



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2023년08월24일

(11) 등록번호 10-2571012

(24) 등록일자 2023년08월22일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

C07K 16/28 (2006.01) A61K 39/00 (2006.01)

A61P 17/00 (2006.01) A61P 17/06 (2006.01)

A61P 19/02 (2006.01)

(52) CPC특허분류

C07K 16/2866 (2013.01)

A61P 17/00 (2018.01)

(21) 출원번호 10-2019-7001500

(22) 출원일자(국제) 2017년07월14일

심사청구일자 2020년07월08일

(85) 번역문제출일자 2019년01월16일

(65) 공개번호 10-2019-0026766

(43) 공개일자 2019년03월13일

(86) 국제출원번호 PCT/EP2017/067923

(87) 국제공개번호 WO 2018/011420

국제공개일자 2018년01월18일

(30) 우선권주장

1612337.4 2016년07월15일 영국(GB)

(56) 선행기술조사문헌

WO2011061119 A1*

*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자

아르제넥스 비브이

벨기에, 주에나르드 9052, 인더스트리파크 7

(72) 발명자

블랑쉬토트, 크리스토프 프레데릭 제롬

벨기에, 비-9052 겐트, 빌딩 씨, 인더스트리파크
주에나르드 7, 아르제넥스 비브이비에이 씨/오

어쇠, 비르기트

덴마크, 2750 발러럽, 인더스트리파켄, 55, 레오
파마 에이/에스 씨/오

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

이원희

전체 청구항 수 : 총 14 항

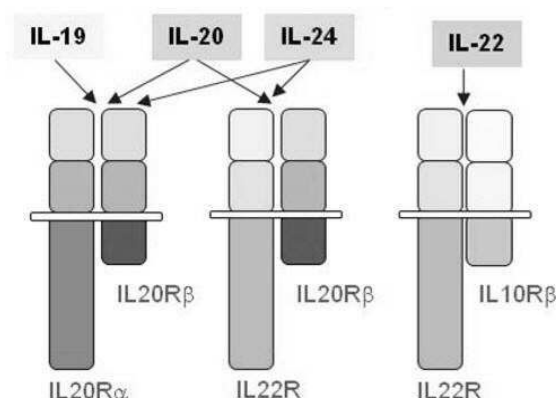
심사관 : 김윤선

(54) 발명의 명칭 항-IL-22R 항체

(57) 요약

본 발명은 사이토카인 수용체 IL-22R, 특히 인간 IL-22R에 결합하는 항체 및 이의 항원 결합 단편에 관한 것이다. 본 발명은 또한 상기 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 약학적 조성물, 및 건선, 건선성 관절염 또는 아토피성 피부염의 치료 방법에 관한 것이다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61P 17/06 (2018.01)

A61P 19/02 (2018.01)

A61K 2039/505 (2013.01)

C07K 2317/33 (2013.01)

C07K 2317/34 (2013.01)

C07K 2317/732 (2013.01)

C07K 2317/92 (2013.01)

(72) 발명자

스카-닐슨, 톰

덴마크, 2750 발러럽, 인더스트리파켄, 55, 레오
파마 에이/에스 씨/오

베르텔센, 말레네

덴마크, 2750 발러럽, 인더스트리파켄, 55, 레오
파마 에이/에스 씨/오

반 데르 오닝, 세바스티안

벨기에, 비-9052 겐트, 빌딩 씨, 인더스트리파크 주
에나르드 7, 아르제텍스 비브이비에이 씨/오

손더스, 미셸

벨기에, 비-9052 겐트, 빌딩 씨, 인더스트리파크
주에나르드 7, 아르제텍스 비브이비에이 씨/오

데 하드, 요하네스 요제프 빌헬무스

벨기에, 비-9052 겐트, 빌딩 씨, 인더스트리파크
주에나르드 7, 아르제텍스 비브이비에이 씨/오

명세서

청구범위

청구항 1

삭제

청구항 2

삭제

청구항 3

삭제

청구항 4

삭제

청구항 5

삭제

청구항 6

삭제

청구항 7

삭제

청구항 8

삭제

청구항 9

삭제

청구항 10

삭제

청구항 11

삭제

청구항 12

삭제

청구항 13

삭제

청구항 14

삭제

청구항 15

삭제

청구항 16

삭제

청구항 17

삭제

청구항 18

삭제

청구항 19

삭제

청구항 20

IL-22R에 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 중쇄 가변 도메인 및 경쇄 가변 도메인을 포함하고, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 서열번호 6을 포함하는 HCDR3; 서열번호 36을 포함하는 HCDR2; 및 서열번호 34를 포함하는 HCDR1과 같은 가변 중쇄 CDR 서열의 조합 및 서열번호 54를 포함하는 LCDR3; 서열번호 47을 포함하는 LCDR2; 및 서열번호 16을 포함하는 LCDR1과 같은 가변 경쇄 CDR 서열의 조합을 포함하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 21

삭제

청구항 22

삭제

청구항 23

삭제

청구항 24

삭제

청구항 25

삭제

청구항 26

삭제

청구항 27

제 20 항에 있어서, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 서열번호 63의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인 (VH) 및 서열번호 64의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인 (VL)의 조합을 포함하는, 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 28

제 20 항에 있어서, 상기 항체는 서열번호 67의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열번호 68의 아미노산 서

열을 포함하는 경쇄를 포함하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 29

삭제

청구항 30

삭제

청구항 31

제 20 항, 제 27 항 또는 제 28 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 인간 IgG의 힌지 영역, CH2 도메인 또는 CH3 도메인을 포함하는, 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 32

제 20 항, 제 27 항 또는 제 28 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 인간 IgG에 대해 높은 상동성을 나타내는, 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 33

제 20 항, 제 27 항 또는 제 28 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 VH 및/또는 VL 도메인 또는 하나 이상의 CDR 이 낙타과 (*Camelidae*)의 한 동물로부터 유래된 것이고, 상기 동물은 라마 (llama)인 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 34

제 20 항, 제 27 항 또는 제 28 항 중 어느 한 항의 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 코딩하는 단리된 폴리뉴클레오타이드.

청구항 35

삭제

청구항 36

삭제

청구항 37

단리된 숙주 세포 또는 무세포 발현 시스템에서 항체, 항원 결합 단편, 가변 중쇄 도메인 또는 가변 경쇄 도메인의 발현을 허용하는 조절 서열에 작동 가능하게 연결된 제 34 항의 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 발현 벡터.

청구항 38

제 37 항의 발현 벡터를 포함하는 단리된 숙주 세포.

청구항 39

항체 또는 항원 결합 단편의 발현을 가능하게 하는 조건 하에서 제 38 항의 단리된 숙주 세포를 배양하고 발현된 항체 또는 항원 결합 단편을 회수하는 것을 포함하는 재조합 항체 또는 그의 항원 결합 단편을 생산하는 방법.

청구항 40

제 20 항, 제 27 항 또는 제 28 항 중 어느 한 항에 따른 항체 또는 항원 결합 단편 및 하나 이상의 약학적으로 허용 가능한 담체 또는 부형제를 포함하는 건선, 건선성 관절염 또는 아토피성 피부염의 치료 또는 예방용 약학적 조성물.

청구항 41

삭제

청구항 42

삭제

청구항 43

제 32 항에 있어서, 인간 IgG1에 대해 높은 상동성을 나타내는 항체.

청구항 44

제 37 항의 발현 벡터를 포함하는 무세포 발현 시스템.

청구항 45

항체 또는 항원 결합 단편의 발현을 가능하게 하는 조건 하에서 제 44 항의 무세포 발현 시스템을 배양하고 발현된 항체 또는 항원 결합 단편을 회수하는 것을 포함하는 재조합 항체 또는 그의 항원 결합 단편을 생산하는 방법.

청구항 46

삭제

청구항 47

삭제

청구항 48

삭제

청구항 49

삭제

청구항 50

삭제

청구항 51

삭제

청구항 52

삭제

청구항 53

삭제

청구항 54

삭제

청구항 55

삭제

청구항 56

삭제

청구항 57

삭제

청구항 58

삭제

청구항 59

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 사이토카인 수용체 IL-22R, 특히 인간 IL-22R에 결합하는 항체 및 이의 항원 결합 단편에 관한 것이다. 본 발명은 또한 상기 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 약학적 조성물, 및 건선, 건선성 관절염 또는 아토피성 피부염의 치료 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] IL-22R (IL-22R1 및 IL-22RA로도 알려짐)은 피부 및 상피 세포에서 선택적으로 발현되는 II 형 사이토카인 수용체이다. 상기 수용체는 인터루킨-22 (IL-22), 인터루킨-20 (IL-20) 및 인터루킨-24 (IL-24)의 세 가지 사이토카인을 통한 신호 전달을 매개한다. IL-22R을 통한 사이토카인 신호 전달은 세포 표면에서 이종이량체 복합체의 형성을 필요로 한다. 도 1에 나타낸 바와 같이, IL-22는 IL-22R 및 IL-10R β (IL-10R2로도 알려짐)로 구성된 복합체를 통해 결합 및 신호하는 반면, IL-20 및 IL-24는 IL-22R 및 IL-20R β (IL-20R2로도 알려짐)로 이루어진 이종이량체 복합체를 통해 결합 및 신호한다.

[0003] 인터루킨-22는 면역 세포, 특히 활성화된 수지상 세포 및 T 세포에 의해 발현되는 사이토카인이다. IL-22는 일단 면역계에 의해 생성되면 상피 세포에 결합하여 IL-22R을 활성화시킴으로써 생물학적 효과를 나타낸다. IL-22 결합 하류의 IL-22R-IL-10R β 복합체의 활성화는 염증성 반응과 세균성 병원체에 대한 숙주 방어에 중요한 항균성 단백질의 유도 및 폐 및 간과 같은 기관의 보호효과를 나타낸다. 또한, IL-22는 질병 병리학, 특히 건선, 건선성 관절염 및 아토피성 피부염과 같은 염증성 질환의 발병과 관련되어있다 (Ma *et al.* J Clin. Invest. 118: 597-607 (2008); Van Belle *et al.* J Immunol. Jan 1;188(1):462-9 (2012); Sabat *et al.* Nat. Rev. Drug Discov. 13(1):21-38 (2014)).

[0004] IL-22R의 세포외 도메인과 복합체를 이룬 IL-22의 결정 구조가 규명되었으며, 이 리간드가 그의 수용체와 어떻게 결합하는지에 대한 중요한 이해가 제공되었다 (Jones *et al.* Structure 16(9): 1333-1344 (2008)). IL-

22R의 세포의 영역은 서로 직각으로 배치된 2 종의 피브로넥틴 III 형 (FBNIII) 도메인 (D1 및 D2)을 포함한다. 상기 도메인의 계면에 위치한 5 개의 루프는 주로 리간드-수용체 복합체 내에서 IL-22 잔기를 결합시키는 역할을 한다. 수용체 결합에 기여하는 상기 IL-22 잔기들은 상기 리간드의 2 개 부위, 즉 부위 1a 및 부위 1b에 모인다. 상기 수용체와 리간드 모두에 관여하는 중요한 잔기들에 대한 이해는 이 상호 작용을 치료 전략으로서 IL-22 신호 전달을 무력화시키기 위해 파괴할 수 있는 방법을 밝혀냈다.

[0005] 인터루킨-20과 인터루킨-24는 IL-22와 유사하게 단핵 세포와 각질형성세포에 의해 발현되고, 이들 사이토카인은 피부 항상성과 병리학에 역할을 하는 것으로 밝혀졌다. 상기 수용체를 활성화시키는 리간드의 결합을 차단함으로써 IL-22R의 신호 전달을 억제 또는 감소시키는 전략은 특히 건선 및 아토피성 피부염과 같은 피부 질환의 치료에 효과적으로 사용할 수 있다.

[0006] IL-22R에 결합하여 IL-22와 IL-22R 사이의 상호 작용을 차단하는 항체들이 개발되었다. 예를 들어, W02011/061119에는 W02006/047249에 원래 기재되어있는 마우스 항-인간 단일클론 항체로부터 생산된 인간화된 IL-22R 항체가 기재되어있다. 상기 인간화 항체는 여기에서 "280-346-TSY"로 지칭되는데, 이는 세포 증식 분석에서 IL-22RA를 통한 IL-22 신호 전달을 억제하고 건선 마우스 모델에서 IL-23에 의해 유도된 귀 염증을 억제하였다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0007] 본 발명의 목적은 사이토카인 수용체 IL-22R에 결합하고 선행 기술에 기재된 IL-22R 항체와는 상이한 특성을 나타내는 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제공하는 것이다. 상기 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 전형적으로 선행 기술의 IL-22R 항체, 특히 W02011/061119에 기재된 인간화 IL-22R 항체의 특성과는 상이하며 특정 경우 더 우수한 특성들을 나타낸다. 이들 항체의 특성은 인간 치료, 특히 건선, 건선성 관절염 및 아토피성 피부염과 같은 증상의 치료와 관련하여 특히 유리할 수 있다.

과제의 해결 수단

[0008] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 인간 IL-22R에 결합하는 항체 또는 그의 항원 결합 단편 제공한다. 상기 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 Tyr60을 포함하지 않는 IL-22R 단백질 내의 에피토프에 결합한다.

[0009] 특정 구현예에서, 상기 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 하기로부터 선택되는 하나 이상의 추가적인 특성을 갖는다:

[0010] IL-22R 단백질의 D2 도메인에 적어도 부분적으로 위치하는 인간 IL-22R의 에피토프에 결합하는 능력;

[0011] 높은 친화성을 가지고 인간 IL-22R에 결합하는 능력;

[0012] 인간 IL-22R에 대한 IL-22의 결합을 차단하는 능력;

[0013] IL-22 의존성 IL-22R 활성화를 억제하는 능력;

[0014] IL-20 의존성 IL-22R 활성화를 억제하는 능력;

[0015] IL-22 및 IL-20 의존성 IL-22R 활성화를 억제하는 능력; 및

[0016] 쥐 IL-22R과 교차 반응성이 없다.

[0017] 상기 항체 또는 항원 결합 단편은 본 명세서의 다른 곳에서 정의된 바와 같이 높은 인간 상동성을 나타낸다. 특정 구현예에서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 중쇄 가변 도메인 (VH) 및 경쇄 가변 도메인 (VL)으로 구성되는데, 상기 VH 및/또는 VL 도메인 또는 그의 하나 이상의 상보성 결정 영역(CDR)은 낙타과의 한 동물에서 유래된 것이다. 높은 인간 상동성을 나타내거나 적어도 하나의 낙타-유래 CDR 서열, VH 및/또는 VL 도메인을 갖는 항체 또는 항원 결합 단편은 낙타의 통상적인 항체로부터 유래된 VH 또는 VL 도메인의 인간화 변이체 또는 생식 세포화 변이체일 수 있으며, "인간화" 및 "생식세포화"는 본 명세서의 다른 곳에서 정의된 바와 같다.

[0018] 비 한정적인 구현예에서, 본 발명은 특이적 구조적 특성, 즉 CDRs (one or more of 서열번호 2, 4, 6, 9, 11, 13, 34, 36, 41, 43 (중쇄 CDRs) 또는 서열번호 16, 18, 20, 23, 25, 27, 47, 54, 57, 59 (경쇄 CDRs) 중 하나 이상) 또는 중 가변 영역 (서열번호 29, 31, 63, 65 (중쇄 가변 도메인) 또는 서열번호 30, 32, 62, 64, 66 (경쇄 가변 도메인) 중 하나 이상)의 특정 아미노산 서열을 참조하여 정의되는 하기 항체 또는 이의 항원 결합

단편을 제공한다. 상기 항체 모두는 인간 사이토카인 수용체인 IL-22R에 결합한다.

- [0019] 특정 구현예에서, 하기의 구조적 특성에 의해 정의되는 상기 항체들은 본 명세서에서 정의된 바와 같이 높은 인간 상동성을 나타낸다. 상기 항체는 재조합 수단에 의해 만들어진 단일클론 항체 일 수 있다. IL-22R 항체의 CDRs는 낙타 (구체적으로는 라마) 의 면역화에 의해 생성된 통상적인 항체로부터 유래될 수 있다. 본 발명은 또한 인간화 또는 인간 생식세포화 변이체, 친화성 변이체 및 보존적 아미노산 치환을 함유하는 변이체를 제공한다.
- [0020] 본 발명의 IL-22R 항체의 구현예를 구조적 특성을 참조하여 추가로 기술한다.
- [0021] 한 구현예에서, 사이토카인 수용체 IL-22R에 결합하는 항체 또는 그의 항원 결합 단편이 제공되며, 상기 항체 또는 항원 결합 단편은 하기 서열들로 구성되는 군으로부터 선택되는 중쇄 CDR3를 포함하는 중쇄 가변 도메인 (VH) 을 포함한다:
- [0022] 서열번호 6 [VGFSGTYYES], 또는 그의 서열 변이체;
- [0023] 서열번호 13 [PPGPFKAHYNGMKY], 또는 그의 서열 변이체; 및
- [0024] 서열번호 43 [PPGPFKAHYNGAKY], 또는 그의 서열 변이체.
- [0025] 여기서, 상기 서열 변이체는 기재된 서열에서 1, 2 또는 3 개의 아미노산 치환 (예를 들어, 보존적 치환, 인간화 치환 또는 친화성 변형)을 포함한다.
- [0026] 상기 항체 또는 그의 항원 결합 단편의 중쇄 가변 도메인은 택일적으로 또는 부가적으로 하기 서열들로 구성되는 군으로부터 선택되는 중쇄 CDR2를 포함할 수 있다:
- [0027] 서열번호 4 [SIYNDGSNTAYSDSVKG], 또는 그의 서열 변이체;
- [0028] 서열번호 11 [GIHISGGITYYLDVSVKG], 또는 그의 서열 변이체;
- [0029] 서열번호 36 [SIYNDASNTAYSDSVKG], 또는 그의 서열 변이체; 및
- [0030] 서열번호 41 [GIHISGGITYYTDSVKG], 또는 그의 서열 변이체.
- [0031] 여기서, 상기 서열 변이체는 기재된 서열에서 1, 2 또는 3 개의 아미노산 치환 (예를 들어, 보존적 치환, 인간화 치환 또는 친화성 변형)을 포함한다.
- [0032] 상기 항체 또는 그의 항원 결합 단편의 중쇄 가변 도메인은 택일적으로 또는 부가적으로 하기 서열들로 구성되는 군으로부터 선택되는 중쇄 CDR1을 포함할 수 있다:
- [0033] 서열번호 2 [SYDMS], 또는 그의 서열 변이체;
- [0034] 서열번호9 [SYFMS], 또는 그의 서열 변이체; 및
- [0035] 서열번호34 [SYDMN], 또는 그의 서열 변이체.
- [0036] 여기서, 상기 서열 변이체는 기재된 서열에서 1, 2 또는 3 개의 아미노산 치환 (예를 들어, 보존적 치환, 인간화 치환 또는 친화성 변형)을 포함한다.
- [0037] 택일적으로 또는 부가적으로, 사이토카인 수용체 IL-22R에 결합하는 상기 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 하기 서열들로 구성되는 군으로부터 선택되는 경쇄 CDR3를 포함하는 경쇄 가변 도메인 (VL) 을 포함한다:
- [0038] 서열번호20 [QSGSSSANAV], 또는 그의 서열 변이체;
- [0039] 서열번호27 [ASYRLYADYV], 또는 그의 서열 변이체; 및
- [0040] 서열번호54 [QSGSSSSNAV], 또는 그의 서열 변이체.
- [0041] 여기서, 상기 서열 변이체는 기재된 서열에서 1, 2 또는 3 개의 아미노산 치환 (예를 들어, 보존적 치환, 인간화 치환 또는 친화성 변형)을 포함한다.
- [0042] 상기 항체 또는 그의 항원 결합 단편의 경쇄 가변 도메인은 택일적으로 또는 부가적으로 하기 서열들로 구성되는 군으로부터 선택되는 경쇄 CDR2를 포함할 수 있다:
- [0043] 서열번호18 [GNNNRPS], 또는 그의 서열 변이체

- [0044] 서열번호25 [KVNTRSS], 또는 그의 서열 변이체,
- [0045] 서열번호47 [GQNNRPS], 또는 그의 서열 변이체,
- [0046] 서열번호59 [EVNKRSS], 또는 그의 서열 변이체,
- [0047] 여기서, 상기 서열 변이체는 기재된 서열에서 1, 2 또는 3 개의 아미노산 치환 (예를 들어, 보존적 치환, 인간화 치환 또는 친화성 변형)을 포함한다.
- [0048] 상기 항체 또는 그의 항원 결합 단편의 경쇄 가변 도메인은 택일적으로 또는 부가적으로 하기 서열들로 구성되는 군으로부터 선택되는 경쇄 CDR1을 포함할 수 있다:
- [0049] 서열번호16 [QGGYYAH], 또는 그의 서열 변이체;
- [0050] 서열번호23 [TGTSRDIGDYNVVS], 또는 그의 서열 변이체; 및
- [0051] 서열번호57 [TGTSSDIGSYNYVS], 또는 그의 서열 변이체.
- [0052] 여기서, 상기 서열 변이체는 기재된 서열에서 1, 2 또는 3 개의 아미노산 치환 (예를 들어, 보존적 치환, 인간화 치환 또는 친화성 변형)을 포함한다.
- [0053] 특정 구현예에서, 사이토카인 수용체 IL-22R에 결합하는 항체 또는 그의 항원 결합 단편이 제공되며, 상기 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 가변 중쇄 CDR3 (HCDR3), 가변 중쇄 CDR2 (HCDR2) 및 가변 중쇄 CDR1 (HCDR1)의 조합을 포함하고, 상기 조합은 하기 서열들로 구성되는 조합들로 이루어진 군으로부터 선택된다:
- [0054] (i) 서열번호 6를 포함하는 HCDR3; 서열번호 36을 포함하는 HCDR2; 서열번호 34를 포함하는 HCDR1;
- [0055] (ii) 서열번호 43을 포함하는 HCDR3; 서열번호 41을 포함하는 HCDR2; 서열번호 9를 포함하는 HCDR1;
- [0056] (iii) 서열번호 6을 포함하는 HCDR3; 서열번호 4를 포함하는 HCDR2; 서열번호 2를 포함하는 HCDR1; 및
- [0057] (iv) 서열번호 13을 포함하는 HCDR3; 서열번호 11을 포함하는 HCDR2; 서열번호 9를 포함하는 HCDR1.
- [0058] 택일적으로 또는 부가적으로, 사이토카인 수용체 IL-22R에 결합하는 상기 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 가변 경쇄 CDR3 (LCDR3), 가변 경쇄 CDR2 (LCDR2) 및 가변 경쇄 CDR1 (LCDR1)의 조합을 포함하고, 상기 조합은 하기 서열들로 구성되는 조합들로 이루어진 군으로부터 선택된다:
- [0059] (i) 서열번호 54를 포함하는 LCDR3; 서열번호 47을 포함하는 LCDR2; 서열번호 16을 포함하는 LCDR1;
- [0060] (ii) 서열번호 27을 포함하는 LCDR3; 서열번호 59를 포함하는 LCDR2; 서열번호 57을 포함하는 LCDR1;
- [0061] (iii) 서열번호 20을 포함하는 LCDR3; 서열번호 47을 포함하는 LCDR2; 서열번호 16을 포함하는 LCDR1;
- [0062] (iv) 서열번호 20을 포함하는 LCDR3; 서열번호 18을 포함하는 LCDR2; 서열번호 16을 포함하는 LCDR1; 및
- [0063] (v) 서열번호 27을 포함하는 LCDR3; 서열번호 25를 포함하는 LCDR2; 서열번호 23을 포함하는 LCDR1.
- [0064] 특정 구현예에서, 사이토카인 수용체 IL-22R에 결합하는 항체 또는 그의 항원 결합 단편이 제공되며, 상기 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 가변 중쇄 CDR3 (HCDR3), 가변 중쇄 CDR2 (HCDR2), 가변 중쇄 CDR1 (HCDR1), 가변 경쇄 CDR3 (LCDR3), 가변 경쇄 CDR2 (LCDR2) 및 가변 경쇄 CDR1 (LCDR1)의 조합을 포함한다.
- [0065] 한 구현예에서, 사이토카인 수용체 IL-22R에 결합하는 항체 또는 그의 항원 결합 단편이 제공되며, 상기 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 하기와 같은 VH 및 VL CDR 서열의 조합을 포함한다: 서열번호 6을 포함하는 HCDR3; 서열번호 36을 포함하는 HCDR2; 서열번호 34를 포함하는 HCDR1; 서열번호 54를 포함하는 LCDR3; 서열번호 47을 포함하는 LCDR2; 및 서열번호 16을 포함하는 LCDR1.
- [0066] 한 구현예에서, 사이토카인 수용체 IL-22R에 결합하는 항체 또는 그의 항원 결합 단편이 제공되며, 상기 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 하기와 같은 VH 및 VL CDR 서열의 조합을 포함한다: 서열번호 43을 포함하는 HCDR3; 서열번호 41을 포함하는 HCDR2; 서열번호 9를 포함하는 HCDR1; 서열번호 27을 포함하는 LCDR3; 서열번호 59를 포함하는 LCDR2; 및 서열번호 57을 포함하는 LCDR1.
- [0067] 한 구현예에서, 사이토카인 수용체 IL-22R에 결합하는 항체 또는 그의 항원 결합 단편이 제공되며, 상기 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 하기와 같은 VH 및 VL CDR 서열의 조합을 포함한다: 서열번호 6을 포함하는 HCDR3; 서열번호 4를 포함하는 HCDR2; 서열번호 2를 포함하는 HCDR1; 서열번호 20을 포함하는 LCDR3; 서열번호 47을 포

합하는 LCDR2; 및 서열번호 16을 포함하는 LCDR1.

- [0068] 한 구현예에서, 사이토카인 수용체 IL-22R에 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 제공되며, 상기 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 하기와 같은 VH 및 VL CDR 서열의 조합을 포함한다: 서열번호 6을 포함하는 HCDR3; 서열번호 4를 포함하는 HCDR2; 서열번호 2를 포함하는 HCDR1; 서열번호 20을 포함하는 LCDR3; 서열번호 18을 포함하는 LCDR2; 및 서열번호 16을 포함하는 LCDR1.
- [0069] 한 구현예에서, 사이토카인 수용체 IL-22R에 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 제공되며, 상기 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 하기와 같은 VH 및 VL CDR 서열의 조합을 포함한다: 서열번호 13을 포함하는 HCDR3; 서열번호 11을 포함하는 HCDR2; 서열번호 9를 포함하는 HCDR1; 서열번호 27을 포함하는 LCDR3; 서열번호 25를 포함하는 LCDR2; 및 서열번호 23을 포함하는 LCDR1.
- [0070] 특정 구현예에서, 사이토카인 수용체 IL-22R에 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 제공되며, 상기 항체 또는 항원 결합 단편은 하기로부터 선택되는 중쇄 가변 도메인 (VH) 을 포함한다:
- [0071] (i) 서열번호 29 또는 31의 아미노산 서열을 포함하거나 상기 서열로 구성되는 VH;
- [0072] (ii) 서열번호 29 또는 31의 아미노산 서열을 포함하거나 상기 서열로 구성되는 VH의 친화성 변이체 또는 인간 생식세포화 변이체; 또는
- [0073] (iii) 서열번호 29 또는 31의 아미노산 서열과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나 상기 서열로 구성되는 VH.
- [0074] 택일적으로 또는 부가적으로, 상기 항체 또는 항원 결합 단편은 하기로부터 선택되는 경쇄 가변 도메인 (VL)을 포함할 수 있다:
- [0075] (i) 서열번호 30, 32 또는 62의 아미노산 서열을 포함하거나 상기 서열로 구성되는 VL;
- [0076] (ii) 서열번호 30, 32 또는 62의 아미노산 서열을 포함하거나 상기 서열로 구성되는 VL의 친화성 변이체 또는 인간 생식세포화 변이체; 또는
- [0077] (iii) 서열번호 30, 32 또는 62의 아미노산 서열과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나 상기 서열로 구성되는 VL.
- [0078] 본 발명의 바람직한 구현예에서, 상기 항체 또는 항원 결합 단편의 도메인은 기준 서열에 대한 특정 백분율의 서열 동일성에 의해 한정되며, 상기 VH 및/또는 VL 도메인은 그 가변성이 프레임 워크 영역 내에서만 존재하는 기준 서열에 포함되는 CDR 서열과 동일한 CDR 서열을 보유할 수 있다.
- [0079] 특정 구현예에서, 본 발명의 항체는 인간 항체, 특히 인간 IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4의 CH1 도메인, 힌지 영역, CH2 도메인 및 CH3 도메인을 포함할 수 있다.
- [0080] 이하, 본 발명의 특히 바람직한 항체들을 기재한다.
- [0081] 230C9 및 그에 관련된 항체들
- [0082] 특정 구현예에서, IL-22R에 특이적으로 결합하는 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 제공되며, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 중쇄 가변 도메인을 포함한다:
- [0083] 가변 중쇄 CDR3 서열은 서열번호 6으로 기재되는 서열이거나 [VGFSGTYTSES] 또는 그의 서열 변이체이다;
- [0084] 가변 중쇄 CDR2 서열은 서열번호 36으로 기재되는 서열이거나 [SIYNDASNTAYSDSVKG] 또는 그의 서열 변이체이다; 및
- [0085] 가변 중쇄 CDR1 서열은 서열번호 34 로 기재되는 서열이거나 [SYDMN] 또는 그의 변이체 서열이다.
- [0086] 여기서, 상기 서열 변이체는 기재된 서열에서 1, 2 또는 3 개의 아미노산 치환 (예를 들어, 보존적 치환, 인간화 치환 또는 친화성 변형)을 포함한다.
- [0087] 상기 항체 또는 항원 결합 단편은 경쇄 가변 도메인을 추가로 포함 할 수 있다:
- [0088] 가변 경쇄 CDR3 서열은 서열번호 54 로 기재되는 서열이거나 [QSGSSSSNAV] 또는 그의 서열 변이체이다;
- [0089] 가변 경쇄 CDR2 서열은 서열번호 47 로 기재되는 서열이거나 [GQNNRPS] 또는 그의 서열 변이체이다; 및

- [0090] 가변 경쇄 CDR1 서열은 서열번호 16으로 기재되는 서열이거나 [QGGYYAH] 또는 그의 서열 변이체이다.
- [0091] 특정 구현예에서, IL-22R에 특이적으로 결합하는 분리된 항체 또는 그의 항원 결합 단편이 제공되며, 상기 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 중쇄 가변 도메인 및 경쇄 가변 도메인을 포함한다:
- [0092] 가변 중쇄 CDR3 서열은 서열 번호 6으로 기재되는 서열[VGFSGTYYES]을 포함하거나 상기 서열로 구성된다;
- [0093] 가변 중쇄 CDR2 서열은 서열 번호 36으로 기재되는 서열[SIYNDASNTAYSDSVKG]을 포함하거나 상기 서열로 구성된다;
- [0094] 가변 중쇄 CDR1 서열은 서열 번호 34로 기재되는 서열[SYDMN]을 포함하거나 상기 서열로 구성된다;
- [0095] 가변 경쇄 CDR3 서열은 서열 번호 54로 기재되는 서열[QSGSSSSNAV]을 포함하거나 상기 서열로 구성된다;
- [0096] 가변 경쇄 CDR2 서열은 서열 번호 47로 기재되는 서열[GQNNRPS]을 포함하거나 상기 서열로 구성된다; 및
- [0097] 가변 경쇄 CDR1 서열은 서열 번호 16으로 기재되는 서열[QGGYYAH]을 포함하거나 상기 서열로 구성된다.
- [0098] 상기 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 서열번호 63의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인 (VH) 및 선택적으로 서열번호 64의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인 (VL)을 포함할 수 있다. 특정 구현예에서, 중쇄 가변 도메인 및 경쇄 가변 도메인을 포함하는 단일클론 항체 또는 그의 항원 결합 단편이 제공되며, 상기 중쇄 가변 도메인은 서열번호 63의 아미노산 서열과 적어도 85%, 적어도 90%, 또는 적어도 95%, 또는 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 VH를 포함하며 및/또는 상기 경쇄 가변 도메인은 서열번호 64의 아미노산 서열과 적어도 85% 또는 적어도 90%, 또는 적어도 95%, 또는 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 VL을 포함한다.
- [0099] 본 발명의 바람직한 구현예에서, 상기 항체 또는 항원 결합 단편의 도메인은 기준 서열에 대한 특정 백분율의 서열 동일성에 의해 한정되며, 상기 VH 및/또는 VL 도메인은 그 가변성이 프레임 워크 영역 내에서만 존재하는 기준 서열에 포함되는 CDR 서열과 동일한 CDR 서열을 보유할 수 있다. 특정 구현예에서, 서열번호 63 및 서열번호 64의 서열과 특정 백분율의 서열 동일성을 갖는 것으로 정의된 중쇄 가변 도메인 및/또는 경쇄 가변 도메인을 포함하는 항체 또는 항원 결합 단편은 각각 하기의 CDR 서열을 가질 수 있다:
- [0100] 서열번호 6으로 기재되는 서열[VGFSGTYYES]을 포함하거나 상기 서열로 구성되는 가변 중쇄 CDR3 서열;
- [0101] 서열번호 36으로 기재되는 서열[SIYNDASNTAYSDSVKG]을 포함하거나 상기 서열로 구성되는 가변 중쇄 CDR2 서열;
- [0102] 서열번호 34로 기재되는 서열[SYDMN]을 포함하거나 상기 서열로 구성되는 가변 중쇄 CDR1 서열;
- [0103] 서열번호 54로 기재되는 서열[QSGSSSSNAV]을 포함하거나 상기 서열로 구성되는 가변 경쇄 CDR3 서열;
- [0104] 서열번호 47로 기재되는 서열[GQNNRPS]을 포함하거나 상기 서열로 구성되는 가변 경쇄 CDR2 서열; 및
- [0105] 서열번호 16으로 기재되는 서열[QGGYYAH]을 포함하거나 상기 서열로 구성되는 가변 경쇄 CDR1 서열.
- [0106] IL-22R에 특이적으로 결합하는 항체는 적어도 하나의 전장 면역 글로불린 중쇄 및/또는 적어도 하나의 전장 램다 또는 카파 경쇄를 포함할 수 있다. 특정 구현예에서, 상기 항체는 서열번호 67의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열번호 68의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 특정 구현예에서, 서열번호 67의 아미노산 서열과 적어도 85%, 적어도 90%, 또는 적어도 95%, 또는 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 중쇄 및/또는 서열번호 68의 아미노산 서열과 적어도 85% 또는 적어도 90%, 또는 적어도 95%, 또는 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 경쇄를 포함하는 단일클론 항체를 제공한다.
- [0107] 본 발명의 바람직한 구현예에서, 상기 항체의 사슬들은 기준 서열에 대한 특정 백분율의 서열 동일성에 의해 한정되며, 상기 중쇄 및/또는 경쇄는 그 가변성이 CDR 영역 밖에만 존재하는 기준 서열에 포함되는 CDR 서열과 동일한 CDR 서열을 보유할 수 있다.
- [0108] 223G5 및 이에 관련된 항체들
- [0109] 특정 구현예에서, IL-22R에 특이적으로 결합하는 분리된 항체 또는 그의 항원 결합 단편이 제공되며, 상기 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 중쇄 가변 도메인을 포함한다:
- [0110] 가변 중쇄 CDR3 서열은 서열번호 43으로 기재되는 서열이거나 [PPGPFKAHYNGAKY] 또는 그의 서열 변이체이다;
- [0111] 가변 중쇄 CDR2 서열은 서열번호 41로 기재되는 서열이거나 [GIHISGGITYTDSVKG] 또는 그의 서열 변이체이다;

및

- [0112] 가변 중쇄 CDR1 서열은 서열번호 9로 기재되는 서열이거나 [SYFMS] 또는 그의 변이체 서열이다.
- [0113] 여기서, 상기 서열 변이체는 기재된 서열에서 1, 2 또는 3 개의 아미노산 치환 (예를 들어, 보존적 치환, 인간화 치환 또는 친화성 변형)을 포함한다.
- [0114] 상기 항체 또는 항원 결합 단편은 경쇄 가변 도메인을 추가로 포함 할 수 있다:
- [0115] 가변 경쇄 CDR3 서열은 서열번호 27로 기재되는 서열이거나 [ASYRLYADYV] 또는 그의 서열 변이체이다;
- [0116] 가변 경쇄 CDR2 서열은 서열번호 59로 기재되는 서열이거나 [EVNKRSS] 또는 그의 서열 변이체이다; 및
- [0117] 가변 경쇄 CDR1 서열은 서열번호 57로 기재되는 서열이거나 [TGTSSDIGSYNYVS] 또는 그의 서열 변이체이다.
- [0118] 여기서, 상기 서열 변이체는 기재된 서열에서 1, 2 또는 3 개의 아미노산 치환 (예를 들어, 보존적 치환, 인간화 치환 또는 친화성 변형)을 포함한다.
- [0119] 특정 구현예에서, IL-22R에 특이적으로 결합하는 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 제공되며, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 중쇄 가변 도메인 및 경쇄 가변 도메인을 포함한다:
- [0120] 가변 중쇄 CDR3 서열은 서열 번호 43으로 기재되는 서열[PPGPFKAHYNGAKY]을 포함하거나 상기 서열로 구성된다;
- [0121] 가변 중쇄 CDR2 서열은 서열 번호 41로 기재되는 서열[GIHISGGITYYTDSVKG]을 포함하거나 상기 서열로 구성된다;
- [0122] 가변 중쇄 CDR1 서열은 서열 번호 9로 기재되는 서열[SYFMS]을 포함하거나 상기 서열로 구성된다;
- [0123] 가변 경쇄 CDR3 서열은 서열 번호 27로 기재되는 서열[ASYRLYADYV]을 포함하거나 상기 서열로 구성된다;
- [0124] 가변 경쇄 CDR2 서열은 서열 번호 59로 기재되는 서열[EVNKRSS]을 포함하거나 상기 서열로 구성된다; 및
- [0125] 가변 경쇄 CDR1 서열은 서열 번호 57로 기재되는 서열[TGTSSDIGSYNYVS]을 포함하거나 상기 서열로 구성된다.
- [0126] 상기 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 서열번호 65의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인 (VH) 및 선택적으로 서열번호 66의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인 (VL)을 포함할 수 있다. 특정 구현예에서, 중쇄 가변 도메인 및 경쇄 가변 도메인을 포함하는 단일클론 항체 또는 그의 항원 결합 단편이 제공되며, 상기 중쇄 가변 도메인은 서열번호 65의 아미노산 서열과 적어도 85%, 적어도 90%, 또는 적어도 95%, 또는 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 VH를 포함하며 및/또는 상기 경쇄 가변 도메인은 서열번호 66의 아미노산 서열과 적어도 85% 또는 적어도 90%, 또는 적어도 95%, 또는 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 VL을 포함한다.
- [0127] 본 발명의 바람직한 구현예에서, 상기 항체 또는 항원 결합 단편의 도메인은 기준 서열에 대한 특정 백분율의 서열 동일성에 의해 한정되며, 상기 VH 및/또는 VL 도메인은 그 가변성이 프레임 워크 영역 내에서만 존재하는 기준 서열에 포함되는 CDR 서열과 동일한 CDR 서열을 보유할 수 있다. 특정 구현예에서, 서열번호 65 및 서열번호 66의 서열과 특정 백분율의 서열 동일성을 갖는 것으로 정의된 중쇄 가변 도메인 및/또는 경쇄 가변 도메인을 포함하는 항체 또는 항원 결합 단편은 각각 하기의 CDR 서열을 가질 수 있다:
- [0128] 서열번호 43으로 기재되는 서열[PPGPFKAHYNGAKY]을 포함하거나 상기 서열로 구성되는 가변 중쇄 CDR3 서열;
- [0129] 서열번호 41로 기재되는 서열[GIHISGGITYYTDSVKG]을 포함하거나 상기 서열로 구성되는 가변 중쇄 CDR2 서열;
- [0130] 서열번호 9로 기재되는 서열[SYFMS]을 포함하거나 상기 서열로 구성되는 가변 중쇄 CDR1 서열;
- [0131] 서열번호 27로 기재되는 서열[ASYRLYADYV]을 포함하거나 상기 서열로 구성되는 가변 경쇄 CDR3 서열;
- [0132] 서열번호 59로 기재되는 서열[EVNKRSS]을 포함하거나 상기 서열로 구성되는 가변 경쇄 CDR2 서열; 및
- [0133] 서열번호 57로 기재되는 서열[TGTSSDIGSYNYVS]을 포함하거나 상기 서열로 구성되는 가변 경쇄 CDR1 서열.
- [0134] IL-22R에 특이적으로 결합하는 항체는 적어도 하나의 전장 면역 글로불린 중쇄 및/또는 적어도 하나의 전장 램다 또는 카파 경쇄를 포함할 수 있다. 특정 구현예에서, 상기 항체는 서열번호 69의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열번호 70의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 특정 구현예에서, 서열번호 69의 아미노산 서열과 적어도 85%, 적어도 90%, 또는 적어도 95%, 또는 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 중쇄 및/또는 서열번호 70의 아미노산 서열과 적어도 85% 또는 적어도 90%, 또는 적어도 95%, 또는

적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 경쇄를 포함하는 단일클론 항체를 제공한다.

- [0135] 본 발명의 바람직한 구현예에서, 상기 항체의 사슬들은 기준 서열에 대한 특정 백분율의 서열 동일성에 의해 한정되며, 상기 중쇄 및/또는 경쇄는 그 가변성이 CDR 영역 밖에만 존재하는 기준 서열에 포함되는 CDR 서열과 동일한 CDR 서열을 보유할 수 있다.
- [0136] 특정한 항체 또는 항원 결합 영역이 특정 아미노산 서열을 참고로 정의된 VH 도메인 또는 중쇄 및 VL 도메인 또는 경쇄의 조합을 포함하는 것으로 확인되는 경우 (달리 언급하지 않는 한), 특정한 각각의 VH/VL 또는 중쇄/경쇄 조합을 포함하는 상기 항체 또는 항원 결합 영역은 명시된 VH/중쇄 아미노산 서열과 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 VH 도메인/중쇄 및 명시된 VL/경쇄 아미노산 서열과 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 VL 도메인/경쇄의 조합으로 형성된다. 각각의 경우에, 명시된 도메인/사슬 아미노산 서열에 대한 % 서열 동일성에 의해 정의된 도메인/사슬은 그 아미노산 서열의 가변성이 프레임 워크 영역 내 또는 CDR 영역 밖에 존재하는 명시된 VH/VL 도메인 또는 중쇄/경쇄 아미노산 서열에 존재하는 것과 동일한 CDR 서열을 보유할 수 있다.
- [0137] 본원에서 달리 언급하지 않는 한, 두 아미노산 서열 사이의 % 서열 동일성은 최적의 방식으로 정렬된 이들 두 서열을 비교함으로써 결정될 수 있고, 비교되는 아미노산 서열은 기준 서열에 비해 첨가 또는 결실을 포함할 수 있다. 동일성의 백분율은 다음과 같이 계산하였다. 두 서열간에 동일한 아미노산 잔기의 위치 수를 결정하고, 상기 동일한 위치의 수를 비교 구간의 총 위치 수로 나눈 다음, 100을 곱하여 이들 2 개 서열 간의 동일성의 백분율을 얻었다. 비교는 예를 들어, BLAST 프로그램 "BLAST 2 서열" (Tatusova 등, "Blast 2 서열 - 단백질과 뉴클레오타이드 서열을 비교하기 위한 새로운 도구", FEMS Microbiol Lett. 174:247-250)를 사용할 수 있다. 상기 프로그램은 웹 사이트 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gorf/bl2.html> 에서 얻을 수 있으며, 여기서 사용되는 매개변수는 기본적으로 제공된다 (특히 "open gap penalty" 매개변수: 5 및 "extension gap penalty" 매개변수: 2, 선택된 매트릭스는 예를 들어 프로그램에 의해 제안된 매트릭스인 "BLOSUM 62" 이다.). 두 서열 간의 동일성 백분율은 상기 프로그램에 의해 직접 계산된다.
- [0138] 본원에서 제공되는 IL-22R 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 각각 하기 특성/성질들 중 하나 또는 임의의 조합을 나타낼 수 있다:
- [0139] 상기 항체 또는 항원 결합 단편은 Tyr60을 포함하지 않는 인간 IL-22R 단백질 내의 에피토프에 결합할 수 있다;
- [0140] 상기 항체 또는 항원 결합 단편은 인간 IL-22R 단백질의 D2 도메인에 적어도 부분적으로 위치하는 에피토프에 결합할 수 있다. 여기서 상기 D2 도메인은 서열번호 71의 아미노산 잔기 125 내지 228로 구성된다;
- [0141] 상기 항체 또는 항원 결합 단편은 인간 IL-22R에 고 친화성으로 결합할 수 있다;
- [0142] 상기 항체 또는 항원 결합 단편은 IL-22와 IL-22R의 결합을 차단할 수 있다;
- [0143] 상기 항체 또는 항원 결합 단편은 IL-22R의 IL-22-의존성 활성화를 억제할 수 있다;
- [0144] 상기 항체 또는 항원 결합 단편은 IL-22R의 IL-20-의존성 활성화를 억제할 수 있다;
- [0145] 상기 항체 또는 항원 결합 단편은 IL-22R의 IL-22-의존성 활성화 및 IL-22R의 IL-20-의존성 활성화를 억제할 수 있다;
- [0146] 상기 항체 또는 항원 결합 단편은 쥐 IL-22R과 교차 반응하지 않는다.
- [0147] 본원에서 제공되는 IL-22R 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 바람직하게는 하기 특성/성질들 중 2 개 이상을 나타낸다:
- [0148] 상기 항체 또는 항원 결합 단편은 Tyr60을 포함하지 않는 인간 IL-22R 단백질 내의 에피토프에 결합한다;
- [0149] 상기 항체 또는 항원 결합 단편은 인간 IL-22R에 고 친화성으로 결합한다;
- [0150] 상기 항체 또는 항원 결합 단편은 IL-22R의 IL-22-의존성 활성화 및 IL-22R의 IL-20-의존성 활성화를 억제한다.
- [0151] 본원에서 제공되는 IL-22R 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 키메라 항체일 수 있다. 특정 구현예에서, 상기 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 인간 IgG의 힌지 영역, CH2 도메인 및 / 또는 CH3 도메인을 포함한다. 특정 구현예에서, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 인간 IgG, 바람직하게는 인간 IgG1에 대해 높은 상동성을 나

타내며, 여기서 "높은 인간 상동성"은 본원의 다른 곳에서 정의된 바와 같다. 특정 구현예에서, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 중쇄 가변 도메인 (VH) 및 경쇄 가변 도메인 (VL)을 포함한다. 상기 중쇄 가변 도메인 (VH), 경쇄 가변 도메인 (VL) 및 그의 하나 이상의 상보성 결정 영역 (CDRs) 들은 낙타과의 한 동물에서 유래된 것이며, 상기 낙타과 동물은 바람직하게는 라마이다.

[0152] 추가의 양태에서, 본 발명은 또한 상기 항체 및 항원 결합 단편을 코딩하는 폴리뉴클레오타이드 분자, 상기 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 발현벡터, 상기 벡터를 포함하는 숙주세포 및 본원에 기재된 항체의 재조합 발현/생성 방법을 제공한다.

[0153] 또 다른 양태에서, 본 발명은 본원에 기재된 IL-22R 항체 또는 이의 항원 결합 단편 중 임의의 하나 및 약학적으로 허용되는 담체 또는 부형제를 포함하는 약학적 조성물을 제공한다.

[0154] 또 다른 양태에서, 본 발명은 상기 제시된 IL-22R 항체 또는 그의 항원 결합 단편을 건선, 건선성 관절염 및 아토피성 피부염과 같은 증상의 예방 및 / 또는 치료에 사용하는 의학적 치료 방법을 제공한다.

[0155] 본 발명의 구현예들은 다음의 설명 및 첨부된 도면들과 함께 고려될 때 더 잘 이해될 것이다. 그러나, 하기의 설명은 본 발명의 다양한 구현예 및 그것의 다수의 특정 세부 사항을 나타내지만, 이들은 예시를 위한 것이지만 한정하기 위한 것은 아니라는 것을 이해해야 한다. 본 발명의 목적을 벗어나지 않는 범위에서 많은 치환, 수정, 추가 및 / 또는 재배열이 본 발명의 범주 내에서 이루어질 수 있으며, 본 발명은 이러한 모든 치환, 수정, 추가 및 / 또는 재배열을 포함한다.

도면의 간단한 설명

[0156] 도 1은 사이토카인 IL-22, IL-20 및 IL-24를 통한 신호전달을 매개하는 다양한 수용체 복합체를 나타낸다. IL-22R은 2 개의 상이한 수용체 파트너들인 IL-10R β (또는 IL-10R2) 및 IL-20R β (또는 IL-20R2)와의 이종이량체 복합체를 형성할 수 있고, 리간드 결합에 의한 이들 상이한 복합체들의 활성화는 세포 내 하류 경로를 통한 신호 전달을 유발한다.

도 2는 인간 IL-22R(서열 번호 71)의 전장 아미노산 서열을 나타낸다.

도 3은 인간 IL-22R을 암호화하는 전장 뉴클레오타이드 서열(서열 번호 72)을 나타낸다.

도 4는 세포-기반의 증식 분석에서 IL-22 및 IL-20에 의해 매개된 신호전달이 IL-22R을 통해 억제되는 것을 나타낸다. (A) BW-hIL-22R 세포주의 증식에 대한 IL-22R mAb의 효과를 보여준다. BW-hIL-22R 세포는 인간 IL-22R을 안정적으로 발현하였으며, 리간드 IL-22에 반응하여 그 성장이 억제 / 정지되었다. IL-22와 hIL-22R 사이의 상호 작용을 차단할 수 있는 항체는 리간드-수용체 결합에 의해 매개되는 성장 억제를 완화시킨다. (B) Baf3-hIL-22R / IL20Rb 세포주의 증식에 대한 IL-22R mAb의 효과를 보여준다. Baf3-hIL-22R/IL20Rb 세포는 IL-20의 존재 하에서 세포가 증식하도록 수용체 복합체인 IL-22R/IL20Rb의 성분을 안정적으로 발현하였다. IL-20과 이 수용체 복합체 사이의 상호 작용을 차단할 수 있는 항체는 리간드 결합에 의해 유도된 증식을 억제하였다.

도 5는 다양한 종으로부터 IL-22R의 세포의 도메인의 정렬을 나타낸다. (A)는 Genbank에서 구할 수 있는 부분적인 EST 서열을 보여준다; (B)는 사이노몰거스 cDNA 라이브러리에서 사이노몰거스 및 레수스 (rhesus) IL-22R을 클로닝 한 후 결정된 서열을 나타낸다.

도 6은 IL-22R mAb의 에피토프를 매핑하기 위해 수행된 경쟁적 ELISA 실험의 결과를 나타낸다. VH 군 1-8, 10, 11, 19 및 22의 항체에 대해 다양한 에피토프들이 동정되었다. 상기 에피토프들은 다음과 같이 분류되었다: (i) 항체가 시험관 내에서 IL-22 결합을 차단하고 세포-기반 분석법에서 IL-22 신호 전달을 중화시켰다 (왼쪽 아래 사분면); (ii) 항체가 시험관 내에서 IL-22 결합을 차단했지만 세포-기반 분석에서 중화 활성을 나타내지는 않았다 (우측 위 사분면); 또는 (iii) 항체가 시험관 내에서 IL-22 결합을 차단하지는 않았지만, 세포-기반 분석에서 중화 활성을 나타내었다(우측 아래 사분면).

도 7은 IL-22와 복합체를 이룬 IL-22R의 결정 구조를 나타낸다. (A) IL-22R의 도메인 D1 및 D2는 리간드 IL-22와의 계면에 잔기를 제공한다. (B) 도메인 D1의 Y60은 IL-22 리간드의 1A 부위와의 상호 작용에 기여하는 중요한 IL-22R 잔기이다.

도 8은 세포-기반 증식 분석에서 IL-20에 의해 매개된 신호 전달이 IL-22R을 통해 억제되는 것을 나타낸다. 다양한 IL-22R mAb의 IL-20에 의해 유도된 Baf3-hIL-22R/IL20Rb 세포의 증식을 저해하는 능력을 시험하였다.

도 9는 세포-기반 분석에서 IL-22 및 IL-20에 의해 매개된 신호 전달이 IL-22R을 통해 억제되는 것을 나타낸다.

(A) BW-hIL-22R 세포주의 증식에 대한 IL-22R mAb의 효과를 보여준다. BW-hIL-22R 세포는 인간 IL-22R을 안정적으로 발현하였으며, 리간드 IL-22에 반응하여 그 성장이 억제 / 정지되었다. IL-22와 hIL-22R 사이의 상호 작용을 차단할 수 있는 항체는 리간드-수용체 결합에 의해 매개되는 성장 억제를 완화시킨다. (B) Baf3-hIL-22R / IL20Rb 세포주의 증식에 대한 IL-22R mAb의 효과를 보여준다. Baf3-hIL-22R/IL20Rb 세포는 IL-20의 존재 하에서 세포가 증식하도록 수용체 복합체인 IL-22R/IL20Rb의 성분을 안정적으로 발현하였다. IL-20과 이 수용체 복합체 사이의 상호 작용을 차단할 수 있는 항체는 리간드 결합에 의해 유도된 증식을 억제하였다.

도 10은 생식세포화된 IL-22R 항체 230C9 및 223G5에 대한 에피토프 맵핑 실험의 결과를 개략적으로 도시한다. NB "Zymo"는 280-346-TSY와 같다.

도 11은 FACS 분석에 의해 결정된, 인간 및 사이노몰거스 IL-22R에 대한 생식세포화된 항체들의 교차 반응성을 나타낸다. 항체 230C9는 인간 IL-22R 및 cynoIL-22R 과 교차 반응하지만 (좌측 패널), 항체 223G5는 인간 IL-22R에는 결합하지만 cynoIL-22R 과 교차 반응하지는 않는다 (우측 패널).

도 12는 IL-22R 항체 230C9에 대한 약동학 데이터를 나타낸다. 사이노몰거스 원숭이에 항체를 10 mg/kg으로 정맥 주사 하였다. 상이한 시점에서 샘플을 채취하고 항체의 혈장 농도를 ELISA를 이용하여 측정하였다. 항체 230C9는 약 19.4 일의 반감기를 갖는 것으로 밝혀졌다.

도 13은 다양한 투여량에서 IL-22R 항체 230C9에 대한 약동학 데이터를 나타낸다. 목표 중재 약물 배치 (TMDD) 용량이 포화되었을 때 더 높은 용량에서 (=10 mg / kg), 클리어런스 값은 RES에 의한 비 특정 클리어런스에 접근하였다. B. 사이노몰거스에서 230C9-N297Q의 클리어런스. 총 클리어런스는 1) 비선형 및 포화 가능한 TMDD와 2) 선형이며 RES에 기인한 비 특정 클리어런스의 합계로 표시된다. 혈장 반감기는 클리어런스와 반비례 관계를 가지므로 대상 매개 클리어런스로 인해 높은 투여량에서는 반감기가 길어지고 낮은 투여량에서는 반감기가 짧아진다.

도 14는 IL-22R 항체 230C9의 약동학적 효과를 나타낸다. 사이노몰거스 원숭이를 230C9에 각각 다른 용량으로 노출시킨 후, 원숭이의 IMQ 처리된 피부 부위와 정상 피부 부위에 미치는 영향을 평가하였다. 항체 230C9의 증가된 투여량은 표피 두께를 정상화시키고 (A), IMQ-처리된 피부 절편에서 Ki67 양성 핵의 빈도를 감소시키는 것으로 밝혀졌다 (B).

도 15는 피부 펀치 생검에서 IL-22-조절된 FLG2 mRNA 수준에 대한 IL-22R 항체 230C9 (ARGX-112)의 효과를 나타낸다. 사이노몰거스 원숭이에게 항체 230C9를 다른 용량으로 1 회 정맥 주사하였다: 1 mg/kg, 5 mg/kg 및 30 mg/kg (3 마리/도즈). 재조합 인간 IL-22는 피부의 총 FLG2 mRNA 수준을 감소시키는 반면, 이 효과는 항체 230C9에 의해 역전되었다. y 축은 기준 유전자와 비교한 상대적 FLG2 발현을 나타낸다. 그룹 사이의 통계적 비교는 다음과 같은 신뢰 구간을 갖는 그래프 상단의 선으로 표시하였다: *p<0.05; **p<0.01; ***p<0.001. 표시된 백분율(각각 60 %, 64 %, 60 %)은 신호 저해 %를 나타낸다.

도 16은 인간 생체의 피부 이식편에서 IL-22 조절된 DEFB4 유전자 발현에 대한 IL-22R 항체 230C9 (ARGX-112)의 효과를 나타낸다. 복부 피부 이식편을 20 ng/ml의 rhIL-22로 자극하기 전에, 증가하는 농도의 항체 230C9로 처리하였다. 항체 230C9는 IL-22에 의한 DEFB4 mRNA 수준의 증가를 농도 의존적으로 역전시킬 수 있었다. y 축은 기준 유전자와 비교한 상대적인 DEFB4 발현을 나타낸다. LLOQ는 낮은 수준의 정량화를 의미한다.

도 17은 사이노몰거스 원숭이 생체의 피부 이식편에서 IL-22 조절된 FLG2 및 LOR 유전자 발현에 대한 IL-22R 항체 230C9 (ARGX-112)의 효과를 나타낸다. 피부 생검은 20 ng/ml의 rhIL-22로 자극하기 전에, 증가하는 농도의 항체 230C9로 처리하였다. 항체 230C9는 IL-22에 의한 FLG2 mRNA 수준 (A) 및 LOR mRNA 수준 (B) 의 감소를 농도 의존적으로 역전시킬 수 있었다. y 축은 기준 유전자와 비교한 상대적인 FLG2 및 LOR 발현을 나타낸다.

도 18은 일차적 인간 각질형성세포에 대한 IL-22R 항체 230C9 (ARGX-112)의 효과를 나타낸다. 각질형성세포를 230C9 항체로 전처리 한 후 IL-4, IL-13, IL-22 및 IFN- γ 의 혼합물로 자극하였다. 대조군 세포는 IL-4, IL-13 및 IFN- γ 의 혼합물로 처리하였다. 230C9 항체는 CCL2 분비를 농도 의존적으로 억제하였다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

A. 정의

"항체" 또는 "면역글로불린"- 본원에서 사용된 "면역 글로불린"이란 용어는 임의의 관련 특이 적 면역 반응성을 가지든지 여부와 관계없이 2 개의 중쇄 및 2 개의 경쇄 조합을 갖는 폴리펩티드를 포함한다. "항체"는 관심 대

상 항원(예를 들어, 사이토카인 수용체 IL-22R)에 대해 특이적 면역 반응 활성을 갖는 조합(assemblies)을 지칭한다. 용어 "IL-22R 항체"는 본원에서 인간 IL-22R 및 일부 경우에는 그의 중 유사체를 포함하는 IL-22R 단백질에 대한 면역 특이성을 나타내는 항체를 지칭하기 위해 사용된다. 항체 및 면역 글로불린은 경쇄 및 중쇄를 포함하며, 이들 사이에는 쇠간 공유 결합이 있거나 또는 없다. 척추 동물 시스템에서 기본적인 면역글로불린 구조는 비교적 잘 알려져 있다.

[0159] 일반적 용어 "면역 글로불린"은 생화학적으로 구별될 수 있는 다섯 가지의 독특한 항체 클래스를 포함한다. 상기 5 종류의 항체 클래스는 모두 본 발명의 범주 내에 있다. 하기 논의는 일반적으로 IgG 클래스의 면역글로불린 분자에 관한 것이다. IgG와 관련하여, 면역글로불린은 분자량 약 23,000 달톤인 2 개의 동일한 폴리펩티드 경쇄와 분자량 53,000-70,000인 2 개의 동일한 중쇄를 포함한다. 상기 네 개의 사슬은 "Y"모양의 이황화 결합에 의해 연결되며, 여기서 경쇄는 "Y"의 입에서 시작하여 가변 영역을 통해 계속되는 중쇄의 받침대를 이룬다.

[0160] 항체의 경쇄는 카파 또는 람다 (k, l) 로 분류된다. 각 중쇄 클래스는 카파 또는 람다 경쇄에 결합 될 수 있다. 일반적으로, 경쇄 및 중쇄는 서로 공유 결합되어 있고, 두 개의 중쇄의 "꼬리" 부분은 면역글로불린이 하이브리도마(hybridoma), B 세포 또는 유전적으로 조작된 숙주세포에 의해 생성 될 때 공유적 이황화 결합 또는 비공유 결합으로 서로 연결된다. 중쇄에서, 아미노산 서열은 Y 형태의 갈래 끝 부분인 N 말단으로부터 각 사슬의 바닥에 있는 C 말단으로 진행된다. 중쇄가 감마, 뮤, 알파, 델타 또는 엡실론 (g, m, a, d, e) 및 이들 중 몇몇 하위 클래스 (e.g., $g1-g4$) 로 분류된다는 것은 당 업자에게는 자명하다. 상기 사슬이 항체를 IgG, IgM, IgA, IgD 또는 IgE "클래스"로 결정해 준다. IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 등의 면역글로불린 서브 클래스(아이소타입)는 그 특성이 잘 알려져 있으며 이들이 항체의 기능적 특성화를 부여하는 것으로 알려져 있다. 이들 클래스 및 아이소타입의 각각의 변형된 버전은 본 개시 내용을 고려하여 당 업자에게 쉽게 인식될 수 있으며, 따라서 본 발명의 범주 내에 있다.

[0161] 상기에서 나타낸 바와 같이, 항체의 가변 영역은 항체가 항원상의 에피토프를 선택적으로 인식하고 특이적으로 결합하도록 한다. 즉, 항체의 VL 도메인 및 VH 도메인은 결합하여 3 차원적 항원 결합 부위를 한정하는 가변 영역을 형성한다. 이 4 차 항체 구조는 Y 형태의 각 팔 끝에 존재하는 항원 결합 부위를 형성한다. 보다 구체적으로, 상기 항원 결합 부위는 각각의 VH 및 VL 사슬상의 3 개의 상보 적 결정 영역 (CDR)에 의해 정의된다.

[0162] "IL-22R"- 본원에 사용 된 용어 "IL-22R"은 리간드 IL-22, IL-20 및 IL-24를 통한 신호 전달을 매개하는 II 형 사이토카인 수용체를 의미한다. IL-22R은 IL-10R2 및 IL-20R2와 함께 세포 표면에 이중이량체 복합체를 형성할 수 있다. IL-22R은 또한 IL22R, IL-22R1, IL22R1, IL22RA, IL-22RA, CRF2-9 및 Zcytor11로 지칭될 수 있다. 용어 "IL-22R1"은 수용체 및 중 유사체의 인간 형태를 포괄할 만큼 충분히 넓은 의미를 가진다. 전장 인간 IL-22R의 아미노산 서열은 서열번호 71로 기재되며, 코딩 뉴클레오타이드 서열은 서열번호 72로 기재된다 (도 2 및 도 3 참조). 이 서열은 SwissProt 데이터베이스에 인간 단백질 인터루킨-22 수용체 부단위인 기탁번호 Q8N6P7로 기탁된 서열에 해당한다.

[0163] "결합부위" - 본원에 사용된 용어 "결합부위"는 관심 대상 표적 항원 (예를 들어, IL-22R)에 선택적으로 결합하는 역할을 하는 폴리펩티드의 영역을 포함한다. 결합 도메인은 적어도 하나의 결합부위를 포함한다. 예시적인 결합 도메인은 항체 가변 도메인을 포함한다. 예시적인 결합 도메인은 항체 가변 도메인을 포함한다. 본 발명의 항체 분자는 단일 결합 부위 또는 다중 (예를 들어, 2, 3 또는 4 개) 결합 부위를 포함 할 수 있다.

[0164] "유래된" - 본원에 사용된 용어 지정된 단백질로부터 "유래된"은 (즉, 낙타 항체 또는 이의 항원 결합 단편) 폴리펩티드 또는 아미노산 서열의 기원을 의미한다. 한 구현예에서, 특정 출발 폴리펩티드로부터 유래 된 폴리펩티드 또는 아미노산 서열은 CDR 서열 또는 그에 관련된 서열이다. 한 구현예에서, 특정 출발 폴리펩티드로부터 유래된 아미노산 서열은 연속적이지 않다. 예를 들어, 일 구현예에서, 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 6개의 CDR이 한 출발 항체로부터 유래된다. 한 구현예에서, 특정 출발 폴리펩티드 또는 아미노산 서열로부터 유래된 폴리펩티드 또는 아미노산 서열은 출발 서열의 아미노산 서열 또는 그 일부와 본질적으로 동일한 아미노산 서열을 가지며, 이 부분은 적어도 3 개 - 5 개 아미노산, 적어도 5개 - 10개 아미노산, 적어도 10개 - 20개 아미노산, 적어도 20개 - 30개 아미노산, 또는 적어도 30개 - 50개 아미노산을 포함할 수 있다. 한 구현예에서, 출발항체로부터 유래된 하나 이상의 CDR 서열은 친화성 변이체와 같은 변이체 CDR 서열을 생성하도록 변형된다. 상기 변형된 CDR 서열이 표적항원 결합 활성을 유지하도록 한다.

[0165] "낙타-유래" - 바람직한 특정 구현예에서, 본 발명의 항체는 낙타의 활성화된 면역에 의해 야기된 낙타 통상 항체로부터 유래된 프레임워크 아미노산 서열 및/또는 CDR 아미노산 서열을 포함한다. 그러나, 낙타-유래 아미노산 서열을 포함하는 본 발명의 항체는 인간 아미노산 서열 (즉, 인간 항체) 또는 다른 비-낙타 포유동물 종으로

부터 유래된 프레임워크 및/또는 불변 영역 서열을 포함하도록 조작 될 수 있다. 예를 들어, 인간 또는 비-인간 영장류 프레임워크 영역, 중쇄 영역 및/또는 힌지 영역이 본 발명의 IL-22R 항체에 포함될 수 있다. 한 구현예에서, 하나 이상의 비-낙타 아미노산은 "낙타-유래" 항체의 프레임워크 영역에 존재할 수 있으며, 예를 들어, 낙타의 프레임워크 아미노산 서열은 하나 이상의 아미노산 돌연변이를 포함 할 수 있으며, 여기에는 상응하는 인간 또는 비-인간 영장류 아미노산 잔기가 존재할 수 있다. 또한, 본원의 다른 곳에서 기술된 바와 같이, 상기 낙타-유래 VH 및 VL 도메인 또는 이의 인간화된 변이체는 인간 항체의 불변 도메인에 연결되어 키메릭 분자를 형성할 수 있다.

[0166] **"보존적 아미노산 치환"** - "보존적 아미노산 치환"이란 아미노산 잔기가 유사한 측쇄를 갖는 다른 아미노산 잔기로 치환되는 것을 말한다. 유사한 측쇄를 갖는 아미노산 잔기의 패밀리는 염기성 측쇄 (예, 라이신, 아르기닌, 히스티딘), 산성 측쇄 (예, 아스파르트산, 글루탐산), 비하전 극성 측쇄 (예, 글리신, 아스파라긴, 글루타민, 세린, 트레오닌, 티로신, 시스테인), 비극성 측쇄 (예, 알라닌, 발린, 류신, 이소루이신, 프롤린, 페닐알라닌, 메티오닌, 트립토판), 베타-분지 측쇄 (예, 트레오닌, 발린, 이소루이) 및 방향족 측쇄 (예, 티로신, 페닐알라닌, 트립토판, 히스티딘) 등을 포함한다. 따라서, 면역글로불린 폴리펩타이드의 비필수 아미노산 잔기는 동일한 측쇄군을 가진 다른 아미노산 잔기로 대체될 수 있다. 또 다른 구현예에서, 아미노산의 스트링은 측쇄 패밀리 구성원의 순서 및/또는 구성이 상이한 구조적으로 유사한 스트링으로 대체될 수 있다.

[0167] **"중쇄 부분"** - 본원에 사용된 용어 "중쇄 부분"은 면역글로불린 중쇄의 불변 도메인으로부터 유도된 아미노산 서열을 포함한다. 중쇄 부분을 포함하는 폴리펩타이드는 CH1 도메인, 힌지 도메인 (예를 들어, 상부, 중간 및 / 또는 하부 힌지 영역), CH2 도메인, CH3 도메인, 또는 그의 변이체 또는 단편 중 하나 이상을 포함한다. 한 구현예에서, 본 발명의 항체 또는 항원 결합 단편은 면역글로불린 중쇄 (예를 들어, 힌지 부분, CH2 도메인 및 CH3 도메인)의 Fc 부분을 포함 할 수 있다. 또 다른 구현예에서, 본 발명의 항체 또는 항원 결합 단편은 불변 도메인 (예를 들어, CH2 도메인의 전부 또는 일부)의 적어도 일부가 결합될 수 있다. 특정 구현예에서, 불변 도메인 중 하나 이상, 바람직하게는 모두는 인간면역 글로불린 중쇄로부터 유도된다. 예를 들어, 바람직한 한 구현예에서, 상기 중쇄 부분은 완전한 인간 힌지 도메인을 포함한다. 다른 바람직한 구현예에서, 상기 중쇄 부분은 완전한 인간 Fc 부분 (예를 들어, 인간 면역글로불린으로부터 유래된 힌지, CH2 및 CH3 도메인 서열)을 포함한다.

[0168] 특정 구현예에서, 상기 중쇄 부분의 불변 도메인은 상이한 면역글로불린 분자로부터 유래된다. 예를 들어, 폴리펩타이드의 중쇄 부분은 IgG1 분자 유래의 CH2 도메인 및 IgG3 또는 IgG4 분자 유래의 힌지 영역을 포함할 수 있다. 다른 구현예에서, 상기 불변 도메인은 상이한 면역글로불린 분자의 부분을 포함하는 키메릭 도메인이다. 예를 들어, 상기 힌지는 IgG1 분자로부터 유래되는 제 1 부분 및 IgG3 또는 IgG4 분자로부터 유래되는 제 2 부분을 포함할 수 있다. 상기한 바와 같이, 중쇄 부분의 불변 도메인은 자연 발생 (야생형) 면역글로불린 분자로부터 유래한 아미노산 서열이 변하도록 변형될 수 있음은 당 업자에게는 자명하다. 즉, 본원에 개시된 본 발명의 폴리펩타이드는 하나 이상의 중쇄 불변 도메인 (CH1, 힌지, CH2 또는 CH3) 및 / 또는 경쇄 불변 영역 도메인 (CL)에 대한 변경 또는 변형을 포함할 수 있다. 예시적인 변형은 하나 이상의 도메인에서 하나 이상의 아미노산의 첨가, 결실 또는 치환을 포함한다.

[0169] **"키메릭"** - "키메릭" 단백질은 자연에서 자연적으로는 연결되지 않는 제 2 아미노산 서열에 연결된 제 1 아미노산 서열을 포함한다. 아미노산 서열은 일반적으로 융합 폴리펩타이드내 별도의 단백질에 존재할 수 있거나 또는 동일한 단백질 내에 존재할 수 있지만 융합 폴리펩타이드에서 새로운 배열로 위치한다. 키메릭 단백질은, 예를 들어, 화학적 합성에 의해, 또는 펩타이드 영역이 원하는 관계로 코딩되는 폴리뉴클레오타이드를 생성하고 번역함으로써 생성될 수 있다. 본 발명의 예시적인 키메릭 항체는 인간 항체 (예를 들어, IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4)의 불변 도메인에 융합된, 낙타-유래 VH 및 VL 도메인, 또는 그의 인간화된 변이체를 포함하는 융합 단백질을 포함한다. 인간 이다.

[0170] **"가변 영역" 또는 "가변 도메인"** - 용어 "가변 영역" 및 "가변 도메인"은 본 명세서에서 상호 교환적으로 사용되고 동일한 의미를 갖는 것으로 간주된다. 용어 "가변적"이란 가변 도메인 VH 및 VL의 특정 부분이 항체 사이에서 광범위하게 상이하다는 것을 나타내며, 그 표적 항원에 대한 각각의 특정 항체의 결합 및 특이성에서 사용된다. 그러나 상기 가변성은 항체의 가변 도메인 전체에 고르게 분포되어 있지는 않다. 이것은 항원 결합 부위의 일부를 형성하는 VL 도메인 및 VH 도메인의 각각에 "초 가변 루프 (hypervariable loops)"라고 불리는 3 개의 세그먼트에 집중되어 있다. VLambda 경쇄 도메인의 제 1, 제 2 및 제 3 초 가변 루프는 본 명세서에서 L1(λ), L2(λ) 및 L3(λ)로 지칭되며, 이들은 각각 잔기 24-33 (L1(λ) 9, 10 또는 11 아미노산 잔기로 구성됨), 49-53 (L2(λ), 3 잔기로 구성됨) 및 90-96 (L3(λ), 5 잔기로 구성됨)을 포함한다 (Morea *et al.*, Methods

20:267-279 (2000)). VKappa 경쇄 도메인의 제 1, 제 2 및 제 3 초 가변 루프는 본원에서 L1(κ), L2(κ) 및 L3(κ)로 지칭되며, 이들은 각각 잔기 25-33 (L1(κ), 6, 7, 8, 11, 12 또는 13 잔기로 구성됨), 49-53 (L2(κ), 3 잔기로 구성됨) 및 90-97 (L3(κ), 6 잔기로 구성됨)을 포함한다 (Morea *et al.*, Methods 20:267-279 (2000)). VH 도메인의 제 1, 제 2 및 제 3 초 가변 루프는 본원에서 H1, H2 및 H3으로 지칭되며, 이들은 각각 잔기 25-33 (H1, 7, 8 또는 9 잔기로 구성됨), 52-56 (H2, 3 또는 4 잔기로 구성됨) 및 91-105 (H3, 길이가 매우 가변적임)을 포함한다 (Morea *et al.*, Methods 20:267-279 (2000)).

[0171] 달리 언급하지 않는 한, 용어 L1, L2 및 L3은 각각 VL 도메인의 제 1, 제 2 및 제 3 초 가변 루프를 지칭하고, V 카파 및 V 람다 아이소타입 모두로부터 얻어지는 초 가변 루프를 포함한다. 용어 H1, H2 및 H3은 각각 VH 도메인의 제 1, 제 2 및 제 3 초 가변 루프를 지칭하고, γ , ϵ , δ , α 또는 μ 를 비롯한 알려진 중쇄 아이소타입의 임의의 것으로부터 얻어지는 초 가변 루프를 포함한다.

[0172] 초 가변 루프 L1, L2, L3, H1, H2 및 H3은 각각 하기에서 정의된 바와 같은 "상보성 결정 영역" 또는 "CDR"의 일부를 각각 포함 할 수 있다. "초 가변 루프 (hypervariable loop)" 및 "상보성 결정 영역 (complementarity determining region)"이라는 용어는 엄격하게 동의어는 아니지만, 초 가변 루프 (HV)는 구조에 기초하여 정의되는 반면 상보성 결정 영역 (CDRs)은 서열 다양성에 기초하여 정의된다 (Kabat *et al.*, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD., 1983). 상기 HV 및 CDR의 한계는 일부 VH 및 VL 도메인에서 다를 수 있다.

[0173] VL 및 VH 도메인의 CDR은 전형적으로 하기의 아미노산을 포함한다: 경쇄 가변 도메인의 잔기 24-34 (LCDR1), 50-56 (LCDR2) 및 89-97 (LCDR3) 및 중쇄 가변 도메인의 잔기 31-35 또는 31-35b (HCDR1), 50-65 (HCDR2) 및 95-102 (HCDR3); (Kabat *et al.*, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD. (1991)). 따라서, HV는 상응하는 CDR 내에 포함될 수 있고, VH 및 VL 도메인의 "초 가변 루프"에 대한 참조는 달리 언급되지 않는 한, 상응하는 CDR을 포함하는 것으로 해석되어야 하고, 그 반대도 마찬가지이다.

[0174] 가변 도메인의 보다 고도로 보존된 부분은 하기에서 정의된 바와 같이 프레임워크 영역 (FR)으로 불린다. 본래의 중쇄 및 경쇄의 가변 도메인은 각각 세 개의 초 가변 루프에 의해 연결된 β -시트 배열을 가진 4 개의 FR (각각 FR1, FR2, FR3 및 FR4)을 포함한다. 각 체인의 초 가변 루프는 FR에 근접하여 함께 유지되고, 다른 체인의 초 가변 루프와 함께 항체의 항원 결합 부위의 형성에 기여한다. 항체의 구조 분석을 통해 서열과 상보성 결정 영역에 의해 형성된 결합 부위의 형태 사이의 관계를 밝혀냈다 (Chothia *et al.*, J. Mol. Biol. 227: 799-817 (1992)); Tramontano *et al.*, J. Mol. Biol. 215:175-182 (1990)). 높은 서열 변동성에도 불구하고, 6 개의 루프 중 5 개는 "정준 구조 (canonical structures)"라고 불리는 주 체인 구조의 작은 레퍼토리를 가진다. 이러한 구조는 우선 루프의 길이에 의해 결정되고, 다음으로는 루프 및 패킹, 수소 결합 또는 특이한 주사슬 형태를 가질 수 있는 능력을 결정하는 프레임워크 지역의 특정 위치에 중요한 잔기가 존재하는가에 따라 결정된다.

[0175] "CDR" - 본원에 사용된 용어 "CDR" 또는 "상보성 결정 영역"은 중쇄 및 경쇄 폴리펩타이드 모두의 가변 영역 내에서 발견되는 비인접 항원 결합 부위를 의미한다. 이러한 특정 영역은 문헌 (Kabat *et al.*, J. Biol. Chem. 252, 6609-6616 (1977) and Kabat *et al.*, Sequences of protein of immunological interest. (1991), 및 Chothia *et al.*, J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987) and by MacCallum *et al.*, J. Mol. Biol. 262:732-745 (1996)) 에 기재되어 있으며, 여기서 상기 정의는 서로 비교될 때 아미노산 잔기의 중첩 부분 또는 부분 집합 부분을 포함한다. 상기 인용된 문헌 각각에 의해 정의된 바와 같은 CDR을 포함하는 아미노산 잔기가 비교를 위해 제시되었다. 바람직하게는, 용어 "CDR"은 서열 비교에 기초한 Kabat에 의해 정의된 바와 같은 CDR이다.

표 1

[0176]

	CDR 정의		
	Kabat ¹	Chothia ²	MacCallum ³
V _H CDR1	31-35	26-32	30-35
V _H CDR2	50-65	53-55	47-58
V _H CDR3	95-102	96-101	93-101
V _L CDR1	24-34	26-32	30-36
V _L CDR2	50-56	50-52	46-55
V _L CDR3	89-97	91-96	89-96

- [0177] (CDR 정의)
- [0178] ¹잔기의 넘버링은 전술한대로 Kabat 등의 명명법을 따랐다.
- [0179] ²잔기의 넘버링은 전술한대로 Chothia 등의 명명법을 따랐다.
- [0180] ³잔기의 넘버링은 전술한대로 MacCallum 등의 명명법을 따랐다.
- [0181] **"프레임워크 영역"** - 본원에서 사용된 용어 "프레임워크 영역" 또는 "FR 영역"은 가변 영역의 일부이지만 CDR의 일부가 아닌 (예를 들어, CDR의 Kabat 정의를 사용) 아미노산 잔기를 포함한다. 따라서, 가변 영역인 프레임워크는 길이가 약 100-120 아미노산 사이이지만, CDR 외부의 아미노산만을 포함한다. 중쇄 가변 도메인의 특정 예 및 Kabat 등에 의해 정의된 바와 같은 CDR에 있어서, 프레임워크 영역 1은 아미노산 1-30을 포함하는 가변 영역의 도메인에 상응하고; 프레임워크 영역 2는 아미노산 36-49를 포함하는 가변 영역의 도메인에 상응하며; 프레임워크 영역 3은 아미노산 66-94를 포함하는 가변 영역의 도메인에 상응하고, 프레임 워크 4는 아미노산 103에서 가변 영역의 말단까지의 가변 영역의 도메인에 상응한다. 경쇄에 대한 프레임워크 영역은 유사하게 경쇄 가변 영역 CDR 각각에 의해 분리된다. 유사하게, Chothia 등 또는 McCallum 등에 의한 CDR의 정의에 따르면, 상기 프레임워크 영역의 경계는 전술한 바와 같이 각각의 CDR 말단에 의해 분리된다. 바람직한 구현예에서, 상기 CDR은 Kabat에 의해 정의된 바와 같다.
- [0182] 자연 발생 항체에서, 각 단량체 항체에 존재하는 여섯 개의 CDR은 항체가 수성 환경에서 그의 3 차원 배열을 가짐에 따라 항원 결합 부위를 형성하도록 특이적으로 위치된 아미노산의 짧고 비 연속적인 서열이다. 중쇄 및 경쇄 가변 도메인의 나머지 부분은 아미노산 서열에서 분자간 가변성이 적고 프레임워크 영역이라 칭한다. 상기 프레임워크 영역은 주로 β -시트 형태를 취하며, CDR은 β -시트 구조를 연결하는 루프를 형성하고, 경우에 따라서는 β -시트 구조의 일부를 형성한다. 따라서, 이들 프레임워크 영역은 사슬간의 비-공유적 상호 작용에 의해 6 개의 CDR을 정확한 배향으로 위치시키는 것을 제공하는 스캐폴드를 형성하도록 작용한다. 위치된 CDR에 의해 형성된 항원 결합 부위는 면역 반응성 항원상의 에피토프에 상보적인 표면을 나타낸다. 상기 상보적인 표면은 면역 반응성 항원의 에피토프에 대한 항체의 비공유 결합을 촉진시킨다. CDR의 위치는 당 업자가 쉽게 확인할 수 있다.
- [0183] **"힌지 영역"**- 본원에 사용된 용어 "힌지 영역"은 CH1 도메인을 CH2 도메인에 결합시키는 중쇄 분자의 부분을 포함한다. 상기 힌지 영역은 대략 25 잔기를 포함하며 유연성이 있어, 2 개의 N-말단 항원 결합 영역이 독립적으로 움직일 수 있게 한다. 상기 힌지 영역은 세 개의 개별 도메인, 즉 상부, 중간 및 하부 힌지 도메인으로 세분될 수 있다 (Roux K.H. *et al.* J. Immunol. 161:4083-90 1998). "완전한 인간" 힌지 영역을 포함하는 본 발명의 항체는 하기 표 2에 나타낸 힌지 영역 서열 중 하나를 포함 할 수 있다.

표 2

IgG	상부 힌지	중간 힌지	하부 힌지
IgG1	EPKSCDKTHT(서열번호:82)	CPPCP (서열번호:83)	APELLGGP (서열번호:84)
IgG3	ELKTPLGDTTHT(서열번호:85)	CPRCP (EPKSCDTPPPCPRCP) ₃ (서열번호:86)	APELLGGP (서열번호:87)
IgG4	ESKYGPP(서열번호:88)	CPSCP (서열번호:89)	APEFLGGP (서열번호:90)
IgG42	ERK (서열번호:91)	CCVECPPPCP (서열번호:92)	APPVAGP (서열번호:93)

[0185] (인간 힌지 서열)

[0186] **"CH2 도메인"** - 본원에서 사용된 용어 "CH2 도메인"은 통상적인 번호 부여 방식 (잔기 244 내지 360, Kabat 번호 매김 시스템; 및 잔기 231 내지 235, EU 번호 매김 시스템, Kabat EA 등, Sequences of Proteins of Immunological Interest. Bethesda, US Department of Health and Human Services, NIH. 1991)을 사용하여 번호매김 한 항체의 잔기 244 내지 잔기 360까지 연장되는 중쇄 분자의 부분을 포함한다.). 상기 CH2 도메인은 다

른 도메인과 밀접하게 연결되어 있지 않으므로 독특하다. 오히려, 2 개의 N-연결된 분지형 탄수화물 사슬이 손상되지 않은 천연 IgG 분자의 두 CH2 도메인 사이에 위치한다. 또한 CH3 도메인이 IgG 분자의 CH2 도메인에서 C-말단까지 연장되고 약 108 잔기를 포함한다는 것이 알려져 있다.

[0187] **"단편"** - 본 발명의 항체와 관련하여 사용되는 용어 "단편"은 손상되지 않은 또는 완전한 항체 또는 항체 사슬보다 적은 아미노산 잔기를 포함하는 항체 또는 항체 사슬의 일부 또는 부분을 의미한다. 용어 "항원-결합 단편"은 항원 결합을 (즉, IL-22R에 특이적 결합) 위해 항체에 결합하거나 손상되지 않은 항체와 (즉, 유래된 그대로의 항체와) 경쟁하는 면역 글로불린 또는 항체의 폴리펩티드 단편을 의미한다. 본원에서 사용된 항체 분자의 "단편"이라는 용어는 항체의 항원-결합 단편, 예를 들면 항체 경쇄 가변 도메인 (VL), 항체 중쇄 가변 도메인 (VH), 단일쇄 항체 (scFv), F(ab')₂ 단편, Fab 단편, Fd 단편, Fv 단편 및 단일 도메인 항체 단편 (Dab) 등을 포함한다. 상기 단편은 예를 들어 손상되지 않거나 완전한 항체 또는 항체 사슬에 화학적 또는 효소적 처리를 통해 또는 재조합 수단에 의해 얻을 수 있다.

[0188] **"결합가"**- 본원에서 사용된 용어 "결합가"는 폴리펩티드 내의 잠재적인 표적 결합 부위의 수를 지칭한다. 각각의 표적 결합 부위는 표적 분자 또는 표적 분자상의 특정 부위와 특이적으로 결합한다. 폴리펩티드가 하나 이상의 표적 결합 부위를 포함 할 때, 각 표적 결합 부위는 동일하거나 상이한 분자와 특이적으로 결합한다 (예를 들어, 상이한 리간드 또는 상이한 항원, 또는 동일한 항원상의 상이한 에피토프에 결합 할 수 있다).

[0189] **"특이성"**- "특이성"이란 용어는 주어진 표적, 예를 들어, IL-22R에 결합 (예, 면역 반응)하는 능력을 말한다. 폴리펩타이드는 단일 특이성이며 표적에 특이적으로 결합하는 하나 이상의 결합 부위를 함유할 수 있거나, 다중 특이성이며 동일하거나 상이한 표적에 특이적으로 결합하는 2 개 이상의 결합 부위를 포함할 수 있다.

[0190] **"합성"**- 본원에서 폴리펩타이드와 관련하여 사용된 용어 "합성"은 자연 발생적이지 않은 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드를 포함한다. 예를 들어, 상기 자연 발생적이지 않은 아미노산 서열은 자연 발생 폴리펩티드의 변형된 형태 (예를 들어, 첨가, 치환 또는 결실과 같은 돌연변이를 포함)이며, 또는 제 2 아미노산 서열(자연 발생적이거나 또는 자연 발생적이지 않은)과 선형으로 연결되는 제 1 아미노산 서열(자연 발생적이거나 또는 자연 발생적이지 않은)을 포함한다. 상기 연결은 자연 상태에서는 일어나지 않는다.

[0191] **"조작"** - 본원에 사용된 용어 "조작"은 합성 수단 (예를 들어, 재조합 기술, 시험관내 펩타이드 합성, 펩타이드의 효소적 또는 화학적 커플링 또는 이들 기술의 일부 조합에 의한)에 의한 핵산 또는 폴리펩타이드 분자의 조작을 포함한다. 바람직하게는, 본 발명의 항체는 예를 들어, 인간화 및/또는 키메라 항체, 및 항원 결합, 안정성/반감기 또는 효과기 기능과 같은 하나 이상의 특성을 개선하도록 조작된 항체를 포함하도록 조작된다.

[0192] **"변형된 항체"** - 본원에 사용된 용어 "변형된 항체"는 자연 발생적이지 않은 것으로 변형된 항체의 합성된 형태, 예를 들어 2 개 이상의 중쇄 부분을 포함하나 2 개의 완전한 중쇄는 포함하지 않는 항체 (예 : 도메인 결실 항체 또는 미니 바디); 2 종 이상의 상이한 항원 또는 단일 항원상의 상이한 에피토프에 결합하도록 변경된 항체의 다중 특이성 형태 (예를 들어, 이중 특이적, 삼중 특이성 등); scFv 분자 등에 결합 된 중쇄 분자를 포함 한다. 상기 scFv 분자는 당 업계에 공지되어 있으며, 예를 들어, 미국 특허 제 5,892,019 에 기재되어 있다. 또한, 용어 "변형된 항체"는 항체의 다가 형태 (예를 들어, 3가 또는 4가 등의 동일한 항원의 3 개 이상의 복제물에 결합하는 항체)를 포함한다. 또 다른 구현예에서, 본 발명의 변형된 항체는 CH2 도메인이 없고 수용체 리간드 쌍의 한 구성원의 결합 부분을 포함하는 폴리펩타이드의 결합 도메인을 포함하는 적어도 하나의 중쇄 부분을 포함하는 융합 단백질이다.

[0193] 용어 "변형된 항체"는 또한 본원에서 구조적으로 정의된 본 발명의 항체의 아미노산 서열 변이체를 지칭하기 위해 사용될 수 있다. 항체가 그 항체와 비교하여 아미노산 서열이 상이한 변이체 항체를 생산하도록 변형될 수 있다는 것은 당 업자에게는 자명하다. 예를 들어, 보존적 치환 또는 "비 필수적" 아미노산 잔기에서의 변화를 유도하는 뉴클레오타이드 또는 아미노산 치환이 이루어질 수 있다 (예, CDR 및/또는 프레임워크 잔기에서). 상기 아미노산 치환은 하나 이상의 아미노산을 천연 또는 비 천연 아미노산으로 대체하는 것을 포함 할 수 있다.

[0194] **"인간화 치환"** - 본원에 사용된 용어 "인간화 치환"은 항체(예를 들어, 낙타 유래 IL-22R 항체)의 VH 또는 VL 도메인의 특정 위치에 존재하는 아미노산 잔기가 기준 인간 VH 또는 VL 도메인의 동등한 위치의 아미노산 잔기로 대체되는 것을 의미한다. 상기 기준 인간 VH 또는 VL 도메인은 인간 생식세포에 의해 코딩되는 VH 또는 VL 도메인 일 수 있다. 상기 인간화 치환은 본원에서 정의된 항체의 프레임워크 영역 및/또는 CDRs에서 이루어질 수 있다.

[0195] **"인간화 변이체"** - 본원에서 사용된 용어 "인간화 변이체"는 참조 항체와 비교하여 하나 이상의 "인간화 치환"

을 포함하는 변이체 항체를 지칭하며, 상기 참조 항체의 일부 (예, VH 도메인 및/또는 VL 도메인 또는 그의 적어도 하나의 CDR을 함유하는 일부)는 비-인간 종으로부터 유래된 아미노산을 가지며, "인간화 치환"은 비인간 종으로부터 유래된 아미노산 서열 내에서 발생한다.

[0196] **"생식세포화 변이체"** - 용어 "생식세포화 변이체"는 본원에서 "인간화 치환"이 항체(예를 들어 낙타 유래 IL-22R 항체)의 VH 및 VL 도메인의 특정 위치에 존재하는 하나 이상의 아미노산 잔기가 인간 생식세포에 의해 코딩되는 기준 인간 VH 또는 VL 도메인의 동일한 위치의 아미노산 잔기와 치환된 "인간화 변이체"를 의미한다. 임의의 주어진 "생식세포화 변이체"에서, 생식세포화 변이체로 치환되는 아미노산 잔기는 독점적으로, 또는 우세하게 인간 생식세포에 의해 코딩된 단일 VH 또는 VL 도메인으로부터 얻어진다. 상기 "인간화 변이체" 및 "생식세포화 변이체"라는 용어는 종종 서로 바꾸어 사용할 수 있다. 낙타-유래된 (예를 들어, 라마에서 유래된) VH 또는 VL 도메인에 하나 이상의 "인간화 치환"을 도입하면 낙타(라마)에서 유래된 VH 또는 VL 도메인의 "인간화 변이체"가 만들어 진다. 상기 치환되는 아미노산 잔기가 인간 생식세포에 의해 코딩된 단일 VH 또는 VL 도메인 서열로부터 우세하게 또는 독점적으로 유래되는 경우, 그 결과는 낙타(라마)에서 유래된 VH 또는 VL 도메인의 "인간 생식세포화 변이체" 일 수 있다.

[0197] **"친화성 변이체"** - 본원에서 사용된 용어 "친화성 변이체"는 기준 항체와 비교하여 아미노산 서열에서 하나 이상의 변화를 나타내는 변이체 항체를 말하며, 상기 친화성 변이체는 기준 항체와 비교하였을 때 표적 항원에 대해 변경된 친화성을 나타낸다. 예를 들어, 상기 친화성 변이체는 기준 항체인 IL-22R 항체와 비교하여 IL-22R에 대해 변화된 친화성을 나타낸다. 바람직하게는, 상기 친화성 변이체는 표적 항원(예, IL-22R)에 대해 개선된 친화성을 나타낸다. 상기 친화성 변이체는 전형적으로 기준 항체와 비교하여 CDR의 아미노산 서열의 하나 이상의 치환을 나타낸다. 이러한 치환은 CDR의 주어진 위치에 존재하는 원래 아미노산을 천연 아미노산 잔기 또는 자연 발생적이지 않은 아미노산 잔기로 대체되는 것이다. 상기 아미노산의 치환은 보존적 또는 비 보존적일 수 있다.

[0198] **"높은 인간 상동성"** - 중쇄 가변 도메인 (VH) 및 경쇄 가변 도메인 (VL)으로 구성되는 항체는, VH 도메인 및 VL 도메인이 함께 취해지면, 가장 가까운 일치하는 인간 생식세포 VH 및 VL 서열과 적어도 90%의 아미노산 서열 상동성을 나타낸다. 높은 인간 상동성을 갖는 항체는 예를 들어 통상적인 낙타 항체의 VH 및 VL 도메인을 포함하는 항체뿐만 아니라 상기 항체의 조작된 형태, 특히 인간화 또는 생식세포화 변이체 및 완전한 인간 항체를 포함하는, 인간 생식세포 서열에 대해 충분히 높은 % 서열 상동성을 나타내는 천연 비-인간 항체의 VH 및 VL 도메인을 포함하는 항체를 포함 할 수 있다.

[0199] 한 구현예에서, 높은 인간 상동성을 갖는 항체의 VH 도메인은 프레임워크 영역 FR1, FR2, FR3 및 FR4 맞은편의 하나 이상의 인간 VH 도메인과 80% 이상의 아미노산 서열 상동성을 나타낸다. 다른 구현예에서, 본 발명의 폴리펩티드의 VH 도메인과 가장 근접하게 부합하는 인간 생식세포 VH 도메인 서열 사이는 85% 이상, 90% 이상, 95% 이상, 97% 이상, 최대 99 % 또는 심지어 100%의 아미노산 서열 동일성 또는 서열 상동성을 보인다.

[0200] 한 구현예에서, 상기 높은 인간 상동성을 갖는 항체의 VH 도메인은 가장 근접하게 부합하는 인간 VH 서열과 비교하여, 프레임워크 영역 FR1, FR2, FR3 및 FR4에서 미스-매치된 하나 이상의 (예를 들어, 1 내지 10) 아미노산 서열을 포함할 수 있다.

[0201] 또 다른 구현예에서, 상기 높은 인간 상동성을 갖는 항체의 VL 도메인은 프레임워크 영역 FR1, FR2, FR3 및 FR4를 가로 지르는 하나 이상의 인간 VL 도메인과 80% 이상의 서열 동일성 또는 서열 상동성을 나타낸다. 다른 구현예에서, 본 발명의 폴리펩타이드의 VL 도메인과 가장 근접하게 부합되는 인간 생식세포 VL 도메인 서열 사이는 85% 이상, 90% 이상, 95% 이상, 97% 이상, 최대 99 % 또는 심지어 100%의 아미노산 서열 동일성 또는 서열 상동성을 보인다.

[0202] 한 구현예에서, 상기 높은 인간 상동성을 갖는 항체의 VL 도메인은 가장 근접하게 부합하는 인간 VL 서열과 비교하여, 프레임워크 영역 FR1, FR2, FR3 및 FR4에서 미스-매치된 하나 이상의 (예를 들어, 1 내지 10) 아미노산 서열을 포함할 수 있다.

[0203] 상기 높은 인간 상동성을 갖는 항체와 인간 생식세포 VH 및 VL 사이의 서열 동일성 백분율을 분석하기 전에, 정준접힘(canonical folds)이 결정되어 H1 및 H2 또는 L1 및 L2 (및 L3)에 대한 정준접힘의 동일한 조합을 갖는 인간 생식세포 군의 동정을 가능하게 한다. 이어서, 관심 항체의 가변 영역과 서열 상동성이 가장 높은 인간 생식세포군의 구성원이 서열 상동성을 평가하기 위해 선택된다. 초 가변 루프 L1, L2, L3, H1 및 H2의 Chothia 정준 클래스의 결정은 웹 페이지 www.bioinf.org.uk/abs/chothia.html에서 공개적으로 사용 가능한 생물정보학 도구를 사용하여 수행 할 수 있다. 프로그램의 결과물은 데이터 파일에서 요구되는 주요 잔기를 보여준다.

상기 데이터 파일에서 주요 잔기 위치는 각 위치에 허용된 아미노산으로 표시된다. 관심 항체의 가변 영역 서열은 입력으로서 주어지고, Kabat 넘버링을 위한 컨센서스 항체 서열과 정렬된다. 정준 접힘 분석은 Martin과 Thornton에 의해 개발된 자동화된 방법으로 얻어진 주요 잔기 세트를 사용하여 수행한다 (Martin *et al.*, J. Mol. Biol. 263:800-815 (1996)).

[0204] H1 및 H2 또는 L1 및 L2 (및 L3)에 대한 정준 접힘의 동일한 조합을 사용하는 특정 인간 생식 세포 V 절편으로, 서열 상동성의 관점에서 가장 부합하는 구성원을 결정할 수 있다. 생물정보학 도구를 사용하여 관심 항체의 VH 및 VL 도메인 프레임워크의 아미노산 서열과 인간 생식세포에 의해 코딩되는 상응하는 서열 사이의 서열 동일성(%)을 결정할 수 있지만, 실제로 서열의 수동 정렬도 또한 적용될 수 있다. 인간 면역글로불린 서열은 VBase (<http://vbase.mrc-cpe.cam.ac.uk/>) 또는 Pluckthun/Honegger 데이터베이스 (<http://www.bioc.unizh.ch/antibody/Sequences/Germlines>)와 같은 단백질 데이터베이스에서 동정할 수 있다. 관심 항체의 VH 또는 VL 도메인의 V 부위에 대한 인간 서열을 비교하기 위해 www.expasy.ch/tools/#align 과 같은 웹 사이트를 통해 얻을 수 있는 서열 정렬 알고리즘을 사용할 수 있지만, 제한된 서열 세트의 수동 정렬을 수행할 수도 있다. 정준 접힘의 동일한 조합을 가지며 각 사슬의 프레임워크 영역 1, 2 및 3과 상동성이 가장 높은 인간 생식세포 경쇄 및 중쇄 서열을 선택하여 관심 가변 영역과 비교한다; 또한 FR4는 인간 생식세포 JH 및 JK 또는 JL 영역에 대해 검사한다.

[0205] 전체 서열 상동성의 백분율 계산에서, FR1, FR2 및 FR3의 잔기는 정준 접힘의 동일한 조합을 갖는 인간 생식세포 군과 가장 부합하는 서열을 사용하여 평가된다. 가장 근접한 다른 잔기 또는 정준 접힘의 동일한 조합을 갖는 같은 그룹의 다른 구성원만 점수가 매겨진다 (NB - 프라이머로 인코딩된 차이는 제외). 그러나, 인간화의 목적상, 정준 접힘의 동일한 조합을 가지지 않는 다른 인간 생식세포 그룹 구성원과 동일한 프레임워크 영역의 잔기는 이들이 위에서 설명한 엄격한 조건에 따라 "부정적인" 점수를 받음에도 불구하고 "인간"으로 간주될 수 있다. 이 가정은 FR1, FR2, FR3 및 FR4 각각이 가장 가깝게 부합하는 인간 생식세포 서열과 개별적으로 비교되는 인간화에 대한 "믹스 및 매치" 접근법을 기반으로 하며 따라서 인간화된 분자는 Qu와 그의 동료들(Qu *et al.*, Clin. Cancer Res. 5:3095-3100 (1999)) 및 Ono 및 그의 동료들(Ono *et al.*, Mol. Immunol. 36:387-395 (1999))에 의해 수행된 것처럼 상이한 FR 조합을 포함한다. 각각의 프레임워크 영역의 경계는 Chothia의 번호 체계의 각색인 IMGT 번호 체계를 사용하여 할당될 수 있다 (Lefranc *et al.*, NAR 27: 209-212 (1999); imgt.cines.fr).

[0206] 높은 인간 상동성을 갖는 항체는 하기에 상세히 논의되는 바와 같이 인간 또는 인간 유사 접힘을 갖는 초 가변 루프 또는 CDR을 포함할 수 있다.

[0207] 한 구현예에서, 높은 인간 상동성을 갖는 항체의 VH 도메인 또는 VL 도메인 중의 하나 이상의 초 가변 루프 또는 CDR은 비-인간 항체의 VH 또는 VL 도메인, 예를 들어 낙타과의 한 종에서 유래된 통상적인 항체이지만 인간 항체에서 발생하는 정준 접힘 구조와 실질적으로 동일한 정준 접힘 구조를 나타내는 비-인간 항체의 VH 또는 VL 도메인으로부터 얻어지거나 유래된다.

[0208] 인간 생식세포에 의해 코딩되는 VH 도메인 및 VL 도메인 둘 다에 존재하는 초 가변 루프의 일차 아미노산 서열은 VH 도메인의 CDR H3을 제외하고는 매우 가변적인 모든 초 가변 루프를 포함하지만, 초 가변 루프의 길이와 이른바 정준 아미노산 잔기의 존재 둘 모두에 의존하는 정준 접힘이라고 불리는 단지 몇 개의 별개의 구조적 형태를 채택한다 (Chothia *et al.*, J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987); Tramontano *et al.*, Proteins 6:382-94 (1989)). 완전한 VH 또는 VL 도메인의 초 가변 루프의 실제 정준 구조는 구조 분석 (예, X 선 결정학)에 의해 결정될 수 있지만, 특정 구조의 특징인 핵심 아미노산 잔기를 기반으로 정준 구조를 예측할 수 있다 (아래에서 더 논의됨). 본질적으로, 각 정준 구조를 결정하는 잔기의 특정 패턴은 정준 구조가 알려지지 않은 구조의 VH 또는 VL 도메인의 초 가변 루프에서 인식될 수 있게 하는 "서명"을 형성한다. 그러므로 정준 구조는 1 차 아미노산 서열만으로 예측할 수 있다.

[0209] 높은 인간 상동성을 갖는 항체에서 임의의 주어진 VH 또는 VL 서열의 초 가변 루프에 대한 예측된 정준 접힘 구조는 하기의 웹 사이트에서 얻을 수 있는 알고리즘을 이용하여 분석할 수 있다. www.bioinf.org.uk/abs/chothia.html, www.biochem.ucl.ac.uk/~martin/antibodies.html, 및 www.bioc.unizh.ch/antibody/Sequences/Germlines/Vbase_hVh.html. 이들 도구는 VH 또는 VL 서열이 공지된 정준 구조의 인간 VH 또는 VL 도메인 서열에 대해 정렬되도록 하고, 질의된 서열의 초 가변 루프에 대해 만들어진 정준 구조의 예측을 가능하게 한다.

[0210] VH 도메인의 경우, H1 및 H2 루프는 하기 기준의 적어도 첫번째, 바람직하게는 둘 모두가 인간 항체에서 발생하

는 것으로 알려진 정준 접합 구조와 "실질적으로 동일한" 정준 접합 구조를 갖는 것으로 간주될 수 있다:

- [0211] 1. 잔기 수에 의해 결정되는 동일한 길이를 가지며, 인간 정준 구조 클래스에 가장 가깝게 부합함.
- [0212] 2. 상응하는 인간 H1 및 H2 정준 구조 클래스에 대해 기술된 주요 아미노산 잔기와 33% 이상의 상동성, 바람직하게는 50% 이상의 상동성을 가짐.
- [0213] (전술한 분석의 목적상, H1 및 H2 루프는 개별적으로 처리되고, 각각 가장 가깝게 부합하는 인간 정준 구조 클래스와 비교한다)
- [0214] 상기 분석은 관심 항체의 H1 및 H2 루프의 정준 구조의 예측에 의존한다. 관심 항체의 H1 및 H2 루프의 실제 구조가 예를 들어 X-선 결정학에 기초하여 공지된다면, 그 항체의 H1 및 H2 루프는 또한 루프의 길이가 가장 부합하는 인간 정준 구조 클래스와 다르지만 (일반적으로 ± 1 또는 ± 2 아미노산) 관심 항체의 H1 및 H2 루프의 실제 구조가 인간 정준 접합 구조와 일치한다면 "실질적으로 동일한" 정준 접합 구조를 갖는 것으로 간주될 수 있다.
- [0215] 인간 VH 도메인 (H1 및 H2)의 제 1 및 제 2 초 가변 루프에 대한 인간 정준 구조 클래스에서 발견되는 주요 아미노산 잔기는 문헌 (Chothia et al., J. Mol. Biol. 227:799-817 (1992)) 에 기재되어 있으며, 그 내용은 본원에 참고로 인용되어 있다. 특히, 본원에 참고로 인용된 Chothia 등의 논문 802 페이지의 표 3에는 사람 생식 세포에서 발견되는 H1 정준 구조에 대한 주요 부위에서 바람직한 아미노산 잔기들이 기재되어 있는 반면, 803 페이지의 표 4에는 또한 인간 생식세포에서 발견되는 CDR H2 정준 구조에 대한 주요 부위의 바람직한 아미노산 잔기들이 기재되어 있다.
- [0216] 한 구현예에서, 상기 높은 인간 상동성을 갖는 항체의 VH 도메인에서 H1 및 H2는 모두 인간 항체에서 발생하는 정준 접합 구조와 실질적으로 동일한 예측된 또는 실제의 정준 접합 구조를 나타낸다.
- [0217] 상기 높은 인간 상동성을 갖는 항체는 초 가변 루프 H1 및 H2가 적어도 하나의 인간 생식 세포 VH 도메인에서 발생하는 것으로 알려진 정준 구조의 조합과 동일한 정준 접합 구조의 조합을 형성하는 VH 도메인을 포함할 수 있다. H1 및 H2에서의 정준 접합 구조의 특정 조합이 인간 생식세포에 의해 코딩되는 VH 도메인에서 실제로 생긴다는 것이 관찰되었다. 한 구현예에서, 상기 높은 인간 상동성을 갖는 항체의 VH 도메인의 H1 및 H2는 비-인간 종(예를 들면, 낙타과의 한 종)의 VH 도메인으로부터 얻을 수 있으며, 인간 생식세포 또는 체세포 돌연변이된 VH 도메인에서 발생하는 것으로 알려진 정준 접합 구조의 조합과 동일한 예측된 또는 실제의 정준 접합 구조를 형성한다. 비 제한적인 구현예에서, 상기 높은 인간 상동성을 갖는 항체 VH 도메인의 H1 및 H2는 비-인간 종(예를 들면, 낙타과의 한 종)의 VH 도메인으로부터 얻을 수 있으며, 다음과 같은 정준 접합 조합 중 하나를 형성한다: 1-1, 1-2, 1-3, 1-6, 1-4, 2-1, 3-1 및 3-5.
- [0218] 상기 높은 인간 상동성을 갖는 항체는 인간 VH와 높은 서열 동일성/서열 상동성을 보이며, 인간 VH와 구조적 상동성을 나타내는 초 가변 루프를 포함하는 VH 도메인을 함유할 수 있다.
- [0219] 상기 높은 인간 상동성을 갖는 항체의 VH 도메인에서 H1 및 H2에 존재하는 정준 접합 및 그의 조합이 전체 1 차 아미노산 서열 동일성의 관점에서 높은 인간 상동성을 갖는 항체의 VH 도메인과 가장 부합하는 인간 VH 생식세포 서열에 대해 "정확" 하다고 하는 것이 유리할 수 있다. 예를 들어, 가장 근접한 서열이 인간 생식세포 VH3 도메인과 부합하면, H1 및 H2가 인간 VH3 도메인에서 자연적으로 발생하는 정준 접합의 조합을 형성하는데 유리할 수 있다. 이는 비-인간 종 (non-human species) 으로부터 유래된 높은 인간 상동성을 갖는 항체, 예를 들어, 낙타의 통상적 항체로부터 유래된 VH 및 VL 도메인을 포함하는 항체, 특히 인간화된 낙타 VH 및 VL 도메인을 함유하는 항체의 경우에 특히 중요할 수 있다.
- [0220] 따라서, 한 구현예에서, 상기 높은 인간 상동성을 갖는 IL-22R 항체의 VH 도메인은 프레임워크 영역 FR1, FR2, FR3 및 FR4를 가로 지르는 인간 VH 도메인과 80% 이상, 85% 이상, 90% 이상, 95% 이상, 97% 이상, 최대 99 % 또는 심지어 100%의 아미노산 서열 동일성 또는 서열 상동성을 보인다. 상기 항체의 H1 및 H2는 비-인간 VH 도메인 (예를 들면, 낙타과의 한 종으로부터 유래된) 으로부터 얻을 수 있으며, 동일한 인간 VH 도메인에서 자연적으로 발생하는 것으로 알려진 정준 접합 조합과 동일한 예측된 또는 실제의 정준 접합 구조의 조합을 형성한다.
- [0221] 다른 구현예에서, 상기 높은 인간 상동성을 갖는 항체의 VL 도메인에서 L1 및 L2는 각각 비-인간 VL 도메인 (예를 들면, 낙타 유래 VL 도메인) 으로부터 얻을 수 있으며, 인간 항체에서 발생하는 정준 접합 구조와 실질적으로 동일한 예측된 또는 실제의 정준 접합 구조를 나타낸다.

- [0222] VH 도메인과 마찬가지로, VLambda 및 VKappa 유형의 VL 도메인의 초 가변 루프는 길이 및 주요 아미노산 잔기의 존재에 의해 결정되는 제한된 수의 형태 또는 정준 구조를 가질 수 있다.
- [0223] 높은 인간 상동성을 갖는 관심 항체 내에서, 비-인간 종(예를 들면, 낙타과의 종)의 VL 도메인으로부터 수득된 L1, L2 및 L3 루프는 하기 기준의 적어도 첫번째, 바람직하게는 둘 모두가 인간 항체에서 발생하는 것으로 알려진 정준 접힘 구조와 "실질적으로 동일한" 정준 접힘 구조를 갖는 것으로 간주될 수 있다:
- [0224] 1. 잔기 수에 의해 결정되는 동일한 길이를 가지며, 인간 구조 클래스에 가장 가깝게 부합함.
- [0225] 2. 상응하는 인간 L1 또는 L2 정준 구조 클래스에 대해 기술된 주요 아미노산 잔기와 33% 이상의 상동성, 바람직하게는 50% 이상의 상동성을 가짐.
- [0226] (전술한 분석의 목적상, L1 및 L2 루프는 개별적으로 처리되고, 각각 가장 가깝게 부합하는 인간 정준 구조 클래스와 비교한다)
- [0227] 상기 분석은 관심 항체의 VL 도메인의 L1, L2 및 L3 루프의 정준 구조의 예측에 의존한다. 상기 L1, L2 및 L3 루프의 실제 구조가 예를 들어 X-선 결정학에 기초하여 공지된다면, 그 항체의 L1, L2 및 L3 루프는 또한 루프의 길이가 가장 부합하는 인간 정준 구조 클래스와 다르지만 (일반적으로 ± 1 또는 ± 2 아미노산) 낙타 루프의 실제 구조가 인간 정준 접힘 구조와 일치한다면 "실질적으로 동일한" 정준 접힘 구조를 갖는 것으로 간주될 수 있다.
- [0228] 인간 VLambda 및 VKappa 도메인의 CDR에 대한 인간 정준 구조 클래스에서 발견되는 주요 아미노산 잔기는 문헌 (Morea et al. Methods, 20: 267-279 (2000) 및 Martin et al., J. Mol. Biol., 263: 800-815 (1996))에 기재되어 있다. 인간 VKappa 도메인의 구조적 레퍼토리는 하기 문헌(Tomlinson et al. EMBO J. 14: 4628-4638 (1995))에 기재되어 있으며, VLambda 도메인의 구조적 레퍼토리는 하기 문헌(Williams et al. J. Mol. Biol., 264:220-232 (1996))에 기재되어 있다. 이들 모든 문헌의 내용은 본원에 참조문헌으로서 포함된다.
- [0229] 상기 높은 인간 상동성을 갖는 항체의 VL 도메인에서 L1 및 L2는 인간 생식세포 VL 도메인에서 발생하는 것으로 알려진 정준 접힘 구조의 조합과 동일한 예측된 또는 실제의 정준 접힘 구조의 조합을 형성할 수 있다. 비 제한적인 구현예에서, 상기 높은 인간 상동성을 갖는 항체(예를 들어, 낙타-유래 VL 도메인을 포함하는 항체 또는 그의 인간화 변이체)의 VLambda 도메인에서 L1 및 L2는 하기 정준 배수 조합 중 하나를 형성할 수 있다: 11-7, 13-7(A,B,C), 14-7(A,B), 12-11, 14-11 및 12-12 (Williams 등 (J. Mol. Biol. 264:220-32 (1996))에 의해 정의되었으며, 하기 웹사이트 (http://www.bioc.uzh.ch/antibody/Sequences/Germlines/VBase_hVL.html)에서 볼 수 있다). 비 제한적인 구현예에서, V kappa 도메인의 L1 및 L2는 하기 정준 배수 조합 중 하나를 형성할 수 있다: 2-1, 3-1, 4-1 및 6-1 (Tomlinson 등 (EMBO J. 14:4628-38 (1995))에 의해 정의되었으며, 하기 웹사이트 (http://www.bioc.uzh.ch/antibody/Sequences/Germlines/VBase_hVL.html)에서 볼 수 있다).
- [0230] 또 다른 구현예에서, 상기 높은 인간 상동성을 갖는 항체의 VL 도메인에서 L1, L2 및 L3의 세 가지 모두는 실질적으로 인간 구조를 나타낼 수 있다. 상기 높은 인간 상동성을 갖는 항체의 VL 도메인은 인간 VL과 높은 서열 동일성/서열 상동성을 나타내고 VL 도메인의 초 가변 루프는 인간 VL과 구조적 상동성을 나타내는 것이 바람직하다.
- [0231] 한 구현예에서, 상기 높은 인간 상동성을 갖는 IL-22R 항체의 VL 도메인은 프레임워크 영역 FR1, FR2, FR3 및 FR4를 가로 지르는 인간 VL 도메인과 80% 이상, 85% 이상, 90% 이상, 95% 이상, 97% 이상, 최대 99% 또는 심지어 100%의 아미노산 서열 동일성을 보인다. 또한, 초 가변 루프 L1 및 L2는 같은 인간 VL 도메인에서 자연적으로 발생하는 정준 접힘 조합과 실질적으로 동일한 예측된 또는 실제의 정준 접힘 구조의 조합을 형성한다.
- [0232] 물론, 인간 VH와 높은 서열 동일성/서열 상동성을 나타내고 또한 인간 VH의 초 가변 루프와의 구조적 상동성을 나타내는 VH 도메인은 인간 VL과 높은 서열 동일성/서열 상동성을 나타내는 VL 도메인과 조합될 것으로 예상된다. 또한, 인간-인코딩된 VH/VL 쌍에 대해 최대의 서열 및 구조적 상동성을 갖는 VH/VL 쌍(예를 들어, 낙타-유래 VH/VL 쌍)을 포함하는 높은 인간 상동성을 갖는 항체를 제공하기 위해서 인간 VL의 초 가변 루프와의 구조적 상동성을 가진다.
- [0233] "scFv" or "scFv 단편" - 상기 scFv 또는 scFv 단편은 단일 사슬 가변 단편을 의미한다. AnscFv는 링커를 통해 연결된 항체의 VH 도메인 및 VL 도메인의 융합 단백질이다.
- [0234] **B. IL-22R 항체**

- [0235] 본 발명은 인간 IL-22R에 특이적으로 결합하는 항체 및 그의 항원 결합 단편에 관한 것이다. 본원에 기술된 IL-22R 항체 및 항체 단편은 선행 기술의 IL-22R 항체와 별개이고 특정 경우 더 우수한 항체의 특성, 특히 성질의 조합을 가진다. 이들 성질 및 특성을 하기에서 상세히 설명한다.
- [0236] **IL-22R 에피토프**
- [0237] 본 발명의 IL-22R 항체 및 항원 결합 단편은 아미노산 잔기 티로신 60 (Tyr60 또는 Y60)을 포함하지 않는 인간 IL-22R 단백질 내의 에피토프에 결합하며, 상기 아미노산의 위치는 도 2에 나타난 IL-22R의 서열 (서열 번호 71)에 나타나 있다. 상기 IL-22R의 표면에 노출된 잔기는 이전에 리간드 결합에 중요한 것으로 확인되었고, 본원에 보고된 바와 같이 (특히 실시예 8 참조), 선행 기술의 IL-22R 항체 280.346.TSY (WO2011/061119에 기재됨)가 상기 잔기를 포함하는 에피토프에 결합한다. 본 발명의 IL-22R 항체 및 항원 결합 단편은 놀랍게도 상기 주요 잔기를 포함하지 않는 에피토프에 결합하지만, 특정 구현예에서는 IL-22 결합을 차단 및/또는 IL-22를 저해 및/또는 IL-22R을 통한 IL-20에 의해 매개되는 신호 전달을 억제할 수 있다.
- [0238] IL-22R의 세포외 도메인과 그의 리간드 IL-22 사이의 결합 인터페이스는 문헌 (Jones *et al.*, Structure 16(9): 1333-1344 (2008))에 기재되어 있으며, 그 내용은 전체가 본 발명에 포함된다. 상기 IL-22R의 세포외 도메인은 5개의 루프 (L2-L6)로 구성되며, IL-22 리간드상의 표면에 노출된 잔기와 상호 작용을 매개하는데 중요한 특정 잔기를 포함한다. 티로신 60은 IL-22R 단백질의 D1 도메인의 잔기에 의해 형성된 L2 루프 내에 위치한다. IL-22/수용체 IL-22R 복합체에서, 잔기 Tyr60은 리간드의 1a 부위 내에 생성된 IL-22상의 작은 구멍에 삽입된다. 보다 구체적으로, 이 공동은 헬릭스 F와 AB 루프 (IL-22 리간드에서 발견되는 두 개의 뚜렷한 2차 구조)의 교차점에서 생성된다. 상기 리간드의 헬릭스 F 잔기들인 Lys162와 Glu166은 IL-22R의 Tyr60의 OH와 수소 결합을 형성하므로 상기 Tyr60은 리간드상의 1a 부위와 수용체의 도메인 D1 사이의 상호 작용을 매개하는 핵심 잔기이다.
- [0239] 본원에 기재된 항체 및 항원 결합 단편은 Tyr60을 포함하지 않는 에피토프에 결합한다. 상기 한 바와 같이, Tyr60은 수용체의 D1 도메인에서 L2 루프 내에 위치한다. 특정 구현예에서, 상기 IL-22R 항체 또는 항원 결합 단편이 결합하는 에피토프는 IL-22R의 D2 도메인, 즉 서열 번호 71의 잔기 125와 228 사이에 위치한다. 특정 구현예에서, 상기 IL-22R 항체 또는 항원 결합 단편이 결합하는 에피토프는 IL-22R 단백질의 D2 도메인 내에 위치한 적어도 하나, 적어도 두 개, 또는 적어도 세 개의 아미노산 잔기를 포함한다.
- [0240] 본 발명의 항체 및 항원 결합 단편이 Tyr60을 포함하지 않는 에피토프에 결합한다는 사실은 그들의 작용 방식과 관련이 있다. 상기 항체 및 그의 항원 결합 단편은 D1 도메인과 상호 작용하는 대신 또는 그에 추가하여 IL22R의 D2 도메인과 상호 작용하는 것으로 여겨진다. 상기 IL-22R의 D2 도메인은 보조 수용체와의 상호 작용에 관여하는 것으로 알려져 있다. 본 발명의 항체 분자는 리간드에 대한 결합을 방해하고 보조 수용체와의 상호 작용을 방지하는 이중 작용 방식을 가질 수 있다.
- [0241] 본 발명의 항체 또는 항원 결합 단편이 결합하는 에피토프는 선형 에피토프 (즉, 표적 항원 내의 아미노산의 선형 서열로 이루어진 에피토프) 또는 구조적 에피토프 (즉, 표적 항원에서 인접하지 않은 아미노산으로 구성된 에피토프)일 수 있다.
- [0242] **결합 친화성**
- [0243] 특정 구현예에서, 본 발명의 항체 및 항원 결합 단편은 높은 친화성으로 인간 IL-22R에 결합한다.
- [0244] 본원에서 사용된 용어 "친화성" 또는 "결합 친화성"은 항체 결합과 관련하여 당 업계의 통상적인 의미에 기초하여 이해되어야 하고, 항원과 항체 또는 그의 항원 결합 단편의 결합 자리 사이의 결합 강도 및/또는 안정성을 반영한다.
- [0245] 상기 항체 또는 그의 항원 결합 단편의 각각의 항원에 대한 결합 친화성은 당 업계에 공지된 기술을 사용하여 실험적으로 결정될 수 있다. 예를 들어, 바이오코어 기기는 상기 항체 또는 항체 단편이 특정 유동 조건 하에서 고정화된 표적을 통과하는 동안 바이오 센서 칩 상에 표적 단백질 또는 항원의 고정화에 기초하여 친화성을 측정한다. 이러한 실험을 통해 K_D 값으로 변환될 수 있는 k_{on} 및 k_{off} 측정치가 산출되며, 여기서 K_D 항체 또는 그의 단편과 항원의 해리에 대한 평형 상수이다. K_D 값이 작을수록 항체와 그의 표적 항원 간의 결합 상호 작용이 강해진다.
- [0246] 상기에서 언급한 바와 같이, 항체의 친화성은 예를 들어 본원의 다른 곳에서 기술된 프로토콜을 사용하여 바이

아코어에 의해 결정될 수 있다 (실시예 6 참조). 바이아코어에 의해 측정된 바와 같이, 인간 IL-22R에 대한 항체 또는 항원 결합 단편의 친화성은, 예를 들어 실시예 3 및 6에 기재된 바와 같은 재조합 전장 IL-22R 구조체를 사용하여 결정될 수 있다.

[0247] 본 발명의 IL-22R 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 단일클론 항체로 시험했을 때 예를 들어 경쟁 가변 도메인과 짝을 이루는 중쇄 가변 도메인의 친화성을 IgG1 분자와 관련하여 시험한 경우, IL-22R에 대한 오프 레이트 (k_{off})가 $2 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ 미만, $1.5 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ 미만, 또는 $1.2 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ 미만을 나타낸다. 바람직한 구현예에서, 본 발명의 IL-22R 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 단일클론 항체로 시험했을 때 예를 들어 경쟁 가변 도메인과 짝을 이루는 중쇄 가변 도메인의 친화성을 IgG1 분자와 관련하여 시험한 경우, IL-22R에 대한 오프 레이트 (k_{off})가 $2.5 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ 미만, 바람직하게는 $1.5 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ 미만, 더욱 바람직하게는 $1 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ 미만을 나타낸다.

[0248] 본 발명의 IL-22R 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 IL-22R에 대한 오프 레이트 (k_{off})가 $1 \times 10^{-6} \text{ s}^{-1}$ 내지 $2 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$, 바람직하게는 $1 \times 10^{-6} \text{ s}^{-1}$ 내지 $2.5 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$, 더욱 바람직하게는 $1 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ to $1 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ 을 나타낸다.

[0249] 본 발명의 IL-22R 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 $3 \times 10^{-9} \text{ M}$ 미만, $2.5 \times 10^{-9} \text{ M}$ 미만, 또는 $1 \times 10^{-9} \text{ M}$ 미만의 K_D 값을 나타낼 수 있다. 바람직한 구현예에서, 본 발명의 IL-22R 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 $5 \times 10^{-10} \text{ M}$ 미만, 바람직하게는 $2 \times 10^{-10} \text{ M}$ 미만, 더욱 바람직하게는 $1.5 \times 10^{-10} \text{ M}$ 미만의 K_D 값을 나타낸다.

[0250] IL-22와 IL-20의 결합 및 하류 신호전달의 저해

[0251] 특정 구현예에서, 본 발명의 항체 및 항원 결합 단편은 인간 IL-22R에 결합하고, 상기 수용체에 대한 리간드 결합을 억제한다. 이는 본원에 기재된 항체가 Tyr60을 포함하지 않는 에피토프에 결합한다는 점을 고려하면 특히 놀랍다. 전술한 바와 같이, 상기 Tyr60은 리간드 결합에 중요한 잔기로 확인되었고, 따라서 본 발명의 IL-22R 항체 및 항원 결합 단편은 리간드 결합을 저해하는 능력이 뛰어났으며, 특정 구현예에서는 IL-22R의 하류 신호전달을 저해한다.

[0252] 상기 항체 및 항원 결합 단편은 인간 IL-22R에 결합하고, IL-22 결합을 저해하거나 IL-20 결합을 저해할 수 있다. 바람직하게는, 본원에 기재된 항체 및 항원 결합 단편은 IL-22 및 IL-20의 IL-22R에 대한 결합을 저해한다.

[0253] 보조 수용체 IL-10R2 또는 IL-20R2를 발현하는 세포상의 IL-22R에 결합하는 리간드는 수용체 복합체에서 구조적 변화를 유도하여 수용체 하류의 신호 전달 경로가 활성화된다. 본원에 기재된 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 IL-22R의 IL-22-의존성 활성화를 억제하거나 IL-22R의 IL-20-의존성 활성화를 억제한다. 본원에 사용된 용어 "IL-22-의존성 IL-22R의 활성화"는 리간드 IL-22가 IL-22R/IL-10R2 복합체에 결합함에 따라 IL-22R 수용체 복합체의 하류에서 발생하는 연쇄적인 신호전달을 의미한다. 본원에 사용된 용어 "IL-20-의존성 IL-22R의 활성화"는 리간드 IL-20가 IL-22R/IL-20R2 복합체에 결합함에 따라 IL-22R 수용체 복합체의 하류에서 발생하는 연쇄적인 신호전달을 의미한다.

[0254] IL-22R의 IL-22-의존성 활성화는 IL-22R 및 보조 수용체 IL-10R2 둘 다를 발현하는 세포 또는 세포주, 예를 들어, 문헌 (Dumoutier et al. J Biol Chem. 2009 Sep 25;284(39):26377-84) 에 기재되어 있는 BW-hIL-22R 세포주에서 측정될 수 있으며, 그 전체 내용이 본원에 포함된다. 상기 IL-22는 BW-hIL-22R 세포주의 성장 정지를 유도하고 따라서 IL-22R의 IL-22-의존성 활성화 정도는 실시예 6에서 기재되어 있는 바와 같이 BW-hIL-22R 세포의 증식을 측정함으로써 결정될 수 있다. 특정 구현예에서, 본원에 기재된 항체 또는 항원 결합 단편은 IL-22 의존성 세포-기반 증식 분석에서 650 pM 미만, 바람직하게는 600 pM 미만의 IC_{50} (활성화의 50%가 억제되는 농도) 을 나타낸다. 상기 세포-기반 증식 분석은 바람직하게는 본원에 기재된 바와 같은 BW-hIL-22R 세포주를 포함하는 분석이다.

[0255] IL-22R의 IL-20-의존성 활성화는 IL-22R 및 보조 수용체 IL-20R2 둘 다를 발현하는 세포 또는 세포주, 예를 들어, 문헌 (Dumoutier et al. J Biol Chem. 2009 Sep 25;284(39):26377-84) 에 기재되어 있는 Baf3-hIL-22R/IL20Rb 세포주에서 측정될 수 있으며, 그 전체 내용이 본원에 포함된다. 상기 IL-20은 Baf3-hIL-22R/IL20Rb 세포주의 증식을 유도하고 따라서 IL-22R의 IL-20-의존성 활성화 정도는 실시예 6에서 기재되어 있

는 바와 같이 Baf3-hIL-22R/IL20Rb 세포의 증식을 측정함으로써 결정될 수 있다. 특정 구현예에서, 본원에 기재된 항체 또는 항원 결합 단편은 IL-20 의존성 세포-기반 증식 분석에서 1 nM 미만, 바람직하게는 800 pM 미만의 IC₅₀ (활성화의 50%가 억제되는 농도) 을 나타낸다. 상기 세포-기반 증식 분석은 바람직하게는 본원에 기재된 바와 같은 Baf3-hIL-22R/IL20Rb 세포주를 포함하는 분석이다.

[0256] 상기의 증식 분석 이외에, IL-22R의 IL-22 및/또는 IL-20-의존성 활성화는 대안적 세포 분석, 예를 들어 W02011/061119에 기재되어 있는 STAT3 인산화 분석을 사용하여 측정될 수 있다.

[0257] 바람직한 구현예에서, 본 발명의 항체 또는 항원 결합 단편은 인간 IL-22R에 결합하고 IL-22R의 IL-22-의존성 활성화 및 IL-22R의 IL-20-의존성 활성화 둘 다를 억제한다. 상기 항체 또는 항원 결합 단편의 저해성 또는 "중화" 활성은 IL-22 및 IL-20-의존성 활성화 모두에 대해 동등하다. 대안적으로, 상기 항체 또는 항원 결합 단편의 저해성 또는 중화 활성은 한 리간드에 의해 매개되는 IL-22R의 활성화와 비교하여 다른 리간드에 의해 매개되는 IL-22R의 활성화에 대해 더 클 수 있다. 특정 구현예에서, 본 발명의 항체 또는 항원 결합 단편은 IL-22R의 IL-20-의존성 활성화와 비교하여 IL-22R의 IL-22-의존성 활성화에 대해 보다 강력한 억제 활성을 나타낸다. 이러한 구현예에서, IL-22-의존성 IL-22R 활성화에 대한 항체 또는 항원 결합 단편의 억제 활성은 IL-20-의존성 IL-22R 활성화에 대한 억제 활성에 비해 5 배 미만, 바람직하게는 4 배 미만, 보다 바람직하게는 2 배 미만으로 더 강하다.

[0258] 교차 반응성

[0259] 특정 구현예에서, 인간 IL-22R에 결합하는 본원에 기재된 항체 또는 항원 결합 단편은 IL-22R의 하나 이상의 종 동족체, 예를 들어 영장류 기원의 IL-22R 동족체와 교차 반응할 수 있다.

[0260] 특정 구현예에서, 본 발명의 항체 또는 항원 결합 단편은 무린 IL-22R와는 교차 반응하지 않는다. 반면에, 상기 항체 또는 항원 결합 단편은 영장류 유래의 하나 이상의 IL-22R 동족체, 예를 들어 레수스 및 사이노몰거스 원숭이 유래의 IL-22R 단백질에 결합할 수 있다. 다른 종 동족체와의 교차 반응성은 치료용 항체의 개발 및 시험에 특히 유리할 수 있다. 예를 들어, 치료용 항체의 전임상 독성시험은 레수스 및 사이노몰거스 원숭이를 포함하는 영장류에서 종종 수행되지만, 이에 한정되지는 않는다. 따라서, 이들 종 동족체와의 교차 반응성은 임상 후보로서의 항체 개발에 특히 유리할 수 있다.

[0261] 낙타-유래 항체

[0262] 본 발명의 특정 구현예에서, 본원에 기술된 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 낙타과(Camelidae)의 한 종의 VH 도메인 또는 VL 도메인으로부터 유래된 하나 이상의 초 가변 루프 또는 상보성 결정 영역을 포함할 수 있다. 특히, 상기 항체 또는 항원 결합 단편은 이중 교배된 낙타류(예, 라마)를 IL-22R 항원 또는 그 단편으로 활성 면역화시켜 수득된 VH 및/또는 VL 도메인, 또는 그의 CDR을 포함할 수 있다.

[0263] 상기 "낙타과(Camelidae)의 한 종의 VH 도메인 또는 VL 도메인으로부터 유래된 하나 이상의 초 가변 루프 또는 상보성 결정 영역"은 상기 초 가변 루프 (HV) 또는 CDR이 낙타 면역글로불린 유전자에 의해 코딩되는 초 가변 루프 또는 CDR의 아미노산 서열과 동일하거나 또는 실질적으로 동일한 아미노산 서열을 가진다는 것을 의미한다. 이 문맥에서 상기 "면역글로불린 유전자"는 생식세포 유전자, 전위된 면역글로불린 유전자 및 체세포 돌연변이 유전자를 포함한다. 따라서, 낙타과 종의 VH 또는 VL 도메인으로부터 수득된 HV 또는 CDR의 아미노산 서열은 성숙한 낙타의 통상 항체에 존재하는 HV 또는 CDR의 아미노산 서열과 동일할 수 있다. 이 문맥에서 "수득된"이라는 용어는 상기 IL-22R 항체의 HV 또는 CDR이 원래 낙타 면역글로불린 유전자에 의해 코딩된 아미노산 서열 (또는 그의 작은 변이체)을 구현한다는 점에서 구조적 관계를 의미한다. 그러나 이는 IL-22R 항체를 제조하는데 사용되는 생산 공정 측면에서 특별한 관계를 의미하지는 않는다.

[0264] 상기 낙타-유래 IL-22R 항체는 라마 (llama), 단봉낙타 (dromedary), 알파카 (alpaca), 비쿠냐 (vicuna), 과나코 (guanaco) 또는 카멜 (camel) 을 비롯한 모든 낙타 종에서 유래될 수 있다.

[0265] 낙타-유래 VH 및 VL 도메인 또는 그의 CDR을 포함하는 IL-22R 항체는 전형적으로 재조합적으로 발현된 폴리펩티드이며, 또한 키메라 폴리펩티드일 수 있다. 상기 "키메라 폴리펩티드"라는 용어는 인접하지 않는 둘 이상의 펩타이드 단편의 병치에 의해 만들어 지는 인공적인 (자연적으로 발생하지 않는) 폴리펩타이드를 지칭한다. 여기에는 2 종 이상의 종에 (예를 들어, 낙타 및 인간) 의해 코딩되는 펩타이드 단편들의 병치에 의해 생성된 "중" 키메라 폴리펩티드가 포함된다.

[0266] 상기 낙타-유래 CDR은 서열 번호로 나타낸 하기 CDR 서열 중 하나를 포함할 수 있다: 서열번호 6 및 13 (중쇄

CDR3), 서열번호 4 및 11 (중쇄 CDR2), 서열번호 2 및 9 (중쇄 CDR1), 서열번호 20 및 27 (경쇄 CDR3), 서열번호 18, 25 및 47 (경쇄 CDR2) 또는 서열번호 16 및 23 (경쇄 CDR1).

[0267] 한 구현예에서, 전체 VH 도메인 및/또는 전체 VL 도메인은 낙타과의 한 종으로부터 얻을 수 있다. 특정 구현예에서, 낙타-유래 VH 도메인은 서열번호 29 및 31로부터 선택된 아미노산 서열을 포함할 수 있는 반면, 낙타-유래 VL 도메인은 서열번호 30, 32 및 62로부터 선택된 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 상기 낙타-유래 VH 도메인 및/또는 낙타-유래 VL 도메인은 하나 이상의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실이 낙타 아미노산 서열로 도입되는 단백질 공학의 대상이 될 수 있다. 이러한 조작된 변화는 바람직하게는 낙타서열과 관련된 아미노산 치환을 포함한다. 이러한 변화는 낙타-코딩된 VH 또는 VL 도메인의 하나 이상의 아미노산 잔기가 상동성 인간-코딩된 VH 또는 VL 도메인의 등가 잔기로 대체된 "인간화" 또는 "생식세포화"를 포함한다. 특정 구현예에서, 상기 낙타-유래 VH 도메인은 서열 번호 29 또는 31로 나타난 아미노산 서열과 적어도 90%, 95%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 나타낼 수 있다. 택일적으로 또는 부가적으로, 상기 낙타-유래 VL 도메인은 서열 번호 30, 32 또는 62로 나타난 아미노산 서열과 적어도 90%, 95%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 나타낼 수 있다.

[0268] 인간 IL-22R 항원으로 낙타(예를 들어, 라마 (llama))를 면역화시켜 수득된 낙타 VH 및 VL 도메인은 본 발명에 따른 항원 결합 폴리펩티드를 제조하기 위한 기초로서 사용될 수 있다. 완전한 낙타 VH 및 VL 도메인으로부터 시작하여, 하나 이상의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 조작하는 것이 가능하다. 특정 구현예에서, 이러한 치환, 삽입 또는 결실은 상기 VH 도메인 및/또는 VL 도메인의 프레임워크 영역에 존재할 수 있다. 이러한 1 차 아미노산 서열 변화의 목적은 아마도 바람직하지 않은 특성 (예를 들어, 인간 숙주에서의 면역 원성 (소위 인간화)) 및 잠재적 이질성 및/또는 불안정성 (당화, 탈 아미노화, 이성체화 등) 부위를 감소시키거나, 또는 분자의 다른 유리한 성질 (예를 들어, 용해도, 안정성, 생체 이용률 등)을 향상시키는 것일 수 있다. 다른 구현예에서, 상기 1 차 아미노산 서열의 변화는 능동 면역화에 의해 수득된 낙타 VH 및/또는 VL 도메인의 하나 이상의 초 가변 루프 (또는 CDR)에서 조작 될 수 있다. 이러한 변화는 항원 결합 친화성 및/또는 특이성을 높이기 위해, 또는 바람직하지 않은 특성 (예를 들어, 인간 숙주에서의 면역 원성 (소위 인간화)) 및 잠재적 이질성 및/또는 불안정성 (당화, 탈 아미노화, 이성체화 등) 부위를 감소시키거나, 또는 분자의 다른 유리한 성질 (예를 들어, 용해도, 안정성, 생체 이용률 등)을 향상시키기 위해 도입될 수 있다.

[0269] 따라서, 한 구현예에서, 본 발명은 낙타-유래 VH 또는 VL 도메인과 비교하여 VH 도메인 또는 VL 도메인 중 하나의 적어도 하나의 프레임워크 또는 CDR 영역에서 적어도 하나의 아미노산 치환을 함유하는 IL-22R 항체 변이체를 제공한다. 상기 낙타-유래 VH 또는 VL 도메인의 예로는 서열번호 29 및 31로 나타내는 아미노산 서열을 포함하는 낙타 VH 도메인 및 서열번호 30, 32 및 62로 나타내는 아미노산 서열을 포함하는 낙타 VL 도메인이 포함되지만 이에 한정되지는 않는다.

[0270] 다른 구현예에서, 낙타-유래 VH 및 VL 도메인 (또는 이의 조작된 변이체) 및 비-낙타 항체의 하나 이상의 불변 도메인, 예를 들어 인간-인코딩 불변 도메인 (또는 이의 조작된 변이체) 을 포함하는 "키메라" 항체 분자가 제공된다. 이러한 구현예에서, 상기 VH 도메인 및 VL 도메인 둘 모두가 동종의 낙타로부터 얻어지는 것이 바람직하며, 예를 들어, 상기 VH 및 VL 모두 라마 (Lama glama) 로부터 유래되거나 또는 상기 VH 및 VL 모두가 알파카 (Lama pacos) 로부터 유래될 수 있다 (조작된 아미노산 서열 변이가 도입되기 전에). 이러한 구현예에서, 상기 VH 및 VL 도메인은 단일 동물, 특히 IL-22R 항원으로 면역화된 단일 동물로부터 유래될 수 있다.

[0271] 상기 낙타 VH 및/또는 VL 도메인의 일차 아미노산 서열의 공학적 변화에 대한 대안으로서, 개별 낙타-유래 초 가변 루프 또는 CDR, 또는 이들의 조합을 낙타 VH/VL 도메인으로부터 분리할 수 있으며, 이를 대체 프레임워크 (즉 비-낙타 프레임워크), 예를 들어 인간 VH/VL 프레임워크, 로 CDR 그래프팅을 이용하여 전달시킬 수 있다. 특히, 비 제한적 구현예에서, 상기 낙타-유래 CDR은 하기 서열번호로 기재되는 아미노산 서열을 갖는 CDR로부터 선택될 수 있다: 서열번호 6 및 13 (중쇄 CDR3), 서열번호 4 및 11 (중쇄 CDR2), 서열번호 2 및 9 (중쇄 CDR1), 서열번호 20 및 27 (경쇄 CDR3), 서열번호 18, 25 및 47 (경쇄 CDR2) 또는 서열번호 16 및 23 (경쇄 CDR1).

[0272] 낙타-유래 VH 및 VL 도메인, 또는 그의 CDR을 포함하는 IL-22R 항체는 VH 도메인 및 VL 도메인 모두에서 다양한 상이한 양태를 취할 수 있다. 본원에서 사용된 용어 "항체"는 가장 넓은 의미로 사용되며, IL-22R 단백질에 대한 적절한 면역 특이성을 나타내는 한 단일클론 항체 (전장 단일클론 항체를 포함), 다중클론 항체, 다중 특이성 항체 (예, 이중 특이성 항체) 등을 포함하지만, 이에 한정되는 것은 아니다. IL-22R 단백질에 대한 면역 특이성. 본원에서 사용된 용어 "단일클론 항체"는 실질적으로 균질한 항체의 집단으로부터 수득된 항체를 지칭한다. 즉, 모집단을 구성하는 각각의 항체는 소량으로 존재할 수 있는 가능한 자연 발생 돌연변이를 제외하고는

동일하다. 상기 단일클론 항체는 매우 특이적이며 단일 항원 부위와 직접적으로 반응한다. 또한, 전형적으로 항원상의 상이한 결정기(에피토프)에 대해 직접적으로 반응하는 상이한 항체를 포함하는 통상적인 항체 (다중클론 항체) 제제와는 달리, 각각의 단일클론 항체는 항원상의 단일 결정기 또는 에피토프에 직접적으로 반응한다.

[0273] "항체 단편"은 전장 항체의 일부, 일반적으로 그의 항원 결합 도메인 또는 가변 도메인을 포함한다. 상기 항체 단편의 예로는 Fab, Fab', F(ab')₂, 이중 특이성 Fab's 및 항체 단편으로부터 형성되는 Fv 단편, 다이어바디(diabodies), 선형 항체, 단일 사슬 항체 분자, 단일 사슬 가변 단편(scFv) 및 다중특이성 항체 등이 포함된다(Holliger and Hudson, Nature Biotechnol. 23:1126-36 (2005), 이의 내용은 본원에 참고 문헌으로 포함된다).

[0274] 비 한정적 구현예에서, 상기 낙타-유래 VH 및 VL 도메인, 또는 그의 CDR을 포함하는 IL-22R 항체는 인간과 그의 아미노산 서열이 완전히 또는 실질적으로 동일한 CH1 도메인 및/또는 CL 도메인을 포함할 수 있다. 본 발명의 항원 결합 폴리펩타이드가 인간 치료용으로 의도된 항체인 경우, 상기 항체의 전체 불변 영역 또는 적어도 일부는 완전히 또는 실질적으로 인간과 동일한 아미노산 서열을 갖는다. 따라서, CH1 도메인, 힌지 영역, CH2 도메인, CH3 도메인 및 CL 도메인 (및 존재한다면 CH4 도메인) 중 하나 이상 또는 그들의 임의의 조합은 그 아미노산 서열이 완전히 또는 실질적으로 인간과 동일하다.

[0275] 유리하게는, 상기 CH1 도메인, 힌지 영역, CH2 도메인, CH3 도메인 및 CL 도메인 (및 존재한다면 CH4 도메인)은 모두 완전히 또는 실질적으로 인간과 동일한 아미노산 서열을 갖는다. 인간화 또는 키메라 항체 또는 항체 단편의 불변 영역과 관련하여, 용어 "실질적으로 인간"은 인간 불변 영역과 적어도 90%, 적어도 92%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99%의 아미노산 서열 동일성을 가지는 것을 지칭한다. 용어 "인간 아미노산 서열"은 생식 세포, 재배열된 및 체세포 돌연변이된 유전자를 포함하는 인간 면역글로불린 유전자에 의해 코딩되는 아미노산 서열을 지칭한다. 본 발명은 또한 "완전한 인간" 힌지 영역의 존재가 명시적으로 요구되는 구현예를 제외하고 인간 서열과 관련하여 하나 이상의 아미노산 첨가, 결실 또는 치환에 의해 변경된 "인간" 서열의 불변 도메인을 포함하는 폴리펩타이드를 고려한다.

[0276] 본 발명의 IL-22R 항체에서 "완전한 인간" 힌지 영역의 존재는 면역 원성을 최소화하고 항체의 안정성을 최적화하는 데 유익할 수 있다.

[0277] 본원의 다른 곳에서 논의된 바와 같이, 중쇄 및/또는 경쇄의 불변 영역, 특히 Fc 영역 내에서 하나 이상의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실이 이루어질 수 있다. 상기 아미노산 치환의 결과 치환된 아미노산은 상이한 천연 아미노산으로 또는 비-천연 또는 변형된 아미노산으로 대체될 수 있다. 당화 패턴의 변화 (예를 들어 N- 또는 O-연결된 당화 부위의 첨가 또는 결실에 의한) 와 같은 다른 구조적 변형 또한 허용된다. 항체의 의도된 용도에 따라, Fc 수용체에 대한 그의 결합 성질, 예를 들어 효과기 기능을 조절하기 위해 본 발명의 항체를 변형시키는 것이 바람직 할 수 있다. 예를 들어, 시스테인 잔기(들)가 Fc 영역에 도입되어, 이 영역에서 쇠간 이황화 결합이 형성될 수 있다. 따라서 생성된 호모다имер 항체는 개선된 내재화 능력 및/또는 증가된 보체-매개 세포 사멸 및 항체-의존성 세포독성 (ADCC)을 가질 수 있다 (Caron *et al.*, J. Exp. Med. 176:1191 -1195 (1992) 및 Shopes, B. J. Immunol. 148:2918-2922 (1992) 참조). 본 발명은 또한 화학 요법제, 독소 (예를 들어, 박테리아, 곰팡이, 식물 또는 동물 기원의 효소적으로 활성인 독소 또는 그의 단편) 또는 방사성 동위 원소 (예를 들어, 방사접합체)와 같은 세포 독성제에 결합된 본원에 기재된 항체를 포함하는 면역 접합체를 포함한다. Fc 영역은 또한 Chan 및 Carter (Nature Reviews: Immunology, Vol.10, pp 301-316, 2010) 에 의해 기재되어 있는 바와 같이, 반감기 연장을 위해 조작될 수 있다.

[0278] 또 다른 구현예에서, 상기 Fc 영역은 하나 이상의 아미노산을 변형시켜 항체 의존성 세포 독성 (ADCC)을 조절하고 및/또는 Fcγ 수용체에 대한 항체의 친화성을 증가시키는 항체의 능력을 향상시키도록 변형된다. 대안적 구현예에서, 상기 Fc 영역은 효과기 기능이 존재하지 않도록 조작될 수 있다. 상기 Fc 효과기 기능을 갖지 않는 AnIL-22R 항체는 수용체 차단제로서 특히 유용할 수 있다. 특정 구현예에서, 본 발명의 항체는 감소된 효과기 기능을 갖는 천연 IgG 아이소타입, 예를 들어 IgG4로부터 유래 된 Fc 영역을 가질 수 있다. IgG4로부터 유래된 Fc 영역은 예를 들어, 생체 내에서 IgG4 분자 사이의 팔의 교환을 최소화하는 변형의 도입에 의해 치료적 유용성을 증가시키도록 추가로 변형될 수 있다.

[0279] 또 다른 구현예에서, 항체의 당화가 변형된다. 예를 들어, 당화되지 않은 항체가 제조될 수 있다 (즉, 당화가 결여된 항체). 당화는 예를 들어, 표적 항원에 대한 항체의 친화성을 증가시키도록 변경 될 수 있다. 이러한 탄수화물의 개질은 예를 들어, 항체 서열 내 하나 이상의 당화 부위를 변경시킴으로써 달성될 수 있다. 예를 들어, 하나 이상의 가변 영역 프레임워크의 당화 부위를 제거함으로써 그 부위에서 당화를 제거하는 하나 이상의 아미노산 치환이 이루어질 수 있다. 이러한 당화의 제거는 항원에 대한 항체의 친화성을 증가시킬 수 있다.

- [0280] 또한 감소된 양의 퓨코실 잔기를 갖는 과퓨코실화된 항체 또는 완전히 또는 부분적으로 탈-퓨코실화된 항체와 같은 변형된 유형의 당화를 갖는 변이 IL-22R 항체 (Natsume *et al.*, Drug Design Development and Therapy, Vol.3, pp7-16, 2009) 또는 증가된 이등분 GlcNAc 구조를 갖는 항체가 예상된다. 이러한 변형된 당화 패턴은 "천연" 인간 Fc 도메인을 포함하는 등가 항체와 비교하여 항체의 ADCC 활성을 10 배 증가시키는 것으로 입증되었다. 이러한 탄수화물 변형은 예를 들어, 변형된 당화 효소 기작을 갖는 숙주 세포에서 항체를 발현함으로써 달성될 수 있다 (Yamane-Ohnuki 및 Satoh, mAbs 1:3, 230-236, 2009). 강화된 ADCC 기능을 갖는 비-퓨코실화 항체의 예는 BioWa 사의 Potelligent제 기술을 사용하여 제조된 것들이다
- [0281] 특정 구현예에서 본 발명은 낙타/인간 키메라 항체, 특히 VH 및 VL 도메인이 완전한 낙타 서열 (예를 들어, 라마 또는 알파카)이고 항체의 나머지 부분은 완전한 인간 서열인 키메라 항체를 포함할 수 있다. IL-22R 항체는 VH 및 VL 도메인이 IL-22R 항원 또는 이의 단편으로 낙타를 번역화하여 수득한 낙타 VH 및 VL 도메인과 비교하여 프레임워크 영역에서 하나 이상의 아미노산 치환을 함유하는 낙타-유래 VH 및 VL 도메인, 또는 그의 CDR 및 낙타/인간 키메라 항체의 "인간화" 또는 "생식세포화" 변이체를 포함하는 항체를 포함할 수 있다. 이러한 "인간화"는 시초의 낙타 VH 또는 VL 도메인의 미스-매칭된 아미노산 잔기를 인간 생식 세포-코딩 VH 또는 VL 도메인에서 발견되는 동등한 잔기로 대체함으로써 인간 생식세포 VH 또는 VL 도메인과의 % 서열 동일성을 증가시킨다.
- [0282] IL-22R 항체는 또한 낙타 항체로부터 유래된 또는 낙타 유전자에 의해 코딩되는 CDR (또는 초변이 루프)이 완전한 인간 유래인 항체의 나머지 부분과 함께 인간 VH 및 VL 프레임워크 상에 이식된 CDR-이식 항체 일 수 있다. 이러한 CDR-이식 IL-22R 항체는 하기의 서열 번호로 기재되는 아미노산 서열을 가지는 CDR을 포함할 수 있다: 서열번호 6 및 13 (중쇄 CDR3), 서열번호 4 및 11 (중쇄 CDR2), 서열번호 2 및 9 (중쇄 CDR1), 서열번호 20 및 27 (경쇄 CDR3), 서열번호 18, 25 및 47 (경쇄 CDR2) 또는 서열번호 16 및 23 (경쇄 CDR1).
- [0283] 전술한 바와 같이, 상기 인간화, 키메라 및 CDR-이식 IL-22R 항체, 특히 낙타의 번역화로부터 얻어진 초 가변 루프 또는 CDR을 포함하는 항체는 원핵 및 진핵 숙주 세포를 사용하는 통상적인 제조법 DNA 조작 및 발현 기술을 사용하여 용이하게 생산될 수 있다. 상기 원핵 및 진핵 숙주 세포는 목적하는 폴리펩티드를 생산하도록 조작된 것으로 세균 세포, 효모 세포, 포유류 세포, 곤충 세포, 식물 세포 등을 포함하지만 이에 한정되지는 않는다.
- [0284] 상기 낙타-유래 IL-22R 항체는 VH 도메인 및/또는 VL 도메인의 초 가변 루프 (들) 또는 CDR (들) 이 인간 IL-22R에 대해 생성된 통상적인 낙타 항체로부터 수득되는 변이체를 포함하나, 하나 이상의 상기 (낙타-유래) 초 가변 루프 또는 CDR은 낙타-코딩된 서열에 비해 하나 이상의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 포함하도록 조작되었다. 이러한 변화에는 초 가변 루프/CDR의 "인간화"가 포함된다. 이러한 방식으로 조작된 상기 낙타-유래 HVs/ CDRs은 여전히 낙타-코딩된 HV/CDR의 아미노산 서열과 "실질적 동일성"을 보이는 아미노산 서열을 나타낸다.
- [0285] 이 문맥에서, "실질적 동일성"은 낙타-코딩된 HV/CDR과 하나 이상의 또는 단지 2 개의 아미노산 서열이 미스-매치될 수 있도록 허용 할 수 있다. 특정 구현예에서, 상기 IL-22R 항체는 하기의 서열 번호로 기재되는 CDR 서열의 인간화 변이체를 함유 할 수 있다: 서열번호 6 및 13 (중쇄 CDR3), 서열번호 4 및 11 (중쇄 CDR2), 서열번호 2 및 9 (중쇄 CDR1), 서열번호 20 및 27 (경쇄 CDR3), 서열번호 18, 25 및 47 (경쇄 CDR2) 또는 서열번호 16 및 23 (경쇄 CDR1).
- [0286] 본원에서 제공되는 상기 낙타-유래 IL-22R 항체는 임의의 아이소타입 일 수 있다. 인간 치료용으로 의도된 항체는 전형적으로 IgA, IgD, IgE, IgG, IgM 유형, 빈번히는 IgG 유형이며, 이 경우 IgG1, IgG2a 및 b, IgG3 또는 IgG4의 4 가지 서브-클래스일 수 있다. 이들 각 서브-클래스 내에서, Fc 부분 내에 하나 이상의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 만들거나, 예를 들어 Fc-의존성 기능성을 강화 또는 감소시키기 위한 다른 구조적 변형을 할 수 있다.
- [0287] **바람직한 IL-22R 항체 - 230C9 및 223G5 그리고 이와 관련된 항체들**
- [0288] 본 발명에 따른 바람직한 IL-22R 항체 및 이의 항원 결합 단편은 본원에 기재된 낙타-유래 항체의 인간화 변이체 및 생식세포화 변이체이다. 상기 인간화 및 생식세포화 변이체는 높은 인간 상동성을 나타내고, 바람직하게는 인간 IgG 분자, 보다 바람직하게는 IgG1과 높은 상동성을 나타낸다. 특정 구현예에서, 본 발명에 따른 바람직한 IL-22R 항체 및 항원 결합 단편은 본원의 다른 곳에서 기술된 바와 같이 인간 또는 인간과 유사한 정준 접힘을 갖는 초 가변 루프 또는 CDR을 포함한다.
- [0289] 본 발명에 따른 바람직한 IL-22R 항체는 특히 프레임워크 영역 FR1, FR2, FR3 및 FR4의 전체 영역에 걸쳐 하나

이상의 인간 VH 도메인과 93% 이상의 아미노산 서열 동일성을 나타낸다. 선택적으로 또는 부가적으로, 상기 바람직한 IL-22R 항체는 특히 프레임워크 영역 FR1, FR2, FR3 및 FR4의 전체 영역에 걸쳐 하나 이상의 인간 VL 도메인과 96% 이상의 아미노산 서열 동일성을 나타낸다. 본 발명에 따른 바람직한 IL-22R 항체는 특히 서열 동일성이 프레임 워크 영역을 통해 결정되는 경우 하나 이상의 인간 VH 도메인과 93% 이상의 아미노산 서열 동일성을 나타내며, 하나 이상의 인간 VH 도메인 및 하나 이상의 인간 VL 도메인과 93% 이상의 복합된 아미노산 서열 동일성을 나타낸다.

- [0290] 높은 인간 상동성으로 인하여 본원에서 제공되는 바람직한 IL-22R 항체는 "HLA 클래스 II - 백인 v3.0" 세팅을 사용하여 Ionza'sEpibaseTM 플랫폼 (DRB-1 스코어)에 의해 평가된 바와 같이 낮은 면역 원성을 나타낸다. 특정 구현예에서, 본 발명의 IL-22R 항체는 950 미만, 바람직하게는 850 미만, 보다 바람직하게는 750 미만, 가장 바람직하게는 650 미만의 DRB-1 스코어를 나타낸다.
- [0291] 본 발명의 바람직한 IL-22R 항체는 인간 IgG, 바람직하게는 IgG1의 힌지 영역, CH2 도메인 및 CH3 도메인을 함유하는 단일클론 항체이다. 특정 구현예에서, 상기 단일클론 항체의 Fc 영역은 어떠한 효과기 기능도 갖지 않는다. 즉 널 (null) Fc이다. 이것은 치료용 차단 항체에 특히 유용하다.
- [0292] 본 발명의 바람직한 IL-22R 항체 및 항원 결합 단편은 선행 기술에 기재된 IL-22R 항체보다 우수한 특성의 조합을 나타낸다. 본 발명의 바람직한 IL-22R 항체 및 항원 결합 단편은 하기 특성들의 조합을 나타낼 수 있다:
- [0293] (i) Tyr60을 포함하지 않는 IL-22R 단백질 내의 에피토프에 결합;
- [0294] (ii) IL-22R 단백질의 D2 도메인에 적어도 부분적으로 위치하는 에피토프에 결합;
- [0295] (iii) 인간 IL-22R에 대해 높은 결합 친화성;
- [0296] (iv) IL-22R의 IL-22-의존성 활성화 및 IL-22R의 IL-20-의존성 활성화의 억제;
- [0297] (v) 류린 IL-22R과의 교차 반응이 없음; 및
- [0298] (vi) 레수스 및/또는 사이노몰거스 IL-22R과 교차 반응성.
- [0299] 본 발명의 바람직한 IL-22R 항체는 중요한 잔기인 Tyr60을 포함하지 않는 에피토프에 결합할 수 있다. 본 발명의 바람직한 IL-22R 항체는 서열번호 71의 아미노산 125 내지 아미노산 228 인 IL-22R의 D2 도메인에 적어도 부분적으로 위치하는 에피토프에 결합할 수 있다. 본 발명의 바람직한 IL-22R 항체는 또한 인간 IL-22R에 대해 단일클론 항체로 측정했을 때 $2.5 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ 미만의 오프-레이트 (k_{off} , 바이아코어에 의해 측정됨) 값을 나타내었다. 특정 구현예에서, 본 발명의 바람직한 IL-22R 항체는 인간 IL-22R에 대해 $1 \times 10^{-6} \text{ s}^{-1}$ 내지 $2.5 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ 의 오프-레이트 (k_{off} , 바이아코어에 의해 측정됨) 값을 보이는 높은 친화성으로 결합한다. 특정 구현예에서, 본 발명의 바람직한 IL-22R 항체는 $5 \times 10^{-10} \text{ M}$ 미만의 K_D 값을 나타내는 인간 IL-22R에 결합한다.
- [0300] 상기 바람직한 IL-22R 항체는 또한 IL-22R의 IL-22 및 IL-20 의존성 활성화를 모두 억제할 수 있으며, 전형적으로 IL-22-의존성 활성화에 대한 억제 활성보다 IL-20-의존성 활성화에 대한 억제 활성이 4 배 미만으로 더 강하다. 상기 바람직한 IL-22R 항체는 높은 친화력으로 인간 IL-22R에 결합할 수 있고 레수스 및 사이노몰거스 원숭이의 IL-22R 중 동족체와 교차 반응하지만 류린 IL-22R과는 교차 반응하지 않는다.
- [0301] 특정 구현예에서, 본 발명에 따른 바람직한 항체 및 항원 결합 단편은 하나 이상의 중쇄 가변 도메인 (VH) 및 하나 이상의 경쇄 가변 도메인 (VL)을 포함하며, 여기서 상기 VH 도메인은 하기 서열들로 구성된다:
- [0302] - 아미노산 서열을 [VFGSGTYTYES] 포함하거나 상기 아미노산 서열로 이루어진 가변 중쇄 CDR3, 서열번호 6,
- [0303] - 아미노산 서열을 [SIYNDASNTAYSDSVKG] 포함하거나 상기 아미노산 서열로 이루어진 가변 중쇄 CDR2, 서열번호 36,
- [0304] - 아미노산 서열을 [SYDMN] 포함하거나 상기 아미노산 서열로 이루어진 가변 중쇄 CDR1, 서열번호 34,
- [0305] 또한, 상기 VL 도메인은 하기 서열들로 구성된다:
- [0306] - 아미노산 서열을 [QSGSSSNAV] 포함하거나 상기 아미노산 서열로 이루어진 가변 경쇄 CDR3, 서열번호 54,
- [0307] - 아미노산 서열을 [GQNNRPS] 포함하거나 상기 아미노산 서열로 이루어진 가변 경쇄 CDR2, 서열번호 47,

- [0308] - 아미노산 서열을 [QGGYYAH] 포함하거나 상기 아미노산 서열로 이루어진 가변 경쇄 CDR1, 서열번호 16.
- [0309] 상기에서 정의된 VH 및 VL 도메인 CDR 서열을 갖는 항체 및 항원 결합 단편은 서열번호 63의 서열을 포함하거나 상기 서열로 구성된 VH 도메인 및/또는 서열번호 64의 서열을 포함하거나 상기 서열로 구성된 VL 도메인을 포함할 수 있다. 특정 구현예에서, 중쇄 가변 도메인 및 경쇄 가변 도메인을 포함하는 항체 또는 그의 항원 결합 단편이 제공된다. 상기 중쇄 가변 도메인은 서열번호 63으로 기재되는 아미노산 서열과 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 VH 서열을 포함하며, 및/또는 상기 경쇄 가변 도메인은 서열번호 64로 기재되는 아미노산 서열과 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 VL 서열을 포함한다.
- [0310] 상기 항체 또는 항원 결합 단편의 도메인이 기준 서열에 대한 특정 백분율의 서열 동일성에 의해 한정되는 구현예에 있어서, VH 및/또는 VL 도메인은 그 가변성이 프레임워크 영역에만 존재하는 기준 서열의 CDR 서열과 동일한 CDR 서열을 보유할 수 있다.
- [0311] 상기에서 정의된 VH 및 VL 도메인 CDR 서열을 갖는 항체 및 항원 결합 단편은 서열번호 67의 아미노산 서열을 포함하거나 상기 서열로 구성된 전장 면역글로불린 중쇄 및/또는 서열번호 68의 아미노산 서열을 포함하거나 상기 서열로 구성된 전장 면역글로불린 경쇄를 포함할 수 있다. 특정 구현예에서, 중쇄 및/또는 경쇄를 포함하는 항체가 제공되는데, 상기 중쇄는 서열번호 67로 기재되는 아미노산 서열과 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 가지며, 및/또는 상기 경쇄는 서열번호 68로 기재되는 아미노산 서열과 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 가진다.
- [0312] 상기 항체의 사슬이 기준 서열에 대한 특정 백분율의 서열 동일성에 의해 한정되는 구현예에 있어서, 상기 중쇄 및/또는 경쇄는 그 가변성이 CDR 영역 바깥쪽에 존재하는 기준 서열의 CDR 서열과 동일한 CDR 서열을 보유할 수 있다.
- [0313] 특정 구현예에서, 본 발명에 따른 바람직한 항체 및 항원 결합 단편은 하나 이상의 중쇄 가변 도메인 (VH) 및 하나 이상의 경쇄 가변 도메인 (VL)을 포함하며, 여기서 상기 VH 도메인은 하기 서열들로 구성된다:
- [0314] - 아미노산 서열을 [PPGPFKAHYNGAKY] 포함하거나 상기 아미노산 서열로 이루어진 가변 중쇄 CDR3, 서열번호 43,
- [0315] - 아미노산 서열을 [GIHISGGITYYTDSVKG] 포함하거나 상기 아미노산 서열로 이루어진 가변 중쇄 CDR2, 서열번호 41,
- [0316] - 아미노산 서열을 [SYFMS] 포함하거나 상기 아미노산 서열로 이루어진 가변 중쇄 CDR1, 서열번호 9,
- [0317] 또한, 상기 VL 도메인은 하기 서열들로 구성된다:
- [0318] - 아미노산 서열을 [ASYRLYADYV] 포함하거나 상기 아미노산 서열로 이루어진 가변 경쇄 CDR3, 서열번호 27,
- [0319] - 아미노산 서열을 [EVNKRSS] 포함하거나 상기 아미노산 서열로 이루어진 가변 경쇄 CDR2, 서열번호 59,
- [0320] - 아미노산 서열을 [TGTSSDIGSYNYVS] 포함하거나 상기 아미노산 서열로 이루어진 가변 경쇄 CDR1, 서열번호 57.
- [0321] 상기에서 정의된 VH 및 VL 도메인 CDR 서열을 갖는 항체 및 항원 결합 단편은 서열번호 65의 서열을 포함하거나 상기 서열로 구성된 VH 도메인 및/또는 서열번호 66의 서열을 포함하거나 상기 서열로 구성된 VL 도메인을 포함할 수 있다. 특정 구현예에서, 중쇄 가변 도메인 및 경쇄 가변 도메인을 포함하는 항체 또는 그의 항원 결합 단편이 제공된다. 상기 중쇄 가변 도메인은 서열번호 65로 기재되는 아미노산 서열과 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 VH 서열을 포함하며, 및/또는 상기 경쇄 가변 도메인은 서열번호 66으로 기재되는 아미노산 서열과 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 VL 서열을 포함한다.
- [0322] 상기 항체 또는 항원 결합 단편의 도메인이 기준 서열에 대한 특정 백분율의 서열 동일성에 의해 한정되는 구현예에 있어서, VH 및/또는 VL 도메인은 그 가변성이 프레임워크 영역에만 존재하는 기준 서열의 CDR 서열과 동일한 CDR 서열을 보유할 수 있다.
- [0323] 상기에서 정의된 VH 및 VL 도메인 CDR 서열을 갖는 항체 및 항원 결합 단편은 서열번호 69의 아미노산 서열을 포함하거나 상기 서열로 구성된 전장 면역글로불린 중쇄 및/또는 서열번호 70의 아미노산 서열을 포함하거나 상기 서열로 구성된 전장 면역글로불린 경쇄를 포함할 수 있다. 특정 구현예에서, 중쇄 및/또는 경쇄를 포함하는 항체가 제공되는데, 상기 중쇄는 서열번호 69로 기재되는 아미노산 서열과 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도

95%, 적어도 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 가지며, 및/또는 상기 경쇄는 서열번호 70으로 기재되는 아미노산 서열과 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 가진다.

[0324] 상기 항체의 사슬이 기준 서열에 대한 특정 백분율의 서열 동일성에 의해 한정되는 구현예에 있어서, 상기 중쇄 및/또는 경쇄는 그 가변성이 CDR 영역 바깥쪽에 존재하는 기준 서열의 CDR 서열과 동일한 CDR 서열을 보유할 수 있다.

[0325] **교차-경쟁 항체**

[0326] 본 발명은 또한 본원에 개시된 항체 또는 항원 결합 단편과 "교차-경쟁"하는 (단일클론) 항체 또는 그의 항원 결합 단편을 포함한다.

[0327] 특히, 본원에서 제공되는 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 사이토카인 수용체 IL-22R에 결합하고 가변 중쇄 CDR3 (HCDR3), 가변 중쇄 CDR2 (HCDR2), 가변 중쇄 CDR1 (HCDR1), 가변 경쇄 CDR3 (LCDR3), 가변 경쇄 CDR2 (LCDR2) 및 가변 경쇄 CDR1 (LCDR1)의 조합을 포함하는 항체 또는 그의 항원 결합 단편과 교차 경쟁한다. 상기 조합은 하기 서열들로 구성된 군으로부터 선택된다:

[0328] (i) 서열번호 43을 포함하는 HCDR3; 서열번호 41을 포함하는 HCDR2; 서열번호 9를 포함하는 HCDR1; 서열번호 27을 포함하는 LCDR3; 서열번호 59를 포함하는 LCDR2; 서열번호 57을 포함하는 LCDR1; 및

[0329] (ii) 서열번호 13을 포함하는 HCDR3; 서열번호 11을 포함하는 HCDR2; 서열번호 9를 포함하는 HCDR1; 서열번호 27을 포함하는 LCDR3; 서열번호 25를 포함하는 LCDR2; 서열번호 23을 포함하는 LCDR1.

[0330] 특정 구현예에서, 본원에서 제공되는 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 사이토카인 수용체 IL-22R에 결합하고 하나 이상의 중쇄 가변 도메인 (VH) 및 하나 이상의 경쇄 가변 도메인 (VL)을 포함하는 항체 또는 그의 항원 결합 단편과 교차 경쟁한다. 여기서 상기 VH 도메인은 하기 서열들로 구성된다:

[0331] - 아미노산 서열을 [PPGPFKAHYNGAKY] 포함하거나 상기 아미노산 서열로 이루어진 가변 중쇄 CDR3, 서열번호 43,

[0332] - 아미노산 서열을 [GIHISGGITYYTDSVKG] 포함하거나 상기 아미노산 서열로 이루어진 가변 중쇄 CDR2, 서열번호 41,

[0333] - 아미노산 서열을 [SYFMS] 포함하거나 상기 아미노산 서열로 이루어진 가변 중쇄 CDR1, 서열번호 9,

[0334] 또한, 상기 VL 도메인은 하기 서열들로 구성된다:

[0335] - 아미노산 서열을 [ASYRLYADYV] 포함하거나 상기 아미노산 서열로 이루어진 가변 경쇄 CDR3, 서열번호 27,

[0336] - 아미노산 서열을 [EVNKRSS] 포함하거나 상기 아미노산 서열로 이루어진 가변 경쇄 CDR2, 서열번호 59,

[0337] - 아미노산 서열을 [TGTSDDIGSYNYVS] 포함하거나 상기 아미노산 서열로 이루어진 가변 경쇄 CDR1, 서열번호 57.

[0338] 상기 교차-반응 항체 및 그의 항원 결합 단편은 서열번호 65의 서열을 포함하거나 상기 서열로 구성된 VH 도메인 및/또는 서열번호 66의 서열을 포함하거나 상기 서열로 구성된 VL 도메인을 포함하는 항체 및 그의 항원 결합 단편과 경쟁한다. 상기 교차-반응 항체 및 그의 항원 결합 단편은 또한 서열번호 69의 아미노산 서열을 포함하거나 상기 서열로 구성된 전장 면역글로불린 중쇄 및/또는 서열번호 70의 아미노산서열을 포함하거나 상기 서열로 구성된 전장 면역글로불린 경쇄를 포함하는 항체와 경쟁한다.

[0339] 본 발명의 교차-경쟁 항체는 상기 IL-22R 항체가 결합하는 부위(들)와 중첩되거나 동일한 부위(들)에서 IL-22R에 결합한다. 경쟁 (단일클론) 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 예를 들어, 항체 경쟁 분석을 통해 동정될 수 있다. 예를 들어, IL-22R 항원 또는 이의 단편은 고체 지지체에 결합될 수 있다. 이어서, 본 발명의 항체 또는 이의 항원 결합 단편 및 본 발명의 항체와 경쟁 할 수 있는 것으로 추정되는 단일클론 항체 또는 그의 항원 결합 단편이 첨가된다. 두 분자 중 하나에 표지한다. 표지된 화합물 및 표지되지 않은 화합물이 IL-22R 항원의 별개의 상이한 부위에 결합하는 경우, 상기 표지된 화합물은 의심되는 경쟁 화합물이 존재하는지 여부와 관계없이 동일한 수준으로 결합할 것이다. 그러나, 상호 작용 부위가 동일하다면 (또는 겹쳐지면) 상기 표지되지 않은 화합물과 경쟁할 것이고, 항원에 결합된 표지 된 화합물의 양은 낮아질 것이다. 상기 표지되지 않은 화합물이 과도하게 존재한다면, 상기 표지된 화합물은 거의 결합하지 못할 것이다. 상기 경쟁 단일클론 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 본 발명의 항체의 IL-22R에 대한 결합을 약 50%, 약 60%, 약 70%, 약 8 %, 약 85% , 약 90%, 약 9 %, 또는 약 99%정도 감소시킨다. 이러한 경쟁 분석을 수행하기 위한 절차의 세부 사항은 당 업계에 잘 알려져 있으며, 예를 들어 문헌 (Harlow and Lane (1988) Antibodies, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor

Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, pages 567-569, ISBN 0-87969-314-2) 에서 찾을 수 있다. 이러한 분석은 정제된 항체를 사용하여 정량화 할 수 있다. 하나의 항체를 그 자체에 대해 적정함으로써 표준 곡선이 확립된다. 즉, 동일한 항체가 표지와 경쟁자 모두에 사용된다. 표지되지 않은 경쟁 단일클론 항체 또는 그 항원 결합 단편이 표지된 분자의 플레이트에 대한 결합을 저해하는 능력을 적정한다. 결과를 플롯하고 원하는 결합도를 달성하는데 필요한 농도를 비교한다.

[0340] **IL-22R 항체를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드**

[0341] 본 발명은 또한 본 발명의 IL-22R 항체 또는 그의 단편을 코딩하는 폴리뉴클레오타이드 분자, 숙주 세포 또는 무 세포 발현 시스템에서 상기 항체 또는 그의 단편을 발현하도록 하는 조절 서열에 작동 가능하게 연결된 본 발명의 뉴클레오타이드 서열을 함유하는 발현 벡터, 및 상기 발현 벡터를 포함하는 숙주 세포 또는 무 세포 발현 시스템을 제공한다.

[0342] 특정 구현예에서, 본 발명의 IL-22R 항체를 코딩하는 폴리뉴클레오타이드는 서열 번호 52, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80 또는 81로 기재되는 서열 중 하나 이상의 폴리뉴클레오타이드 서열을 포함하며, 이 서열은 IL-22R 항체의 VH 또는 VL 도메인을 암호화한다.

[0343] 특정 구현예에서, 본 발명의 IL-22R 항체를 코딩하는 폴리뉴클레오타이드는 IL-22R 항체의 기능적 VH 또는 VL 도메인을 코딩하는 변이체 서열을 포함할 수 있으며, 상기 변이체 서열은 서열 번호 52, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80 또는 81로 기재되는 서열 중 어느 하나와 최적으로 정렬될 때 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 9 % 또는 99%의 서열 동일성을 보인다.

[0344] 이와 관련하여, 두 폴리뉴클레오타이드 서열간의 % 서열 동일성은 최적의 방식으로 정렬된 이들 두 서열을 비교함으로써 결정될 수 있으며, 비교될 폴리뉴클레오타이드 서열은 이들 사이의 최적 정렬을 위해서 기준 서열에 대한 첨가 또는 결실을 포함할 수 있다. 두 서열간의 동일성의 백분율은 두 서열에서 뉴클레오타이드 잔기가 동일한 상동 위치의 수를 결정하고, 이 상동 위치의 수를 비교창의 위치의 총 수로 나누고, 여기에 100을 곱하여 계산한다. 예를 들어, 웹사이트 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gorf/bl2.html> 에서 사용할 수 있는 BLAST 프로그램인 "BLAST 2 서열" (Tatusova et al, "Blast 2 sequences - a new tool for comparing protein and nucleotide sequences", FEMS Microbiol Lett. 174:247-250) 을 이용하여 계산할 수 있다. 매개 변수는 기본적으로 주어진 값(특히 "오픈 갭 페널티" 의 매개 변수: 5, 및 "익스텐션 갭 페널티" 의 매개 변수: 2; 매트릭스는 프로그램에서 제안된 "블로섬62")을 사용하며, 비교할 두 서열간의 동일성 백분율은 프로그램에서 직접 계산된다.

[0345] 특정 구현예에서, 본 발명에 따른 IL-22R 항체 또는 그의 항원 결합 단편의 중쇄 가변 도메인 및 경쇄 가변 도메인은 제 1 및 제 2 폴리뉴클레오타이드 서열의 조합에 의해 코딩되며, 상기 제 1 및 제 2 폴리뉴클레오타이드 하기의 쌍 중에서 선택된다:

[0346] (i) 서열번호 52의 서열을 포함하는 가변 중쇄 도메인을 코딩하는 제 1 폴리뉴클레오타이드 및 서열번호 73의 서열을 포함하는 가변 경쇄 도메인을 코딩하는 제 2 폴리뉴클레오타이드;

[0347] (ii) 서열번호 74의 서열을 포함하는 가변 중쇄 도메인을 코딩하는 제 1 폴리뉴클레오타이드 및 서열번호 75의 서열을 포함하는 가변 경쇄 도메인을 코딩하는 제 2 폴리뉴클레오타이드;

[0348] (iii) 서열번호 76의 서열을 포함하는 가변 중쇄 도메인을 코딩하는 제 1 폴리뉴클레오타이드 및 서열번호 77의 서열을 포함하는 가변 경쇄 도메인을 코딩하는 제 2 폴리뉴클레오타이드;

[0349] (iv) 서열번호 78의 서열을 포함하는 가변 중쇄 도메인을 코딩하는 제 1 폴리뉴클레오타이드 및 서열번호 79의 서열을 포함하는 가변 경쇄 도메인을 코딩하는 제 2 폴리뉴클레오타이드; 또는

[0350] (v) 서열번호 80의 서열을 포함하는 가변 중쇄 도메인을 코딩하는 제 1 폴리뉴클레오타이드 및 서열번호 81의 서열을 포함하는 가변 경쇄 도메인을 코딩하는 제 2 폴리뉴클레오타이드.

[0351] 본 발명의 항체를 코딩하는 폴리뉴클레오타이드 분자는 예를 들어, 재조합 DNA 분자를 포함한다. 용어 "핵산", "폴리뉴클레오타이드" 또는 "폴리뉴클레오타이드 분자"는 본 명세서에서 상호 교환적으로 사용되는 것으로, 단일 또는 이중 가닥 및 단일 가닥인 경우, 그의 상보적 서열의 분자 중 임의의 DNA 또는 RNA 분자를 지칭한다. 핵산 분자를 논의할 때, 특정 핵산 분자의 서열 또는 구조는 5'에서 3'방향으로 서열을 제공하는 통상적인 관습에 따라 본원에 기술될 수 있다. 본 발명의 일부 구현예에서, 핵산 또는 폴리뉴클레오타이드는 "단리된다". 상기 용어는 핵산 분자에 적용될 때 그것이 기원된 유기체의 자연 발생적인 계통에서 연속적으로 존재하는 서열

로부터 분리된 핵산 분자를 의미한다. 예를 들어, "단리된 핵산"은 플라스미드 또는 바이러스 벡터와 같은 벡터에 삽입되거나 원핵 또는 진핵 세포 또는 비인간 숙주 유기체의 게놈 DNA에 통합되는 DNA 분자를 포함할 수 있다. RNA에 적용될 때, 용어 "단리된 폴리뉴클레오타이드"는 주로 상기 정의된 바와 같이 단리된 DNA 분자에 의해 코딩되는 RNA 분자를 의미한다. 한편, 상기 용어는 자연 상태에서 (세포 또는 조직에서) 결합될 다른 핵산으로부터 정제/분리된 RNA 분자를 지칭할 수 있다. 단리된 폴리뉴클레오타이드 (DNA 또는 RNA)는 생물학적으로 또는 합성 수단에 의해 직접 생산된 분자 및 그의 생산 동안 존재하는 다른 성분으로부터 분리된 분자를 추가로 나타낼 수 있다.

[0352]

[0353] 본 발명에 따른 항체의 제조합적 생산을 위해, 이를 코딩하는 제조합 폴리뉴클레오타이드를 (표준 분자 생물학 기술을 사용하여) 제조하고, 선택된 숙주 세포 또는 무세포 발현 시스템에서의 발현을 위해 이를 복제 가능한 벡터에 삽입할 수 있다. 적합한 숙주 세포는 원핵 생물, 효모 또는 고등 진핵 세포, 특히 포유류 세포일 수 있다. 유용한 포유 동물 숙주 세포주의 예는 다음과 같다: SV40에 의해 형질 전환된 원숭이 신장 CV1 세포주 (COS-7, ATCC CRL 1651); 인간 배아 신장 세포주 (293 세포 또는 현탁 배양에서 성장을 위해 서브클로닝된 293 세포, Graham et al., J. Gen. Virol. 36:59 (1977)); 아기 햄스터 신장 세포 (BHK, ATCC CCL 10); 중국 햄스터 난소 세포/-DHFR (CHO, Urlaub et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4216 (1980)); 마우스 흉골 세포 (TM4, Mather, Biol. Reprod. 23:243-251 (1980)); 마우스 골수종 세포 SP2/0-AG14 (ATCC CRL 1581; ATCC CRL 8287) 또는 NS0 (HPA culture collections no. 85110503); 마우스 신장 세포 (CV1 ATCC CCL 70); 아프리카 녹색 원숭이 신장 세포 (VERO-76, ATCC CRL-1587); 인간 자궁 경부암 세포 (HELA, ATCC CCL 2); 개 신장 세포 (MDCK, ATCC CCL 34); 버팔로 래트 간세포 (BRL 3A, ATCC CRL 1442); 인간 폐세포 (W138, ATCC CCL 75); 인간 간세포 (Hep G2, HB 8065); 마우스 유선 종양 세포 (MMT 060562, ATCC CCL51); TRI 세포 (Mather et al., Annals N.Y. Acad. Sci. 383:44-68 (1982)); MRC 5 세포; FS4 세포; 인간 간암 세포주 (Hep G2); 및 DSM's PERC-6 세포주. 이들 각각의 숙주 세포에서의 사용에 적합한 발현 벡터 또한 당 업계에 일반적으로 공지되어 있다.

[0354] 용어 "숙주 세포"는 일반적으로 배양된 세포주를 지칭한다. 본 발명에 따른 항원 결합 폴리펩티드를 코딩하는 발현 벡터가 도입된 전체 인간은 "숙주 세포"의 정의로부터 명시적으로 제외된다.

[0355] **항체 생산**

[0356] 본 발명은 또한 다음과 같은 단계로 이루어진 항체의 생산 방법을 제공한다: 항체의 발현을 허용하는 조건하에 항체를 코딩하는 폴리뉴클레오타이드 (예를 들어, 발현 벡터)를 함유하는 숙주 세포 (또는 무세포 발현 시스템)를 배양하는 단계; 및 발현된 항체를 회수하는 단계. 이 제조합 발현 과정은 인간 치료용 단일클론 항체를 포함하는 본 발명에 따른 IL-22R 항체를 비롯한 항체의 대량 생산에 사용될 수 있다. 생체 내 치료 용도에 적합한 제조합 항체의 대규모 제조를 위한 적합한 벡터, 세포주 및 생산 방법은 당 업계에서 일반적으로 이용되는 것이며 당 업자에게 잘 알려져 있다.

[0357] **IL-22R 항체의 치료 효용**

[0358] 본원에서 제공되는 IL-22R 항체는 특히 세포 표면 IL-22R 복합체를 통한 조절 장애 신호에 기인한 질병의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 약제로서 이용될 수 있다. 이러한 조절 장애 신호는 사이토카인 IL-22, IL-20 및/또는 IL-24 중 어느 하나의 과발현 또는 과잉 생산과 관련되어 있다.

[0359] 용어 "치료하는" 또는 "치료"는 증상, 장애, 상태 또는 질병의 중증도를 낮추거나, 중단 시키거나, 정지 시키거나, 제어하거나, 중지시키는 것을 의미하지만 반드시 모든 질병 관련 증상, 상태 또는 장애를 완전히 제거하지는 않는다. "예방 (prophylaxis)"이라는 용어는 장애, 상태 또는 질병의 발병을 예방하거나 장애, 상태 또는 질병과 관련된 증상의 발병을 예방하는 것을 의미한다.

[0360] IL-22R을 통해 신호하는 리간드는 여러 질병에 연관되어 있으나 IL-22R이 피부 및 상피 세포에서 선택적으로 발현되기 때문에 주요 질환은 건선, 건선성 관절염 및 아토피성 피부염을 포함하는 피부 및 상피 세포에 영향을 미치는 질환이지만, 이에 한정되지는 않는다. 인간 건선 플라크 (Boniface et al., ClinExpImmunol. 150: 407-415 (2007)) 에서 높은 수준의 IL-22가 관찰되었으며 건선 발병 과정에서 상기 사이토카인의 관련성은 피부 염증 마우스 모델에서 실험적으로 입증되었다 (Ma et al., J Clin Invest. 118: 597-607 (2008); Van Belle et al. J Immunol. Jan 1;188(1):462-9 (2012)).

[0361] 특정 구현예에서, 피부 염증성 질환을 치료하는 방법이 제공된다. 특정 구현예에서, 인간 개체에서 건선, 건선

성 관절염, 접촉성 피부염 또는 아토피성 피부염으로부터 선택된 피부 염증성 질환을 치료하는 방법이 제공된다. 상기 방법은 치료적 유효량의 IL-22R 항체 또는 항원 결합 단편을 치료가 필요한 환자에게 투여하는 것을 포함한다. 본원에 기재된 항원 결합 단편의 IL-22R 항체의 모든 구현에는 본 발명의 치료 방법에 동등하게 적용 가능하다.

[0362] 특정 구현예에서, Sjorgen 증후군, 또는 간암, 지방 육종, 구강 편평 상피 세포 암, 대장 암 및 결장 직장암, 췌장암, 소형 및 대형 세포 폐암, 유방암, 아교 모세포종, 피부 T 미분화 세포 림프종, 미분화 세포 림프종, 맨틀 세포 림프종을 치료하고자하는 환자에게 본원의 다른 곳에서 정의 된 바와 같은 치료 적 유효량의 IL-22R 항체 또는 항원 결합 단편을 투여하는 것을 포함하는 방법.

[0363] 특정 구현예에서, 본원의 다른 곳에서 정의된 바와 같은 치료적 유효량의 IL-22R 항체 또는 항원 결합 단편을 치료가 필요한 환자에게 투여하는 것을 포함하는, 쇼르겐 증후군 (Sjorgen syndrome) 또는 암을 치료하는 방법이 제공된다. 여기서 상기 암은 간암, 지방 육종, 구강 편평 세포 암종, 대장암 및 결장 직장암, 췌장암, 소형 및 대형 세포 폐암, 유방암, 아교 모세포종, 피부 T 세포 림프종, 미분화 대 세포 림프종, 및 맨틀 세포 림프종으로 구성된 군으로부터 선택될 수 있다. 본원에 기재된 항원 결합 단편의 IL-22R 항체의 모든 구현에는 본 발명의 치료 방법에 동등하게 적용 가능하다.

[0364] 인간 치료 용도를 위해, 본원에 기술된 IL-22R 항체는 치료가 필요한 인간 대상에게 "유효량"으로 투여될 수 있다. 용어 "유효량"은 인간 환자에게 단일 또는 다중 투여시 질환의 치료에서 치료 효능을 제공하는 IL-22R 항체의 양 또는 투여량을 지칭한다. 치료 유효량의 IL-22R 항체는 단일 투여의 경우 약 0.1 mg/kg 내지 약 20 mg/kg 범위의 양을 포함할 수 있다. 임의의 주어진 시점에서 투여되는 항체의 양은 치료 과정 중에 단독으로 또는 임의의 다른 치료제와 함께 사용되든지 간에 IL-22R 항체의 최적 양이 투여될 수 있도록 다양할 수 있다.

[0365] 또한, 본원에 기재된 IL-22R 항체 또는 상기 항체를 포함하는 약학적 조성물을 조합 치료로서 상기 확인된 질병에 대한 임의의 다른 적합한 치료와 조합하여 사용하는 것이 고려된다.

[0366] **약학적 조성물**

[0367] 본 발명의 범주는 하나 이상의 약학적으로 허용 가능한 담체 또는 부형제와 함께 제제화된, 본 발명의 IL-22R 항체 또는 그의 항원 결합 단편의 하나 또는 조합물을 함유하는 약학적 조성물을 포함한다. 이러한 조성물은 IL-22R 항체의 하나 또는 조합 (예를 들어, 2 종 이상의 상이한) 을 포함할 수 있다. 인간 치료 용도를 위한 단일클론 항체를 제형화하기 위한 기술은 당해 기술 분야에 잘 공지되어 있으며, 예를 들어 문헌 (Wang *et al.*, Journal of Pharmaceutical Sciences, Vol.96, pp1-26, 2007) 에 기재되어 있으며, 그 내용은 전체가 본원에 포함된다.

[0368] 특정 구현예에서, 상기 약학적 조성물은 근육 주사, 정맥 주사, 피내 주사, 복강내 주사, 피하 주사, 경막외 투여, 비강 투여, 경구 투여, 직장 투여, 국소 투여, 흡입, 구강 투여 (예를 들어, 설하 투여) 및 경피 투여를 포함하지만 이에 제한되지 않는 임의의 적합한 투여 경로를 통해 환자에게 투여하기 위해 제형화 된다. 바람직한 구현예에서, 상기 조성물은 피하 투여용으로 제형화 된다.

[0369] **참조 문헌의 포함**

[0370] 전술한 설명 및 하기 실시예에 걸쳐 다양한 출판물이 인용되며, 이들 각각은 그 전체가 본원에 참조 문헌으로 포함된다.

[0371] 이하, 본 발명의 실시예 및 실험예를 통해 더욱 상세히 설명한다.

[0372] 단, 하기 실시예 및 실험예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐 본 발명의 내용이 하기 실시예 및 실험예에 의해 한정되는 것은 아니다.

[0373] **실시예 1: 라마의 면역화**

[0374] 두 마리의 라마 (llamas)를 재조합 인간 IL22R 단백질 (R&D systems) 과 인간 Fn14-Fc의 혼합물을 사용하여 하기 표 5에 나타난 면역화 일정에 따라 면역시켰다. 6 주간 재조합 단백질을 주사한 후 혈액을 채취하여 면역화된 라마의 혈청을 사용하여 면역화 전과 면역화 후에 면역화된 항원에 대한 항체의 존재를 검출함으로써 IL22R에 대한 체액성 면역 반응을 측정하였다. 두 라마 모두 IL22R에 대해 유의적이고 특이적인 면역 반응을 나타내었다.

표 5

[0375]	주	날짜	일	항원	조직 수거
					10 ml 면역전 혈액 (혈청)
	39	29/09/10	0	IL-22R(80 µg)+Fn14-Fc (80 µg)	-
	40	07/10/10	8	IL-22R(40 µg)+Fn14-Fc (40 µg)	-
	41	14/10/10	15	IL-22R(40 µg)+Fn14-Fc (40 µg)	-
	42	21/10/10	22	IL-22R(40 µg)+Fn14-Fc (40 µg)	-
	43	28/10/10	29	IL-22R(40 µg)+Fn14-Fc (40 µg)	-
	44	04/11/10	36	IL-22R(40 µg)+Fn14-Fc (40 µg)	-
	45	08/11/10	40		400 ml 면역후 혈액 10 ml 면역후 혈액 (혈장)

[0376] (각 라마의 면역화 일정)

[0377] 실시예 2: 라이브러리 제조 및 선택

[0378] 면역화 후, PBMC를 수확하고 RNA를 추출하였다. 랜덤 프라임드 cDNA 합성을 수행하고 라마의 VH VH1, V λ C λ 및 V κ C κ 유전자 단편들을 PCR 증폭시켰다. 두 가지 접근법을 사용하여 경쇄를 PCR 증폭시켰다. 첫 번째 접근법은 제한효소 부위 링커가 없는 프라이머로 1 차 PCR 증폭을 하고 이어서 제한효소 부위 (ApaLI 및 AscI) 로 표지된 프라이머를 사용하여 PCR 증폭을 수행하였다. 두 번째 접근법의 경우, 표지된 프라이머를 사용하여 cDNA를 직접 증폭시켰다. VHCH1 라이브러리는 2 단계 PCR을 사용하여 제작되었으며, 비-표지 프라이머로 25 사이클을 수행한 후 이들 프라이머의 표지된 버전(SfiI 및 NotI 제한효소 부위를 포함)을 사용하여 10 사이클을 수행하였다 (W02010/001251 참조).

[0379] PCR 증폭된 경쇄를 ApaLI 및 AscI로 절단하고, PCR 증폭된 중쇄는 SfiI 및 NotI로 절단하고, ApaLI 및 AscI 제한효소 부위를 사용하여 경쇄 라이브러리 삽입물을 중쇄 라이브러리 pCB3 벡터에 클로닝 함으로써 Fab 라이브러리로 결합시켰다. 최종 Fab 라이브러리는 필수 다양성이 10⁹ 이상으로 밝혀졌다.

[0380] 라이브러리 제작 후, 파지를 생산하고 인간 IL22R (Biotechne, 2770-LR)에서 파지 디스플레이 선택을 수행하였다. IL22R-특이적 클론의 선택을 위해, 인간 IL22R은 (i) MaxiSorp[®] 플레이트 (Nunc)에 직접 코팅 하거나; (ii) 비-경쟁적 항-인간 IL22R 항체 (MAB2770, R&D systems) 로 포획하거나; 또는 (iii) 비오틴화 후에 뉴트라비딘으로 포획한다. IL22R의 코팅 및 포획은 보통 2 가지 상이한 농도로 수행되었다; 예를 들어 상기 농도는 5 µg/ml 및 0.1 µg/ml 이다.

[0381] 1 차 선택 후 맑은 농축물은 보이지 않았지만 2 차 및 3 차 선택 후에 모든 라이브러리에서 농축물이 농도-의존적으로 관찰되었다; 두 번째 선택 후에는 최대 100 배 및 세 번째 선택 후에는 최대 10,000 배. 항체 포획된 IL22R에 대한 농축물은 직접 코팅된 IL22R에 대한 농축물보다 높았다. 이는 IL22R이 단지 25 kDa이고 직접적인 코팅이 그것의 형태에 영향을 주거나 이용 가능한 에피토프를 제한한다는 사실 때문일 수 있다. 따라서 3차 선택은 비오틴화된 hIL22R을 사용하여 수행되었다.

[0382] 상기 선택에 추가하여, MAB2770-포획 인간 IL-22R에 대한 1차 선택 후, 비오틴화된 재조합 마우스 IL22R에 대해 2 회의 추가 선택을 수행하였다. 이 선택은 마우스 IL22R과 Fab의 교차 반응을 확인하기 위하여 수행되었다. 선택에 대한 양성 대조군으로, 뉴트라비딘으로 포획된 인간 IL-22R-비오틴의 선택이 병행하여 수행되었다. 전반적으로 선별 과정은 IL22R Fab 결합제에 대해 유의한 농축이 관찰되어 매우 성공적이었다.

[0383] 실시예 3: IL22R에 특이적인 Fabs의 스트리닝

[0384] 성공적인 파지 디스플레이 선택 후, 페리플라즈메 존재하는 Fab의 IL-22와 IL22R의 결합을 차단하는 능력을 조사하였다. 또한, 마우스 IL22R1에 대한 클론 결합을 확인하기 위한 스크리닝을 수행하였다. 표면 플라즈몬 공명 (SPR) 을 기반으로 한 새로운 접근법이 개발되어 리간드 경쟁, 인간에 대한 친화성 및 마우스 교차 반응성을 한 화면에서 테스트할 수 있다.

[0385] 바이아코어 칩 (CM5) 의 다른 채널들은 하기로 코팅된다:

[0386]

1. 코팅되지 않음 (블랭크);

[0387]

2. IL-22 (3000 RU), Fab의 경쟁 능력을 테스트하기 위해 (IL22R이 같이 주입되었을 때);

[0388]

3. 인간 IL22R (3000 RU), 목표에 결합하는지를 테스트하기 위해; 및

[0389]

4. 마우스 IL22R (2500 RU), 교차-반응성을 테스트하기 위해 .

[0390]

리간드 경쟁을 테스트하기 위해, 주사 전에 저농도의 수용성 IL22R1 (0.2 μ g/ml) 을 페리플라즈마 추출물과 미리 혼합하였다. 이러한 방식으로 채널 2에서 리간드-수용체 상호 작용을 차단하는 Fab의 능력을 측정하는 것도 가능하였다. 수득된 페리플라즈마 추출물을 인간 IL22R (채널 3) 및 마우스 IL22R (채널 4)에 대해 스크리닝 하였다.

[0391]

상기 방법의 장점은 기존 ELISA (결합 또는 경쟁)와 비교하여 Fab의 여러 특성을 동시에 테스트할 수 있다는 것이다: 1) 표적 인간 IL-22R에 대한 결합력; 2) 경쟁력; 및 3) 교차-반응성. 또한, 오프-레이트의 측정은 테스트된 Fab의 친화성을 강력하게 나타낸다.

[0392]

이 대안적 스크리닝 방법을 사용하여 모든 가능한 특성을 가진 Fab를 확인하고 그 오프-레이트에 기초하여 분류 하였다:

[0393]

- 경쟁적 또는 비경쟁적

[0394]

- 교차-반응 및 비-교차-반응

[0395]

- 경쟁적 및 교차-반응

[0396]

- 비경쟁적 및 교차-반응

[0397]

그런 다음 시퀀싱을 위해 다양한 클론을 보냈다.

[0398]

실시예 4: IL-22R Fabs의 서열 분석

[0399]

바이아코어 분석 (예, 리간드 경쟁, 최대 결합, 낮은 오프-레이트 또는 마우스 교차-반응성) 에 의해 동정된 클론을 시퀀싱 하였다. 그런 다음 상기 클론을 CDR3 동일성에 따라 그룹화하여 VH 패밀리를 만들었다.

[0400]

전체적으로, 13 개의 상이한 VH 패밀리에 속하는 67 개의 상이한 VH가 확인되었다. 더 많은 경쇄 패밀리 (80 개 이상의 Vlambda 및 Vkappa 서열) 가 확인되었다. Fab의 서열과 기능의 큰 다양성은 면역화와 선택이 매우 성공적임을 보여준다.

[0401]

특히 관심의 대상이 되는 클론의 VH 및 VL 도메인 아미노산 서열을 하기 표 6 내지 8에 나타내었고, 이들 클론의 폴리뉴클레오타이드 서열을 표 9에 나타내었다.

[0402]

<표 6>

[0403]

IL-22R Fabs의 VH 도메인 프레임워크 영역 및 CDR 서열

클론	FR1	서열 번 호.	CDR1	서열 번 호.	FR2	서열 번 호.	CDR2	서열 번 호.	FR3	서열 번 호.	CDR3	서열 번 호.	FR4	서열 번 호.
157A 2	QVQLVE SGGGLV QPGGSL RLSCAA SGFTFS	1	SYDM S	2	WVRQA PGKGL EWVS	3	SIYND GSNTA YSDSV KG	4	RFTISRDN AK NTLYLQMN SL KSEDTAVY YC	5	VGFSGT YSES	6	WGQGT QVTVS S	7
166G 8	QVQLVE SGGGLV QPGDSL RLSCAA SGFTFG	8	SYFM S	9	WVRQA PGKGP EWVS	10	GIHIS GGITY YLDSV KG	11	RFTISRDN AK NTLYLQMN NL KPEDTAVY YC VT	12	PPGPFK AHYNGM KY	13	WGKGT LVTVS S	14

[0404]

<표 7>

[0405]

[0406] IL-22R Fabs의 VL 도메인 프레임워크 영역 및 CDR 서열

클론	FR1	서열 번호.	CDR1	서열 번호.	FR2	서열 번호.	CDR2	서열 번호.	FR3	서열 번호.	CDR3	서열 번호.	FR4	서열 번호.
157A 2	NFMLTQ PSAVSV SLGQTA KITC	15	QGGY YAH	16	WYQQK PGQAP VLVIY	17	GNNNR PS	18	NTATLTISGA QAEDEAEYYC	19	QSGSSS ANAV	20	FGGGT HLTVL	21
166G 8	NFMLTQ PPSVSG TLGKTV TISC	22	TGTS RDIG DYNY VS	23	WYQQL PGLAP KLLIY	24	KVNTR SS	25	NTASLTISGL QSEDEADYYC	26	ASYRLY ADYV	27	FGGGT HLTVL	28

[0407]

[0408] <표 8>

[0409] IL-22R Fabs의 가변 도메인 서열

클론	VH	서열번호.	VL	서열번호.
157A2	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYDMS WVRQAPGKGLEWVSSIYNDGSNTAYSDSVKGRFTI SRDNAKNTLYLQMNSLKSIEDTAVYYCAKVGFSGT YSESWGQGTQVTVSS	29	NFMLTQPSAVSVSLGQTAKITCQGGYYAHWYQ QKPGQAPVLVIYGNNNRPSGIPERFSGSSSGN TATLTISGAQAEDEAEYYCQSGSSSANAVFGG GTHLTVL	30
166G8	QVQLVESGGGLVQPGDSLRLSCAASGFTFGSYFMS WVRQAPGKGPFWVSGIHISGGITYYLDVSKGRFTI SRDNAKNTLYLQMNNLKPEDTAVYYCVTPPGPFKA HYNGMKYWGKGTSLTVTVSS	31	NFMLTQPPSVSGTLGKTVTISCTGTSRDIGDY NYVSWYQQLPGLAPKLLIYKVNTRSSGTPDRF SGSKSGNTASLTISGLQSEDEADYYCASYRLY ADYVFGGGTHLTVL	32

[0410]

[0411] <표 9>

[0412] IL-22R Fabs의 폴리뉴클레오타이드 서열

클론	VH	서열번호.	VL	서열번호.
157A2	CAGGTGCAGCTCGTGGAGTCTGGGGAGGCTTGGT GCAGCCTGGGGTTCTCTGAGACTCTCCTGTGCAG CCTCTGGATTACCTTCAGTAGCTACGACATGAGC TGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTG GGTCTCCAGTATTATAATGACGGTAGTAACACAG CCTATTAGACTCCGTGAAGGGCCGATTACCATC TCCAGAGACAACGCCAAGAACACGTTGTATCTGCA AATGAACAGCTTGAAATCTGAGGACACGGCCGTGT ATTACTGTGCAAAAGTTGGCTTTAGTGGTACTTAC TACAGTGAATCATGGGGCCAGGGACCCAGGTAC CTGTCTCTCA	52	AATTTTATGCTGACTCAGCCCTCCGCGGTGTC CGTGTCTTTGGGACAGACGGCCAAAGATCACCT GCCAAGGGGGCTATTATGCTCACTGGTACCAG CAGAAGCCAGGCCAGGCCCTGTGTTGGTCAT CTATGGAAATAATAATAGGCCCTCAGGGATCC CTGAGCGCTTCTCTGGCTCCAGTTCTGGGAAC ACAGCCACCCTGACCATCAGCGGGGCCAGGC TGAGGACGAGGCCGAGTATTACTGTGCTCAGTCAG GAAGCAGTAGTGCTAATGCTGTGTTCCGGCGGA GGGACCCATCTG ACCGTCCTG	73
166G8	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGAGGCTTGGT GCAGCCTGGGGATTCTCTGAGACTCTCCTGTGCAG CCTCTGGATTACCTTCGGAAGCTATTTCATGAGC TGGGTCCGCCAGGCTCCAGGAAAGGGGCCGAGTG GGTCTCAGGTATTATATTAGTGGTGGTATTACAT ACTACTTAGACTCCGTGAAGGGCCGATTACCATC TCCAGAGACAACGCCAAGAACACGCTGTATCTGCA AATGAACAACCTGAAACCTGAGGACACGGCCGTGT ATTATTGTGTAACACCCCGGGGCCCTTTAAGGCC CATTACAATGGCATGAAGTACTGGGGCAAGGGAC CCTGGTCACCGTCTCTCTCA	74	AATTTTATGCTGACTCAGCCCTCCCTCCGTGTC TGGAACCTCTGGGAAAGACGGTACCATCTCTCT GCACTGGAAACCACTCGTGACATTGGGGACTAT AACTATGTCTCCTGGTATCAACAGCTCCCAGG ATTGGCCCCAACTCCTGATCTATAAAGTCA ACACTCGATCCTCAGGGACCCCTGATCGCTC TCTGGCTCCAAGTCAGGCAACACGGCTCCCT GACCATCTCTGGGCTCCAGTCTGAGGACGAGG CTGATTATTACTGTGCTCATATAGACTGTAC GCCGATTATGTGTTCCGGCGGAGGGACCCATCT GACCGTCCTG	75

[0413]

[0414] 실시예 5: Fabs의 특성

[0415] 최상의 오프-레이트를 갖는 클론을 pCB4로 다시 클로닝하고 이를 IMAC (클론테크의 Talon)를 이용하여 발현 및 정제 하였다. 이들 클론을 바이아코어를 사용하여 다시 테스트하였다. 추가적인Fab 특성 분석의 결과를 하기 표 10에 나타내었다.

표 10

[0416]

VH 패밀리	클론	인간 IL-22R에 결합	마우스 IL-22R에 결합	IL-22 차단	오프-레이트 (s ⁻¹)
1	170B2	예스	예스*	예스	3.5E-04
1	170D6	예스	예스*	예스	5.8E-03
1	160C8	예스	No	예스	3.2E-03
2	160C2	예스	예스	노	1.7E-03
3	158C4	예스	예스	노	6.7E-03
4	157A2	예스	노	예스	3.7E-03
4	171F4	예스	노	예스	5.9E-03
4	171A1	예스	노	예스	4.1E-03
4	171B1	예스	노	예스	1.9E-03
4	171C1	예스	노	예스	3.5E-03
5	159B8	예스	노	예스	1.5E-03
5	166G8	예스	노	예스	8.8E-04
5	169C1	예스	노	예스	3.2E-04
5	169H7	예스	노	예스	4.7E-04
5	169C8	예스	노	예스	4.3E-04
5	169H10	예스	노	예스	6.5E-04
5	171F10	예스	노	예스	1.2E-03
6	157C8	예스	예스	예스	4.3E-03
6	157G8	예스	예스	예스	8.6E-04
6	171A8	예스	예스	예스	4.8E-03
7	157B8	예스	노	노	7.7E-04
8	158H4	예스	노	노	2.9E-03
11	165B8	예스	예스	노	9.7E-04
19	169G4	예스	-	노	7.3E-04
20	172C9	예스	예스	노	6.1E-04
22	166D8	예스	노	노	3.8E-03

[0417]

(*) 정제된 Fab (페리 또는 단일클론 항체가 아님) 로 한번만 관찰됨으로써 매우 낮은 친화성을 보인다.

[0418]

(IL-22R 결합 Fabs의 특성)

[0419]

VH 패밀리의 다양성, 경쟁성 및 친화성 (비이아코어에서 얻은 k_{off} 를 사용하여 측정) 에 따라 각 패밀리로부터 하나 또는 여러 클론을 선택하여 추가 특성 분석을 위해 단일클론 항체 (mAb)로 재포맷 하였다.

[0420]

실시예 6: IL-22R 결합 mAbs의 특성

[0421]

상기와 같이, 각 VH 패밀리의 선택적 클론을 IgG1으로서 제조하였다. HC 및 LC 가변 영역을 인간 불변 도메인을 함유하는 별도의 pUPE 발현 벡터로 재 클로닝 한 후, HEK293E를 두 플라스미드로 일시적으로 형질전환 시켰다. 상기 플라스미드 중 하나는 전체 중쇄를, 다른 하나는 경쇄를 암호화한다. 상기 형질전환된 세포는 6 일간 배양하여 항체를 발현시켰다. 항체를 세포 배양 상등액으로부터 단백질 A 비드를 사용하여 정제한 후, 상기 정제된 항체의 인간 및 마우스 IL22R 시그널링을 중화시키는 능력을 상이한 세포주를 사용하여 시험하였다.

[0422]

- BW-hIL22R 세포주: BW 세포주에서 유래되었으며 IL22-의존성 성장 정지를 유도하는 인간 IL22R를 안정적으로 발현한다. 따라서 상기 세포는 IL22-IL22R 상호 작용이 차단된 경우에만 증식한다. 강화 항체는 낮은 항체 농도에서 증식을 촉진한다. 증식은 티미딘 도입에 의해 측정된다.

[0423]

- Baf3-mIL22R 세포주: Baf3 세포주에서 유래되었으며 IL22-의존성 증식을 야기하는 마우스 IL22R를 안정적으로 발현한다. mIL22R을 중화하는 항체는 항체 농도 의존적으로 증식을 차단한다.

[0424]

- Baf3-hIL22R/IL20Rb 세포주: Baf3 세포주에서 유래되었지만 hIL22R과 hIL22R베타를 공동 발현하여 IL20 존재 하에 세포가 증식하도록 한다. hIL22R을 중화하는 항체는 IL20으로 자극 된 세포의 증식을 차단한다.

[0425]

BW-hIL22R 세포주 및 Baf3-hIL22R/IL20Rb 세포주에 대한 다양한 IL22R mAb를 시험한 결과를 도 4 및 표 11에

나타내었다. 도 4A에서, BW-hIL22R 세포주의 증식을 회복시키는 IL22R 중화 항체의 효과를 볼 수 있다. 도 4B에서, IL-22R를 발현하는 세포주의 IL-20 증식을 억제하는 IL22R 중화 항체의 영향을 볼 수 있다. W02011/061119 (280.346.TSY)에 기재된 IL22R 항체를 벤치 마크 또는 기준 IL-22R 항체로서 실험에 포함시켰다.

[0426] 바이아코어(3000)에서 세포의 효능 외에도 시험관내 결합 동역학 및 정제된 항체의 차단 활성을 측정하였다. 친화성 측정을 위해, 재조합 IL22R을 표준 코팅 프로토콜 (IL22R은 pH 4.5의 아세트산 완충액에서 10 µg/ml로 주입됨)을 사용하여 200 RU로 바이아코어 CM5 칩 상에 코팅하였다. 주어진 농도 범위에서 시험하고 pH 7.4 (바이아코어)의 HBSEP 완충액에서 제조한 항체를 30 µl/min으로 60 초간 주입하고 pH 7.4 (바이아코어)의 HBSEP 완충액으로 10-20 분 동안 세척 하였다. 수득한 센서그램 (sensograms)은 BIAevaluation 소프트웨어로 분석하였고, 동역학은 표준 피팅 (랭뮤어 1:1 물질 이동)을 사용하여 결정되었다.

[0427] 바이아코어 3000을 사용한 차단 활성 측정을 위해 재조합 IL22 (RnD 시스템)를 CM5 칩에 2000 RU로 코팅하였다. 항원 결합 도메인 (정제된 IgG, 정제된 Fab 또는 Fab를 함유하는 페리플라즈마 추출물)을 hIL22 코팅된 채널에 주사하기 전에 재조합 인간 IL22R (농도: 0.2 내지 1 µg)과 함께 예비 배양 하였다. 결합 (IL22R:IL22)이 검출되지 않는 동안은 상기 항원 결합 도메인이 경쟁하지 않았으며, 이는 상기 항원 결합 도메인이 시험관 내에서 IL22:IL22R 상호 작용을 차단하고 있음을 나타낸다. 바이아코어 및 증식 분석의 결과는 하기 표 11에 요약되어 있다.

표 11

VH 패밀리	클론	바이아코어에서 hIL22R에 결합			IL22-IL22R 차단	증식 분석에서의 효능 IC50 (pM)	
		Ka (1/Ms)	Kd (1/s) (오프-레이트)	KD (M)		BW 인간 IL22R	BaF3 마우스 IL22R
1	170B2	7.6E+05	9.3E-05	1.2E-10	예스	60-200*	-
1	170D6		2.2E-04		예스	3,830	-
2	160E2		6E-05		노	-	1,406
3	158C4		6E-04		노	-	-
4	157A2	3.9E+05	1.1E-03	2.8E-09	예스	80-130*	-
4	171A1		7.4E-04			3,320	
5	159B8		2E-03		예스	100-200*	-
5	166G8	9.2E+06	2.0E-04	2.2E-11	예스	10-50*	-
5	169C1				예스	35-90*	(-)
6	157G8		5.4E-05		예스	1,174 / 2,090	-
7	157B8		3.4E-05		노	19,000	38,000
8	158H4		3E-05		노	500-1,600*	5-20x10 ³ *
11	165B8		3.1E-06		노	-	-
19	169G4	5.4E+05	3.1E-03	5.7E-09	노	1,489	
20	172C9				노	-	-
22	166D8		3.2E-03		노	74,000	-
Bench-mark	280.346.TSY	2.7E+05	6.4E-05	2.4E-10	예스	20-110*	10-50*

[0429] (hIL22R 항체 패널의 특성 요약)

[0430] *여러 실험에서 관찰된 범위

[0431] IL22R 항체 157A2 및 166G8은 피코 몰라 효능을 나타낸다.

[0432] 실시예 7: IL-22R mAbs의 중 교차-반응성

[0433] IL-22R mAb의 뮤린 IL-22R 및 비-인간 영장류 IL-22R에 대한 중 교차-반응성에 대해 시험 하였다.

[0434] 사이노몰거스 IL22R의 cDNA는 이용 가능하지 않았고 사이노몰거스 cDNA 라이브러리에서 추출 되어야 했다. 프라이머는 NCBI 공개 데이터베이스를 기반으로 디자인하였다. cynoIL22R ECD에 대한 여러 서열은 공개 데이터베이스 (Genbank, NCBI)에서 구할 수 있었으며 삽입, 결실 또는 둘 다가 포함되어 있었다 (도 5 참조). 실제 사이노

몰거스 IL22R 서열에 관한 불확실성은 cyno cDNA로부터의 클로닝이 타당함을 보여주었다.

[0435] 사이노몰거스 IL22R ECD는 cDNA 라이브러리로부터 PCR에 의해 증폭되었고 클론 d는 IgG 카파 신호 펩타이드의 하류 프레임에, 그리고 pUPE 벡터에서는 인간 Fc의 상류에 존재 하였다. 사용된 cDNA는 사이노몰거스에서 유래 되었지만, 여러 클론의 시퀀싱은 레수스 IL22R이 클론 d라는 것을 보여 주었다. 레수스 IL22R-ECD에는 사이노몰 거스에서 발견 된 결실 및 삽입이 없었고 (도 5의 박스), 레수스와 사이노 IL22R 사이에는 2 개의 아미노산 차 이가 있었다 (도 5의 붉은 글씨).

[0436] 상기 cyIL22R-Fc 및 rhIL22R-Fc의 생산 및 정제 후, 일차 선별 된 모든 항체의 사이노몰거스, 레수스, 및 마우스 IL22R ECD에 대한 결합 특이성을 ELISA 및 SPR (바이아코어)로 시험 하였다. 단량체 마우스 IL22R은 R&D 시스템 (cat 4248-MR) 에서 구입하였다. 그 결과는 표 12에 요약되어 있다.

표 12

[0437]

VH 패밀리	클론	IL22R에 결합:			
		인간	마우스	사이노	레수스
1	170B2	예스	노	nt	nt
1	170D6	예스	노	nt	nt
2	160E2	예스	중간	예스	예스
3	158C4	예스	노	예스	예스
4	157A2	예스	노	예스	예스
5	159B8	예스	노	노	약함
5	166G8	예스	노	노	예스
5	169C1	예스	노	노	약함
6	157G8	예스	중간	예스	중간
7	157B8	예스	노	예스	예스
8	158H4	예스	중간	예스	예스
8	205A5	예스	중간	예스	예스
11	165B8	예스	중간	중간	중간
19	169G4	예스	노	예스	예스
20	172C9	예스	중간	예스	예스
22	166D8	예스	노	예스	예스
벤치마크	280.346.TSY	예스	예스	예스	예스

[0438] (IL-22R mAbs의 중 교차-반응성)

[0439] nt = 시험하지 않음

[0440] 실시예 8: 에피토프 매핑

[0441] IL22R mAb에 결합된 에피토프를 확인하고 비교하기 위해 하기 2 가지 방법이 사용되었다: 경쟁적 ELISA 및 FACS.

[0442] 8.1 경쟁적 ELISA를 사용한 에피토프 매핑

[0443] 항체에 의해 인식된 에피토프를 경쟁적 ELISA를 이용하여 서로 비교하였다. 각 VH 패밀리를 대표하는 적어도 하나의 mAb를 Maxisorp 플레이트에 코팅하였다. 이어서, 비오틴화된 인간 IL22R을 과량의 mAb의 존재 하에서 첨가 하였다. 코팅된 항체에 대한 비오틴화된 IL22R의 결합은 HRP-결합 스트렙타비딘을 사용하여 검출하였다. 상기 비오틴화된 IL22R이 검출되지 않았을 때, 이는 수용성 mAb가 코팅된 mAb의 결합을 방지한다는 것을 의미하며, 두 유형의 mAb 모두가 동일한 에피토프에 결합하거나 중첩된 에피토프를 갖는다는 것이 확인되었다. 에피토프 매핑은 mAbs 대신에 Fab를 사용하여 더 개선되었다.

[0444] VH 패밀리 1-8, 10, 11, 19 및 22의 항체에 대한 다양한 에피토프가 동정되었다. 에피토프 매핑은 작은 단백질 (25 kDa)에 대해 매우 넓은 에피토프 커버리지를 나타낸다. 도 6에 나타낸 바와 같이, 상기 에피토프는 다음과 같은 특성에 따라 분류하였다: (i) 항체가 세포-기반 분석에서 시험관 내에서 IL-22 결합을 차단하고 중화된 IL-22 신호 전달을 차단 (좌측 하단 사분면); (ii) 시험관 내에서 IL-22 결합을 차단하지만 중화 활성을 갖지 않음 (오른쪽 상단 사분면); 또는 (iii) 시험관 내에서 IL-22 결합을 차단하지 않았지만, 세포-기반 분석에서 중화 활성을 가짐 (오른쪽 하단 사분면). 중첩되지만 구별 가능한 6 개의 에피토프가 차단되고 중화되는 것으로

밝혀졌으며 (좌측 하단 사분면 참조), 이 6 개의 에피토프 중 2 개 (패밀리 4 및 22의 단일클론 항체)는 벤치마크 항체 (280.346.TSY, 특허 출원 번호 W02011/061119 참조)와 중첩되는 에피토프를 가진다. 이들 단일클론 항체 (패밀리 4 and 22)는 벤치마크 항체와 경쟁하지 않지만 패밀리1, 5, 6 및 7의 모든 단일클론 항체와 경쟁할 수 있었기 때문에 상기 에피토프는 벤치마킹 항체와 동일하지 않다. 종합적으로 살펴보면, 두 상이한 에피토프 그룹 즉 벤치마크에 의해 형성된 하나의 에피토프 그룹과 패밀리 1,5,6, 및 7의 단일클론 항체에 의해 형성된 하나의 에피토프 그룹과, 상기 두 그룹과 중첩되는 세 번째 그룹 (패밀리 4 및 22의 단일클론 항체)이 제안된다 (도 6).

[0445] 도 6의 우측 상부 사분면에 나타난 바와 같이, IL22R에 결합하지만 생체내 IL22 결합을 차단하거나 활성을 중화하지 않는 3 가지 항체가 동정되었다. 이들 항체는 리간드 결합 또는 신호 전달 활성화에 관여하지 않는 IL22R의 영역에 결합할 수 있으며 순수한 검출에 사용될 수 있다. 도 6의 오른쪽 아래 사분면에 표시된 3 가지 항체는 생체 내에서 IL22R 활성을 중화하지만 시험관 내에서 IL22를 차단하지 않아 새로운 기능적 에피토프와 예기치 않은 작용 기전을 제시한다.

[0446] 8.2 FACS 분석을 사용한 에피토프 매핑

[0447] Jones 등은 IL22R1의 세포외 도메인에 결합된 IL-22의 구조를 보고하였다 (Structure 16(9): 1333-1344 (2008)). 상기 논문에서 저자들은 D1과 D2로 불리는 2 개의 IL22R 도메인이 각각 1A 사이트와 1B 사이트에서 IL-22 리간드와 상호 작용한다는 것을 보여준다 (도 7 참조). IL22의 1A 사이트와의 직접적인 상호 작용에 관여하는 IL22R-D1의 2 주요 잔기는 라이신 58 (K58) 및 티로신 60 (Y60)이다. IL22R-D2의 트립토판 208 (W208)은 IL22의 1B 사이트와의 상호 작용에 직접 관여한다 (도 7 참조).

[0448] 다양한 IL22R 변이체를 과발현하는 BW 세포에 대한 IL22R 항체와 벤치마크 항체 (280.346.TSY)의 결합을 시험하였다. 상기 IL22R 변이체는 IL-22/IL22R 상호 작용에 관여하는 것으로 알려진 아미노산의 돌연변이를 가지고 있다. 여기서, 항체를 비오틴화시키고, 세포에 첨가하고, IL22R에 대한 항체의 결합을 표지된 스트렙타비딘을 이용하여 유동 세포 계측법 (FACS)으로 검출하였다. 그 결과를 표 13에 요약하였다.

표 13

[0449]

hIL-22R 변이체	VH Fam	A209D	W208A	T207A	K58A	Y60A	R112A	T89A	E90A	Q117A	D162A
IL22 binding site		1B	1B	1B	1A	1A	1A	1A	1A	1A/B	1B
AMR22		+	+	+	X	X	X	+	+	+	+
280.346.TSY		+	+	+	X	X	+	+	+	+	+
198A1	5	X	+	+	+	+	+	+	+	+	+
166G8	5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
197B7	1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
196F8	1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
158H4	8	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
169G4	19	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

[0450] (IL22R 변이체를 발현하는 세포에 결합하는 항체)

[0451] + = 결합; X= IL22R의 돌연변이는 항체 결합의 손실을 초래한다.

[0452] FACS 결과는 벤치마크 항체 280.346.TSY가 D1 도메인의 잔기 (K58 및 Y60)와 상호 작용한다는 것을 명확하게 보여준다. R112A 돌연변이가 AMR22 결합에 영향을 주기 때문에, 에피토프가 완전히 동일하지는 않지만, 제 2 대조 IL-22R 항체 AMR22에 대해서도 마찬가지이다. 특정 라마 항체가 280.346.TSY와 경쟁하지 않는다는 것을 보여주는 ELISA 에피토프 매핑으로부터 기대되는 바와 같이, 시험된 다른 항체는 280.346.TSY와 IL22R의 결합에 영향을 미치는 돌연변이에 의해 영향을 받지 않았다. 이로부터, 상기 항체가 D2 도메인의 잔기를 포함할 수 있는 또 다른 에피토프를 표적으로 한다는 것을 확인하였다. 실제로, IL22R D2 도메인의 A209D 돌연변이는 198A1의 결합을 무력화시켜 198A1 및 패밀리 5의 항체가 IL22R의 D2 도메인에 결합함을 확인하였다 (도 7B 참조).

[0453] 놀랍게도 198A1과 정확히 동일한 VH를 공유하지만 VL이 다른 항체 166G8은 A209D 돌연변이에 영향을 받지 않는 데, 이는 VL이 상호 작용에 관여한다는 것을 암시한다. 166G8의 VL은 209 위치에 큰 잔기를 허용하지만 198A1의

VL은 그렇지 않다. 레수스에서 IL22R은 209 위치에 세린을 가지고 있다. 166G8은 그 위치에서 큰 아미노산을 허용하기 때문에 레수스 IL22R에 결합할 수 있지만 198A1은 큰 잔기를 허용하지 않기 때문에 rhIL22R에 결합할 수 없다.

[0454] 실시예 9: 세포 기반 분석에서 IL20 및 IL24 신호 전달의 중화

[0455] IL22R 및 IL20Rb를 동시에 발현하는 세포에서 IL-20 및 IL-24 의존성 신호 전달을 차단하는 IL22R 항체의 능력을 시험하였다. IL-22, IL-20 및 IL-24 의존성 수용체 활성화 사이에는 기계적 차이가 있다. IL-22는 보조 수용체 IL10R2의 동원 및 삼량체 복합체의 활성화를 촉발시켜 IL22R에 먼저 결합함으로써 신호 전달을 유도한다고 믿어진다. IL-20의 경우, 이 사이토카인은 IL22R의 동원 및 삼량체 복합체의 활성화 전에 보조 수용체 (IL20R2)와 먼저 결합한다고 믿어진다. 마지막으로 IL-24의 경우, 수용체 복합체가 어떻게 동원되고 활성화되는지 명확하지 않으며 IL-24가 결합하는 위치도 명확하지 않다.

[0456] 9.1 IL-24 신호 전달

[0457] IL-24 의존성 신호 전달을 테스트하기 위하여 Baf3-hIL22R/20R2 또는 Baf3-mIL22R/20R2과 같은 여러 세포주를 사용하였다. IL-24는 핵소사미니다아제 수준 (세포를 계수하기 위해 사용된 판독 값) 이 OD 0.17 내지 1.5의 범위로 Baf3-hIL22R/20Rb 세포의 증식을 유도하였고, 0.15 내지 0.8 범위로 Baf3-mIL22R/20Rb 세포의 증식을 유도하였다. 시험된 항체 중 어느 것도 IL-24에 의해 유도된 증식에 영향을 미치지 않았다. 이러한 결과는 IL-24가 IL22 및 IL-20과 매우 다른 부위에 결합함으로써 IL22R 활성화의 완전히 다른 형태를 가지거나 IL22R이 시험된 세포주에서 IL-24 신호 전달에 관여하지 않는다는 것을 의미한다 (분석은 중화 활성을 예측하지 못한다).

[0458] 9.2 IL-20 신호 전달

[0459] Baf3-hIL22R/IL20Rb 세포주는 Baf3 세포주에서 유래되었지만 hIL20R β 와 hIL22R을 동시에 발현시켜 IL-20의 존재 하에서 세포가 증식하도록 한다. 상기 hIL22R을 중화시키는 항체는 IL-20로 자극된 세포의 증식을 차단한다. 280.346.TSY 및 AMR22 벤치마크 항체와 함께 라마 항체를 시험한 결과를 도 8에 나타내었다.

[0460] IL-20에 의한 Baf3-hIL22R/IL20Rb 증식은 IL-22에 의한 BW-hIL22R의 증식 분석과 병행하여 시험하여 2 개의 사이토카인을 비교할 수 있었다. 3 가지 독립적인 실험의 결과를 표 14에 나타내었다.

표 14

	VH 패밀리	IL-22 차단 IC50 (pM)	IL-20 차단 IC50 (pM)
166G8	5	6-84	160-170
198A1	5cs	10-80	85-140
197B7	1	61-370	1,600-6,960
157A2	4	131-540	184-545
218A7	4	360	nt
158H4	8	1600	nc
205A5	8cs	500-1,200	nc
AMR22	벤치마크	715-5,000	470 (n=1)
280.346.TSY	벤치마크	22-250	280-800

[0462] (IL22R을 통한 IL-22 및 IL-20 신호 전달의 차단에서 항체의 효능)

[0463] *최대 세 번의 실험에서 관찰된 범위 (IL-20에 대해 2250, 2292, 2301 및 IL-22에 대해 2253, 2292, 2301, 2428); nc: 경쟁하지 않음; nt: 테스트하지 않음; cs: 사슬을 섞음

[0464] 패밀리 # 1, # 4 및 # 5의 모든 항체가 IL-20 및 IL-22를 차단할 수 있었다. 사이토카인 농도, 수용체 수 및 세포내 생물학적 변이에 의존하는 감수성의 차이 때문에 IL-22 및 IL-20에 의해 유도된 증식 사이의 효능을 비교하는 것은 어렵다. 그러나, 대부분의 항체는 IL-20의 차단에 비해 IL-22 신호 전달의 차단에 더 강력한 것으로 밝혀졌다. 흥미로운 예외는 IL-22와 IL-20을 차단하는 효능이 동일한 157A2였다.

[0465] 실시예 10: 선도 항체의 선택 및 생식세포화

[0466] 가장 흥미로운 항체의 친화성은 (IL22 신호 전달을 중화) 경쇄 서플링에 의해 더욱 향상되었다. 경쇄 서플링 동안, 선택된 항체의 VHCH1은 VHCH가 발견된 동일한 라마 (llama)의 경쇄 라이브러리과 결합된다. 가장 좋은 친화성을 갖는 VHCH:VLCL 쌍을 동정하기 위해 여러회의 오프-레이트 파지 디스플레이 선택을 수행하였다. 198A1을 포함하여 향상된 결합 동역학을 가진 몇 가지 클론이 발견되었지만, 불행하게도 이들은 대부분의 레수스 교차-반응성을 잃었으며, 따라서 166G8은 개발을 위한 패밀리 # 5의 가장 매력적인 후보로 선택되었다. 157A2 (패밀리 # 4)의 경우에, 157A2와 비교하여 개선된 친화성을 갖는 몇몇 Fab (예, 218A7)가 동정되었다. 하기 항체를 추가 개발을 위해 선택하였다. 이들 항체는 효능, 중 교차-반응성 및 에피토프 또는 작용 방식에 기초하여 선택되었다.

[0467] - 218A7 (157A2의 향상된 변이체, 패밀리 #4) - 이 항체는 IL-22 및 IL-20 에 대해 매우 우수한 효능을 갖는 것으로 밝혀졌고 (서브 nM), 비인간 영장류 IL22R과 교차-반응성이나 무린 IL22R과는 교차-반응성이 아니다. 157A2는 IL22R상의 에피토프를 가지고 있지만 280.346.TSY 벤치마크 항체와 겹치는 것으로 밝혀졌다.

[0468] - 166G8 (패밀리 #5) - 이 항체는 높은 효능 (낮은 pM)을 갖는 것으로 밝혀졌고, 몇몇 중과 교차-반응성을 가지는데, 이는 레수스 IL22R에 결합하기 때문이다(사이노물거스나 무린 IL22R에는 결합하지 않는다.).

[0469] IL22R 항체의 특성은 표 15에 요약되어 있다.

표 15

	VH 패밀리	교차-반응성				효능		상대적 효능 (IL-22:IL-20)	에피토프
		h	cyno	rh	m	IL-22 (pM)	IL-20 (pM)		
157A2	4	+++	+++	+++	-	131-570	184-545	1.09	D1/D2
218A7	4	+++	+++	+++	-	350-360	nd	-	D1/D2
166G8	5	+++	-	++	-	6-84	160-170	3.67	D2
280.346.TSY		+++	+++	+++	+++	22-250	280-800	7.5	D1

[0471] (생식세포화에 선택된 라마 IL22R 항체의 특성)

[0472] h=인간; cyno=사이노물거스; rh=레수스; m=마우스

[0473] 실시예 11: IL-22R 항체 218A7 및 166G8의 생식세포화

[0474] 생식세포화는 국제 특허 출원 제 W02011/080350에 기재되어 있는 방법에 따라 수행되었으며, 그 내용은 전체가 본원 포함된다. 상기 CDR은 동일한 쌍을 갖는 동일한 VH 및 VL 계통의 항체가 변하는 특정한 다른 위치와 함께 잠재적인 변역 후 변형을 제거하기 위하여 돌연변이되었다. 라마 항체 218A7 및 166G8로부터 생산된 생식세포화된 항체의 VH 및 VL 도메인의 인간 서열과의 동일성에 대해 평가 하였다. 벤치마크 항체 280.346.TSY와의 비교도 수행하였다. 그 결과는 하기 표 16에 나타내었다.

표 16

	클론 이름	VH의 % 동일성	VL의 % 동일성	VH+VL의 % 동일성	인간 IL-22R1의 오프-레이트*	레수스 IL-22R1의 오프-레이트*
	166G8	88.5	84.8	86.7	1.22E-0.3	2.22E-02
22	224C7	93.1	93.7	93.4	4.19E-04	2.20E-02
6	224C6	94.3	93.7	94.0	4.34E-04	1.85E-02
21	224A6	93.1	93.7	93.4	4.41E-04	4.68E-0.3
14	224C4	92.0	94.9	93.5	4.50E-04	4.51E-0.3
16	224G10	92.0	94.9	93.5	4.71E-04	3.75E-0.3
15	224E8	92.0	94.9	93.5	4.81E-04	4.51E-0.3
1	223G5	93.1	97.4	95.3	5.29E-04	5.84E-0.3
20	223D3	93.1	93.7	93.4	5.73E-04	2.01E-0.3
2	223C4	94.3	96.2	95.3	5.74E-04	6.27E-0.3
11	223A6	90.8	96.2	93.5	5.79E-04	2.58E-0.3
13	223G1	92.0	94.9	93.5	5.96E-04	5.05E-0.3

8	226B9	95.4	92.4	93.9	7.14E-04	4.65E-0.3
3	225A5	93.1	96.2	94.7	1.14E-0.3	1.55E-02
5	227C5	93.1	94.9	94.0	1.25E-0.3	4.98E-0.3
17	227G10	92.0	94.9	93.5	1.25E-0.3	2.73E-0.3
19	225G7	92.0	94.9	93.5	1.29E-0.3	4.27E-0.3
18	225E5	92.0	94.9	93.5	1.35E-0.3	1.67E-0.3
12	225A4	90.8	96.2	93.5	1.42E-0.3	4.21E-0.3
9	225A10	95.4	92.4	93.9	1.55E-0.3	1.07E-02
7	225D8	94.3	93.7	94.0	1.64E-0.3	5.11E-0.3
23	225G4	93.1	93.7	93.4	1.74E-0.3	3.75E-0.3
10	225C6	95.3	92.4	93.9	1.76E-0.3	2.63E-0.3
4	225B2	94.3	94.9	94.6	2.78E-0.3	4.55E-0.3
	218A7	95.4	91.1	95.4	8.10E-04	9.70E-04
13	230C9	100	96.2	98.1	3.52E-04	4.36E-04
10	230B7	98.9	97.5	98.2	3.77E-04	8.17E-04
19	229B4	98.9	96.2	97.6	3.81E-04	4.79E-04
1	230H2	100	98.7	99.4	4.01E-04	1.08E-0.3
18	228F9	97.7	97.5	97.6	4.01E-04	4.34E-04
14	228C9	100	96.2	98.1	4.08E-04	4.72E-04
12	232G6	100	96.2	98.1	4.14E-04	1.27E-0.3
11	232F5	100	96.2	98.1	4.24E-04	1.27E-0.3
5	231C11	98.9	97.5	98.2	4.30E-04	1.32E-0.3
6	231E12	98.9	97.5	98.2	4.35E-04	1.33E-0.3
3	228F3	97.7	98.7	98.2	4.39E-04	1.25E-0.3
2	230D5	98.9	98.7	98.8	4.45E-04	1.32E-0.3
4	231B11	98.9	97.5	98.2	4.55E-04	1.32E-0.3
8	229E6	98.9	97.5	98.2	4.59E-04	5.41E-04
20	229D9	100	94.9	97.5	4.69E-04	6.84E-04
16	229G1	97.7	97.5	97.6	4.77E-04	5.08E-0.3
7	231F12	98.9	97.5	98.2	5.30E-04	1.35E-0.3
17	228A4	97.7	97.5	97.6	5.95E-04	1.97E-0.3
15	231A8	97.7	97.5	97.6	1.48E-0.3	2.85E-0.3
9	229G2	98.9	97.5	98.2	1.86E-0.3	3.30E-0.3
	280.346.TSY	88.5%	100%	94.3%	-	-

[0476] (218A7 및 166G8에서 생산된 생식세포화 IL-22R 항체의 인간과의 동일성)

[0477] * Fab 단편에 대해 결정됨

[0478] 항체 230C9는 항체 218A7의 생식세포화 변이체로 선택되었고, 항체 223G5는 항체 166G8의 생식세포화 변이체로 선택되었다. 항체 218A7, 230C9 및 223G5의 VH 및 VL 도메인 서열을 하기 표 17 내지 21에 나타내었다 (166G8의 서열은 상기 표 6 내지 9에 나타내었다.).

[0479] <표 17>

[0480] 218A7, 230C9 및 223G5 VH 도메인의 프레임워크 영역 및 CDR 서열

클론	FR1	서열 번 호.	CDR1	서열 번 호.	FR2	서열 번 호.	CDR2	서열 번 호.	FR3	서열 번 호.	CDR3	서열 번 호.	FR4	서열 번 호.
218A 7	QVQLVE SGGGLV QPGGSL RLSCAA SGFTFS	1	SYDM S	2	WVRQA PGKGL EWVS	3	SIYND GSNTA YSDSV KG	4	RFTISRDN AK NTLYLQMN SL KSEDTAVY YC AK	5	VGFSGT YSES	6	WGQGT QVTVS S	7
230C 9	QVQLVE SGGGLV QPGGSL RLSCAA SGFTFS	33	SYDM N	34	WVRQA PGKGL EWVS	35	SIYND ASNTA YSDSV KG	36	RFTISRDN SK NTLYLQMN SL RAEDTAVY YC AK	37	VGFSGT YSES	6	WGQGT LVTVS S	38
223G 5	QVQLVE SGGGLV QPGGSL RLSCAA SGFTFS	39	SYFM S	9	WVRQA PGKGP EWVS	40	GIHIS GGITY YTDSV KG	41	RFTISRDN AK NTLYLQMN SL RAEDTAVY YC VT	42	PPGPFFK AHYNGA KY	43	WGKGT LVTVS S	44

[0481]

[0482] <표 18>

[0483] 218A7, 230C9 및 223G5 VL 도메인의 프레임워크 영역 및 CDR 서열

클론	FR1	서열 번 호.	CDR1	서열 번 호.	FR2	서열 번 호.	CDR2	서열 번 호.	FR3	서열 번 호.	CDR3	서열 번 호.	FR4	서열 번 호.
218A 7	LPVLTQ PSAVSV SLGQTA RITC	45	QGGY YAH	16	WYQQK PGQAP VLVIY	46	GQNNR PS	47	NTATLTIS GA QAEDEAEY YC	48	QSGSSS ANAV	20	FGGGT KLTVL	49
230C 9	SYELTQ PSSVSV ALGQTA RITC	50	QGGY YAH	16	WYQQK PGQAP VLVIY	51	GQNNR PS	47	NTATLTIS RA QAEDEADY YC	53	QSGSSS SNAV	54	FGGGT KLTVL	55
223G 5	QSALTQ PPSVSG SPGQSV TISC	56	TGTS SDIG SYNY VS	57	WYQQK PGKAP KLLIY	58	EVNKR SS	59	NTASLTIS GL QAEDEADY YC	60	ASYRLY ADYV	27	FGGGT QLTVL	61

[0484]

[0485] <표 19>

[0486] 218A7, 230C9 및 223G5 가변 도메인의 서열

클론	VH	서열 번 호.	VL	서열 번 호.
218A7	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYDMS WVRQAPGKGLEWVSSIYNDGNTAYSDSVKGRFTI SRDIAKNTLYLQMNLSKSEDTAVYYCAKVGFSGT YSESWGQGTQVTVS	29	LPVLTQPSAVSVSLGQTARITCQGGYYAHWYQ QKPGQAPVLIYQNNRPSGIPERFSGSGAGN TATLTISGAQAEDEAEYCYSGSSSSANAVFGG GTKLTVL	62
230C9	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYDMN WVRQAPGKGLEWVSSIYNDASNTAYSDSVKGRFTI SRDIAKNTLYLQMNLSRAEDTAVYYCAKVGFSGT YSESWGQGTQVTVS	63	SYELTQPSVSVSLGQTARITCQGGYYAHWYQ QKPGQAPVLIYQNNRPSGIPERFSGSGAGN TATLTISRAQAEDEADYCYSGSSSSANAVFGG GTKLTVL	64
223G5	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYFMS WVRQAPGKGPWVSGIHSIGGITYYTDVSKGRFTI SRDIAKNTLYLQMNLSRAEDTAVYYCVTPPGPFKA HYNGAKYWGKGLVTVS	65	QSALTQPPSVSGSPGQSVTISCTGTSSDIGSY NYVSWYQQLPKAPKLLIYEVNKRSSGVPDRF SGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYCYASYRLY ADYVFGGTQLTVL	66

[0487]

[0488] <표 20>

[0489] 230C9 및 223G5의 중쇄 및 경쇄 서열

클론	중쇄	서열번호.	경쇄	서열번호.
230C9	<p>QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSSYDMNWVRQ APGKGLEWVSSIYNDASNTAYSDSVKGRFTISRDNKNT LYLQMNSLRAEDTAVYCAKVGFGSGTYYSSESWGQGLVT VSS</p> <p>ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVFPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEL LGGSFVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KENWYVDGVEVHNAKTKPREEQYQSTYRVVSVLTVLHQD WLNKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTTPFVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMH EALHNYTQKSLSLSPGK</p>	67	<p>SYELTQPSVSVVALGQTARITCQGGYYAHWYQQKP GQAPVLVIYQNNRPSGIPERFSGSGAGNTATLTIS SRAQAEADADYYCQSGSSSSNAVFGGGTKLTVL</p> <p>GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYP GAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNKYAASS YLSLTPEQWKSHRYSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTEC S</p>	68
223G5	<p>QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSSYFMSWVRQ APGKPEWVSGIHISGGITYYTDVSVKGRFTISRDNKNT LYLQMNSLRAEDTAVYCVTFPGPFKAHYNGAKYWGKGT LVTVSS</p> <p>ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVFPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEL LGGSFVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KENWYVDGVEVHNAKTKPREEQYQSTYRVVSVLTVLHQD WLNKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTTPFVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMH EALHNYTQKSLSLSPGK</p>	69	<p>QSALTQPPSVSGSPGQSVTISCTGTSSDIGSYNYV SWYQQLPGKAPKLLIYEVNKRSSGVPDRFSGSKSG NTASLTISGLQAEADADYYCASRYLYADYVFGGGS QLTVL</p> <p>GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYP GAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNKYAASS YLSLTPEQWKSHRYSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTEC S</p>	70

[0490]

[0491] 상기 서열의 음영 부분은 중쇄 및 경쇄의 불변 영역을 나타낸다. 중쇄의 불변 영역에 굵게 표시된 "Q" 잔기는 "N"의 돌연변이를 나타낸다.

[0492] <표 21>

[0493] 218A7, 230C9 및 223G5의 가변 도메인, 중쇄 및 경쇄 서열을 코딩하는 폴리뉴클레오타이드 서열

클론	VH 도메인	서열번호.	VL 도메인	서열번호.
218A7	<p>CAGGTGCAGCTCGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTGCAGCC TGGGGGTCTCTGAGACTCTCCTGTGCGCTCTGGATTCA CCTTCAGTAGTACGACATGAGCTGGTCCGCCAGGCTCCA GGGAAGGGGCTGGAGTGGGTGCCAGTATTTATAATGACGG TAGTAACACAGCCTATTACAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCA CCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACACGTTGTATCTGCAA ATGAACAGCTTGAAATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTG TGCAAAAGTTGGCTTTAGTGGTACTTACTACAGTGAATCAT GGGGCCAGGGGACCCAGGTCAACCTGTCTCTCA</p>	76	<p>CTGCCTGTGCTGACTCAGCCCTCCGCGGTGTCCGTGT CTTTGGGACAGACGGCCAGGATCACCTGCCAAGGAGG CTATTATGTCTCACTGGTACCAGCAGAAAGCCAGGCCAG GCCCTGTGCTGCTCATCTATGGACAGAATAATAGGC CCTCAGGGATCCCTGAGCGCTTCTGTGGCTCCGGCGC TGGGAACACAGCCACCTGACCATCAGCGGGGCCAG GCTGAGGACGAGGCTGAGTATTACTGTAGTCAGTCAAGAA GCAGTAGTCTAATGCTGTGTTCCGGCGAGGACCAA GCTGACCGTCTCTC</p>	77
230C9	<p>CAGGTGCAGCTCGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTGCAGCC TGGGGGTCTCTGAGACTCTCCTGTGCGCTCTGGATTCA CCTTCAGTAGTACGACATGAACTGGTCCGCCAGGCTCCA GGGAAGGGGCTGGAGTGGGTGCCAGTATTTATAACGACGC CAGTAACACAGCCTATTACAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCA CCATCTCCAGAGACAACCTCAAAGAACACGTTGTATCTGCAA ATGAACAGCTTGAGAGCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTG TGCGAAAGTTGGCTTTAGTGGTACTTACTACAGTGAATCAT GGGGCCAGGGGACCCCTCGTCACTGTCTCTCTCA</p>	78	<p>TCCTACGAAGTACTCAGCCCTCCTCGGTGTCCGTGG CGTTGGGACAGACGGCCAGGATCACCTGCCAAGGAGG CTATTATGCACACTGGTACCAGCAGAAAGCCAGGCCAG GCCCTGTGCTGCTCATCTATGGACAGAATAATAGGC CCTCAGGGATCCCTGAGCGCTTCTGTGGCTCCGGCGC TGGGAACACAGCCACCTGACCATCAGCGGGGCCAG GCTGAGGACGAGGCTGACTATTACTGTAGTCAGTCAAGAA GCAGTAGTCTAATGCTGTGTTCCGGCGAGGACCAA GCTGACCGTCTCTC</p>	79
223G5	<p>CAGGTGCAGCTCGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTGCAGCC TGGGATTTCTGTGAGACTCTCCTGTGCGCTCTGGATTCA CCTTCAGTAGTATTTTCATGAGCTGGTCCGCCAGGCTCCA GGGAAGGGGCGGAGTGGGTCTCAGGTATTCATATTAGTGG TGGTATTACATACTACAGGACTCCGTGAAGGGCCGATTCA CCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACACGCTGTATCTGCAA ATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACGGCCGTGTATTATTG TGTAACACCCCCGGGCCCTTTAAGGCCCATTAATAGGCG CGAAGTACTGGGGCAAAGGACCCCTGTCTACTGTCTCTCTCA</p>	80	<p>CAGTCTGCCTGACTCAGCCTCCCTCCGTGTCTGGAT CTCCTGGACAGTCTGTCAACATCTCCTGCCTGGGAC CAGTAGTGACATTTGGTCCATAACTATGTCTCCTGG TATCAACAGCTCCAGGAAAGGCCCAACTCCTGA TCTATGAGGTCAACAAGCGATCCTCAGGGGTCCCTGA TCGCTTCTCTGGTCCAAAGTCAGGCAACACGGCTCC CTGACCATCTCTGGGCTCCAGGCTGAGGACGAGGCTG ATTATTACTGTGCTCATATAGACTGTACGCCGATTA TGTGTTCCGGCGAGGACCCCACTGACCGTCTCTC</p>	81

[0494]

[0495] 실시예 12: 생식세포화 항체 230C9 및 223G5의 특성

[0496] 12.1 생식세포화 mAbs의 결합 친화성

[0497] 230C9 및 223G5 항체의 친화성은 SPR (바이아코어 300)을 사용하여 측정하였다. 요약하면, 250 RU의 인간 IL22R (Biotechne, 2770-LR)을 표준 방법을 사용하여 CM5 칩 상에 코팅하였다 (pH 4.5의 아세테이트 완충액 에서 2 µg /ml의 농도로 IL22R의 EDC 커플링). 그 후, 다양한 농도의 항체를 HBSEP + 완충액 (pH 7.4)에 2 분간 주입하였다. 결합은 10 분 동안 세척 (HBSEP +) 하는 동안 모니터링 하였다.

[0498] 랭뮤어 1:1 피팅을 사용하는 BIAevaluation 소프트웨어를 사용하여 친화성을 계산하였고, 그 결과를 하기 표 22에 나타내었다.

표 22

[0499]

	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)
223G5	6,6E+06	1,0E-04	1,6E-11
224C4	9,3E+06	9,8E-05	1,1E-11
230C9	6,8E+05	8,9E-05	1,3E-10
280.346.TSY	4,9E+05	3,4E-04	6,9E-10

[0500]

(생식세포화 항체의 결합 친화성)

[0501]

항체 223G5 및 224C4 (둘 다 166G8의 생식세포화 변이체임)는 IL-22R (10-20 pM)에 대해 매우 높은 친화성을 보였으며 항체 230C9는 0.13 nM의 친화성을 보였다. 생식세포화된 모든 항체는 기준 항체 280.346.TSY 보다 더 높은 친화성을 나타내었다 (0.69 nM).

[0502]

친화성 측정 동안 2가 분자가 리간드로 사용될 때 관찰되는 잠재적인 결합 효과 때문에, 역 실험 설정이 테스트 되었다. 이 셋업에서, 항체는 표준 방법을 사용하여 250RU로 코팅되었다. 단량체 인간 IL22R을 상이한 농도로 첨가하고, 랭뮤어 1:1 피팅을 사용하는 BIAevaluation 소프트웨어를 사용하여 친화성을 계산하였다. 그 결과를 하기 표 23에 나타내었다.

표 23

[0503]

		ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)
230C9	hIL22R	9,2E+05	2,2E-04	2,2E-10

[0504]

(인간 IL-22R에 대한 230C9의 결합 친화성)

[0505]

불행하게도, 항체 223G5는 코팅 공정에 의해 불활성화 되었고, 이 설정을 사용하여 친화성을 결정할 수 없었다.

[0506]

230C9의 친화성은 친화성 측정시의 설정과는 독립적이며, 두 조건 모두에서 사용된 낮은 코팅이 모든 결합 효과를 감소시키기에 충분하다는 것을 보여준다.

[0507]

12.2 IL-22 및 IL-20 의존성 IL-22R1의 활성화 및 신호 전달의 억제

[0508]

IL-22R1을 통한 IL-22 및 IL-20-매개 신호 전달을 중화시키는 항체 218A7 (생식세포화되지 않음) 및 230C9 (생식세포화 동등물)의 능력을 다른 생식세포화 항체와 함께 테스트하였다. 시험은 실시 예 6 및 9에 기재된 세포-기반 증식 분석을 사용하여 수행하였다.

[0509]

도 9A는 IL-22R1의 IL-22-의존성 활성화를 중화시키는 218A7 및 230C9의 능력을 나타낸다. 도 9B는 230C9의 상이한 배치(batch)가 IL-22R1의 IL-20-의존성 활성화를 중화시키는 능력을 나타낸다. 시험된 항체의 상대적 효능을 하기 표 24 및 25에 나타내었다.

표 24

[0510]

	IL-22 차단 IC50 (nM)	280.346.TSY에 대한 상대적 효능
218A7	0.28	2.5
230C9	0.56	1.2
230D5	0.62	1.1
230H2	0.66	1.0
280.346.TSY	0.69	1
230B7	0.73	0.95

[0511]

(IL22R을 통한 IL-22 신호 전달의 차단에서 218A7 및 230C9 항체의 효능 (BWhIL22R 세포주))

표 25

[0512]

	IL-20 차단 IC50 (nM)	280.346.TSY에 대한 상대적 효능
280.346.TSY	1.487	
230C9-N297Q (#1)*	0.7807	1.9
230C9-N297Q (#2)*	0.5671	2.6

[0513]

(IL22R을 통한 IL-20 신호 전달의 차단에서 230C9 항체의 효능 (Baf3hIL22R/IL20Rb 세포주))

[0514]

* 230C9 항체의 다른 정제 배치(batch)

[0515]

12.3 확인 가능한 에피토프 매핑

[0516]

실시에 8.2에 기재된 바와 같이 FACS 분석을 사용하여 생식세포화 항체 230C9 및 223G5에 대한 확인 가능한 에피토프 매핑을 수행하였다. 항체 230C9는 IL-22R1에 대한 결합을 위해 벤치마크 항체 280.346.TSY 및 223G5와 경쟁하는 것으로 밝혀졌다. 항체 223G5는 IL-22R1에 대한 결합을 위해 벤치마크 항체 280.346.TSY와 경쟁하지 않는 것으로 밝혀졌다.

[0517]

FACS 분석의 결과는 상기한 증식 분석의 결과와 합쳐서 분석하였고, 에피토프에 관한 결론은 도 10에 나타내었다. 나타난 바와 같이, 다음과 같은 결론을 얻었다: (i) 항체 230C9는 280.346.TSY에 결합된 에피토프와 비교하여 별개이지만 중첩되는 에피토프에 결합한다; 및 (ii) 항체 223G5는 280.346.TSY와는 별개인 에피토프에 결합한다.

[0518]

실시에 8.2에서 기술된 바와 같이 FACS 분석을 수행하여 다양한 IL-22R 돌연변이체에 대한 생식세포화 항체의 결합을 조사하였다. 그 결과를 하기 표 26에 나타내었다.

표 26

[0519]

BW-hIL-22R 돌연변이체	A209D	W208A	Y60A	R112A
280.346.TSY	+	+	X	X
230C9	+	+	+	+ / X
223G5	X	+	+	+

[0520]

(IL22R 돌연변이체를 발현하는 세포에 대한 항체의 결합)

[0521]

+/- = R112A를 갖는 돌연변이체의 부분적 인식

[0522]

이러한 결과는 항체 230C9 및 223G5가 Y60을 포함하지 않는 에피토프에 결합함을 확인한다. A209D 돌연변이는 223G5의 결합에 영향을주는 것으로 밝혀졌으나, 라마 항체 166G8의 결합에는 영향이 없었다. 이는 166G8의 A209D 돌연변이 (166G8은 한 번만 검사됨)에 대한 감수성을 검출하는데 어려움을 주었으며, 166G8의 생식세포화 과정 중 CDR 서열의 미세한 변화가 원인일 가능성이 높다. 상기 데이터로부터, 280.346.TSY가 IL22R의 D1에 결합하고, 223G5는 IL22R의 D2에 결합하며, 230C9는 중첩되지만 별개의 에피토프를 갖는다는 것을 확인하였다.

[0523]

12.4 생식세포화 항체의 중 교차-반응성

[0524]

항체 230C9는 인간 IL-22R에 결합하지만 마우스, 래트 및 토끼로부터 유래한 IL-22R에 대한 교차-반응성은 보이지 않는다. 이는 상기 벤치마크 항체 280.346.TSY와 비교하여 별개의 에피토프를 갖는 230C9와 일치한다 - 상기 12.3 참조.

[0525]

세포에서 일단 발현된 cyno-IL22R에 결합하는 항체의 능력을 인간 막통과 (TM) 및 인간 세포 내 도메인 (ID)에 융합된 다른 종으로부터 유래한 IL22R 의 세포의 도메인 (ECD)의 키메라 구조물을 제조하여 테스트하였다. 일시적인 형질 전환의 효율성은 크지 않지만, FACS 분석은 223G5-N297Q 항체가 아니라 230C9-N297Q 항체가 cynoIL22R-ECD-humanTM_humanICD에 결합함을 보여 주며, 이는 FACS 플롯상의 더 넓은 피크의 존재에 의해 관찰되었다 (더 넓은 피크를 나타내는 화살표가 있는 도 11을 참조).

[0526] 또한, HEK 세포에 상기 키메라 구조물을 STAT3-리포터 유전자와 함께 형질 전환 시켰을 때, 중화 항체의 존재 또는 부재하에서 인간 IL22의 첨가 후 IL22R의 활성을 측정할 수 있었다. 하기 표 27에 제시된 결과는 시험된 모든 항체가 인간 IL22R을 중화할 수 있었고 영장류 교차-반응 (230C9 및 280.346.TSY)만이 결합 및 사이노 및 레수스 키메라의 활성을 차단할 수 있음을 보여준다. 이는 상기 항체가 영장류 연구에 유용하다는 것을 의미한다.

표 27

[0527]

	EC50 (nM) 인간 ECD	EC50 (nM) 레수스 ECD	EC50 (nM) 사이노 ECD
224C4	0,30	효과 없음	효과 없음
230C9	0,28	0,48	0,57
280.346.TSY	0,26	0,43	0,16

[0528] (인간, 레수스 및 사이노 IL-22R에 대한 IL-22R 항체의 교차-반응성)

[0529]

12.5 면역원성 분석

[0530]

생식세포화 항체의 면역원성을 예측 도구를 사용하여 평가하였다. 특히 가변 도메인에서 잠재적 면역원성 펩타이드의 존재를 "HLA class II - Caucasian v3.0" 세팅을 사용하여 론자(lonza)의 Epibase™ 플랫폼 (DRB-1 score) 을 이용하여 평가하였다. 상기 플랫폼은 VH 및 VL 서열로부터 유래 된 모든 10-mer 펩타이드의 HLA 결합 특이성을 분석한다. 프로파일링은 15 DRB1, 6 DRB3/4/5, 12 DQ 및 7 DP, 즉 총 40 개의 HLA 클래스 II 수용체에 대한 알로타입 수준에서 수행되었다. DRB1 및 DRB3/4/5의 강한 결합체와 중간 결합체뿐만 아니라 DQ 및 DP 에피토프의 강한 결합체가 확인되었다. 에피토프 계수는 강한 그리고 중간 친화성 DRB1 결합체에 대해 개별적으로 수행되었다. 동일한 그룹의 다중 알로타입에 결합하는 펩타이드들은 하나로서 계수되었다. 최악의 경우의 면역원성 위험을 나타내는 대략적인 점수는 다음과 같이 계산되었다: 점수 = \sum (에피토프 카운트 x 알로타입 빈도). 즉, 특정 HLA 알로타입에 영향을 미치는 에피토프의 수에 영향을 받는 알로타입의 대립 유전자 빈도가 곱해진다. 주어진 서열의 경우, 결과물은 백인 인구의 2% 이상에 존재하는 모든 DRB1 알로타입에 대해 합산되었다.

[0531]

그 결과를 하기 표 28에 나타내었다.

표 28

[0532]

	DRB1 점수 (VH + VL)	소스
230C9	555	생식세포화된 라마
223G5	936	생식세포화된 라마
Adalimumab	830	인간 (파지 디스플레이)
Trastuzumab (Herceptin)	959	인간화
Palivizumab (Synagis)	985	인간화
Dupilumab	1124	인간 (벨록이문)
Alemtuzumab (Campath)	1409	인간화
Rituximab (Rituxan)	1769	잡종화
Infliximab (Remicade)	1873	잡종화
Mouse antibody	3832	마우스

[0533] (다양한 다른 상업적 항체와 비교하여 생식세포화된 IL-22R 항체에 대한 DRB1 점수)

[0534]

표 28에서 보듯이, 항체 230C9는 다른 상업적 항체보다 훨씬 낮은 DRB1 스코어를 나타내지만, 223G5는 다른 상업적으로 이용 가능한 인간 또는 인간화 항체와 비교하여 낮은 DRB1 스코어를 갖는다. 상기 데이터는 230C9 (및 223G5)가 바람직한 면역원성 프로파일을 가진다는 것을 나타낸다.

[0535]

실시예 13: 사이노몰거스 원숭이에서 항체 230C9-N297Q의 약동학 (PK) 연구

[0536] 항체 클론 230C9의 약동학 분석을 수행 하였다. 두 사이노몰거스 원숭이에게 10 mg/kg 의 항체를 2 시간 동안 단일 도스로 정맥 주사 하였다. 상이한 시점에서 샘플을 채취하고 단일클론 항체의 혈장 농도를 ELISA로 측정하였다. 구체적으로, 마이크로타이터플레이트 (Maxisorb Nunc)를 2 μ g/ml의 재조합 hIL22R (Biotechne; cat# 2770-LR)이 들어 있는 PBS로 4° C 에서 하룻밤 동안 코팅하였다. 상기 플레이트를 PBS-Tween으로 3 회 세척하고, 250 μ l의 PBS-1% 카제인으로 2 시간 동안 블로킹시켰다. PBS-Tween으로 다시 3 회 세척한 후, 샘플을 첨가하였다. 모든 희석은 1% 합동 혈장 (3 마리의 순종 사이노몰거스 원숭이에게서 얻은 풀)에서 이루어졌다. 상기 샘플을 실온에서 2 시간 동안 결합시켰다. 이어서 상기 플레이트를 PBS-Tween으로 5 회 세척하고, 여기에 HRP와 결합된 염소 비오틴화 항-인간 IgG 중쇄 및 경쇄 원숭이 흡착 다클론 항체를 50,000 배 희석하여 (Bethyl, cat no: A80-319P) 가하고, 실온에서 1 시간 동안 반응시켰다. 상기 플레이트를 PBS-Tween으로 5 회 세척하고 s(HS)TMB 약화제 (SDT, #sTMB-W)를 첨가하였다. 10 분 동안 염색시킨 후 1N H₂SO 로 반응을 정지시키고, 광학 밀도를 450 nm에서 측정하였다. 상기 샘플을 3 회 분석하고, 230C9-N297Q (동물에 주사한 동일한 배치)를 사용하여 표준 곡선을 준비하였다.

[0537] 2-구획 IV-주입 모델 분석을 위한 관련 PK 매개변수들을 표 29에 나타내었다. 230C9-N297Q 항체의 약물 동태 프로파일은 도 12에 그래프로 나타내었다 (결과는 두 원숭이의 평균 결과). 상기 데이터는 항체가 긴 평균 거주 시간 (MRT)을 갖는다는 것을 명확하게 보여준다. 흥미롭게도, 반감기를 개선하기 위해 항체가 변형되지 않은 비글리코실화 IgG1 Fc 영역을 포함하고 있지만, 230C9-N297Q의 반감기는 놀라울 정도로 길다. 구체적으로, 230C9-N297Q는 약 19.4 일의 반감기를 갖는다. 따라서, 본 발명의 항체의 연장된 반감기는 Fab 영역의 특성에 상응하는 것으로 나타났다.

표 29

T _{1/2}	MRT	V1	V2	CL	K21	C _{max}	C at day 30
19.4 days	26.2 days	45 ml/kg	68 ml/kg	4.3 ml/day	0.35	216 μ g/ml	~26 μ g/ml

[0539] (PK 매개변수)

[0540] 총 10 마리의 사이노몰거스 원숭이에게 230C9-N297Q를 단일 도즈 (0.1, 1, 3, 10 및 30 mg/kg)로 IV-투여하여 추가 약동학 (PK) 연구를 수행하였다. 사이노몰거스 원숭이에서의 동역학은 두 구획 비선형 동역학을 나타냈다. 10 mg/kg보다 낮은 용량에서 청소율 (CL)은 용량이 낮을수록 증가하였으며, 투여량 감소에 따른 노출량 (AUC)의 양이 비례적으로 감소하였다. 이는 단일클론 항체에 대한 잘 알려진 현상이다 (표 30 및 도 13 참조).

표 30

매개변수	추정치	유닛	Stderr	CV%
tvV	39.7	mL/kg	2.77	7.0
tvCl	3.60	mL/(kg*day)	0.38	10.5
tvV2	27.7	mL/kg	5.40	19.5
tvCl2	42.1	mL/(kg*day)	24.3	57.8
tvV _{max}	24.9	μ g/(kg*day)	7.41	29.8
tvK _m	1.0	μ g/mL	0.01	9.96

[0542] (2 원숭이/도즈 및 5 도즈 그룹을 기반으로 한 PK 매개변수)

[0543] 인간의 약물 동태학을 예측하기 위해 이들 매개변수를 스케일링하면 다른 인간 IgG1 분자의 경험적 결과에 기초하여 기대할 수 있는 것과 비슷한 인간 프로파일을 얻게된다. 인간의 반감기 (T_{1/2})는 약 18 일로 이전의 연구와 일치하였다.

[0544] 실시예 14: 사이노몰거스 원숭이에서 항체 230C9-N297Q의 약력학 (PD) 효과

[0545] 사이노몰거스 원숭이에게 항체 230C9 N297Q (ARGX-112)를 상이한 도즈(0.3, 1, 3, 10, 및 30 mg/kg)로 정맥주사하여 상기 항체의 약력학 효과를 분석하였다. 원숭이의 피부 절편도 이미퀴모드 (IMQ)로 처리하여 230C9 N297Q가 피부 염증에 미치는 영향을 평가하였다. IMQ는 마우스에서 피부 염증을 유발하는 것으로 보고되었으며 (Van Belle *et al.* 2012, J Immunol. Jan 1;188(1):462-9), 비-인간 영장류 (Poirier *et al.* 2016,

ExpDermatol. Mar 25(3):233-4; Poirier *et al*, 2016, J Immunol. Jan 1;196(1):274-83) 및 사람에서도 (Vinter *et al*, 2015, Br J Dermatol.Feb;172(2):345-53) 유사한 효과를 나타낸다.

[0546] IMQ 처리 5 일 후, IMQ로 유발된 효과에 대한 230C9N297Q의 영향을 평가하기 위해 IMQ를 처리한 피부 및 처리하지 않은 피부 부위를 가지고 생검을 실시하였다. 그 효과는 표피의 두께와 표피의 증식 핵의 빈도 (Ki67 빈도)를 비교하여 평가하였으며, 그 결과를 도 14에 나타내었다. 항체 230C9 N297Q의 증가된 투여량은 표피 두께를 정상화시키고 (도 14A), Ki67 양성 핵의 빈도를 감소시켰다 (도 14B). EC₅₀은 약 3 mg/kg이었다.

[0547] **실시예 15: 사이노물거스 원숭이에서 230C9 N297Q를 1 회 정맥주사 한 후의 혈청 PK와 피부 이식편 PD 반응과의 관계**

[0548] 사이노물거스 원숭이에게 항체 230C9 N297Q를 15 분간 정맥주사 (5 ml/kg) 한 후 피부 표적을 조사하였다. 암컷 원숭이는 시험 당일 1 일에 1, 5 또는 30 mg/kg의 230C9로 처리하거나 처리하지 않았다 (그룹 당 3 마리). 상이한 시점에서 모든 투여된 동물로부터 혈액을 채취하여 (3 x 150 μ l) 마지막 샘플을 7 일째에 회수하였다. 혈청 샘플 (1 % v/v)의 230C9N297Q 노출 수준을 ELISA에 의해 테스트하였다.

[0549] 각 동물로부터 -1 일째 (프리-도즈) 및 7 일째에 스킨 펀치 생검 (3 mm)을 샘플링하고, qPCR로 FLG2 mRNA 수준을 측정하기 전에 rhIL-22의 존재 (-1 및 7일) 또는 부재 (7 일) 하에서 24 시간 동안 37° C 가습 공기/CO₂ (95%/5%) 배양기에서 배양하였다. 그 결과는 도 15에 나타내었다.

[0550] rhIL22에 의한 자극은 총 피부 FLG2 mRNA 수준을 5 배 정도 감소시켰다. IL-22에 의해 매개된 FLG2 전사체의 억제는 230C9 N297Q 처리된 동물에서 유의하게 회복되었으며, 이는 모든 투여군에서의 유의한 피부 노출을 의미한다.

[0551] **실시예 16: 인간 및 사이노물거스 원숭이의 체외 피부 이식편에서 230C9 N297Q의 효과**

[0552] 건강한 인간 기증자로부터 갓 공급된 복부 피부를 사용하여 rhIL-22에 의해 유도된 DEFB4 mRNA 수준을 저해하는 항체 230C9N297Q의 능력을 평가하였다.

[0553] 피부 펀치 생검 (3 mm)을 96-웰 티슈 플레이트의 직립 위치에 놓고 하이드로코티존 (Invitrogen)이 없는 인간 각질세포 증식 보충제 (Human 각질형성세포 Growth Supplement, HKGS)가 포함된 100 μ L의 EpiLife 배지의 공기-액체 계면에서 배양하였다. 20 ng/ml의 rhIL-22 (R&D Systems)로 37° C 에서 추가로 24 시간 동안 자극하기 전에 상기 샘플을 항체 230C9N297Q의 농도를 증가시키면서 37° C 가습 공기/CO₂ (95%/5%) 배양기에서 24 시간 동안 배양하였다. 피부 용해물의 상대적 DEFB4 유전자 발현 수준은 검증된 유전자 발현 분석 (Applied Biosystems) 및 ABI PRISM[®] 7900HT 서열 검출 시스템을 사용하여 실시간 정량적 PCR (qPCR)에 의해 결정되었다.

[0554] 도 16은 하나의 대표적인 실험으로부터 rhIL-22에 의해 유도된 DEFB4 mRNA 수준의 농도 의존적 감소를 나타낸다 (EC₅₀ [CI95%] = 4 nM [0.5-29nM]; 4 공여자). 230C9N297Q의 사전 배양 시간을 48 시간으로 증가시키면 IL-22RA 결합 평형에 도달한 것과 유사한 효능이 얻어졌다. 아이소타입 대조군 항체는 rhIL-22에 의해 매개된 DEFB4 mRNA 수준의 증가에 영향을 미치지 않았다.

[0555] 사이노물거스 원숭이 (Macaca Fascicularis)의 갓 분리 된 피부 생검 (3 mm)에서 DEFB4 유전자는 rhIL-22에 의해 조절되지 않는다는 것이 밝혀졌다. 반대로, FLG2 및 LOR 모두는 인간 피부 이식편 실험에서와 동일한 프로토콜을 사용하여 rhIL-22로 24 시간 배양했을 때 그 발현이 감소하였다. 이러한 반응은 도 17에서 보듯이 항체 230C9 N297Q (EC50 = 11 nM, 두 유전자 모두)로 24 시간 동안 사전 배양한 결과 완전히 차단되었다.

[0556] **실시예 17: 인간 각질형성세포에서 230C9 N297Q의 효능**

[0557] 이 분석은 일차 인간 각질형성세포에서 IL-22R 항체의 효능을 시험하기 위해 고안되었다. 세포를 IL-4, IL-13, IL-22 (모두 10 ng/mL) 및 IFN- γ (1 ng/mL) 의 사이토카인 혼합물로 48 시간 동안 자극시킨 후 MSD 플랫폼을 사용하여 배양 상등액의 CCL2 수준을 측정하였다.

[0558] 각질형성세포를 EpiLife 배지 (Life Technologies)에 현탁시키고, 하기 성장 보조제를 첨가하였다: EGF; BPE; 인슐린; 트랜스페린 및 겐타마이신/암포테리신. 세포를 384 웰의 흰색 프록시 플레이트 (Perkin Elmer)에 접종하고 37° C, 5% CO₂/95% 공기 배양기에서 2 시간 동안 배양하였다. 상기 세포를 80 nL 의 항체 (도 18에 도시된 바와 같이 상이한 농도로) 또는 비히클로 처리하였다. 그런 다음 40 μ L의 자극 혼합물 (IL-4, IL-13, IL-22

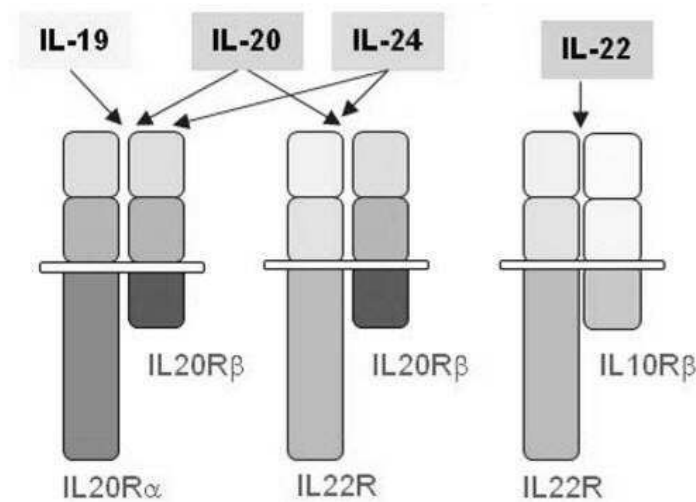
(R&D 시스템, 최종 농도 10 ng/mL) 및 IFN- γ (R&D 시스템, 최종 농도 1 ng/mL)을 상기 플레이트에 첨가하고, 이를 37° C, 5% CO₂/95% 공기 배양기에서 2 일 동안 배양하였다. 대조군 웰은 IL-4 및 IL-13 (모두 10 ng/mL), 및 IFN- γ (1 ng/mL)의 혼합물로 처리하였고, IL-22 신호 전달을 100 % 억제하는 것으로 정의하였다. 배양 상등액 중의 CCL2 농도를 MSD CCL2 키트 (Mesoscale Cat # K151AYB-2)로 측정하였다. 세포의 생존력은 PrestoBlue® 시약을 사용하여 측정하였다.

[0559] 230C9N297Q의 효능을 5 번 실험하여 테스트하였고 그 결과, 농도 의존적으로 CCL2 수준의 저해를 나타내었으며 EC₅₀ 값은 0.10 nM [0.042-0.24 nM] 이었다. 한 실험의 대표적인 실험 결과를 도 18에 나타내었다.

[0560] 본 발명은 여기에 설명된 특정 구현예에 의해 그 범주가 제한되지 않는다. 실제로, 전술한 설명 및 첨부된 도면으로부터 본원에 기술된 것에 추가하여 본 발명의 다양한 변형이 당 업자에게는 자명하다. 이러한 변형은 첨부된 청구 범위의 범주 내에 속한다. 또한, 본원에 기술된 모든 구현예는 광범위하게 적용될 수 있으며, 임의의 및 모든 다른 일관된 구현예와 적절하게 결합될 수 있다.

도면

도면1



도면2

```

1  MRTLLTILTV  GSAAHAPED  PSDLLQHVKE  QSSNFENILT  WDSGPEGTPD
51  TVYSIEYKTY  GERDWWAKKG  CQRITRKSCN  LTVETGNLTE  LYYARVTAVS
101 AGGRSATKMT  DRFSSLQHTT  LKPPDVTCIS  KVRSIQMIHV  PTPPTIRAGD
151 GHRLTLEDIF  HDLFYHLELQ  VNRTYQMHLE  GKQREYEFFG  LTPDTEFLGT
201 IMICVPTWAK  ESAPYMCVRK  TLPDRTWTYS  FSGAFLESMG  FLVAVLCYLS
251 YRYVTKPPAP  PNSLNVQVRV  TFQPLRFIQE  HVLIPVFDLS  GPSSLAQPVQ
301 YSQIRVSGPR  EPAGAPQRHS  LSEITYLGQP  DISILQPSNV  PPPQILSPLS
351 YAPNAAPEVG  PPSYAPQVTP  EAQFFFYAPQ  AISKVQPSSY  APQATPDSWP
401 PSYGVCMEGS  GKDSPTGTLS  SPKHLRPGKQ  LQKEPPAGSC  MLGGLSLQEV
451 TSLAMEESQE  AKSLHQPLGI  CTDRTSDPNV  LHSGEETGPQ  YLKGQLPLLS
501 SVQIEGHPMS  LPLQPPSRPC  SPSDQGPSPW  GLLESILVCPK  DEAKSPAPET
551 SDLEQPTELD  SLFRGLALTV  QWES

```

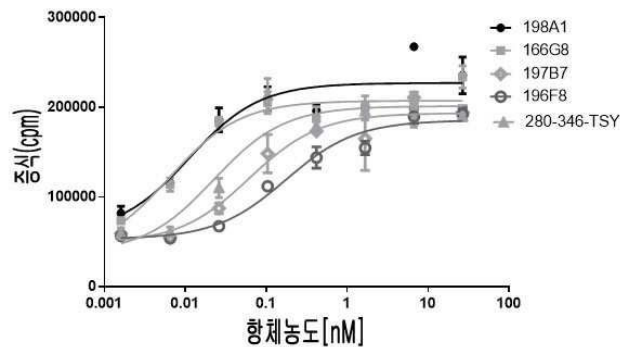

도면3

```

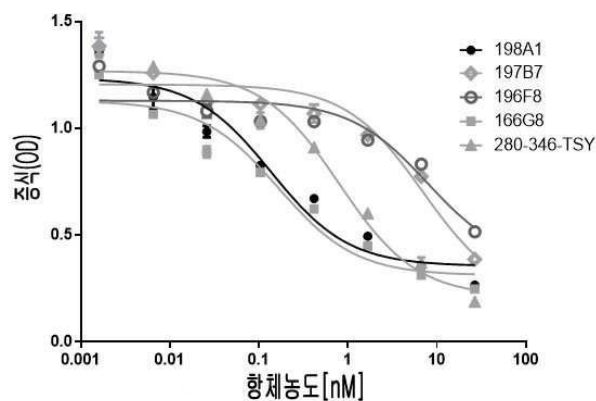
1  ATGAGGACGC TGCTGACCAT CTTGACTGTG GGATCCCTGG CTGCTCACGC CCCTGAGGAC
61  CCCTCGGATC TGCTCCAGCA CGTGAAATTC CAGTCCAGCA ACTTTGAAAA CATCCTGACG
121 TGGGACAGCG GGCCCGAGGG CACCCCAGAC ACGGTCTACA GCATCGAGTA TAAGACGTAC
181 GGAGAGAGGG ACTGGGTGGC AAAGAAGGGC TGTCAGCGGA TCACCCGGAA GTCCTGCAAC
241 CTGACGGTGG AGACGGGCAA CCTCACGGAG CTCTACTATG CCAGGGTCAC CGCTGTCAGT
301 GCGGGAGGCC GGTGAGCCAC CAAGATGACT GACAGGTTCA GCTCTCTGCA GCACACTACC
361 CTCAAGCCAC CTGATGTGAC CTGTATCTCC AAAGTGAGAT CGATTTCAGAT GATTGTTTCAT
421 CCTACCCCA CGCCCATCCG TGCAGGCGAT GGCCACCGGC TAACCCTGGA AGACATCTTC
481 CATGACCTGT TCTACCACTT AGAGCTCCAG GTCAACCGCA CCTACCAAAT GCACCTTGGA
541 GGAAGCAGA GAGAATATGA GTTCTTCGGC CTGACCCCTG ACACAGAGTT CCTTGGCACC
601 ATCATGATTT GCGTTCCAC CTGGGCCAAG GAGAGTGCCC CCTACATGTG CCGAGTGAAG
661 ACACTGCCAG ACCGGACATG GACCTACTCC TTCTCCGGAG CCTTCCTGTT CTCCATGGGC
721 TTCTTCGTGC CAGTACTCTG CTACCTGAGC TACAGATATG TCACCAAGCC GCCTGCACCT
781 CCCAACTCCC TGAACGTCCA GCGAGTCTCG ACTTTCCAGC CGCTGCGCTT CATCCAGGAG
841 CAGTCCCTGA TCCCTGTCTT TGACCTCAGC GGCCCCAGCA GTCTGGCCCA GCCTGTCCAG
901 TACTCCCAGA TCAGGGTGTC TGGACCCAGG GAGCCTGCAG GAGCTCCACA GCGGCATAGC
961 CTGTCCGAGA TCACCTACTT AGGGCAGCCA GACATCTCCA TCCTCCAGCC CTCCAACGTG
1021 CCACCTCCCC AGATCCTCTC CCCACTGTCC TATGCCCCAA ACGCTGCCCC TGAGGTGGG
1081 CCCCCATCCT ATGCACCTCA GGTGACCCCC GAAGCTCAAT TCCCATTCTA CGCCCCACAG
1141 GCCATCTCTA AGGTCCAGCC TTCCTCCTAT GCCCCTCAAG CCACTCCGGA CAGCTGGCCT
1201 CCCTCCTATG GGGTATGCAT GGAAGGTCTT GGCAAAGACT CCCCCACTGG GACACTTTCT
1261 AGTCCTAAAC ACCTTAGGCC TAAAGGTCAG CTCAGAAAG AGCCACCAGC TGGAAGCTGC
1321 ATGTTAGGTG GCCTTTCTCT GCAGGAGGTG ACCTCCTTGG CTATGGAGGA ATCCCAAGAA
1381 GCAAAATCAT TGCACCAGCC CCTGGGGATT TGCACAGACA GAACATCTGA CCCAAATGTG
1441 CTACACAGTG GGGAGGAAGG GACACCACAG TACCTAAAGG GCCAGCTCCC CCTCCTCTCC
1501 TCAGTCCAGA TCGAGGGCCA CCCCATGTCC CTCCTTTTGC AACCTCCTTC CCGTCCATGT
1561 TCCCCCTCGG ACCAAGGTCC AAGTCCCTGG GGCTGCTGG AGTCCCTTGT GTGTCCCAAG
1621 GATGAAGCCA AGAGCCCAGC CCCTGAGACC TCAGACCTGG AGCAGCCAC AGAACTGGAT
1681 TCTCTTTTCA GAGGCTTGG CCTGACTGTG CAGTGGGAGT CCTGA
    
```

도면4

A.



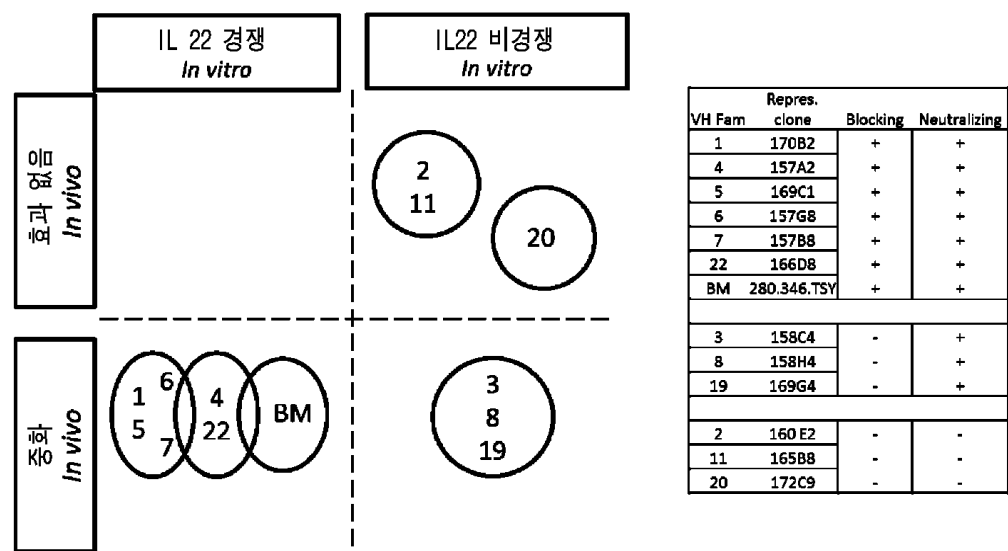
B.



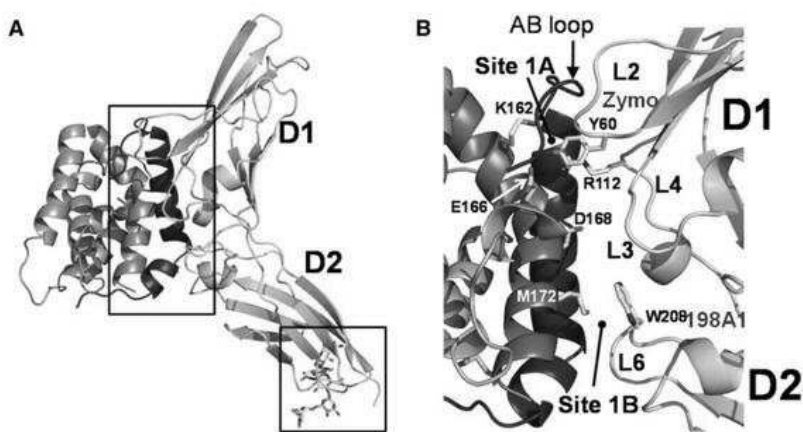
도면5

A		
BC029273.1 IL22RA1-BCD-HIS	VSIQMTVHPPTPIRAGDGHRLTLEDIFHDLFYHLEQVNRTYQM--HIGKOREYEFPGITPDTEFLGTIMICVPTWA	SEQ ID NO: 94
01113239(rhesus)	SEQ ID NO: 94
FS371752 (CYNO) X S VN S	SEQ ID NO: 95
FS368027 (CYNO) X S VN S	SEQ ID NO: 96
FS371904 (CYNO) X S VN S	SEQ ID NO: 97
	*residue directly involved in IL22 binding.	SEQ ID NO: 98
B		
human	1 LRIEYLIIRLTTCYRNLNGTAAITMGWSCIILFLVATATGVHSPEDPSDLQHVKEQSSNFENILITWDSGPEGTPDTVYSIEKTYGERDWAKKGCQRTRK	
rhesus	1	
cynol	1	
human	101 SCNLIVETGNTLELYAAVAVTAVSAGRSATKMTDRFSSIQHTTIKPPDVTCISKRSIQMTVHPPTPIRAGDGHRLTLEDIFHDLFYHLEQVNRTYQM	
rhesus	101H.....	
cynol	101H.....	
human	201 HIGKOREYEFPGITPDTEFLGTIMICVPTWAKESAPYMCVKTLPDRTWT	→huFc
rhesus	201 E S .K..... R	IGRDMDKSCDKHTGCPAPALLGRPSVFLFPPKPKDTL
cynol	200 S .K..... RG.....
	loop6 (PTW; IL22 binding, next to deletion in cyIL22R)	SEQ ID NO: 99
		SEQ ID NO: 100
		SEQ ID NO: 101

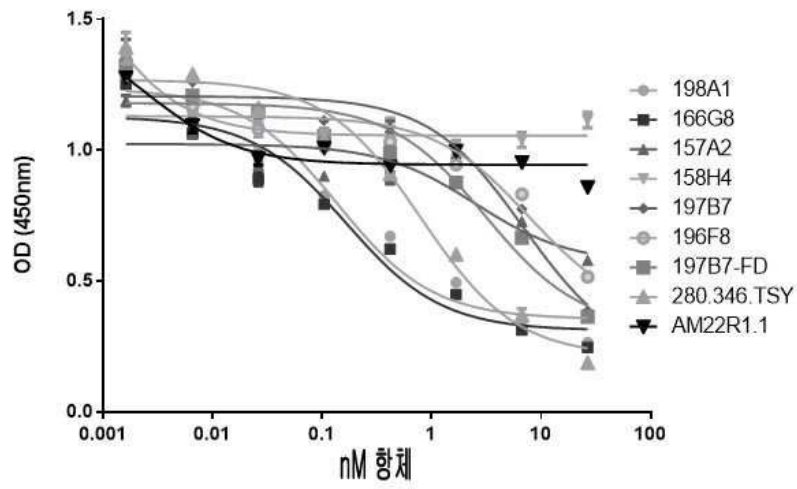
도면6



도면7

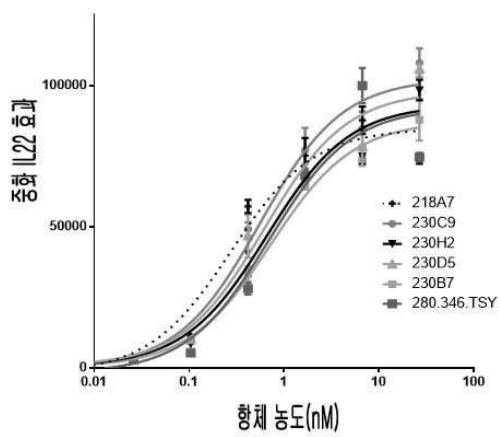


도면8

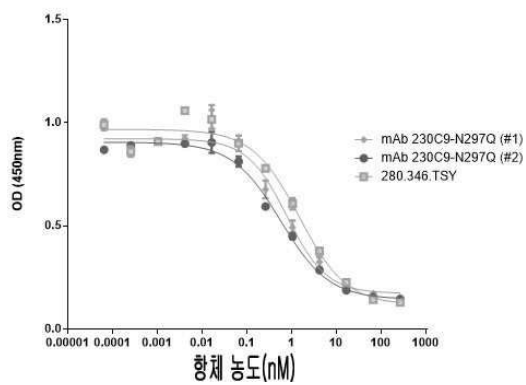


도면9

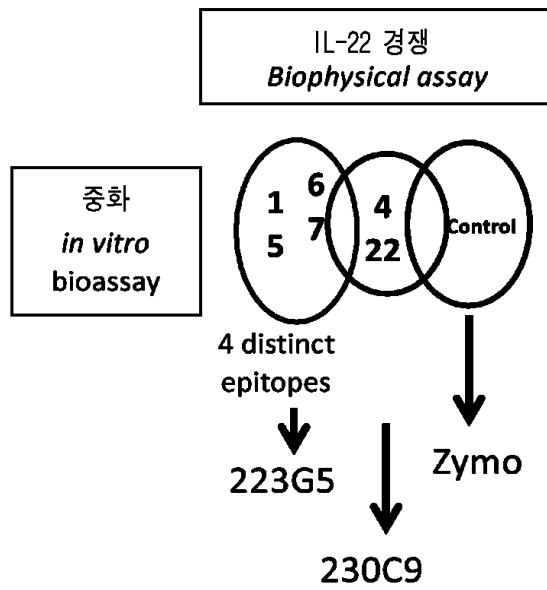
A



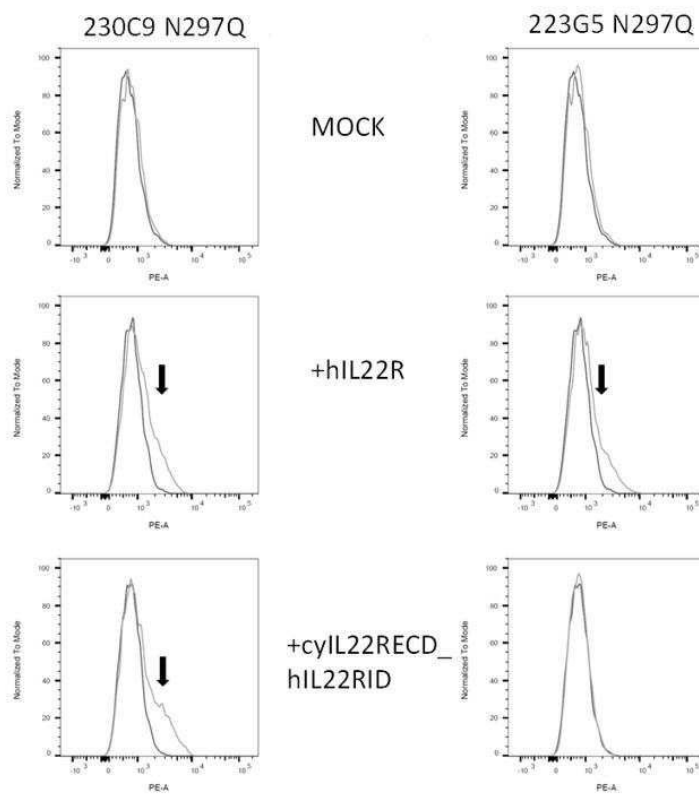
B



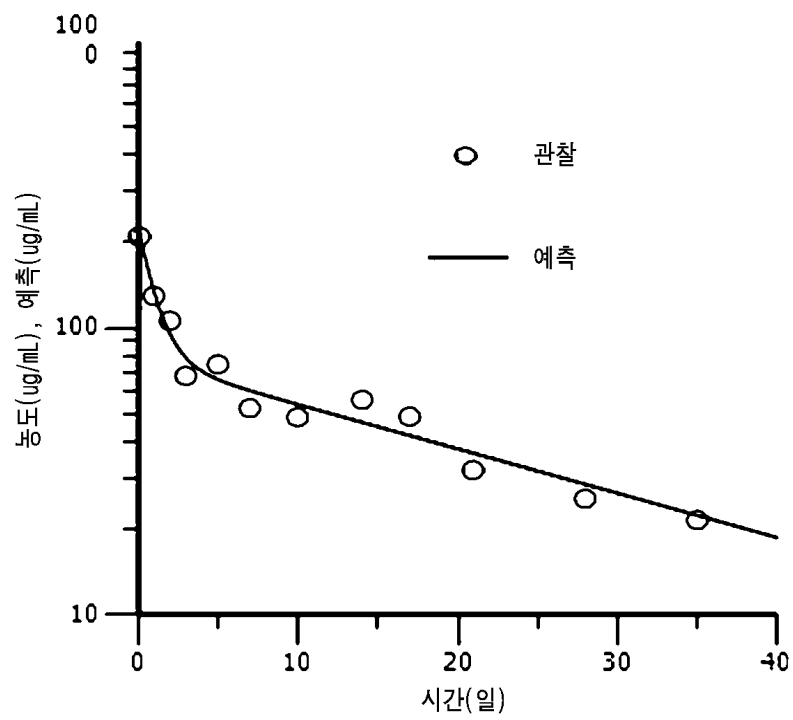
도면10



도면11

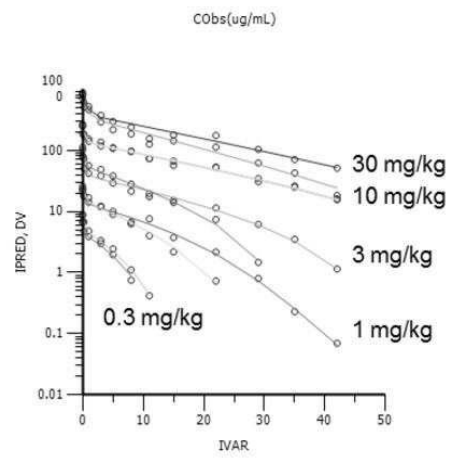


도면12

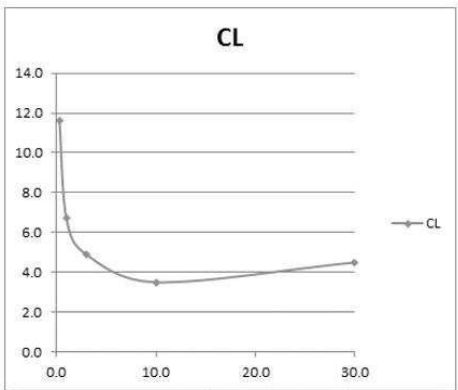


도면13

A

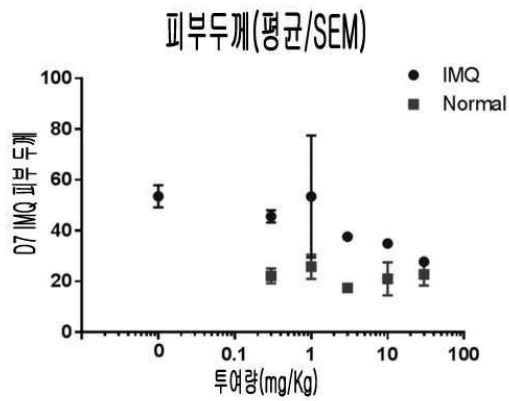


B

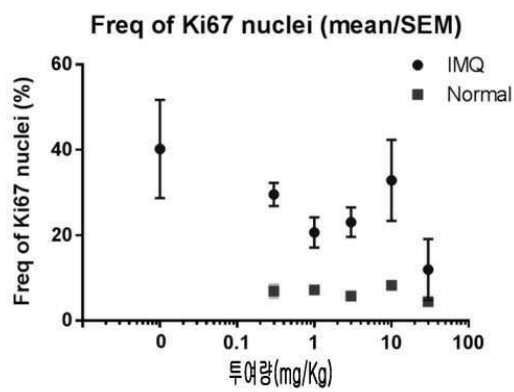


도면14

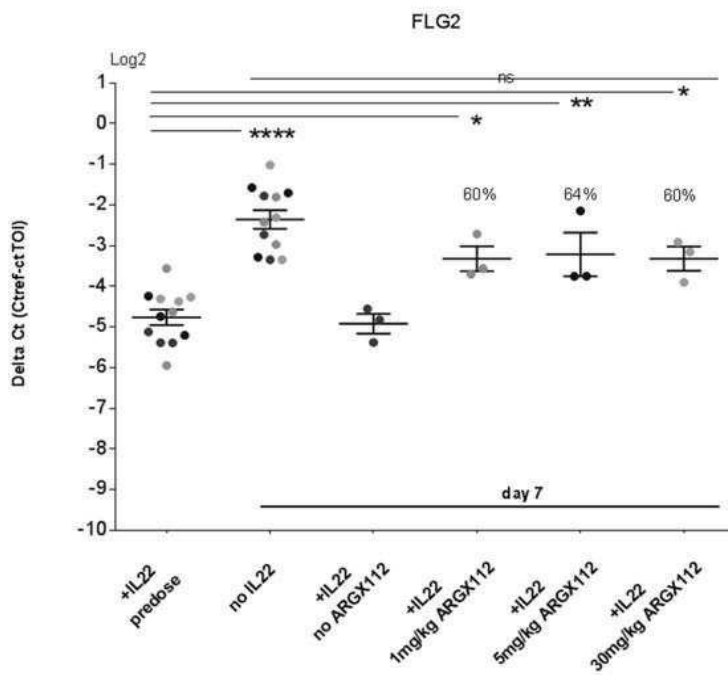
A



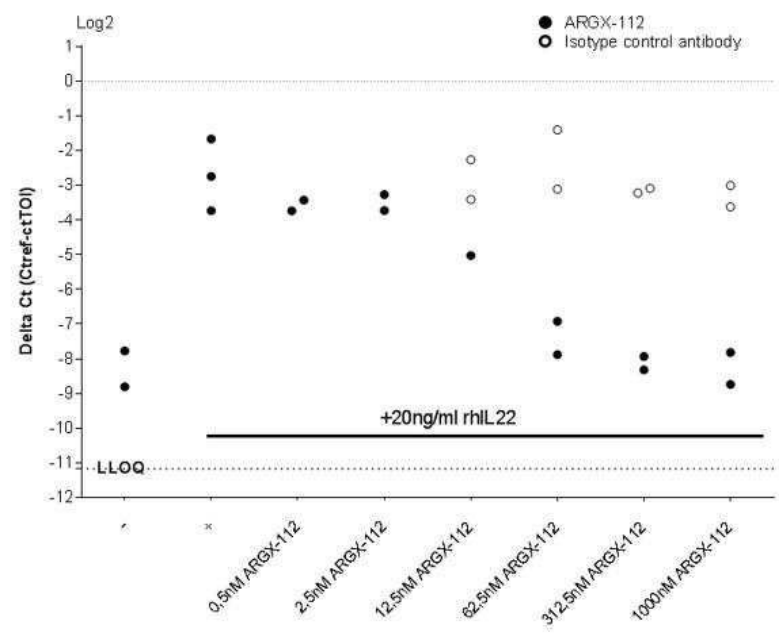
B



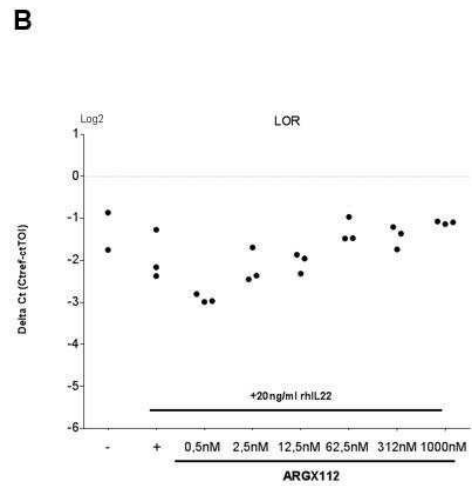
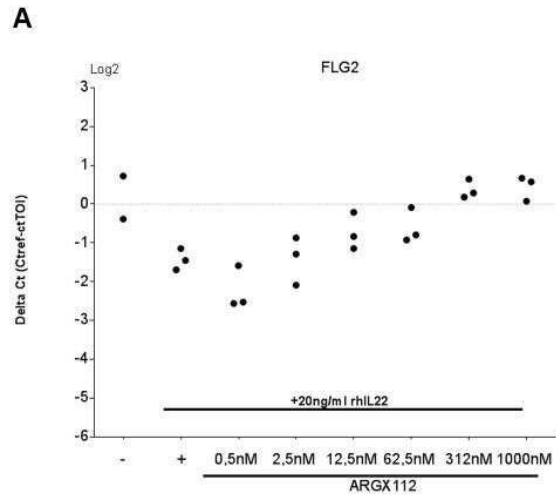
도면15



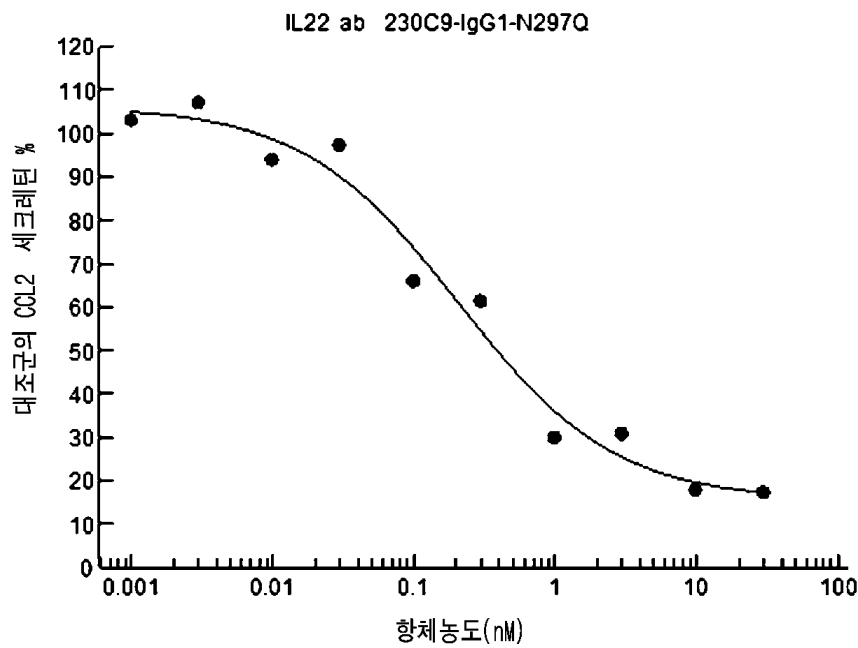
도면16



도면17



도면18



서열 목록

<110> argenx BVBA
<120> ANTI-IL-22R ANTIBODIES
<130> P144494W000
<150> GB1612337.4
<151> 2016-07-15
<160> 101
<170> PatentIn version 3.5
<210> 1
<211> 30
<212> PRT
<213> llama glama
<400> 1
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser
20 25 30
<210> 2
<211> 5

<212> PRT
 <213> llama glama
 <400> 2
 Ser Tyr Asp Met Ser
 1 5
 <210> 3
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> llama glama
 <400> 3
 Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser
 1 5 10
 <210> 4
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> llama glama
 <400> 4
 Ser Ile Tyr Asn Asp Gly Ser Asn Thr Ala Tyr Ser Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15
 Gly
 <210> 5
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> llama glama
 <400> 5
 Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln
 1 5 10 15
 Met Asn Ser Leu Lys Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Lys
 20 25 30
 <210> 6
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> llama glama

<400> 6

Val Gly Phe Ser Gly Thr Tyr Tyr Ser Glu Ser

1 5 10

<210> 7

<211> 11

<212> PRT

<213> llama glama

<400> 7

Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser

1 5 10

<210> 8

<211> 30

<212> PRT

<213> llama glama

<400> 8

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asp

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Gly

20 25 30

<210> 9

<211> 5

<212> PRT

<213> llama glama

<400> 9

Ser Tyr Phe Met Ser

1 5

<210> 10

<211> 14

<212> PRT

<213> llama glama

<400> 10

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Pro Glu Trp Val Ser

1 5 10

<210> 11
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> llama glama
 <400> 11
 Gly Ile His Ile Ser Gly Gly Ile Thr Tyr Tyr Leu Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15
 Gly

<210> 12
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> llama glama
 <400> 12
 Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln
 1 5 10 15
 Met Asn Asn Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Thr
 20 25 30

<210> 13
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> llama glama
 <400> 13
 Pro Pro Gly Pro Phe Lys Ala His Tyr Asn Gly Met Lys Tyr

1 5 10
 <210> 14
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> llama glama
 <400> 14
 Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 1 5 10
 <210> 15

<211> 22
 <212> PRT
 <213> llama glama
 <400> 15

Asn Phe Met Leu Thr Gln Pro Ser Ala Val Ser Val Ser Leu Gly Gln

1 5 10 15

Thr Ala Lys Ile Thr Cys

20

<210> 16

<211> 7

<212> PRT

<213> llama glama

<400> 16

Gln Gly Gly Tyr Tyr Ala His

1 5

<210> 17

<211> 15

<212> PRT

<213> llama glama

<400> 17

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr

1 5 10 15

<210> 18

<211> 7

<212> PRT

<213> llama glama

<400> 18

Gly Asn Asn Asn Arg Pro Ser

1 5

<210> 19

<211> 20

<212> PRT

<213> llama glama

<400> 19

Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Ala Gln Ala Glu Asp Glu Ala

1 5 10 15

Glu Tyr Tyr Cys

20

<210> 20

<211> 10

<212> PRT

<213> llama glama

<400> 20

Gln Ser Gly Ser Ser Ser Ala Asn Ala Val

1 5 10

<210> 21

<211> 10

<212> PRT

<213> llama glama

<400> 21

Phe Gly Gly Gly Thr His Leu Thr Val Leu

1 5 10

<210> 22

<211> 22

<212> PRT

<213> llama glama

<400> 22

Asn Phe Met Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Thr Leu Gly Lys

1 5 10 15

Thr Val Thr Ile Ser Cys

20

<210> 23

<211> 14

<212> PRT

<213> llama glama

<400> 23

Thr Gly Thr Ser Arg Asp Ile Gly Asp Tyr Asn Tyr Val Ser

1 5 10

<210> 24

<211> 15

<212> PRT

<213> llama glama

<400> 24

Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Leu Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr

1 5 10 15

<210> 25

<211> 7

<212> PRT

<213> llama glama

<400> 25

Lys Val Asn Thr Arg Ser Ser

1 5

<210> 26

<211> 20

<212> PRT

<213> llama glama

<400> 26

Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu Gln Ser Glu Asp Glu Ala

1 5 10 15

Asp Tyr Tyr Cys

20

<210> 27

<211> 10

<212> PRT

<213> llama glama

<400> 27

Ala Ser Tyr Arg Leu Tyr Ala Asp Tyr Val

1 5 10

<210> 28

<211> 10

<212> PRT
 <213> llama glama
 <400> 28
 Phe Gly Gly Gly Thr His Leu Thr Val Leu
 1 5 10
 <210> 29
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> llama glama
 <400> 29
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Asp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Ser Ile Tyr Asn Asp Gly Ser Asn Thr Ala Tyr Ser Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Lys Val Gly Phe Ser Gly Thr Tyr Tyr Ser Glu Ser Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
 115 120
 <210> 30
 <211> 103
 <212> PRT
 <213> llama glama
 <400> 30
 Asn Phe Met Leu Thr Gln Pro Ser Ala Val Ser Val Ser Leu Gly Gln
 1 5 10 15

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

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

<210> 31
 <211> 123
 <212> PRT
 <213> llama glama
 <400> 31

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

115 120
 <210> 32
 <211> 110
 <212> PRT
 <213> llama glama
 <400> 32
 Asn Phe Met Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Thr Leu Gly Lys

1 5 10 15
 Thr Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Arg Asp Ile Gly Asp Tyr
 20 25 30
 Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Leu Ala Pro Lys Leu
 35 40 45
 Leu Ile Tyr Lys Val Asn Thr Arg Ser Ser Gly Thr Pro Asp Arg Phe
 50 55 60
 Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
 65 70 75 80

Gln Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ser Tyr Arg Leu Tyr
 85 90 95
 Ala Asp Tyr Val Phe Gly Gly Gly Thr His Leu Thr Val Leu
 100 105 110

<210> 33
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> llama glama
 <400> 33
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

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

<210> 34
 <211> 5
 <212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Germlined antibody fragment

<400> 34

Ser Tyr Asp Met Asn

1 5

<210> 35

<211> 14

<212> PRT

<213> llama glama

<400> 35

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

1 5 10

<210> 36

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Germlined antibody sequence

<400> 36

Ser Ile Tyr Asn Asp Ala Ser Asn Thr Ala Tyr Ser Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 37

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Germlined antibody sequence

<400> 37

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln

1 5 10 15

Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Lys

20 25 30

<210> 38

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Germlined antibody sequence

<400> 38

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

1 5 10

<210> 39

<211> 30

<212> PRT

<213> llama glama

<400> 39

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser

20 25 30

<210> 40

<211> 14

<212> PRT

<213> llama glama

<400> 40

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Pro Glu Trp Val Ser

1 5 10

<210> 41

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Germlined antibody sequence

<400> 41

Gly Ile His Ile Ser Gly Gly Ile Thr Tyr Tyr Thr Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 42

<211> 32
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Germlined antibody sequence

<400> 42
 Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln
 1 5 10 15
 Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Thr
 20 25 30

<210> 43
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Germlined antibody sequence
 <400> 43

Pro Pro Gly Pro Phe Lys Ala His Tyr Asn Gly Ala Lys Tyr
 1 5 10

<210> 44
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> llama glama
 <400> 44

Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 1 5 10

<210> 45
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> llama glama
 <400> 45

Leu Pro Val Leu Thr Gln Pro Ser Ala Val Ser Val Ser Leu Gly Gln
 1 5 10 15
 Thr Ala Arg Ile Thr Cys
 20

<210> 46
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> llama glama
 <400> 46
 Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr

1 5 10 15
 <210> 47
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> llama glama
 <400> 47
 Gly Gln Asn Asn Arg Pro Ser

1 5
 <210> 48
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> llama glama
 <400> 48
 Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Ala Gln Ala Glu Asp Glu Ala

1 5 10 15
 Glu Tyr Tyr Cys
 20
 <210> 49
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> llama glama
 <400>

> 49
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 1 5 10
 <210> 50
 <211> 22
 <212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Germlined antibody sequence

<400> 50

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

1 5 10 15

Thr Ala Arg Ile Thr Cys

20

<210> 51

<211> 15

<212> PRT

<213> llama glama

<400> 51

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr

1 5 10 15

<210> 52

<211> 360

<212> PRT

<213> llama glama

<400> 52

Cys Ala Gly Gly Thr Gly Cys Ala Gly Cys Thr Cys Gly Thr Gly Gly

1 5 10 15

Ala Gly Thr Cys Thr Gly Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Cys Thr Thr

20 25 30

Gly Gly Thr Gly Cys Ala Gly Cys Cys Thr Gly Gly Gly Gly Gly Thr

35 40 45

Thr Cys Thr Cys Thr Gly Ala Gly Ala Cys Thr Cys Thr Cys Cys Thr

50 55 60

Gly Thr Gly Cys Ala Gly Cys Cys Thr Cys Thr Gly Gly Ala Thr Thr

65 70 75 80

Cys Ala Cys Cys Thr Thr Cys Ala Gly Thr Ala Gly Cys Thr Ala Cys

85 90 95

Gly Ala Cys Ala Thr Gly Ala Gly Cys Thr Gly Gly Gly Thr Cys Cys

100 105 110

Gly Cys Cys Ala Gly Gly Cys Thr Cys Cys Ala Gly Gly Gly Ala Ala

115

120

125

Gly Gly Gly Gly Cys Thr Gly Gly Ala Gly Thr Gly Gly Gly Thr Gly

130

135

140

Thr Cys Cys Ala Gly Thr Ala Thr Thr Thr Ala Thr Ala Ala Thr Gly

145

150

155

160

Ala Cys Gly Gly Thr Ala Gly Thr Ala Ala Cys Ala Cys Ala Gly Cys

165

170

175

Cys Thr Ala Thr Thr Cys Ala Gly Ala Cys Thr Cys Cys Gly Thr Gly

180

185

190

Ala Ala Gly Gly Gly Cys Cys Gly Ala Thr Thr Cys Ala Cys Cys Ala

195

200

205

Thr Cys Thr Cys Cys Ala Gly Ala Gly Ala Cys Ala Ala Cys Gly Cys

210

215

220

Cys Ala Ala Gly Ala Ala Cys Ala Cys Gly Thr Thr Gly Thr Ala Thr

225

230

235

240

Cys Thr Gly Cys Ala Ala Ala Thr Gly Ala Ala Cys Ala Gly Cys Thr

245

250

255

Thr Gly Ala Ala Ala Thr Cys Thr Gly Ala Gly Gly Ala Cys Ala Cys

260

265

270

Gly Gly Cys Cys Gly Thr Gly Thr Ala Thr Thr Ala Cys Thr Gly Thr

275

280

285

Gly Cys Ala Ala Ala Ala Gly Thr Thr Gly Gly Cys Thr Thr Thr Ala

290

295

300

Gly Thr Gly Gly Thr Ala Cys Thr Thr Ala Cys Thr Ala Cys Ala Gly

305

310

315

320

Thr Gly Ala Ala Thr Cys Ala Thr Gly Gly Gly Gly Cys Cys Ala Gly

325

330

335

Gly Gly Gly Ala Cys Cys Cys Ala Gly Gly Thr Cys Ala Cys Cys Gly

340

345

350

Thr Gly Thr Cys Cys Thr Cys Ala

355 360

<210> 53

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Germlined antibody sequence

<400> 53

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

1 5 10 15

Asp Tyr Tyr Cys

20

<210> 54

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Germlined antibody sequence

<400> 54

Gln Ser Gly Ser Ser Ser Ser Asn Ala Val

1 5 10

<210> 55

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Germlined antibody sequence

<400> 55

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

1 5 10

<210> 56

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Germlined antibody sequence

<400> 56

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

1 5 10 15

Ser Val Thr Ile Ser Cys

20

<210> 57

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Germlined antibody sequence

<400> 57

Thr Gly Thr Ser Ser Asp Ile Gly Ser Tyr Asn Tyr Val Ser

1 5 10

<210> 58

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Germlined antibody sequence

<400> 58

Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr

1 5 10 15

<210> 59

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Germlined antibody sequence

<400> 59

Glu Val Asn Lys Arg Ser Ser

1 5

<210> 60

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Germlined antibody sequence

<400> 60

Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu Gln Ala Glu Asp Glu Ala

1 5 10 15

Asp Tyr Tyr Cys

20

<210> 61

<211> 10

<212> PRT

<213> llama glama

<400> 61

Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Thr Val Leu

1 5 10

<210> 62

<211> 103

<212> PRT

<213> llama glama

<400> 62

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

1 5 10 15

Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gln Gly Gly Tyr Tyr Ala His Trp Tyr Gln

20 25 30

Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr Gly Gln Asn Asn

35 40 45

Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ala Gly Asn

50 55 60

Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Ala Gln Ala Glu Asp Glu Ala Glu

65 70 75 80

Tyr Tyr Cys Gln Ser Gly Ser Ser Ser Ala Asn Ala Val Phe Gly Gly

85 90 95

Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

100

<210> 63

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Germlined antibody sequence

<400> 63

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr

20 25 30

Asp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ser Ser Ile Tyr Asn Asp Ala Ser Asn Thr Ala Tyr Ser Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Lys Val Gly Phe Ser Gly Thr Tyr Tyr Ser Glu Ser Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 64

<211> 103

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Germlined antibody sequence

<400> 64

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

1 5 10 15

Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gln Gly Gly Tyr Tyr Ala His Trp Tyr Gln

20 25 30

Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr Gly Gln Asn Asn

35 40 45

Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ala Gly Asn
50 55 60

Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Ala Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp
65 70 75 80

Tyr Tyr Cys Gln Ser Gly Ser Ser Ser Ser Asn Ala Val Phe Gly Gly
85 90 95

Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100

<210> 65

<211> 123

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

><223> Germlined antibody sequence

<400> 65

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

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

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

Ser Gly Ile His Ile Ser Gly Gly Ile Thr Tyr Tyr Thr Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Val Thr Pro Pro Gly Pro Phe Lys Ala His Tyr Asn Gly Ala Lys Tyr
100 105 110

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

<210> 66

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Germlined antibody sequence

<400> 66

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

1 5 10 15

Ser Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Ile Gly Ser Tyr

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu

65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ser Tyr Arg Leu Tyr

85 90 95

Ala Asp Tyr Val Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Thr Val Leu

100 105 110

<210> 67

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Germlined antibody sequence

<400> 67

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr

20 25 30

Asp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ser Ser Ile Tyr Asn Asp Ala Ser Asn Thr Ala Tyr Ser Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Lys Val Gly Phe Ser Gly Thr Tyr Tyr Ser Glu Ser Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val

115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala

130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser

145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val

165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro

180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys

195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp

210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly

225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile

245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu

260 265 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His

275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Gln Ser Thr Tyr Arg

290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys

305 310 315 320
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 325 330 335
 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 340 345 350
 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu

 355 360 365
 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 370 375 380
 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 385 390 395 400
 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 405 410 415
 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 420 425 430

 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 435 440 445
 Gly Lys
 450
 <210> 68
 <211> 209
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Germlined antibody sequence
 <400> 68
 Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Ser Ser Val Ser Val Ala Leu Gly Gln
 1 5 10 15
 Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gln Gly Gly Tyr Tyr Ala His Trp Tyr Gln
 20 25 30

 Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr Gly Gln Asn Asn
 35 40 45
 Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ala Gly Asn

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

100 105 110
 Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr
 115 120 125
 Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala
 130 135 140
 Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr
 145 150 155 160
 Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser
 165 170 175

Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val
 180 185 190
 Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys
 195 200 205
 Ser

<210> 69

<211> 453

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Germlined antibody sequence

<400> 69

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Phe Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Pro Glu Trp Val

35 40 45
 Ser Gly Ile His Ile Ser Gly Gly Ile Thr Tyr Tyr Thr Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Val Thr Pro Pro Gly Pro Phe Lys Ala His Tyr Asn Gly Ala Lys Tyr
 100 105 110
 Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
 115 120 125
 Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly
 130 135 140
 Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val
 145 150 155 160
 Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
 165 170 175
 Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
 180 185 190
 Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val
 195 200 205
 Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys
 210 215 220
 Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu
 225 230 235 240
 Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
 245 250 255
 Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
 260 265 270
 Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
 275 280 285
 Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Gln Ser

290 295 300
 Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
 305 310 315 320
 Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala
 325 330 335
 Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
 340 345 350
 Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln
 355 360 365
 Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala

 370 375 380
 Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
 385 390 395 400
 Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu
 405 410 415
 Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
 420 425 430
 Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
 435 440 445

 Leu Ser Pro Gly Lys
 450
 <210> 70
 <211> 216
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Germlined antibody sequence
 <400> 70
 Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
 1 5 10 15
 Ser Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Ile Gly Ser Tyr
 20 25 30
 Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu

35 40 45
 Leu Ile Tyr Glu Val Asn Lys Arg Ser Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
 50 55 60
 Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
 65 70 75 80
 Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ser Tyr Arg Leu Tyr
 85 90 95
 Ala Asp Tyr Val Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Thr Val Leu Gly Gln
 100 105 110
 Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu
 115 120 125
 Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr
 130 135 140
 Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys
 145 150 155 160
 Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr
 165 170 175
 Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His
 180 185 190
 Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys
 195 200 205
 Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
 210 215
 <210> 71
 <211> 574
 <212> PRT
 <213> homo sapiens
 <400> 71
 Met Arg Thr Leu Leu Thr Ile Leu Thr Val Gly Ser Leu Ala Ala His
 1 5 10 15
 Ala Pro Glu Asp Pro Ser Asp Leu Leu Gln His Val Lys Phe Gln Ser

20	25	30
Ser Asn Phe Glu Asn Ile Leu Thr Trp Asp Ser Gly Pro Glu Gly Thr		
35	40	45
Pro Asp Thr Val Tyr Ser Ile Glu Tyr Lys Thr Tyr Gly Glu Arg Asp		
50	55	60
Trp Val Ala Lys Lys Gly Cys Gln Arg Ile Thr Arg Lys Ser Cys Asn		
65	70	75
80		
Leu Thr Val Glu Thr Gly Asn Leu Thr Glu Leu Tyr Tyr Ala Arg Val		
85	90	95
Thr Ala Val Ser Ala Gly Gly Arg Ser Ala Thr Lys Met Thr Asp Arg		
100	105	110
Phe Ser Ser Leu Gln His Thr Thr Leu Lys Pro Pro Asp Val Thr Cys		
115	120	125
Ile Ser Lys Val Arg Ser Ile Gln Met Ile Val His Pro Thr Pro Thr		
130	135	140
Pro Ile Arg Ala Gly Asp Gly His Arg Leu Thr Leu Glu Asp Ile Phe		
145	150	155
160		
His Asp Leu Phe Tyr His Leu Glu Leu Gln Val Asn Arg Thr Tyr Gln		
165	170	175
Met His Leu Gly Gly Lys Gln Arg Glu Tyr Glu Phe Phe Gly Leu Thr		
180	185	190
Pro Asp Thr Glu Phe Leu Gly Thr Ile Met Ile Cys Val Pro Thr Trp		
195	200	205
Ala Lys Glu Ser Ala Pro Tyr Met Cys Arg Val Lys Thr Leu Pro Asp		
210	215	220
Arg Thr Trp Thr Tyr Ser Phe Ser Gly Ala Phe Leu Phe Ser Met Gly		
225	230	235
240		
Phe Leu Val Ala Val Leu Cys Tyr Leu Ser Tyr Arg Tyr Val Thr Lys		
245	250	255
Pro Pro Ala Pro Pro Asn Ser Leu Asn Val Gln Arg Val Leu Thr Phe		
260	265	270

Gln Pro Leu Arg Phe Ile Gln Glu His Val Leu Ile Pro Val Phe Asp
275 280 285

Leu Ser Gly Pro Ser Ser Leu Ala Gln Pro Val Gln Tyr Ser Gln Ile
290 295 300

Arg Val Ser Gly Pro Arg Glu Pro Ala Gly Ala Pro Gln Arg His Ser
305 310 315 320

Leu Ser Glu Ile Thr Tyr Leu Gly Gln Pro Asp Ile Ser Ile Leu Gln
325 330 335

Pro Ser Asn Val Pro Pro Pro Gln Ile Leu Ser Pro Leu Ser Tyr Ala
340 345 350

Pro Asn Ala Ala Pro Glu Val Gly Pro Pro Ser Tyr Ala Pro Gln Val
355 360 365

Thr Pro Glu Ala Gln Phe Pro Phe Tyr Ala Pro Gln Ala Ile Ser Lys
370 375 380

Val Gln Pro Ser Ser Tyr Ala Pro Gln Ala Thr Pro Asp Ser Trp Pro
385 390 395 400

Pro Ser Tyr Gly Val Cys Met Glu Gly Ser Gly Lys Asp Ser Pro Thr
405 410 415

Gly Thr Leu Ser Ser Pro Lys His Leu Arg Pro Lys Gly Gln Leu Gln
420 425 430

Lys Glu Pro Pro Ala Gly Ser Cys Met Leu Gly Gly Leu Ser Leu Gln
435 440 445

Glu Val Thr Ser Leu Ala Met Glu Glu Ser Gln Glu Ala Lys Ser Leu
450 455 460

His Gln Pro Leu Gly Ile Cys Thr Asp Arg Thr Ser Asp Pro Asn Val
465 470 475 480

Leu His Ser Gly Glu Glu Gly Thr Pro Gln Tyr Leu Lys Gly Gln Leu
485 490 495

Pro Leu Leu Ser Ser Val Gln Ile Glu Gly His Pro Met Ser Leu Pro
500 505 510

Leu Gln Pro Pro Ser Arg Pro Cys Ser Pro Ser Asp Gln Gly Pro Ser
515 520 525

Pro Trp Gly Leu Leu Glu Ser Leu Val Cys Pro Lys Asp Glu Ala Lys

530	535	540	
Ser Pro Ala Pro Glu Thr	Ser Asp Leu Glu Gln Pro Thr Glu Leu Asp		
545	550	555	560
Ser Leu Phe Arg Gly Leu Ala Leu Thr Val Gln Trp Glu Ser			
	565	570	
<210>	72		
<211>	1725		
<212>	DNA		
<213>	homo sapiens		
<400>	72		
atgaggacgc tgctgacat cttgactgtg ggatccctgg ctgctcacgc ccctgaggac		60	
ccctcggatc tgctccagca cgtgaaattc cagtcagca actttgaaaa catcctgacg		120	
tggtgacagc ggccggaggg caccacagac acggtctaca gcatcgagta taagacgtac		180	
ggagagaggg actgggtggc aaagaagggc tgcagcgga tcaccggaa gtcctgcaac		240	
ctgacggtag agacgggcaa cctcacggag ctctactatg ccagggtcac cgtgtcagt		300	
gcgggaggcc ggtcagccac caagatgact gacagggtca gctctctgca gcacactacc		360	
ctcaagccac ctgatgtgac ctgtatctcc aaagttagat cgattcagat gattgttcat		420	
cctaccccca cgcccatccg tgcaggcgat ggccaccggc taacctgga agacatcttc		480	
catgacctgt tctaccactt agagctccag gtcaaccgca cctaccaaata gcaccttga		540	
gggaagcaga gagaataatga gttcttcggc ctgacctctg acacagagtt ccttggcacc		600	
atcatgattt gcgttccac ctggccaag gagagtgcct cctacatgtg ccgagtgaag		660	
acactgccag accggacatg gacctactcc ttctcggag ctttctgtt ctccatgggc		720	
ttctcgtcg cagtactctg ctacctgagc tacagatatg tcaccaagcc gcctgcacct		780	
cccaactccc tgaacgtcca gcgagtcctg actttccagc cgctgcgctt catccaggag		840	
cacgtctga tccctgtctt tgacctcagc ggccccagca gtctggccca gcctgtccag		900	
tactcccaga tcagggtgtc tggaccagg gagcctgcag gagctccaca gcggcatagc		960	
ctgtccgaga tcacctactt agggcagcca gacatctcca tctccagcc ctccaacgtg		1020	
ccacctcccc agatctctc cccactgtcc tatgccccaa acgtgcccc tgaggtcggg		1080	
ccccatctt atgcacctca ggtgaccccc gaagctcaat tccattcta cgcacacag		1140	
gccatctcta aggtccagcc ttctctctat gccctcaag ccaactccga cagctggcct		1200	

ccctcctatg gggatgcat ggaagggttct ggcaaagact cccccactgg gacactttct 1260
agtcctaaac accttaggcc taaagggtcag ctccagaaag agccaccagc tggaagctgc 1320
atgttaggtg gcctttctct gcaggaggtg acctccttgg ctatggagga atcccaagaa 1380

gcaaaatcat tgcaccagcc cctggggatt tgcacagaca gaacatctga cccaaatgtg 1440
ctacacagtg gggaggaagg gacaccacag tacctaaagg gccagctccc cctcctctcc 1500
tcagtccaga tcgagggccca ccccatgtcc ctccctttgc aacctccttc cgtccatgt 1560
tccccctcgg accaaggtcc aagtccttgg ggctgtctgg agtccttgt gtgtcccaag 1620
gatgaagcca agagcccagc ccttgagacc tcagacctgg agcagcccac agaactggat 1680
tctcttttca gaggcctggc cctgactgtg cagtgggagt cctga 1725

<210> 73

<211> 309

<212> DNA

<213> llama glama

<400> 73

aattttatgc tgactcagcc ctccgcgtg tccgtgtctt tgggacagac ggccaagatc 60
acctgccaag ggggctatta tgetcactgg taccagcaga agccaggcca ggccccgtg 120
ttggtcatct atggaaataa taataggccc tcagggatcc ctgagcgctt ctctggctcc 180
agttctggga acacagccac cctgaccatc agcggggccc aggctgagga cgaggccgag 240
tattactgtc agtcaggaag cagtagtgct aatgtgtgt tcggcggagg gacccatctg 300
accgtcctg 309

<210>

> 74

<211> 369

<212> DNA

<213> llama glama

<400> 74

caggtgcagc tggtaggtc tgggggaggc ttggtgcagc ctggggattc tctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccttcgga agctatttca tgagctgggt ccgccaggt 120
ccaggaaagg ggcccagtg ggtctcaggt attcatatta gtggtggtat tacatactac 180
ttagactccg tgaagggccg attcaccatc tcagagaca acgccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaatga acaacctgaa acctgaggac acggccgtgt attattgtgt aacacccccg 300
ggccccctta aggccattta caatggcatg aagtactggg gcaaaggac cctggtcacc 360

gtctcctca 369

<210> 75

<211> 330

<212> DNA

<213> llama glama

<400> 75

aattttatgc tgactcagcc tccctccgtg tctggaactc tgggaaagac ggtcaccatc 60

tcctgcactg gaaccagtcg tgacattggg gactataact atgtctcctg gtatcaacag 120

ctcccaggat tggcccccaa actcctgacg tataaagtca aactcagac ctcagggacc 180

cctgatcgct tccttggtc caagtcaggc aacacggcct cctgacat ctcctgggtc 240

cagtctgagg acgaggctga ttattactgt gcctcatata gactgtacgc cgattatgtg 300

ttcggcggag ggacccatct gaccgtcctg 330

<210> 76

<211> 360

<212> DNA

<213> llama glama

<400> 76

caggtgcagc tcgtggagtc tgggggaggc ttggtgcagc ctgggggttc tctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt agctacgaca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtgtccagt atttataatg acggtagtaa cacagcctat 180

tcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa cacgttgtat 240

ctgcaaatga acagcttgaa atctgaggac acggccgtgt attactgtgc aaaagttggc 300

tttagtggta cttactacag tgaatcatgg ggccagggga cccaggtcac cgtgtcctca 360

360

<210> 77

<211> 309

<212> DNA

<213> llama glama

<400> 77

ctgcctgtgc tgactcagcc ctccgcggtg tccgtgtctt tgggacagac ggccaggatc 60

acctgccaag ggggctatta tgctcactgg taccagcaga agccaggcca ggccctgtg 120

ctggtcatct atggacagaa taataggccc tcagggatcc ctgagcgctt ctcctggctcc 180

ggcgcctggga acacagccac cctgaccatc agcggggccc aggctgagga cgaggctgag	240
tattactgtc agtcaggaag cagtagtgct aatgctgtgt tcggcggagg gaccaagctg	300
accgtcctc	309
<210> 78	
<211> 360	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Germlined antibody sequence	
<400> 78	
caggtgcagc tcgtggagtc tgggggaggc ttggtgcagc ctgggggttc tctgagactc	60
tcctgtgctg cctctggatt caccttcagt agctacgaca tgaactgggt ccgccaggct	120
ccaggaagg ggctggagtg ggtgtccagc atttataacg acgccagtaa cacagcctat	180
tcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca actcaaagaa cacgttgtat	240
ctgcaaatga acagcctgag agctgaggac acggccgtgt attactgtgc gaaagttggc	300
tttagtggtta cttactacag tgaatcatgg ggccaggga cctcgtcac tgtctcctca	360
	360
<210> 79	
<211> 309	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Germlined antibody sequence	
<400> 79	
tcctacgaac tgactcagcc ctctcgggtg tccgtggcgt tgggacagac ggccaggatc	60
acctgccaag gaggtatatta tgcacactgg taccagcaga agccaggcca ggcccctgtg	120
ctggtcatct atggacagaa taataggecc tcagggatcc ctgagcgctt ctctggctcc	180
ggcgcctggga acacagccac cctgacaatc agccgcgccc aggctgagga cgaggctgac	240
tattactgtc agtcaggaag cagtagttct aatgctgtgt tcggcggagg gaccaagctg	300
accgtcctc	309
<210> 80	
<211> 369	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	

<220><223> Germlined antibody sequence

<400> 80

caggtgcagc tcgtggagtc tgggggcggc ttggtgcagc ctggggattc tctgagactc	60
tcctgtgcag ccctctggatt caccttcagt agctatttca tgagctgggt ccgccaggct	120
ccaggaaagg ggcccagtg ggtctcaggc attcatatta gtggtggtat tacatactac	180
acggactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgcaaagaa cacgctgtat	240
ctgcaaatga acagcctgag agctgaggac acggccgtgt attatttgtt aacacccccg	300
ggccccttta aggcccata caatggcgcg aagtactggg gcaaaggac cctggtcact	360
gtctcctca	369

<210> 81

<211> 330

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Germlined antibody sequence

<400> 81

cagtctgcc tgactcagcc tccctccgtg tctggatctc ctggacagtc tgtcaccatc	60
tcctgcactg gaaccagtag tgacattggg tcctataact atgtctcctg gtaacacag	120
ctcccaggaa agggcccaaa actcctgac tatgaggtca acaagcgatc ctgaggggtc	180
cctgatcgct tctctggctc caatcaggc aacacggcct ccctgacat ctctgggctc	240
caggctgagg acgaggctga ttattactgt gcctcatata gactgtacgc cgattatgtg	300
ttcggcggag ggacccaact gaccgtctc	330

<210> 82

<211> 10

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 82

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr

1	5	10
---	---	----

<210> 83

<211> 5

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 83

Cys Pro Pro Cys Pro

1 5

<210> 84

<211> 8

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 84

Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro

1 5

<210> 85

<211> 12

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 85

Glu Leu Lys Thr Pro Leu Gly Asp Thr Thr His Thr

1 5 10

<210> 86

<211> 50

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 86

Cys Pro Arg Cys Pro Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys

1 5 10 15

Pro Arg Cys Pro Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro

20 25 30

Arg Cys Pro Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg

35 40 45

Cys Pro

50

<210> 87

<211> 8

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 87

Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro

1 5

<210> 88

<211> 7

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 88

Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro

1 5

<210> 89

<211> 5

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 89

Cys Pro Ser Cys Pro

1 5

<210> 90

<211> 8

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 90

Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro

1 5

<210> 91

<211> 3

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 91

Glu Arg Lys

1

<210> 92

<211> 10

<212> PRT
 <213> homo sapiens
 <400> 92
 Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Pro Cys Pro
 1 5 10
 <210> 93
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> homo sapiens
 <400>
 > 93
 Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro
 1 5
 <210> 94
 <211> 78
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> EST sequence
 <400> 94
 Val Arg Ser Ile Gln Met Ile Val His Pro Thr Pro Thr Pro Ile Arg
 1 5 10 15
 Ala Gly Asp Gly His Arg Leu Thr Leu Glu Asp Ile Phe His Asp Leu
 20 25 30
 Phe Tyr His Leu Glu Leu Gln Val Asn Arg Thr Tyr Gln Met His Leu
 35 40 45
 Gly Gly Lys Gln Arg Glu Tyr Glu Phe Phe Gly Leu Thr Pro Asp Thr
 50 55 60
 Glu Phe Leu Gly Thr Ile Met Ile Cys Val Pro Thr Trp Ala
 65 70 75
 <210> 95
 <211> 78
 <212> PRT
 <213> macaca mulatta
 <400> 95

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

Phe Tyr His Leu Glu Leu Gln Val Asn Arg Thr Tyr Gln Met His Leu
 35 40 45
 Gly Gly Glu Gln Arg Glu Tyr Glu Phe Phe Gly Leu Thr Pro Asp Thr
 50 55 60

Glu Phe Leu Gly Thr Ile Met Ile Cys Val Pro Thr Trp Ser
 65 70 75

<210> 96

<211> 79

<212> PRT

<213> macaca fascicularis

<400> 96

Val Arg Ser Ile Gln Met Ile Val His Pro Thr Pro Thr Pro Ile Arg
 1 5 10 15

Ala Gly Asp Gly His Arg Leu Thr Leu Glu Asp Ile Tyr Asp Leu Ser
 20 25 30

Tyr His Leu Glu Leu Gln Val Asn Arg Thr Tyr Gln Met Val Asn His
 35 40 45

Leu Gly Gly Lys Gln Arg Glu Tyr Glu Phe Phe Gly Leu Thr Pro Asp
 50 55 60

Thr Glu Phe Leu Gly Thr Ile Met Ile Cys Val Pro Thr Trp Ser
 65 70 75

<210> 97

<211> 79

<

212> PRT

<213> macaca fascicularis

<400> 97

Val Arg Ser Ile Gln Met Ile Val His Pro Thr Pro Thr Pro Ile Arg
 1 5 10 15

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

Thr Glu Phe Leu Gly Thr Ile Met Ile Cys Val Pro Thr Trp Ser
 65 70 75

<210> 98

<211> 77

<212> PRT

<213> macaca fascicularis

<400> 98

Val Arg Ser Ile Gln Met Ile Val His Pro Thr Pro Thr Pro Ile Arg
 1 5 10 15

Ala Gly Asp Gly His Arg Leu Thr Leu Glu Asp Ile Tyr Asp Leu Ser
 20 25 30

Tyr His Leu Glu Leu Gln Val Asn Arg Thr Tyr Gln Met His Leu Gly
 35 40 45

Gly Lys Gln Arg Glu Tyr Glu Phe Phe Gly Leu Thr Pro Asp Thr Glu
 50 55 60

Phe Leu Gly Thr Ile Met Ile Cys Val Pro Thr Trp Ser
 65 70 75

<210> 99

<211> 293

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 99

Leu Arg Leu Glu Tyr Leu Ile Arg Leu Thr Ile Gly Tyr Arg Leu Asn
 1 5 10 15

Gly Thr Ala Ala Thr Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val
 20 25 30

Ala Thr Ala Thr Gly Val His Ser Pro Glu Asp Pro Ser Asp Leu Leu
35 40 45

Gln His Val Lys Phe Gln Ser Ser Asn Phe Glu Asn Ile Leu Thr Trp
50 55 60

Asp Ser Gly Pro Glu Gly Thr Pro Asp Thr Val Tyr Ser Ile Glu Tyr
65 70 75 80

Lys Thr Tyr Gly Glu Arg Asp Trp Val Ala Lys Lys Gly Cys Gln Arg
85 90 95

Ile Thr Arg Lys Ser Cys Asn Leu Thr Val Glu Thr Gly Asn Leu Thr
100 105 110

Glu Leu Tyr Tyr Ala Arg Val Thr Ala Val Ser Ala Gly Gly Arg Ser
115 120 125

Ala Thr Lys Met Thr Asp Arg Phe Ser Ser Leu Gln His Thr Thr Leu
130 135 140

Lys Pro Pro Asp Val Thr Cys Ile Ser Lys Val Arg Ser Ile Gln Met
145 150 155 160

Ile Val His Pro Thr Pro Thr Pro Ile Arg Ala Gly Asp Gly His Arg
165 170 175

Leu Thr Leu Glu Asp Ile Phe His Asp Leu Phe Tyr His Leu Glu Leu
180 185 190

Gln Val Asn Arg Thr Tyr Gln Met His Leu Gly Gly Lys Gln Arg Glu
195 200 205

Tyr Glu Phe Phe Gly Leu Thr Pro Asp Thr Glu Phe Leu Gly Thr Ile
210 215 220

Met Ile Cys Val Pro Thr Trp Ala Lys Glu Ser Ala Pro Tyr Met Cys
225 230 235 240

Arg Val Lys Thr Leu Pro Asp Arg Thr Trp Thr Ile Glu Gly Arg Asp
245 250 255

Met Asp Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
260 265 270

Ala Pro Glu Leu Leu Gly Arg Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
275 280 285

Pro Lys Asp Thr Leu

290

<210> 100

<211> 293

<212> PRT

<213> macaca mulatta

<400> 100

Leu Arg Leu Glu Tyr Leu Ile Arg Leu Thr Ile Gly Tyr Arg Leu Asn

1 5 10 15

Gly Thr Ala Ala Thr Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val

20 25 30

Ala Thr Ala Thr Gly Val His Ser Pro Glu Asp Pro Ser Asp Leu Leu

35 40 45

Gln His Val Lys Phe Gln Ser Asn Asn Phe Glu Asn Ile Leu Thr Trp

50 55 60

Asp Ser Gly Pro Glu Gly Thr Pro Asp Thr Val Tyr Ser Ile Glu Tyr

65 70 75 80

Lys Thr Tyr Gly Glu Arg Asp Trp Val Ala Lys Lys Gly Cys Gln Arg

85 90 95

Ile Thr Arg Lys Ser Cys Asn Leu Thr Val Glu Thr Gly Asn His Thr

100 105 110

Glu Leu Tyr Tyr Ala Arg Val Thr Ala Val Ser Ala Gly Gly Arg Ser

115 120 125

Ala Thr Lys Met Thr Asp Arg Phe Asn Ser Leu Gln His Thr Ala Leu

130 135 140

Lys Pro Pro Asp Val Thr Cys Ile Pro Lys Val Arg Ser Ile Gln Met

145 150 155 160

Ile Val His Pro Thr Pro Thr Pro Ile Arg Ala Gly Asp Gly His Arg

165 170 175

Leu Thr Leu Glu Asp Ile Phe His Asp Leu Phe Tyr His Leu Glu Leu

180 185 190

Gln Val Asn Arg Thr Tyr Gln Met His Leu Gly Gly Glu Gln Arg Glu

195 200 205
Tyr Glu Phe Phe Gly Leu Thr Pro Asp Thr Glu Phe Leu Gly Thr Ile
210 215 220
Met Ile Cys Val Pro Thr Trp Ser Lys Lys Ser Ala Pro Tyr Met Cys
225 230 235 240
Arg Val Arg Thr Leu Pro Asp Arg Thr Trp Thr Ile Glu Gly Arg Asp
245 250 255
Met Asp Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
260 265 270
Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
275 280 285
Pro Lys Asp Thr Leu

290
<210> 101
<211> 292
<212> PRT
<213> macaca fascicularis
<400> 101
Leu Arg Leu Glu Tyr Leu Ile Arg Leu Thr Ile Gly Tyr Arg Leu Asn
1 5 10 15
Gly Thr Ala Ala Thr Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val
20 25 30
Ala Thr Ala Thr Gly Val His Ser Pro Glu Asp Pro Ser Asp Leu Leu
35 40 45
Gln His Val Lys Phe Gln Ser Asn Asn Phe Glu Asn Ile Leu Thr Trp

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

Glu Leu Tyr Tyr Ala Arg Val Thr Ala Val Ser Ala Gly Gly Arg Ser
115 120 125

Ala Thr Lys Met Thr Asp Arg Phe Asn Ser Leu Gln His Thr Ala Leu
130 135 140

Lys Pro Pro Asp Val Thr Cys Ile Pro Lys Val Arg Ser Ile Gln Met
145 150 155 160

Ile Val His Pro Thr Pro Thr Pro Ile Arg Ala Gly Asp Gly His Arg
165 170 175

Leu Thr Leu Glu Asp Ile Tyr Asp Leu Ser Tyr His Leu Glu Leu Gln
180 185 190

Val Asn Arg Thr Tyr Gln Met His Leu Gly Gly Lys Gln Arg Glu Tyr

195 200 205

Glu Phe Phe Gly Leu Thr Pro Asp Thr Glu Phe Leu Gly Thr Ile Met
210 215 220

Ile Cys Val Pro Thr Trp Ser Lys Lys Ser Ala Pro Tyr Met Cys Arg
225 230 235 240

Val Arg Thr Leu Pro Asp Arg Thr Trp Thr Ile Glu Gly Arg Asp Met
245 250 255

Asp Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
260 265 270

Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
275 280 285

Lys Asp Thr Leu
290