用于表示互补序列与整个或部分参照多核苷酸序列同源。举例而言,核苷酸序列“TATAC”与参照序列“TATAC”对应,而与参照序列“GTATA”互补。

[0122] 下述术语用于描述两种或更多种多核苷酸或氨基酸序列之间的序列关系:“参照序列”、“比较窗口”、“序列同一性”、“序列同一性百分比”、和“实质性同一性”。“参照序列”指用作序列比较之基础的限定序列,参照序列可以是更大序列的子集,例如,序列表中给出的全长 cDNA 或基因序列的区段,或者可以包含完整 cDNA 或基因序列。通常,参照序列长度为至少 18 个核苷酸或至少 6 个氨基酸,常常长度为至少 24 个核苷酸或 8 个氨基酸,而且常常长度为至少 48 个核苷酸或至少 16 个氨基酸。由于两种多核苷酸或氨基酸序列可各自 (1) 包含在两种分子之间相似的序列(即完整多核苷酸或氨基酸序列的一部分),而且 (2) 可进一步包含在两种多核苷酸或氨基酸序列之间不同的序列,因此两种(或更多种)分子之间的序列比较通常通过在“比较窗口”上比较两种分子的序列以鉴定和比较局部区域的序列相似性来实施。如本文中使用的,“比较窗口”指至少 18 个连续核苷酸位置或 6 个氨基酸的概念性区段,其中可以将多核苷酸序列或氨基酸序列与至少 18 个连续核苷酸或 6 氨基酸之序列的参照序列比较且其中对于两种序列的最佳比对,多核苷酸序列中在比较窗口中的部分可包含与参照序列(不包含添加或删除)相比 20%或更少的添加、删除、替代、等等(即缺口)。可通过 Smith 和 Waterman *Adv. Appl. Math.* 2:482(1981) 的局部同源性算法、通过 Needleman 和 Wunsch *J. Mol. Biol.* 48:443(1970) 的特异性比对算法、通过 Pearson 和 Lipman *Proc. Natl. Acad. Sci. (U. S. A.)* 85:2444(1988) 的相似性搜索方法、通过这些算法的计算机化执行 (Wisconsin Genetics Software Package Release 7.0 (Genetics Computer Group, 575 Science Dr., Madison, Wis.))、Geneworks、或 MacVector 软件包中的 GAP、BESTFIT、FASTA、和 TFASTA)、或通过审查来进行最佳序列比对以进行比对比较窗口,并选择通过各种方法产生的最佳比对(即导致比较窗口上最高的百分比同源性)。

[0123] 术语“序列同一性”意味着两种多核苷酸或氨基酸序列在比较窗口上是相同的(即以核苷酸或残基计)。术语“百分比序列同一性”是如下计算得到的,即在比较窗口上比

较两种最佳比对的序列,确定两种序列中出现相同核酸碱基(例如 A, T, C, G, U 或 I)或残基的位置数目以产生匹配位置数目,将匹配位置数目除以比较窗口中的位置总数(即窗口大小),并将结果乘以 100 以产生百分比序列同一性。如本文中使用的,术语“实质性同一性”表示多核苷酸或氨基酸序列的一项特征,其中多核苷酸或氨基酸包含在至少 18 个核苷酸(6 个氨基酸)位置的比较窗口上、通常在至少 24-48 个核苷酸(8-16 个氨基酸)位置的窗口上与参照序列相比具有至少 85%序列同一性、优选至少 90 至 95%序列同一性、更通常至少 99%序列同一性的序列,其中百分比序列同一性是通过将参照序列与如下的序列比较而计算得到的,该序列可包括在比较窗口上占参照序列合计 20%或更少的删除或添加。参照序列可以是更大序列的子集。

[0124] 如本文中使用的,20 种常规氨基酸及其缩写遵循常规用法。参见 Immunology-A Synthesis(2nd Edition, E. S. Golub 和 D. R. Gren, Eds., Sinauer Associates, Sunderland 7 Mass. (1991))。20 种常规氨基酸的立体异构体(例如 D-氨基酸)、非天然氨基酸诸如 α -, α -二取代的氨基酸、N-羟基氨基酸、乳酸、和其它非常规氨基酸也可以是本发明的多肽的合适成分。非常规氨基酸的例子包括:4-羟基脯氨酸、 γ -羧基谷氨酸、 ϵ -N, N, N-三甲基赖氨酸、 ϵ -N-乙酰基赖氨酸、O-磷酸丝氨酸、N-乙酰基丝氨酸、N-甲酰基甲硫氨酸、3-甲基组氨酸、5-羟基赖氨酸、 σ -N-甲基精氨酸、和其它相似氨基酸和亚氨基酸(例如 4-羟基脯氨酸)。在本文中使用的多肽符号中,左手方向是氨基端方向,而右手方向是羧基端方向,与标准用法和惯例一致。

[0125] 类似地,除非另有规定,单链多核苷酸序列的左手末端是 5' 末端,双链多核苷酸序列的左手方向称作 5' 方向。初生 RNA 转录物的 5' 至 3' 添加的方向称作转录方向, DNA 链上与 RNA 具有相同序列且位于 RNA 转录物 5' 末端的 5' 的序列区称作“上游序列”, DNA 链上与 RNA 具有相同序列且位于 RNA 转录物 3' 末端的 3' 的序列区称作“下游序列”。

[0126] 在应用于多肽时,术语“实质性同一性”意味着两种肽序列在最佳比对时(诸如通过程序 GAP 或 BESTFIT,使用缺省缺口权重)共享至少 80%序列同一性、优选至少 90%序列同一性、更优选至少 95%序列同一性、和最优选至少 99%序列同一性。

[0127] 优选的是,不相同的残基位置因保守氨基酸替代而不同。

[0128] 保守氨基酸替代指具有相似侧链的残基的互换。例如,一组具有脂肪族侧链的氨基酸是甘氨酸、丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、和异亮氨酸;一组具有脂肪族-羟基侧链的氨基酸是丝氨酸和苏氨酸;一组具有含酰胺侧链的氨基酸是天冬酰胺和谷氨酰胺;一组具有芳香族侧链的氨基酸是苯丙氨酸、酪氨酸、和色氨酸;一组具有碱性侧链的氨基酸是赖氨酸、精氨酸、和组氨酸;而一组具有含硫侧链的氨基酸是半胱氨酸和甲硫氨酸。优选的保守氨基酸替代组是:缬氨酸-亮氨酸-异亮氨酸、苯丙氨酸-酪氨酸、赖氨酸-精氨酸、苯丙氨酸-缬氨酸、谷氨酸-天冬氨酸、和天冬酰胺-谷氨酰胺。

[0129] 如本文中讨论的,本发明涵盖抗体或免疫球蛋白分子的氨基酸序列中的次要变异,前提是氨基酸序列中的变异维持至少 75%,更优选至少 80%、90%、95%,且最优选 99%。具体而言,涵盖保守氨基酸替换。保守替换是那些在它们的侧链中相关的氨基酸家族内发生的。通常将遗传编码的氨基酸分入下述家族:(1) 酸性氨基酸是天冬氨酸、谷氨酸;(2) 碱性氨基酸是赖氨酸、精氨酸、组氨酸;(3) 非极性氨基酸是丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、脯氨酸、苯丙氨酸、甲硫氨酸、色氨酸;而(4) 不带电荷的极性氨基酸是甘氨酸

酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、半胱氨酸、丝氨酸、苏氨酸、酪氨酸。亲水性氨基酸包括精氨酸、天冬酰胺、天冬氨酸、谷氨酰胺、谷氨酸、组氨酸、赖氨酸、丝氨酸、和苏氨酸。疏水性氨基酸包括丙氨酸、半胱氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸、色氨酸、酪氨酸和缬氨酸。其它氨基酸家族包括 (i) 丝氨酸和苏氨酸,它们是脂肪族-羟基家族;(ii) 天冬酰胺和谷氨酰胺,它们是含酰胺家族;(iii) 丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸,它们是脂肪族家族;及(iv) 苯丙氨酸、色氨酸、和酪氨酸,它们是芳香族家族。例如,合理预期用异亮氨酸或缬氨酸对亮氨酸、用谷氨酸对天冬氨酸、用丝氨酸对苏氨酸的分离的替换,或者用结构相关的氨基酸对氨基酸的相似替换不会对所得分子的结合或特性产生重大影响,尤其是如果该替换不涉及框架位点内的氨基酸的话。通过测定多肽衍生物的比活性,可容易地确定氨基酸变化是否产生功能性肽。本文中详细描述测定法。本领域普通技术人员能容易地制备抗体或免疫球蛋白分子的片段或类似物。片段或类似物的优选氨基端和羧基端存在于功能域的边界附近。可通过将核苷酸和/或氨基酸序列数据与公共的或私有的序列数据库比较来鉴定结构和功能域。优选的是,使用计算机化比较方法来鉴定结构和/或功能已知的其它蛋白质中存在的序列基序或预测蛋白质构象域。鉴定折叠成已知的三维结构的蛋白质序列的方法是已知的。Bowie 等 Science 253:164(1991)。如此,前述例子证明本领域技术人员能认出可用于限定依照本发明的结构和功能域的序列基序和结构构象。

[0130] 优选的氨基酸替代是那些:(1) 降低对蛋白水解的易感性的,(2) 降低对氧化的易感性的,(3) 改变形成蛋白质复合物的结合亲和力的,(4) 改变结合亲和力的,及(4) 赋予或修饰此类类似物的其它物化或功能特性的。类似物可包括各种序列与天然存在肽序列不同的突变蛋白。例如,可以在天然存在序列中(优选在多肽中形成分子间接触的结构域以外的部分中)进行单一或多重氨基酸替代(优选保守氨基酸替代)。保守氨基酸替代不应实质性改变亲本序列的结构特征(例如替换氨基酸不应趋于打断亲本序列中存在的螺旋,或破坏亲本序列特征性的其它类型二级结构)。本领域公认的多肽二级和三级结构的例子记载于 Proteins, Structures and Molecular Principles (Creighton, Ed., W. H. Freeman and Company, New York (1984)); Introduction to Protein Structure (C. Branden 和 J. Tooze, eds., Garland Publishing, New York, N. Y. (1991)); 及 Thornton et al. Nature 354:105 (1991)。

[0131] 如本文中使用的,术语“多肽片段”指如下的多肽,其具有氨基端和/或羧基端删除,但是其中剩余氨基酸序列与自例如全长 cDNA 序列推导的天然存在序列中的相应位置相同。片段通常长至少 5、6、8 或 10 个氨基酸,优选长至少 14 个氨基酸,更优选长至少 20 个氨基酸,通常长至少 50 个氨基酸,且甚至更优选长至少 70 个氨基酸。如本文中使用的,术语“类似物”指由至少 25 个氨基酸的区段构成的多肽,其与推导氨基酸序列的一部分具有实质性同一性且在合适的结合条件下对单独的 IL-17F 或 IL-17A/IL-17F 异二聚体(即复合物)有特异性结合。通常,多肽类似物相对于天然存在序列包含保守氨基酸替代(或添加或删除)。类似物通常长至少 20 个氨基酸,优选长至少 50 个氨基酸或更长,而且常常可以与全长天然存在肽一样长。

[0132] 肽类似物作为与模板肽具有类似特性的非肽药物普遍用于制药工业。这些类型的非肽化合物称作“肽模拟物”或“模拟肽”。Fauchere, J. Adv. Drug Res. 15:29 (1986); Veber 和 Freidinger TINS p. 392 (1985); 及 Evans 等 J. Med. Chem. 30:1229 (1987)。常常借助计

计算机化分子建模来开发此类化合物。在结构上与药学有用肽相似的肽模拟物可用于产生等同的治疗或预防效果。通常,模拟肽在结构上与范本多肽(即具有生化特性或药理学活性的多肽)诸如人抗体相似,但是有一个或多个肽连接任选通过本领域公知的方法被选自下组的连接替换:--CH₂NH--、--CH₂S--、--CH₂-CH₂--、--CH=CH--(顺式和反式)、--COCH₂--、CH(OH)CH₂--、和--CH₂SO--。用同一类型的D-氨基酸(例如D-赖氨酸替换L-赖氨酸)对共有序列的一个或多个氨基酸的系统替代可用于生成更稳定的肽。另外,可通过本领域已知的方法来生成包含共有序列或基本上相同的共有序列变异的受约束的肽(Rizo 和 Gierasch *Ann. Rev. Biochem.* 61:387 (1992));例如通过添加内部半胱氨酸残基,其能够形成分子内二硫桥,使肽环化。

[0133] 术语“药剂/试剂”在本文中用于表示化学化合物、化学化合物的混合物、生物学高分子、或自生物学材料制得的提取物。

[0134] 如本文中使用的,术语“标记”或“标记的”指掺入可检测标志物,例如通过掺入放射性标记的氨基酸或将能通过经标记亲合素(例如含有能通过光学方法或量热法来检测的荧光标志物或酶促活性的链霉亲合素)来检测的生物素模块附着至多肽。在某些情况中,标记物或标志物还可以是治疗性的。本领域知道而且可以使用多种标记多肽和糖蛋白的方法。用于多肽的标记物的例子包括但不限于下述:放射性同位素或放射性核素(例如³H、¹⁴C、¹⁵N、³⁵S、⁹⁰Y、⁹⁹Tc、¹¹¹In、¹²⁵I、¹³¹I)、荧光标记物(例如FITC、罗丹明、镧系元素磷光体)、酶标记物(例如辣根过氧化物酶、p-半乳糖苷酶、萤光素酶、碱性磷酸酶)、化学发光、生物素基团、受到二级报告物识别的预定确定的多肽表位(例如亮氨酸拉链对序列、二抗的结合位点、金属结合域、表位标签)。在一些实施方案中,通过各种长度的间隔物臂来附着标记物以降低潜在的位阻。如本文中使用的,术语“药剂或药物”指在正确施用于患者时能够诱导期望的治疗效果的化学化合物或组合物。

[0135] 本文中的其它化学术语依照本领域的常规用法使用,如The McGraw-Hill Dictionary of Chemical Terms(Parker, S., Ed., McGraw-Hill, San Francisco (1985))例示的。

[0136] 术语“抗肿瘤剂”在本文中用于指具有抑制人类中新生物(肿瘤)形成或发展的功能特性的药剂,特别是恶性(癌性)损害,诸如癌瘤、肉瘤、淋巴瘤、或白血病。对转移的抑制通常是抗肿瘤剂的一项特性。

[0137] 如本文中使用的,“基本上纯的”意味着对象种类是存在的主要种类(即以摩尔计,它比组合物中的任何其它各种类更丰富),而且优选的是,基本上纯的级分是如下的组合物,其中对象种类构成存在的所有高分子种类的至少约50%(以摩尔计)。

[0138] 通常,基本上纯的组合物会包含组合物中存在的所有高分子种类的超过约80%,更优选超过约85%、90%、95%、和99%。最优选的是,将对象种类纯化至本质上同质(通过常规检测方法在组合物中检测不到污染物种类),其中该组合物本质上由单一高分子种类组成。

[0139] 自身免疫性疾病包括例如获得性免疫缺陷综合征(AIDS,这是一种具有自身免疫性成分的病毒性疾病)、斑秃、强直性脊柱炎、抗磷脂综合征、自身免疫性阿狄森氏病、自身免疫性溶血性贫血、自身免疫性肝炎、自身免疫性内耳病(AIED)、自身免疫性淋巴细胞增生综合征(ALPS)、自身免疫性血小板减少性紫癜(ATP)、贝切特氏病、心肌病、口炎性腹泻-瘕

疹样皮炎；慢性疲劳免疫功能障碍综合征 (CFIDS)、慢性炎性脱髓鞘性多神经病 (CIPD)、瘢痕性类天疱疮、冷凝集素病、crest 综合征、克罗恩氏病、德戈斯氏病、青少年皮炎、盘状狼疮、特发性混合性冷球蛋白血症、纤维肌痛 - 纤维肌炎、格雷夫斯氏病、格巴二氏综合征、桥本氏甲状腺炎、特发性肺纤维化、特发性血小板减少性紫癜 (ITP)、IgA 肾病、胰岛素依赖性糖尿病、青少年慢性关节炎 (斯提耳氏病)、青少年类风湿性关节炎、梅尼尔氏病、混合性结缔组织病、多发性硬化、重症肌无力、恶性贫血、结节性多动脉炎、多软骨炎、多腺性综合征、风湿性多肌痛、多肌炎和皮炎、原发性无丙种球蛋白血症、原发性胆汁性肝硬化、银屑病、银屑病关节炎、雷诺氏现象、莱特尔氏综合征、风湿热、类风湿性关节炎、结节病、硬皮病 (进行性系统性硬化病 (PSS)，也称作系统性硬化病 (SS))、斯耶格兰氏综合征、僵人综合征、系统性红斑狼疮、高安动脉炎、颞动脉炎 / 巨细胞性动脉炎、溃疡性结肠炎、葡萄膜炎、白癜风和韦格纳氏肉芽肿病。

[0140] 炎性病症包括例如慢性和急性炎性病症。炎性病症的例子包括阿尔茨海默氏病、哮喘、特应性变态反应、变态反应、动脉粥样硬化、支气管哮喘、湿疹、肾小球肾炎、移植物抗宿主病、溶血性贫血、骨关节炎、败血病、中风、组织和器官移植、血管炎、糖尿病性视网膜病和呼吸机诱发的肺损伤。

[0141] huIL-17F-A 抗体

[0142] 本发明的单克隆抗体 (例如完全人的单克隆抗体) 具有抑制 IL-17F、IL-17A 和 / 或 IL-1F/IL-17A 诱导的促炎性细胞因子 (例如 IL-6) 生成的能力。通过例如本文中描述的 IL-17 刺激的小鼠胚胎成纤维细胞 (MEF) 细胞测定法来测定抑制。

[0143] 例示性的本发明抗体包括例如 30D12 抗体、29D8 抗体、1E4 抗体、31A3 抗体、39F12 抗体、12B12 抗体、15B7 抗体、4H11 抗体、4B11 抗体、8B11 抗体、38B1 抗体、和 15E6 抗体、5E12 抗体、41B10 抗体、及其变体。此类抗体的变体包括 30D12BF 抗体 (30D12 抗体的变体)、39F12A 抗体 (39F12 抗体的变体)、和 15E6FK 抗体 (15E6 抗体的变体)。这些抗体显示对人 IL-17F 的特异性, 而且它们已经显示出在体外抑制人 IL-17F 诱导促炎性细胞因子 IL-6。29D8 抗体 (“Mab02a”)、1E4 抗体 (“Mab02b”)、31A3 抗体 (“Mab02c”)、39F12 抗体 (“Mab06a”)、12B12 抗体 (“Mab06b”)、15B7 抗体 (“Mab06c”)、4H11 抗体 (“Mab09”)、30D12 抗体、8B11 抗体、38B1 抗体、15E6 抗体和 4B11 抗体还显示对人 IL-17A 的特异性, 而且已经显示出在体外抑制人 IL-17A 诱导的 IL-6 生成。29D8 抗体、1E4 抗体、31A3 抗体、39F12 抗体、12B12 抗体、15B7 抗体、4H11 抗体、30D12 抗体、8B11 抗体、38B1 抗体、15E6 抗体和 4B11 抗体还显示对人 IL-17A/IL-17F 异二聚体复合物的特异性。5E12 抗体结合人 IL-17F, 但是不结合人 IL-17A、IL-17A 同二聚体或人 IL-17A/IL-17F 异二聚体复合物。41B10 抗体结合人 IL-17F 和人 IL-17A/IL-17F 异二聚体复合物, 但是不结合人 IL-17A 或 IL-17A 同二聚体。

[0144] 本文中描述的每一种 huIL-17F 单克隆抗体包括重链可变区 (V_H) 和轻链可变区 (V_L), 如下文列出的氨基酸和相应核酸序列中显示的。30D12 抗体包括由 SEQ ID NO:1 中显示的核酸序列编码的重链可变区 (SEQ ID NO:2) 和由 SEQ ID NO:3 中显示的核酸序列编码的轻链可变区 (SEQ ID NO:4)。

[0145] >30D12V_H核酸序列 (SEQ ID NO:1)

[0146] CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTCTCCTGCAAG
GCTTCTGGATACACCTTCACCAGTTATGATATCAACTGGGTGCGACAGGCCACTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGG

ATGGATGAACCCTGACAGTGGTGTACATACGTTATGCACAGAAGTTCCAGGGTAGAGTCACCATGACCAGGAACACCT
CCATAAGCACAGCCTACATGGAGCTAAACAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGAATGG
TTCGGGGAGTTACCTCTTACTACTTCTACTCCGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCT
CA

[0147] >30D12V_H氨基酸序列 (SEQ ID NO:2)

[0148] QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYDINWVRQATGQGLEWMGMNPDSGVIRYAQKFQGRVT
MTRNTSISTAYMELNSLRSEDVAVYYCAREWFGELPSYFYSGMDVWGQGTITVTVSS

[0149] >30D12V_L核酸序列 (SEQ ID NO:3)

[0150] GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCT
GCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCA
TCTATGATGCATCCAACAGGGCCACTGGCATCCCAGCCAGGTTCACTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTC
TCACCATCAGCAGCCTAGAGCCTGAAGATTTTGCAGTTTATTACTGTCAGCAGCGTAGCAACTGGCCTCCCACTT
TCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAAA

[0151] >30D12V_L氨基酸序列 (SEQ ID NO:4)

[0152] EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGT
DFTLTISSEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGPGTKVDIK

[0153] 29D8、1E4 和 31A3 抗体每一项包括不同的重链可变区,但是共享共同的轻链可变区。29D8 抗体包括由 SEQ ID NO:5 中显示的核酸序列编码的重链可变区 (SEQ ID NO:6)。1E4 抗体包括由 SEQ ID NO:7 中显示的核酸序列编码的重链可变区 (SEQ ID NO:8)。31A3 抗体包括由 SEQ ID NO:9 中显示的核酸序列编码的重链可变区 (SEQ ID NO:10)。29D8、1E4 和 31A3 抗体的轻链可变区 (SEQ ID NO:12) 由 SEQ ID NO:11 中显示的核酸序列编码。

[0154] >29D8V_H核酸序列 (SEQ ID NO:5)

[0155] CAGGTTCACTGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTCTCCTGCAAG
GCTTTTGCTTACACCTTTTCCACCTATGGTATCAGCTGGGTGCGACAGGCCCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGG
ATGGATCAGCGCTTACAATAGTAACACAACTATGCACAGAAAGTCCAGGGCAGAATCACCATGACCACAGACACAT
CCACGCGCACAGCCTACATGGAGCTGAGGGGCCTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTATTTCTGTGCGACTTTCTTC
GGTGGTCACTCTGGCTACCACTACGGGTTGGACGTCTGGGGCCAGGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCA

[0156] >29D8V_H氨基酸序列 (SEQ ID NO:6)

[0157] QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAFAYTFSTYGISWVRQAPGQGLEWMGWISAYNSNTNYAQKVQGRIT
MTTDTSTRTAYMELRGLRSDDTAVYFCATFFGGHSGYHYGLDVWGQGTITVTVSS

[0158] >1E4V_H核酸序列 (SEQ ID NO:7)

[0159] CAGGTTCACTGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTTTCTGCAAG
GCTTCTGTTTACACCTTTTACCACTTATGGTATCAGCTGGGTGCGACAGGCCCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGG
ATGGATCAGCGTTTACAATGGTAATACAACTATGGACAGAAATTTCCAGGGCAGAGTCAGCATGACCACAGACACAT
CCACGAGCACAGCCTACATGGAGCTGAGGAGCCTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGTTTCCAC
GGTGGTCACTCTGGCTACCACTACGGTTTGGACGTCTGGGGCCAAGGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCA

[0160] >1E4V_H氨基酸序列 (SEQ ID NO:8)

[0161] QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASVYTFSTYGISWVRQAPGQGLEWMGWISVYNGNTNYGQNFQGRVS
MTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCASFHGGHSGYHYGLDVWGQGTITVTVSS

[0162] >31A3V_H核酸序列 (SEQ ID NO:9)

[0163] CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTCTCCTGCAAG
GCTTCTGTTTACACCTTTACCACCTATGGTATCAGTTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGG
ATGGATCACCGTTTACAATGGTAACACAACTATGCACAGAAGTCCACGGCAGAGTCACCATGACCACAGACACAT
CCACAAGTACAGCCTACATGGAGCTGAGGAGCCTGAGATCTGACGACACGGCCGTCTATTACTGTGCGAGTTTCCAC
GGTGGTCATTCTGGCTACCACTACGGTTTGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCA

[0164] >31A3V_H氨基酸序列 (SEQ ID NO:10)

[0165] QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASVYFTFTYGISWVRQAPGQGLEWMGWITVYNGNTNYAQKFHGRVT
MTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCASFHGGHSGYHYGLDVWGQGTTVTVSS

[0166] >29D8、1E4 和 31A3V_L核酸序列 (SEQ ID NO:11)

[0167] GAAATTGTGTTGACNCAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCT
GCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCA
TNTATGATGCATCCAACAGGGCCACTGGCATCCCAGCCAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTC
TCACCATCAGCAGCCTAGAGCCTGAAGATTTTGCAGTTTATTACTGTCAGCAGCGTAGCAACTGGCCTCCGTACA
CTTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAA

[0168] >29D8、1E4 和 31A3V_L氨基酸序列 (SEQ ID NO:12)

[0169] EIVLXQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLXYDASNRATGIPARFSGSGSGT
DFTLTISLPEPDAVYYCQQRSNWPPYTFGQGTKLEIK

[0170] 4B11 抗体包括由 SEQ ID NO:13 中显示的核酸序列编码的重链可变区 (SEQ ID NO:14) 和由 SEQ ID NO:15 中显示的核酸序列编码的轻链可变区 (SEQ ID NO:16)。

[0171] >4B11V_H核酸序列 (SEQ ID NO:13)

[0172] CAGCTGCAGTTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCCTGTCCCTCACCTGCGCT
GTCTCTGATGACTACATCAGCAGTAGGAGTTACTACTGGGGCTGGATCCGCCAGCCCCCAGGGAAGGGGCTGGAGTG
GATTGGGAGTATCTATTATAGTGGGAGCACCTACTACAACCCGTCCCTCAAGAGTCGAGTCACCATATCCGTAGACA
CGTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAAGTGAGTTCTGTGACCGCCACAGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGTC
AGTGGCTGGAACGGGAAGTGGTTCGACCCCTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACGGTCTCCTCA

[0173] >4B11V_H氨基酸序列 (SEQ ID NO:14)

[0174] QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSDDYISSRSYYWGWIRQPPGKGLEWIGSIYYSGSTYYNP SLKSRV
TISVDTSKNQFSLKVSSVTATDTAVYYCARVSGWNGNWDPWGQGLTVTVSS

[0175] >4B11V_L核酸序列 (SEQ ID NO:15)

[0176] GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCT
GCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCC
TCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCA GTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCA
CTCTACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCGATCA
CCTTCGGCCAAGGGACACGACTGGAGATTAAA

[0177] >4B11V_L氨基酸序列 (SEQ ID NO:16)

[0178] EIVLTQSPGTL SLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSG
TDFTLTISRLEPDAVYYCQQYGSSPITFGQGRLEIK

[0179] 39F12 和 12B12 抗体每一项包括不同的重链可变区,但是共享共同的轻链可变区。

39F12 抗体包括由 SEQ ID NO:17 中显示的核酸序列编码的重链可变区 (SEQ ID NO:18)。
12B12 抗体包括由 SEQ ID NO:19 中显示的核酸序列编码的重链可变区 (SEQ ID NO:20)。
39F12 和 12B12 抗体的轻链可变区 (SEQ ID NO:22) 由 SEQ ID NO:21 中显示的核酸序列编码。

[0180] >39F12V_H核酸序列 (SEQ ID NO:17)

[0181] CAGGTCCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGTCCTCGGTGAAGGTCTCCTGCAAG
GCTTCTGGAGGCACCCTCAGCAGCTATGCTTTCAGCTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGG
AGGGATCATCCCTTTCTTTGGAACAACAAATTACGCACAGAAGTTCAGGGCAGAGTCATAATTACCGCGGACGAAT
CCACGAACACAGCCTACATGGAGCTGAGCGGCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTATTGTGCGAGAGACAGG
GATTACTATGGTTTGGGGAGTCCCTTCTACTACTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTC
CTCA

[0182] >39F12V_H氨基酸序列 (SEQ ID NO:18)

[0183] QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTLSSYAFSWVRQAPGQGLEWMGGIIPFFGTTNYAQKFQGRVI
ITADESTNTAYMELSLRSEDVAVYYCARDRDYYGLGSPFYGGMDVWGQGTITVTVSS

[0184] >12B12V_H核酸序列 (SEQ ID NO:19)

[0185] CAGGTCCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGTCCTCGGTGAAGGTCTCCTGCAAG
GCTTCTGGAGGCACCCTCAGCAGCTATGCTTTCAGCTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGGCCTTGAGTGGATGGG
AGGGATCATCCCTTTCTTTGGAACAGTAACTACGCACAGAAGTTCAGGGCAGAGTCACGATTACCGCGGACGAAT
CCACGAACACTGCCTATATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGACAGG
GATTATTATGGTTTGGGGAGTCCCTCCACTACTACGGTTTGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTC
CTCA

[0186] >12B12V_H氨基酸序列 (SEQ ID NO:20)

[0187] QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTLSSYAFSWVRQAPGQGLEWMGGIIPFFGTVNYAQKFQGRVT
ITADESTNTAYMELSSLRSEDVAVYYCARDRDYYGLGSPLHYGLDVWGQGTITVTVSS

[0188] >39F12 和 12B12V_L核酸序列 (SEQ ID NO:21)

[0189] GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGACTTTCAGTCTGTGACTCCAAAGGAGAAAGTCACCATCACCT
GCCGGGCCAGTCAGAGCATTTGGTAGTAGCTTACACTGGTACCAGCAGAAACCAGATCAGTCTCCAAAGCTCCTCA
TCAAGTATGCTTCCCAGTCCTTCTCAGGGGTCCCCTCGAGGTTTCAAGTGCAGTGGATCTGGGACAGATTTACCC
TCACCATCAATAGCCTGGAAGCTGAAGATGCTGCAGCGTATTACTGTTCATCAGAGTAGTAGTTTACCGTGGACGT
TCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAA

[0190] >39F12 和 12B12V_L氨基酸序列 (SEQ ID NO:22)

[0191] EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSSLHWYQQKPDQSPKLLIKYASQSFSGVPSRFSGSGSGT
DFTLTINSLEAEDAAAYYCHQSSSLPWTFGQGKTKEIK

[0192] 4H11 抗体包括由 SEQ ID NO:27 中显示的核酸序列编码的重链可变区 (SEQ ID NO:28) 和由 SEQ ID NO:29 中显示的核酸序列编码的轻链可变区 (SEQ ID NO:30)。

[0193] >4H11V_H核酸序列 (SEQ ID NO:23)

[0194] GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCCGGGGGAGGCTTGGTCCAGCCTGGGGGGTCCCTGAAACTCTCCTGTGCA
GCCTCTGGGTTACCTTCAGTGGCTCTTCTATGCACTGGGTCCGCCAGGCTTCCGGGAAAGGGCTGGACTGGGTTGG
CCGTATTAGAAGCAAAGCTAACAGTTACGCGACAGCATATGCTGCGTCCGTGATAGGCAGGTTTACCATCTCCAGAG

ATGATTCAAAGAACACGGCGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAAAACCGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTACTACA
TCAGTGGCTACTACCCTTACTGACTACTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCA

[0195] >4H11V_H氨基酸序列 (SEQ ID NO:24)

[0196] EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFSGSSMHWVRQASGKGLDWVGRIRSKANSYATAYAASVIGR
FTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCTTSVATTLTDYYGMDVWGQGTTVTVSS

[0197] >4H11V_L核酸序列 (SEQ ID NO:25)

[0198] GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCT
GCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCA
TCTATGATGCATCCAACAGGGCCACTGGCATCCCAGCCAGGTTCA GTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTC
TCACCATCAGCAGCCTAGAGCCTGAAGATTTTGCAGTTTATTACTGTCAACAGCGTAGCAACTGGCCTCCATTCA
CTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAAA

[0199] >4H11V_L氨基酸序列 (SEQ ID NO:26)

[0200] EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRTGIPARFSGSGSGT
DFTLTISSELPEDFAVYYCQQRSNWPPFTFGPGTKVDIK

[0201] 8B11 抗体包括由 SEQ ID NO:31 中显示的核酸序列编码的重链可变区 (SEQ ID NO:32) 和由 SEQ ID NO:33 中显示的核酸序列编码的轻链可变区 (SEQ ID NO:34)。

[0202] >8B11V_H核酸序列 (SEQ ID NO:27)

[0203] GAAGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACACCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCA
GCCTCTGGATTACCTTCAGTAGCTTTAACATGGACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTTTC
ATCCATTAGTACTACTAGCAGAATCATATACTCTGCAGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAATG
CCAGGAACTCACTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGACGAGGACACGGCTGTATATTACTGTGCGAGAGTCAGT
TACTATGGCCACGGATTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA

[0204] >8B11V_H氨基酸序列 (SEQ ID NO:28)

[0205] EVQLVESGGGLVHPGGSLRLSCAASGFTFSSFNMDWVRQAPGKGLEWVSSISTTSRIIYSADSVKGRFT
ISRDNARNSLYLQMNSLRDEDTAVYYCARVSYIGHGFDYWGQGTLVTVSS

[0206] >8B11V_L核酸序列 (SEQ ID NO:29)

[0207] GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCACTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTT
GTCGGGCGAGTCAGGGTATTAGCAGCTGGTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGAGAAAAGCCCCTAAGTCCCTGA
TCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAAGCGGAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTC
TCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGCCAACAGTATAATAGTTACCCTCTCACTT
TCGGCGGAGGGACCAAGGTGGAGATCAAA

[0208] >8B11V_L氨基酸序列 (SEQ ID NO:30)

[0209] DIQMTQSPSSLSASVGDRTTITCRASQGISSWLAWYQQKPEKAPKSLIYAASSLQSGVPSRFSFGSGSGT
DFTLTISLQPEDFATYYCQQYNSYPLTFGGGTKVEIK

[0210] 与 39F12 和 12B12 抗体相比, 15B7 抗体包括不同的由 SEQ ID NO:35 中显示的核酸序列编码的重链可变区 (SEQ ID NO:36), 而且共享共同的由 SEQ ID NO:21 中显示的核酸序列编码的轻链可变区 (SEQ ID NO:22), 如先前显示的。

[0211] >15B7V_H核酸序列 (SEQ ID NO:31)

[0212] CAGGTCCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGTCCCTCGGTGAAGGTCTCCTGCAAG

GCTTCTGGAGGCACCCTCAGCAGCTATGCTTTCAGCTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGATGGG
AGGAATCATCCCTTTCTTTGGAACAGCACACTACGCACAGAAGTTCAGGGCAGAGTCACGATTACCGCGACGAAT
CCACGAACACAGCCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTATATTACTGTGCGAGAGATAGG
GACTACTATGGTTCGGGGAGTCCCTTCCACTTCTCCGGTTTGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTC
CTCA

[0213] >15B7V_H氨基酸序列 (SEQ ID NO:32)

[0214] QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGLTSSYAFSWVRQAPGQGLEWMGGIIPFFGTAHYAQKFQGRVT
ITADESTNTAYMELSSLRSEDYVYYCARDRDYYGSGSPFHFSGLDVWGQGTITVTVSS

[0215] 38B1 抗体包括不同的由 SEQ ID NO:33 中显示的核酸序列编码的重链可变区 (SEQ
ID NO:34) 和由 SEQ ID NO:35 中显示的核酸序列编码的轻链可变区 (SEQ ID NO:36)。

[0216] >38B1V_H核酸序列 (SEQ ID NO:33)

[0217] GAAGTACAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCA
GCCTCTGGATTACCTTTGATGATTTTGCCATGCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTC
AGGTATTAATTGGAATAGTGGTAGCATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAACG
CCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAGCCGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGATATA
GCAGCAGCTGGTGAATTCTACTTCGATATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCA

[0218] >38B1V_H氨基酸序列 (SEQ ID NO:34)

[0219] EVQLVESGGGLVQPGRSRLRSCAASGFTFDDFAMHWVRQAPGKGLEWVSGINWNSGSIQYADSVKGRFT
ISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAKDIAAAGEFYFDMDVWGQGTITVTVSS

[0220] >38B1V_L核酸序列 (SEQ ID NO:35)

[0221] GAAATTGTGTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCT
GCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCA
TCTATGATGCATCCAACAGGGCCACTGGCATCCCAGCCAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTC
TCACCATCAGCAGCCTAGAGCCTGAAGATTTTGCAGTTTATTACTGTGAGCAGCGTAGCAACTGGCCTCCGACTT
TTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAA

[0222] >38B1V_L氨基酸序列 (SEQ ID NO:36)

[0223] EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGT
DFTLTISSELPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQGTKLEIK

[0224] 15E6 抗体包括不同的由 SEQ ID NO:37 中显示的核酸序列编码的重链可变区 (SEQ
ID NO:38) 和由 SEQ ID NO:39 中显示的核酸序列编码的轻链可变区 (SEQ ID NO:40)。

[0225] >15E6V_H核酸序列 (SEQ ID NO:37)

[0226] GAAGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCA
GCCTCTGGATTACCTTTGATGATTATGCCATGCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTC
AGGTATTAATTGGAATAGTGGTGGCATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAACG
CCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAGCTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAAGAGATATG
GGGGGGTTTCGGGGAGTTTTACTGGAACCTTCGGTCTCTGGGGCCGTGGCACCCCTGGTCACTGTCTCCTCA

[0227] >15E6V_H氨基酸序列 (SEQ ID NO:38)

[0228] EVQLVESGGGLVQPGRSRLRSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGINWNSGGIYADSVKGRFT
ISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCARDMGGFGEFYWNFGLWGRGTLTVTVSS

[0229] >15E6V_L核酸序列 (SEQ ID NO:39)

[0230] GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCT
GCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGAACTACTTAGCCTGGTACCAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCA
TCTATGATGCATCCAACAGGGCCACTGGCATCCCAGCCAGGTTCAAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTC
TCACCATCAGCAGCCTAGAGCCTGAAGATTTTGCAGTTTATTACTGTCAGCAGCGTAGCAACTGGCCTCCGGCCA
CTTTCGGCGGAGGGACCAAGGTGGAGATCAAA

[0231] >15E6V_L氨基酸序列 (SEQ ID NO:40)

[0232] EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVRSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGT
DFTLTISLLEPEDFAVYYCQQRSNWPPATFGGGTKVEIK

[0233] 5E12 抗体包括由 SEQ ID NO:43 中显示的核酸序列编码的重链可变区 (SEQ ID NO:44) 和由 SEQ ID NO:45 中显示的核酸序列编码的轻链可变区 (SEQ ID NO:46)。5E12 抗体结合 IL-17F 和 IL-17F 同二聚体,但是不结合 IL-17A 或 IL-17A/IL-17F 异二聚体复合物。

[0234] >5E12V_H核酸序列 (SEQ ID NO:43)

[0235] CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCA
GCCTCTGGATTACCTTTGATGATTATGCCATGCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTC
AGGTATTAGTTGGAATAGTGGTACCATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAACG
CCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAAATGAACAGTCTGAGAGCTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGAACTG
TATATCAGTGACTGGGACTCCTACTCCTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCA

[0236] >5E12V_H氨基酸序列 (SEQ ID NO:44)

[0237] QVQLVQSGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGTIGYADSVKGRFT
ISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAKELYISDWDSYSYGMDEVWGQGTITVTVSS

[0238] >5E12V_L核酸序列 (SEQ ID NO:45)

[0239] GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCT
GCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCC
TCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCAAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCA
CTCTACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCTTTTCG
GCGGAGGGACCAAGGTGGAGATCAAA

[0240] >5E12V_L氨基酸序列 (SEQ ID NO:46)

[0241] EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSG
TDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFGGGTKVEIK

[0242] 41B10 抗体包括由 SEQ ID NO:47 中显示的核酸序列编码的重链可变区 (SEQ ID NO:48) 和由 SEQ ID NO:49 中显示的核酸序列编码的轻链可变区 (SEQ ID NO:50)。5E12 抗体结合 IL-17F、IL-17F 同二聚体、和 IL-17A/IL-17F 异二聚体复合物,但是不结合 IL-17A。

[0243] >41B10V_H核酸序列 (SEQ ID NO:47)

[0244] GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTAAAGCCTGGGGGGTCCCTTAGACTCTCCTGTGCA
GCCTCTGGATTCACTTTAGTAACGCCTGGATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAATGGGTTGG
CCGTATTAAGGCAAAACTGATGGTGGGACAACAGACTACGTTGCACCCGTGAAAGGCAGATTACCATCTCAAGAG
ATGATTCAAAAAACACCCTGTATCTGCAAAATGAACAGCCTGAAAACCGAGGACACAGCCGTATATTACTGTACCACA
TCGTATAGCAGTTACTGGTTCCCCTACTACTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA

[0245] >41B10V_H氨基酸序列 (SEQ ID NO:48)

[0246] EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNAWMSWVRQAPGKGLEWVGRIKSKTDGGTTDYVAPVKGR
FTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTTSYSSYWFPPYYFDYWGGQGLTVTVSS

[0247] >41B10V_L核酸序列 (SEQ ID NO:49)

[0248] GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCACTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTT
GTCGGGCGAGTCAGGGTATTAGCAGCTGGTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGAGAAAGCCCCTAAGTCCCTGA
TCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTACGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTC
TCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGCCAACAGTATAATAGTTACCCGATCACCT
TCGGCCAAGGGACACGACTGGAGATTAAA

[0249] >41B10V_L氨基酸序列 (SEQ ID NO:50)

[0250] DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPEKAPKSLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGT
DFTLTISLQPEDFATYYCQQYNSYPITFGQGTRLEIK

[0251] 本发明的 huIL-17A/F 抗体另外包含例如下文表 1 中显示的重链互补决定区 (V_H CDR) 和表 2 中显示的轻链互补决定区 (V_L CDRs), 及其组合。

[0252] huIL-17F 抗体的变体

[0253] 通过修饰亲本抗体编码基因的 DNA 序列, 制备了本文所述数种 huIL-17F 抗体的变体。例如, 对 30D12 和 15E6 重链可变区和 39F12 轻链可变区进行了 DNA 修饰。具体而言, 这些氨基酸变化导致这些抗体中的多处变化。例如, 对 30D12 重链可变区进行的修饰导致 30D12 重链中糖基化位点的消除。(N 连接的糖基化位点是 NXS 或 NXT, 其中 X 是除 P 以外的任何氨基酸)。另外, 通过消除 (即替代) 倾向于化学修饰的残基, 对 30D12 和 15E6V_H CDR 进行的修饰提供更大的化学稳定性和抗体制备同质性。例如, 在 15E6V_H 的 CDR2 中, 能够形成异天冬氨酸的天冬酰胺残基被变成丝氨酸。在 30D12V_H CDR2 和 15E6V_H CDR3 中, 甲硫氨酸残基分别被变成亮氨酸和异亮氨酸, 以消除甲硫氨酸硫氧化的可能性。对 30D12 重链可变区和 39F12 轻链可变区的别的修饰恢复了初始的人种系框架序列 (例如 30D12V_H 框架 3 中的 Asn 变成 Ser, 及 39F12V_L 框架 3 中的 Ala 变成 Thr)。

[0254] 30D12、15E6 和 39F12 变体在本文中分别描述为 30D12BF、15E6FK 和 39F12A。下文列出的氨基酸和相应核酸序列显示每一种这些变体的重链可变区 (V_H) 和轻链可变区 (V_L)。

[0255] 与亲本 30D12 抗体相比, 30D12BF 抗体包括不同的由 SEQ ID NO:51 中显示的核酸序列编码的重链可变区 (SEQ ID NO:52), 而且共享由 SEQ ID NO:3 中显示的核酸序列编码的轻链可变区 (SEQ ID NO:4)。SEQ ID NO:51 中显示的核酸序列中经过修饰的残基以粗体、下划线和阴影字母指示。SEQ ID NO:52 中显示的氨基酸序列中的 CDR 以双下划线字母指示, 而经过修饰的残基是非粗体、斜体和阴影灰色的。

[0256] >30D12BF V_H核酸序列 (SEQ ID NO:51)

[0257] CAGGT **G** CAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTCTCCTGCA
AGGCTTCTGGATACACCTTCACCAGTTATGATATCAACTGGGTGCGACAGGCCACTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGG
GATGG **C** TGAACCCTGACAGTGGTGTACATACGTTATGCACAGAAGTTCCAGGGTAGAGTCACCATGACCAGG **G** ACA
CCTCCATAAGCACAGCCTACATGGAGCTAA **G** CAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGA
ATGGTTCGGGGAGTTACCTCTTACTACTTCTACTCCGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCT

CCTCA

[0258] >30D12BF V_H氨基酸序列 (SEQ ID NO:52)

[0259]

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYDINWVRQATGQGLE
WMGWLNPDSGVIRYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSSLRSED
TAVYYCAREWFGELPSYYFYSGMDVWGQGTTVTVSS

[0260] 在 SEQ ID NO:52 中, Met 被变成 Leu 以防止可能的甲硫氨酸硫氧化; NTS 基序被变成 DTS 以消除框架 3 中的糖基化位点; 而 Asn 变成 Ser 的回复突变 (变成种系) 被引入框架 3。

[0261] 与亲本 15E6 抗体相比, 15E6FK 抗体包括不同的由 SEQ ID NO:53 中显示的核酸序列编码的重链可变区 (SEQ ID NO:54), 而且共享由 SEQ ID NO:39 中显示的核酸序列编码的轻链可变区 (SEQ ID NO:40)。SEQ ID NO:53 中显示的核酸序列中经过修饰的残基以粗体、下划线和阴影字母指示。SEQ ID NO:54 中显示的氨基酸序列中的 CDR 以双下划线字母指示, 而经过修饰的残基是非粗体、斜体和阴影灰色的。

[0262] >15E6FK V_H核酸序列 (SEQ ID NO:53)

[0263] GAAGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTG
CAGCCTCTGGATTCACCTTTGATGATTATGCCATGCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGG
TCTCAGGTATTAATTGGA **GC** AGTGGTGGCATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAG
ACAACGCCAAGAAGCTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAGCTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAAGAG
ATAT **C** GGGGGGTTCTGGGGAGTTTTACTGGAAGCTTCGGTCTCTGGGGCCGTGGCACCCCTGGTCACTGTCTCCTCA

[0264] >15E6FK V_H氨基酸序列 (SEQ ID NO:54)

[0265]

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLE
WVSGINWSSGGIGYADSVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAL
YYCARDGGFGEFYWNEGLWGRGTLVTVSS

[0266] 在 SEQ ID NO:54 中, CDR2 中的 NS 被变成 SS 以防止 Asn 脱酰胺的可能, 而 Met 被变成 Ile 以防止甲硫氨酸硫氧化的可能。

[0267] 与亲本 39F12 抗体相比, 39F12A 抗体共享由 SEQ ID NO:17 中显示的核酸序列编码的重链可变区 (SEQ ID NO:18), 而且包括不同的由 SEQ ID NO:55 中显示的核酸序列编码的轻链可变区 (SEQ ID NO:56)。SEQ ID NO:55 中显示的核酸序列中经过修饰的残基以粗体、下划线和阴影字母指示。SEQ ID NO:56 中显示的氨基酸序列中的 CDR 以双下划线字母指示, 而经过修饰的残基是非粗体、斜体和阴影灰色的。

[0268] >39F12A V_L核酸序列 (SEQ ID NO:55)

[0269] GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGACTTTCAGTCTGTGACTCCAAAGGAGAAAGTCACCATCACCTGC
CGGGCCAGTCAGAGCATTGGTAGTAGCTTACACTGGTACCAGCAGAAACCAGATCAGTCTCCAAAGCTCCTCATCAA
GTATGCTTCCCAGTCCTTCTCAGGGGTCCCCTCGAGGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTACCCCTCACCAT

CAATAGCCTGGAAGCTGAAGATGCTGCA ACGTATTACTGTCATCAGAGTAGTAGTTTACCGTGGACGTTTCGGCCAAG
GGACCAAGGTGGAAATCAAA

[0270] >39F12A VL 氨基酸序列 (SEQ ID NO:56)

[0271]

EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSSLHWYQQKPDQSPKLLIK
YASQSFSGVPSRFSSGSGSGTDFTLTINSLEAEDAAYYCHQSSSLPWTF
GQGTKVEIK

[0272] 在 SEQ ID NO:56 中, Ala 变成 Thr 的回复突变被引入框架 3。

[0273] 每一种这些变体另外包含例如下文表 1 中显示的重链互补决定区 (V_HCDR)、表 2 中显示的轻链互补决定区 (V_L CDR)、及其组合。这些克隆中对 VHCDR 的修饰在表 1 中以粗体、斜体、和下划线字母显示。

[0274] 表 1 :来自结合并中和 huIL-17A/F 生物学活性的抗体克隆的 VH CDR 序列

[0275]

克隆ID	重链CDR1	重链CDR2	重链CDR3	基因家族
30D12 IgG1	SYDIN (SEQ ID NO:57)	WMNPDSGVIRYAQKFQG (SEQ ID NO:58)	EWFGELPSYYFYSGMDV (SEQ ID NO:59)	IGHV1-8
29D8 IgG1	TYGIS (SEQ ID NO:60)	WISAYNSNTNYAQKVQG (SEQ ID NO:61)	FFGGHSGYHYGLDV (SEQ ID NO:62)	IGHV1-18
1E4 IgG4	TYGIS (SEQ ID NO:60)	WISVYNGNTNYGQNFQG (SEQ ID NO:63)	FHGGHSGYHYGLDV (SEQ ID NO:64)	IGHV1-18
31A3 IgG1	TYGIS (SEQ ID NO:60)	WITVYNGNTNYAQKFHG (SEQ ID NO:65)	FHGGHSGYHYGLDV (SEQ ID NO:64)	IGHV1-18
4B11 IgG1	SRSYYWG (SEQ ID NO:66)	SIYYSGSTYYNPSLKS (SEQ ID NO:67)	VSGWNGNWFDP (SEQ ID NO:68)	IGHV3-9
39F12 IgG4	SYAFS (SEQ ID NO:69)	GIIPFFGTTNYAQKFQG (SEQ ID NO:70)	DRDYYGLGSPFYYYGMDV (SEQ ID NO:71)	IGHV1-69
12B12 IgG4	SYAFS (SEQ ID NO:69)	GIIPFFGTVNYAQKFQG (SEQ ID NO:72)	DRDYYGLGSPLHYGLDV (SEQ ID NO:73)	IGHV1-69
15B7 IgG4	SYAFS (SEQ ID NO:69)	GIIPFFGTAHYAQKFQG (SEQ ID NO:74)	DRDYYGSGSPFHFSGLDV (SEQ ID NO:75)	IGHV1-69
4H11 IgG1	GSSMH (SEQ ID NO:76)	RIRSKANSYATAYAASVIG (SEQ ID NO:77)	SVATTLTDDYGMVDV (SEQ ID NO:78)	IGHV3-73
8B11 IgG3	SFNMD (SEQ ID NO:79)	SISTTSRIIYSADSVKG (SEQ ID NO:80)	VSYYGHGFDY (SEQ ID NO:81)	IGHV3-48
38B1 IgG1	DEAMH (SEQ ID NO:82)	GINWNSGSIGYADSVKG (SEQ ID NO:83)	DIAAAGEFYFDMDV (SEQ ID NO:84)	IGHV3-9
15E6 IgG4	DYAMH (SEQ ID NO:85)	GINWNSGGIGYADSVKG (SEQ ID NO:86)	DMGGFGEFYWNFGL (SEQ ID NO:87)	IGHV3-9
5E12 IgG4	DYAMH (SEQ ID NO:85)	GISWNSGTIGYADSVKG (SEQ ID NO:88)	ELYISDWDYSYSGMDV (SEQ ID NO:89)	IGHV3-9
41B10 IgG4	NAWMS (SEQ ID NO:90)	RIKSKTDGGTTDYVAPVKG (SEQ ID NO:91)	SYSSYWFPYYFDY (SEQ ID NO:92)	IGHV3-15
30D12BF IgG1	SYDIN (SEQ ID NO:57)	WLNPD SG VIRYAQKFQG (SEQ ID NO:93)	EWFGELPSYYFYSGMDV (SEQ ID NO:59)	IGHV1-8
15E6FK IgG1	DYAMH (SEQ ID NO:85)	GINW SS GGIGYADSVKG (SEQ ID NO:94)	D I GGFGEFYWNFGL (SEQ ID NO:95)	IGHV3-9

[0276] 表 2 :来自结合并中和 IL-17F 的抗体克隆的 V_L CDR 序列

[0277]

克隆ID	轻链CDR1	轻链CDR2	轻链CDR3	基因家族
30D12	RASQSVSSYLA (SEQ ID NO:96)	DASNRAT (SEQ ID NO:97)	QQRSNWPPT (SEQ ID NO:98)	IGKV3-11, IGKJ3
29D8	RASQSVSSYLA (SEQ ID NO:96)	DASNRAT (SEQ ID NO:97)	QQRSNWPPYT (SEQ ID NO:99)	IGKV3-11
1E4	RASQSVSSYLA (SEQ ID NO:96)	DASNRAT (SEQ ID NO:97)	QQRSNWPPYT (SEQ ID NO:99)	IGKV3-11
31A3	RASQSVSSYLA (SEQ ID NO:96)	DASNRAT (SEQ ID NO:97)	QQRSNWPPYT (SEQ ID NO:99)	IGKV3-11
4H11	RASQSVSSYLA (SEQ ID NO:96)	DASNRAT (SEQ ID NO:97)	QQRSNWPPFT (SEQ ID NO:100)	IGKV3-11
4B11	RASQSVSSYLA (SEQ ID NO:101)	GASSRAT (SEQ ID NO:102)	QQYGSSPIT (SEQ ID NO:103)	IGKV3-20, IGKJ5
39F12	RASQSIGSSLH (SEQ ID NO:104)	YASQSFS (SEQ ID NO:105)	HQSSSLPWT (SEQ ID NO:106)	IGKV6-21
12B12	RASQSIGSSLH (SEQ ID NO:104)	YASQSFS (SEQ ID NO:105)	HQSSSLPWT (SEQ ID NO:106)	IGKV6-21
15B7	RASQSIGSSLH (SEQ ID NO:104)	YASQSFS (SEQ ID NO:105)	HQSSSLPWT (SEQ ID NO:106)	IGKV6-21
8B11	RASQGISSWLA (SEQ ID NO:107)	AASSLQS (SEQ ID NO:108)	QQYNSYPLT (SEQ ID NO:109)	IGKV1D-16

[0278]

38B1	RASQSVSSYLA (SEQ ID NO:96)	DASNRAT (SEQ ID NO:97)	QQRSNWPP-T (SEQ ID NO:98)	IGKV3-11, IGKJ2
15E6	RASQSVSSYLA (SEQ ID NO:110)	DASNRAT (SEQ ID NO:97)	QQRSNWPPAT (SEQ ID NO:111)	IGKV3-11, IGKJ4
5E12	RASQSVSSYLA (SEQ ID NO:101)	GASSRAT (SEQ ID NO:102)	QQYGSSP (SEQ ID NO:112)	IGKV3-20
41B10	RASQGISSWLA (SEQ ID NO:107)	AASSLQS (SEQ ID NO:108)	QQYNSYPIT (SEQ ID NO:113)	IGKV1D-16

[0279] E. A. Kabat 等人定义了涵盖互补决定区 (CDR) 的氨基酸 (参见 Kabat, EA, 等, Sequences of Protein of immunological interest, Fifth Edition, US Department of Health and Human Services, US Government Printing Office(1991))。

[0280] 本发明还包括与本文所述抗体结合相同表位的抗体。例如,本发明的抗体特异性结合 IL-17F, 其中该抗体结合包括人 IL-17F (登录号 AAH70124) 上一个或多个氨基酸残基的表位。本发明的抗体特异性结合未复合在一起的 IL-17F 和 IL-17A, 其中该抗体结合包括人 IL-17F、人 IL-17A (例如登录号 AAH67505)、或二者上一个或多个氨基酸残基的表位。本发明的抗体特异性结合 IL-17F 和异二聚体 IL-17A/IL-17F 复合物, 其中该抗体结合人 IL-17F (例如登录号 AAH70124) 上的表位和 / 或人 IL-17A (例如登录号 AAH67505) 上的表位。本发明的抗体特异性结合 IL-17F、IL-17A 和 IL-17A/IL-17F 二者, 其中该抗体结合人 IL-17F (例如登录号 AAH70124) 上的表位和 / 或人 IL-17A (例如登录号 AAH67505) 上的表位。

[0281] 本领域技术人员会认识到, 有可能无需过度实验就确定与本发明的单克隆抗体 (例如克隆 30D12、29D8、1E4、31A3、5E12、39F12、12B12、15B7、4H11、41B10、8B11、38B1、15E6、30D12BF、15E6FK、和 39F12A) 具有相同特异性的单克隆抗体 (例如完全人的单克隆抗体), 这通过确认前者是否阻止后者结合 IL-17F、IL-17A、和 / 或 IL-17A/IL-17F 复合物来进行。如果所测试的单克隆抗体与本发明的单克隆抗体竞争, 如本发明的单克隆抗体的结合降低所显示的, 那么这两种单克隆抗体结合相同的或密切相关的表位。

[0282] 用于确定单克隆抗体是否具有本发明单克隆抗体的特异性的一种备选方法是将本发明的单克隆抗体与 (正常情况下与之反应的) 可溶性 IL-17F、IL-17A 或 IL-17A/

IL-17F 蛋白质一起预温育,然后添加所测试的单克隆抗体以确定所测试的单克隆抗体是否抑制其结合 IL-17F、IL-17A 和 / 或 IL-17A/IL-17F 复合物的能力。如果所测试的单克隆抗体受到抑制,那么很有可能它与本发明的单克隆抗体具有相同的或功能上等同的表位特异性。

[0283] 还可以进行对本发明单克隆抗体的筛选,例如通过测量 IL-17F、IL-1A 和 / 或 IL-17A/IL-17F 诱导的细胞因子和 / 或趋化因子生成(例如 IL-6、IL-8、G-CSF、GM-CSF、GRO- α 、GRO- β 、LIX、GCP-2、MIG、IP10、I-TAC、和 MCP-1、RANTES、Eotaxin、SDF-1、和 MIP3a)及确定测试单克隆抗体是否能够调控、阻断、抑制、降低、拮抗、中和或以其它方式干扰 IL-17F、IL-1A 和 / 或 IL-17F/IL-17A 诱导的细胞因子和 / 或趋化因子生成。

[0284] 本领域已知的多种规程可用于生成针对 IL-17F、IL-17A、和 / 或 IL-17A/IL-17F,或者针对其衍生物、片段、类似物、同系物或直向同系物的单克隆抗体。(参见例如 Antibodies:A Laboratory Manual,Harlow E 和 Lane D,1988,Cold Spring Harbor Laboratory Press,Cold Spring Harbor,NY,通过述及收入本文)。完全人的抗体是如下的抗体分子,其中轻链和重链二者(包括 CDR)的整个序列源自人基因。此类抗体在本文中称作“人抗体”或“完全人的抗体”。例如使用下文提供的实施例中描述的规程来制备人单克隆抗体。还可使用三源杂交瘤(trioma)技术;人细胞杂交瘤技术(参见 Kozbor 等,1983 Immunol Today 4:72);和用于生成人单克隆抗体的 EBV 杂交瘤技术(参见 Cole 等,1985,于:MONOCLONAL ANTIBODIES AND CANCER THERAPY,Alan R. Liss, Inc., pp. 77-96)来制备人单克隆抗体。人单克隆抗体可以利用,而且可以通过使用人杂交瘤(参见 Cote 等,1983. Proc Natl Acad Sci USA 80:2026-2030)或通过在体外用 Epstein Barr 病毒转化人 B 细胞(参见 Cole 等,1985,于:MONOCLONAL ANTIBODIES AND CANCER THERAPY,Alan R. Liss, Inc., pp. 77-96)来生成。

[0285] 通过公知的技术来纯化抗体,诸如使用蛋白 A 或蛋白 G 的亲合层析,这主要提供免疫血清的 IgG 级分。随后 / 或者,可以在柱上固定化作为所寻找免疫球蛋白的靶物的特定抗原或其表位以通过免疫亲和层析来纯化免疫特异性抗体。免疫球蛋白的纯化讨论于例如 D. Wilkinson(The Scientist,published by The Scientist, Inc., Philadelphia PA, Vol. 14, No. 8(April 17, 2000), pp. 25-28)。

[0286] 本发明的抗体例如 30D12、29D8、1E4、31A3、5E12、39F12、12B12、15B7、4H11、41B10、8B11、38B1、15E6、30D12BF、15E6FK、和 39F12A)是完全人的单克隆抗体。生成调控、阻断、抑制、降低、拮抗、中和或以其它方式干扰 IL-17F、IL-17A 和 / 或 IL-17A/IL-17F 介导的促炎性细胞因子生成的单克隆抗体,例如通过用 IL-17F 或 IL-17A/IL-17F 诸如例如鼠、家兔、或人 IL-17F 或 IL-17A/IL-17F 或其免疫原性片段、衍生物或变体免疫动物。或者,用经载体(其含有编码 IL-17F 或 IL-17A/IL-17F 的核酸分子)转染的细胞免疫动物,使得 IL-17F 或 IL-17A/IL-17F 表达并与经转染细胞的表面缔合。或者,通过对含有抗体或抗原结合域序列的文库筛选对 IL-17F 或 IL-17A/IL-17F 的结合来获得抗体。例如在噬菌体中作为与装配好的噬菌体颗粒上表达的噬菌体外壳蛋白及噬菌体颗粒内含有的编码 DNA 序列的蛋白质或肽融合物来制备此文库(即“噬菌体展示文库”)。然后对源自杂交瘤 / B 细胞融合的杂交瘤筛选对 IL-17F、IL-17A 和 / 或 IL-17A/IL-17F 的反应性。

[0287] 例如,单克隆抗体使用杂交瘤法制备,诸如 Kohler 和

Milstein, Nature, 256:495 (1975) 所记载的。在杂交瘤法中,小鼠、仓鼠或其它适宜的宿主动物通常用免疫剂免疫以引发生成或能够生成将特异性结合免疫剂的抗体的淋巴细胞。或者,可以在体外免疫淋巴细胞。

[0288] 免疫剂将通常包括蛋白质抗原、其片段或其融合蛋白。通常,或是使用外周血淋巴细胞,若希望人起源的细胞,或是使用脾细胞或淋巴结细胞,若希望非人哺乳动物来源。然后,使用合适的融合剂,诸如聚乙二醇,将淋巴细胞与永生化细胞系融合以形成杂交瘤细胞 (Goding, Monoclonal Antibodies: Principles and Practice, Academic Press (1986), pp. 59-103)。永生化细胞系通常是转化的哺乳动物细胞,特别是啮齿类、牛和人起源的骨髓瘤细胞。通常,采用大鼠或小鼠骨髓瘤细胞系。杂交瘤细胞可在合适的培养基中培养,所述培养基优选含有抑制未融合的永生化细胞生长或存活的一种或多种物质。例如,如果亲本细胞缺乏酶次黄嘌呤鸟嘌呤磷酸核糖转移酶 (HGPRT 或 HPRT),那么用于杂交瘤的培养基通常将含有次黄嘌呤、氨基嘌呤和胸苷 (“HAT 培养基”),这些物质阻止 HGPRT 缺陷细胞生长。

[0289] 优选的永生化细胞系是那些高效融合、支持选定的抗体生成细胞稳定的高水平的表达抗体、并对诸如 HAT 培养基等培养基敏感的细胞系。更优选的永生化细胞系是鼠源骨髓瘤系,可从例如索尔克研究所细胞分配中心 (Salk Institute Cell Distribution Center, San Diego, California, USA) 和美国典型培养物保藏中心 (American Type Culture Collection, Manassas, Virginia, USA) 获得。用于生成单克隆抗体的人骨髓瘤和小鼠-人异源骨髓瘤细胞系也已有描述 (参见 Kozbor, J. Immunol., 133:3001 (1984); Brodeur 等, Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications, Marcel Dekker, Inc., New York (1987) pp. 51-63)。

[0290] 然后可对杂交瘤细胞在其中培养的培养基测定针对抗原的单克隆抗体的存在。优选的是,通过免疫沉淀或通过体外结合测定法,诸如放射免疫测定法 (RIA) 或酶联免疫吸附测定法 (ELISA),测定由杂交瘤细胞生成的单克隆抗体的结合特异性。此类技术和测定法是本领域已知的。单克隆抗体的结合亲和力可通过例如 Munson 和 Pollard, Anal. Biochem. 107:220 (1980) 的 Scatchard 分析来测定。此外,在单克隆抗体的治疗性应用中,重要的是鉴定对靶抗原具有高特异性程度和高结合亲和力的抗体。

[0291] 在鉴定得到期望的杂交瘤细胞后,该克隆可通过有限稀释规程进行亚克隆,并通过标准方法进行培养 (参见 Goding, Monoclonal Antibodies: Principles and Practice, Academic Press, (1986) pp. 59-103)。适于这一目的的培养基包括例如 Dulbecco 氏改良的 Eagle 氏培养基和 RPMI-1640 培养基。或者,杂交瘤细胞可在哺乳动物中作为腹水进行体内培养。

[0292] 可通过常规免疫球蛋白纯化流程,诸如例如蛋白 A-Sepharose、羟磷灰石层析、凝胶电泳、透析或亲和层析,将亚克隆分泌的单克隆抗体自培养基或腹水分离或纯化。

[0293] 单克隆抗体还可通过重组 DNA 技术来生成,诸如美国专利 No. 4,816,567 中所述。编码本发明单克隆抗体的 DNA 易于使用常规规程分离和测序 (例如使用能够特异性结合编码鼠源抗体重链和轻链的基因的寡核苷酸探针)。本发明的杂交瘤细胞充当此类 DNA 的优选来源。一旦分离,可将 DNA 置于表达载体中,然后将该表达载体转染到不另外产生免疫球蛋白蛋白质的宿主细胞中,诸如猿 COS 细胞、中国仓鼠卵巢 (CHO) 细胞或骨髓瘤细胞,以在

重组宿主细胞中获得单克隆抗体的合成。还可以修饰 DNA,例如通过替代,即用人重链和轻链恒定域的编码序列替换同源鼠源序列(参见美国专利 No. 4, 816, 567 ;Morrison, Nature 368:812-13(1994)),或者通过共价接合免疫球蛋白编码序列和非免疫球蛋白多肽的整个或部分编码序列。可用此类非免疫球蛋白多肽替代本发明抗体的恒定域,或者可用它替代本发明抗体的一个抗原结合位点的可变域以产生嵌合二价抗体。

[0294] 人抗体和抗体的人源化

[0295] 本发明的单克隆抗体包括完全人的抗体或人源化的抗体。这些抗体适合于对人施用,不会造成人针对所施用免疫球蛋白的免疫应答。

[0296] 例如,使用下文提供的实施例中描述的规程生成 huIL-17A/F 抗体。

[0297] 在其它备选方法中,例如使用只含有人序列的抗体使用噬菌体展示方法开发 huIL-17A/F 抗体。此类办法是本领域公知的,例如 W092/01047 和美国专利 No. 6, 521, 404, 通过述及收入本文。在这种办法中,使用天然或重组来源的 IL-17F、IL-17A 和 / 或 IL-17A/IL-17F 或其片段筛选携带随机轻链和重链对的噬菌体的组合文库。在另一种办法中,可以通过如下的方法生成 huIL-17F 抗体,其中所述方法中的至少一个步骤包括用人 IL-17F 蛋白质免疫转基因非人动物。在这种办法中,此异种 (xenogenic) 非人动物的一些内源重链和 / 或卡帕轻链基因座失去能力且不能响应抗原进行生成编码免疫球蛋白的基因所需要的重排。另外,将至少一种人重链基因座和至少一种人轻链基因座稳定转染入动物。如此,响应所施用的抗原,人基因座重排以提供编码对所述抗原免疫特异性的人可变区的基因。因此,在免疫后,所述异种小鼠 (xenomouse) 生成分泌完全人的免疫球蛋白的 B 细胞。

[0298] 本领域公知用于生成异种非人动物的多种方法。例如,参见美国专利 No. 6, 075, 181 和 No. 6, 150, 584, 通过述及完整收入本文。这种一般性策略连同第一种 XenoMouse™ 品系的生成得到了证明,如 1994 年所发表的。参见 Green 等, Nature Genetics 7:13-21(1994), 通过述及完整收入本文。还可参见美国专利 No. 6, 162, 963 ;6, 150, 584 ; 6, 114, 598 ;6, 075, 181 ;和 5, 939, 598 及日本专利 No. 3068180B2 ;3068506B2 ;和 3068507B2 及欧洲专利 No. EP 0463151B1 及国际专利申请号 WO 94/02602 ;WO 96/34096 ;WO 98/24893 ;W000/76310 及相关家族成员。

[0299] 在一种备选办法中,其他人利用“迷你基因座”(minilocus) 办法,其中经由包括来自 Ig 基因座的碎片(各基因)来模拟外源 Ig 基因座。如此,使一个或多个 V_H 基因、一个或多个 D_H 基因、一个或多个 J_H 基因、 μ 恒定区、和第二恒定区(优选伽马(γ)恒定区)形成构建物,供插入动物用。参见例如美国专利 No. 5, 545, 806 ;5, 545, 807 ;5, 591, 669 ; 5, 612, 205 ;5, 625, 825 ;5, 625, 126 ;5, 633, 425 ;5, 643, 763 ;5, 661, 016 ;5, 721, 367 ; 5, 770, 429 ;5, 789, 215 ;5, 789, 650 ;5, 814, 318 ;5, 877 ;397 ;5, 874, 299 ;6, 023, 010 ; 和 6, 255, 458 ;及欧洲专利 No. 0546073B1 ;及国际专利申请号 WO 92/03918, WO 92/22645, W092/22647, WO 92/22670, WO 93/12227, WO 94/00569, WO 94/25585, W096/14436, WO 97/13852, 和 WO 98/24884 及相关家族成员。

[0300] 自小鼠(其中经由微细胞融合引入了大段染色体或整个染色体)生成抗体也已证明。参见欧洲专利申请 No. 773288 和 843961。

[0301] 人抗小鼠抗体(HAMA)应答引导本行业制备嵌合的或其它方式人源化的抗体。虽然嵌合抗体具有人恒定区和免疫可变区,但是预期会观察到某些人抗嵌合抗体(HACA)应

答,特别是在抗体的长期或多剂利用中。如此,会想要提供完全人的针对的 IL-17F、IL-17A 和 / 或 IL-17A/IL-17F 的抗体以削弱或以其它方式减轻 HAMA 或 HACA 应答的担忧和 / 或影响。

[0302] 免疫原性降低的抗体的生成经由人源化、嵌合化和使用适宜文库的展示技术也实现了。会领会,鼠抗体或来自其它物种的抗体可以使用本领域公知的技术人源化或灵长类化。参见例如 Winter 和 Harris, *Immunol Today* 14:43-46(1993) 及 Wright 等, *Crit. Reviews in Immunol.* 12:125-168(1992)。感兴趣的抗体可以通过重组 DNA 技术改造,用相应的人序列替代 CH1、CH2、CH3、铰链域和 / 或框架域(参见 WO 92102190 及美国专利 No. 5,530,101 ;5,585,089 ;5,693,761 ;5,693,792 ;5,714,350 ;和 5,777,085)。还有, Ig cDNA 用于构建嵌合免疫球蛋白基因的用途是本领域已知的(Liu 等, *P. N. A. S.* 84:3439(1987) 及 *J. Immunol.* 139:3521(1987))。自杂交瘤或生成抗体的其它细胞分离 mRNA,并用于生成 cDNA。可以使用特异性引物通过聚合酶链式反应扩增感兴趣的 cDNA(美国专利 No. 4,683,195 和 4,683,202)。或者,生成并筛选文库以分离感兴趣的序列。然后将编码抗体可变区的 DNA 序列融合至人恒定区序列。人恒定区基因的序列可见于 Kabat 等(1991) *Sequences of Proteins of immunological Interest*, N. I. H. publication no. 91-3242。人 C 区基因易于自己知克隆获得。同种型的选择会受期望的效应器功能(诸如补体结合)或在抗体依赖性细胞的细胞毒性中的活性指导。优选的同种型是 IgG1、IgG3 和 IgG4。可以使用任一人轻链恒定区,卡帕或拉姆达。然后通过常规方法表达嵌合的、人源化的抗体。

[0303] 抗体片段,诸如 Fv、F(ab')₂ 和 Fab 可以通过切割完整蛋白质例如通过蛋白酶或化学切割来制备。或者,设计截短的基因。例如,编码 F(ab')₂ 片段一部分的嵌合基因会包括编码 H 链 CH1 域和铰链区的 DNA 序列,接着是翻译终止密码子以产生截短的分子。

[0304] H 和 L J 区的共有序列可用于设计用作引物的寡核苷酸,将有用的限制性位点引入 J 区,随后将 V 区区段连接至人 C 区区段。C 区 cDNA 可以通过定点诱变来修饰以替换人序列中类似位置处的限制性位点。

[0305] 表达载体包括质粒、逆转录病毒、YAC、EBV 衍生附加体、等等。方便的载体是这样的,其编码功能上完整的人 CH 或 CL 免疫球蛋白序列,改造了适宜的限制性位点,使得任何 V_H 或 V_L 序列能容易地插入和表达。在此类载体中,通常在所插入的 J 区中的剪接供体位点与人 C 区前面的剪接受体位点之间,还有在人 CH 外显子内存在的剪接区处发生剪接。在编码区下游的天然染色体位点处发生多聚腺苷酸化和转录终止。所得嵌合抗体可接合至任何强启动子,包括逆转录病毒 LTR,例如 SV-40 早期启动子(Okayama 等, *Mol. Cell. Bio.* 3:280(1983))、Rous 肉瘤病毒 LTR(Gorman 等, *P. N. A. S.* 79:6777(1982))、和 Moloney 鼠白血病病毒 LTR(Grosschedl 等, *Cell* 41:885(1985))。还有,如会领会的,可以使用天然 Ig 启动子等等。

[0306] 另外,人抗体或来自其它物种的抗体可以经由展示型技术来生成,包括但不限于噬菌体展示、逆转录病毒展示、核糖体展示、和其它技术,它们使用本领域公知的技术,而且所得分子能进行别的成熟,诸如亲和力成熟,此类技术是本领域公知的。Wright 等, *Crit. Reviews in Immunol.* 12:125-168(1992); Hanes 和 Plückthun, *PNAS USA* 94:4937-4942(1997)(关于核糖体展示), Parmley 和 Smith, *Gene* 73:305-318(1988)

(关于噬菌体展示), Scott, TIBS, vol. 17:241-245(1992); Cwirla 等, PNAS USA 87:6378-6382(1990); Russel 等, Nucl. Acids Research 21:1081-1085(1993); Hoganboom 等, Immunol. Reviews 130:43-68(1992); Chiswell 和 McCafferty, TIBTECH; 10:80-8A(1992); 及美国专利 No. 5, 733, 743。如果利用展示技术来生成不是人的抗体, 那么此类抗体可以如上所述人源化。

[0307] 使用这些技术, 可以生成针对 IL-17F、IL-17A 和 / 或 IL-17A/IL-17F 表达细胞, IL-17F 自身, 各种形式的 IL-17F 和 / 或 IL-17A, 其表位或肽, 及其表达文库的抗体 (参见例如美国专利 No. 5, 703, 057), 此后可以如上所述对它们筛选本文所述活性。

[0308] 本发明的 huIL-17A/F 抗体可以通过上文所述含有编码单链抗体的 DNA 区段的载体来表达。

[0309] 这些可包括载体、脂质体、裸 DNA、佐剂辅助的 DNA 基因枪、导管、等。载体包括化学偶联物, 诸如记载于 WO 93/64701, 其具有靶向模块 (例如针对细胞表面受体的配体) 和核酸结合模块 (例如聚赖氨酸); 病毒载体 (例如 DNA 或 RNA 病毒载体); 融合蛋白, 诸如记载于 PCT/US 95/02140 (W095/22618), 其是含有靶模块 (例如对靶细胞特异性的抗体) 和核酸结合模块 (例如鱼精蛋白) 的融合蛋白; 质粒; 噬菌体; 等。载体可以是染色体的、非染色体的或合成的。

[0310] 优选的载体包括病毒载体、融合蛋白和化学偶联物。逆转录病毒载体包括 Moloney 鼠白血病病毒。DNA 病毒载体是优选的。这些载体包括痘载体, 诸如正痘病毒或禽痘病毒载体, 疱疹病毒载体诸如 I 型单纯疱疹病毒 (HSV) 载体 (参见 Geller, A. I. 等, J. Neurochem, 64:487(1995); Lim, F. 等, 于 DNACloning:Mammalian Systems, D. Glover 编 (Oxford Univ. Press, Oxford England) (1995); Geller, A. I. 等, Proc Natl. Acad. Sci. U. S. A. 90:7603(1993); Geller, A. I. 等, Proc Natl. Acad. Sci. USA 87:1149(1990), 腺病毒载体 (参见 LeGal LaSalle 等, Science, 259:988(1993); Davidson 等, Nat. Genet 3:219(1993); Yang 等, J. Virol. 69:2004(1995) 和腺伴随病毒载体 (参见 Kaplitt, M. G. 等, Nat. Genet. 8:148(1994))。

[0311] 痘病毒载体将基因引入细胞的细胞质。禽痘病毒载体只导致核酸的短期表达。腺病毒载体、腺伴随病毒载体和单纯疱疹表达 (HSV) 载体优选用于将核酸引入神经细胞。腺病毒载体 (约 2 个月) 导致比腺伴随病毒 (约 4 个月) 短时期的表达, 其继而比 HSV 载体短。选择的具体载体取决于靶细胞和所治疗的状况。引入可以通过标准技术来进行, 例如感染、转染、转导或转化。基因转移模式的例子包括例如裸 DNA、CaPO₄ 沉淀、DEAE 右旋糖酐、电穿孔、原生质体融合、脂转染、细胞显微注射、和病毒载体。

[0312] 可以采用载体来靶向基本上任何期望的靶细胞。例如, 可以使用立体定位注射 (stereotaxic injection) 来投递载体 (例如腺病毒, HSV) 至期望的位置。另外, 可以使用迷你泵输注系统诸如 SynchroMed 输注系统通过脑室内 (icv) 输注来投递颗粒。一种基于总体流量 (bulk flow), 称作对流 (convection) 的方法也已证明有效投递大分子至延伸的脑区, 而且可用于投递载体至靶细胞。(参见 Bobo 等, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91:2076-2080(1994); Morrison 等, Am. J. Physiol. 266:292-305(1994))。可使用的其它方法包括导管、静脉内、胃肠外、腹膜内和皮下注射, 及口服或其它已知施用路径。

[0313] 这些载体可用于表达大量的抗体, 其可以以多种方式使用。例如, 用于检测样品中

IL-17F、IL-17A 和 IL-17A/IL-17F 复合物的存在。抗体还可用于试图结合并破坏 IL-17F、IL-17A 和 / 或 IL-17A/IL-17F 相关信号传导。

[0314] 可以使各技术适于生成对本发明的抗原性蛋白质特异性的单链抗体（参见例如美国专利 No. 4, 946, 778）。另外, 可以使各方法适于构建 Fab 表达文库（参见例如 Huse 等, 1989Science 246:1275-1281）以容许快速且有效鉴定对蛋白质或其衍生物、片段、类似物或同系物具有期望特异性的单克隆 Fab 片段。含有针对蛋白质抗原的独特型的抗体片段可以通过本领域已知的技术来生成, 包括但不限于: (i) F(ab')₂ 片段通过胃蛋白酶消化抗体分子来生成; (ii) Fab 片段通过还原 F(ab')₂ 片段的二硫桥来生成; (iii) Fab 片段通过用木瓜蛋白酶和还原剂处理抗体分子来生成; 和 (iv) Fv 片段。

[0315] 本发明还包括 Fv、Fab、Fab' 和 F(ab')₂ 抗 IL-17F 片段或抗 IL-17A/IL-17F 复合物片段, 单链抗 IL-17F 或抗 IL-17A/IL-17F 抗体, 双特异性抗 IL-17F、IL-17A 和 / 或抗 IL-17A/IL-17F 抗体, 和异源偶联抗 IL-17F、IL-17A 和 / 或抗 IL-17A/IL-17F 抗体。

[0316] 双特异性抗体指对至少两种不同抗原具有结合特异性的抗体。在本案中, 结合特异性之一是对 IL-17F、IL-17A 和 / 或 IL-17A/IL-17F 复合物。第二结合靶是任何其它抗原, 而且有利的是细胞表面蛋白质或受体或受体亚基。

[0317] 用于生成双特异性抗体的方法是本领域已知的。传统的是, 双特异性抗体的重组生产基于两对免疫球蛋白重链 / 轻链的共表达, 其中两种重链具有不同的特异性 (Milstein 和 Cuello, Nature, 305:537-539 (1983))。由于免疫球蛋白重链和轻链的随机分配, 这些杂交瘤 (四源杂交瘤 (quadroma)) 生成 10 种不同抗体分子的潜在混合物, 其中只有一种具有正确的双特异性结构。通常通过亲和层析步骤来实现正确分子的纯化。类似的规程披露于 1993 年 5 月 13 日公开的 WO 93/08829 及 Traunecker 等, EMBO J. 10:3655-3659 (1991)。

[0318] 可以将具有期望结合特异性 (抗体 - 抗原结合位点) 的抗体可变域与免疫球蛋白恒定域序列融合。优选与包含至少部分铰链、CH2 和 CH3 区的免疫球蛋白重链恒定域进行融合。优选在至少一种融合物中存在包含轻链结合所必需的位点的第一重链恒定区 (CH1)。将编码免疫球蛋白重链融合物和, 在需要时, 免疫球蛋白轻链的 DNA 插入分开的表达载体, 并共转染入合适的宿主生物体。在用于构建的三种多肽链比例不等时提供最佳产量的实施方案中。关于生成双特异性抗体的进一步详情参见例如 Suresh 等, Methods in Enzymology, 121:210 (1986)。

[0319] 依照 WO 96/27011 中记载的另一种办法, 可改造一对抗体分子间的界面, 以将从重组细胞培养物回收的异二聚体的百分比最大化。优选的界面包含至少部分抗体恒定域 CH3 结构域。在此方法中, 将第一抗体分子界面的一个或多个小氨基酸侧链用较大侧链 (例如酪氨酸或色氨酸) 替换。通过将大氨基酸侧链用较小氨基酸侧链 (例如丙氨酸或苏氨酸) 替换, 在第二抗体分子的界面上产生与大侧链相同或相似大小的补偿性 “空腔”。这提供了较之其它不想要的终产物诸如同二聚体提高异二聚体产量的机制。

[0320] 可将双特异性抗体制备成全长抗体或抗体片段 (例如 F(ab')₂ 双特异性抗体)。文献中记载了自抗体片段生成双特异性抗体的技术。例如, 可使用化学连接来制备双特异性抗体。Brennan 等, Science 229:81 (1985) 记载了通过蛋白水解切割完整抗体以生成 F(ab')₂ 片段的规程。将这些片段在存在二硫醇络合剂亚砷酸钠的情况下还原, 以稳定邻近

的二硫醇并防止分子间二硫键的形成。然后将产生的 Fab' 片段转变为硫代硝基苯甲酸酯 (TNB) 衍生物。然后将 Fab'-TNB 衍生物之一通过巯基乙胺的还原重新恢复成 Fab'-硫醇, 并与等摩尔量的另一种 Fab'-TNB 衍生物混合, 以形成双特异性抗体。产生的双特异性抗体可用作酶的选择性固定化试剂。

[0321] 另外, 可以自大肠杆菌直接回收 Fab' 片段, 并化学偶联以形成双特异性抗体。Shalaby 等, *J. Exp. Med.* 175:217-225(1992) 记载了完全人源化的双特异性抗体 $F(ab')_2$ 分子的生成。由大肠杆菌分开分泌每种 Fab' 片段, 并在体外进行定向化学偶联以形成双特异性抗体。如此形成的双特异性抗体能够结合过表达 ErbB2 受体的细胞和正常人 T 细胞, 以及触发人细胞毒性淋巴细胞针对人乳腺肿瘤靶物的溶解活性。

[0322] 还记载了从重组细胞培养物直接生成和分离双特异性抗体片段的多种技术。例如, 已使用亮氨酸拉链生成双特异性抗体。Kostelny 等, *J. Immunol.* 148(5):1547-1553(1992)。将来自 Fos 和 Jun 蛋白的亮氨酸拉链肽通过基因融合与两种不同抗体的 Fab' 部分连接。抗体同二聚体在铰链区还原以形成单体, 然后重新氧化以形成抗体异二聚体。这种方法也可用于生成抗体同二聚体。Hollinger 等, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:6444-6448(1993) 记载的“双抗体”技术提供了生成双特异性抗体片段的替代机制。该片段包含通过接头相连的重链可变域 (V_H) 和轻链可变域 (V_L), 所述接头太短使得同一条链上的两个结构域之间不能配对。因此, 迫使一个片段上的 V_H 和 V_L 结构域与另一个片段上的互补 V_L 和 V_H 结构域配对, 由此形成两个抗原结合位点。还报道了通过使用单链 Fv (sFv) 二聚体生成双特异性抗体片段的另一种策略。参见 Gruber 等, *J. Immunol.* 152:5368(1994)。

[0323] 涵盖具有超过两价的抗体。例如, 可制备三特异性抗体。Tutt 等, *J. Immunol.* 147:60(1991)。

[0324] 例示性的双特异性抗体能结合两种不同表位, 其中至少一种源自本发明的蛋白质抗原。或者, 可以将免疫球蛋白分子的抗抗原臂与结合白细胞上触发分子诸如 T 细胞受体分子 (例如 CD2、CD3、CD28、或 B7), 或 IgG 的 Fc 受体 (Fc γ R), 诸如 Fc γ RI (CD64), Fc γ RII (CD32) 和 Fc γ RIII (CD16) 的臂组合, 从而将细胞防御机制聚焦于表达特定抗原的细胞。双特异性抗体还可用于将细胞毒剂定位至表达特定抗原的细胞。这些抗体拥有抗原结合臂和结合细胞毒剂或放射性螯合剂 (诸如 EOTUBE、DPTA、DOTA、或 TETA) 的臂。另一种感兴趣的双特异性抗体结合本文中描述的蛋白质抗原且还结合组织因子 (TF)。

[0325] 异源偶联抗体也在本发明的范围之内。异源偶联抗体由两种共价连接的抗体构成。此类抗体建议例如用于将免疫系统细胞靶向不想要的细胞 (参见美国专利 No. 4, 676, 980) 及用于治疗 HIV 感染 (参见 WO 91/00360 ; WO92/200373 ; EP 03089)。可在体外使用合成蛋白质化学的已知方法制备抗体, 包括那些涉及交联剂的方法。例如, 可使用二硫化物交换反应或通过形成硫醚键来构建免疫毒素。适于此目的的试剂的例子包括亚氨基硫醇酯/盐 (iminothiolate) 和 4-巯基丁亚氨酸甲酯 (methyl-4-mercaptobutyrimidate) 及例如美国专利 No. 4, 676, 980 中所公开的。

[0326] 可能希望在效应器功能方面修饰本发明的抗体, 例如为了增强抗体在治疗与 IL-17F、IL-17A 和 / 或 IL-17A/IL-17F 复合物信号传导有关的疾病和病症中的效力。例如, 可在 Fc 区中引入半胱氨酸残基, 从而容许在该区中形成链间二硫键。如此生成的

同二聚体抗体可具有改善的内化能力和 / 或提高的补体介导的细胞杀伤和抗体依赖性细胞毒性 (ADCC)。参见 Caron 等, J. Exp. Med. 176:1191-1195(1992) 及 Shopes, J. Immunol. 148:2918-2922(1992)。或者, 抗体可改造成具有双重 Fc 区, 由此可具有增强的补体溶解和 ADCC 能力。参见 Stevenson 等, Anti-Cancer Drug Design 3:219-230(1989)。

[0327] 本发明还关于包含偶联有细胞毒剂的抗体的免疫偶联物, 所述细胞毒剂诸如毒素 (例如细菌、真菌、植物或动物起源的酶活性毒素或其片段) 或放射性同位素 (即放射偶联物)。

[0328] 可使用的酶活性毒素及其片段包括白喉毒素 A 链、白喉毒素的非结合活性片段、外毒素 A 链 (来自铜绿假单胞菌)、蓖麻毒蛋白 A 链、相思豆毒蛋白 A 链、莨菪根毒蛋白 A 链、 α -帚曲霉素、油桐 (*Aleurites fordii*) 蛋白、香石竹蛋白 (dianthin proteins)、美洲商陆 (*Phytolacca americana*) 蛋白 (PAPI, PAPII 和 PAP-S)、苦瓜 (*Momordica charantia*) 抑制剂、麻疯树毒蛋白、巴豆毒蛋白、肥皂草 (*Saponaire officinalis*) 抑制剂、白树毒蛋白、丝林霉素 (mitogellin)、局限曲菌素、酚霉素、依诺霉素和单端孢菌素。多种放射性核素可用于生成放射偶联抗体。实例包括 ^{212}Bi 、 ^{131}I 、 ^{131}In 、 ^{90}Y 和 ^{186}Re 。

[0329] 抗体和细胞毒剂的偶联物可使用多种双功能蛋白质偶联剂来制备, 诸如 N-琥珀酰亚氨基-3-(2-吡啶基二硫代) 丙酸酯 (SPDP)、亚氨基硫烷 (IT)、亚氨酸酯 (诸如盐酸己二酰亚氨酸二甲酯)、活性酯类 (诸如辛二酸二琥珀酰亚氨基酯)、醛类 (诸如戊二醛)、双叠氮化合物 (诸如双 (对-叠氮苯甲酰基) 己二胺)、双重氮衍生物 (诸如双 (对-重氮苯甲酰基) 乙二胺)、二异氰酸酯 (诸如甲苯 2, 6-二异氰酸酯) 和双活性氟化合物 (诸如 1, 5-二氟-2, 4-二硝基苯) 的双功能衍生物。例如, 可如 Vitetta 等, Science 238:1098(1987) 中所述制备蓖麻毒蛋白免疫毒素。碳-14 标记的 1-异硫氰酸苯甲基-3-甲基二亚乙基三胺五乙酸 (MX-DTPA) 是用于将放射性核苷酸与抗体偶联的示例性的螯合剂。参见 WO 94/11026。

[0330] 本领域普通技术人员会认识到极其多种可能的模块可以偶联至所得本发明抗体。参见例如 "Conjugate Vaccines", Contributions to Microbiology and Immunology, J. M. Cruse 和 R. E. Lewis, Jr 编, Carger Press, New York, (1989), 通过述及其全部内容收入本文。

[0331] 偶联可通过会结合两个分子的任何化学反应来实现, 只要抗体和另一模块保留它们各自的活性。这种连接可包括多种化学机制, 例如共价结合、亲和结合、插入、配位结合和络合。然而, 优选的结合是共价结合。共价结合可通过现有侧链的直接缩合或通过掺入外部桥接分子来实现。许多二价或多价连接剂可用于偶联蛋白质分子 (诸如本发明的抗体) 至其它分子。例如, 代表性的偶联剂可包括有机化合物, 诸如硫代酸酯、碳二亚胺、琥珀酰亚胺酯、二异氰酸酯、戊二醛、重氮苯和己二胺。此列表并非意图穷举本领域已知的各种类别的偶联剂, 而是例示更常用的偶联剂。参见 Killen 和 Lindstrom, Jour. Immun. 133:1335-2549(1984); Jansen 等, Immunological Reviews 62:185-216(1982); 及 Vitetta 等, Science 238:1098(1987)。

[0332] 文献中记载了优选的接头。参见例如 Ramakrishnan, S. 等, Cancer Res. 44:201-208(1984), 其记载了 MBS (M-马来酰亚氨基苯甲酰基-N-羟基琥珀酰亚胺酯) 的使用。还可参见美国专利 No. 5, 030, 719, 其记载了经由寡肽接头偶联至抗体的卤代乙酰基酰肼的使用。特别优选的接头包括: (i) EDC (1-乙基-3-(3-二甲基氨基-丙基) 碳二

亚胺盐酸 ;(ii) SMPT (4-琥珀酰亚氨基氧羰基 - α -甲基 - α -(2-吡啶基 -二硫)-甲苯) (Pierce Chem. Co., Cat. (21558G) ;(iii) SPDP (琥珀酰亚氨基 -6-[3-(2-吡啶基二硫)丙酰氨基]己酸酯) (Pierce Chem. Co., Cat#21651G) ;(iv) Sulfo-LC-SPDP (磺基琥珀酰亚氨基 -6-[3-(2-吡啶基二硫)-丙酰胺]己酸酯) (Pierce Chem. Co., Cat. #2165-G) ;和 (v) 偶联至 EDC 的 sulfo-NHS (N-羟基磺基 -琥珀酰亚胺) (Pierce Chem. Co., Cat. #24510)。

[0333] 上文所述接头含有具有不同属性的组件,如此导致具有不同物理-化学特性的偶联物。例如,烃基羧酸酯的 sulfo-NHS 酯比芳族羧酸酯的 sulfo-NHS 酯更稳定。含有接头的 NHS 酯的溶解不如 sulfo-NHS 酯。另外,接头 SMPT 含有有位阻的二硫键,而且能形成稳定性升高的偶联物。二硫连接一般不如其它连接稳定,因为二硫连接在体外受到切割,导致可得偶联物较少。具体而言,Sulfo-NHS 能增强碳二亚胺偶联的稳定性。碳二亚胺偶联(诸如 EDC)在与 sulfo-NHS 联合使用时形成对水解的抗性比单独的碳二亚胺偶联反应更高的酯。

[0334] 本文中公开的抗体还可配制成免疫脂质体。含有抗体的脂质体通过本领域已知方法来制备,诸如 Epstein 等,Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 82:3688(1985);Hwang 等,Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 77:4030(1980);及美国专利 No. 4,485,045 和 4,544,545 中记载的。循环时间延长的脂质体披露于美国专利 No. 5,013,556。

[0335] 可用包含磷脂酰胆碱、胆固醇和 PEG 衍生化磷脂酰乙醇胺(PEG-PE)的脂类组合物通过反相蒸发法生成特别有用的脂质体。将脂质体挤过具有设定孔径的滤器,以产生具有期望直径的脂质体。可如 Martin 等,J. Biol. Chem. 257:286-288(1982)中所述,将本发明抗体的 Fab' 片段经二硫化物交换反应与脂质体偶联。

[0336] 针对 IL-17F、IL-17A 和 / 或 IL-17A/IL-17F 复合物的抗体的用途

[0337] 会领会,依照本发明的治疗性实体的施用会与掺入配制剂以提供改良的转移、投递、耐受、等等的合适的载体、赋形剂、和其它药剂一起施用。在所有药物化学家知道的配方集 Remington's Pharmaceutical Sciences(第 15 版,Mack Publishing Company,Easton,PA(1975)),特别是其中 Blaug、Seymour 的第 87 章中能找到多种适宜的配方。这些配制剂包括例如粉剂、糊剂、软膏剂、胶冻剂、蜡、油、含有脂质(阳离子的或阴离子的)的囊泡(诸如 Lipofectin™)、DNA 偶联物、无水吸收糊剂、水包油和油包水乳剂、乳剂碳蜡(各种分子量的聚乙二醇)、半固体凝胶、和含有碳蜡的半固体混合物。任何前述混合物在依照本发明的治疗和疗法中可能是适宜的,只要配制剂中的活性组分不被配制剂灭活,而且配制剂对于施用路径而言是生理学相容且可耐受的。还可参见 Baldrick P., "Pharmaceutical excipient development:the need for preclinical guidance." Regul. Toxicol Pharmacol. 32(2):210-8(2000);Wang W., "Lyophilization and development of solid protein pharmaceuticals." Int. J. Pharm. 203(1-2):1-60(2000);Charman WN, "Lipids, lipophilic drugs, and oral drug delivery-some emerging concepts." J Pharm Sci. 89(8):967-78(2000);Powell 等, "Compendium of excipients for parenteral formulations" PDA J Pharm Sci Technol. 52:238-311(1998);及其中关于涉及药物化学家公知的配制剂、赋形剂和载体的别的信息的引用。

[0338] 在一个实施方案中,本发明的抗体(包括本发明的单克隆抗体,例如完全人的单

克隆抗体)可用作治疗剂。此类药剂通常被采用来诊断、预后、监测、治疗、缓解、和/或预防受试者中与 IL-17F、IL-17A 和/或 IL-17A/IL-17F 信号传导有关的疾病或病理。通过使用标准方法鉴定罹患(或有风险形成)炎性疾病或病症的受试者(例如人类受试者)来执行治疗方案。对受试者施用抗体制剂(优选对其靶抗原具有高特异性和高亲和力的),而且一般会由于其与靶物的结合而具有效果。抗体的施用可消除或抑制或干扰靶物(例如 IL-17F、IL-17A 或 IL-17A/IL-17F 复合物)的信号传导功能。抗体的施用可消除或抑制或干扰靶物(例如 IL-17F)与其天然结合的内源配体(例如 IL-17R 或 IL-17RC)的结合。例如,抗体结合至靶物并调控、阻断、抑制、降低、拮抗、中和、或以其它方式干扰 IL-17F、IL-17A 和/或 IL-17A/IL-17F 诱导的促炎性细胞因子生成。

[0339] 涉及 IL-17F、IL-17A 和/或 IL-17A/IL-17F 信号传导的疾病或病症包括自身免疫性疾病或炎性疾病或病症,包括但不限于类风湿性关节炎(rheumatoid arthritis)、克罗恩氏病(Crohn's disease)、银屑病(psoriasis)、多发性硬化(multiple sclerosis)、慢性阻塞性肺病(chronic obstructive pulmonary disease)、和哮喘(asthma)。例如,已经发现 IL-17A 表达在类风湿性关节炎患者的滑膜组织中上调(参见 Khono 等, Mod. Rheumatol. Dec. 202007, Epub ahead of print)。发现 IL-17F 在囊性纤维化患者的痰中(参见 McAllister 等, J. Immunol. 175:404-412(2005))及在罹患炎性肠病的患者的结肠中(参见 Seiderer 等, Inflamm. Bowel Dis. Dec. 182007, Epub. ahead of print)上调。IL-17A/IL-17F 显示出在气道嗜中性募集中发挥作用,提示在呼吸疾病的发病机制中的作用(参见 Liang 等, J. Immunol. 179(11):7791-9(2007))。

[0340] IL-17F 和 IL-17A 还显示出被 IL-21 信号传导上调,提示与 IL-21 信号传导有关的促炎效应是由 IL-17F、IL-17A 和/或 IL-17F/IL17A 介导的(Wei 等, J Biol Chem. 282(48):34605-10(2007))。因此,本发明的抗体对于诊断、预后、监测和/或治疗由 IL-21 信号传导介导的病症疾病也是有用的,包括但不限于炎性/自身免疫性病症诸如炎性肠病、类风湿性关节炎、移植排斥、和银屑病。

[0341] 与炎性相关病症有关的症状包括例如炎症、发热、全身不适、发热、疼痛(常常位于发炎区域)、脉率快、关节疼痛或酸痛(关节痛)、呼吸快或其它异常呼吸样式、寒意、意识错乱、失去方向感、激动、眩晕、咳嗽、呼吸困难、肺部感染、心力衰竭、呼吸衰竭、水肿、重量增加、粘液脓性复发(mucopurulent relapses)、恶病质、哮喘、头痛、和腹部症状诸如例如腹痛、腹泻或便秘。与免疫相关病症有关的症状包括例如炎症、发热、食欲不振、重量减轻、腹部症状诸如例如腹痛、腹泻或便秘、关节疼痛或酸痛(关节痛)、疲劳、皮疹、贫血、对冷极度敏感(Raynaud 氏现象)、肌肉无力、肌肉疲劳、皮肤或组织紧张度变化、呼吸短促或其它异常呼吸样式、胸痛或胸肌收缩、异常心率(例如升高或降低)、光敏感、模糊或其它异常视觉、和器官功能降低。

[0342] 本发明抗体的治疗有效量一般涉及实现治疗目的所需要的量。如上所述,这可以是抗体与其抗原之间的结合相互作用,其在某些情况中干扰靶物发挥功能。需要施用的量还会取决于抗体对其特定抗原的结合亲和力,而且还会取决于所施用的抗体自作为施用对象的受试者的自由体积消减的速率。作为非限制性例子,本发明的抗体或抗体片段的治疗有效剂量给药的常用范围可以是约 0.1mg/kg 体重至约 50mg/kg 体重。常用剂量给药频率的范围可以是例如每天两次至每周一次。

[0343] 与用于诊断或治疗特定免疫相关病症的任何已知方法联合来确定。免疫相关病症的一种或多种症状的减轻指示抗体赋予临床好处。

[0344] 用于筛选拥有期望特异性的抗体的方法包括但不限于酶联免疫吸附测定法 (ELISA) 和本领域内已知的其它免疫学介导的技术。

[0345] 在另一个实施方案中, 针对 IL-17F、IL-17A 和 / 或 IL-17F/IL17A 复合物的抗体可以在本领域已知的涉及 IL-17F、IL-17A 或 IL-17A/IL-17F 复合物定位和 / 或定量的方法中使用 (例如用于测量适宜生理学样品中 IL-17F、IL-17A、和 / 或 IL-17A/IL-17F 复合物的水平, 在诊断方法中使用, 在蛋白质成像中使用, 等等)。在一个给定的实施方案中, 对 IL-17F、IL-17A 和 / 或 IL-17A/IL-17F 复合物特异性的抗体或其含有抗体衍生抗原结合域的衍生物、片段、类似物或同系物被用作药理学活性化合物 (在下文中称作“治疗剂”)。

[0346] 在另一个实施方案中, 对 IL-17F、IL-17A 和 / 或 thIL-17A/IL-17F 复合物特异性的抗体可用于通过标准技术 (诸如免疫亲和、层析或免疫沉淀) 来分离 IL-17F 或 IL-17A 多肽或 IL-17A/IL-17F 多肽。针对 IL-17F、IL-17A 和 / 或 IL-17A/IL-17F 蛋白质 (或其片段) 的抗体可在诊断上用于监测组织中的蛋白质水平, 作为临床测试规程的一部分, 例如用于确定给定治疗方案的功效。可通过将抗体偶联 (即物理连接) 至可检测物质来便于检测。可检测物质的例子包括各种酶、辅基、荧光材料、发光材料、生物发光材料、和放射性材料。合适的酶的例子包括辣根过氧化物酶、碱性磷酸酶、 β -半乳糖苷酶、或乙酰胆碱酯酶; 合适的辅基复合物的例子包括链霉亲和素 / 生物素和亲和素 / 生物素; 合适的荧光材料的例子包括伞形酮、荧光素、异硫氰酸荧光素、罗丹明、二氯三嗪胺荧光素 (dichlorotriazinylamine fluorescein)、丹酰氯或藻红蛋白; 发光材料的例子包括鲁米诺; 生物发光材料的例子包括萤光素酶、萤光素、和水母素; 而合适的放射性材料的例子包括 ^{125}I 、 ^{131}I 、 ^{35}S 或 ^3H 。

[0347] 在又一个实施方案中, 依照本发明的抗体可用作用于检测样品中 IL-17A/IL-17F 和 / 或 IL-17A/IL-17F 蛋白质 (或其蛋白质片段) 的存在的药剂。在一些实施方案中, 抗体含有可检测标记物。抗体是多克隆的, 或更优选单克隆的。使用完整抗体或其片段 (例如 Fab、scFv、或 $\text{F}(\text{ab})_2$)。关于探针或抗体的术语“经过标记的”意图涵盖通过偶联 (即物理连接) 可检测物质至探针或抗体来直接标记探针或抗体, 以及通过与经过直接标记的另一试剂的反应性来间接标记探针或抗体。间接标记的例子包括使用荧光标记的二抗检测一抗和用生物素末端标记 DNA 探针, 使得它能用荧光标记的链霉亲和素来检测。术语“生物学样品”意图包括自受试者分离的组织、细胞和生物学流体, 以及受试者内存在的组织、细胞和流体。因此, 术语“生物学样品”的使用内包括血液及血液级分或成分, 包括血清、血浆、或淋巴。就是说, 本发明的检测方法可用于在体外及在体内检测生物学样品中的分析物 mRNA、蛋白质、或基因组 DNA。例如, 用于检测分析物 mRNA 的体外技术包括 Northern 杂交和原位杂交。用于检测分析物蛋白质的体外技术包括酶联免疫吸附测定法 (ELISA)、Western 印迹、免疫沉淀、和免疫荧光。用于检测分析物基因组 DNA 的体外技术包括 Southern 杂交。用于进行免疫测定法的规程记载于例如“ELISA: Theory and Practice: Methods in Molecular Biology”, 第 42 卷, J. R. Crowther 编, Human Press, Totowa, NJ, 1995; “Immunoassay”, E. Diamandis 和 T. Christopoulos, Academic Press, Inc., San Diego, CA, 1996; 及“Practice and Theory of Enzyme Immunoassays”, P. Tijssen, Elsevier

SciencePublishers, Amsterdam, 1985。另外,用于检测分析物蛋白质的体内技术包括将经过标记的抗分析物蛋白质抗体引入受试者。例如,可以用放射性标志物标记抗体,其在受试者中的存在和位置可通过标准成像技术来检测。

[0348] huIL-17A/F 抗体的治疗性施用和配制剂

[0349] 可以将本发明的抗体(在本文中也称作“活性化合物”)及其衍生物、片段、类似物和同系物掺入适合于施用的药物组合物。制备此类组合物所涉及的原理和考虑事项,以及成分选择的指导见例如 Remington's Pharmaceutical Sciences:The Science and Practice Of Pharmacy, 第 19 版(Alfonso R. Gennaro 等编)Mack Pub. Co., Easton, Pa.: 1995; Drug Absorption Enhancement: Concepts, Possibilities, Limitations, And Trends, Harwood Academic Publishers, Langhorne, Pa., 1994; 及 Peptide and Protein Drug Delivery (Advances In Parenteral Sciences, Vol. 4), 1991, M. Dekker, New York。

[0350] 此类组合物通常包含抗体和药学可接受载体。在使用抗体片段的情况中,优选特异性结合靶蛋白质之结合域的最小抑制性片段。例如,基于抗体的可变区序列,可设计保留结合靶蛋白质序列的能力的肽分子。此类肽可化学合成和/或通过重组 DNA 技术来生成(参见例如 Marasco 等, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90: 7889-7893 (1993))。

[0351] 如本文中使用的,术语“药学可接受载体”意图包括与药物施用相容的任何和所有溶剂、分散介质、涂层、抗细菌和抗真菌剂、等张和吸收延迟剂、等等。合适的载体记载于最新版的 Remington's Pharmaceutical Sciences, 即本领域的一本标准参考书,通过述及收入本文。此类载体或稀释剂的优选例子包括但不限于水、盐水、Ringer 氏溶液、右旋糖溶液、和 5% 人血清清蛋白。也可使用脂质体和非水媒介诸如不挥发性油。此类介质和药剂用于药学活性物质的使用是本领域公知的。除非任何常规介质或药剂与活性化合物不相容,否则就涵盖其在组合物中的使用。

[0352] 要体内施用的配制剂必须是无菌的。这易于通过经由无菌滤膜过滤来实现。

[0353] 本发明的药物组合物配制成与其预定施用路径相容。施用路径的例子包括胃肠外,例如静脉内、皮内、皮下、口服(例如吸入)、经皮(即表面)、经粘膜、和直肠施用。用于胃肠外、皮内、或皮下应用的溶液或悬浮液可包括下述成分: 无菌稀释剂,诸如注射用水、盐水溶液、不挥发性油、聚乙二醇、甘油、丙二醇或其它合成溶剂; 抗细菌剂,诸如苯甲醇或对羟基苯甲酸甲酯; 抗氧化剂,诸如抗坏血酸或亚硫酸氢钠; 螯合剂,诸如乙二胺四乙酸(EDTA); 缓冲剂,诸如乙酸盐、柠檬酸盐或磷酸盐; 及用于调节张度的药剂,诸如氯化钠或右旋糖。可以用酸或碱(诸如氢氯酸或氢氧化钠)来调节 pH。胃肠外制备物可封装在玻璃或塑料制成的安瓿、一次性注射器或多剂管形瓶中。

[0354] 适合于注射使用的药物组合物包括无菌水溶液(在水溶性的情况中)或分散体及用于即时制备无菌可注射溶液或分散体的无菌粉末。对于静脉内施用,合适的载体包括生理盐水、抑菌水、Cremophor EL™ (BASF, Parsippany, N. J.) 或磷酸盐缓冲盐水(PBS)。在所有情况中,组合物必须是无菌的,而且流动性的程度应当易于注射。它在制造和贮存条件下必须是稳定的,而且必须针对微生物(诸如细菌和真菌)的污染作用提供防护。载体可以是溶剂或分散介质,包括例如水、乙醇、多元醇(例如甘油、丙二醇、和液体聚乙二醇、等等)、及其合适混合物。恰当的流动性可以例如通过使用涂层诸如卵磷脂、通过维持所需

粒度（在分散的情况下）及通过使用表面活性剂来维持。针对微生物作用的防护可以通过各种抗细菌和抗真菌剂来实现，例如对羟基苯甲酸酯类、氯丁醇、酚、抗坏血酸、硫柳汞、等等。在许多情况中，会优选在组合物中包括等张剂，例如糖、多元醇诸如甘露醇、山梨醇、氯化钠。可注射组合物的延迟吸收可通过在组合物中包括延迟吸收的药剂例如单硬脂酸铝和明胶来获得。

[0355] 无菌可注射溶液可以通过在根据需要具有上文所列一种组分或组分组合的适宜溶剂中掺入所需量的活性化合物，接着过滤除菌来制备。通常，分散体通过将活性化合物掺入含有来自上文所列的基本分散介质和所需其它组分的无菌媒介来制备。在用于制备无菌可注射溶液的无菌粉剂的情况中，制备方法是真空干燥和冷冻干燥，其自先前无菌过滤的溶液产生活性组分加任何别的期望组分的粉末。

[0356] 口服组合物一般包括惰性稀释剂或可食用载体。它们可以封装在明胶胶囊中或压缩成片剂。出于口服治疗性施用的目的，可以将活性化合物与赋形剂掺合在一起并以片剂、锭剂、或胶囊剂的形式使用。口服组合物也可使用流体载体来制备，供作为漱口水使用，其中流体载体中的化合物口腔应用，嗖嗖漱口，并吐出或吞下。可以包含药学相容的结合化合物和 / 或佐剂物质作为组合物的一部分。片剂、丸剂、胶囊、锭剂等可以含有任何下述组分或具有相似性质的化合物：粘合剂诸如微晶纤维素、黄耆胶或明胶；赋形剂诸如淀粉或乳糖，崩解剂诸如褐藻酸、Primogel、或玉米淀粉；滑润剂诸如硬脂酸镁或 Sterotes；助流剂诸如胶体二氧化硅；甜味剂诸如蔗糖或糖精；或调味剂诸如薄荷、水杨酸甲酯、或桔味剂。

[0357] 对于通过吸入进行的施用，从含有合适推进剂（例如气体诸如二氧化碳）的加压容器或分配器，或喷雾器以气溶胶喷射形式投递化合物。

[0358] 系统施用也可以是通过经粘膜或经皮手段。对于经粘膜或经皮施用，在配制剂中使用适合于要渗透的屏障的渗透剂。一般而言，此类渗透剂是本领域中已知的，而且包括例如用于经粘膜施用的去污剂、胆汁盐、和梭链孢酸衍生物。可以经由使用鼻喷雾或栓剂来实现经粘膜施用。对于经皮施用，将活性化合物配制成软膏剂、油膏剂、凝胶剂、或乳膏，如本领域中普遍知道的。

[0359] 化合物还可以以用于直肠投递的栓剂（例如用常规栓剂基质，诸如可可脂及其它甘油酯）或保留灌肠剂形式来制备。

[0360] 在一个实施方案中，活性化合物与会保护化合物免于从身体内快速消除的载体一起制备，诸如持续 / 受控释放配制剂，包括植入物和微囊化投递系统。可以使用生物可降解的、生物相容的聚合物，诸如乙烯 - 乙酸乙烯、聚（酸）酐、聚乙醇酸、胶原、多正酯（polyorthoester）、和聚乳酸。用于制备此类配制剂的方法对于本领域技术人员会是显而易见的。

[0361] 例如，活性组分可包载于例如通过凝聚技术或通过界面聚合制备的微胶囊中（例如分别是羟甲基纤维素或明胶微胶囊和聚（甲基丙烯酸甲酯）微胶囊）、在胶状药物投递系统中（例如脂质体、清蛋白微球体、微乳剂、纳米颗粒和纳米胶囊）或在粗滴乳状液中。

[0362] 可以制备持续释放制剂。持续释放制剂的合适例子包括含有抗体的固体疏水聚合物的半透性基质，该基质是定型产品的形式，例如薄膜或微胶囊。持续释放基质的例子包括聚酯、水凝胶（例如聚（2-羟乙基 - 甲基丙烯酸酯）或聚（乙烯醇））、聚交酯（美国专利 No. 3, 773, 919）、L- 谷氨酸和 γ - 乙基 L- 谷氨酸酯的共聚物、不可降解的乙烯 - 乙酸乙烯、

可降解的乳酸-乙醇酸共聚物诸如 LUPRON DEPOT™ (由乳酸-乙醇酸共聚物和醋酸亮丙瑞林构成的可注射微球体) 及聚-D-(-)-3-羟基丁酸。虽然诸如乙烯-乙酸乙烯和乳酸-乙醇酸的聚合物能够释放分子达 100 天以上,但是某些水凝胶释放蛋白质的时间较短。

[0363] 材料也可以购自 Alza Corporation 和 Nova Pharmaceuticals, Inc. 脂质体悬浮液 (包括用针对病毒抗原的单克隆抗体靶向受感染细胞的脂质体) 也可以用作药学可接受载体。这些可以依照本领域技术人员已知的方法来制备,例如如记载于美国专利号 4,522,811 的。

[0364] 为了容易施用和剂量的一致性以单位剂量形式配制口服或胃肠外组合物是尤其有利的。如本文中所使用的,剂量单位形式指物理上离散的单元,适合作为要治疗的受试者的单一剂量;每个单元含有与所需药学载体联合的,预先确定数量的活性化合物,其根据计算,产生期望的治疗效果。本发明的剂量单位形式的规格由下述各项规定,并直接依赖于下述各项:活性化合物的独特特征和要实现的特定治疗效果,及本领域配合此类活性化合物以治疗个体所固有的局限性。

[0365] 药物组合物可以与施用说明书一起包括在容器、包、或分配器中。

[0366] 根据所治疗的特定适应证的需要,配制剂还可含有超过一种活性化合物,优选那些活性互补且彼此没有不利影响的。或者/另外,组合物可包含增强其功能的药剂,诸如例如细胞毒剂、细胞因子、化疗剂、或生长抑制剂。此类分子以对于预定目的有效的量稳定地组合存在。

[0367] 在一个实施方案中,活性化合物在组合疗法中施用,即与对于治疗病理状况或病症 (诸如自身免疫性病症和炎性疾病) 有用的其它药剂 (例如治疗剂) 组合。此上下文中的术语“组合”意味着药剂是基本上同时给予的,或是同时或是序贯。如果序贯给予,那么在开始施用两种化合物中的第二化合物时,优选在处理部位仍能检测到有效浓度的第一化合物。

[0368] 例如,组合疗法可包括与一种或多种别的药剂共配制和/或共施用的本发明的一种或多种抗体,所述别的药剂例如一种或多种细胞因子和生长因子抑制剂、免疫抑制剂、抗炎剂、代谢抑制剂、酶抑制剂、和/或细胞毒剂或细胞抑制剂,如下文更详细描述。另外,本文中描述的一种或多种可以与本文中描述的两种或更多种治疗剂组合使用。此类组合疗法可有利地利用较低剂量的所施用治疗剂,如此避免可能的与各种单一疗法有关的毒性或并发症。

[0369] 与本发明的抗体组合的优选治疗剂是那些干扰炎症应答的不同阶段的药剂。在一个实施方案中,可以将本文中描述的一种或多种抗体与一种或多种别的药剂一起共配制和/或共施用,所述药剂诸如其它细胞因子或生长因子拮抗剂 (例如可溶性受体、肽抑制剂、小分子、配体融合物);或结合其它靶物的抗体或其抗原结合片段 (例如结合其它细胞因子或生长因子、它们的受体、或其它细胞表面分子的抗体);和抗炎性细胞因子或其激动剂。可以与本文中描述的抗体组合使用的药剂的非限制性例子包括但不限于一种或多种白介素 (IL) 或其受体的拮抗剂,例如 IL-1、IL-2、IL-6、IL-7、IL-8、IL-12、IL-13、IL-15、IL-16、IL-18、IL-21 和 IL-22 的拮抗剂;细胞因子或生长因子或其受体诸如肿瘤坏死因子 (TNF)、LT、EMAP-II、GM-CSF、FGF 和 PDGF 的拮抗剂。本发明的抗体还可以与细胞表面分子诸如 CD2、CD3、CD4、CD8、CD20 (例如 CD20 抑制剂利妥昔单抗 (rituximab, RITUXAN®))

)、CD25、CD28、CD30、CD40、CD45、CD69、CD80 (B7. 1)、CD86 (B7. 2)、CD90、或其配体包括 CD154 (gp39 或 CD40L)、或 LFA-1/ICAM-1 和 VLA-4/VCAM-1 (Yusuf-Makagiansar 等 (2002) Med. Res. Rev. 22:146-67) 的抑制剂 (例如抗体) 组合。可以与本文中描述的抗体组合使用的优选拮抗剂包括 IL-1、IL-12、TNF α 、IL-15、IL-18、和 IL-22 的拮抗剂。

[0370] 那些药剂的例子包括 IL-12 拮抗剂, 诸如结合 IL-12 (优选人 IL-12) 的嵌合的、人源化的、人的或体外生成的抗体 (或其抗原结合片段), 例如 W000/56772 中披露的抗体; IL-12 受体抑制剂, 例如针对人 IL-12 受体的抗体; 和 IL-12 受体 (例如人 IL-12 受体) 的可溶性片段。IL-15 拮抗剂的例子包括针对 IL-15 或其受体的抗体 (或其抗原结合片段), 例如嵌合的、人源化的、人的或体外生成的针对人 IL-15 或其受体的抗体, IL-15 受体的可溶性片段, 和 IL-15 结合蛋白。IL-18 拮抗剂的例子包括针对人 IL-18 的抗体, 例如嵌合的、人源化的、人的或体外生成的抗体 (或其抗原结合片段), IL-18 受体的可溶性片段, 和 IL-18 结合蛋白 (IL-18BP)。IL-1 拮抗剂的例子包括白介素 -1 转化酶 (ICE) 抑制剂, 诸如 Vx740, IL-1 拮抗剂, 例如 IL-1RA (anikinra, KINERETTM, Amgen), sIL1RII (Immunex), 和抗 IL-1 受体抗体 (或其抗原结合片段)。

[0371] TNF 拮抗剂的例子包括针对 TNF (例如人 TNF α) 的嵌合的、人源化的、人的或体外生成的抗体 (或其抗原结合片段), 诸如 (HUMIRATM, D2E7, 人 TNF α 抗体), CDP-571/CDP-870/BAY-10-3356 (人源化的抗 TNF α 抗体; Celltech/Pharmacia), cA2 (嵌合的抗 TNF α 抗体; REMICADE[®], Centocor); 抗 TNF 抗体片段 (例如 CPD870); TNF 受体的可溶性片段, 例如 p55 或 p75 人 TNF 受体或其衍生物, 例如 75kdTNFR-IgG (75kd TNF 受体-IgG 融合蛋白, ENBRELTM; Immunex), p55kdTNFR-IgG (55kd TNF 受体-IgG 融合蛋白 (LENERCEPT[®])); 酶拮抗剂, 例如 TNF α 转化酶 (TACE) 抑制剂 (例如 α -磺酰基羟氨基酸衍生物, 和 N-羟基甲酰胺 TACE 抑制剂 GW 3333, -005, 或 -022); 和 TNF-bp/s-TNFR (可溶性 TNF 结合蛋白)。优选的 TNF 拮抗剂是 TNF 受体的可溶性片段, 例如 p55 或 p75 人 TNF 受体或其衍生物, 例如 75kdTNFR-IgG, 和 TNF α 转化酶 (TACE) 抑制剂。

[0372] 在其它实施方案中, 本文中描述的抗体可以与一种或多种下述各项一起施用: IL-13 拮抗剂, 例如可溶性 IL-13 受体 (sIL-13) 和 / 或针对 IL-13 的抗体; IL-2 拮抗剂, 例如 DAB 486-IL-2 和 / 或 DAB 389-IL-2 (IL-2 融合蛋白, Seragen), 和 / 或针对 IL-2R 的抗体, 例如抗 Tac (人源化抗 IL-2R, Protein Design Labs)。还有一种组合包括与非消减性抗 CD4 抑制剂 (DEC-CE9. 1/SB 210396; 非消减性灵长类化抗 CD4 抗体; IDEC/SmithKline) 组合的本发明的抗体、拮抗性小分子、和 / 或抑制性抗体。还有其它的优选组合包括共刺激途径 CD80 (B7. 1) 或 CD86 (B7. 2) 的拮抗剂, 包括抗体、可溶性受体或拮抗性配体; 以及 p-选择蛋白糖蛋白配体 (PSGL), 抗炎性细胞因子, 例如 IL-4 (DNAX/Schering); IL-10 (SCH 52000; 重组 IL-10DNAX/Schering); IL-13 和 TGF- β , 及其激动剂 (例如激动性抗体)。

[0373] 在其它实施方案中, 本发明的一种或多种抗体可以与一种或多种抗炎性药物、免疫抑制剂、或代谢或酶抑制剂一起共配制和 / 或共施用。可以与本文中描述的抗体组合使用的药物或抑制剂的非限制性例子包括但不限于下述一种或多种: 非类固醇抗炎药 (nonsteroidal anti-inflammatory drug, NSAID), 例如布洛芬 (ibuprofen)、替尼达普 (tenidap)、萘普生 (naproxen)、美洛昔康 (meloxicam)、吡罗昔康 (piroxicam)、双氯芬酸 (diclofenac)、和吲哚美辛 (indomethacin); 柳氮磺吡啶 (sulfasalazine); 皮质类固醇

(corticosteroid), 诸如泼尼松龙 (prednisolone); 细胞因子遏制性抗炎药物 (cytokine suppressive anti-inflammatory drug, CSAID); 核苷酸生物合成抑制剂, 例如嘌呤生物合成抑制剂, 叶酸拮抗剂 (例如甲氨蝶呤 (methotrexate) (N-[4-[(2, 4-二氨基-6-蝶啶基) 甲基] 氨基] 苯甲酰基]-L-谷氨酸); 和嘧啶生物合成抑制剂, 例如二氢乳清酸脱氢酶 (DHODH) 抑制剂。与本发明的抗体组合使用的优选治疗剂包括 NSAID、CSAID、(DHODH) 抑制剂 (例如来氟米特 (leflunomide)), 和叶酸拮抗剂 (例如甲氨蝶呤)。

[0374] 别的抑制剂的例子包括下述一种或多种: 皮质类固醇 (口服、吸入和局部注射); 免疫抑制剂, 例如环孢菌素 (cyclosporin)、他克莫司 (tacrolimus) (FK-506); 和 mTOR 抑制剂, 例如西罗莫司 (sirolimus) (雷帕霉素 (rapamycin) - RAPAMUNE™ 或雷帕霉素衍生物, 例如可溶性雷帕霉素衍生物 (例如酯雷帕霉素衍生物, 例如 CCI-779); 干扰由促炎性细胞因子诸如 TNF α 或 IL-1 进行的信号传导的药剂 (例如 IRAK、NIK、IKK、p38 或 MAP 激酶抑制剂); COX2 抑制剂, 例如塞来考昔 (celecoxib)、罗非考昔 (rofecoxib)、及其变体; 磷酸二酯酶抑制剂, 例如 R973401 (磷酸二酯酶 IV 型抑制剂); 磷脂酶抑制剂, 例如细胞溶质磷脂酶 2 (cPLA2) 的抑制剂 (例如三氟甲基酮类似物); 血管内皮细胞生长因子或生长因子受体的抑制剂, 例如 VEGF 抑制剂和 / 或 VEGF-R 抑制剂; 和血管发生抑制剂。与本发明的抗体组合使用的优选治疗剂是免疫抑制剂, 例如环孢菌素, 他克莫司 (FK-506); mTOR 抑制剂, 例如西罗莫司 (雷帕霉素) 或雷帕霉素衍生物, 例如可溶性雷帕霉素衍生物 (例如酯雷帕霉素衍生物, 例如 CCI-779); COX2 抑制剂, 例如塞来考昔及其变体; 和磷脂酶抑制剂, 例如细胞溶质磷脂酶 2 (cPLA2) 的抑制剂, 例如三氟甲基酮类似物。

[0375] 可以与本发明的抗体组合的治疗剂的别的例子包括下述一种或多种: 6-巯嘌呤 (6-MP); 硫唑嘌呤 (azathioprine) 柳氮磺吡啶 (sulphasalazine); 美沙拉秦 (mesalazine); 奥沙拉秦 (olsalazine); 氯喹 (chloroquine)/ 羟氯喹 (hydroxychloroquine) (PLAQUENIL®); 青霉胺 (pencillamine); aurothiornalate (肌肉内和口服); 硫唑嘌呤; 秋水仙素 (coichicine); β -2 肾上腺素受体激动剂 (沙丁胺醇 (salbutamol)、特布他林 (terbutaline)、沙美特罗 (salmeteral)); 黄嘌呤 (茶碱 (theophylline)、氨茶碱 (aminophylline)); 色甘酸盐 (cromoglycate); 奈多罗米 (nedocromil); 甲哌噻庚酮 (ketotifen); 异丙托铵 (ipratropium) 和 oxitropium; 霉酚酸吗乙酯 (mycophenolate mofetil); 腺苷激动剂; 抗血栓药; 补体抑制剂; 和肾上腺素能药。

[0376] 可以与本发明的抗体组合, 用于治疗或预防关节炎病症 (例如类风湿性关节炎、炎性关节炎、类风湿性关节炎、幼年型类风湿性关节炎、骨关节炎和银屑病关节炎) 的药剂的非限制性例子包括下述一种或多种: 如本文中描述的 IL-12 拮抗剂; NSAID; CSAID; 如本文中描述的 TNF (例如 TNF α) 拮抗剂; 如本文中描述的非消减性抗 CD4 抗体; 如本文中描述的 IL-2 拮抗剂; 抗炎性细胞因子, 例如 IL-4、IL-10、IL-13 和 TGF α , 或其激动剂; 如本文中描述的 IL-1 或 IL-1 受体拮抗剂; 如本文中描述的磷酸二酯酶抑制剂; 如本文中描述的 Cox-2 抑制剂; 伊洛前列素 (iloprost); 甲氨蝶呤; 沙利度胺 (thalidomide) 和沙利度胺相关药物 (例如 Celgen); 来氟米特; 纤溶酶原活化的抑制剂, 例如氨甲环酸 (tranexamic acid); 细胞因子抑制剂, 例如 T-614; 前列腺素 E1; 硫唑嘌呤; 白介素 -1 转化酶 (ICE) 的抑制剂; zap-70 和 / 或 lck 抑制剂 (酪氨酸激酶 zap-70 或 lck 的抑制剂); 如本文中描述的血管

内皮细胞生长因子或血管内皮细胞生长因子受体的抑制剂;如本文中描述的血管发生抑制剂;皮质类固醇抗炎药(例如 SB203580);TNF 转化酶抑制剂;IL-11;IL-13;IL-17 抑制剂;金;青霉胺;氯喹;羟氯喹;苯丁酸氮芥(chlorambucil);环磷酰胺(cyclophosphamide);环孢霉素(cyclosporine);全淋巴照射;抗胸腺细胞球蛋白;CD5-毒素;口服施用的肽和胶原;氯苯扎利二钠(lobenzarit disodium);细胞因子调节剂(CRA)HP228 和 HP466(Houghten Pharmaceuticals, Inc.);ICAM-1 反义磷硫酰(phosphorothioate)寡聚脱氧核苷酸(ISIS 2302;Isis Pharmaceuticals, Inc.);可溶性补体受体 1(TP10;T Cell Sciences, Inc.);泼尼松(prednisone);奥古蛋白(orgotein);多硫酸糖胺聚糖(glycosaminoglycan polysulphate);米诺霉素(minocycline) (**MINOCIN®**);抗 IL2R 抗体;海洋和植物脂质(鱼和植物种子脂肪酸);auranofm;苯丁唑酮(phenylbutazone);甲氯芬那酸(meclofenamic acid);氟芬那酸(flufenamic acid);静脉内免疫球蛋白;齐留通(zileuton);霉酚酸(RS-61443);他克莫司(FK-506);西罗莫司(雷帕霉素);氨普利糖(amiprilose)(Therafectin);克拉屈滨(cladribine)(2-氯脱氧腺苷);和阿扎立平(azaribine)。优选的组合包括与甲氨蝶呤或来氟米特和(在中度或重度类风湿性关节炎的情况下)环孢霉素组合的本发明的一种或多种抗体。

[0377] 与本发明的抗体组合使用来治疗关节炎病症的抑制剂的优选例子包括 TNF 拮抗剂(例如结合 TNF 的嵌合的、人源化的、人的或体外生成的抗体,或其抗原结合片段;TNF 受体的可溶性片段,例如 p55 或 p75 人 TNF 受体或其衍生物,例如 75kdTNFR-IgG(75kd TNF 受体-IgG 融合蛋白,ENBREL™),p55kd TNF 受体-IgG 融合蛋白;TNF 酶拮抗剂,例如 TNF α 转化酶(TACE)抑制剂);IL-12、IL-15、IL-18、IL-22 的拮抗剂;T 细胞和 B 细胞消减剂(例如抗 CD4 或抗 CD22 抗体);小分子抑制剂,例如甲氨蝶呤和来氟米特;西罗莫司(雷帕霉素)及其类似物,例如 CCI-779;cox-2 和 cPLA2 抑制剂;NSAID;p38 抑制剂,TPL-2,Mk-2 和 NFkb 抑制剂;RAGE 或可溶性 RAGE;P-选择蛋白或 PSGL-1 抑制剂(例如小分子抑制剂,其抗体,例如针对 P-选择蛋白的抗体);雌激素受体 β (ERB) 激动剂或 ERB-NFkb 拮抗剂。可以与本发明的一种或多种抗体一起共施用和/或共配制的最优选的别的治疗剂包括下述一种或多种:TNF 受体的可溶性片段,例如 p55 或 p75 人 TNF 受体或其衍生物,例如 75kdTNFR-IgG(75kd TNF 受体-IgG 融合蛋白,ENBREL™);甲氨蝶呤,来氟米特,或西罗莫司(雷帕霉素)或其类似物,例如 CCI-779。

[0378] 可以与本发明的抗体组合,用于治疗或预防多发性硬化的药剂的非限制性例子包括下述各项:干扰素,例如干扰素- α (例如 AVONEX™;Biogen)和干扰素- β (BETASERON™ Chiron/Berlex);Copolymer 1(Cop-1;COPAXONE™ Teva Pharmaceutical Industries, Inc.);高压氧;静脉内免疫球蛋白;克拉屈滨;TNF 拮抗剂,如本文中描述的;皮质类固醇;泼尼松龙;甲泼尼龙(methylprednisolone);硫唑嘌呤;环磷酰胺;环孢霉素;环孢霉素 A;甲氨蝶呤;4-氨基吡啶;和替扎尼定(tizanidine)。可以与本发明的抗体组合使用的别的拮抗剂包括针对其它人细胞因子或生长因子(例如 TNF、LT、IL-1、IL-2、IL-6、IL-7、IL-8、IL-12、IL-15、IL-16、IL-18、EMAP-11、GM-CSF、FGF、和 PDGF)的抗体或拮抗剂。如本文中描述的抗体可以与针对细胞表面分子(诸如 CD2、CD3、CD4、CD8、CD25、CD28、CD30、CD40、CD45、CD69、CD80、CD86、CD90 或其配体)的抗体组合。本发明的抗体还可以与下述药剂组合,诸如甲氨蝶呤、环孢霉素、FK506、雷帕霉素、霉酚酸吗乙酯、来氟米特、NSAID

例如布洛芬 (ibuprofen)、皮质类固醇诸如泼尼松龙、磷酸二酯酶抑制剂、腺苷激动剂、抗血栓剂、补体抑制剂、肾上腺素能药、干扰由如本文中所描述的促炎性细胞因子进行的信号传导的药剂、IL-1b 转化酶抑制剂 (例如 Vx740)、抗 P7、PSGL、TACE 抑制剂、T 细胞信号传导抑制剂诸如激酶抑制剂、金属蛋白酶抑制剂、柳氮磺吡啶、硫唑嘌呤、6- 巯嘌呤、血管紧张素转化酶抑制剂、如本文中描述的可溶性细胞因子受体及其衍生物、及抗炎性细胞因子 (例如 IL-4、IL-10、IL-13 和 TGF)。

[0379] 可以与本发明的抗体组合,用于多发性硬化的治疗剂的优选例子包括干扰素- β , 例如 IFN β -1a 和 IFN β -1b; Copaxone, 皮质类固醇, IL-1 抑制剂, TNF 抑制剂, 针对 CD40 配体和 CD80 的抗体, IL-12 拮抗剂。

[0380] 可以与本发明的抗体组合,用于治疗或预防炎性肠病 (例如克罗恩氏病、溃疡性结肠炎) 的药剂的非限制性例子包括下述各项: 布地奈德 (budesonide); 表皮生长因子; 皮质类固醇; 环孢霉素; 柳氮磺吡啶; 氨基水杨酸盐; 6- 巯嘌呤; 硫唑嘌呤; 甲硝唑 (metronidazole); 脂氧化酶抑制剂; 美沙拉秦 (mesalamine); 奥沙拉秦; 巴柳氮 (balsalazide); 抗氧化剂; 血栓素抑制剂; IL-1 受体拮抗剂; 抗 IL-1 单克隆抗体; 抗 IL-6 单克隆抗体; 生长因子; 弹性酶抑制剂; 吡啶基-咪唑化合物; TNF 拮抗剂, 如本文中描述的; IL-4、IL-10、IL-13 和 / 或 TGF β 细胞因子或其激动剂 (例如激动性抗体); IL-11; 葡萄糖苷酸或右旋糖苷偶联的泼尼松龙、地塞米松或布地奈德前体药物; ICAM-1 反义磷硫酰寡聚脱氧核苷酸 (ISIS 2302; Isis Pharmaceuticals, Inc.); 可溶性补体受体 1 (TP10; T Cell Sciences, Inc.); 缓释, 美沙拉秦; 甲氨蝶呤; 血小板活化因子 (PAF) 的拮抗剂; 环丙沙星 (ciprofloxacin); 和利多卡因 (lignocaine)。

[0381] 可以与本发明的抗体组合,用于治疗或预防银屑病的药剂的非限制性例子包括下述各项: 皮质类固醇; 维生素 D3 及其类似物; 类视黄醇 (例如 soriatane); 甲氨蝶呤; 环孢霉素; 6- 巯鸟嘌呤; Accutane; 羟基脲 (hydroxyurea); 柳氮磺吡啶; 霉酚酸吗乙酯; 硫唑嘌呤; 他克莫司; 富马酸酯; 生物制品, 诸如 Amevive、Enbrel、Humira、Raptiva 和 Remicade、Ustekinumab、和 XP-828L; 光疗; 和光化学疗法 (例如补骨脂素和紫外线光疗组合)。

[0382] 可以与本发明的抗体组合,用于治疗或预防炎性气道 / 呼吸疾病 (例如慢性阻塞性肺病症, 哮喘) 的药剂的非限制性例子包括下述各项: β 2- 肾上腺素受体激动剂 (例如沙丁胺醇 (albuterol USAN)、levalbuterol、特布他林、比托特罗 (bitolterol)); 长效 β 2- 肾上腺素受体激动剂 (例如沙美特罗 (salmeterol)、福莫特罗 (formoterol)、班布特罗 (bambuterol)); 肾上腺素能激动剂 (例如吸入 Epinephrine 和 Ephedrine 片剂); 抗胆碱能药物 (例如异丙托溴铵 (ipratropium bromide)); Combinations of 吸入类固醇和长效支气管扩张剂的组合 (例如氟替卡松 (fluticasone) / 沙美特罗 (salmeterol) (美国的 Advair 和英国的 Seretide) 或布地奈德 (budesonide) / 福莫特罗 (formoterol) (Symbicort)); 吸入糖皮质激素 (例如环索奈德 (ciclesonide)、倍氯米松 (beclomethasone)、布地奈德 (budesonide)、氟尼缩松 (flunisolide)、氟替卡松 (fluticasone)、莫米松 (mometasone)、曲安西龙 (triamcinolone)); 白三烯改性剂 (例如孟鲁司特 (montelukast)、扎鲁司特 (zafirlukast)、普仑司特 (pranlukast)、和齐留通); 肥大细胞稳定剂 (例如色甘酸盐 (cromoglicate) (Cromolyn) 和奈多罗米); 抗毒蕈碱类

/ 抗胆碱能类 (例如异丙托铵、oxitropium、tiotropium); 甲基黄嘌呤类 (例如茶碱、氨茶碱); 抗组胺类; IgE 阻断剂 (例如 Omalizumab); M3 毒蕈碱拮抗剂 (抗胆碱能类) (例如异丙托铵、tiotropium); cromones (例如色甘酸盐、奈多罗米); 黄嘌呤类 (例如茶碱); 和 TNF 拮抗剂 (例如英夫利昔单抗 (infliximab)、阿达木单抗 (adalimumab) 和依那西普 (etanercept))。

[0383] 在一个实施方案中, 本发明的抗体可以与一种或多种针对调节免疫应答 (例如移植排斥) 所涉及的其它靶物的抗体组合使用。

[0384] 可以与本发明的抗体组合, 用于治疗或预防免疫应答的药剂的非限制性例子包括下述各项: 针对其它细胞表面分子包括但不限于 CD25 (白介素 -2 受体 - α)、CD11a (LFA-1)、CD54 (ICAM-1)、CD4、CD45、CD28/CTLA4 (CD80 (B7.1), 例如 CTLA4Ig-abatacept (**ORENCIA®**))、ICOSL、ICOS 和 / 或 CD86 (B7.2) 的抗体。在又一个实施方案中, 本发明的抗体与一种或多种一般性免疫抑制剂诸如环孢菌素 A 或 FK506 组合使用。

[0385] 在其它实施方案中, 使用抗体作为针对自身免疫性病症、炎性疾病、等的疫苗佐剂。用于治疗这些类型病症的佐剂组合适合于与极其多种如下抗原组合使用, 所述抗原来自靶定的自体抗原, 即涉及自身免疫的自身抗原, 例如髓磷脂碱性蛋白质; 炎性自体抗原, 例如淀粉状蛋白肽蛋白质; 或移植抗原, 例如同种异体抗原。抗原可包含自蛋白质衍生的肽或多肽, 以及任何下述各项的片段: 糖类、蛋白质类、多核苷酸类或寡核苷酸类、自身抗原类、淀粉状蛋白肽蛋白质、移植抗原类、变应原类、或其它高分子成分。在一些情况中, 抗原性组合物中包括超过一种抗原。

[0386] 例如, 用于在脊椎动物宿主中缓和或变应原的响应的期望疫苗 (其含有本发明的佐剂组合) 包括那些含有变应原或其片段的。此类变应原的例子记载于美国专利 No. 5, 830, 877 和已公开的国际专利申请号 WO 99/51259 (通过述及完整收入本文), 而且包括花粉、昆虫毒液、动物皮屑、真菌孢子和药物 (诸如青霉素)。疫苗干扰 IgE 抗体 (变应性反应的一个已知原因) 的生成。在另一个例子中, 用于在脊椎动物宿主中预防或治疗特征为淀粉状蛋白沉积的疾病的期望疫苗 (其含有本发明的佐剂组合) 包括那些含有淀粉状蛋白肽蛋白质 (amyloid peptide protein, APP) 一部分的。这种疾病不同地称作阿尔茨海默氏病、淀粉样变或淀粉状蛋白生成性疾病 (amyloidogenic disease)。如此, 本发明的疫苗包括本发明的佐剂组合加 A β 肽, 以及 A β 肽的片段和针对 A β 肽或其片段的抗体。

[0387] 其它治疗剂的设计和生成

[0388] 依照本发明和基于本文中关于 IL-17F、IL-17A 和 / 或 IL-17A/IL-17F 生成和表征的抗体的活性, 抗体模块以外的其它治疗模态的设计得到了推动。此类模态包括但不限于高级抗体治疗剂, 诸如双特异性抗体、免疫毒素、和放射性标记的治疗剂, 肽治疗剂的生成, 基因疗法, 特别是胞内抗体, 反义治疗剂, 和小分子。

[0389] 例如, 关于双特异性抗体, 可生成包含下述各项的双特异性抗体: (i) 偶联在一起的两种抗体, 一种具有对 IL-17F、IL-17A 和 / 或 IL-17A/IL-17F 的特异性, 而另一种具有对第二分子的特异性, (ii) 单一抗体, 其具有对 IL-17F、IL-17A 和 / 或 IL-17A/IL-17F 特异性的一条链和对第二分子特异性的第二条链, 或 (iii) 单链抗体, 其具有对 IL-17F、IL-17A 和 / 或 IL-17A/IL-17F 和第二分子的特异性。此类双特异性抗体使用公知的技术来生成,

例如关于 (i) 和 (ii) 参见例如 Fanger 等, *Immunol Methods* 4:72-81(1994) 及 Wright 等, *Crit. Reviews in Immunol.* 12:125-168(1992), 而关于 (iii) 参见例如 Traunecker 等, *Int. J. Cancer (Suppl.)* 7:51-52(1992)。

[0390] 关于免疫毒素,可利用本领域公知的技术修饰抗体来作为免疫毒素起作用。参见例如 Vitetta, *Immunol Today* 14:252(1993)。还可参见美国专利 No. 5, 194, 594。关于放射性标记的抗体的制备,此类经过修饰的抗体也可利用本领域公知的技术容易地制备。参见例如 Junghans 等, 于 *Cancer Chemotherapy and Biotherapy*, 第 655-686 页(第 2 版, Chafner 和 Longo 编, Lippincott Raven(1996))。还可参见美国专利 No. 4, 681, 581, 4, 735, 210, 5, 101, 827, 5, 102, 990(Re35, 500), 5, 648, 471, 及 5, 697, 902。免疫毒素和放射性标记的分子都会有可能杀死表达 IL-17F、IL-17A 和 / 或 IL-17A/IL-17F 的细胞。

[0391] 关于治疗性肽的生成,通过利用关于 IL-17F、IL-17A 和 / 或 IL-17A/IL-17F 及其抗体(诸如本发明的抗体或筛选肽文库)的结构信息,能生成针对 IL-17F、IL-17A 和 / 或 IL-17A/IL-17F 的治疗性肽。关于肽治疗剂的设计和筛选的讨论见 Houghten 等, *Biotechniques* 13:412-421(1992); Houghten, *PNAS USA* 82:5131-5135(1985); Pinalla 等, *Biotechniques* 13:901-905(1992); Blake 和 Litzi-Davis, *BioConjugate Chem.* 3:510-513(1992)。与上文关于抗体讨论的一样,关于肽模块,也可制备免疫毒素和放射性标记的分子,而且是以相似的方式。假设 IL-17F、IL-17A 和 / 或 IL-17A/IL-17F 分子(或一种形式,诸如剪接变体或可变形式)在疾病过程中在功能上有活性,那么也会有可能经由常规技术来设计针对它的基因和反义治疗剂。此类模态可用于调控 IL-17F、IL-17A 和 / 或 IL-17A/IL-17F 的功能。与它有关,本发明的抗体推动与它有关的功能测定法的设计和使用。关于用于反义治疗剂的一种设计和策略的详细讨论见国际专利申请号 WO 94/29444。用于基因疗法的设计和策略是公知的。然而,特别地,设计胞内抗体的基因治疗技术的使用会证明是特别有利的。参见例如 Chen 等, *Human Gene Therapy* 5:595-601(1994) 及 Marasco, *Gene Therapy* 4:11-15(1997)。关于基因治疗剂有关的一般设计和考虑的讨论见国际专利申请号 WO 97/38137。

[0392] 自 IL-17F、IL-17A 和 / 或 IL-17A/IL-17F 分子的结构及其与本发明其它分子(诸如本发明的抗体)等的相互作用获得的知识可用于理性设计别的治疗模态。在这点上,理性药物设计技术诸如 X 射线晶体学、计算机帮助(或辅助)分子建模(CAMM)、定量或定性结构-活性联系(QSAR)、和类似技术可用于聚焦药物发现努力。理性设计容许预测能与分子或其特定形式相互作用的蛋白质或合成结构,其可用于修饰或调控 IL-17F、IL-17A 和 / 或 IL-17A/IL-17F 的活性。此类结构可以化学合成或在生物学系统中表达。关于这种办法的综述见 Capsey 等, *Genetically Engineered Human Therapeutic Drugs* (Stockton Press, NY(1988))。另外,可以设计并合成组合文库,并在筛选程序(诸如高通量筛选努力)中使用。

[0393] 筛选方法

[0394] 本发明提供用于鉴定调控剂,即调控、阻断、抑制、降低、拮抗、中和或以其它方式干扰 IL-17、IL-17A 和 / 或 IL-17A/IL-17F 复合物结合其先天受体的候选物或测试化合物或试剂(例如肽、肽模拟物、小分子或其它药物),或调控、阻断、抑制、降低、拮抗、中和或以其它方式干扰 IL-17、IL-17A 和 / 或 IL-17A/IL-17F 复合物信号传导功能的候选物或测试

化合物或试剂的方法（在本文中也称作“筛选测定法”）。还提供鉴定可用于治疗与 IL-17、IL-17A 和 / 或 IL-17A/IL-17F 信号传导有关的病症的化合物的方法。本发明还包括在本文所述筛选测定法中鉴定的化合物。

[0395] 在一个实施方案中，本发明提供用于筛选调控 IL-17、IL-17A 和 / 或 IL-17A/IL-17F 信号传导功能的候选物或测试化合物的测定法。本发明的测试化合物可以使用本领域已知的组合文库法中的众多办法之一来获得，包括：生物学文库；空间可寻址平行固相或溶液相文库；需要解卷积 (deconvolution) 的合成文库法；“一珠一化合物 (one-bead one-compound)” 文库法；和使用亲和层析选择的合成文库法。生物学文库办法限于肽文库，而其它四种办法适用于肽、非肽寡聚物或小分子化合物文库（参见例如 Lam, 1997. *Anticancer Drug Design* 12:145）。

[0396] 如本文中使用的，“小分子”意指具有小于约 5kD 和最优选小于约 4kD 的分子量的组合物。小分子可以是例如核酸、肽、多肽、肽模拟物、碳水化合物、脂质或其它有机或无机分子。化学和 / 或生物学混合物的文库，诸如真菌、细菌、或藻类提取物，是本领域已知的，而且可以用本发明的任何测定法来筛选。

[0397] 在本领域中能找到用于合成分子文库的方法的例子，例如 DeWitt, et al., 1993. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 90:6909; Erb, 等, 1994. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 91:11422; Zuckermann, 等, 1994. *J. Med. Chem.* 37:2678; Cho, 等, 1993. *Science* 261:1303; Carrell, 等, 1994. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 33:2059; Carrell, 等, 1994. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 33:2061; 和 Gallop, 等, 1994. *J. Med. Chem.* 37:1233。

[0398] 可以在溶液中（参见例如 Houghten, 1992. *Biotechniques* 13:412421），或者在珠（参见 Lam, 1991. *Nature* 354:8284）、芯片（参见 Fodor, 1993. *Nature* 364:555556）、细菌（参见美国专利 No. 5, 223, 409）、孢子（参见美国专利 5, 233, 409）、质粒（参见 Cull, 等, 1992. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89:18651869）或噬菌体（参见 Scott 和 Smith, 1990. *Science* 249:386390; Devlin, 1990. *Science* 249:404406; Cwirla, 等, 1990. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 87:63786382; Felici, 1991. *J. Mol. Biol.* 222:301310；和美国专利 No. 5, 233, 409）上展示化合物文库。

[0399] 在一个实施方案中，将候选化合物引导给抗体-抗原复合物并确定候选化合物是否破坏抗体-抗原复合物，其中对此复合物的破坏指示候选化合物调控 IL-17、IL-17A 和 / 或 IL-17A/IL-17F 复合物信号传导功能。例如，抗体是单克隆抗体 5E12（“Mab05”）而抗原是 IL-17F，或者抗体是单克隆抗体 41B10 而抗原是 IL-17F 或 IL-17A/IL-17F。或者，单克隆抗体是 30D12、29D8、1E4、31A3、39F12、12B12、15B7、4H11、4B11、8B11、38B1、15E6、30D12BF、15E6FK、或 39F12A，而抗原是 IL-17F、IL-17A 或 IL-17A/IL-17F 复合物。

[0400] 在另一个实施方案中，提供 IL-17A/IL-17F 复合物，并暴露于至少一种中和性单克隆抗体。检测抗体-抗原复合物的形成，并且将一种或多种候选化合物引导给复合物。如果抗体-抗原复合物在引入一种或多种候选化合物后遭到破坏，那么候选化合物可用于治疗与 IL-17F、IL-17A 和 / 或 IL-17A/IL-17F 信号传导有关的病症。

[0401] 在另一个实施方案中，提供本发明的可溶性蛋白质，并暴露于至少一种中和性单克隆抗体。检测抗体-抗原复合物的形成，并且将一种或多种候选化合物引导给复合物。如果抗体-抗原复合物在引入一种或多种候选化合物后遭到破坏，那么候选化合物可用于治

疗与 IL-17F、IL-17A 和 / 或 IL-17A/IL-17F 信号传导有关的病症。

[0402] 测试化合物干扰或破坏抗体 - 抗原复合物的能力的确定可例如如下来实现,即将测试化合物与放射性同位素或酶标记物偶联,使得可通过检测复合物中的经标记化合物来确定测试化合物对抗原或其生物学活性部分的结合。例如,可以用 ^{125}I 、 ^{35}S 、 ^{14}C 、或 ^3H 标记测试化合物,或是直接地或是间接地,并且可以通过放射性发射直接计数或通过闪烁计数来检测放射性同位素。或者,可以用例如辣根过氧化物酶、碱性磷酸酶、或萤光素酶标记测试化合物,并且可以通过确定适宜底物转变成产物来检测酶标记物。

[0403] 在一个实施方案中,测定法包括使抗体 - 抗原复合物与测试化合物接触,并测定测试化合物干扰抗原或以其它方式破坏已有抗体 - 抗原复合物的能力。在此实施方案中,测定测试化合物干扰抗原和 / 或抗体 - 抗原复合物的能力包括测定测试化合物,与抗体相比,优先结合抗原或其生物学活性部分的能力。

[0404] 在另一个实施方案中,测定法包括使抗体 - 抗原复合物与测试化合物接触,并测定测试化合物调控抗体 - 抗原复合物的能力。测定测试化合物调控抗体 - 抗原复合物的能力可如下来实现,例如通过测定在测试化合物存在下抗原结合抗体或与抗体相互作用的能力。

[0405] 本领域技术人员会认识到,在本文中所公开的任何筛选方法中,抗体可以是中和性抗体,诸如单克隆抗体 30D12、29D8、1E4、31A3、4B11、39F12、12B12、15B7、4H11、8B11、38B1、15E6、30D12BF、15E6FK、或 39F12A,其中每一项调控或以其它方式干扰促炎性细胞因子生成。

[0406] 本文中所公开的筛选方法可以作为基于细胞的测定法或无细胞的测定法来实施。本发明的无细胞的测定法适应于使用可溶性 IL-17F、IL-17A、和 / 或 IL-17A/IL-17F,及其片段。

[0407] 在超过一个实施方案中,可能想要固定化抗体或抗原以便于在导入候选化合物后将抗体或抗原之一或二者的复合形式与未复合形式分开,以及适应测定法的自动化。在候选化合物存在和缺失下对抗体 - 抗原复合物的观察可以在适合于容纳反应物的任何容器中进行。此类容器的例子包括微量滴定板、试管、和微量离心管。在一个实施方案,可以提供融合蛋白,其添加容许蛋白质之一或二者结合至基质的结构域。例如,可以使 GST 抗体融合蛋白或 GST 抗原融合蛋白吸附到谷胱甘肽 Sepharose 珠 (Sigma Chemical, St. Louis, MO) 或谷胱甘肽衍生微量滴定板上,然后与测试化合物组合,并且将混合物在有益于复合物形成的条件 (例如盐和 pH 的生理学条件) 下温育。温育后,将珠或微量滴定板孔清洗以除去任何未结合的成分,在珠的情况下可以将基质固定化,可以直接或间接测定复合物。或者,可以自基质解离复合物,并且可以使用标准技术来测定抗体 - 抗原复合物形成的水平。

[0408] 用于在基质上固定化蛋白质的其它技术也可用于本发明的筛选测定法。例如,可以利用生物素和链霉亲和素的偶联来固定化抗体 (例如 30D12、29D8、1E4、31A3、39F12、12B12、15B7、4H11、4B11、8B11、38B1、15E6、30D12BF、15E6FK 或 39F12A) 或抗原 (例如 IL-17F、IL-17A 或 IL-17A/IL-17F 蛋白质)。可以使用本领域公知的技术 (例如生物素化试剂盒, Pierce Chemicals, Rockford, Ill.) 自生物素 NHS (N- 羟基琥珀酰亚胺) 制备生物素化的抗体或抗原分子,并在经链霉亲和素包被的 96 孔板 (Pierce Chemical) 中固定化。或者,可以将对感兴趣抗体或抗原具有反应性但不干扰感兴趣抗体 - 抗原复合物形成的其它

抗体衍生化至板的孔,并且可以通过抗体偶联来捕捉孔中未结合的抗体或抗原。在上文关于 GST 固定化复合物描述的那些之外,用于检测此类复合物的方法包括使用此类对抗体或抗原反应性的其它抗体对复合物的免疫检测。

[0409] 本发明进一步关于通过任何上述筛选测定法鉴定的新试剂及其用于治疗用途,如本文中描述的。

[0410] 诊断和预防配制剂

[0411] 在诊断和预防配制剂中使用本发明的 huIL-17A/F 单抗。在一个实施方案中,对有风险形成一种或多种上述自身免疫性或炎症疾病的患者施用 IL-17F、IL-17A 和 / 或 IL-17A/IL-17F 拮抗剂,诸如本发明的 huIL-17A/F 单抗,所述疾病诸如例如但不限于类风湿性关节炎、克罗恩氏病、银屑病、多发性硬化、慢性阻塞性肺病、哮喘、血管发生和癌症。患者或器官对一种或多种上述自身免疫性、炎症和细胞增殖性病症的患病倾向性可使用基因分型、血清学或生物化学标志物来鉴定。

[0412] 在本发明的另一个实施方案中,对诊断有与一种或多种上述自身免疫性或炎症疾病有关的临床适应证的人类个体施用 IL-17F、IL-17A 和 / 或 IL-17A/IL-17F 拮抗剂,诸如 huIL-17A/F 抗体,所述疾病诸如类风湿性关节炎、克罗恩氏病、银屑病、多发性硬化、慢性阻塞性肺病、哮喘、血管发生和癌症。在诊断后,施用 IL-17F、IL-17A 和 / 或 IL-17A/IL-17F 拮抗剂(诸如 huIL-17A/F 抗体)来减轻或逆转与类风湿性关节炎、克罗恩氏病、银屑病、多发性硬化、慢性阻塞性肺病、哮喘、血管发生和癌症有关的临床适应证的影响。

[0413] 本发明的抗体在患者样品中 IL-17F、IL-17A 和 / 或 IL-17A/IL-17F 的检测中也是有用的,而且因而作为诊断剂是有用的。例如,在体外测定法例如 ELISA 中使用本发明的 huIL-17A/F 抗体来检测患者样品中的 IL-17F、IL-17A 和 / 或 IL-17A/IL-17F 水平。

[0414] 在一个实施方案中,在固体支持物(例如微量滴定板的孔)上固定化本发明的 huIL-17A/F 抗体。固定化的抗体充当测试样品中可能存在的任何 IL-17F、IL-17A 和 / 或 IL-17A/IL-17F 的捕捉抗体。在使固定化的抗体与患者样品接触之前,将固体支持物漂洗并用封闭剂诸如乳中的蛋白质或清蛋白处理以防止分析物的非特异性吸附。

[0415] 随后,将孔用怀疑含有抗原的测试样品或含有标准量的抗原的溶液处理。认为这样的样品,例如来自怀疑具有一定水平的循环抗原的受试者的血清样品,对病理是有诊断意义的。漂洗掉测试样品或标准品后,将固体支持物用可检测标记的二抗处理。标记的二抗充当检测抗体。测量可检测标记物的水平,并通过与自标准样品绘制的标准曲线比较来确定测试样品中的 IL-17F、IL-17A 和 / 或 IL-17A/IL-17F 抗原浓度。

[0416] 会领会,基于在体外诊断测定法中使用本发明的 huIL-17A/F 抗体获得的结果,有可能基于 IL-17F、IL-17A 和 / 或 IL-17A/IL-17F 抗原的表达水平给受试者中的疾病(例如与缺血、自身免疫性或炎症病症有关的临床适应证)分级。对于给定的疾病,自诊断为处于疾病发展中各阶段和 / 或处于疾病治疗性处理中各点的受试者采集血液样品。使用为疾病发展或治疗的每个阶段提供统计学显著结果的样品群,指定认为是每个阶段特征性的抗原浓度范围。

[0417] 通过述及将本文中引用的所有出版物和专利文件收入本文,就像明确地且个别地指出通过述及将每一篇所述出版物或文件收入本文。对出版物和专利文件的引用不是意图承认任一篇是相关现有技术,也不是构成任何承认其内容或日期。现在已经经由书面说明

描述了本发明,本领域技术人员会认识到可以以多种实施方案来实践本发明,而且上述说明和下文实施例是出于例示而非限制所附权利要求的目的。

实施例

[0418] 实施例 1:人 IL-17F、大鼠 ILF、猕猴 IL-17F 和 IL-17A 的克隆、表达和纯化克隆

[0419] 通过 PCR 扩增编码成熟人 IL-17F(AF384857, 氨基酸 31-163)、大鼠 IL-17F(AAH91568, 氨基酸 21-153)、猕猴 IL-17F(与序列 XP_001106517, 氨基酸 31-163 相同)和猕猴 IL-17A(与序列 XP_001106391, 氨基酸 20-155 相同)的 cDNA,并在 PCR4TOPO 载体(Invitrogen)中克隆。在另一个 PCR 步骤时,在细胞因子编码序列的 N 端处引入 His 标签或 His 标签接着 AviTag(Avidity, Denver CO)。然后将这些构建物融合至前导序列并在相应的表达载体中亚克隆。

[0420] 自杆状病毒感染的细胞表达和纯化人 IL-17F 和大鼠 IL-17F

[0421] 将前面有 GP67 前导序列(MLLVNQSHQGFGNKEHTSKMVSAIVLYVLLAAAAHSAFA;SEQ ID NO:41)的带 His 标签的 huIL-17F 或大鼠 IL-17F 亚克隆入杆状病毒杆粒载体 pFASTBAC Dual(Invitrogen)。转染入 Sf9 细胞后,分离并扩增重组病毒。为了蛋白质生成,用杆状病毒感染 Hi5 细胞或 SF9 细胞并于 27°C 温育 3 天。将细胞培养物的培养液通过离心来澄清,过滤并在 SartoFlow Slice 200(Sartorius-Hydrosart, 截留 10kD)中浓缩约 10 次。调节 pH 至 7.0 及再一个离心步骤后,在 Ni-NTA Superflow 柱(Qiagen)或用 Ni²⁺离子充电的 HiTrap 螯合 HP 柱(GE Healthcare)上使用标准规程来纯化经过浓缩的蛋白质。合并含有 IL-17F 的级分并在 PD-10 柱(GE Healthcare)上脱盐。

[0422] 来自杆状病毒感染的细胞的人 IL-17F 和大鼠 IL-17F 在一个纯化步骤后基本上不含污染物,而且表现出主要是二硫化物连接的同二聚体,如通过非还原性 SDS-PAGE 所证明的。带 His 标签的、杆状病毒表达的人 IL-17F 的生物学活性与商品化细胞因子(大肠杆菌表达的 huIL-17F, Peprotech EC 或 R&D Systems)的活性相当。

[0423] 自 CHOK1SV 细胞表达和纯化人 IL-17F 和大鼠 IL-17F

[0424] 在表达载体 pEE14.4 中,将前面有 CD33 前导序列(MPLLLLLLPLLWAGALAMD;SEQ ID NO:42),加上 His 标签和 AviTag(Avidity, Denver CO)的 huIL-17F 或大鼠 IL-17F 编码序列置于 hCMV 启动子控制下。自含有病毒内部核糖体进入位点(IRES)和 GFP 编码序列作为第二顺反子的双顺反子 mRNA 表达 IL-17F。pEE14.4 载体含有谷氨酰胺合成酶(GS)基因,它对于转染细胞在含有甲硫氨酸磺酰亚胺(methionine sulfoximine, MSX)的选择培养基中存活是至关重要的。在 CHOK1SV 细胞系(Lonza Biologics)中生成稳定的转染子。在 MSX 存在下培养 4 周后,鉴定高表达克隆,扩增并用于生成人或大鼠 IL-17F。

[0425] 通过 Ni²⁺亲和层析纯化 CHOK1SV 表达的人 IL-17F 和大鼠 IL-17F。它们基本上不含污染物,而且在非还原性 SDS-PAGE 凝胶上表现为二硫化物连接的同二聚体。带 His+Avi 标签的、CHO 表达的人 IL-17F 的生物学活性与商品化 huIL-17F 的活性相比显著降低,大概是由于在 N 端存在体积大的、两倍的标签。

[0426] 自 PEAK 细胞表达和纯化人 IL-17F、cnIL-17F 和 cnIL-17A

[0427] 在附加体表达载体 pEAK8 中,将带 His 标签的 huIL-17A/F、cnIL-17F、或 cnIL-17A 编码序列融合至 Gaussia princeps 萤光素酶前导序列(AF015993),并置于 EF1 启动子控

制下。细胞因子编码序列后面是病毒内部核糖体进入位点 (IRES) 和第二顺反子 (GFP)。pEAK8 载体含有嘌呤霉素抗性基因、EBV 核抗原 1 (EBNA1) 和 oriP 复制起点。EBNA1 和 oriP 是 pEAK8 载体作为附加体 DNA 在人细胞中扩增及生成稳定转染子所必需的。在 2 μ g/mL 嘌呤霉素存在下培养 7-10 天后得到稳定转染的细胞。扩增嘌呤霉素抗性细胞群体,并用于细胞因子生成。

[0428] PEAK 表达的、通过 Ni²⁺亲和层析纯化的 >95% 纯,而且发现主要是二硫化物连接的同二聚体的形式,如通过非还原性 SDS-PAGE 所证明的。带 His 标签的、PEAK 表达的人 IL-17F 的生物学活性与来自商业来源的 huIL-17A/F 的活性类似。

[0429] 实施例 2:免疫

[0430] 使用转基因小鼠系生成完全人的单克隆抗体,在所述小鼠中小鼠抗体基因表达受到遏制并用人抗体基因表达替换。使用了三种转基因小鼠系:

[0431] 1) HuMab®小鼠 (Medarex, Princeton NJ)

[0432] 2) KMTM小鼠,即 HuMab 小鼠和 Kirin 氏 TC 小鼠 (Kirin Pharma Company, Japan) 之间的一种杂种

[0433] 3) KM(FC γ RIIb-KO) 小鼠,即自 KMTM小鼠衍生的一种系,其中编码抑制性 Fc 伽马受体 IIB 的基因 Fcgr2b 已经被灭活。

[0434] 将小鼠用人 IL-17F 或人 IL-17F 和大鼠 IL-17F 二者免疫。免疫使用两种形式的抗原:未偶联的 IL-17F 或偶联有匙孔虫凝集素蛋白 (KLH) 的 IL-17F。免疫策略遵循来自文献的标准方案。

[0435] 通过 ELISA 对经免疫动物的血清定期筛选针对 huIL-17F、大鼠 IL-17F、和 huIL-17A 的人 IgG 的存在 (Peprotech EC cat No 200-17)。大多数动物形成高滴度的对人 IL-17F 的响应。当大鼠 IL-17F 和 huIL-17F 二者用于免疫时,大多数动物形成高滴度的对这两种抗原的响应。重要的是,显著比例的用 huIL-17F 和大鼠 IL-17F 二者免疫的 KM 小鼠和 KM(FC γ RIIb-KO) 小鼠形成对 huIL-17A 的交叉反应性响应。在用 huIL-17F 作为唯一抗原(即没有大鼠 IL-17F)免疫的 KM 和 KM(FC γ RIIb-KO) 小鼠中零星观察到交叉反应性响应。与 KM 和 KM(FC γ RIIb-KO) 小鼠相反, HuMab 小鼠不形成对 huIL-17A 的交叉反应性滴度,不管采用哪种免疫方案。

[0436] 实施例 3:杂交瘤的生成

[0437] 淋巴结细胞与 SP2/0 骨髓瘤细胞的融合

[0438] 为了获得杂交瘤,自小鼠取出腮、腹股沟、主动脉旁、下颌下、颈部、轴、和臂淋巴结,并用胶原酶和 DNA 酶消化。淋巴结细胞的单细胞悬浮液与 SP2/0 骨髓瘤细胞以 1:1 的比混合,并在 Cytofusion 低电导率培养基 (CPS-LCMC, CytoPulse Sciences, Inc.) 中悬浮。如制造商 (Cyto Pulse Sciences, Inc) 所述在 CytoPulse CEEF50 电融合装置中用 3-6 $\times 10^7$ 个脾细胞进行融合。电融合后,将细胞于 37°C 温育大约 1 小时以容许恢复,之后分配入 96 孔板。

[0439] 杂交瘤的培养

[0440] 将融合的细胞在 HAT 选择培养基中重悬浮,并在 200 μ l 培养基中以 0.1-0.2 $\times 10^5$ 个脾细胞每孔的细胞浓度分配入 44-52 块 96 孔板。杂交瘤选择进行 14 天。经免疫小鼠的淋巴结的融合导致如下杂交瘤的生成,其生成对 huIL-17F 特异性的抗体或对 huIL-17F 和

huIL-17A 二者特异性的交叉反应性抗体。

[0441] 杂交瘤筛选

[0442] 融合后 14 天,通过 FLISA(荧光联接免疫吸附测定法)对含有杂交瘤的板筛选结合人 IL-17F 和 / 或人 IL-17A 的人 IgG 的存在。简言之,将 6 微米珠 (Polybeads, cat. No 07312, Polysciences Inc.) 用 huIL-17F、huIL-17A(二者都来自 Peprotech EC) 或 BSA(Sigma) 包被,并以 5,000 粒珠每孔的密度分配入 **FMAT®** 384 孔光学板 (Applied Biosystems)。将珠与小体积的杂交瘤培养物上清液 (30 μ l 每孔) 混合并温育过夜,之后添加偶联至 **FMAT Blue®** 染料 (Applied Biosystems) 的山羊抗人 IgG Fc(Jackson ImmunoResearch No 109-005-098)。2-8 小时的温育期后,在 8200 细胞检测系统分析仪 (Applied Biosystems) 中测量珠的荧光。扩增生成结合 huIL-17F、huIL-17A 或 huIL-17F 和 huIL-17A 二者但不结合 BSA 的人 IgG 的杂交瘤,并扩增用于进一步分析。

[0443] 实施例 4 :huIL-17F 抗体的交叉反应性

[0444] 结合测定法 :对 huIL-17F 抗体测试它们结合 IL-17 细胞因子家族的其它成员以及来自其它物种的 IL-17A 和 IL-17F 的能力。如上所述以 FLISA 格式实施测定法。将下述重组细胞因子结合至聚苯乙烯珠并测试它们结合 huIL-17F 抗体的能力 :hu IL17A-F 异二聚体 (R&D Systems, cat No 5194-IL-025/CF), huIL17B(PeprotechEC, cat No 200-28), huIL-17C(R&D Systems, cat No1234-IL-025/CF), huIL-17D(PeprotechEC, cat No 200-27), huIL-17E(huIL-25, PeprotechEC, cat No 200-24), muIL-17A(PeprotechEC, cat No 210-17), muIL-17F(PeprotechEC, cat No 200-17F), mu IL-17A-F 异二聚体 (R&D Systems, cat No 5390-IL-025/CF), 大鼠 IL-17F(带 His 标签的,在昆虫细胞中生成,内部的),大鼠 IL-17A(带 His 标签的,在 PEAK 细胞中生成的,内部的),cyIL-17F,cyIL-17A 和 cyIL-17A-F 异二聚体(这三种都是在 PEAK 细胞中生成的,内部的)。各 huIL-17F 抗体结合这些不同细胞因子的能力总结于下文表 3 :

[0445]

表3: huIL-17F抗体的交叉反应性, 通过FLISA测定

物种	人										猕猴			小鼠			大鼠	
	二聚体: 克隆名称	IL-17F	IL-17A	IL-17A/F	IL-17B	IL-17C	IL-17D	IL-17E	IL-17F	IL-17A	IL-17A/F	IL-17F	IL-17A	IL-17A	IL-17A/F	IL-17F	IL-17A	IL-17A
	30D12	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+
	29D8	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
	1E4	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
	31A3	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
	5E12	+	-	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
	39F12	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	12B12	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	15B7	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	4H11	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-
	41B10	+	-	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
	8B11	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-
	38B1	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
	15E6	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	4B11	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-

[0446] 实施例 5 :huIL-17A/F 交叉反应性抗体经表面等离子共振 (Biacore) 的亲合力和结合动力学测量

[0447] 在 Biacore 2000 仪器 (Biacore AB, Uppsala, Sweden) 上表征 huIL-17F 交叉反应性抗体的亲和力和结合动力学。连续使用三片 CM5Biacore 芯片,并在这些芯片上通过 EDC/NHS 化学固定化 3600、1800 和 1540RU(响应单位)的抗人 IgG Fc(Biacore AB, Uppsala, Sweden)。使用此表面来捕捉 huIL-17A/F 抗体。每个循环后通过以 20 μ L/min 注射 10mM 甘氨酸 pH = 1.5 达 30 秒钟来再生表面,接着是 HBS-EP 缓冲液 (Biacore AB, Uppsala, Sweden) 中的 1 分钟稳定化时间。

[0448] 通过以下述浓度使各种 IL-17 二聚体细胞因子一式两份地流过来测量结合: 90nM, 30nM, 10nM, 3.33nM, 1.11nM 和 0nM。所有溶液是在 HBS-EP 缓冲液中稀释的。注射以 75 μ L/min 实施 3 分钟,接着是 12 分钟的解离时间,而且温度设置为 25℃。依照 1:1Langmuir 模型来拟合背景扣除结合曲线,并确定结合速率(k_a)、解离速率(k_d)和解离常数(K_d)的值。表 4 和 5 总结了 huIL-17F 交叉反应性抗体的亲和力和动力学常数。

[0449] 表 4 :huIL-17F 交叉反应性抗体对人 IL-17 二聚体的亲和力

[0450]

	细胞因子 二聚体	k_a ($M^{-1}s^{-1}$)	k_d (s^{-1})	K_d (M)	K_d (pM)
MAb					
15E6	huIL-17A	5.99 e+06	2.18 e-04	3.64 e-11	36.4
	huIL-17F	7.94 e+06	6.76 e-05	8.51 e-12	8.51
	huIL-17A/F	1.41 e+06	6.31 e-05	4.47 e-11	44.7
30D12	huIL-17A	1.71 e+06	1.02 e-04	5.94 e-11	59.4
	huIL-17F	2.31 e+06	6.61 e-04	2.86 e-10	286
	huIL-17A/F	1.02 e+06	1.00 e-04	9.81 e-11	98.1
39F12	huIL-17A	3.73 e+06	3.34 e-04	8.95 e-11	89.5
	huIL-17F	2.40 e+05	4.37 e-09	<1.00 e-12	<1.00
	huIL-17A/F	8.11 e+05	3.26 e-04	4.02 e-10	402

[0451] 表 5 :15E6FK 抗体对来自不同物种的 IL-17 二聚体的亲和力

[0452]

物种	细胞因子 二聚体	k_a ($M^{-1}s^{-1}$)	k_d (s^{-1})	K_d (M)	K_d (pM)
----	-------------	--------------------------	--------------------	-----------	------------

[0453]

人	IL-17A	1.91 e+06	2.24 e-05	1.17 e-11	11.7
	IL-17F	1.62 e+06	1.33 e-05	8.20 e-12	8.20
	IL-17A/F	5.50 e+05	1.34 e-05	2.44 e-11	24.4
猕猴	IL-17A	2.59 e+06	2.71 e-05	1.04 e-11	10.4
	IL-17F	2.39 e+06	8.25 e-06	3.45 e-12	3.45
	IL-17A/F	2.75 e+05	1.08 e-05	3.94 e-11	39.4
小鼠	IL-17A	(-)	(-)	(-)	(-)
	IL-17F	2.30 e+06	5.55 e-04	2.36 e-10	236
	IL-17A/F	2.97 e+05	1.55 e-04	5.24 e-10	524
大鼠	IL-17A	(-)	(-)	(-)	(-)
	IL-17F	1.65 e+06	8.09 e-04	4.90 e-10	490

[0454] (-) 检测不到结合

[0455] 实施例 6 : 单抗 15E6FK/IL-17 受体结合竞争研究

[0456] 实施此研究来评估 15E6FK 交叉反应性抗体是否与 IL-17RA 受体竞争对 IL-17A 的结合。

[0457] 实施 Biacore 竞争结合研究, 其中使用固定化的 15E6FK 抗体、可溶性的人 IL-17A 同二聚体、和作为竞争物的可溶性的重组人或小鼠 IL-17RA/Fc 嵌合物。使用 EDC/NHS 化学将抗人 IgG- κ 抗体在 CM5Biacore 芯片上固定化。使用此表面来捕捉 15E6FK 抗体。为了竞争研究, 将人 IL-17A 同二聚体 (30nM) 与过量的重组人或小鼠 IL17RA/Fc 融合蛋白 (R&D Systems cat##177-IR 和 4481-MR) 一起预温育 1 小时。然后如上所述 (实施例 5) 在 Biacore 2000 仪器上测量各种 IL-17A-IL-17RA 混合物的结合。IL-17A 与人或小鼠起源的可溶性受体 -IgG-Fc 融合蛋白的预温育 (IL-17A 对 IL-17RA-Fc 的摩尔比为 1:1) 将 IL-17A 对固定化 15E6FK 抗体的结合降低超过 90%。IL-17A 与人或小鼠起源的可溶性受体 -IgG-Fc 融合蛋白的预温育 (IL-17A 对 IL-17RA-Fc 的摩尔比为 1:25) 完全消除 IL-17A 对固定化 15E6FK 抗体的结合 (约 100% 抑制), 证明人 IL-17A 同二聚体与 IL-17RA 受体和 15E6FK 抗体的相互作用是互相排斥的。

[0458] 实施例 7 : IL-17F 和 IL-17A 活性的生物学测定法

[0459] IL-17 刺激的小鼠胚胎成纤维细胞的 IL-6 分泌

[0460] 人 IL-17A 和 IL-17F 结合相应的小鼠 IL-17 受体。因此, 小鼠成纤维细胞能响应人 IL-17A 和 IL-17F 二者。因此, 使用小鼠 C57BL/6 胚胎成纤维细胞 (MEF, ATCC No SCRC-1008) 来测定 huIL-17A 和 huIL-17F 活性。

[0461] 简言之, 将在 DMEM+ 谷氨酰胺 +10% 胎牛血清 (FBS) 中在 96 孔板中接种的 MEF 培养 48 小时, 之后添加细胞因子 huIL-17A 或 huIL-17F 和小鼠 TNF α , 浓度 10ng/ml (Peprotech EC, cat No 315-01A)。TNF 共刺激显示出与 IL-17 信号传导协同 (Ruddy 等 2004, J. Biol. Chem 279:2559), 显著提高小鼠成纤维细胞对 IL-17A 和 IL-17F 的敏感性。在单抗中和活

性的测定法中,将 IL-17 细胞因子与抗体一起预温育 1 小时,之后添加至细胞。在细胞因子存在下刺激 24 小时后,收集上清液并通过夹心式 ELISA 测量小鼠 IL-6 的浓度,其中使用大鼠抗小鼠 IL6 抗体 (BD cat No 554400) 来捕捉和生物素化的大鼠抗小鼠 IL6 二抗 (BD 554402) 加链霉亲和素 HRP (Jackson ImmunoResearch 016-030-084) 来检测。表 6 汇总了使用标准统计技术自 IL-6 校准曲线获得的 IC_{50} 值。猕猴、小鼠或大鼠 IL-17A 和 IL-17F 在 MEF 细胞中也有活性,而且依照上文所述方法针对本发明的单克隆抗体进行了测试。

[0462]

表6: 用huIL-17F抗体对来自不同物种的IL-17细胞因子获得的抑制IC₅₀值; n.t., 未测试; (-), 没有观察到抑制或未能确定IC₅₀ (IC₅₀>1μM)

物种	人			猕猴			小鼠			大鼠	
	IL-17F	IL-17A	IL-17A/F	IL-17F	IL-17A	IL-17A/F	IL-17F	IL-17A	IL-17A/F	IL-17F	IL-17A
IL-17二聚体:	50 ng/ml	5 ng/ml	17.5 ng/ml	25 ng/ml	5 ng/ml	25 ng/ml	50 ng/ml	5 ng/ml	50 ng/ml	25 ng/ml	5 ng/ml
IL-17浓度	50 ng/ml	5 ng/ml	17.5 ng/ml	25 ng/ml	5 ng/ml	25 ng/ml	50 ng/ml	5 ng/ml	50 ng/ml	25 ng/ml	5 ng/ml
克隆名称	IC ₅₀ (nM)										
30D12	120	1.1	31	130	3.0	15	n.t.	n.t.	n.t.	27	(-)
30D12 BF	90	1.6	27	130	2.5	13	n.t.	n.t.	n.t.	30	(-)
29D8	1.5	40	1.1	3.6	8.4	0.56	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.
1E4	1.5	480	16	3.4	330	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.
31A3	2.5	250	9.2	4.2	290	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.
5E12	3.4	(-)	(-)	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.
39F12	1.9	9.8	11	5.2	4.7	16	4.0	(-)	n.t.	n.t.	(-)
39F12A	1.3	13	4.4	n.t.	n.t.	n.t.	6.2	(-)	170	0.71	(-)
12B12	0.77	33	13	3.2	13	n.t.	4.2	(-)	n.t.	n.t.	(-)
15B7	6.4	180	160	15	140	n.t.	22	(-)	n.t.	n.t.	(-)
4H11	(-)	87	810	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.
41B10	5.3	(-)	(-)	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.
8B11	100	100	240	50	230	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.
38B1	3.9	(-)	910	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.
15E6	1.7	1.6	1.1	1.4	2.0	0.18	(-)	n.t.	n.t.	(-)	n.t.
15E6FK	1.2	0.18	0.22	2.8	0.04	0.08	(-)	n.t.	(-)	(-)	n.t.
4B11	29	680	810	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.

[0463] IL-17 刺激的人成纤维细胞的 IL-6 分泌

[0464] 在 DMEM+ 谷氨酰胺 +10 % 胎牛血清 (FBS) 中在 96 孔板中接种人包皮成纤维细

胞 (HFFF2, ECACC No 86031405) 并培养 24 小时, 之后添加 huIL-17A 或 cyIL-17A (25ng/ml, 0.75nM)。在单抗中和活性的测定法中, 将 IL-17A 与抗体一起预温育 1 小时, 之后添加至细胞。刺激 24 小时后, 收集上清液并通过夹心式 ELISA 测量人 IL-6 浓度, 其中使用抗人 IL6 抗体 (Endogen cat No M620) 来捕捉和生物素化抗人 IL6 抗体 (Endogen M621B)+ 链霉亲和素 HRP (Jackson ImmunoResearch 016-030-084) 来检测。表 7 汇总了标准统计技术自 IL-6 校准曲线获得的 IC_{50} 值。

[0465] 表 7: 用交叉反应性 huIL-17F 抗体对人和猕猴 IL-17A 同二聚体获得的抑制 IC_{50} 值; n. t., 未测试; (-), 没有观察到抑制或未能确定 IC_{50} ($IC_{50} > 1 \mu M$)

[0466]

物种	人	猕猴
IL-17二聚物:	IL-17A	
IL-17浓度	25 ng/ml	25 ng/ml
克隆名称	IC_{50} (nM)	
30D12	4.2	6.6
30D12 BF	3.0	5.7
29D8	36	n.t.
39F12	14	15
39F12A	21	20
4H11	108	n.t.
15E6	3.9	4.5
15E6FK	0.83	0.76
4B11	(-)	n.t.

[0467] 实施例 8: 表位表征

[0468] 15E6FK 抗体结合人 IL-17A (登录号 Q16552) 和猕猴 IL-17A (NCBI 登录号 XP_001106391), 但是不结合大鼠 IL-17A (登录号 Q61453) 或小鼠 IL-17A (登录号 Q62386)。15E6FK 抗体也结合人 IL-17F (登录号 Q96PD4)、猕猴 IL-17F (NCBI 登录号 XP_001106517)、大鼠 IL-17F (登录号 Q5BJ95)、和小鼠 IL-17F (登录号 Q8K4C3)。

[0469] 基于这些观察结果, 实施了靶向诱变以寻找对于结合人和猕猴细胞因子至关重要的氨基酸残基。诱变限于在人和猕猴 IL-17A 之间共同的但在小鼠和大鼠 IL-17A 中不同的残基。

[0470] 对于这些实验, 将人 IL-17A 中的特定残基 (21T, 27N, 28I, 32N, 52N, 70K, 74L, 75G, 91P, 100R, 108N, 109S, 126P, 125T, 126P, 129H, 130H, 131V, 和 132A) 或残基簇 (LG, 残基 74-75; NSFRL, 残基 108-112; 或 PIVH, 残基 126-129) 用在小鼠 IL-17A 序列中的相应位置处找到的氨基酸替代, 并如实施例 1 所述在哺乳动物细胞中表达所得突变细胞因子。

[0471] 通过夹心式 ELISA 测定 15E6FK 对突变型细胞因子的结合, 其中使用家兔抗人

IL-17A 多克隆抗体 (R&D Systems, cat#500-P07) 来捕捉细胞因子并使用 15E6FK 及抗人 IgG κ -HRP 抗体来检测。L74Q 和 G75R 是影响 15E6 结合的唯一两处氨基酸替代:L74Q 将 15E6FK 结合降低超过 70%,而 G75R 点突变或 LG 变成 QR 的双重突变完全消除结合。其它单一或多重氨基酸替代无一影响 15E6FK 对 huIL-17A 的结合。

[0472] 如下进一步验证这两个残基对于 15E6FK 结合的重要性,即突变人 IL-17F 中的相应残基 (L75S 和 G76R),接着进行 huIL-17F 夹心式 ELISA,其中使用家兔抗人 IL-17F 多克隆抗体来捕捉 (R&D Systems, cat#500-P90)。与用 huIL-17A 观察到的相似:

[0473] 1) 人 IL-17F 序列中的 L75S 替代降低 15E6FK 结合,

[0474] 2) G76R 替代完全消除 15E6FK 结合,

[0475] 3) huIL-17F 中的其它单一或多重氨基酸突变 (残基 92P, 109V, 110S, 126T, 127P, 131H, 126-131TPVIHH) 无一影响 15E6FK 结合。

[0476] 总之,人 IL-17A 的残基 G75 (人 IL-17F 中的 G76) 是 15E6FK 结合绝对需要的,而邻近的残基 L74 (人 IL-17F 中的) 发挥次要作用。这两个残基如此形成受 mAb 15E6FK 识别的表位的关键部分。

[0477] 实施例 9:结合干扰实验

[0478] 为了评估两种不同抗体是否能同时结合至 huIL-17F 或 huIL-17A,通过 FLISA (荧光联接免疫吸附测定法) 实施了一系列结合干扰实验。对于这些实验,对四种抗体测试了结合干扰 (结合竞争):15E6, 29D8, 30D12, 和 39F12。这四种抗体或是用荧光染料偶联物 (FMAT Blue, Applied Biosystems) 标记来进行结合检测,或是在不标记的情况下用作竞争物。

[0479] 对于这些实验,将经 huIL-17F 或 huIL-17A 包被的微珠分配入 FMAT® 384 孔光学板 (Applied Biosystems) 并与浓度渐增的未标记的竞争抗体一起预温育 24 小时 (0.1 μ g/ml 至 60 μ g/ml;即相对于检测抗体 2-1200 倍过量)。与竞争物一起预温育后,添加荧光标记的检测抗体至终浓度 50ng/ml,并继续温育。使用 8200 型细胞检测系统分析仪 (Applied Biosystems) 在不同时间点 (添加检测抗体后 1-24 小时) 测量珠的荧光。

[0480] 识别相同表位或交叠表位的抗体竞争结合,而且不能同时结合至抗原。在这种情况下,高浓度的竞争抗体导致珠荧光完全消失。相反,识别不交叠的、空间上分开的表位的抗体彼此不干扰,而且能够同时结合 (竞争抗体不影响珠荧光)。或者,作为密切靠近地结合至两个邻近表位的两种抗体之间空间位阻的后果,能观察到部分结合干扰 (竞争抗体降低珠荧光,但是只是部分地,甚至在最高浓度)。基于这些结合干扰实验,将四种抗体指派至三个家族或“表位库” (epitope bins):

[0481] 1) 15E6 和 29D8

[0482] 2) 30D12

[0483] 3) 39F12

[0484] 15E6 或 29D8 (库 1) 的结合部分干扰 30D12 (库 2) 的结合。相反,39F12 (库 3) 的结合不干扰另三种抗体 (库 1 和 2) 的结合。因此,39F12 所结合的表位与 15E6、29D8、或 30D12 所结合的表位在空间上是分开的。

[0001]

序列表

<110> 诺维莫尼公司 (Novimmune SA)
 Masternak, Krzysztof
 Leger, Olivier

<120> 抗 IL-17A/IL-17F 交叉反应性抗体及其使用方法

<130> 23135-415001W0

<140> IB2009/005796
 <141> 2009-05-03

<150> US 61/126465
 <151> 2008-05-05

<150> US 61/098369
 <151> 2008-09-26

<160> 115

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1
 <211> 378
 <212> DNA
 <213> 人 (Homo sapiens)

<400> 1
 caggtagcagc tggtagcagc tggggctgag ggaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60
 tctgcaagg ctctgggaa caccctcacc agttaagata tcaactgggt ggcacaggcc 120
 acgggacaag ggcctgagtg gattgggaagg atgaaccttg acagtggtgt catacgttat 180
 gccacagaatg tccagggtag agtcaccatg accaggauca cctccataag cacagcctac 240
 atggagctaa acagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagagaatcg 300
 ttctggggagt taccctctta ctactctctac tccggtatgg acgtctgggg ccaaggagacc 360
 acggtaacag tctctcca 378

<210> 2
 <211> 126
 <212> PRT
 <213> 人 (Homo sapiens)

<400> 2
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala 15
 1 5 10
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr 30
 20 25 30
 Asp Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Thr Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met 45
 35 40 45
 Gly Trp Met Asn Pro Asp Ser Gly Val Ile Arg Tyr Ala Gln Lys Phe 60
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asn Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr 80
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Asn Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys 95
 85 90 95
 Ala Arg Glu Trp Phe Gly Glu Leu Pro Ser Tyr Tyr Phe Tyr Ser Gly 110
 100 105 110
 Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

[0002]

115	120	125
<210> 3 <211> 321 <212> DNA <213> 人 (Homo sapiens)		
<400> 3 gaaatttgtg tgacacagtc tccagccacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60 ctctctcgca gggccagtcg gatgttagc agctacttag ccctgtacca acagaaactc 120 ggccaggctc ccaggctcct cactatgatg gcatacaaca ggccactggc cctccagacc 180 aggttcagtg gcagtggttc tggacagac ttacacttca ccacagcag cctagagctc 240 gaagattttg cagtttatta ctgtcagcag cgtagcaact ggctccccc ttctggccct 300 gggaccaaag tggatatcaa a 321		
<210> 4 <211> 167 <212> PRT <213> 人 (Homo sapiens)		
<400> 4 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly 1 5 10 15 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Tyr 20 25 30 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile 35 40 45 Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly 50 55 60 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro 65 70 75 80 Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Pro 85 90 95 Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys 100 105		
<210> 5 <211> 369 <212> DNA <213> 人 (Homo sapiens)		
<400> 5 cagggtcagc tgggtcagtc tggagctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60 tcttgcgaag ctcttgccta cacttctcc accataggta tcaagctgggt gcgacaggcc 120 ccctggacaag ggcctgagtg gatgggatgg atcagcgctt acaatagtaa cacaactat 180 gcacagaag tccagggcag aatcaccatg accacagaca cctccacgag cacagccatc 240 atggagctga ggggcctgag atctgacgac acggccgctg atttctgagc gactttcttc 300 ggtggtcact ctggctacca ctacgggttg gactctgggg gccaggggac caggttcacc 360 gtctcttca 369		
<210> 6 <211> 123		

[0003]

```

<212> PRT
<213> 人(Homo sapiens)

<400> 6
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Phe Ala Tyr Thr Phe Ser Thr Tyr
20 25 30
Gly Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Trp Ile Ser Ala Tyr Asn Ser Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Val
50 55 60
Gln Gly Arg Ile Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Arg Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Arg Gly Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95
Ala Thr Phe Phe Gly Gly His Ser Gly Tyr His Tyr Gly Leu Asp Val
100 105 110
Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 7
<211> 369
<212> DNA
<213> 人(Homo sapiens)

<400> 7
cagggtcagc tgggtcagtc tggagctgag gtaagaaga cttggggccfc agtgaagggt 60
tcctgcaagg ctctgtggtt cacttttacc acttatggta tcagctgggt ggcacaggcc 120
cctggacaag ggcctgagtg gaiggatgg atcagcgttt acaatggtaa tacaacctat 180
ggacagaatt tccagggcag agtcagcatg accacagaca catcacgag cacagcctac 240
atggagctga ggagcctgag atcigacgac acggccgtgt attactgtgc gagtttccac 300
ggtggtaact ctggtacca ctacggtttg gacgtcggg gccaaaggac caeggtcacc 360
gtctctca 369

<210> 8
<211> 123
<212> PRT
<213> 人(Homo sapiens)

<400> 8
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Val Tyr Thr Phe Thr Thr Tyr
20 25 30
Gly Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Trp Ile Ser Val Tyr Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Gly Gln Asn Phe
50 55 60

```

[0004]

Gln Gly Arg Val Ser Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ser Phe His Gly Gly His Ser Gly Tyr His Tyr Gly Leu Asp Val
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 9
<211> 369
<212> DNA
<213> 人(Homo sapiens)

<400> 9
cagggtgcagc tgggtgcagtc tggagctgag gtaagaagc cgggggcctc agtgaaggtc 60
tccigcaagg cttctgttta cacccttacc acctatggtt tcagttgggt ggcacaggcc 120
ccctggacaag ggcctgagtg gaigggatgg atcaccgttt acaatggtaa cacaaciat 180
gcacagaagt tccacggcag agtcaccatg accacagaca catccacaag tacagcctac 240
atggagctga ggagccctgag atctgacgac acggccgtct attactgtgc gactttccac 300
gggtggcatt ctggctacca ctacggtttg gacgtctggg gccaaaggac caccgtcacc 360
gtctcctca 369

<210> 10
<211> 123
<212> PRT
<213> 人(Homo sapiens)

<400> 10
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Val Tyr Thr Phe Thr Thr Tyr
20 25 30

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

Gly Trp Ile Thr Val Tyr Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

His Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ser Phe His Gly Gly His Ser Gly Tyr His Tyr Gly Leu Asp Val
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 11
<211> 324
<212> DNA

[0005]

```

<213> 人(Homo sapiens)

<220>
<221> misc.feature
<222> (15)..(15)
<223> n是a, c, g, 或t

<220>
<221> misc.feature
<222> (144)..(144)
<223> n是a, c, g, 或t

<400> 11
gaaatttggt tgacncagtc tccagccacc cgtcttttgt ctccaggga aagagccacc      60
ctctccgtca gggccagtica gagggttagc agctacttag cctggtaacca acagaaacct      120
ggccaggctc ccaggctcct caintatgat gcatccaaca gggccactgg catcccagcc      180
aggttcagtg gcagigggtc tgggacagac ttactctca ccatcagcag cctagagcct      240
gaagatttgg cagtttatta ctgtcagcag cgtagcaact gacctccgta cacttttggc      300
caggggacca agctggagat caaa                                           324

<210> 12
<211> 108
<212> PRT
<213> 人(Homo sapiens)

<220>
<221> misc.feature
<222> (5)..(5)
<223> Xaa可以是任意天然存在的氨基酸

<220>
<221> misc.feature
<222> (48)..(48)
<223> Xaa可以是任意天然存在的氨基酸

<400> 12
Glu Ile Val Leu Xaa Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1          5              10              15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
20          25              30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Xaa
35          40              45

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

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65          70              75              80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Pro
85          90              95

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

<210> 13
<211> 363
<212> DNA
<213> 人(Homo sapiens)

<400> 13
cagctgcagt tgcaggagtc gggcccagga cgggtgaagc ctccggagac cgtgtccctc      60

```

[0006]

```

acctgegetg tctctgatga ctacatcagc agtaggagtt actactgggg ctggatccgc      120
cagccccagc ggaaggggct ggagtggatt gggagtatct attatagttg gaggacctac      180
taacaacccgt cctcaagagc tcgagtcacc atatccgtag acacgtccaa gaaccagttc      240
tccttgaagc tgagtctgtg gaccgccaca gacacggcig tctattactg tccgagagtc      300
agiggcigga acgggaacig gtccgacccc tggggccagg gaaccccggt cagggtctcc      360
tca                                                                           363

```

<210> 14
 <211> 121
 <212> PRT
 <213> 人(Homo sapiens)

<400> 14

```

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

```

```

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Asp Asp Tyr Ile Ser Ser Arg
          20          25          30

```

```

Ser Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu
          35          40          45

```

```

Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
          50          55          60

```

```

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

```

```

Ser Leu Lys Val Ser Ser Val Thr Ala Thr Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
          85          90          95

```

```

Cys Ala Arg Val Ser Gly Trp Asn Gly Asn Trp Phe Asp Pro Trp Gly
          100          105          110

```

```

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
          115          120

```

<210> 15
 <211> 324
 <212> DNA
 <213> 人(Homo sapiens)

<400> 15

```

gaaattgtgt tgaacgagtc tccaggcacc ctgtcttltg ctccaggggg aagagccacc      60

```

```

ctctcctgca gggccagtca gagtgtagc agcagctact tagcctggta ccaggagaaa      120

```

```

ccgggccagg ctcccaggct cctcatctat ggtgcataca gcaggggcac tggcatalcca      180

```

```

gacaggttca gggcagttgg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag      240

```

```

ccgaagatt ttgcagtgtt ttavtgcag cagtatggtg gctcaccgat cactctcgge      300

```

```

caagggcac gactggagat taaa                                                                           324

```

<210> 16
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> 人(Homo sapiens)

<400> 16

```

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly

```

[0007]

```

1           5           10           15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
20           25           30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35           40           45

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

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65           70           75           80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro
85           90           95

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

<210> 17
<211> 381
<212> DNA
<213> 人(Homo sapiens)

<400> 17
caggccacgc tggcgcagtc tggggcigag gigaagaagc cigggtccgc ggigaaggic 60
tcctgcgaagg ctctcggagg caeccacgc agctatgcct tcagctgggt ggcacaggcc 120
ccctgcacaag ggccttgagt gatgggagg atcatccctt tctttggaac aacaaattac 180
gcacagaagt tcacgggcag agtcataatt accgcggacg aatccacgaa cacagccctac 240
atggagciga ggggccigag atctgaggac acgcacctgt attattgtgc gagagacagg 300
gattactatg gtttggggag tccctctac tactacggta tggacgtcig gggccaaggg 360
accacggcca ccgtctcttc a 381

<210> 18
<211> 127
<212> PRT
<213> 人(Homo sapiens)

<400> 18
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1           5           10           15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Leu Ser Ser Tyr
20           25           30

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

Gly Gly Ile Ile Pro Phe Phe Gly Thr Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50           55           60

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

Met Glu Leu Ser Gly Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85           90           95

Ala Arg Asp Arg Asp Tyr Tyr Gly Leu Gly Ser Pro Phe Tyr Tyr Tyr

```

[0008]

```

100      105      110
Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115      120      125

<210> 19
<211> 381
<212> DNA
<213> 人(Homo sapiens)

<400> 19
caggctcagc tgggcagtc tggggctgag gigaagaagc ctgggtcctc ggigaaggtc      60
tcctgcgaag ctctcggagg caccctcagc agctatgctt tcagctgggt gcgacaggcc      120
cctggacaag gccctgagtg gatggggagg atcatccctt tctttggaac agtaaacctac      180
gcacagaagt tccagggcag agtcacgatt accgcggacg aatecaogaa cactgcctat      240
atggagctga gcagcccgag atctgaggac accgccgtgt attactgtgc gagagacagg      300
gattattatg gtttggggag tccctctcac tactacgggt tggacgtcig ggcccaaggg      360
accacggta cgtctctctc a                                     381

<210> 20
<211> 127
<212> PRT
<213> 人(Homo sapiens)

<400> 20
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1      5      10      15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Leu Ser Ser Tyr
20      25      30
Ala Phe Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35      40      45
Gly Gly Ile Ile Pro Phe Phe Gly Thr Val Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50      55      60
Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Asn Thr Ala Tyr
65      70      75      80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85      90      95
Ala Arg Asp Arg Asp Tyr Tyr Gly Leu Gly Ser Pro Leu His Tyr Tyr
100     105     110
Gly Leu Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115     120     125

<210> 21
<211> 321
<212> DNA
<213> 人(Homo sapiens)

<400> 21
gaaattgigt tgacacagtc tccagacttt cagctctgta ctccaaagga gaaagtcacc      60
atcacctgcc gggccagtcg gagcatiggt agtactttac aciggtacaa gcagaaacca      120
gatacgtctc caaagctcct catcaagtaa gcttccaggt cctctcagg ggtccctcgc      180
aggcttcagtg gcagtggaac tgggacagat tccacctca ccatcaatag cctggaagct      240

```

[0009]

```

gaagaigcig cagcgtattt cigicacag agtagtagtt tacctgggac gticggccaa      300
gggaccaagg tggaaatcaa a                                              321

<210> 22
<211> 107
<212> PRT
<213> 人(Homo sapiens)

<400> 22
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Phe Gln Ser Val Thr Pro Lys
1          5          10          15
Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Ser Ser
20          25          30
Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile
35          40          45
Lys Tyr Ala Ser Gln Ser Phe Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50          55          60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser Leu Glu Ala
65          70          75          80
Glu Asp Ala Ala Ala Tyr Tyr Cys His Gln Ser Ser Ser Leu Pro Trp
85          90          95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100         105

<210> 23
<211> 375
<212> DNA
<213> 人(Homo sapiens)

<400> 23
gaggatcagc tggggagtc cgggggagc ttggctcagc ctggggggtc ccgaaactc      60
tctgtgcagc cctctgggt caccitcagt ggctcttcta tgcactgggt ccgccaggct      120
tcggggauag ggctggactg ggttggcgt attagaagca agctaacag ttacgggaca      180
gcataigcig cgtcggtagt aggcaggtc accatctcca gagatgaitc aaagaacacg      240
gcgtatctgc aatgaacag ccgaaaacg gaggacacgg ccgtgtaata ctgiactaca      300
tcagtggcta ctaccttac tgactactac ggtatggacg tcctggggcca agggaccacg      360
gtacccgtct ccica                                              375

<210> 24
<211> 125
<212> PRT
<213> 人(Homo sapiens)

<400> 24
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1          5          10          15
Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Gly Ser
20          25          30
Ser Met His Trp Val Arg Gln Ala Ser Gly Lys Gly Leu Asp Trp Val
35          40          45

```

[0010]

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Ala Asn Ser Tyr Ala Thr Ala Tyr Ala Ala
50 55 60

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

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

Tyr Cys Thr Thr Ser Val Ala Thr Thr Leu Thr Asp Tyr Tyr Gly Met
100 105 110

Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 25
<211> 324
<212> DNA
<213> 人(Homo sapiens)

<400> 25
gaaatgtgtg igacacagtc tccagccacc ctgtctttgt ctccaggga aagagccacc 60
ctctcttgca gggccagtc gagtgtagc agctacttag ctggtacca acagaaacct 120
ggccaggtct ccaggtctct catctatgat gcatccaaca gggccactgg catccagcc 180
aggttcagtg gcagtggtgc igggacagac ttcactctca ccatcagcag cctagagcct 240
gaagattttg cagtttatta ctgtcaacag cgtagcaact ggcctccatt cactttcgge 300
ccggggacca aagggatat caaa 324

<210> 26
<211> 108
<212> PRT
<213> 人(Homo sapiens)

<400> 26

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

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

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Pro
85 90 95

Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys
100 105

<210> 27
<211> 357
<212> DNA
<213> 人(Homo sapiens)

[0011]

<400> 27
 gaagtcagc tggaggagtc tgggggagc tgggacac cggggggc cctgagac 60
 tctgtgcag cctctggat cacttcagt agctttaaca tggactgggt cctccaggct 120
 ccagggaagg ggcaggagtc ggtttacac attagtacta ctacagaaat cataactct 180
 gcagactctg tgaaggccg attaccatc tccagagaca atgccaggaa ctactgtat 240
 ctgcaaaiga acagcctgag agacgaggac accgctgtat attactgtgc gagagtcagt 300
 tactatggcc acggatiga ctacggggc caggaaccc tggcacctg cctctca 357

<210> 28
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> 人(Homo sapiens)

<400> 28
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val His Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe
 20 25 30
 Asn Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Ser Ile Ser Thr Thr Ser Arg Ile Ile Tyr Ser Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Arg Asn Ser Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Asp Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Val Ser Tyr Tyr Gly His Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 29
 <211> 321
 <212> DNA
 <213> 人(Homo sapiens)

<400> 29
 gacatccaga tgaccagtc tcatcccca ctgtctcat ctgtaggaga cagagtcac 60
 atcacttgtc gggcgagtc gggatattgc agctgggttag cctgggtatc gcagaaacca 120
 gaaaaagccc cttaagccct gatctatgt gcatccagtt tgcgaagtgg ggtcccatca 180
 aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttactctcca ccatcagcag cctgcagcct 240
 gaagatttgc caacttalla ctgcacacag taatagtt accctctcac ttggggcga 300
 gggaccaagg tggagatcaa a 321

<210> 30
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> 人(Homo sapiens)

<400> 30
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

[0012]

1	5	10	15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp	20	25	30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Glu Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile	35	40	45
Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly	50	55	60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro	65	70	75
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Leu	85	90	95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys	100	105	
<210> 31			
<211> 381			
<212> DNA			
<213> 人(Homo sapiens)			
<400> 31			
caggccacgc tggcgcagc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc gggaaggto		60	
tctgcaagg ctctggagg caacctcagc agctatgcct tcagctgggt gcgacaggcc		120	
ccggacaag ggcctgagc gatgggagga atcctccctt tcttgggac agcacactac		180	
gcacagaagt tccagggcag agtcacgatt acgcgggacg aatccacgaa cacagccctac		240	
atggagctga gcagcctgag atcagaggac acggccgtat attactgtgc gagagatagg		300	
gactactaig gtccggggag tccctctcac ttctccggtt tggacgtctg ggccaaggg		360	
accacggcca ccgtctctc a		381	
<210> 32			
<211> 127			
<212> PRT			
<213> 人(Homo sapiens)			
<400> 32			
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser	1	5	10
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Leu Ser Ser Tyr	20	25	30
Ala Phe Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met	35	40	45
Gly Gly Ile Ile Pro Phe Phe Gly Thr Ala His Tyr Ala Gln Lys Phe	50	55	60
Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Asn Thr Ala Tyr	65	70	75
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys	85	90	95
Ala Arg Asp Arg Asp Tyr Tyr Gly Ser Gly Ser Pro Phe His Phe Ser			

[0013]

```

100      105      110
Gly Leu Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115      120      125

<210> 33
<211> 369
<212> DNA
<213> 人(Homo sapiens)

<400> 33
gaagtacagc tggtaggagc tgggggaggc tgggtacagc ctggcaggic cctgagactc      60
tcctgttcag cctctggatt caactttgat gattttgcca tgcactgggt ccggcaagct      120
ccagggaaag gccctggagtg ggctcagggt afaaatlga alagtggtag calaggctat      180
ggggaacttg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctccctgtat      240
ctgcaaatga acagcttgag agccgaggac acggccttgt attactgicg aaaagatata      300
gcagcagctg gtaattcta ctccgataag gacgtctggg gccaaggagc caccgtcacc      360
gtctctctca

<210> 34
<211> 123
<212> PRT
<213> 人(Homo sapiens)

<400> 34
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1      5      10      15

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

Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35      40      45

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

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

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

Ala Lys Asp Ile Ala Ala Ala Gly Glu Phe Tyr Phe Asp Met Asp Val
100      105      110

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115      120

<210> 35
<211> 321
<212> DNA
<213> 人(Homo sapiens)

<400> 35
gaatttggtg tgacacagtc tccagccacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc      60
ctctctcgca gggccagica gagtgttagc agctacttag cctgglaaca acagaaacct      120
ggccaggctc ccaggctcct cactatgatg gcatccaaac gggccactgg catccagccc      180
aggttcagtg ccagtgggic tgggacagac ttacictca ccaicagcag cctagagcct      240

```

[0014]

gaagattttg cagtttatta ctgtcagcag cgtagcaact ggcctccgac ttittggccag 300
gggaccaagc tggagaicaa a 321

<210> 36
<211> 107
<212> PRT
<213> 人(Homo sapiens)

<400> 36

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

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

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Pro
85 90 95

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

<210> 37
<211> 369
<212> DNA
<213> 人(Homo sapiens)

<400> 37

gaagttcagc tggttggagtc tgggggagac ttggtacagc ctggcaggtc cctgagactc 60

tccigtgcag cctctggatt cacccttggat gattatgccat tgcactgggt ccggcaagct 120

ccagggaagg gccctggagtc ggcttcaggc attaatggga atagtggtgg cataggctat 180

gcggactctg tgaaggcccg attacacatc tccagagaca acgccaagaa ctccctgtat 240

ctgcaaatga acagctcgag agctgaggac acggccctgt attactgigc aagagatatg 300

ggggggttcg gggagtttta ctggaacttc ggtctctggg gccgtggcac cctggtcact 360

gtctctcca 369

<210> 38
<211> 123
<212> PRT
<213> 人(Homo sapiens)

<400> 38

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

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

Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

[0015]

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

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

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

Ala Arg Asp Met Gly Gly Phe Gly Gln Phe Tyr Trp Asn Phe Gly Leu
100 105 110

Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 39
<211> 324
<212> DNA
<213> 人(Homo sapiens)

<400> 39
gaaatgtgtg tgacacagtc tccagccacc cgtcttctgt ciccagggga aagagccacc 60
ctctctctga gggccagtcg gagtgtaga agctacttag cctggtacca acagaaacct 120
ggccaggctc ccaggctcct catctatgat gcaiccaaca ggccacatgg catccagcc 180
aggttcagtg ccagtggtgc tgggacagac ttacactctca ccaicagcag cctagagcct 240
gaagattttg cagtttatta ctgtcagcag cgtagcaact ggctccggc cactttcgge 300
ggagggaacca aggtggagat caaa 324

<210> 40
<211> 108
<212> PRT
<213> 人(Homo sapiens)

<400> 40
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Arg Ser Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

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

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Pro
85 90 95

Ala Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 41
<400> 41
000

<210> 42

[0016]

```

<400> 42
000

<210> 43
<211> 375
<212> DNA
<213> 人(Homo sapiens)

<400> 43
caggtagcagc tggtagcagc tgggggagcg ttgtacagc cggcaggtc cctgagactc      60
tcctgtgcag cctctggatt caactttgat gattatgcca tgcactgggt ccggcaagct      120
ccaggggaagg gctctggagtg ggtctcaggt attagttaga atagtggtac cataggctat      180
gggactctg tgaaggcgcg ataccaccat tccagagaca acgccaagaa ctccctgtat      240
ctgcaaatga acagctcgag agctgaggac acggccttgt attactgtgc aaaagaactg      300
tatatcagtg actgggactc ctactcttcc ggtatggacg tctggggcca agggaccacg      360
gtcaccgtct cctca                                     375

<210> 44
<211> 125
<212> PRT
<213> 人(Homo sapiens)

<400> 44
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg      1
1          5          10          15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr      20
20         25         30
Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val      35
35         40         45
Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Thr Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val      50
50         55         60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr      65
65         70         75         80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys      85
85         90         95
Ala Lys Glu Leu Tyr Ile Ser Asp Trp Asp Ser Tyr Ser Tyr Gly Met      100
100        105        110
Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser      115
115        120        125

<210> 45
<211> 318
<212> DNA
<213> 人(Homo sapiens)

<400> 45
gaatttggt tgcgcagtc tccagccacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc      60
ctctcttgca gggccagica gattgttagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa      120
cctggccagg ctccaggtt cctcatctat gggtcatcca gcaggccac tggcatcca      180
gacaggttca gggcagtag gctgggaca gacttcactc tcacatcag cagactggag      240
cctgaagatt ttgcagtgt ttactgtcag cagtatggta gctaccttt cggcggaggg      300
accaaggttg agatcaaa                                     318

```

[0017]

```

<210> 46
<211> 106
<212> PRT
<213> 人(Homo sapiens)

<400> 46
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1          5          10          15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
20          25          30
Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35          40          45
Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50          55          60
Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65          70          75          80
Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro
85          90          95
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Gln Ile Lys
100         105

<210> 47
<211> 372
<212> DNA
<213> 人(Homo sapiens)

<400> 47
gaggcgcagc tggcgcagc tgggggaggc ttggtaaagc ctgggggggc ccttagacac 60
tccctgicag cctctggatt cacttcagc aacgcctgga tgagctgggt ccgccaggct 120
ccagggaagg ggcctggaat ggttggcgt attaaaagca aaactgaagg tgggacaaca 180
gactacgttg caccctgtaa aggcagatc accatctcaa gagaatgac aaaaaacacc 240
ctgtatctgc aaatgaacag ccgtaaaacc gaggacacag cgttatatta ctgtaccaca 300
tcgtatagca gtactgggtt cccctacac ttgactact ggggccaggg aacctgggc 360
acctctctct ca 372

<210> 48
<211> 124
<212> PRT
<213> 人(Homo sapiens)

<400> 48
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1          5          10          15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20          25          30
Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35          40          45
Gly Arg Ile Lys Ser Lys Thr Asp Gly Gly Thr Thr Asp Tyr Val Ala
50          55          60

```

[0018]

Pro Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
65 70 75 80

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

Tyr Cys Thr Thr Ser Tyr Ser Ser Tyr Trp Phe Pro Tyr Tyr Phe Asp
100 105 110

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 49
<211> 321
<212> DNA
<213> 人(Homo sapiens)

<400> 49
gacatccaga tgaccaggac tccatccca ctgctgcat ctgiaggaga cagagtcacc 60
atcaettgac gggcgagica gggatattgc agctggtag cctggtaica gcagaaacca 120
gagaaagccc ctaagtcctt gatctatgct gcctccagtt tgcagagagg ggtcccaica 180
aggttcagcg gcagtggaic tgggacagat ttcacttica ccatcagcag cctgcagcc 240
gaagattitg caacttatta ctgccaacag tattaatggt acccgatcac ctccggccaa 300
gggacacgac tggagattaa a 321

<210> 50
<211> 107
<212> PRT
<213> 人(Homo sapiens)

<400> 50

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gln Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile
35 40 45

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

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Ile
85 90 95

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

<210> 51
<211> 378
<212> DNA
<213> 人(Homo sapiens)

<400> 51
caggtagcag tctgtagcag tgggctgag tgaagaagc ctggggccctc agtgaaggtc 60
tctgcaagg ctcttgagata cacttcacc agttaagata tcaactgggt gcagacaggcc 120

[0019]

```

aciggacaag gccctgagig gaigggatgg ctgaaccctg acagtgggtg catacgttat      180
gcacagaagt tccagggtag agtaccatg accagggaca cctccataag cacagcctac      240
atggagctaa gcagccigag atctgaggac acggccgigt attactgtgc gagagaagg      300
ttcggggagt taacctctta ctactcttac tccggtaagg acgtctgggg ccaaggagac      360
acggtcacgg tctctcca      378

```

<210> 52
 <211> 126
 <212> PRT
 <213> 人(Homo sapiens)

<400> 52

```

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

```

```

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20          25          30

```

```

Asp Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Thr Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35          40          45

```

```

Gly Trp Leu Asn Pro Asp Ser Gly Val Ile Arg Tyr Ala Gln Lys Phe
50          55          60

```

```

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65          70          75          80

```

```

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85          90          95

```

```

Ala Arg Glu Trp Phe Gly Glu Leu Pro Ser Tyr Tyr Phe Tyr Ser Gly
100         105         110

```

```

Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115         120         125

```

<210> 53
 <211> 369
 <212> DNA
 <213> 人(Homo sapiens)

<400> 53

```

gaagtcagc tggtagagtc tggggagggc ttggtacagc ctggcaggtc cctgagactc      60
tctctgtcag cctctggatt cacccttgat gattatgcca tgcactgggt ccggcaagct      120
ccagggaagg gcctggagtg ggtctcaggt attaatgga gcagtgggtg cataggctat      180
gggactcttg tgaaggggcg attacacalc tccagagaca acgccaagaa ctccctgtat      240
ctgcaaatga acagtctgag agctgaggac acggccttgt attactgtgc aagagatata      300
ggggggttgc ggagatttta ctggaacttc ggtctctggg gccgtggcac cctggtcact      360
gtctctcca      369

```

<210> 54
 <211> 123
 <212> PRT
 <213> 人(Homo sapiens)

<400> 54

```

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

```

[0020]

```

1           5           10           15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
20           25           30

Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35           40           45

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

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

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

Ala Arg Asp Ile Gly Gly Phe Gly Glu Phe Tyr Trp Asn Phe Gly Leu
100          105          110

Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115          120

<210> 55
<211> 321
<212> DNA
<213> 人(Homo sapiens)

<400> 55
gaaatigigt tgacacagtc tccagacttt cagtcgtga ctocaaagga gaaagtcaco 60
atcaccctgcc gggccagtcn gagcatlggg agltagcttac acigglacca gcagaaacca 120
gateagtcctc caaagctcct catcaagtat gcttccaggt cctttctcagg ggtcccctcg 180
aggttcagtg gcagtgagtc tgggacagat ttcacctcca ccaataatag cctggaaget 240
gaagaigctg caacgtatta ctgtatcag agtagtagtt taccgtggac gttcgccua 300
gggaccaagg tggaaatcaa a 321

<210> 56
<211> 107
<212> PRT
<213> 人(Homo sapiens)

<400> 56
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Phe Gln Ser Val Thr Pro Lys
1           5           10           15

Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Ser Ser
20           25           30

Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile
35           40           45

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

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser Leu Glu Ala
65           70           75           80

Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys His Gln Ser Ser Ser Leu Pro Trp
85           90           95

```

[0021]

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 57
<211> 5
<212> PRT
<213> 人(Homo sapiens)

<400> 57

Ser Tyr Asp Ile Asn
1 5

<210> 58
<211> 17
<212> PRT
<213> 人(Homo sapiens)

<400> 58

Trp Met Asn Pro Asp Ser Gly Val Ile Arg Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 59
<211> 17
<212> PRT
<213> 人(Homo sapiens)

<400> 59

Glu Trp Phe Gly Glu Leu Pro Ser Tyr Tyr Phe Tyr Ser Gly Met Asp
1 5 10 15

Val

<210> 60
<211> 5
<212> PRT
<213> 人(Homo sapiens)

<400> 60

Thr Tyr Gly Ile Ser
1 5

<210> 61
<211> 17
<212> PRT
<213> 人(Homo sapiens)

<400> 61

Trp Ile Ser Ala Tyr Asn Ser Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Val Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 62
<211> 14
<212> PRT
<213> 人(Homo sapiens)

<400> 62

Phe Phe Gly Gly His Ser Gly Tyr His Tyr Gly Leu Asp Val

[0022]

```

1           5           10

<210> 63
<211> 17
<212> PRT
<213> 人(Homo sapiens)

<400> 63
Trp Ile Ser Val Tyr Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Gly Gln Asn Phe Gln
1           5           10           15

Gly

<210> 64
<211> 14
<212> PRT
<213> 人(Homo sapiens)

<400> 64
Phe His Gly Gly His Ser Gly Tyr His Tyr Gly Leu Asp Val
1           5           10

Gly

<210> 65
<211> 17
<212> PRT
<213> 人(Homo sapiens)

<400> 65
Trp Ile Thr Val Tyr Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe His
1           5           10           15

Gly

<210> 66
<211> 7
<212> PRT
<213> 人(Homo sapiens)

<400> 66
Ser Arg Ser Tyr Tyr Trp Gly
1           5

<210> 67
<211> 16
<212> PRT
<213> 人(Homo sapiens)

<400> 67
Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser
1           5           10           15

<210> 68
<211> 11
<212> PRT
<213> 人(Homo sapiens)

<400> 68
Val Ser Gly Trp Asn Gly Asn Trp Phe Asp Pro
1           5           10

<210> 69
<211> 5
<212> PRT

```

[0023]

<213> 人(Homo sapiens)

<400> 69

Ser Tyr Ala Phe Ser
1 5

<210> 70

<211> 17

<212> PRT

<213> 人(Homo sapiens)

<400> 70

Gly Ile Ile Pro Phe Phe Gly Thr Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 71

<211> 18

<212> PRT

<213> 人(Homo sapiens)

<400> 71

Asp Arg Asp Tyr Tyr Gly Leu Gly Ser Pro Phe Tyr Tyr Tyr Gly Met
1 5 10 15

Asp Val

<210> 72

<211> 17

<212> PRT

<213> 人(Homo sapiens)

<400> 72

Gly Ile Ile Pro Phe Phe Gly Thr Val Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 73

<211> 18

<212> PRT

<213> 人(Homo sapiens)

<400> 73

Asp Arg Asp Tyr Tyr Gly Leu Gly Ser Pro Leu His Tyr Tyr Gly Leu
1 5 10 15

Asp Val

<210> 74

<211> 17

<212> PRT

<213> 人(Homo sapiens)

<400> 74

Gly Ile Ile Pro Phe Phe Gly Thr Ala His Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15

Gly

[0024]

<210> 75
<211> 18
<212> PRT
<213> 人(Homo sapiens)

<400> 75

Asp Arg Asp Tyr Tyr Gly Ser Gly Ser Pro Phe His Phe Ser Gly Leu
1 5 10 15

Asp Val

<210> 76
<211> 5
<212> PRT
<213> 人(Homo sapiens)

<400> 76

Gly Ser Ser Met His
1 5

<210> 77
<211> 19
<212> PRT
<213> 人(Homo sapiens)

<400> 77

Arg Ile Arg Ser Lys Ala Asn Ser Tyr Ala Thr Ala Tyr Ala Ala Ser
1 5 10 15

Val Ile Gly

<210> 78
<211> 14
<212> PRT
<213> 人(Homo sapiens)

<400> 78

Ser Val Ala Thr Thr Leu Thr Asp Tyr Tyr Gly Met Asp Val
1 5 10

<210> 79
<211> 5
<212> PRT
<213> 人(Homo sapiens)

<400> 79

Ser Phe Asn Met Asp
1 5

<210> 80
<211> 17
<212> PRT
<213> 人(Homo sapiens)

<400> 80

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

Gly

[0025]

<210> 81
<211> 10
<212> PRT
<213> 人(Homo sapiens)

<400> 81

Val Ser Tyr Tyr Gly His Gly Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 82
<211> 5
<212> PRT
<213> 人(Homo sapiens)

<400> 82

Asp Phe Ala Met His
1 5

<210> 83
<211> 17
<212> PRT
<213> 人(Homo sapiens)

<400> 83

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

Gly

<210> 84
<211> 14
<212> PRT
<213> 人(Homo sapiens)

<400> 84

Asp Ile Ala Ala Ala Gly Glu Phe Tyr Phe Asp Met Asp Val
1 5 10

<210> 85
<211> 5
<212> PRT
<213> 人(Homo sapiens)

<400> 85

Asp Tyr Ala Met His
1 5

<210> 86
<211> 17
<212> PRT
<213> 人(Homo sapiens)

<400> 86

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

Gly

<210> 87
<211> 14
<212> PRT
<213> 人(Homo sapiens)

[0026]

<400> 87

Asp Met Gly Gly Phe Gly Glu Phe Tyr Trp Asn Phe Gly Leu
1 5 10

<210> 88

<211> 17

<212> PRT

<213> 人(Homo sapiens)

<400> 88

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

Gly

<210> 89

<211> 16

<212> PRT

<213> 人(Homo sapiens)

<400> 89

Glu Leu Tyr Ile Ser Asp Trp Asp Ser Tyr Ser Tyr Gly Met Asp Val
1 5 10 15

<210> 90

<211> 5

<212> PRT

<213> 人(Homo sapiens)

<400> 90

Asn Ala Trp Met Ser
1 5

<210> 91

<211> 19

<212> PRT

<213> 人(Homo sapiens)

<400> 91

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

Val Lys Gly

<210> 92

<211> 13

<212> PRT

<213> 人(Homo sapiens)

<400> 92

Ser Tyr Ser Ser Tyr Trp Phe Pro Tyr Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 93

<211> 17

<212> PRT

<213> 人(Homo sapiens)

<400> 93

Trp Leu Asn Pro Asp Ser Gly Val Ile Arg Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15

[0027]

Gly

<210> 94
<211> 17
<212> PRT
<213> 人(Homo sapiens)

<400> 94

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

Gly

<210> 95
<211> 14
<212> PRT
<213> 人(Homo sapiens)

<400> 95

Asp Ile Gly Gly Phe Gly Glu Phe Tyr Trp Asn Phe Gly Leu
1 5 10

<210> 96
<211> 11
<212> PRT
<213> 人(Homo sapiens)

<400> 96

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr Leu Ala
1 5 10

<210> 97
<211> 7
<212> PRT
<213> 人(Homo sapiens)

<400> 97

Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr
1 5

<210> 98
<211> 9
<212> PRT
<213> 人(Homo sapiens)

<400> 98

Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Pro Thr
1 5

<210> 99
<211> 10
<212> PRT
<213> 人(Homo sapiens)

<400> 99

Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Pro Tyr Thr
1 5 10

<210> 100
<211> 10
<212> PRT
<213> 人(Homo sapiens)

<400> 100

[0028]

Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Pro Phe Thr
1 5 10

<210> 101
<211> 12
<212> PRT
<213> 人(Homo sapiens)

<400> 101

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser Tyr Leu Ala
1 5 10

<210> 102
<211> 7
<212> PRT
<213> 人(Homo sapiens)

<400> 102

Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr
1 5

<210> 103
<211> 9
<212> PRT
<213> 人(Homo sapiens)

<400> 103

Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Ile Thr
1 5

<210> 104
<211> 11
<212> PRT
<213> 人(Homo sapiens)

<400> 104

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Ser Ser Leu His
1 5 10

<210> 105
<211> 7
<212> PRT
<213> 人(Homo sapiens)

<400> 105

Tyr Ala Ser Gln Ser Phe Ser
1 5

<210> 106
<211> 9
<212> PRT
<213> 人(Homo sapiens)

<400> 106

His Gln Ser Ser Ser Leu Pro Trp Thr
1 5

<210> 107
<211> 11
<212> PRT
<213> 人(Homo sapiens)

<400> 107

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp Leu Ala
1 5 10

[0029]

```

<210> 108
<211> 7
<212> PRT
<213> 人(Homo sapiens)

<400> 108
Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser
1 5

<210> 109
<211> 9
<212> PRT
<213> 人(Homo sapiens)

<400> 109
Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Leu Thr
1 5

<210> 110
<211> 11
<212> PRT
<213> 人(Homo sapiens)

<400> 110
Arg Ala Ser Gln Ser Val Arg Ser Tyr Leu Ala
1 5 10

<210> 111
<211> 10
<212> PRT
<213> 人(Homo sapiens)

<400> 111
Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Pro Ala Thr
1 5 10

<210> 112
<211> 7
<212> PRT
<213> 人(Homo sapiens)

<400> 112
Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro
1 5

<210> 113
<211> 9
<212> PRT
<213> 人(Homo sapiens)

<400> 113
Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Ile Thr
1 5

<210> 114
<211> 38
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 化学合成的

<400> 114
Met Leu Leu Val Asn Gln Ser His Gln Gly Phe Asn Lys Glu His Thr
1 5 10 15

```

[0030]

Ser Lys Met Val Ser Ala Ile Val Leu Tyr Val Leu Leu Ala Ala Ala
20 25 30

Ala His Ser Ala Phe Ala
35

<210> 115
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 化学合成的

<400> 115

Met Pro Leu Leu Leu Leu Leu Pro Leu Leu Trp Ala Gly Ala Leu
1 5 10 15

Ala Met Asp

Abstract

This invention related to anti-IL-17A/IL-17F cross-reactive antibodies and methods of use thereof. This invention provides fully human monoclonal antibodies that recognize IL- 17F, the IL- 17F homodimer, IL- 17A, the IL- 17A homodimer, and/or the heterodimeric IL- 17A/IL-17F protein complex. The invention further provides methods of using such monoclonal antibodies as a therapeutic, diagnostic, and prophylactic.