



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2022년12월01일
(11) 등록번호 10-2473544
(24) 등록일자 2022년11월29일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/28 (2006.01) A61K 39/395 (2006.01)
C07K 16/24 (2006.01) C12N 15/62 (2006.01)
C12N 9/12 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07K 16/2866 (2013.01)
A61K 39/395 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2016-7028719
(22) 출원일자(국제) 2015년03월16일
심사청구일자 2020년03월09일
(85) 번역문제출일자 2016년10월14일
(65) 공개번호 10-2016-0132112
(43) 공개일자 2016년11월16일
(86) 국제출원번호 PCT/JP2015/058645
(87) 국제공개번호 WO 2015/141862
국제공개일자 2015년09월24일
(30) 우선권주장
61/954,437 2014년03월17일 미국(US)
(56) 선행기술조사문헌
W02013087911 A1
KR1020110016958 A*
W02011023685 A1*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
미쓰비시 타나베 파마 코퍼레이션
일본 오사카후 오사카시 주오구 도쇼마치 3쵸메
2방 10고
(72) 발명자
뉴먼 폴렌드
미국 92191 캘리포니아주 샌디에고 타운 센터 코
트 4540 타나베 리서치 레보레토리즈 유에스에이
인코포레이티드 씨/오
그레인저 스티브
미국 92024 캘리포니아주 엔시니타스 버치뷰 درا
이브 902
(74) 대리인
(뒷면에 계속)
특허법인코리아나

전체 청구항 수 : 총 22 항

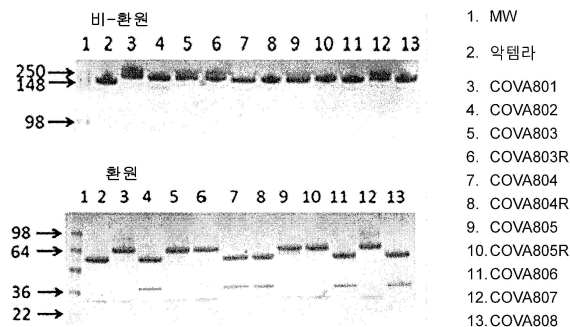
심사관 : 민경난

(54) 발명의 명칭 항체-FYNOMER 접합체

(57) 요약

인터류킨-17a (IL-17a) 에 결합하며, 인터류킨-6 수용체 (IL-6R) 에 결합하는 항체 또는 이의 하위서열에 접합되
는 fynomer 서열을 포함하는 이중특이적 융합 폴리펩티드가 제공된다. 융합 폴리펩티드는 IL-17a 및 IL-6R
둘 모두에 결합할 수 있고, 그로써 IL-17a 및 IL-6R 활성 모두를 억제, 저하, 감소, 저해 또는 차단할 수 있다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

C07K 16/244 (2013.01)

C12N 15/62 (2013.01)

C12N 9/1205 (2013.01)

C12Y 207/01112 (2013.01)

C07K 2317/24 (2013.01)

C07K 2317/31 (2013.01)

C07K 2317/92 (2013.01)

C07K 2319/00 (2013.01)

C07K 2319/70 (2013.01)

(72) 발명자

라이먼 마이클

미국 92126 캘리포니아주 샌디에고 뉴 살렘 스트리트 8650 유닛 32

그라부로브스키 드라간

스위스 8049 취리히 리드호프슈트라쎄 56

우즈 리차드

스위스 8952 쉴리렌 바기슈트라쎄 25 코바겐 아게 씨/오

실라치 미켈라

스위스 8952 쉴리렌 바기슈트라쎄 25 코바겐 아게 씨/오

자 원취안

스위스 8050 취리히 레겐스베르크슈트라쎄 130

아팅거-톨러 이사벨라

캐나다 브이6알1지9 브리티쉬 컬럼비아 밴쿠버 웨스트 1번 애비뉴 3575

명세서

청구범위

청구항 1

하기 서열 :

```
GVTLFVALYDYKQKGHLDLSPHKGEKFQILSTHEYEDWWEARSLTTGETGYIPSNYVAPVDSI
Q (aka 11L0-C6) (SEQ ID NO: 2);
GVTLFVALYDYSARGQLDLSPHKGEKFQILSTHEYEDWWEARSLTTGETGYIPSNYVAPVDSI

Q (aka 11L5-B06) (SEQ ID NO: 3);
GVTLFVALYDYESVSWSDLSFHKGEKFQILSTHEYEDWWEARSLTTGETGYIPSNYVAPVDSI
Q (aka 11L9-C09) (SEQ ID NO: 5);
GVTLFVALYDYSSRGVLDLSFHKGEKFQILSTHEYEDWWEARSLTTGETGYIPSNYVAPVDSI
Q (aka 11L10-A05) (SEQ ID NO: 6);
GVTLFVALYDYANHGNDLSFHKGEKFQILSTHEYEDWWEARSLTTGETGYIPSNYVAPVDSI
Q (aka 11L3-B9) (SEQ ID NO: 1);
GVTLFVALYDYDKLSALDLSPHKGEKFQILSTHEYEDWWEARSLTTGETGYIPSNYVAPVDSI
Q (aka 11L6-F03) (SEQ ID NO: 4); 및
GVTLFVALYDYSRKSNDLSFHKGEKFQILSTHEYEDWWEARSLTTGETGYIPSNYVAPVDSI
Q (aka 11L11-A09) (SEQ ID NO: 7).
```

중 임의의 것의 12 위치 ~ 17 위치 부분의 모티프 및 31 위치 ~ 36 위치의 모티프를 유지하고, 또한 당해 서열과 적어도 90 %의 동일성을 갖고, 인터류킨-17a (IL-17a)에 결합하는 fynomer 서열이, 인터류킨-6 수용체 (IL-6R)에 결합하는 항체 또는 IL-6R 결합능을 갖는 그 부분 서열과 복합체를 형성하고 있는, IL-17a 및 IL-6R의 양방에 결합하고, 양방의 활성을 저해하는 이중특이적 융합 폴리펩티드.

청구항 2

제 1 항에 있어서, fynomer 서열이 그 서열의 아미노산 위치 28-42로부터의 QILSTHEYEDWWEAR의 모티프를 포함하는 융합 폴리펩티드.

청구항 3

제 1 항에 있어서, 글리코실화된 IL-17a에 결합하여, IL-17 수용체 기능 또는 신호화를 저해하는 융합 폴리펩티드.

청구항 4

제 3 항에 있어서, fynomer 서열이 글리코실화된 IL-17a에 대해 1 내지 200 nM의 결합 친화성 (K_d)을 갖는 융합 폴리펩티드.

청구항 5

제 1 항에 있어서, fynomer 서열이 서열 번호 1의 폴리펩티드의 글리코실화된 IL-17a에 대한 결합 친화성보다 높은, 글리코실화된 IL-17a에 대한 결합 친화성 (K_d 또는 KD)을 갖는 융합 폴리펩티드.

청구항 6

제 1 항에 있어서, fynomer 서열이 서열 번호 1 ~ 7 중 임의의 것에 기재된 서열과 적어도 95 % 동일성을 갖는 서열인 융합 폴리펩티드.

청구항 7

제 6 항에 있어서, fynomer 서열이 서열 번호 1 ~ 7 중 임의의 것에 기재된 서열을 갖는 융합 폴리펩티드.

청구항 8

제 1 항에 있어서, fynomer 서열이 IL-6R 에 결합하는 항체의 중쇄 혹은 경쇄 서열 또는 IL-6R 결합능을 갖는 그 부분 서열과 복합체를 형성하는 융합 폴리펩티드.

청구항 9

제 8 항에 있어서, fynomer 서열이 IL-6R 에 결합하는 항체의 중쇄 서열 또는 IL-6R 결합능을 갖는 그 부분 서열의 아미노 말단 또는 카르복실 말단과 복합체를 형성하는 융합 폴리펩티드.

청구항 10

제 8 항에 있어서, fynomer 서열이 IL-6R 에 결합하는 항체의 경쇄 서열 또는 IL-6R 결합능을 갖는 그 부분 서열의 아미노 말단 또는 카르복실 말단과 복합체를 형성하는 융합 폴리펩티드.

청구항 11

제 1 항에 있어서, fynomer 서열이 링커를 통해 IL-6R 에 결합하는 항체의 중쇄 혹은 경쇄 서열 또는 IL-6R 결합능을 갖는 그 부분 서열과 복합체를 형성하는 융합 폴리펩티드.

청구항 12

제 1 항에 있어서, 융합 폴리펩티드가 동시에 IL-17a 및 IL-6R 에 결합하는 융합 폴리펩티드.

청구항 13

제 1 항에 있어서, IL-6R 에 결합하는 항체 또는 IL-6R 결합능을 갖는 그 부분 서열이, 이하의 가변 영역 CDR1-3 을 갖는 중쇄 (HC): SDHAW; YISYSGITTYNPSLKS; 및 SLARTAMDY, 및 이하의 가변 영역 CDR1-3 을 갖는 경쇄 (LC): RASQDISSYLN; YTSRLHS; 및 QQGNTLPYT 를 포함하는 융합 폴리펩티드.

청구항 14

제 13 항에 있어서, IL-6R 에 결합하는 항체가, 이하의 서열 :

```
(HC) QVQLQESGPGLVPRSQTLSTCTVSGYSITSDHAWSWVRQPPGRGLEWIGYISYSGITT
YNPSLKSRTVMTLRDTSKNQFSLRLSSVTAADTAVYYCARSLARTTAMDYWGQGLVTVSSAST
KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS
SVVTVPPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK
PKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL
HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGF
YPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNNH
YTQKSLSLSPG (SEQ ID NO: 12);

(LC) DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRLHSGVP
SRFSGSGSGTDFTFTISSLPEDIATYYCQQGNTLPYTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSD
EQKLSGTASVVCLLNNFYPRKAVQWVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSSTLTLSKAD
YEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 13)
```

각각의 서열과 적어도 90 % 의 동일성을 갖는 중쇄 (HC) 및 경쇄 (LC) 를 포함하는 융합 폴리펩티드.

청구항 15

제 14 항에 있어서, IL-6R 에 결합하는 항체가 서열 번호 12 및 13 에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 융합

폴리펩티드.

청구항 16

제 13 항에 있어서, 이하의 중쇄 (HC) 및 경쇄 (LC) 서열:

(HC) QVQLQESGPGLVSRPSQTLSLTCTVSGYSITSDHAWSWVRQPPGRGLEWIGYISYSGITT
YNPSLKSRVTMLRDTSKNQFSLRLSSVTAADTAVYYCARSLARTTAMDYWGQGSGLTVSSAST
KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS
SVVTVPSSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK
PKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL

HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGF
YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMEALHNH
YTQKSLSLSPGGGGSGGGSGGGSGGSGVTLFVALYDYKQKGHLDLSFHKGEKFQILSTHEYED
WWEARSLTTGETGYIPSNYVAPVDSIQ (SEQ ID NO: 14);

(LC) DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQDISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRLHSGVP
SRFSGSGSGTDFTFTISSLPEDIATYYCQQGNTLPYTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSD
EQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKAD
YEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 15);

(HC) QVQLQESGPGLVSRPSQTLSLTCTVSGYSITSDHAWSWVRQPPGRGLEWIGYISYSGITT
YNPSLKSRVTMLRDTSKNQFSLRLSSVTAADTAVYYCARSLARTTAMDYWGQGSGLTVSSAST
KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS
SVVTVPSSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK
PKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL
HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGF
YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMEALHNH
YTQKSLSLSPG (SEQ ID NO: 16);

(LC) DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQDISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRLHSGVP
SRFSGSGSGTDFTFTISSLPEDIATYYCQQGNTLPYTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSD
EQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKAD
YEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGECGGGGSGGGSGGGSGGSGVTLFVALYDYKQKGHLDL
SFHKGEKFQILSTHEYEDWWEARSLTTGETGYIPSNYVAPVDSIQ (SEQ ID NO: 17);

(HC) QVQLQESGPGLVSRPSQTLSLTCTVSGYSITSDHAWSWVRQPPGRGLEWIGYISYSGITT
YNPSLKSRVTMLRDTSKNQFSLRLSSVTAADTAVYYCARSLARTTAMDYWGQGSGLTVSSAST
KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS
SVVTVPSSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK
PKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL
HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGF
YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMEALHNH
YTQKSLSLSPGGGGSGGGSGGGSGGSGVTLFVALYDYSARGQLDLSFHKGEKFQILSTHEYED
WWEARSLTTGETGYIPSNYVAPVDSIQ (SEQ ID NO: 18);

(LC) DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQDISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRLHSGVP
SRFSGSGSGTDFTFTISSLPEDIATYYCQQGNTLPYTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSD

EQLKSGTASVCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKAD
YEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 19);

(HC) QVQLQESGPGLVRPSQTLSTCTVSGYSITSDHAWSWVRQPPGRGLEWIGYISYSGITT
YNPSLKSRTVTLRDTSKNQFSLRLSSVTAADTAVYYCARSLARTTAMDYWGQGLVTVSSAST
KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS
SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK
PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL
HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGF
YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNH
YTQKSLSLSPG (SEQ ID NO: 20);

(LC) DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQDISSYLNWYQQKPKAPKLLIYYTSRLHSGVP
SRFSGSGSGTDFTFTISSLPEDIATYYCQGGNTLPYTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSD
EQLKSGTASVCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKAD
YEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGECGGGGGGGGGGGGGGVTLFVALYDYSARGQLDL
SFHKGEKQILSTHEYEDWWEARSLTTGETGYIPSNYVAPVDSIQ (SEQ ID NO: 21);

(HC) QVQLQESGPGLVRPSQTLSTCTVSGYSITSDHAWSWVRQPPGRGLEWIGYISYSGITT
YNPSLKSRTVTLRDTSKNQFSLRLSSVTAADTAVYYCARSLARTTAMDYWGQGLVTVSSAST
KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS
SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK
PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL
HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGF
YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNH
YTQKSLSLSPGGGGGGGGGGGGGGVTLFVALYDYESVSWSDLSFHKGEKQILSTHEYED
WWEARSLTTGETGYIPSNYVAPVDSIQ (SEQ ID NO: 22);

(LC) DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQDISSYLNWYQQKPKAPKLLIYYTSRLHSGVP
SRFSGSGSGTDFTFTISSLPEDIATYYCQGGNTLPYTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSD
EQLKSGTASVCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKAD
YEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 23);

(HC) QVQLQESGPGLVRPSQTLSTCTVSGYSITSDHAWSWVRQPPGRGLEWIGYISYSGITT
YNPSLKSRTVTLRDTSKNQFSLRLSSVTAADTAVYYCARSLARTTAMDYWGQGLVTVSSAST
KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS
SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK

PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL
HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGF
YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMEALHNH
YTQKSLSLSPG (SEQ ID NO: 24);

(LC) DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDISSYLNWYQQKPKAPKLLIYYTSRLHSGVP
SRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIAITYYCQQGNTLPYTFGGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSD
EQLKSGTASVVCCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSSTLTLSKAD
YEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGECGGGGSGGGSGGGSGVTLFVALYDYESSVSWSDL
SFHKGEKQILSTHEYEDWWEARSLTTGETGYIPSNYVAPVDSIQ (SEQ ID NO: 25);

(HC) QVQLQESGPGLVPRSQTLSTCTVSGYSITSDHAWSWVRQPPGRGLEWIGYISYSGITT
YNPSLKSRTVMTLRDTSKNQFSLRLSSVTAADTAVYYCARSLARTTAMDYWGQSLVTVSSAST
KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL
SVVTVPPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK
PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL
HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGF
YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMEALHNH
YTQKSLSLSPGGGGSGGGSGGGSGVTLFVALYDYSSRGVLDLSFHKGKQILSTHEYED
WWEARSLTTGETGYIPSNYVAPVDSIQ (SEQ ID NO: 26);

(LC) DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDISSYLNWYQQKPKAPKLLIYYTSRLHSGVP
SRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIAITYYCQQGNTLPYTFGGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSD
EQLKSGTASVVCCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSSTLTLSKAD
YEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 27);

(HC) QVQLQESGPGLVPRSQTLSTCTVSGYSITSDHAWSWVRQPPGRGLEWIGYISYSGITT
YNPSLKSRTVMTLRDTSKNQFSLRLSSVTAADTAVYYCARSLARTTAMDYWGQSLVTVSSAST
KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL
SVVTVPPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK
PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL
HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGF
YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMEALHNH
YTQKSLSLSPG (SEQ ID NO: 28);

(LC) DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDISSYLNWYQQKPKAPKLLIYYTSRLHSGVP
SRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIAITYYCQQGNTLPYTFGGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSD

EQLKSGTASVVCCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSSTLTLSKAD
YEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGECGGGGSGGGSGGGSGVTLFVALYDYSSRGVLDL
SFHKGEKQILSTHEYEDWWEARSLTTGETGYIPSNYVAPVDSIQ (SEQ ID NO: 29),

에 있어서, 서열 번호 14 와 적어도 90 % 의 동일성을 갖는 중쇄와 서열 번호 15 와 적어도 90 % 의 동일성을 갖는 경쇄,

서열 번호 16 과 적어도 90 % 의 동일성을 갖는 중쇄와 서열 번호 17 과 적어도 90 % 의 동일성을 갖는 경쇄,

서열 번호 18 과 적어도 90 % 의 동일성을 갖는 중쇄와 서열 번호 19 와 적어도 90 % 의 동일성을 갖는 경쇄,

서열 번호 20 과 적어도 90 % 의 동일성을 갖는 중쇄와 서열 번호 21 과 적어도 90 % 의 동일성을 갖는 경쇄,

서열 번호 22 와 적어도 90 % 의 동일성을 갖는 중쇄와 서열 번호 23 과 적어도 90 % 의 동일성을 갖는 경쇄,

서열 번호 24 와 적어도 90 % 의 동일성을 갖는 중쇄와 서열 번호 25 와 적어도 90 % 의 동일성을 갖는 경쇄,

서열 번호 26 과 적어도 90 % 의 동일성을 갖는 중쇄와 서열 번호 27 과 적어도 90 % 의 동일성을 갖는 경쇄,

서열 번호 28 과 적어도 90 % 의 동일성을 갖는 중쇄와 서열 번호 29 와 적어도 90 % 의 동일성을 갖는 경쇄

의 어느 것의 조합을 포함하는, 융합 폴리펩티드.

청구항 17

제 16 항에 있어서, 서열 번호 14 와 15, 서열 번호 16 과 17, 서열 번호 18 과 19, 서열 번호 20 과 21, 서열

번호 22 와 23, 서열 번호 24 와 25, 서열 번호 26 과 27, 및 서열 번호 28 과 29 의 어느 것의 조합을 포함하는, 융합 폴리펩티드.

청구항 18

제 1 항에 있어서, 융합 폴리펩티드가 인간 IL-17a 또는 IL-6R 에 결합하는 융합 폴리펩티드.

청구항 19

제 1 항에 있어서, 폴리펩티드가 단리 또는 정제되는 융합 폴리펩티드.

청구항 20

제 1 항 내지 제 19 항 중 어느 한 항에 따른 융합 폴리펩티드를 포함하는 자가면역 질환 또는 장애의 치료를 위한 약학 조성물.

청구항 21

제 20 항에 있어서, 자가면역 질환 또는 장애가 근육, 골격, 신경계, 결합 조직, 내분비계, 피부, 기도 또는 폐 기관계, 위장계, 안 (ocular) 계 또는 순환계에 영향을 주는 것인 약학 조성물.

청구항 22

제 1 항 내지 제 19 항 중 어느 한 항에 기재된 융합 폴리펩티드를 포함하는, 관절염, 류마티스 관절염, 건선, 자가면역 포도막염, 전부 포도막염 및후부 포도막염으로 이루어지는 군에서 선택되는 질환 또는 장애의 치료를 위한 약학 조성물.

청구항 23

삭제

청구항 24

삭제

청구항 25

삭제

청구항 26

삭제

청구항 27

삭제

청구항 28

삭제

청구항 29

삭제

청구항 30

삭제

청구항 31

삭제

청구항 32

삭제

청구항 33

삭제

청구항 34

삭제

청구항 35

삭제

청구항 36

삭제

청구항 37

삭제

청구항 38

삭제

청구항 39

삭제

청구항 40

삭제

청구항 41

삭제

청구항 42

삭제

청구항 43

삭제

청구항 44

삭제

청구항 45

삭제

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

청구항 60

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 관련 출원에 대한 교차 참조

[0002] 본 출원은 2014 년 3 월 16 일에 출원하고 일련 번호 61/954,437 로 할당된 가출원으로부터 우선권을 주장한다. 상기 가출원의 전체 내용이 본원에 참조로 포함된다.

[0003] 기술분야

[0004] 본 발명은 인터류킨-17a (IL-17a) 및 인터류킨-6 수용체 (IL-6R) 모두에 결합할 수 있는 융합 단백질에 관한 것

이다. 본 발명은 또한 융합 폴리펩티드를 생성하는 형질전환 세포, 융합 폴리펩티드를 포함하는 조성물, 및 융합 폴리펩티드를 사용하여 질환 또는 장애를 치료하는 방법에 관한 것이다.

배경 기술

- [0005] Th17 세포는 만성 염증 과정에 있어서 중심적 매개자이며 Th1-매개되는 것으로 이전에 여겨진 자가면역 병상의 여러 유형에 있어서 주된 병원성 반응기이다 (Weaver T. et al.(2008) Annu. Rev. Immunol., 25, p. 821-852). 전염증성 사이토카인 IL-17 은 Th17 세포에 의해 주로 발현되고 류마티스 관절염 (RA) 을 갖는 환자의 혈액 중에서 상승된 수준으로 존재하며, 초기 RA 발생에 관련되는 것으로 나타난 바 있다. 또한, IL-17 은 TNF-알파 및 IL-1 의 강력한 유도제이며, 후자의 경우 골 무름 및 영향받은 환자에게 매우 고통스러운 결과와 관련이 있다 (Lubberts E. (2008) Cytokine, 41, p. 84-91). 또한, IL-17 의 부적절하거나 과다한 생성은 다양한 기타 질환 및 장애, 예컨대 퇴행성 관절염, 골 이식체 풀림, 급성 이식 거부 (Antonysamy et al., (1999) J. Immunol, 162, p. 577-584; van Kooten et al. (1998) J. Am. Soc. Nephrol., 9, p.1526-1534), 패혈증, 패혈성 또는 내독소 쇼크, 알레르기, 천식 (Molet et al. (2001) J. Allergy Clin. Immunol., 108, p. 430-438), 골 손실, 건선 (Teunissen et al. (1998) J. Invest. Dermatol, 111, p. 645-649), 국소성 빈혈, 전신성 경화증 (Kurasawa et al. (2000) Arthritis Rheum., 43, p. 2455-2463), 뇌졸중 및 기타 염증성 장애의 병리적 측면과 연관된다. 결과적으로, IL-17 의 생물학적 활성을 조절하는 치료요법에 대한 필요성이 존재한다.
- [0006] 관절염의 초기 단계 동안 면역화 프로토콜 후 시작하는 IL-17 수용체-IgG1-Fc 융합 단백질에 의한 내생성 IL-17 의 초기 중화는 실험적 관절염의 발병을 억제한다 (Lubberts et al. (2001) J. Immunol., 167, p. 1004-1013). 더욱이, 콜라겐-유도 관절염의 발병 후 동물 모델에서의 중화 항-IL-17 항체로의 치료는 관절염, 연골 파괴 및 골 무름을 감소시켰다 (Lubberts et al. (2004) Arthritis and Rheumatism, 50; 650-659). 조직학적 분석으로 관절염 억제를 확인하였으며, 전신 IL-6 수준은 항-IL-17 항체로의 치료 후 상당히 감소하였다. 반대로, 쥐과 IL-17 을 발현하는 아데노바이러스 벡터를 사용하는 전신 및 국소 IL-17 과발현은 콜라겐-유도 관절염 (CIA) 의 발병을 가속화시키고 그 부위에서의 혈액 염증을 악화시켰다 (Lubberts et al. (2001) J. Immunol., 167, p. 1004-1013 and Lubberts et al. (2002), Inflamm. Res. 51, p102-104). 보다 최근에, 항-IL-17 항체의 사용이 건선, 류마티스 관절염 및 비-감염성 포도막염의 임상적 증상을 개선시켰음이 입증될 수 있었다 (Leonardi C. et al. (2012) N. Engl. J. Med. 366, p. 1190-1199; Hueber W. et al. (2010) Sci Transl Med. 2(52):52ra72).
- [0007] 인터류킨 6 (IL-6) 은 세포 성장 및 분화를 조절하는 강력한 사이토카인이며, 또한 급성 염증 반응의 중요한 매개자이다. IL-6 은 특이적 IL-6 수용체 (IL-6R) 및 신호 변환 하위단위 (gp130) 로 이루어지는 수용체 복합체를 통해 작용한다. 이상조절된 IL-6 신호화는 많은 질환, 예컨대 다발성 골수종, 자가면역 질환 및 전립선암의 발생기전에 연루된다. 따라서, IL-6 및/또는 IL-6R 의 생물학적 활성을 조절하는 치료요법에 대한 필요성이 존재한다.
- ## 발명의 내용
- [0008] 발명의 개요
- [0009] 본 발명의 목적은, 인터류킨-17a (이하, "IL-17a") 및 인터류킨-6 수용체 (이하, "IL-6R") 모두에 결합할 수 있는 융합 폴리펩티드를 제공하는 것이다. 본 발명의 또 다른 목적은, IL-17a 및 IL-6R 활성 모두를 억제하고, 저하시키고, 감소시키고, 저해하거나 차단할 수 있는 융합 폴리펩티드를 제공하는 것이다. 본 발명의 또 다른 목적은, 융합 폴리펩티드를 생성하는 형질전환 세포를 제공하는 것이다. 본 발명의 추가 목적은, 질환 또는 장애를 치료하기 위한 융합 폴리펩티드를 포함하는 조성물을 제공하는 것이다. 본 발명의 추가 목적은, 융합 폴리펩티드를 사용하여 질환 또는 장애를 치료하는 방법을 제공하는 것이다.
- [0010] 본 발명자들은 본원에서, 융합 폴리펩티드, 즉 인터류킨-17a (IL-17a) 에 결합하며, 인터류킨-6 수용체 (IL-6R) 에 결합하는 항체 또는 이의 하위서열 ("mAb") 에 접합되는 fynomer 서열 ("fyno," FynomerTM 으로도 지칭함) 을 포함하는 FynomAb 가, IL-17a 및 IL-6R 에 결합하며 이 둘 모두의 기능 또는 활성을 억제하고, 저하시키고, 감소시키고, 저해하거나 차단할 수 있다는 것을 나타내는 데이터를 제공한다. 데이터는 또한, 상이한 시간에, 그리고 상이한 세포로부터 생성된 예시적 FynomAb 의 상이한 로트가 로트 전체에 대해 유사하게 거동하였다는 것을 나타낸다. 예시적 8 개 FynomAb 구축물은 IL-17a 및 IL-6R 에 대해 매우 유사한 친화성을 가졌으며, 세포 기반 검정에서 유사한 기능적 활성을 가졌다. 경쇄 융합물 (COVA802, COVA804, COVA806 및 COVA808)

은 보다 양호한 SEC 프로파일을 가졌으며 덜 응집하는 경향이 있었다.

- [0011] 한 구현예에서, 인터류킨-17a (IL-17a) 에 결합하며, 인터류킨-6 수용체 (IL-6R) 에 결합하는 항체 또는 항체의 하위서열에 접합되는 fynomer 서열을 포함하는 이중특이적 융합 폴리펩티드가 제공된다. 이중특이적 융합 폴리펩티드는 IL-17a 에 결합하며 동시에 IL-6R 에 결합하는 융합 폴리펩티드일 수 있다.
- [0012] 한 구현예에서, fynomer 서열은 IL-6R 에 결합하는 항체의 중쇄 또는 경쇄 서열 또는 중쇄 또는 경쇄 서열의 하위서열에 접합될 수 있다. fynomer 서열은 항체의 중쇄 서열 또는 이의 하위서열의 아미노 말단 또는 카르복실 말단에 접합될 수 있다. fynomer 서열은 항체의 경쇄 서열 또는 이의 하위서열의 아미노 말단 또는 카르복실 말단에 접합될 수 있다.
- [0013] 이중특이적 융합 폴리펩티드는 IL-6R 에 결합하는 항체 또는 항체의 하위서열에 접합된 하나 이상의 IL-17a 결합 서열을 포함할 수 있다. 특정 구현예에서, 이중특이적 융합 폴리펩티드는 IL-6R 결합 항체 또는 이의 하위서열에 접합되는 둘 이상, 예를 들어 3, 4, 5, 6, 7 또는 8 개의 IL-17a 결합 fynomer 서열을 포함할 수 있다.
- [0014] IL-17a 결합 fynomer 서열은 다양한 길이를 갖는 것일 수 있다. 한 구현예에서, fynomer 서열은 약 10 내지 80 개 아미노산 길이이다.
- [0015] IL-17a 결합 fynomer 서열은 IL-17a 에 대한 다양한 친화성을 갖는 것들일 수 있다. 한 구현예에서, fynomer 서열은 IL-17a 에 결합하기 위해 약 10^{-9} M 내지 약 10^{-13} M 의 결합 친화성 (K_d) 을 가질 수 있다. 바람직한 구현예에서, fynomer 서열은 글리코실화된 IL-17a 에 결합하기 위해 약 1 내지 약 200 nM 의 결합 친화성 (K_d) 을 가질 수 있다. 추가로 바람직한 구현예에서, fynomer 서열은 글리코실화된 인간 IL-17a 에 결합하기 위해 약 1 내지 약 200 nM, 또는 약 5 내지 약 50 nM 의 결합 친화성 (K_d) 을 가질 수 있다. fynomer 서열은 글리코실화된 IL-17a 에 대한 SEQ ID NO:1 의 fynomer 서열의 결합 친화성과 비슷하거나 더 큰 글리코실화된 IL-17a 에 대한 결합 친화성 (K_d 또는 KD) 을 가질 수 있다.
- [0016] IL-17a 결합 fynomer 서열은 참조 fynomer 서열에 대한 동일성을 갖는 것들일 수 있다. 특정 구현예에서, fynomer 서열은 하기 나타난 바와 같은 참조 서열 중 임의의 것과 적어도 90% 이상 (예를 들어, 적어도 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%) 동일한 서열일 수 있다:
- GVTLFVALYDYKQKGHLDLFSFKGEKFQILSTHEYEDWEARSLTTGETGYIPSNYVAPVDSI
Q (aka 11L0-C6) (SEQ ID NO: 2);
- GVTLFVALYDYSARGQLDLFSFKGEKFQILSTHEYEDWEARSLTTGETGYIPSNYVAPVDSI
Q (aka 11L5-B06) (SEQ ID NO: 3);
- [0017] GVTLFVALYDYESVSWSDLSFKGEKFQILSTHEYEDWEARSLTTGETGYIPSNYVAPVDSI
Q (aka 11L9-C09) (SEQ ID NO: 5);
- GVTLFVALYDYSSRGVLDLSFKGEKFQILSTHEYEDWEARSLTTGETGYIPSNYVAPVDSI
Q (aka 11L10-A05) (SEQ ID NO: 6);
- GVTLFVALYDYANHGNRDLFSFKGEKFQILSTHEYEDWEARSLTTGETGYIPSNYVAPVDSI
Q (aka 1L3-B9) (SEQ ID NO: 1);
- GVTLFVALYDYDKLSALDLFSFKGEKFQILSTHEYEDWEARSLTTGETGYIPSNYVAPVDSI
Q (aka 11L6-F03) (SEQ ID NO: 4); 및
- GVTLFVALYDYSRKSNDLSFKGEKFQILSTHEYEDWEARSLTTGETGYIPSNYVAPVDSI
Q (aka 11L11-A09) (SEQ ID NO: 7).
- [0018]
- [0019] IL-17a 결합 fynomer 서열은 상기 참조 fynomer 서열에 대해 아미노산 치환, 삽입, 부가 또는 결실을 갖는 것들일 수 있다. 한 구현예에서, fynomer 서열은 하기 서열 중 임의의 것:

GVTFLFVALYDYKQKQGHLDLSFHKGEKFQILSTHEYEDWWEARSLTTGETGYIPSNYVAPVDSI
Q (SEQ ID NO: 2);
GVTFLFVALYDYSARGQLDLSFHKGEKFQILSTHEYEDWWEARSLTTGETGYIPSNYVAPVDSI
Q (SEQ ID NO: 3);
GVTFLFVALYDYESVSWSDLSFHKGEKFQILSTHEYEDWWEARSLTTGETGYIPSNYVAPVDSI
Q (SEQ ID NO: 5);
GVTFLFVALYDYSSRGVLDLSFHKGEKFQILSTHEYEDWWEARSLTTGETGYIPSNYVAPVDSI
Q (SEQ ID NO: 6);
GVTFLFVALYDYANHGNRDLDSFHKGEKFQILSTHEYEDWWEARSLTTGETGYIPSNYVAPVDSI
Q (SEQ ID NO: 1);
GVTFLFVALYDYDKLSALDLSFHKGEKFQILSTHEYEDWWEARSLTTGETGYIPSNYVAPVDSI
Q (SEQ ID NO: 4); 및
GVTFLFVALYDYSRKSNDLSFHKGEKFQILSTHEYEDWWEARSLTTGETGYIPSNYVAPVDSI
Q (SEQ ID NO: 7)

[0020]

[0021]

또는 1-2, 2-3, 3-4, 5-6, 6-7, 7-8, 8-9, 9-10, 10-15, 15-20, 20-25 또는 25-30 개 보존적, 비-보존적, 또는 보존적 및 비-보존적 아미노산 치환을 갖는 전술한 서열 중 임의의 것, 또는 1-2, 2-3, 3-4, 5-6, 6-7, 7-8, 8-9, 9-10, 10-15, 15-20, 20-25 또는 25-30 개 아미노산 결실 또는 삽입을 갖는 전술한 서열 중 임의의 것일 수 있다.

[0022]

한 구현예에서, IL-17a 결합 fynomer 서열은 참조 fynomer 서열에 함유된 것들과 동일한 특정 모티프 서열을 함유할 수 있다. 한 구현예에서, GVTFLFVALYDY, DLSFHKGEKFQIL, STHEYE, STHEYED, WWEAR, DWWEAR 및 SLTTGETGYIPSNYVAPVDSI의 모티프 중 하나 이상은 본 발명에서 사용한 IL-17a 결합 fynomer 서열에 포함된다.

특정 구현예에서, fynomer 서열은 서열의 아미노산 위치 31-36 으로부터의 서열 STHEYE, 또는 서열의 아미노산 위치 28-42 으로부터의 서열 QILSTHEYEDWWEAR 을 포함할 수 있다.

[0023]

IL-17a 결합 fynomer 서열은 구체화된 위치 또는 장소에서 특정 아미노산 잔기를 갖는 것들일 수 있다. 특히, fynomer 서열은 src 루프 서열 바로 뒤에 위치한 E 잔기 및/또는 src 루프 서열, STHEY 바로 뒤에 위치한 E 잔기를 가질 수 있다.

[0024]

IL-17a 결합 fynomer 서열은 특정 활성 또는 기능을 갖는 것들일 수 있다. 한 구현예에서, fynomer 서열은 IL-17a 에 결합할 수 있으며 IL-17 수용체 기능 또는 신호화를 저해, 감소 또는 억제할 수 있다. 추가 구현예에서, fynomer 서열은 글리코실화된 IL-17a 에 결합할 수 있으며 IL-17 수용체 기능 또는 신호화를 저해, 감소 또는 억제할 수 있다. 추가 구현예에서, fynomer 서열은 글리코실화된 IL-17a 에 결합할 수 있으며 섬유아세포에 의한 IL-6 의 생성을 저해, 감소 또는 억제할 수 있다. 예를 들어, fynomer 서열은 섬유아세포에 의한 IL-6 의 생성을 저해, 감소 또는 억제시키기 위해 약 10 내지 약 250 nM, 또는 약 10 내지 약 100 nM 의 IC₅₀ 을 가질 수 있다.

[0025]

본 발명의 이중특이적 융합 폴리펩티드는 IL-6R 에 결합하는 항체 또는 항체의 하위서열, 예컨대 IL-6R 에 결합하는 VH 또는 VL 사슬을 포함한다. 한 구현예에서, 항체 또는 이의 하위서열은 IL-6R 에 결합하기 위해 약 10⁻⁵ M 내지 약 10⁻¹³ M 의 결합 친화성 (K_d) 을 가질 수 있다.

[0026]

IL-6R 결합 항체 또는 이의 하위서열, 예컨대 VH 또는 VL 사슬은 다양한 길이를 갖는 것들일 수 있다. 특히, 서열은 약 50 내지 100 개 아미노산 길이를 갖는 것들일 수 있다. 특정 구현예에서, 항체 또는 이의 하위서열은 Fab, Fab', F(ab')₂, Fv, Fd, 단일-사슬 Fv (scFv), 디설파이드-연결 Fv (sdFv), V_L, V_H, 디아바디 ((V_L-V_H)₂ 또는 (V_H-V_L)₂), 트리아바디 (3 가), 테트라바디 (4 가), 미니바디 ((scFv-C_H3)₂), IgG 델타CH2, scFv-Fc 또는 (scFv)₂-Fc 단편일 수 있다.

[0027]

IL-6R 결합 항체 또는 이의 하위서열은 다양한 동종형을 갖는 것들일 수 있다. 한 구현예에서, 항체는 IgG, IgA, IgE, IgM 또는 IgD 동종형을 갖는 것들일 수 있다.

[0028]

IL-6R 결합 항체 또는 이의 하위서열은 하기 나타난 참조 서열에 대해 상당한 동일성을 갖는 것들일 수 있다. 특정 구현예에서, 항체 또는 이의 하위서열은 하기 중쇄 (HC) 및 경쇄 (LC) 서열 중 임의의 것에 대해 적어도 90% 이상 (예를 들어, 적어도 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%) 동일한 서열을 갖는 것들일 수 있다:

(HC) QVQLQESGPGLVSRPSQTLSTCTVSGYSITSDHAWSWVRQPPGRGLEWIGYISYSGITT
YNPSLKSRTVMTLRDTSKNQFSLRLSSVTAADTAVYYCARSLARTTAMDYWGQGSGLTVSSAST
KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL
SVVTVPSSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK
PKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL
HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGF
YPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNNH
YTQKSLSLSPG (SEQ ID NO: 12);
(LC) DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQDISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRLHSGVP
SRFSGSGSGTDFTFTISSQLPEDIATYYCQQGNTLPYTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSD
EQLKSGTASVVCCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTLTLSKAD
YEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 13).

[0029]

[0030]

IL-6R 결합 항체 또는 이의 하위서열은 참조 서열 중 하나에 대해 하나 이상의 아미노산 치환, 삽입, 부가 또는 결실을 갖는 것들일 수 있다. 특정 구현예에서, 항체 또는 이의 하위서열은 하기 중쇄 (HC) 및 경쇄 (LC) 서열 중 임의의 것:

(HC) QVQLQESGPGLVSRPSQTLSTCTVSGYSITSDHAWSWVRQPPGRGLEWIGYISYSGITT
YNPSLKSRTVMTLRDTSKNQFSLRLSSVTAADTAVYYCARSLARTTAMDYWGQGSGLTVSSAST
KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL
SVVTVPSSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK
PKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL
HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGF
YPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNNH
YTQKSLSLSPG (SEQ ID NO: 12);
(LC) DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQDISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRLHSGVP
SRFSGSGSGTDFTFTISSQLPEDIATYYCQQGNTLPYTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSD
EQLKSGTASVVCCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTLTLSKAD
YEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 13)

[0031]

[0032]

[0033]

또는 전술한 중쇄 (HC) 또는 경쇄 (LC) 서열의 가변쇄 서열의 내부 또는 외부에 1-2, 2-3, 3-4, 5-6, 6-7, 7-8, 8-9, 9-10, 10-15, 15-20, 20-25, 25-30 개 보존적, 비-보존적, 또는 보존적 및 비-보존적 아미노산 치환, 또는 아미노산 삽입 또는 결실을 갖는 것들일 수 있다.

[0034]

IL-6R 결합 항체 또는 이의 하위서열은 하기와 같이 나타내는 중쇄 (HC) 및/또는 경쇄 (LC) 서열 중 임의의 것:

(HC) QVQLQESGPGLVRSQTLSTCTVSGYSITSDHAWSWVRQPPGRGLEWIGYISYSGITT
YNPSLKSRTVTLRDTSKNQFSLRLSSVTAADTAVYYCARSLARTTAMDYWGQGSGLTVSSAST
KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS
SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK
PKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL
HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGF
YPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNNH
YTQKSLSLSPGGGGGGGGGGGGSGVTLFVALYDYKQKGLDLSFHKGEKFQILSTHEYED
WWEARSLTTGETGYIPSNYVAPVDSIQ (SEQ ID NO: 14);

(LC) DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRLHSGVP
SRFSGSGSGTDFTFTISSLPEDIATYYCQQGNTLPYTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSD
EQLKSGTASVVCLLNFPYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKAD
YEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 15) (aka COVA 801);

(HC) QVQLQESGPGLVRSQTLSTCTVSGYSITSDHAWSWVRQPPGRGLEWIGYISYSGITT
YNPSLKSRTVTLRDTSKNQFSLRLSSVTAADTAVYYCARSLARTTAMDYWGQGSGLTVSSAST
KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS

[0035]

SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK
PKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL
HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGF
YPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNNH
YTQKSLSLSPG (SEQ ID NO: 16);

(LC) DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRLHSGVP
SRFSGSGSGTDFTFTISSLPEDIATYYCQQGNTLPYTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSD
EQLKSGTASVVCLLNFPYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKAD
YEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGECGGGGGGGGGGGGSGVTLFVALYDYKQKGLDLS
SFHKGEKFQILSTHEYEDWWEARSLTTGETGYIPSNYVAPVDSIQ (SEQ ID NO: 17) (aka
COVA 802);

(HC) QVQLQESGPGLVRSQTLSTCTVSGYSITSDHAWSWVRQPPGRGLEWIGYISYSGITT
YNPSLKSRTVTLRDTSKNQFSLRLSSVTAADTAVYYCARSLARTTAMDYWGQGSGLTVSSAST
KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS
SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK
PKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL
HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGF
YPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNNH
YTQKSLSLSPGGGGGGGGGGGGSGVTLFVALYDYSARGQLDLSFHKGEKFQILSTHEYED
WWEARSLTTGETGYIPSNYVAPVDSIQ (SEQ ID NO: 18);

(LC) DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRLHSGVP
SRFSGSGSGTDFTFTISSLPEDIATYYCQQGNTLPYTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSD
EQLKSGTASVVCLLNFPYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKAD
YEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 19) (aka COVA 803);

(HC) QVQLQESGPGLVRSQTLSTCTVSGYSITSDHAWSWVRQPPGRGLEWIGYISYSGITT
YNPSLKSRTVTLRDTSKNQFSLRLSSVTAADTAVYYCARSLARTTAMDYWGQGSGLTVSSAST
KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS
SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK

[0036]

PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL
 HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGF
 YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNNH
 YTQKSLSLSPG (SEQ ID NO: 20);

(LC) DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRLHSGVP
 SRFSGSGSGTDFTFTISSLPEDIATYYCQQGNTLPYTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSD
 EQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKAD
 YEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGECGGGGSGGGSGGGSGVTLFVALYDYSARGQLDL
 SFHKGEKFIILSTHEYEDWEARSLTTGETGYIPSNYVAPVDSIQ (SEQ ID NO: 21) (aka
 COVA 804);

(HC) QVQLQESGPGLVPRPSQTLSTCTVSGYSITSDHAWSWVRQPPGRGLEWIGYISYSGITT
 YNPSLKSRTMLRDTSKNQFSLRLSSVTAADTAVYYCARSLARTTAMDYWGQGLVTVSSAST
 KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS
 SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK
 PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL
 HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGF
 YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNNH
 YTQKSLSLSPGGGGSGGGSGGGSGVTLFVALYDYESVSWSDLSFHKGEKFIILSTHEYED
 WEARSLTTGETGYIPSNYVAPVDSIQ (SEQ ID NO: 22);

(LC) DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRLHSGVP
 SRFSGSGSGTDFTFTISSLPEDIATYYCQQGNTLPYTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSD
 EQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKAD
 YEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 23) (aka COVA 805);

(HC) QVQLQESGPGLVPRPSQTLSTCTVSGYSITSDHAWSWVRQPPGRGLEWIGYISYSGITT
 YNPSLKSRTMLRDTSKNQFSLRLSSVTAADTAVYYCARSLARTTAMDYWGQGLVTVSSAST
 KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS
 SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK
 PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL

[0037]

HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGF
YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNNH
YTQKSLSLSPG (SEQ ID NO: 24);

(LC) DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRLHSGVP
SRFSGSGSGTDFTFTISSLPEDIATYYCQQGNTLPYTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSD
EQLKSGTASVVCCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKAD
YEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGECGGGGSGGGSGGGSGVTLFVALYDYESVSWSDL
SFHKGEKFQILSTHEYEDWEARSLTTGETGYIPSNYVAPVDSIQ (SEQ ID NO: 25) (aka
COVA 806);

(HC) QVQLQESGPGLVPRSQTLSTCTVSGYSITSDHAWSWVRQPPGRGLEWIGYISYSGITT
YNPSLKSRTMLRDTSKNQFSLRLSSVTAADTAVYYCARSLARTTAMDYWGQGLVTVSSAST
KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS
SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHCTPPCPAPELLGGPSVFLFPPK
PKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL
HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGF
YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNNH
YTQKSLSLSPGGGGSGGGSGGGSGVTLFVALYDYSSRGVLDLSFHKGGEKFQILSTHEYED
WWEARSLTTGETGYIPSNYVAPVDSIQ (SEQ ID NO: 26);

(LC) DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRLHSGVP
SRFSGSGSGTDFTFTISSLPEDIATYYCQQGNTLPYTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSD
EQLKSGTASVVCCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKAD
YEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 27) (aka COVA 807);

(HC) QVQLQESGPGLVPRSQTLSTCTVSGYSITSDHAWSWVRQPPGRGLEWIGYISYSGITT
YNPSLKSRTMLRDTSKNQFSLRLSSVTAADTAVYYCARSLARTTAMDYWGQGLVTVSSAST
KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS
SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHCTPPCPAPELLGGPSVFLFPPK
PKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL
HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGF

YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNNH
YTQKSLSLSPG (SEQ ID NO: 28);

(LC) DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRLHSGVP
SRFSGSGSGTDFTFTISSLPEDIATYYCQQGNTLPYTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSD
EQLKSGTASVVCCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKAD
YEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGECGGGGSGGGSGGGSGVTLFVALYDYSSRGVLDL
SFHKGEKFQILSTHEYEDWEARSLTTGETGYIPSNYVAPVDSIQ (SEQ ID NO: 29) (aka
COVA 808)

[0038]

[0039]

[0040]

[0041]

[0042]

또는 전술한 중쇄 (HC) 또는 경쇄 (LC) 서열의 가변쇄 서열의 내부 또는 외부에 1-2, 2-3, 3-4, 5-6, 6-7, 7-8, 8-9, 9-10, 10-15, 15-20, 20-25 또는 25-30 개 보존적, 비-보존적, 또는 보존적 및 비-보존적 아미노산 치환, 또는 아미노산 삽입 또는 결실을 갖는 것들일 수 있다.

IL-6R 결합 항체는 공지된 IL-6R 항체 예컨대 토실리주맙일 수 있다. 항체의 하위서열은 항체의 중쇄 또는 경쇄, 또는 중쇄 또는 경쇄의 가변부 서열 내부 또는 외부에 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는 것들일 수 있다. 하위서열은 또한 항체의 중쇄 또는 경쇄 가변부 서열의 상보성 결정 부위 (CDR) 내부 또는 외부에 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는 것들일 수 있다. 하위서열은 또한 공지된 IL-6R 결합 항체의 중쇄 또는 경쇄 가변부 서열의 골격부 (FR) 내부 또는 외부에 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는 것들일 수 있다.

IL-6R 결합 서열은 특정 활성 또는 기능을 갖는 것들일 수 있다. 한 구현예에서, IL-6R 결합 서열은 IL-6R

에 결합하며 IL-6R 기능 또는 신호화를 저해, 감소 또는 억제한다.

- [0043] 본 발명에 따라서, IL-6R 결합 항체, 이의 하위서열, 또는 이의 VH 또는 VL 사슬 및 fynomer 서열은 직접 또는 링커에 의해 접합될 수 있다. 한 구현예에서, 접합은 공유 결합 또는 아미드 결합에 의한 것일 수 있다. 또 다른 구현예, 접합은 링커에 의한 것일 수 있다. 링커의 비제한적 예는 펩티드 및 탄소 서열을 포함할 수 있다. 한 구현예에서, 약 1-5, 5-10, 10-15, 15-20, 20-25, 25-50 또는 50-100 개 아미노산 잔기를 갖는 펩티드 서열; 및 약 1-5, 5-10, 10-15, 15-20, 20-25, 25-50 또는 50-100 개 탄소 원자를 갖는 탄소 사슬을 링커로서 이용할 수 있다. 링커 펩티드의 예는 (GGGGS)_X (X=1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10 임) 또는 GGGSGGGSGGGGS 의 모티프를 포함하거나 이로 이루어지는 것일 수 있다.
- [0044] 이에 본 발명의 이중특이적 융합 폴리펩티드가 결합하는 표적 서열은 포유동물 IL-17a 및 IL-6R 을 포함한다. 특정 구현예에서, 표적은 인간 IL-17a 및/또는 IL-6R 일 수 있다.
- [0045] 본 발명의 이중특이적 융합 폴리펩티드는 단리 및/또는 정제된 폴리펩티드로서 제공될 수 있다. 본 발명은 또한 본 발명의 이중특이적 융합 폴리펩티드를 포함하는 약학 조성물과 같은 조성물을 제공한다. 조성물은 평균 약학 조성물 또는 제형일 수 있다.
- [0046] 본 발명에 따라서, 본 발명의 이중특이적 융합 폴리펩티드를 생성하는 형질전환 세포가 또한 제공된다. 세포는 원핵 또는 진핵 세포일 수 있다.
- [0047] 본 발명의 이중특이적 융합 폴리펩티드는 인간과 같은 대상에서의 질환 또는 병상의 치료에 사용될 수 있다. 본 발명에 의해 치료할 질환 또는 병상은 비제한적으로, 자가면역 질환 또는 장애, 및 일탈적 또는 원치않는 면역 반응과 연관되거나 이에 의해 초래된 염증을 포함할 수 있다. 한 구현예에서, 본 발명의 이중특이적 융합 폴리펩티드는 자가면역 질환 또는 장애, 또는 염증의 치료를 필요로 하는 대상에게 투여된다. 자가면역 질환, 장애 및 염증은 대상에서의 임의 세포, 조직 또는 기관에 영향을 주는 것일 수 있다. 이중특이적 융합 폴리펩티드에 의해 치료할 자가면역 질환, 장애 또는 염증은 근육, 골격, 신경계, 결합 조직, 내분비계, 피부, 기도 또는 폐기관계, 위장계, 안 (ocular) 계 또는 순환계에 영향을 주는 것들일 수 있다.
- [0048] 본 발명의 이중특이적 융합 폴리펩티드는 단독으로 투여될 수 있거나 이중특이적 융합 폴리펩티드에 의해 치료할 자가면역 질환 또는 장애, 또는 장애의 치료에 유용한 제 2 또는 추가 작용제와 동시투여될 수 있다. 한 구현예에서, 본 발명의 이중특이적 융합 폴리펩티드는 제 2 작용제 이전에, 이와 동시에, 또는 이후에 투여될 수 있다.
- [0049] 본 발명에 따라서, 이중특이적 융합 폴리펩티드에 의해 치료할 자가면역 질환 또는 장애와 같은 질환 또는 장애, 또는 염증의 치료를 위한, 이중특이적 융합 폴리펩티드 및 약학적으로 허용가능한 담체 또는 희석제를 포함하는 약학 조성물이 또한 제공된다. 조성물은 이중특이적 융합 폴리펩티드에 의해 치료할 질환 또는 병상의 치료에 유용한 제 2 또는 추가 작용제를 추가로 포함할 수 있다.
- [0050] 본 발명에 따라서, 자가면역 질환 또는 장애와 같은 질환 또는 장애, 또는 염증의 치료용 약학 조성물의 제조를 위한 이중특이적 융합 폴리펩티드의 용도가 또한 제공된다.

도면의 간단한 설명

- [0051] 도 1 은 일시적 CHO FynomAb 물질의 SDS-PAGE 분석을 나타낸다.
- 도 2 는 마우스 PK 연구를 위해 제작한 안정한 CHO FynomAb 물질의 SDS-PAGE 분석을 나타낸다.
- 도 3 은 사이노몰거스 (cynomolgus) (cyno) PK 연구를 위해 제작한 안정한 CHO FynomAb 물질의 SDS-PAGE 분석을 나타낸다.
- 도 4 는 재조합체 인간 IL-17A 와의 FynomAb 상호작용의 운동학적 (kinetic) 결합 분석을 나타낸다.
- 도 5 는 COVA804 및 COVA806 에 대한 IL-17A 결합 ELISA 를 나타낸다.
- 도 6 은 재조합체 인간 IL-6R 과의 FynomAb 상호작용의 운동학적 결합 분석을 나타낸다.
- 도 7 은 일시적 CHO FynomAb 물질로의 HT-29 IL-17A 검정을 나타낸다.
- 도 8 은 마우스 PK 연구를 위해 생성된 안정한 CHO 풀 (pool) FynomAb 물질로의 HT-29 IL-17A 검정을 나타낸다.

도 9 는 사이노물거스 (cyno) PK 연구를 위해 생성된 안정한 CHO 풀 FynomAb 물질로의 HT-29 IL-17A 검정을 나타낸다.

도 10 은 일시적 CHO FynomAb 물질로의 HEK-Blue IL-6R 저해 검정을 나타낸다.

도 11 은 마우스 PK 연구를 위해 생성된 안정한 CHO 풀 FynomAb 물질로의 HEK-Blue IL-6R 저해 검정을 나타낸다.

도 12 는 사이노물거스 (cyno) PK 연구를 위해 생성된 안정한 CHO 풀 FynomAb 물질로의 HEK-Blue IL-6R 저해 검정을 나타낸다.

도 13 은 혈청 안정성 이중 결합 ELISA 설정을 나타낸다.

도 14 는 COVA801-808 로 표시한 FynomAb 의 혈청 안정성 평가를 나타낸다.

도 15 는 인간 혈청의 존재 하 COVA804 및 806 으로 표시한 FynomAb 의 이중 결합의 평가를 나타낸다.

도 16 은 IL-6R 및 가용성 IL-17A 가 발현된 세포 표면의 동시 결합을 나타낸다.

도 17 은 가용성 IL-6R 의 존재 하 HT-29 IL-17A 기능적 검정을 나타낸다.

도 18 은 IL-17A 의 존재 하 IL-6R 저해를 나타낸다.

도 19 는 표시된 fynomer 폴리펩티드에 의한 글리코실화 및 비-글리코실화된 IL-17A 의 용량-의존적 시험관내 저해를 나타낸다. A) 1L3-B09, (B) 1L0-C6, (C) 1L5-B06, (D) 1L6-F03, (E) 1L9-C09, (F) 1L10-A05.

도 20 은 W02011/023685 에서 기재된 Fyn SH3 유래 폴리펩티드에 의한 글리코실화 및 비-글리코실화된 IL-17A 의 용량-의존적 시험관내 저해를 나타낸다: (A) Fyn SH3 유래 IL-17 결합제 2C1 (SEQ ID NO: 30)(W02011/023685 에서 SEQ ID NO: 107). (B) Fyn SH3 유래 IL-17 결합제 A1_2 ("A1") (SEQ ID: 31)(W02011/023685 에서 SEQ ID NO: 53). (C) Fyn SH3 유래 IL-17 결합제 B1_2 ("B1") (SEQ ID: 32)(W02011/023685 에서 SEQ ID NO: 39).

도 21 은 fynomer 폴리펩티드 1L11-A09 에 의한 글리코실화 및 비-글리코실화된 IL-17A 의 용량-의존적 시험관내 저해 결과를 나타낸다.

도 22 는 COVA801 및 COVA802 로 표시한 FynomAb 에 대한, 플롯팅한 평균 혈청 농도 대 시간을 나타낸다.

도 23 은 COVA803 및 COVA804 로 표시한 FynomAb 에 대한, 플롯팅한 평균 혈청 농도 대 시간을 나타낸다.

도 24 는 COVA805 및 COVA806 으로 표시한 FynomAb 에 대한, 플롯팅한 평균 혈청 농도 대 시간을 나타낸다.

도 25 는 COVA807 및 COVA808 로 표시한 FynomAb 에 대한, 플롯팅한 평균 혈청 농도 대 시간을 나타낸다.

도 26 은 사이노물거스 원숭이에서 COVA801 및 COVA802 로 표시한 FynomAb 에 대한, 플롯팅한 평균 혈청 농도 대 시간을 나타낸다.

도 27 은 사이노물거스 원숭이에서 COVA803 및 COVA804 로 표시한 FynomAb 에 대한, 플롯팅한 평균 혈청 농도 대 시간을 나타낸다.

도 28 은 사이노물거스 원숭이에서 COVA806 으로 표시한 FynomAb 에 대한, 플롯팅한 평균 혈청 농도 대 시간을 나타낸다.

도 29 는 사이노물거스 원숭이에서 COVA808 로 표시한 FynomAb 에 대한, 플롯팅한 평균 혈청 농도 대 시간을 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0052] 상세한 설명

[0053] 용어 "fynomer" 는 인간 Fyn 키나아제 SH3 도메인, 소위 Gebauer and Skerra (2009) Curr Opinion in Chemical Biology 13:245-255 에서 기재된 스캐폴드 이후, 이를 기반으로 또는 이로부터 유래하여 모델링된 비-면역글로불린 유래 결합 (폴리)펩티드를 나타낸다. 인간 Fyn 키나아제의 SH3 도메인은 상이한 표적, 예컨대 단백질에 대해 높은 친화성 및 특이성으로 결합하는 단백질 (fynomer 로 지칭) 을 조작하기 위한 스캐폴드로서 사용될

수 있다 (WO 2008/022759, WO 2011/023685, Grabulovski D. et al., (2007) J Biol Chem 282, p. 3196-3204, Bertschinger J. et al. (2007) Protein Eng Des Sel, 20, p.57-68, 및 Schlatter et al. (2012) mAbs, 4(4) p. 497-50). 각각의 RT 루프 (EARTED) 및 src 루프 (NSSE) 부위에 밑줄을 그은 Fyn3 서열의 서열은 다음과 같다:

GVTLFVALYDYEARTEDDLSFHKGEKFQILNSSEGDWEARSLTTGETGYIPSNYVAPVDSIQ

[0054]

RT 루프

src 루프

[0055]

"IL-17a fynomer" 또는 "항-IL-17a fynomer" 및 이의 문법적 변형은, 인터류킨 17a (IL-17a) 단백질에 결합하는 fynomer 서열을 의미한다. RT 루프 및 src-루프 내의 아미노산 위치는 글리코실화된 IL-17A 에 대한 결합 특이성을 결정하는 것으로 여겨진다. 대표적 IL-17a 결합 fynomer 서열 (SEQ ID NO:1-7) 은 하기와 같다:

RT 루프

src 루프

SEQ ID NO 1:

GVTLFVALYDYANHGNRDLSFHKGEKFQILSTHEYEDWEARSLTTGETGYIPSNYVAPVDSI
Q;

SEQ ID NO 2:

GVTLFVALYDYKQKGHLDLSFHKGEKFQILSTHEYEDWEARSLTTGETGYIPSNYVAPVDSI
Q;

SEQ ID NO 3:

GVTLFVALYDYSARGQLDLSFHKGEKFQILSTHEYEDWEARSLTTGETGYIPSNYVAPVDSI
Q;

SEQ ID NO 4:

GVTLFVALYDYDKLSALDLSFHKGEKFQILSTHEYEDWEARSLTTGETGYIPSNYVAPVDSI
Q;

SEQ ID NO 5:

GVTLFVALYDYESVSWDLSFHKGEKFQILSTHEYEDWEARSLTTGETGYIPSNYVAPVDSI
Q;

SEQ ID NO 6:

GVTLFVALYDYSSRGVLDSFHKGEKFQILSTHEYEDWEARSLTTGETGYIPSNYVAPVDSI
Q; 및

SEQ ID NO 7:

GVTLFVALYDYSRKSNLDSFHKGEKFQILSTHEYEDWEARSLTTGETGYIPSNYVAPVDSI
Q.

[0056]

[0057]

"IL-6R 항체" 또는 "항-IL-6R 항체" 및 이의 문법적 변형은, 인터류킨 6 수용체 (IL-6R) 단백질에 결합하는 다중클론 또는 단일클론 항체를 의미한다. 대표적 IL-6R 결합 항체 중쇄 및 경쇄 서열 (SEQ ID NO:8 및 9) 은 하기와 같다:

[0058]

토실리주맙 중쇄 서열 (SEQ ID NO:8), CDR 을 밑줄 그음

1 QVQLQESGPG LVRPSQTL~~SL~~ TCTVSGYSIT SDHANSWVRQ PPGRGLEWIG
51 YISYSGITTY NPSLKSRV LRDTSKNQFS LRLSSVTAAD TAVYYCARSL
101 ARTTAMDYWG QGSLVTVSSA STKGPSVFPL APSSKSTSGG TAALGCLVKD
151 YFPEPVTISW NSGALTSGVH TFP~~AVL~~QSSG L~~YSL~~SSVVTV PSSSLGTQTY
201 ICNVN~~HKPSN~~ TKVDK~~KVEPK~~ SCDK~~TH~~TCPP CPAPELLGGP SVFLFPPKPK
251 DTL~~MIS~~RTP~~E~~ VTCVVVDVSH EDPEVKFNWY VDGVEVHNAK TKPREEQYNS
301 TYR~~VSV~~LVLT~~V~~ LHQD~~WL~~NGKE YKCKVSNKAL PAPIEKTISK AKGQPREPQV
351 YTLPPSREEM TKNQVSLTCL VKGFYPSDIA VEWESNGQPE NNYKTTPPV~~L~~
401 DSDGSFFFLYS KLTVDKSRWQ QGNVFSCSVM HEALHNHYTQ KSLSLS~~SPG~~*

[0059]

[0060]

토실리주맵 경쇄 서열 (SEQ ID NO:9), CDR 을 밑줄 그음

```
1  DIQMTQSPSS LSASVGDRVIT ITCRASQDIS SYLNWYQQKP GKAPKLLIYY
51 TSRLHSGVGPS RFGSGSGSTD FTFTISLQP EDIATYYCQQ GNTLPYTFGQ
101 GTKVEIKRTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNIFY PREAKVQWKV
151 DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYSLSTLT LSKADYEKKH VYACEVTHQG
201 LSSPVTKSFN RGEC*
```

[0061]

[0062]

IL-6R 결합 항체 및/또는 IL-6R 에 결합하는 항체의 중쇄 및 경쇄 서열의 추가적 예는 US 20130122012; US 20120225060; US 20120128626; 및 US 20120077731 에 기재되어 있다. IL-6R 에 결합하는 나노바디는 WO/2008/020079 에 기재되어 있다.

[0063]

본원에서 사용하는 바와 같이, 용어 "IL-17a", "IL-17a 단백질", "IL-17a 서열" 및 "IL-17a 도메인" 은 IL-17a 로부터 단리된, 그를 기반으로 하거나 임의의 자연 발생적 맥락으로 존재하는 IL-17a 단백질 서열 (예를 들어, 하위서열 예컨대 항원 부위 또는 에피토프), 또는 인공적으로 생성된 (예를 들어, 유전자 조작된) IL-17a 의 전부 또는 일부를 나타낸다. 따라서, 용어 IL-17a 등은 세포적 뿐 아니라 재조합적 또는 합성적으로 생성된 IL-17a 서열을 포함한다.

[0064]

본원에서 사용하는 바와 같이, 용어 "IL-6R", "IL-6R 단백질", "IL-6R 서열" 및 "IL-6R 도메인" 은 IL-6R 로부터 단리된, 그를 기반으로 하거나 임의의 자연 발생적 맥락으로 존재하는 IL-6R 단백질 서열 (예를 들어, 하위서열 예컨대 항원 부위 또는 에피토프), 또는 인공적으로 생성된 (예를 들어, 유전자 조작된) IL-6R 의 전부 또는 일부를 나타낸다. 따라서, 용어 IL-6R 등은 세포적 뿐 아니라 재조합적 또는 합성적으로 생성된 IL-6R 서열을 포함한다.

[0065]

포유동물 IL-17a 및 IL-6R 서열은 당업자에게 공지되어 있다. 인간 IL-17a 단백질 서열 (SEQ ID NO:10) 의 대표적인 비제한적 예는 하기의 것이다:

```
MTPGKTSLSVLLLLLSLEAIVKAGITIPRNP GCPNSEDKNFPRTVMVNLNIHNRNTNTNPKRS
SDYYNRSTSPWNLHRNEDPERYP SVIWEAKCRHLGCINADGNVDYHMNSVP IQQEILVLRREP
PHCPNSFRLEKILVSVGCTCVTPIVHVA.
```

[0066]

[0067]

인간 IL-6R 단백질 서열 (SEQ ID NO:11) 의 대표적인 비제한적 예는 하기와 같다:

```
MLAVGCALLAALLAAPGAALAPRRCPAQEVARGVLTSLPGDSVTLTTCPGVEPEDNATVHWVLR
KPAAGSHPSRWAGMGRRLLLRSVQLHDSGNYSCYRAGRPAQTVHLLVDVPPEEPQLSCFRKSP
LSNVVCEWGPRSTPSLTTKAVLLVRKFQNSPAEDFQEPCQYSQESQKFSCQLAVPEGDSSFYI
VSMCVASSVGSKFSTQTFQGCGILQPDPPANITVTAVARNPRWLSVTWQDPHSWNSSFYRLR
FELRYRAERSKFTFTWMVKDLQHHCVIHDAWSGLRHVVQLRAQEEFGQGEWSEWSPEAMGTPW
TESRSPPAENEVSTPMQLTTNKDDDNILFRDSANATSLPVQDSSSVPLPTFLVAGGSLAFGTL
LCIAIVLRFKKTWKLRALKEGKTSMHPPYSLGQLVPERFRPTFVLVPLISPPVSPSSLGSDNT
SSHNRPDARDPRSPYDISNTDYFFPR.
```

[0068]

[0069]

용어 "항체" 는 중쇄 및 경쇄 가변 도메인 (각각 V_H 및 V_L 로 나타냄) 을 통해 또 다른 분자 (항원) 에 결합하는 단백질을 나타낸다. "항체" 는 임의의 다중클론 또는 단일클론 면역글로불린 분자, 또는 이의 혼합물, 예컨대 IgM, IgG, IgA, IgE, IgD 를 나타낸다. 항체는 임의의 항체 부류 또는 하위부류에 속한다. IgG 에 대한 예시적 하위부류는 IgG₁, IgG₂, IgG₃ 및 IgG₄ 이다.

[0070]

항체에 관련하여 사용되는 경우, 용어 "단일클론" 은 임의의 진핵, 원핵, 또는 파지 클론을 포함하는 단일 클론을 기반으로 하고, 이로부터 수득되거나 이로부터 유래하는 항체를 나타낸다. 따라서 "단일클론" 항체는 본원에서 구조적으로 정의되며, 이를 생성하는 방법은 그러하지 않다.

[0071]

항체는, 자연 발생적 항체, 이의 혼합물 (즉, 카파 및 람다 사슬 서열의 융합물) 에서와 같은 전체 길이, 및 이의 하위서열/단편으로서 카파 또는 람다 경쇄 서열을 갖는 항체를 포함한다. 자연 발생적 항체 분자는 2 개의 카파 및 2 개의 람다 경쇄를 함유한다. 카파와 람다 경쇄 사이의 주요 차이점은 불변부의 서열에 있다.

[0072]

중쇄 (H) 및/또는 경쇄 (L) 또는 중쇄 (H) 또는 경쇄 (L) 의 단편을 포함하거나 이것으로 이루어지는 항체는 단일 H 또는 L 사슬 또는 단일 H 또는 L 사슬 단편, 또는 다수의 (2, 3, 4 개 이상) 중쇄 (H) 및/또는 경쇄 (L), 또는 다수의 중쇄 (H) 및/또는 경쇄 (L) 의 단편을 포함할 수 있다. 항체 또는 단편의 중쇄 (H) 및/또는 경

쇄 (L) 를 포함하는 융합 폴리펩티드 (FynomAb) 는 2 개의 중쇄 (H) 및 2 개의 경쇄 (L) 및 그에 따라 본원에 나타낸 바와 같은 융합 폴리펩티드 (FynomAb) 를 포함하는 것일 수 있으나 포함하는 것이 요구되는 것은 아니다. 항체 또는 이의 단편은 다른 항체, 이의 단편, 중쇄 (H), 경쇄 (L), 또는 항체 중쇄 (H) 또는 경쇄 (L) 와 별개의 폴리펩티드와의 올리고머 (고차 또는 고가) 형태, 예컨대 트리머, 테트라머, 펜타머, 헥사머, 헵타머 등일 수 있다.

[0073] 본원에서 사용하는 바와 같이, 융합 폴리펩티드 서열에 관련하여 사용되는 경우 용어 "이중특이적" 및 이의 문법적 변형은, 융합 폴리펩티드가 2 개의 별개 표적에 결합한다는 것을 의미한다. 폴리펩티드 표적은, 이들이 별개의 아미노산 서열을 갖는 경우 별개의 것으로 고려된다. 본 발명의 이중특이적 융합 폴리펩티드는 인터류킨 6 수용체 (IL-6R) 및 인터류킨-17a (IL-17a) 에 결합한다.

[0074] 본원에서 사용하는 바와 같이, 서열에 관련하여 사용되는 경우 용어 "융합" 또는 "키메라" 및 이의 문법적 변형은, 서열이 둘 이상의 상이한 단백질을 기반으로 하고, 이로부터 유래하거나, 이로부터 획득되거나 단리되는 하나 이상의 부분을 함유한다는 것을 의미한다. 즉, 예를 들어 서열의 일부는 하나의 특정 단백질을 기반으로 하거나 이로부터의 것일 수 있고, 서열의 또 다른 일부는 상이한 특정 단백질을 기반으로 하거나 이로부터의 것일 수 있다. 따라서, 융합 또는 키메라 폴리펩티드는 폴리펩티드의 상이한 일부가 상이한 단백질 기원의 것인 분자이다.

[0075] 용어 "단백질", "폴리펩티드" 및 "펩티드" 는 본원에서 상호교환적으로, 둘 이상의 아미노산, 또는 아미드 결합 또는 등가물에 의해 공유 연결된 "잔기" 를 나타내는 것으로 사용된다. 아미노산 서열은 비-자연적 및 비-아미드 화학적 결합에 의해 연결될 수 있다 (예를 들어, 글루타르알데히드, N-히드록시숙신이미드 에스테르, 이관능성 말레이미드, 또는 N, N'-디시클로헥실카르보디이미드 (DCC) 로 형성된 것들 포함). 비-아미드 결합은 예를 들어, 케토메틸렌, 아미노메틸렌, 올레핀, 에테르, 티오에테르 등을 포함한다 (예를 들어, Spatola in Chemistry and Biochemistry of Amino Acids, Peptides and Proteins, Vol. 7, pp 267-357 (1983), "Peptide and Backbone Modifications," Marcel Decker, NY 참조).

[0076] 본 발명은 인터류킨-17a (IL-17a) 에 결합하며, IL-6R 에 결합하는 인터류킨-6 수용체 (IL-6R) 에 결합하는 항체 또는 이의 하위서열에 접합되는 fynomer 서열을 포함하는 융합 폴리펩티드 (FynomAb) 를 제공한다. fynomer 서열은 IL-6R 결합 항체 또는 이의 하위서열의 아미노- 또는 카르복시-말단에 결합할 수 있다. 마찬가지로, fynomer 서열의 아미노- 또는 카르복시-말단은 항체 또는 이의 하위서열의 아미노- 또는 카르복시-말단에 결합할 수 있다. 다수의 fynomer 는 fynomer 서열의 아미노- 또는 카르복시-말단을 통해, 항체 또는 이의 하위서열의 다수의 아미노- 또는 카르복시-말단에 결합할 수 있다. 또한, 말단-대-말단 또는 일련으로 다수의 fynomer 는 항체 또는 이의 하위서열의 아미노- 또는 카르복시-말단에 결합할 수 있다.

[0077] fynomer, 항체 또는 이의 하위서열, 또는 융합 폴리펩티드 (예를 들어, FynomAb) 에 관련하여 사용되는 경우 용어 "결합" 또는 "결합하는" 은, fynomer, 항체 또는 이의 하위서열, 또는 융합 폴리펩티드가 표적의 전부 또는 일부에 특이적으로 결합한다는 것을 의미한다. fynomer, 항체 또는 이의 하위서열, 또는 융합 폴리펩티드 (FynomAb) 는 IL-17a 및/또는 IL-6R 단백질에 특이적 또는 선택적으로 결합하는데, 이는 IL-17a 또는 IL-6R 단백질에 존재하는 에피토프 또는 항원 결정자에 대해 선택적이다. 선택적 결합은, 표적 단백질에 대한 결합을 나타낸다. 표적 단백질에 대한 결합을 유의하게 간섭하지 않는 비-표적 단백질에 대한 결합이 또한 선택적인 것으로 고려된다. 선택적 결합은 본원에 기재되거나 당업계에 공지된 특이성, 친화성 및 경쟁적 및 비-경쟁적 결합 검정을 사용하여 비-선택적 결합과 구별될 수 있다.

[0078] 본 발명의 Fynomer/항체 융합 폴리펩티드 (FynomAb) 는 예시된 fynomer, 항체 및 이의 하위서열과 동일하거나 실질적으로 동일한 결합 특이성을 가질 수 있다. 표적에 대한 친화성은 참조 fynomer, 항체 또는 이의 하위서열, 또는 참조 fynomer/항체 융합 폴리펩티드 (FynomAb) 의 것보다 더 많거나 더 적을 수 있다. 주어진 FynomAb 는, 서로 간섭하지 않는 표적 부위에 대한 또 다른 fynomer, 항체, 하위서열 또는 FynomAb 의 결합과 검출가능하게 경쟁하거나 저해할 수 있거나, 검출가능하게 경쟁하거나 저해하지 않을 수 있다.

[0079] 표적에 대한 서열의 전부 또는 일부에 특이적으로 결합하는 fynomer/항체 융합 폴리펩티드 (FynomAb) 는 또한 표적과 동일하거나 유사한 에피토프를 갖는 다른 단백질에 결합할 수 있다. 동일한 서열 또는 에피토프 또는 에피토프의 일부에 결합하는 융합 폴리펩티드 (FynomAb) 는 참조 fynomer 또는 항체 또는 이의 융합물보다 표적에 대해 더 많거나 더 적은 상대적 결합 친화성 또는 특이성을 가질 수 있다.

[0080] Fynomer 및 항체, 및 융합 폴리펩티드 (FynomAb) 는 또한 그의 각각의 표적에 대한 결합을 위해 경쟁하는 서열

을 포함한다. 따라서 예를 들어, 주어진 fynomer, 항체, 하위서열 또는 FynomAb 는 IL-17a 및/또는 IL-6R 에 대한 결합을 위해 또 다른 fynomer, 항체, 하위서열 또는 FynomAb 의 결합을 저해하거나 경쟁할 수 있다.

특정 비제한적 예에서, fynomer, 항체, 하위서열 또는 FynomAb 는 IL-17a 및/또는 IL-6R 에 대한 결합을 임의의 COVA801 ~ 808 의 적어도 30%, 적어도 35%, 적어도 40%, 적어도 45%, 적어도 50%, 적어도 55%, 적어도 60%, 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 또는 적어도 95%, 또는 그 이상으로 저해할 수 있다. 따라서, fynomer 는 IL-17a (예를 들어, 글리코실화된 IL-17a) 에 대한 결합을 위해 SEQ ID NO:1-7 로 나타낸 임의의 fynomer 의 결합을 경쟁하는 것일 수 있으며, 항체 또는 이의 하위서열은 IL-6R 에 대한 결합을 위해 SEQ ID NO:8 및 9 를 포함하는 항체의 결합을 경쟁하는 것일 수 있다.

[0081] 본 발명의 FynomAb 는 참조 fynomer/항체 또는 이의 하위서열 또는 융합 폴리펩티드 (FynomAb) 보다 표적 (예를 들어, IL-17a 또는 IL-6R) 에 대해 더 많거나 더 적은 친화성을 갖는 fynomer/항체 또는 이의 하위서열 또는 융합 폴리펩티드 (FynomAb) 를 포함할 수 있다. 예를 들어, 본 발명의 FynomAb 는 IL-17a (예를 들어, 글리코실화된 IL-17a) 및/또는 IL-6R 에 대해 더 많거나 더 적은 친화성을 가지며 SEQ ID NO:1-7 에서 나타낸 fynomer 서열과 60% 이상 (예를 들어, 적어도 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%) 동일한 서열, 또는 SEQ ID NO:8 또는 9 에서 나타낸 중쇄 또는 경쇄 가변부 서열과 60% 이상 (예를 들어, 적어도 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%) 동일한 서열을 갖는 것들일 수 있다. 특정 구현예에서, 본 발명의 융합 폴리펩티드 (FynomAb) 는 SEQ ID NO:1 에서 나타낸 fynomer 서열보다 더 큰 글리코실화된 IL-17a 에 대한 친화성을 갖는다.

[0082] 따라서 본 발명의 FynomAb 는 IL-17a (예를 들어, 글리코실화된 IL-17a) 및/또는 IL-6R 에 대해 동일하거나 상이한 결합 친화성을 갖는 서열을 포함한다. 예를 들어, 본 발명의 FynomAb 는 또 다른 FynomAb, 예를 들어 COVA801-808 과, 2-5, 5-10, 10-100, 100-1000 또는 1000-10,000 배 초과 또는 미만의 친화성 또는 임의의 수치 또는 범위 또는 이러한 범위 내의 값인 표적 (예를 들어, 글리코실화된 IL-17a 및/또는 IL-6R) 에 대한 친화성을 가질 수 있다.

[0083] 결합 친화성은 결합 (K_a) 및 해리 (K_d) 속도에 의해 결정될 수 있다. 평형 친화성 상수, KD 는 K_a/K_d 의 비이다. 또 다른 fynomer 또는 항체와 동일한 결합 친화성을 갖는 fynomer 또는 항체는, 각 항체의 해리 상수 (K_d) 가 약 1 내지 10 배 (참조 fynomer 또는 항체보다 1-10 배 초과와 친화성 또는 1-10 배 미만의 친화성, 또는 임의의 수치 또는 범위 또는 이러한 범위 내의 값) 내라는 것을 의미한다. 표적 항원 (예를 들어, IL-17a 예컨대 글리코실화된 IL-17a, 또는 IL-6R) 에 대한 예시적 친화성은 5×10^{-2} M, 10^{-2} M, 5×10^{-3} M, 10^{-3} M, 5×10^{-4} M, 10^{-4} M, 5×10^{-5} M, 10^{-5} M, 5×10^{-6} M, 10^{-6} M, 5×10^{-7} M, 10^{-7} M, 5×10^{-8} M, 10^{-8} M, 5×10^{-9} M, 10^{-9} M, 5×10^{-10} M, 10^{-10} M, 5×10^{-11} M, 10^{-11} M, 5×10^{-12} M, 10^{-12} M, 5×10^{-13} M, 10^{-13} M, 5×10^{-14} M, 10^{-14} M, 5×10^{-15} M, 및 10^{-15} M 미만의 해리 상수 (K_d) 를 갖는다. 통상, 표적에 대한 결합 친화성 (K_d) 은 10^{-7} M, 5×10^{-8} M, 10^{-8} M, 5×10^{-9} M, 10^{-9} M, 5×10^{-10} M, 10^{-10} M, 5×10^{-11} M, 10^{-11} M, 5×10^{-12} M, 또는 10^{-12} M 미만일 수 있다.

[0084] 표적 항원 IL-17a (예를 들어, 글리코실화된 IL-17a) 에 대한 보다 특정한 예시적 fynomer 또는 융합 폴리펩티드 (FynomAb) 친화성은 약 0.01 nM 내지 약 0.50 nM, 또는 약 0.02 nM 내지 약 0.40 nM 의 KD 를 갖는다. 표적 항원 IL-6R 에 대한 보다 특정한 예시적 항체 또는 이의 하위서열 또는 융합 폴리펩티드 (FynomAb) 친화성은 약 0.20 nM 내지 약 1.25 nM, 또는 약 0.30 nM 내지 약 1.10 nM 의 KD 를 갖는다.

[0085] Fynomer 및 항체, 및 융합 폴리펩티드 (FynomAb) 는 참조 fynomer, 항체, 또는 FynomAb 를 포함하는 융합물로써 적어도 일부의 "활성" 또는 "기능" 을 갖는 것들을 포함할 수 있다. 활성 또는 기능은 결합 친화성 (예를 들어 K_d , KD), 결합 특이성, 또는 활성, 예를 들어 안타고니스트 활성일 수 있다. 용어 "적어도 일부" 는 fynomer, 항체, 또는 융합 폴리펩티드 (FynomAb) 가 본원에서 예시한 참조 fynomer, 항체, 또는 융합 폴리펩티드 (FynomAb) 의 활성 또는 기능의 적어도 측정가능 또는 검출가능한 양을 유지하는 것을 의미한다. 본 발명의 fynomer, 항체, 또는 융합 폴리펩티드 (FynomAb) 는 참조 fynomer, 항체, 또는 융합 폴리펩티드 (FynomAb) 보다 더 크거나 적은 활성 또는 기능을 가질 수 있다.

[0086] fynomer, 항체, 또는 융합 폴리펩티드 (FynomAb) 는 안타고니스트 또는 아고니스트 활성 또는 기능을 가질 수 있다. 한 구현예에서, fynomer, 항체 또는 융합 폴리펩티드 (FynomAb) 는 IL-17a 및/또는 IL-6R 에 대한 안타고니스트 또는 아고니스트 활성 또는 기능을 갖는 것들일 수 있다.

- [0087] "안타고니스트" 는 예컨대 IL-17a 또는 IL-6R 에 의한 신호화에 의해 표적 분자의 하나 이상의 활성을 감소, 저하 또는 저해할 수 있다. 안타고니스트는 수용체에 대한 IL-17a 의 결합 또는 리간드에 대한 IL-6R 의 결합을 간섭할 수 있으며, 리간드에 의해 활성화된 세포를 무력화시키거나 사멸시키고/시키거나 신호 전달을 간섭할 수 있다. 안타고니스트는 리간드와 수용체 사이의 상호작용을 완전히 차단하고, 실질적으로 감소, 저하 또는 저해할 수 있다.
- [0088] "아고니스트" 는 예컨대 IL-17a 또는 IL-6R 에 의한 신호화에 의해 표적 물질의 하나 이상의 활성을 증가, 유도 또는 활성화할 수 있다. 아고니스트는 리간드에 대한 수용체의 결합 (또는 그 반대) 을 증가, 유도 또는 촉진시킬 수 있거나, 수용체 또는 리간드에 직접적으로 작용하여 신호 전달을 증가, 유도, 촉진 또는 활성화시킬 수 있다.
- [0089] 참조 fynomer, 항체, 또는 융합 폴리펩티드 (FynomAb) 의 활성 또는 기능을 갖는 Fynomer, 항체, 또는 융합 폴리펩티드 (FynomAb) 는 본원 또는 당업계에 개시된 다양한 방법을 통해 확인될 수 있다. 예를 들어, 플레이트 (ELISA), 또는 세포 (세포 기반 ELISA) 에서의 IL-17a (예를 들어, 글리코실화된 IL-17a) 또는 IL-6R 에 대한 결합 검정을 이용할 수 있다. IL-17a 또는 IL-6R 에 대한 결합의 특이적 저해를 결합 특이성 뿐 아니라 친화성의 측정으로서 사용할 수 있다. 검정의 예는 기능 또는 활성, 예컨대 IL-17a 또는 IL-6R 활성, 예를 들어 신호화 활성을 측정할 수 있는 것들일 수 있다.
- [0090] 본원에 나타난 바와 같이, 항체, fynomer 또는 본 발명의 융합 폴리펩티드 (FynomAb) 는 참조 서열에 있어서 하나 이상의 변형을 갖는 것들일 수 있다. 변형의 비제한적 예는 참조 fynomer, 참조 항체 (중쇄 또는 경쇄) 또는 융합 폴리펩티드 (FynomAb) 의 하나 이상의 아미노산 치환 (예를 들어, 1-3, 3-5, 5-10 또는 그 이상의 잔기), 부가 (예를 들어, 1-3, 3-5, 5-10 개 또는 그 이상의 잔기) 또는 결실 (예를 들어, 하위서열 또는 단편) 을 포함할 수 있다. 특정 구현예에서, 변형된 fynomer, 항체, 또는 융합 폴리펩티드 (FynomAb) 는 변형되지 않은 참조 항체, fynomer 또는 융합 폴리펩티드 (FynomAb) 의 기능 또는 활성, 예를 들어, IL-6R 또는 IL-17a (예를 들어, 글리코실화된 IL-17a) 에 대한 결합 친화성 (예를 들어, K_d , KD) 또는 결합 특이성의 적어도 일부를 유지한다 (시험관내 또는 생체내 또는 세포 내 또는 세포 상에서 (예를 들어 배양물 중에서), 또는 생체내에서).
- [0091] fynomer, 항체 또는 이의 하위서열 또는 FynomAb 는 본원에 각각 나타난 바와 같은 부모 또는 참조 fynomer, 또는 항체 중쇄 또는 경쇄 가변부 서열, 또는 융합 폴리펩티드 (FynomAb) 에 대해 적어도 일부의 서열 동일성 (100% 미만) 을 갖는 것들을 포함할 수 있다. 예를 들어, 본원에 나타난 fynomer (SEQ ID NO:1-7), 및/또는 토실리주맙의 중쇄 및 경쇄 서열 (SEQ ID NO:8-9). 이러한 fynomer, 항체, 이의 하위서열 또는 융합 폴리펩티드 (FynomAb) 의 동일성% 는 60% 만큼 적을 수 있거나, 더 많을 수 있다 (예를 들어, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%). 동일성% 는 SEQ ID NO:1-9 에 나타난 바와 같은 서열의 전체 서열 길이, 또는 임의의 SEQ ID NO:1-9 내의 인접 부위 또는 영역에 걸쳐 연장될 수 있다. 한 양태에서, 동일성% 를 공유하는 서열의 길이는 5 개 이상의 인접 아미노산, 예를 들어 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20 개의 인접 아미노산이다. 또 다른 양태에서, 동일성% 를 공유하는 서열의 길이는 20 개 이상의 인접 아미노산, 예를 들어 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34 또는 35 개의 인접 아미노산이다. 추가 양태에서, 동일성% 를 공유하는 서열의 길이는 35 개 이상의 인접 아미노산, 예를 들어 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49 또는 50 개의 인접 아미노산이다. 추가 양태에서, 동일성% 를 공유하는 서열의 길이는 50 개 이상의 인접 아미노산, 예를 들어 50-55, 55-60, 60-65, 65-70, 70-75, 75-80, 80-85, 85-90, 90-95, 95-100 또는 100-110 개의 인접 아미노산이다.
- [0092] 본 발명에 따라서, SEQ ID NO:1-9 에 나타난 바와 같은 항체의 중쇄 또는 경쇄 가변부, fynomer 서열 또는 SEQ ID NO: 1-9 의 서열에 있어서 하나 이상의 아미노산 치환을 함유하는 서열 중 임의의 것을 갖는 융합 폴리펩티드 (FynomAb) 가 제공된다. 한 구현예에서, 치환된 fynomer 및/또는 항체 중쇄 및/또는 경쇄 서열은 표적 IL-17a (예를 들어, 글리코실화된 IL-17a) 및/또는 IL-6R 에 대한 적어도 일부의 결합 친화성 및/또는 특이성을 유지할 수 있다.
- [0093] 한 구현예에서, fynomer 서열은 1-15, 1-12, 1-8, 1-5, 1-3 개 또는 그 이하 (예를 들어, 1 또는 2 개) 의 아미노산 치환을 가질 수 있다. 특히, 치환은 임의의 fynomer 서열 (SEQ ID NO:1-7) 내의 아미노산의 것일 것이다.
- [0094] 또 다른 구현예에서, 임의의 치환은 fynomer 서열에서 GVTLFVALYDY, DLSFHKGEKFQIL, STHEY, STHEYE, STHEYED,

WWEAR, DWWEAR, SLTTGETGYIPSNYVAPVDSIQ, 또는 QILSTHEYEDWWEAR 의 모티프 내에 있지 않다. 또 다른 구현 예에서, fynomer 서열 내에서 src 루프 서열 바로 뒤에 위치한 E 아미노산 잔기는 치환되지 않는다.

[0095] 항체 또는 융합 폴리펩티드 (FynomAb) 는 불변부 또는 가변부 (예를 들어 과가변부, 예컨대 CDR 또는 FR) 에서 하나 이상의 치환을 가질 수 있다. 불변부 또는 가변부에서의 하나 이하의 아미노산 치환은 용인될 가능성이 있다. 하나 이상의 과가변부에서의 다수 아미노산의 비-보존적 치환은 항체 또는 융합 폴리펩티드 (FynomAb) 의 결합 활성, 특이성에 영향을 줄 가능성이 있다.

[0096] 따라서, 변형은 참조 항체, fynomer 또는 융합 폴리펩티드 (FynomAb) 로부터의 아미노산 서열의 소부위 및 대부분의 결실을 포함할 수 있다. 결실된 부위는 임의로는 또 다른 아미노산 서열로 치환될 수 있다. 치환된 서열은 결실된 부위와 길이에 있어서 동일하거나, 더 크거나 더 작을 수 있다.

[0097] 항체 또는 융합 폴리펩티드 (FynomAb) 변형의 특징에는 예를 들어 중쇄 또는 경쇄 불변부의 치환에 의해 상이한 동종형 또는 하위부류를 갖도록 하는 변환이다. Ig 하위부류의 변환은 기능 또는 활성 (예를 들어, 항-IL-6R 활성, 안정성) 에 있어서 변화 또는 개선을 초래할 수 있다. 또 다른 예는 개선된 특징, 예컨대 증가한 혈청 안정성 및/또는 생체내 반감기 또는 PK 를 초래하는 변환이다 (예를 들어, Antibody Engineering Vol. 1, Konterman R and Duebel S, eds., 2010, Springer, WO 2006/130834 및 Horton et al., *Cancer Res* 68:8049 (2008) 에 기재된 바와 같음). Fc 에서의 치환의 비제한적 예는 I253A, H310A, H435 R, H435Q, G236R, L328R, S239D, I332E 를 포함한다. IgG1 에서의 치환의 비제한적 예는 Fc 부위의 잔기 238, 252, 253, 254, 255, 256, 265, 272, 289, 288, 303, 305, 307, 309, 311, 312, 317, 340, 356, 360, 362, 376, 378, 380, 382, 386, 388, 400, 413, 415, 424, 433, 434, 435, 439 및/또는 477 에서의 것일 수 있다.

[0098] 한 구현예에서, 중쇄 또는 경쇄 CDR (CDR1, CDR2 또는 CDR3) 또는 FR 은 1-15, 1-12, 1-8, 1-5, 1-3 개 또는 그 이하의 (예를 들어, 1 또는 2 개) 아미노산 치환을 가질 수 있다. 한 구현예에서, 가변부 서열 내의 치환은 예를 들어 CDR 또는 FR 내의 보존적 아미노산 치환일 수 있다. 또 다른 구현예에서, 가변부 서열 내의 치환은 CDR 내의 것이 아닐 수 있다. 또 다른 구현예에서, 치환은 FR 내의 것일 수 있다. 또 다른 구현예에서, 가변부 서열 내의 치환은 FR 내의 것이 아닐 수 있다. IL-6R 결합을 부여하는 중쇄 및 경쇄 가변부 CDR 서열의 예는 SEQ ID NO: 8 및 9 에서 나타난 것이며, 즉, 중쇄 가변부 CDR1-3 은: SDHAWS; YISYSGITTYNPSLKS; 및 SLARTTAMDY 이고; 경쇄 가변부 CDR1-3 은: RASQDISSYLN; YTSRLHS; 및 QQGNLTPLYT 이다.

[0099] 항체에 의한 항원 결합에 기여하는 구조적 결정자, 예컨대 상보성 결정 부위 (CDR) 및 골격부 (FR) (과가변부 내) 는 당업계에 공지되어 있다. 추가적 부위, 예컨대 D- 및 J-부위의 위치, 구조 및 기능 또한 공지되어 있다. 주어진 표적 (예를 들어, IL-6R) 에 결합하는 항체, 이의 하위서열 또는 융합 폴리펩티드 (FynomAb) 는 통상, 적어도 일부의 기능 또는 IL-6R 결합 활성이 유지되도록 IL-6R 에 결합하는 중쇄 또는 경쇄 서열과 충분한 서열 동일성을 갖는 하나 이상의 CDR 및 FR 서열을 가질 수 있다. 예를 들어 본원에서 예시한 바와 같이, SEQ ID NO:8-9 에서 나타난 바와 같은 중쇄 또는 경쇄 서열의 하나 이상의 CDR 은 IL-6R 에 대한 결합 특이성을 갖는 항체의 적어도 일부 기능 또는 활성을 유지할 수 있다.

[0100] 국지적 돌연변이성 분석은 상보성 결정 부위 (CDR) 및 골격부 (FR) 에서의 특정 치환의 효과를 예측하는데 사용될 수 있다 (Shapiro et al., *J Immunol.* 163:259 (1999)). 간략하게, 서열 비교는 Ig 인트론 DNA 내에 위치한 디- 및 트리뉴클레오타이드 서열 중에서의 돌연변이성의 계층 구조를 나타내는데, 이는 더 돌연변이성이거나 덜 돌연변이성인 부위를 예측한다. 정량적 구조-활성 관계 (QSAR) 는 항체 인지 도메인의 성질, 및 그에 따라 리간드 결합에 관여하는 아미노산을 확인하는데 사용될 수 있다. 그 다음, QSAR 를 기반으로 하는 예측 모델을 사용하여 치환 (돌연변이) 의 효과를 예측할 수 있다. 예를 들어, 그의 항원과 상호작용하는 항체의 결합 및 해리 속도에 대한 돌연변이의 효과는 운동 (K_a 및 K_d) 상수 둘 모두에 대한 정량적 예측 모델을 구축하는데 사용되고 있으며, 이는 항체에 대한 다른 돌연변이의 효과를 예측하는데 사용될 수 있다 (De Genst et al., *J Biol. Chem.* 277:29897 (2002)). 따라서 당업자는 이러한 분석을 사용하여, 비-치환된 항체, 하위서열 또는 융합 폴리펩티드 (FynomAb) 의 적어도 일부의 활성 또는 기능을 유지하는, 예를 들어 IL-6R 에 대한 적어도 일부의 결합을 유지하는 항체 또는 하위서열을 초래할 가능성이 있는 아미노산 치환을 예측할 수 있다.

[0101] 주어진 치환의 효과는, 비치환된 참조 항체 또는 융합 폴리펩티드 (FynomAb) 의 적어도 일부의 결합 활성, 특이성 또는 항체 기능 또는 활성을 유지하는 항체 및 융합 폴리펩티드 (FynomAb) 를 확인하기 위해 검정될 수 있다. 예를 들어, IL-6R 에 결합하는 항체 또는 융합 폴리펩티드 (FynomAb) 의 과가변부에서의 아미노산 치환, 부가, 결실 또는 삽입은 IL-6R 결합 활성 또는 결합 특이성에 대해 검정될 수 있다. 따라서, 아미노산

치환 뿐 아니라 부가, 결실 및 삽입을 갖는 항체 및 융합 폴리펩티드 (FynomAb) 는, 적어도 일부의 기능 또는 활성 예컨대 결합 친화성, 결합 특이성, 표적 (예를 들어, IL-6R) 에 대한 결합 (세포에서 시험관내 (예를 들어 배양물에서), 또는 생체내에서) 이 적어도 일부 유지되는 것이면 포함된다.

[0102] 용어 "동일성" 및 이의 문법적 변형은, 둘 이상의 참조 개체가 동일하다는 것을 의미한다. 따라서, 2 개의 아미노산 서열이 동일한 경우, 이들은 동일한 아미노산 서열을 갖는다. 동일성은 서열의 규정된 영역 (부위 또는 도메인) 에 걸친 것일 수 있다. 상동성 또는 동일성의 "영역, 부위 또는 도메인" 은, 둘 이상의 참조 개체의 일부가 상동성을 공유하거나 동일한 것을 의미한다. 따라서, 2 개의 서열이 하나 이상의 서열 부위에 걸쳐 동일한 경우 이들은 이러한 부위에 있어서 동일성을 공유한다.

[0103] 아미노산 치환은 보존적 또는 비-보존적인 것일 수 있다. "보존적 치환" 은 생물학적, 화학적 또는 구조적으로 유사한 잔기에 의해 하나의 아미노산이 대체되는 것을 의미한다. 생물학적으로 유사하다는 것은, 치환이 생물학적 활성과 양립가능하다는 것, 예를 들어 IL-17a 또는 IL-6R 에 대한 결합을 유지한다는 것을 의미한다. 구조적으로 유사하다는 것은, 아미노산이 유사한 길이 (예컨대 알라닌, 글리신 및 세린), 또는 유사한 크기를 갖는 측쇄를 갖는다는 것을 의미한다. 화학적으로 유사하다는 것은, 잔기가 동일한 전하를 갖거나 친수성 또는 소수성 둘 모두인 것을 의미한다. 특정한 비제한적 예는 하나의 소수성 잔기, 예컨대 이소류신, 발린, 류신 또는 메티오닌의 또 다른 것에 대한 치환, 또는 하나의 극성 잔기의 또 다른 것에 대한 치환, 예컨대 리신에 대한 아르기닌의 치환, 아스파르트산에 대한 글루탐산의 치환, 또는 아스파라긴에 대한 글루타민의 치환, 트레오닌에 대한 세린의 치환 등을 포함한다.

[0104] 아미노산 치환은, D-아미노산으로 치환될 수 있다는 것을 제외하고는 동일한 아미노산으로의 것일 수 있다. 아미노산 치환은 동일한 아미노산으로의 것일 수 있다. 따라서 변형은 L-아미노산에 대해 치환된 하나 이상의 D-아미노산, 또는 L-아미노산에 대해 치환된 D-아미노산의 혼합물을 포함한다.

[0105] 2 개 서열 사이의 동일성 정도는 당업계에 공지된 컴퓨터 프로그램 및 수학적 알고리즘을 사용하여 확인될 수 있다. 서열 동일성 (상동성) % 를 계산하는 이러한 알고리즘은 일반적으로 비교 부위 또는 영역에 걸친 서열 겹 및 미스매치를 설명한다. 예를 들어, BLAST (예를 들어, BLAST 2.0) 탐색 알고리즘 (예를 들어, Altschul et al., *J. Mol. Biol.* 215:403 (1990) (NCBI 를 통해 공개적으로 이용가능) 참조) 은 하기와 같은 예시적 탐색 매개변수를 갖는다: 미스매치 -2; 겹 개방 (gap open) 5; 겹 연장 2. 폴리펩티드 서열 비교를 위해, BLASTP 알고리즘은 통상 스코어링 매트릭스, 예컨대 PAM100, PAM 250, BLOSUM 62 또는 BLOSUM 50 과 조합으로 사용된다. FASTA (예를 들어, FASTA2 및 FASTA3) 및 SSEARCH 서열 비교 프로그램이 또한 동일성 정도를 정량화하는 데 사용된다 (Pearson et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:2444 (1988); Pearson, *Methods Mol. Biol.* 132:185 (2000); 및 Smith et al., *J. Mol. Biol.* 147:195 (1981)). 델로네 (Delaunay)-기반 위상적 맵핑을 사용하는 단백질 구조 유사성 정량용 프로그램이 또한 개발되어 있다 (Bostick et al., *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 304:320 (2003)).

[0106] 변형은 참조 조성물의 활성 또는 기능에 대한 변화를 포함한다 (예를 들어, IL-17a 또는 IL-6R 에 대한 친화성 또는 특이적 결합). 증가한 결합 친화성, 증가한 안타고니스트 활성과 같은 변경된 특징을 갖는 변형된 fynomer, 항체 및 융합 폴리펩티드 (FynomAb) 는 당업계에 공지된 방법을 사용하여 생성될 수 있다. 예를 들어, 친화성 성숙 기술을 사용하여 항체 결합 친화성을 개선시킬 수 있다 (US 2004/0162413 A1; 미국 특허 번호 6,656,467, 6,531,580, 6,590,079 및 5,955,358; Fiedler et al., *Protein Eng.* 15:931 (2002); Pancook et al., *Hybrid. Hybridomics* 20:383 (2001); Daugherty et al., *Protein Eng.* 11:825 (1998); Wu et al., *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 95:6037 (1998); 및 Osbourn et al., *Immunotechnology* 2:181 (1996)).

[0107] Fynomer, 항체 및 융합 폴리펩티드 (FynomAb) 는 본원에 나타난 바와 같은 하위서열 (예를 들어 단편) 및 변형 형태 (예를 들어 서열 변이체) 를 포함한다. fynomer 하위서열은 참조 fynomer 의 기능적 단편 또는 하위서열, 예를 들어 임의의 SEQ ID NO:1-7 중 하나 이상의 아미노산의 결실을 갖는 서열을 나타낸다. "항체" 하위서열은 면역글로불린의 기능적 단편 또는 하위서열을 나타낸다. 항체 하위서열의 비제한적 예는 Fab, Fab', F(ab')₂, Fv, Fd, 단일-사슬 Fv (scFv), 디설피드-연결 Fv (sdFv), V_L, V_H, 디아바디 ((V_L-V_H)₂ 또는 (V_H-V_L)₂), 트리아바디 (3 가), 테트라바디 (4 가), 미니바디 ((scFv-C_H3)₂), IgG델타CH2, scFv-Fc 또는 (scFv)₂-Fc 단편을 포함할 수 있다. 특정 양태에서는, Fab, Fab', F(ab')₂, Fv, Fd, 단일-사슬 Fv (scFv), 디설피드-연결 Fv (sdFv), V_L, V_H, 디아바디 ((V_L-V_H)₂ 또는 (V_H-V_L)₂), 트리아바디 (3 가), 테트라바디 (4 가), 미니바디 ((scFv-C_H3)₂), IgG델타CH2, scFv-Fc 및 (scFv)₂-Fc 하위서열이다. 이러한 하위서열 및 융합 폴리펩티드

(FynomAb) 는 SEQ ID NO:8 또는 9 중 임의의 것에서 나타낸 서열의 적어도 일부 (예를 들어, 하나 이상의 CDR (중쇄 또는 경쇄 가변부 서열의 CDR1-CDR3) 및/또는 SEQ ID NO:8-9 의 FR) 를 가질 수 있다.

[0108] 특정 양태에서, 하위서열은 실질적으로 동일하거나 동일한 IL-17a 또는 IL-6R 결합 친화성 또는 IL-17a 또는 IL-6R 결합 특이성, 또는 IL-17a 결합 fynomer 또는 IL-6R 결합 항체의 하나 이상의 기능 또는 활성 (시험관내 또는 생체내, 세포 상에서 시험관내 또는 생체내) 을 갖는다. 항체 또는 융합 폴리펩티드 (FynomAb) 를 나타내는 경우 용어 "기능적 하위서열" 및 "기능적 단편" 은, 미손상 참조 fynomer 또는 항체 또는 융합 폴리펩티드 (FynomAb), 예를 들어 IL-17a 에 결합하는 fynomer, IL-6R 에 결합하는 항체 또는 IL-17a 및 IL-6R 에 결합하는 융합 폴리펩티드 (FynomAb) 에서와 같은 하나 이상의 기능 또는 활성 중 적어도 일부를 유지하는 일부의 fynomer 또는 항체 또는 융합 폴리펩티드 (FynomAb) 를 나타낸다.

[0109] 단일-사슬 항체를 포함하는 항체 하위서열은 중쇄 또는 경쇄 가변부(들) (예를 들어 CDR1, CDR2 또는 CDR3) 의 전부 또는 일부를 단독으로, 또는 하기 중 하나 이상의 전부 또는 일부와 조합으로 포함할 수 있다: 힌지 부위, CH1, CH2 및 CH3 도메인. 중쇄 또는 경쇄 가변부(들) (예를 들어 CDR1, CDR2 또는 CDR3) 와 힌지 부위, CH1, CH2 및 CH3 도메인의 임의 조합의 항원-결합 하위서열이 또한 포함된다.

[0110] 본 발명에 포함되는 이중특이적 융합 폴리펩티드 (FynomAb) 의 추가적 변형은 부가 (유도체)/삽입이다. 부가의 예는, 참조 천연 (야생형) 서열에 보통 존재하지 않는 하나 이상의 분자를 갖는 아미노산 서열이 서열에 공유 결합되는 것인 폴리펩티드 서열의 부가를 포함할 수 있다. 펩티드 부가의 특징예는 제 2 이중 서열, 즉 이중 기능성 도메인이 부착 (공유 또는 비-공유 결합) 되어 이중특이적 융합 폴리펩티드 (FynomAb) 에 대해 별개의 또는 상보적 기능을 부여하는 것이다. 따라서 이중특이적 융합 폴리펩티드 (FynomAb) 는 이중 도메인을 포함할 수 있는데, 이때 도메인은 별개의 기능을 부여한다 (즉, 이중 기능성 도메인). 예를 들어, Fc 부위는 인간 IgG1 및 IgG3 Fc 부위의 일부를 포함하는 키메라일 수 있다.

[0111] 본 발명에서 이용할 수 있는 이중 기능성 도메인은 아미노산 잔기 또는 도메인에 제한되지 않는다. 따라서, 이중 기능성 도메인은 작거나 큰 기능성 모이어티의 각종 상이한 유형 중 임의의 것으로 이루어질 수 있다. 이러한 모이어티는 핵산, 펩티드, 탄수화물, 지질, 소규모 유기 분자/화합물, 예컨대 약물 (예를 들어 항-세포 증식 약물), 금속 (금, 은), 또는 방사성동위원소를 포함할 수 있다. 따라서 또 다른 구현예에서, 검출가능하게 표지된 FynomAb 가 본원에 제공된다.

[0112] 이중 도메인의 비제한적 예는 정제 또는 검출 태그 (tag) 및 표지를 포함할 수 있다. 정제 및 검출가능 (검출) 태그 및 표지의 특징예는 효소 (서양고추냉이 퍼옥시다아제, 우레아제, 카탈라아제, 알칼리 포스파타아제, 베타-갈락토시다아제, 클로람페니콜 트랜스퍼라아제); 효소 기질; 리간드 (예를 들어 비오틴); 수용체 (아비딘); 방사성 동위원소/방사성 핵종 (예를 들어 C^{14} , S^{35} , P^{32} , P^{33} , H^3 , I^{125} , I^{131} , 갈륨-67 및 68, 스칸듐-47, 인듐-111 및 라듐-223); T7-, 폴리히스티딘, His-, myc-, HA- 및 FLAG-태그; 전자-밀집 시약; 에너지 전달 분자; 상자성 표지; 형광단 (플루오레세인, 로다민, 피코에리트린); 발색단; 화학발광제 (이미다졸, 루시페라아제; 생물발광제; 조영제 (예를 들어 가돌리늄; 망간; 황산바륨; 요오드화 또는 비요오드화제); 이온제 또는 비이온제; 자성제 및 상자성제 (예를 들어 철-산화물 킬레이트); 나노입자; 보결기 (예를 들어 스트렙타비딘/비오틴 및 아비딘/비오틴); 형광 물질 (예를 들어 옴벨리페론, 플루오레세인, 플루오레세인 이소티오시아네이트, 로다민, 디클로로트리아지닐아민 플루오레세인, 단일 클로라이드 또는 피코에리트린); 발광 물질 (예를 들어 루미놀); 또는 생물발광 물질 (예를 들어 루시페라아제, 루시페린, 에퀴린) 을 포함할 수 있다. 효소는 통상 그의 활성에 의해 검출된다. 예를 들어, 서양고추냉이 퍼옥시다아제는 통상 3,3'-, 5,5'-테트라메틸벤지딘 (TMB) 과 같은 기질을 정량할 수 있는 청색 안료로 변환시키는 그의 능력에 의해 검출된다. 리간드는 아비딘 또는 스트렙타비딘에 결합할 수 있는 비오틴, 및 단백질 A 에 결합할 수 있는 IgG 와 같은 다른 분자와 결합할 수 있다.

[0113] 검출가능한 표지의 추가적인 비제한적 예는 방사성 물질, 예컨대 방사성동위원소, 금속 또는 금속 산화물을 포함할 수 있다. 방사성동위원소는 알파, 감마 방사선을 방출하는 방사성 핵종, 예컨대 하기 중 하나 이상을 포함한다: 3H , ^{10}B , ^{18}F , ^{11}C , ^{14}C , ^{13}N , ^{18}O , ^{15}O , ^{32}P , ^{33}P , ^{35}S , ^{35}Cl , ^{45}Ti , ^{46}Sc , ^{47}Sc , ^{51}Cr , ^{52}Fe , ^{59}Fe , ^{57}Co , ^{60}Cu , ^{61}Cu , ^{62}Cu , ^{64}Cu , ^{67}Cu , ^{67}Ga , ^{68}Ga , ^{72}As , ^{76}Br , ^{77}Br , ^{81m}Kr , ^{82}Rb , ^{85}Sr , ^{89}Sr , ^{86}Y , ^{90}Y , ^{95}Nb , ^{94m}Tc , ^{99m}Tc , ^{97}Ru , ^{103}Ru , ^{105}Rh , ^{109}Cd , ^{111}In , ^{113}Sn , ^{113m}In , ^{114}In , ^{125}I , ^{131}I , ^{140}La , ^{141}Ce , ^{149}Pm , ^{153}Gd , ^{157}Gd , ^{153}Sm , ^{161}Tb , ^{166}Dy , ^{166}Ho , ^{169}Er , ^{169}Yb , ^{175}Yb , ^{177}Lu , ^{186}Re , ^{188}Re , ^{201}Tl , ^{203}Pb , ^{211}At , ^{212}Bi 또는 ^{225}Ac .

- [0114] 검출가능한 표지의 추가적인 비제한적 예는 금속 또는 금속 산화물 예컨대 금, 은, 구리, 붕소, 망간, 가돌리늄, 철, 크로뮴, 바륨, 유토프, 에르븀, 프라세오디뮴, 인듐 또는 테크네튬을 포함할 수 있다.
- [0115] 융합 폴리펩티드 (FynomAb) 의 항체에 부착되는 이중 도메인으로 사용될 수 있는 약물은 세포독성제일 수 있다. 이러한 맥락에서 사용한 용어 "세포독성제" 는 세포의 기능 또는 성장을 감소, 저해, 억제, 저하, 간섭 또는 차단하는 물질 및/또는 세포의 파괴를 일으키는 물질을 나타낸다. 세포독성제는 표적 세포를 사멸시키거나 이의 증식 또는 복제를 저해하는데 사용될 수 있다.
- [0116] 세포독성제의 예는 디프테리아 독소, 콜레라 독소, 리신 및 미토마이신 C 를 포함할 수 있다. 추가예는 칼리키아미신, 듀오카르마이신, PBD, 오리스타틴 및 돌라스타틴 (미국 특허 번호 5,635,483 및 5,780,588); 칼리키아미신 (미국 특허 번호 5,712,374, 5,714,586, 5,739,116, 5,767,285, 5,770,701, 5,770,710, 5,773,001 및 5,877,296), 잼시타빈, 시스플라틴, 독소루비신, 이리노테칸, BCNU, 스트렙토조토신, 빈크리스틴 및 5-플루오로우라실을 포함한다 (미국 특허 번호 5,770,710; 또한 예를 들어, 미국 특허 번호 4,362,663; 4,371,533; 5,475,092; 5,585,499; 5,846,545; 및 6,333,410 참조).
- [0117] 세포독성제의 추가예는 탁센 (예를 들어 탁솔) 및 메이탄시노이드를 포함할 수 있다. 포유동물 세포에서 미세소관 형성을 저해하는 메이탄시노이드는 메이탄시놀 및 메이탄시놀 유사체를 포함할 수 있다. 메이탄시놀 유사체의 예는 변형된 방향족 고리를 갖는 것들, 및 다른 위치에서 변형을 갖는 것, 예를 들어 메이탄신 및 메이탄시노이드, 예컨대 메이탄시놀 및 C-3 메이탄시놀 에스테르 (미국 특허 번호 4,151,042); 합성 메이탄시놀 및 이의 유도체 및 유사체 (미국 특허 번호 4,137,230; 4,248,870; 4,256,746; 4,260,608; 4,265,814; 4,294,757; 4,307,016; 4,308,268; 4,308,269; 4,309,428; 4,313,946; 4,315,929; 4,317,821; 4,322,348; 4,331,598; 4,361,650; 4,364,866; 4,424,219; 4,450,254; 4,362,663; 및 4,371,533) 를 포함한다.
- [0118] 이중특이적 융합 폴리펩티드 FynomAb 는 부가물을 가질 수 있거나 유도체일 수 있다. 예를 들어 폴리펩티드는 당 잔기, 포스페이트 기, 유비퀴틴, 지방산 또는 지질을 포함할 수 있거나, 글리코실화, 인산화, 아세틸화, 아미드화 또는 포르밀화될 수 있다. 폴리펩티드는 보호기/차단기 또는 임의의 수많은 화학적 변형에 의해 유도체화될 수 있다. 폴리펩티드의 변형은 또한 분자내 또는 분자간 디설피드 결합(들) 일 수 있다.
- [0119] 링커, 예컨대 아미노산 또는 펩티드모방성 서열은 2 개의 개체가 별개의 기능 또는 활성을 적어도 일부 유지하도록, fynomer 및/또는 항체 서열과 이중 기능성 도메인 사이에 삽입될 수 있다. 한 구현예에서, fynomer 도메인은 중쇄 (H) 또는 경쇄 (L) 의 아미노(NH₂)-말단 또는 카르복시(C)-말단에서 마지막 아미노산 바로 뒤에 중쇄 (H) 또는 경쇄 (L) 에 연결된다. 링커는 어느 하나의 도메인과 상호작용하거나 촉진할 수 있는 규칙 2 차 구조 또는 소수성 또는 하전된 특질 형성의 불가능성, 가요성 형태를 포함하는 하나 이상의 특성을 가질 수 있다. 가요성 단백질 부위에서 통상 발견되는 아미노산의 예는 Gly, Asn 및 Ser 을 포함할 수 있다. 기타 근접 중성 아미노산, 예컨대 Thr 및 Ala 가 또한 링커 서열에서 사용될 수 있다. 링커 서열의 길이는 융합 단백질의 기능 또는 활성에 유의하게 영향을 주는 일 없이 가변적일 수 있다 (예를 들어, 미국 특허 번호 6,087,329 참조). 특정 양태에서, fynomer 및 항체 중쇄 또는 경쇄는 약 1 내지 25 개 아미노산 잔기를 갖는 펩티드 서열에 의해 연결된다.
- [0120] 링커의 예는 또한 화학적 모이어티 및 접합제, 예컨대 술포-숙신이미딜 유도체 (술포-SMCC, 술포-SMPB), 디숙신이미딜 수베레이트 (DSS), 디숙신이미딜 글루타레이트 (DSG) 및 디숙신이미딜 타르트레이트 (DST) 를 포함할 수 있다. 링커는 선형 탄소 사슬, 예컨대 C_N (여기서 N=1-100 개 탄소 원자, 예를 들어 C, CC, CCC, CCCC, CCCCC, CCCCCC, CCCCCC, CCCCCC 임) 을 추가로 포함한다.
- [0121] fynomer, 항체 또는 하위서열이 다수의 (예를 들어 둘 이상) 변이, 변형 또는 표지를 가질 수 있다는 것이 이해된다. 예를 들어, 항체의 중쇄 또는 경쇄 서열은 아비딘으로 검출될 수 있도록 비오틴과 커플링될 수 있을 뿐 아니라 검출가능한 신호가 제공되도록 I¹²⁵ 로 표지될 수 있다. 기타 순열 및 가능성은 당업자에게 용이하게 명백하며, 본 발명의 범주 내에 있는 것으로 간주된다.
- [0122] 항체 및 융합 폴리펩티드 (FynomAb) 의 예는 포유동물, 인간, 인간화 및 영장류화 서열을 포함할 수 있다. 항체에 관한 용어 "인간" 은 아미노산 서열이 전체 인간 기원이라는 것을 의미한다. 따라서 "인간 항체" 는 면역글로불린 아미노산 서열, 즉 표적에 특이적으로 결합하는 인간 중쇄 또는 경쇄 가변부 및 불변부를 갖는 항체를 나타낸다. 따라서 "인간 IL-6R 항체" 또는 "인간 항-IL-6R 항체" 는 인간 면역글로불린 아미노산 서열을 가지며 IL-6R 에 결합하는 항체를 나타낸다. 즉, 모든 항체 아미노산은 인간의 것이거나 인간 항체 내에

존재할 수 있거나 존재한다. 따라서 예를 들어, 비-인간인 항체는 비-인간 아미노산 잔기를 인간 항체 내에 존재할 수 있거나 존재하는 아미노산 잔기로 치환함으로써 완전히 인간인 것으로 만들어질 수 있다. 인간 항체에 존재하는 아미노산 잔기, CDR 부위 맵 및 인간 항체 컨센서스 잔기는 당업계에 공지되어 있다 (예를 들어, Kabat, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 4th Ed. US Department of Health and Human Services. Public Health Service (1987); 및 Chothia and Lesk *J. Mol. Biol.* 186:651 (1987) 참조). 22 개의 공지된 인간 V_H III 서열 조사를 기반으로 한 인간 V_H 하위군 III 의 컨센서스 서열, 및 30 개의 공지된 인간 카파 I 서열 조사를 기반으로 한 인간 V_L 카파-사슬 하위군 I 의 컨센서스 서열이 [Padlan *Mol. Immunol.* 31:169 (1994)]; 및 [Padlan *Mol. Immunol.* 28:489 (1991)] 에 기재되어 있다. 따라서 인간 항체는 하나 이상의 아미노산 잔기가 또 다른 인간 항체에 존재하는 하나 이상의 아미노산으로 치환된 항체를 포함한다.

[0123] 항체에 관련하여 사용하는 경우 용어 "인간화" 는, 항체의 아미노산 서열이 수용기 인간 면역글로불린 분자에서의 원하는 표적 (예를 들어, IL-6R) 에 특이적으로 결합하는 하나 이상의 결정부 (CDR) 의 비-인간 아미노산 잔기 (예를 들어 마우스, 랫트, 염소, 토끼, 비-인간 영장류 등), 및 CDR 에 측면 위치한 아미노산 잔기인 Fv 골격부 (FR) 에서의 하나 이상의 인간 아미노산 잔기를 갖는다는 것을 의미한다. 면역글로불린의 인간 골격부 잔기는 상응하는 비-인간 잔기로 대체될 수 있다. 따라서 인간 골격부에서의 잔기는 비-인간 CDR 공여체 항체로부터의 상응하는 잔기로 치환되어, 예를 들어 항원 친화성 또는 특이성을 변경, 일반적으로 개선시킬 수 있다. 또한, 인간화 항체는 인간 항체에서도, 공여체 CDR 또는 골격 서열에서도 발견되지 않는 잔기를 포함할 수 있다. 예를 들어, 인간 항체 또는 공여체 비-인간 항체에서 발견되지 않는 특정 위치에서의 골격 치환은 그 위치에서 인간 항체의 결합 친화성 또는 특이성을 개선시키는 것이 예측될 수 있다.

[0124] 분자 모델링을 기반으로 한 항체 골격 및 CDR 치환 (예를 들어, 항원 결합에 중요한 골격 잔기를 확인하기 위한 CDR 및 골격 잔기의 상호작용의 모델링, 및 특정 위치에서의 통상적이지 않은 골격 잔기를 확인하기 위한 서열 비교에 의한) 은 당업계에 공지되어 있다 (예를 들어, 미국 특허 번호 5,585,089; 및 Riechmann et al., *Nature* 332:323 (1988) 참조). "영장류화" 된 것으로서 나타내는 항체는, 수용기 인간 면역글로불린 분자 및 골격부 아미노산 잔기가, 임의의 인간 잔기에 추가로, 임의의 영장류 아미노산 잔기 (예를 들어 유인원, 긴 팔원숭이, 고릴라, 침팬지, 오랑우탄, 마카크) 일 수 있다는 것을 제외하고는, 본원에서 사용하는 바와 같은 "인간화" 의 의미 내에 있다.

[0125] Fynomer 및 항체 하위서열은 fynomer 또는 항체 코딩 서열의 전부 또는 일부를 숙주 세포 내에서 발현시키는 것을 포함하는 유전적 기술에 의해 제조될 수 있다. IL-6R 결합 항체는 종래의 하이브리도마 기술, 재조합 및 파지 디스플레이 기술 또는 이의 조합을 포함하는 기술을 사용하여 생성될 수 있다 (미국 특허 번호 4,902,614, 4,543,439 및 4,411,993 참조; 또한, Monoclonal Antibodies, Hybridomas: A New Dimension in Biological Analyses, Plenum Press, Kennett, McKearn, and Bechtol (eds.), 1980, 및 Harlow et al., Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2nd ed. 1988 참조). IL-6R 결합 단일클론 항체는 또한 영장류 또는 인간 대상을 포함하는 동물로부터의 면역글로불린 서열의 직접 클로닝에 의해 수득될 수 있다.

[0126] 마우스, 토끼, 랫트, 양, 소 또는 거세소 (steer), 염소, 돼지, 말, 기니피크, 및 인간을 포함하는 영장류와 같은 동물을 IL-6R 로 면역화하여, IL-6R 에 결합하는 항체를 수득할 수 있다. 이러한 동물은 인간 항체를 발현할 수 있는, 인간 IgG 유전자 유전자자리 (loci) (예를 들어 람다 또는 카파 경쇄) 를 갖는 유전적으로 변형된 비-인간 동물일 수 있다. 내생성 면역글로불린을 발현하지 않는 하나 이상의 인간 면역글로불린 유전자 (카파 또는 람다) 를 갖는 트랜스제닉 동물은 예를 들어 미국 특허 번호 5,939,598 에 기재되어 있다. 따라서 이러한 동물은 인간 항체를 생성시키는데 사용될 수 있다. 동물의 비제한적 예는 인간 면역글로불린 유전자 (W002/43478) 를 생성할 수 있는 인간 염색체이식 KM miceTM (Tomizuka et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97:722 (2000); 및 Ishida et al., *Cloning Stem Cells* 4:91 (2004)) 및 HAC 마우스 (W002/092812) 를 포함할 수 있다. 골수종 세포와 융합되며 항원에 반응하는 면역화된 동물로부터 단리된 비장세포를 사용하는 종래의 하이브리도마 기술을 사용하여 인간 단일클론 항체를 수득할 수 있다. 인간 다중클론 항체 및 인간 단일클론 항체를 생성하는 추가적인 방법이 기재되어 있다 (예를 들어, Kuroiwa et al., *Nat. Biotechnol.* 20:889 (2002); WO 98/24893; WO 92/01047; WO 96/34096; WO 96/33735; 미국 특허 번호 5,413,923; 5,625,126; 5,633,425; 5,569,825; 5,661,016; 5,545,806; 5,814,318; 5,885,793; 5,916,771; 및 5,939,598 참조). 인간 항체 생성을 위한 기술의 개관이 Lonberg and Huszar (*Int. Rev. Immunol.* 13:65 (1995)) 에

기재되어 있다.

- [0127] Fynomer 및 항체 하위서열은 또한 단백질분해성 가수분해에 의해 생성될 수 있다. 항체는 예를 들어, 펩신 또는 파파인으로 소화될 수 있다. 펩신으로의 효소적 절단에 의해 생성된 항체 단편은 F(ab')₂ 로 나타내는 5S 단편을 제공한다. 이러한 단편은 티올 환원제를 사용하여 추가 절단됨으로써, 3.5S Fab' 1 가 단편을 생성할 수 있다. 대안적으로, 펩신을 사용하는 효소적 절단은 2 개의 1 가 Fab' 단편 및 Fc 단편을 직접적으로 생성시킨다 (예를 들어, 미국 특허 번호 4,036,945 및 4,331,647; 및 Edelman et al., *Methods Enzymol.* 1:422 (1967) 참조). 항체를 절단하는 기타 방법, 예컨대 1 가 경쇄-중쇄 단편이 형성되도록 하는 중쇄의 분리, 단편의 추가 절단, 또는 기타 효소적 또는 화학적 절단이 또한 사용될 수 있다. 단일-사슬 Fv 및 항체는 미국 특허 번호 4,946,778 및 5,258,498; Huston et al., *Methods Enzymol.* 203:46 (1991); Shu et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:7995 (1993); 및 Skerra et al., *Science* 240:1038 (1988) 에 기재된 바와 같이 생성될 수 있다.
- [0128] 항체는, 예를 들어 CDR-그래프팅 (EP 239,400; W091/09967; 미국 특허 번호 5,225,539; 5,530,101; 및 5,585,089), 베니어링 (veneering) 또는 리서페이싱 (resurfacing) (EP 592,106; EP 519,596; Padlan, *Molecular Immunol.* 28:489 (1991); Studnicka et al., *Protein Engineering* 7:805 (1994); Roguska. et al., *Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA* 91:969 (1994)), 및 체인 셔플링 (chain shuffling) (미국 특허 번호 5,565,332) 을 포함하는 당업계에 공지된 각종 기술을 사용하여 인간화될 수 있다. 인간 컨센서스 서열 (Padlan, *Mol. Immunol.* 31:169 (1994); 및 Padlan, *Mol. Immunol.* 28:489 (1991)) 을 사용하여 항체를 인간화시킬 수 있다 (Carter et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89:4285 (1992); 및 Presta et al., *J. Immunol.* 151:2623 (1993)).
- [0129] 키메라 항체를 생성하는 방법은 당업계에 공지되어 있다 (예를 들어, Morrison, *Science* 229:1202 (1985); Oi et al., *BioTechniques* 4:214 (1986); Gillies et al., *J. Immunol. Methods* 125:191 (1989); 및 미국 특허 번호 5,807,715; 4,816,567; 및 4,816,397). 한 종류의 항체로부터의 가변 도메인이 또 다른 종류의 가변 도메인에 대해 치환되는 키메라 항체는 예를 들어 Munro, *Nature* 312:597 (1984); Neuberger et al., *Nature* 312:604 (1984); Sharon et al., *Nature* 309:364 (1984); Morrison et al., *Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA* 81:6851 (1984); Boulianne et al., *Nature* 312:643 (1984); Capon et al., *Nature* 337:525 (1989); 및 Traunecker et al., *Nature* 339:68 (1989) 에 기재되어 있다.
- [0130] fynomer, 항체 및 융합 폴리펩티드 (FynomAb) 를 인코딩하는 핵산이 또한 제공된다. 한 구현예에서, 핵산은 IL-17a 에 결합하는 임의의 fynomer 서열에 대해 적어도 60% 이상 (예를 들어, 적어도 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%) 동일한, 예를 들어 SEQ ID NO:1-7 에서 나타난 바와 같은 폴리펩티드를 인코딩하는 핵산 서열과 60% 이상 동일한 서열을 인코딩한다.
- [0131] 또 다른 구현예에서, 핵산은 SEQ ID NO:8 또는 9 에서 나타난 바와 같은 임의의 중쇄 또는 경쇄 가변부 서열에 대해 적어도 60% 이상 (예를 들어, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%) 동일한 서열을 인코딩한다. 추가적 구현예에서, 핵산은 IL-6R 에 결합하는 항체의 임의의 중쇄 또는 경쇄 가변부 서열, 예컨대 IL-17a 에 결합하는 임의의 fynomer 서열에 융합 또는 접합되는 SEQ ID NO:8 또는 9 에서 나타난 바와 같은 중쇄 또는 경쇄 서열, 예를 들어 SEQ ID NO:1-7 에서 나타난 서열에 대해 적어도 60% 이상 (예를 들어, 적어도 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%) 동일한 서열을 인코딩한다. 추가의 구현예에서, 핵산은 SEQ ID NO:1-7, 또는 SEQ ID NO:8 또는 9 의 하나 이상의 아미노산 부가, 결실 또는 치환을 갖는 서열, 또는 SEQ ID NO:8 또는 9 중 임의의 것에 융합된 SEQ ID NO:1-7 중 임의의 것을 포함하는 융합 폴리펩티드를 인코딩한다.
- [0132] 용어 "핵산" 및 "폴리뉴클레오타이드" 등은 포스포디에스테르 결합 또는 등가물을 통해 연결되는 적어도 2 개 이상의 리보- 또는 데옥시-리보핵산 염기쌍 (뉴클레오타이드) 를 나타낸다. 핵산은 폴리뉴클레오타이드 및 폴리뉴클레오시드를 포함한다. 핵산은 단일, 이중 또는 삼중체, 원형 또는 선형의 분자를 포함한다. 예시적 핵산은 비제한적으로: RNA, DNA, cDNA, 자연 발생적 및 비-자연 발생적 핵산, 예를 들어 합성 핵산을 포함한다.
- [0133] 핵산은 다양한 길이의 것일 수 있다. 핵산 길이는 통상 약 20 개 뉴클레오타이드 내지 20 Kb 범위, 또는 이러한 길이 내의 또는 이를 포함하는 임의의 수치 또는 범위, 10 개 뉴클레오타이드 내지 10 Kb, 1 내지 5 Kb 이하, 1000 내지 약 500 개 뉴클레오타이드 이하의 길이이다. 핵산은 또한 더 짧을 수 있으며, 예를 들어 100 내지 약 500 개 뉴클레오타이드, 또는 약 12 내지 25 개, 25 내지 50 개, 50 내지 100 개, 100 내지 250 개, 또는 약

250 내지 500 개 뉴클레오타이드 길이, 또는 이러한 길이 내의 또는 이를 포함하는 임의의 수치 또는 범위 또는 값일 수 있다. 특정 양태에서, 핵산 서열은 약 10-20, 20-30, 30-50, 50-100, 100-150, 150-200, 200-250, 250-300, 300-400, 400-500, 500-1000 또는 1000-2000 개 뉴클레오타이드 길이, 또는 이러한 길이 내의 또는 이를 포함하는 임의의 수치 또는 범위의 길이를 갖는다. 더 짧은 폴리뉴클레오타이드는 흔히 단일- 또는 이중-가닥 DNA 의 "올리고뉴클레오타이드" 또는 "프로브" 로서 지칭된다. 그러나, 이러한 올리고뉴클레오타이드의 길이에 대한 상한치는 없다.

[0134] 성분 (예를 들어 fynomer, 항체, 중쇄 또는 경쇄 서열, 융합 폴리펩티드 (FynomAb), 이를 인코딩하는 핵산 등)에 관련하여 사용되는 경우 용어 "단리된" 은, 성분이 당업자에 의해 제작되거나 그의 자연 발생적 생체내 환경으로부터 완전히 또는 적어도 일부 분리된다는 것을 의미한다. 일반적으로, 단리된 성분은 자연계에서 보통 연관되는 하나 이상의 물질, 예를 들어 하나 이상의 단백질, 핵산, 지질, 탄수화물, 세포막을 실질적으로 포함하지 않는다. 용어 "단리된" 은 성분의 대안적인 물리적 형태, 예컨대 펩티드/올리고머, 변이체, 변형물 또는 유도체화 형태, 또는 당업자에 의해 생성된 숙주 세포에서 발현된 형태를 배제하지 않는다. 용어 "단리된" 은 또한 당업자에 의해 생성된 성분을 함유하는 조성물 또는 제형을 배제하지 않는다.

[0135] "단리된" 성분은 또한, 통상 자연계에서 연관되는 물질의 대부분 또는 전부를 포함하지 않는 경우 "정제" 될 수 있다. 따라서, 또한 실질적으로 순수하거나 정제된, 단리된 융합 폴리펩티드 (FynomAb) 는 예를 들어 게놈 또는 cDNA 라이브러리에서의 핵산 또는 폴리펩티드 라이브러리에서와 같은 수백만의 다른 서열 중에 존재하는 폴리펩티드 또는 폴리뉴클레오타이드를 포함하지 않는다. "정제된" 성분은 하나 이상의 다른 분자와 조합될 수 있다. 따라서, "정제된" 은 FynomAb 의 조합 (다수의 FynomAb), 및 다른 활성제 또는 약물과 조합된 FynomAb 와 같은 성분의 조합을 배제하지 않는다.

[0136] 핵산은 각종 표준 클로닝 및 화학적 합성 기술을 사용하여 생성될 수 있다. 기술은 비제한적으로, 핵산 증폭, 예를 들어 서열을 인코딩하는 항체에 어닐링될 수 있는 프라이머 (예를 들어, 비특이적 (degenerate) 프라이머 혼합물) 를 사용하는 게놈 DNA 또는 cDNA 표적으로의 중합효소 연쇄 반응 (PCR) 을 포함한다. 핵산은 유전자로부터의 전사 또는 화학적 합성 (예를 들어 고체상 포스포라미디트 합성) 에 의해서도 생성될 수 있다. 생성된 서열은 시험관내 번역될 수 있거나, 플라스미드 내로 클로닝되고 전파된 후 세포 (예를 들어, 동물 또는 식물에서의 숙주 세포 예컨대 진핵세포 또는 포유동물 세포, 효모 또는 박테리아) 내에서 발현될 수 있다.

[0137] 핵산은, 핵산의 발현이 "발현 제어 요소" 에 의해 영향받거나 조절되는 핵산 구출물 내로 삽입될 수 있다. "발현 제어 요소" 는 그에 대해 작동가능하게 연결되는 핵산 서열의 발현을 부여하거나 조절하는 핵산 서열 요소를 나타낸다. 발현 제어 요소는 프로모터, 인핸서, 전사 종결자, 유전자 사일렌서 (silencer), 단백질-인코딩 유전자 앞의 시작 코돈 (예를 들어 ATG) 등을 적절하게 포함한다.

[0138] 핵산 서열에 작동가능하게 연결된 발현 제어 요소는 핵산 서열의 전사, 및 적절하게는 번역을 제어한다. 발현 제어 요소는 전사를 구성적으로 활성화시키는, 유도성 (즉, 활성화를 위해 외부 신호를 필요로 함) 또는 억제해제가능한 (즉, 전사를 턴 오프 (turn off) 하기 위해 신호를 필요로 하며; 신호가 더 이상 존재하지 않는 경우, 전사가 활성화되거나 "억제해제" 됨), 또는 세포 유형 또는 조직에 대해 특이적인 (즉, 조직-특이적 제어 요소) 요소를 포함한다.

[0139] 핵산은 숙주 세포 내로의 전파 및 후속 유전자 조작을 위해 플라스미드 내로 삽입될 수 있다. 플라스미드는 숙주 세포 내에서 전파될 수 있는 핵산이고; 플라스미드는 임의로는 발현 제어 요소를 함유함으로써 숙주 세포 내에서 fynomer, 항체 (중쇄 또는 경쇄) 또는 융합 폴리펩티드 (FynomAb) 를 인코딩하는 핵산의 발현을 유도할 수 있다. 벡터는 본원에서 플라스미드와 동의어로 사용되며 또한 숙주 세포 내 발현을 위한 발현 제어 요소 (예를 들어, 발현 벡터) 를 포함할 수 있다. 플라스미드 및 벡터는 일반적으로, 세포에서의 전파를 위한 하나 이상의 복제 기원 및 프로모터를 함유한다. 따라서 플라스미드 및 벡터는 fynomer, 항체 (중쇄 또는 경쇄) 또는 융합 폴리펩티드 (FynomAb) 의 유전자 조작 및 발현에 유용하다.

[0140] fynomer, 항체 (중쇄 또는 경쇄) 또는 융합 폴리펩티드 (FynomAb) 를 인코딩하는 핵산은 합성적으로 또는 재조합 방법을 사용하여 생성될 수 있거나, 하이브리도마와 같은 세포로부터 단리될 수 있다. 단리된 핵산은 적합한 발현 벡터 내로 삽입될 수 있고, fynomer, 항체 (중쇄 또는 경쇄) 또는 융합 폴리펩티드 (FynomAb) 생성을 위해 배양될 수 있는 적합한 숙주 세포 (예를 들어 CHO, 식물 및 기타 세포) 내로 도입될 수 있다.

[0141] 본 발명에 따라서, 본 발명의 fynomer, 항체 (중쇄 또는 경쇄) 또는 융합 폴리펩티드 (FynomAb) 를 인코딩하는

핵산을 발현하거나 이것으로 형질전환되는 숙주 세포가 제공된다. 숙주 세포 및 이의 자손은 fynomer, 항체 (중쇄 또는 경쇄) 또는 융합 폴리펩티드 (FynomAb) 의 발현을 위해 안정적으로 또는 일시적으로 트랜스펙션될 수 있다.

[0142] 숙주 세포는 비제한적으로, 원핵 및 진핵 세포 예컨대 박테리아, 진균 (효모), 식물, 곤충 및 동물 (예를 들어 영장류 및 인간을 포함하는 포유동물) 세포를 포함할 수 있다. 예를 들어, 재조합체 박테리오파지 핵산, 플라스미드 핵산 또는 코스미드 핵산 발현 벡터로 형질전환된 박테리아; 재조합체 효모 발현 벡터로 형질전환된 효모; 재조합체 바이러스 발현 벡터 (예를 들어 콜리플라워 모자이크 바이러스, CaMV; 담배 모자이크 바이러스, TMV) 로 감염되거나 재조합체 플라스미드 발현 벡터 (예를 들어 Ti 플라스미드) 로 형질전환된 식물 세포계; 재조합체 바이러스 발현 벡터 (예를 들어 바쿨로바이러스) 로 감염된 곤충 세포계; 및 재조합체 바이러스 발현 벡터 (예를 들어 레트로바이러스, 아데노바이러스, 백시니아 바이러스) 로 감염된 동물 세포계, 또는 안정한 발현을 위해 조작된 형질전환된 동물 세포계가 있다.

[0143] 세포 (예를 들어 숙주 세포) 또는 유기체에 관련하여 사용되는 경우 용어 "형질전환된" 또는 "트랜스펙션된" 은, 외인성 물질, 예를 들어 단백질 또는 핵산 (예를 들어 전이유전자) 의 세포 내로의 혼입에 따르는 세포에 있어서의 유전적 변화를 의미한다. 따라서 "트랜스펙션된" 또는 "형질전환된" 세포는, 외인성 분자가 예를 들어 재조합 DNA 기술에 의해 당업자에 의해 그에 도입되는 세포, 또는 이의 자손이다.

[0144] 세포(들) 는 원하는 폴리펩티드가 생성되도록 전파될 수 있다. 트랜스펙션 또는 형질전환된 세포의 자손은 모체 세포와 동일하지 않을 수 있는데, 이는 복제 동안 돌연변이가 발생할 수 있기 때문이다.

[0145] 본 발명은 본 발명의 이종특이적 융합 폴리펩티드 및 약학적 또는 생리학적으로 허용가능한 담체, 희석제 또는 부형제를 포함하는 약학 조성물을 추가로 제공한다. 본원에서 사용하는 바와 같이, 담체, 희석제 또는 부형제를 나타내는 경우 용어 "약학적으로 허용가능한" 및 "생리학적으로 허용가능한" 은 약학적 투여 및 조성물 중 기타 성분과 양립가능한 용매 (수성 또는 비수성), 세제, 용액, 유액, 분산 매질, 코팅 또는 등장제 및 흡수 촉진제 또는 지연제일 수 있다. 본 발명의 약학 조성물은 정제 (코팅정 또는 비코팅정), 캡슐 (경질 또는 연질), 마이크로비드, 유액, 분말, 과립, 결정, 현탁액, 시럽 또는 엘릭시르의 형태로 제공될 수 있다.

[0146] 약학 조성물은 투여 또는 사용의 특정 경로와 양립가능하도록 제형화될 수 있다. 비경구, 피내 또는 피하 투여용 약학 조성물은 멸균 희석제, 예컨대 물, 식염수, 고정유, 폴리에틸렌 글리콜, 글리세린, 프로필렌 글리콜 또는 기타 합성 용매를 함유할 수 있다. 조성물은 미생물 성장이 방지되도록 하나 이상의 보존제를 추가로 함유할 수 있다 (예를 들어, 항세균제 예컨대 벤질 알코올 또는 메틸 파라벤; 산화방지제 예컨대 아스코르브산 또는 나트륨 바이솔파이트; 킬레이트제 예컨대 EDTA; 완충제 예컨대 아세트이트, 시트레이트 또는 포스페이트 및 긴장성 (tonicity) 조정제 예컨대 염화나트륨 또는 텍스트로오스).

[0147] 주사용 약학 조성물은 분산 매질 및 멸균 분말로 이루어지는 멸균 주사가능 용액 또는 분산액에 대한 즉석 제제 또는 멸균 수용액 (수용성인 경우) 의 형태일 수 있다. 정맥내 투여에 대해, 적합한 담체의 예는 생리식염수, 정균수, Cremophor ELTM (BASF, Parsippany, NJ) 및 인산완충식염수 (PBS) 를 포함할 수 있다. 담체는 예를 들어 물, 에탄올, 폴리에틸렌 (예를 들어 글리세롤, 프로필렌 글리콜 및 폴리에틸렌 글리콜), 또는 이의 적합한 혼합물을 함유하는 분산 매질 또는 용매일 수 있다. 유동성은 예를 들어 레시틴과 같은 코팅의 사용에 의해, 또는 계면활성제의 사용에 의해 유지될 수 있다. 항세균 및 항진균제의 예는 파라벤, 클로로부탄올, 페놀, 아스코르브산 및 티메로살을 포함할 수 있다. 흡수를 지연시키는 작용제, 예를 들어 알루미늄 모노스테아레이트 및 젤라틴을 포함시키는 것은, 주사가능 조성물의 흡수를 연장시킬 수 있다. 폴리소르베이트 20 또는 폴리소르베이트 80 은 조성물 내에 예를 들어 1% 까지 첨가될 수 있다. 첨가제의 기타 비제한적 예는 히스티딘 HCl, α , α -트레할로오스 데히드레이트를 포함할 수 있다.

[0148] 추가적인 약학 제형 및 전달계는 숙련된 당업자에게 공지되어 있으며 본 발명의 방법에서 적용가능하다 (예를 들어, Remington's Pharmaceutical Sciences (1990) 18th ed., Mack Publishing Co., Easton, PA; The Merck Index (1996) 12th ed., Merck Publishing Group, Whitehouse, NJ; Pharmaceutical Principles of Solid Dosage Forms, Technomic Publishing Co., Inc., Lancaster, Pa., (1993); 및 Poznansky, et al., Drug Delivery Systems, R. L. Juliano, ed., Oxford, N.Y. (1980), pp. 253-315 참조).

[0149] 본 발명은 IL-17a 및/또는 IL-6R 기능 또는 활성화와 관련된 반응, 장애 또는 질환을 조절 또는 치료하기 위한 이종특이적 융합 폴리펩티드의 방법 및 용도를 제공한다. 반응, 장애 및 질환의 예는 비제한적으로, 면역 반응, 장애 및 질환, 염증 반응, 장애 및 질환, 및 염증을 포함할 수 있다. 반응, 장애 및 질환의 예는 비제한적으로,

한적으로, 자가면역 반응, 장애 및 질환을 또한 포함한다. 반응의 예는 T 세포 및/또는 B 세포 반응, 장애 및 질환을 추가로 포함할 수 있다.

[0150] 한 구현예에서, 본원에 나타낸 바와 같은 이중특이적 융합 폴리펩티드 또는 약학 조성물을 면역 반응, 장애 또는 질환, 염증 반응, 장애 또는 질환, 또는 염증의 치료를 필요로 하는 대상에게 투여하는 방법 또는 용도가 제공된다. 또 다른 구현예에서, 자가면역 장애 또는 질환의 치료를 위한 방법 또는 용도가 제공된다. 추가적인 구현예에서, T 세포 및/또는 B 세포 반응을 조절하기 위한, 또는 T 세포 및/또는 B 세포 반응과 관련된 장애 및 질환을 치료하기 위한 방법 또는 용도가 제공된다. 추가 구현예에서, IL-17a 및/또는 IL-6R 기능 또는 활성을 조절하기 위한 방법 또는 용도가 제공된다.

[0151] 본 발명에 따라 조절되거나 치료될 수 있는 반응, 장애 및 질환의 예는 비제한적으로, 급성 및 만성 원치않거나 일탈적인 면역 반응, 장애 또는 질환, 염증 반응, 장애 또는 질환 또는 염증을 포함할 수 있다. 반응, 장애 및 질환의 예는 또한 비제한적으로, 급성 및 만성 자가면역 반응, 장애 및 질환을 포함할 수 있다. 반응, 장애 및 질환은 항체 또는 세포, 또는 항체 및 세포의 조합에 의해 매개되는 것일 수 있다. 또한, 반응, 장애 및 질환은 IL-17a 및/또는 IL-6R 기능 또는 활성에 의해 매개되는 것들일 수 있다. 더욱이, 반응, 장애 및 질환은 IL-17a 및/또는 IL-6R 기능 또는 활성을 조절함으로써 치료될 수 있는 것들일 수 있다.

[0152] 한 구현예에서, 대상에서의 급성 또는 만성 원치않거나 일탈적인 면역 반응, 장애 또는 질환, 염증 반응, 장애 또는 질환 또는 염증을 감소, 저하, 저해, 억제, 제한 또는 제어하기 위한 이중특이적 융합 폴리펩티드의 방법 또는 용도가 제공된다. 한 구현예에서, 대상에서의 급성 또는 만성 자가면역 반응, 장애 또는 질환을 감소, 저하, 저해, 억제, 제한 또는 제어하기 위한 방법 또는 용도가 제공된다. 추가 구현예에서, 대상에서의 급성 또는 만성 항체 및/또는 세포 매개 반응, 장애 또는 질환을 감소, 저하, 저해, 억제, 제한 또는 제어하기 위한 방법 또는 용도가 제공된다. 추가 구현예에서, IL-17a 및/또는 IL-6R 기능 또는 활성에 의해 매개되는 급성 또는 만성 반응, 장애 또는 질환을 감소, 저하, 저해, 억제, 제한 또는 제어하기 위한 방법 또는 용도가 제공된다. 추가 구현예에서, IL-17a 및/또는 IL-6R 기능 또는 활성을 조절함으로써 치료될 수 있는 급성 또는 만성 반응, 장애 또는 질환을 감소, 저하, 저해, 억제, 제한 또는 제어하기 위한 방법 또는 용도가 제공된다.

[0153] 용어 "면역 장애" 및 "면역 질환" 은, 장애 또는 질환에 따라 상이한 생리학적 증상 또는 이상을 특징으로 하는 면역 기능 또는 활성을 의미한다. 본원에서 사용하는 바와 같은 "원치 않는 면역 반응" 또는 "일탈적 면역 반응" 은 원하거나 생리학적으로 정상인 반응, 활성 또는 기능 초과 또는 미만인 임의의 면역 반응, 활성 또는 기능을 나타낸다. 예는 급성 또는 만성 면역 반응, 활성 또는 기능을 포함한다. "원치 않는 면역 반응" 은 일반적으로, 면역계의 원치않거나 일탈적인 증가 또는 부적절한 반응, 활성 또는 기능으로서 특징지어진다. 그러나, 원치 않는 면역 반응, 기능 또는 활성은 예를 들어 정상 반응, 기능 또는 활성일 수 있다. 따라서 정상 면역 반응은, 이들이 원치 않는 것인 한, 심지어 일탈적인 것으로 고려되지 않는다 해도, 이러한 용어의 의미 내에 포함된다. 원치 않는 면역 반응, 기능 또는 활성은 또한 비정상적 반응, 기능 또는 활성일 수 있다. 비정상적 (일탈적) 면역 반응, 기능 또는 활성은 정상에서 벗어난다.

[0154] 원치않거나 일탈적인 면역 반응의 한 비제한적 예는 면역 반응이 과반응성인 경우이다 (예컨대 자가면역 장애 또는 질환의 경우). 원치않거나 일탈적인 면역 반응의 또 다른 비제한적 예는 면역 반응이 임의의 조직 또는 기관, 예컨대 골격 관절 (류마티스 관절염, 소아 특발성 관절염), 폐 또는 기도 (알레르기), 또는 소화관 또는 위장관 (크론병, 염증성 장 질환 (IBD) 또는 궤양성 대장염) 에서 급성 또는 만성 염증 반응 또는 염증을 일으키는 경우이다.

[0155] 원치않거나 일탈적인 면역 반응, 염증 반응, 염증은 체액성, 세포-매개 또는 이의 조합일 수 있는 수많은 상이한 생리학적 부정적 증상 또는 합병증을 특징으로 한다. 본 발명에 따라 치료될 수 있는 반응, 장애 및 질환은 비제한적으로, 대상에서의 세포 또는 조직/기관 손상을 직접적으로 또는 간접적으로 초래하는 것들을 포함한다. 전신, 국지적 또는 국소적 수준에서, 면역 반응, 염증 반응 또는 염증은 부기, 통증, 두통, 열, 구역, 골격 관절 통증, 뻣뻣함 또는 이동성 부족, 발진, 홍조 또는 기타 변색을 특징으로 한다. 세포 수준에서, 면역 반응, 염증 반응 또는 염증은 T 세포 활성화 및/또는 분화, 대식세포, 단핵구 등에 의한 부위의 세포 침윤, 항체의 생성, 사이토카인, 림포카인, 케모카인, 인터페론 및 인터류킨의 생성, 세포 성장 및 성숙 인자 (예를 들어 증식 및 분화 인자), 세포 축적 또는 이동 및 세포, 조직 또는 기관 손상 중 하나 이상을 특징으로 할 수 있다. 따라서, 본 발명의 방법 및 용도는 면역 반응, 염증 반응 또는 염증 특유의 임의의 이러한 생리학적 증상 또는 세포 또는 생물학적 반응에 대한 향상 효과 및 그의 치료를 포함한다.

- [0156] 자가면역 반응, 장애 및 질환은 일반적으로 증가하거나 원치않는 체액성 또는 세포-매개 면역 민감성 또는 기억, 또는 자가-항원에 대한 감소하거나 불충분한 내성을 특징으로 하는 면역계의 원치않거나 일탈적인 반응, 활성 또는 기능으로서 특징지어진다. 본 발명에 따라 치료될 수 있는 자가면역 반응, 장애 및 질환은 비제한적으로, 대상에서의 세포 또는 조직/기관 손상을 일으키는 반응, 장애 및 질환을 포함한다.
- [0157] 한 구현예에서, 대상에서의 원치않거나 일탈적인 면역 반응, 면역 장애, 염증 반응, 또는 염증을 감소, 저하, 저해, 억제, 제한 또는 제어하기 위한 방법 또는 용도가 제공된다. 또 다른 구현예에서, 대상에서의 자가면역 반응, 장애 또는 질환을 감소, 저하, 저해, 억제, 제한 또는 제어하기 위한 방법 또는 용도가 제공된다. 추가 구현예에서, 원치않거나 일탈적인 면역 반응, 면역 장애, 염증 반응, 또는 염증의 이상 증상, 또는 자가면역 반응, 장애 또는 질환의 이상 증상을 감소, 저하, 저해, 억제, 제한 또는 제어하기 위한 방법 및 용도가 제공된다.
- [0158] 한 양태에서, 본 발명에 따른 방법 또는 용도는 병상의 증상 (예를 들어, 원치않거나 일탈적인 면역 반응, 면역 장애, 염증 반응, 또는 염증) 의 발생, 빈도, 중증도, 진행 또는 지속에 있어서 감소를 초래할 수 있다. 예를 들어, 본 발명의 방법 또는 용도는 원치않거나 일탈적인 면역 반응, 면역 장애, 염증 반응, 또는 염증, 또는 자가면역 반응, 장애 또는 질환의 이상 증상의 중증도, 빈도, 지속 또는 확률을 감소, 저하, 저해, 억제, 제한 또는 제어하거나, 그의 진행으로부터 대상을 보호할 수 있다.
- [0159] 원치않거나 일탈적인 면역 반응, 면역 장애, 염증 반응, 또는 염증의 이상 증상, 또는 자가면역 반응, 장애 또는 질환의 이상 증상의 예는 부기, 통증, 발진, 변색, 두통, 열, 구역, 설사, 고창증, 무기력, 골격 관절 뻣뻣함 또는 감소된 이동성, 호흡 곤란, 감소된 근육 또는 수족 이동성, 마비, 감각 손상, 예컨대 시력 또는 조직 또는 세포 손상을 포함할 수 있다. 이상 증상은 특히 조직 또는 기관, 또는 신체의 부위 또는 영역, 예컨대 피부, 상피 또는 점막 조직, 소화관, 위장, 창자, 비뇨생식관, 췌장, 흉선, 폐, 간, 신장, 근육, 중추 신경 또는 말초 신경, 비장, 피부, 골격 관절 (예를 들어 무릎, 발목, 둔부, 어깨, 손목, 손가락, 발가락 또는 팔꿈치), 혈관 또는 림프관, 또는 심폐 조직 또는 기관에서 발생할 수 있다. 자가면역 반응, 장애 또는 질환의 이상 증상의 추가예는 T 세포 생성, 생존, 증식, 활성화 또는 분화, 및/또는 자가항체, 또는 전-염증성 사이토카인 또는 케모카인 (예를 들어, IL-17a 및 IL-6) 의 생성을 포함할 수 있다.
- [0160] 일탈적이거나 원치않는 면역 반응, 장애 및 질환의 비제한적 예는 본 발명에 따라 치료가능한 염증 반응, 장애 및 질환, 염증, 자가면역 반응, 장애 및 질환을 포함할 수 있으며 하기가 포함된다: 다발성 근염, 혈관염 증후군, 거세포 동맥염, 타카야스 동맥염, 재발성, 다발연골염, 후천성 혈우병 A, 스틸병, 성인-발병 스틸병, 아밀로이드 A 아밀로이드증, 류마티스성 다발근통, 척추관절염, 폐동맥 고혈압, 이식편대숙주 질환, 자가면역성 심근염, 접촉 과민증 (접촉성 피부염), 위 식도 역류병, 홍피증, 베체트병, 루게릭병, 이식, 시신경 척수염, 류마티스 관절염, 소아 류마티스 관절염, 악성 류마티스 관절염, 약물-저항성 류마티스 관절염, 시신경 척수염, 가와사키병, 다관절 또는 전신 소아 특발성 관절염, 건선, 만성 폐쇄성 폐질환 (COPD), 캐슬만병, 천식, 알레르기성 천식, 알레르기성 뇌척수염, 관절염, 만성 진행성 관절염, 반응성 관절염, 건선성 관절염, 장질환성 관절염, 변형 관절염, 류마티스 질환, 척추염, 강직성 척추염, 라이터 증후군, 과민증 (기도 과민증 및 피부 과민증 모두를 포함), 알레르기, 전신 홍반 루푸스 (SLE), 피부 홍반 루푸스, 나병 결절 홍반, 쇼그렌 증후군, 염증성 근육 장애, 다발연골염, 베게너 육아종증, 피부근염, 스티븐-존슨 증후군, 만성 활성 간염, 중증 근무력증, 특발스프루 (idiopathic sprue), 자가면역 염증성 장질환, 췌양성 대장염, 크론병, 과민성 대장 증후군, 내분비성 안질환, 피부경화증, 그레이브병, 유육종증, 다발성 경화증, 원발성 담즙성 간경변, 질염, 직장염, 인슐린 의존성 당뇨병, 인슐린 저항성 당뇨병, 소아 당뇨병 (I 형 당뇨병), 자가면역 혈액학적 장애, 용혈성 빈혈, 재생불량성 빈혈, 순적혈구 빈혈, 특발성 혈소판감소증 (ITP), 자가면역 포도막염, 포도막염 (전부 및 후부), 건성각결막염, 봄철 각결막염, 간질성 폐 섬유증, 사구체신염 (신증후군의 존재 및 부재), 특발성 신증후군 또는 최소변화 신증, 피부의 염증 질환, 각막 염증, 근육염, 골 이식체 풀림, 대사 장애, 죽상동맥경화증, 이상지질혈증, 골 손실, 퇴행성 관절염, 골다공증, 폐쇄성 또는 염증성 기도 질환의 치주 질환, 기관지염, 진폐증, 폐기종, 급성 및 만성염증 반응, 급성 감염, 패혈성 쇼크, 내독소 쇼크, 성인 호흡 장애 증후군, 뇌수막염, 폐렴, 악액질 소모 증후군, 뇌졸중, 포진성 기질 각막염, 건성안, 홍채염, 결막염, 각결막염, 길랭-바레 증후군, 강직 인간 증후군, 하시모토 갑상선염, 자가면역 갑상선염, 뇌척수염, 급성 류마티스열, 교감성 안염, 굿파스처 증후군, 전신 피사 혈관염, 항인지질 증후군, 에디슨병, 심상성 천포창, 낙엽상 천포창, 포진성 피부염, 아토피 피부염, 습진성 피부염, 햇바늘, 편평태선, 자가면역 탈모, 백반증, 자가면역 용혈성 빈혈, 자가면역 혈소판감소성 자반병, 악성 빈혈, 감각신경성 난청, 특발성 양측 진행성 감각신경성 난청, 다선성 자가면역 증후군 제 I 형 또는 제 II 형, 면역 불임 또는 면역-매개 불임.

- [0161] 용어 "접촉시킴"은 둘 이상의 개체 사이 (예를 들어, 융합 폴리펩티드 (FynomAb)와 표적, 예컨대 IL-17a 및/또는 IL-6R 사이)의 직접적 또는 간접적 상호작용을 의미한다. 직접적 상호작용의 특징에는 결합이다. 본원에서 사용한 바와 같은 접촉은 용액 중, 고체상 중, 시험관내, 생체외, 세포 내에서 또는 생체내 접촉일 수 있다. 생체내 접촉은 대상 또는 환자에게 투여하는 것 (administering), 투여 (administration), 투여 하고 (administer), 전달하는 것 (delivering), 또는 전달 (delivery)을 지칭할 수 있다.
- [0162] 본 발명의 방법 또는 용도에서, 본원에 나타난 바와 같은 융합 폴리펩티드 또는 조성물은 원치않거나 일탈적인 면역 반응, 면역 장애, 염증 반응, 또는 염증, 또는 자가면역 반응, 장애 또는 질환, 또는 전술한 것에 의해 초래되거나 이와 연관된 하나 이상의 이상 증상, 장애, 질병, 병리, 질환 또는 합병증의 발병 이전에, 실질적으로 동시에, 또는 이후에 투여될 수 있다. 따라서, 본 발명의 방법 또는 용도는 반응, 장애 또는 질환, 또는 원치않거나 일탈적인 면역 반응, 면역 장애, 염증 반응, 염증 또는 자가면역 반응, 장애 또는 질환에 의해 초래되거나 이와 연관된 하나 이상의 이상 증상, 장애, 질병, 병리, 질환 또는 합병증이 시작되기 전 (즉, 예방), 이의 시작과 동시에 또는 이의 시작 징조 이후에 실행될 수 있다. 이상 증상의 발달 이전에, 이와 동시에 또는 직후에 본원에 나타난 바와 같은 융합 폴리펩티드 또는 조성물을 투여하는 것은 원치않거나 일탈적인 면역 반응, 면역 장애, 염증 반응, 염증 또는 자가면역 반응, 장애 또는 질환에 의해 초래되거나 이와 연관된 하나 이상의 이상 증상, 장애, 질병, 병리, 질환, 또는 합병증의 발생, 빈도, 중증도, 진행 또는 지속을 감소, 저하, 저해, 억제, 제한 또는 제어할 수 있다.
- [0163] 본 발명의 방법 또는 용도에 따라서, 본 발명의 이중특이적 융합 폴리펩티드는 제 2의 작용제, 예컨대 면역억제제, 항-염증제 또는 고식 (palliative)제와 조합으로 제형화 및/또는 투여될 수 있다. 본 발명의 융합 폴리펩티드는 제 2의 작용제, 예컨대 면역억제제, 항-염증제 또는 고식제를 투여하기 이전에, 실질적으로 동시에, 또는 이후에 투여될 수 있다. 본 발명의 융합 폴리펩티드는 제 2의 작용제 예컨대 면역억제제, 항-염증제 또는 고식제와 조합으로 제형화될 수 있다.
- [0164] 제 2의 작용제의 비제한적 예는 항-염증제, 예컨대 스테로이드성 및 비-스테로이드성 항-염증 약물 (NSAID) 및 항-염증 생물제제 예컨대 염증 반응 또는 증상을 제한하거나 제어하는 항체를 포함할 수 있다. 제 2의 작용제 및 약물은 면역억제 코르티코스테로이드 (스테로이드 수용체 아고니스트) 예컨대 부테소니드, 프레드니손, 플루니솔리드; 항-염증제 예컨대 플루니솔리드 히드로클루오로알칸, 에스트로젠, 프로게스테론, 텍사메타손 및 로테프레드놀; 베타-아고니스트 (예를 들어 단기간 작용 또는 장기간 작용) 예컨대 밤부테롤, 포르모테롤, 살메테롤, 알부테롤; 항콜린제 예컨대 이프라트로프 브로마이드, 옥시트로프 브로마이드, 크로몰린 및 칼슘-채널 차단제; 항히스타민제 예컨대 테르페나딘, 아스테미졸, 히드록시진, 클로르페니라민, 트리펠렌아민, 세티리진, 데슬로라타딘, 미졸라스틴, 펙소페나딘, 올로파타딘 히드로클로라이드, 노라스테미졸, 레보세티리진, 레보카바스틴, 아젤라스틴, 에바스틴 및 로라타딘; 항류코트리엔 (예를 들어, 항-시스테인릴 류코트리엔 (CysLT)) 예컨대 옥사토미드, 몬테루카스트, 자피루카스트 및 질류톤 (zileuton); 포스포디에스테라아제 저해제 (예를 들어, PDE4 하위유형) 예컨대 이부딜라스트, 실로밀라스트, BAY 19-8004, 테오필린 (예를 들어, 서방형) 및 기타 잔틴 유도제 (예를 들어, 독소필린); 트롬복산 안타고니스트 예컨대 세라트로다스트, 오자그렐 히드로클로라이드 및 라마트로반; 프로스타글란딘 안타고니스트 예컨대 COX-1 및 COX-2 저해제 (예를 들어, 셀레콕시브 및 로페콕시브), 아스피린; 및 칼슘 채널 오프너를 포함한다. 다른 작용제 및 약물 부류의 추가적인 비제한적 예는 면역조절 치료요법인 항-염증제, 예컨대 전염증성 사이토카인 안타고니스트, 예컨대 TNF α 안타고니스트 (예를 들어 에타네르셉트, aka EnbrelTM); 면역 세포 안타고니스트, 예컨대 B 세포 감손제 리툽시마브, 및 T 세포 동시자극 차단제 아바타셉트 (류마티스 관절염 치료에 사용됨), 및 사이토카인에 결합하는 항-염증 항체, 예컨대 항-IgE (예를 들어, rhuMAb-E25 오말리주마브), 및 항-TNF α , IFN γ , IL-1, IL-2, IL-5, IL-6, IL-9, IL-13, IL-16, 및 성장 인자 예컨대 과립구/대식세포 콜로니-자극 인자를 포함한다.
- [0165] 본원에서 개시한 바와 같이, 이중특이적 융합 폴리펩티드를 사용하는 본 발명의 방법 또는 용도는 대상에게 검출가능 또는 측정가능한 치료적 이득 또는 개선을 제공할 수 있다.
- [0166] 치료적 이득 또는 개선은 반응, 장애 또는 질환, 또는 원치않거나 일탈적인 반응, 장애 또는 질환에 의해 초래되거나 이와 연관된 하나 이상의 이상 증상, 장애, 질병, 병리, 질환 또는 합병증에 있어서 임의의 측정가능 또는 검출가능한, 객관적 또는 주관적인, 일시적, 임시적, 또는 장기간의 대상에 대한 이득 또는 개선일 수 있다. 치료적 이득 및 개선은 비제한적으로, 원치않거나 일탈적인 반응, 장애 또는 질환의 이상 증상의 발생, 빈도, 중증도, 진행 또는 지속을 감소, 저하, 저해, 억제, 제한 또는 제어하는 것을 포함할 수 있다. 치료적 이득 또는 개선은 또한 비제한적으로, T 세포, B-세포, 자가-항체, 면역 세포 침윤 또는 동원, 전염증성 사

이토카인, 림포카인 또는 케모카인과 같은 염증 또는 염증 반응의 양 또는 활성을 감소, 저하, 저해, 억제, 제한 또는 제어하는 것을 포함할 수 있다.

[0167] 본 발명에 따라서, 유효량 또는 충분량의 이중특이적 융합 폴리펩티드가 대상에게 투여된다. "유효량" 또는 "충분량"은 단일 또는 다중 용량으로, 단독 또는 하나 이상의 다른 성분 (치료제 예컨대 약물), 치료, 프로토콜 또는 치료 요법제와 조합으로, 대상에서 임의 지속 시간 (장기간 또는 단기간) 의 검출가능한 반응, 예상 또는 원하는 결과 또는 대상에 대한 임의 측정가능 또는 검출가능 정도의 또는 임의의 지속 시간 (예를 들어, 분, 시간, 일, 개월, 년, 또는 치유됨) 동안의 이득을 제공하는 양을 나타낸다.

[0168] 치료를 위한 (예를 들어, 치료적 이득 또는 개선을 제공하거나 향상시키기 위한) "유효량" 또는 "충분량"이라는 용어는 통상, 세포, 조직 또는 기관의 반응, 장애 또는 질환, 또는 이의 이상 증상의 진행 또는 악화를 감소, 저하, 저해, 억제, 제한 또는 제어하는 것이 만족스러운 결과임에도 불구하고, 하나의, 다수의 또는 모든 이상 증상의 반응, 장애 또는 질환, 반응, 장애 또는 질환의 결과 또는 합병증, 하나 이상의 이상 증상, 장애, 질병, 병리, 질환 또는 합병증, 예를 들어 원치않거나 일탈적인 면역 반응, 장애 또는 질환, 염증 반응, 장애 또는 질환, 염증, 자가면역 반응, 장애 또는 질환에 의해 초래되거나 이와 연관된 것들을 측정가능한 정도로 제공하기에 유효한 양을 나타낸다.

[0169] 유효량 또는 충분량은 단일 투여로 제공될 수 있으나 그럴 필요는 없고, 다수 투여를 필요로 할 수 있으며, 단독으로 또는 또 다른 조성물 (예를 들어 작용제), 치료, 프로토콜 또는 치료 계획과 조합으로 투여될 수 있으나 그럴 필요는 없다. 예를 들어, 그 양은 대상의 필요, 유형, 상태 및 치료한 반응, 장애 또는 질환의 중증도 또는 (존재한다면) 치료의 부작용에 의해 나타난 바에 따라 비례하여 증가할 수 있다. 또한, 유효량 또는 충분량은 제2 조성물 (예를 들어 또 다른 약물 또는 작용제), 치료, 프로토콜 또는 치료 계획 없이 단일 또는 다중 용량으로 제공된 경우 유효하거나 충분하지 않아도 되는데, 이는 주어진 대상에서 유효하거나 충분한 것으로 고려되도록 이러한 용량 외의 추가적 용량, 양 또는 지속, 또는 추가적 조성물 (예를 들어 약물 또는 작용제), 치료, 프로토콜 또는 치료 계획이 포함될 수 있기 때문이다. 유효한 것으로 고려된 양은 또한 또 다른 치료, 치료 계획 또는 프로토콜의 사용 감소를 초래하는 양을 포함한다.

[0170] 치료에 대해 통상적인 바와 같이, 일부 대상은 주어진 치료에 대해 더 큰 반응, 또는 적은 반응 또는 무반응을 나타낼 수 있다. 따라서 유효량 또는 충분량은 예방적으로 또는 치료적으로, 치료한 각각의 및 모든 대상에게서도, 주어진 군 또는 집단에서의 다수의 치료한 대상에서도 유효할 필요는 없다. 유효량 또는 충분량은 군 또는 일반 집단이 아니라 특정 대상에서의 유효성 또는 충분함을 의미한다. 따라서, 적절량은 치료한 병상, 원하는 치료 효과 뿐 아니라 개별적 대상에 따라 좌우될 것이다 (예를 들어, 대상 내의 생체이용률, 성별 또는 연령).

[0171] 용어 "향상"은 대상의 병상 또는 기저 세포 반응에 있어서의 검출가능하거나 측정가능한 개선을 나타낸다. 검출가능하거나 측정가능한 개선은 원치않거나 일탈적인 면역 반응, 장애 또는 질환, 염증 반응, 장애 또는 질환, 염증, 자가면역 반응, 장애 또는 질환과 같은 반응, 장애 또는 질환, 또는 원치않거나 일탈적인 면역 반응, 장애 또는 질환, 염증 반응, 장애 또는 질환, 염증, 자가면역 반응, 장애 또는 질환과 같은 반응, 장애 또는 질환에 의해 초래되거나 이와 연관된 하나 이상의 이상 증상, 장애, 질병, 병리, 질환 또는 합병증의 발생, 빈도, 중증도, 진행 또는 지속에 있어서의 객관적 또는 주관적 감소, 저하, 저해, 억제, 제한 또는 제어, 또는 원치않거나 일탈적인 면역 반응, 장애 또는 질환, 염증 반응, 장애 또는 질환, 염증, 자가면역 반응, 장애 또는 질환과 같은 반응, 장애 또는 질환의 반전을 포함한다. 이러한 개선은 또한 세포 수준에서 발생할 수 있다.

[0172] 따라서, 성공적인 치료 결과는 대상에서의 원치않거나 일탈적인 면역 반응, 장애 또는 질환, 염증 반응, 장애 또는 질환, 염증, 자가면역 반응, 장애 또는 질환, 또는 원치않거나 일탈적인 면역 반응, 장애 또는 질환, 염증 반응, 장애 또는 질환, 염증, 자가면역 반응, 장애 또는 질환의 하나 이상의 이상 증상 또는 기저 원인 또는 결과의 발생, 빈도, 중증도, 진행 또는 지속을 감소, 저하, 저해, 억제, 제한, 제어 또는 방지하는 것의 "치료 효과" 또는 "이득"을 초래할 수 있다. 따라서 이상 증상 또는 반응, 장애 또는 질환의 하나 이상의 기저 원인에 영향을 주는 치료 방법은 유익한 것으로 고려된다. 원치않거나 일탈적인 면역 반응, 장애 또는 질환, 염증 반응, 장애 또는 질환, 염증, 자가면역 반응, 장애 또는 질환을 안정화시키는 것과 같은, 악화에 있어서의 감소 또는 저하가 또한 성공적인 치료 결과이다.

[0173] 따라서 치료적 이득 또는 개선은 원치않거나 일탈적인 면역 반응, 장애 또는 질환, 염증 반응, 장애 또는 질환, 염증, 자가면역 반응, 장애 또는 질환, 또는 원치않거나 일탈적인 면역 반응, 장애 또는 질환, 염증 반응, 장애 또는 질환, 염증, 자가면역 반응, 장애 또는 질환에 의해 초래되거나 이와 연관된 임의 하나의, 대부분의 또는

모든 이상 증상, 합병증, 결과 또는 기저 원인의 완전한 제거일 필요는 없다. 따라서, 만족스러운 종말점은 대상의 반응, 장애 또는 질환에 있어서의 증대하는 개선, 또는 반응, 장애 또는 질환, 예컨대 원치않거나 일탈적인 면역 반응, 장애 또는 질환, 염증 반응, 장애 또는 질환, 염증, 자가면역 반응, 장애 또는 질환, 또는 원치않거나 일탈적인 면역 반응, 장애 또는 질환, 염증 반응, 장애 또는 질환, 염증, 자가면역 반응, 장애 또는 질환에 의해 초래되거나 이와 연관된 하나 이상의 이상 증상, 장애, 질병, 병리, 질환 또는 합병증의 발생, 빈도, 중증도, 진행 또는 지속, 또는 저해 또는 발전에 있어서의 부분적 감소, 저하, 저해, 억제, 제한, 제어 또는 방지 (예를 들어 하나 이상의 증상 또는 합병증의 안정화) 가 짧은 지속 시간 또는 긴 지속 시간 (시간, 일, 주 또는 개월) 에 걸쳐 존재하는 경우 달성될 수 있다.

[0174] 반응, 장애 또는 질환, 예컨대 원치않거나 일탈적인 면역 반응, 장애 또는 질환, 염증 반응, 장애 또는 질환, 염증, 자가면역 반응, 장애 또는 질환의 잠재적인 치료적 이득 또는 개선을 제공하는 치료와 같은 방법 또는 용도의 유효성은 다양한 방법에 의해 확인될 수 있다. 이러한 방법은 예를 들어, 부기, 통증, 발진, 두통, 열, 구역, 설사, 고창증, 무기력, 골격 관절 뻣뻣함, 이동성 부족, 발진, 또는 조직 또는 세포 손상을 측정하는 스코어를 포함한다. T 또는 B 세포 활성화 및/또는 분화, 부위의 세포 침윤, 부위로의 세포 축적 또는 이동, 항체, 사이토카인, 림포카인, 케모카인, 인터페론 및 인터류킨의 생성, 세포 성장 및 성숙 인자를 측정하는 것은 각종 면역학적 검정, 예컨대 ELISA 를 사용한다. 세포, 조직 또는 기관 손상 정도를 측정하는 것은 CT 스캐닝, MRI, 초음파, 분자 콘트라스트 이미징 (contrast imaging), 또는 분자 초음파 콘트라스트 이미징에 의해 확인될 수 있다. 골격 관절에 대해서, 염증은 환자 자가 평가, 연관절 카운트 및 부종 관절 카운트, 및 적혈구 침강 속도 (ESR) 또는 C-반응성 단백질 (CRP) 에 의해 평가될 수 있다. 위장관에 대해서, 염증은 예를 들어 내시경술 (대장내시경, 위내시경, ERCP) 에 의해 평가될 수 있다. 중추신경계 (CNS) 의 염증에 대해서는, 예를 들어 요추 천자에서의 세포 및 사이토카인이 염증을 나타낸다.

[0175] 용어 "대상" 은 동물, 통상 포유동물, 예컨대 인간, 비-인간 영장류 (예를 들어 유인원, 긴팔원숭이, 침팬지, 오랑우탄 또는 마카크), 반려동물 (예를 들어 개 및 고양이), 가축 (예를 들어 말, 소, 염소, 양 또는 돼지) 또는 실험 동물 (예를 들어 마우스, 랫트, 토끼 또는 기니피그) 을 나타낸다. 대상의 예는 생체내 분석을 위한 동물 질환 모델, 예를 들어 원치않거나 일탈적인 면역 반응, 장애 또는 질환, 염증 반응, 장애 또는 질환, 염증, 자가면역 반응, 장애 또는 질환의 동물 모델을 포함할 수 있다 (예를 들어, CIA, BXSB, EAE 및 SCID 마우스).

[0176] 치료에 적절한 대상의 예는 원치않거나 일탈적인 면역 반응, 장애 또는 질환, 염증 반응, 장애 또는 질환, 염증, 자가면역 반응, 장애 또는 질환을 갖는 것들, 원치않거나 일탈적인 면역 반응, 장애 또는 질환, 염증 반응, 장애 또는 질환, 염증, 자가면역 반응, 장애 또는 질환에 대한 치료를 거치는 것들 뿐 아니라 원치않거나 일탈적인 면역 반응, 장애 또는 질환, 염증 반응, 장애 또는 질환, 염증, 자가면역 반응, 장애 또는 질환에 대한 치료 또는 치료요법을 거치는 것들, 예컨대 원치않거나 일탈적인 면역 반응, 장애 또는 질환, 염증 반응, 장애 또는 질환, 염증, 자가면역 반응, 장애 또는 질환에 차도가 있는 대상을 포함할 수 있다.

[0177] 대상의 예는 다발성 근염, 혈관염 증후군, 거세포 동맥염, 타카야스 동맥염, 재발성, 다발연골염, 후천성 혈우병 A, 스틸병, 성인-발병 스틸병, 아밀로이드 A 아밀로이드증, 류마티스성 다발근통, 척추관절염, 폐동맥 고혈압, 이식편대숙주 질환, 자가면역성 심근염, 접촉 과민증 (접촉성 피부염), 위 식도 역류병, 홍피증, 베체트병, 루게릭병, 이식, 시신경 척수염, 류마티스 관절염, 소아 류마티스 관절염, 악성 류마티스 관절염, 약물-저항성 류마티스 관절염, 시신경 척수염, 가와사키병, 다관절 또는 전신 소아 특발성 관절염, 건선, 만성 폐쇄성 폐질환 (COPD), 캐슬만병, 천식, 알레르기성 천식, 알레르기성 비염, 관절염, 만성 진행성 관절염, 반응성 관절염, 건선성 관절염, 장질환성 관절염, 변형 관절염, 류마티스 질환, 척추염, 강직성 척추염, 라이터 증후군, 과민증 (기도 과민증 및 피부 과민증 모두 포함), 알레르기, 전신 홍반 루푸스 (SLE), 피부 홍반 루푸스, 나병 결절 홍반, 쇼그렌 증후군, 염증성 근육 장애, 다발연골염, 베게너 육아종증, 피부근염, 스티븐-존슨 증후군, 만성 활성 간염, 중증 근무력증, 특발 스포루, 자가면역 염증성 장질환, 궤양성 대장염, 크론병, 과민성 대장 증후군, 내분비성 안질환, 피부경화증, 그레이브병, 유육종증, 다발성 경화증, 원발성 담즙성 간경변, 질염, 직장염, 인슐린 의존성 당뇨병, 인슐린 저항성 당뇨병, 소아 당뇨병 (I 형 당뇨병), 자가면역 혈액학적 장애, 용혈성 빈혈, 재생불량성 빈혈, 순적혈구 빈혈, 특발성 혈소판감소증 (ITP), 자가면역 포도막염, 포도막염 (전부 및 후부), 건성각결막염, 봄철 각결막염, 간질성 폐 섬유증, 사구체신염 (신증후군의 존재 및 부재), 특발성 신증후군 또는 최소 변화 신증, 피부의 염증 질환, 각막 염증, 근육염, 골 이식체 풀림, 대사 장애, 죽상동맥경화증, 이상지질혈증, 골 손실, 퇴행성 관절염, 골다공증, 폐쇄성 또는 염증성 기도 질환의 치주 질환, 기관지염, 진폐증, 폐기종, 급성 및 만성 염증 반응, 급성 감염, 폐혈성 쇼크, 내독소 쇼크, 성인 호흡

장애 증후군, 뇌수막염, 폐렴, 악액질 소모 증후군, 뇌졸중, 포진성 기질 각막염, 건성안, 홍채염, 결막염, 각 결막염, 길랭-바레 증후군, 강직 인간 증후군, 하시모토 갑상선염, 자가면역 갑상선염, 뇌척수염, 급성 류마티스열, 교감성 안염, 국과스처 증후군, 전신 괴사 혈관염, 항인지질 증후군, 에디슨병, 심상성 천포창, 낙엽상 천포창, 포진성 피부염, 아토피 피부염, 습진성 피부염, 헛바늘, 편평태선, 자가면역 탈모, 백반증, 자가면역 용혈성 빈혈, 자가면역 혈소판감소성 자반병, 악성 빈혈, 감각신경성 난청, 특발성 양측 진행성 감각신경성 난청, 다선성 자가면역 증후군 제 I 형 또는 제 II 형, 면역 불임 또는 면역-매개 불임 중 임의의 것을 갖거나 가질 위험이 있는 것들을 포함할 수 있다.

[0178] 대상의 예는 원치않거나 일탈적인 면역 반응, 장애 또는 질환, 염증 반응, 장애 또는 질환, 염증, 자가면역 반응, 장애 또는 질환의 위험이 증가하는 것들을 추가로 포함할 수 있다. 후보 대상은 예를 들어, 원치않거나 일탈적인 면역 반응, 장애 또는 질환, 염증 반응, 장애 또는 질환, 염증, 자가면역 반응, 장애 또는 질환을 갖거나, 원치않거나 일탈적인 면역 반응, 장애 또는 질환, 염증 반응, 장애 또는 질환, 염증, 자가면역 반응, 장애 또는 질환에 대한 치료요법 또는 약물로 치료받는다. 후보 대상은 또한 원치않거나 일탈적인 면역 반응, 장애 또는 질환, 염증 반응, 장애 또는 질환, 염증, 자가면역 반응, 장애 또는 질환에 대한 치료가 필요하거나 이로부터 이익을 받는 대상을 또한 포함한다.

[0179] "위험이 있는" 대상은 통상 원치않거나 일탈적인 면역 반응, 장애 또는 질환, 염증 반응, 장애 또는 질환, 염증, 자가면역 반응, 장애 또는 질환에 대한 증가한 위험 인자를 가질 수 있다. 위험이 있는 대상의 특징 예는 원치않거나 일탈적인 면역 반응, 장애 또는 질환, 염증 반응, 장애 또는 질환, 염증, 자가면역 반응, 장애 또는 질환을 갖는 것들을 포함할 수 있다. 위험이 있는 대상의 예는 또한 원치않거나 일탈적인 면역 반응, 장애 또는 질환, 염증 반응, 장애 또는 질환, 염증, 자가면역 반응, 장애 또는 질환에 대한 치료 또는 치료요법이 처방된 것들을 포함할 수 있다. 위험이 있는 대상의 예는 또한 위험 인자 예컨대 가족력 (예를 들어, 유전적 소인), 성별, 생활 방식 (식이, 흡연), 직업 (의료 또는 임상인, 농업 및 축산업 작업자) 또는 환경 인자 (알레르기원 노출) 를 갖는 것들을 포함할 수 있다.

[0180] 본 발명에 따라서, 융합 폴리펩티드를 포함하는 조성물은 투여 용이성 및 투약량 균일성을 위해 투약 단위 형태로 패키징될 수 있다. 본원에서 사용한 바와 같은 "투약 단위 형태" 는 일원적 투약량 치료로서 적합한 물리적 개별 단위를 나타내며; 각각의 단위는 원하는 치료 또는 치료적 (예를 들어, 유익한) 효과가 생성되도록 계산된 담체, 부형제, 희석제 또는 비히클과 함께 다량의 조성물을 함유한다. 단위 투약 형태는 비제한적으로, 이용한 특정 조성물, 치료한 장애 또는 질환, 달성할 효과 및 치료할 대상을 포함하는 인자에 따라 가변적일 수 있다. 예시적인 단위 용량은 약 25-250, 250-500, 500-1,000, 1,000-2,500, 2,500-5,000, 5,000-25,000 또는 5,000-50,000 pg; 약 50-500, 500-5,000, 5,000-25,000 또는 25,000-50,000 ng; 약 50-500, 500-5,000, 5,000-25,000 또는 25,000-50,000 μ g; 약 25-250, 250-500, 500-1,000, 1,000-2,500, 2,500-5,000, 5,000-25,000 또는 5,000-50,000 mg; 및 약 1-5, 5-10, 10-25, 25-50, 50-100, 100-250, 250-500, 500-1,000, 1,000-2,500 또는 2,500-5,000 g 범위이다.

[0181] 본원에서 나타낸 바와 같이, 융합 폴리펩티드 및 이의 조성물은 대상 또는 환자에게 다양한 용량 및 양, 및 빈도로 시험관내, 생체의 접촉 또는 제공될 수 있거나 생체내 투여 또는 전달될 수 있다. 예를 들어, 융합 폴리펩티드 또는 이의 조성물은 단일 투약량 또는 다중 투약량으로서, 예를 들어 유효량 또는 충분량으로, 의도된 효과를 제공하기 위해 투여 또는 전달될 수 있다. 예시적 용량 범위는 연속일, 교대일 또는 간헐적으로, 약 25-250, 250-500, 500-1,000, 1,000-2,500, 2,500-5,000, 5,000-25,000 또는 5,000-50,000 pg/kg; 약 50-500, 500-5,000, 5,000-25,000 또는 25,000-50,000 ng/kg; 약 50-500, 500-5,000, 5,000-25,000 또는 25,000-50,000 μ g/kg; 및 약 25-250, 250-500, 500-1,000, 1,000-2,500, 2,500-5,000, 5,000-25,000 또는 5,000-50,000 mg/kg 범위이다.

[0182] 조성물의 단일 또는 다중 (예를 들어 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 회 이상) 투여 또는 용량은 당일 또는 연속일, 교대일 또는 간헐적으로 투여될 수 있다. 예를 들어, 융합 폴리펩티드를 포함하는 조성물은 1 일 1, 2, 3, 4 회 이상, 교대일, 격주, 매주, 매월, 격월 또는 매년 투여될 수 있다. 융합 폴리펩티드를 포함하는 조성물은 임의의 적절한 지속 기간, 예를 들어 1 시간 이하, 예를 들어 30 분 이하, 15 분 이하, 5 분 이하 또는 1 분 이하 기간 동안 투여될 수 있다.

[0183] 융합 폴리펩티드를 포함하는 조성물은 원치않거나 일탈적인 면역 반응, 장애 또는 질환, 염증 반응, 장애 또는 질환, 염증, 자가면역 반응, 장애 또는 질환의 증상 또는 발병의 이전에, 실질적으로 동시에, 또는 약 1-60 분, 시간 (예를 들어 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 12, 24 시간 내) 또는 일 (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 7-14, 14-21, 21-28,

28-45, 45-60 또는 60-90 일) 내에 대상에게 투여될 수 있다.

- [0184] 융합 폴리펩티드를 포함하는 조성물은 전신, 국지적 또는 국소 투여를 통해, 임의의 경로에 의해 투여될 수 있다. 예를 들어, 융합 폴리펩티드를 포함하는 조성물은 전신으로, 국지적 또는 국소적으로, 주사, 주입, 경구 (예를 들어 섭취 또는 흡입), 국부적, 정맥내, 동맥내, 근육내, 복막내, 피내, 피하, 강내, 두개내, 경피 (국부), 비경구, 예를 들어 경점막 또는 직장내 (관장) 카테터를 통해, 또는 시각적으로 투여될 수 있다. 본 발명의 융합 폴리펩티드, 조성물, 방법 및 용도는 투여용 이식체에 패키징되거나 (미세)캡슐화 전달 시스템을 통해 투여된 약학 제형을 포함한다.
- [0185] 본 발명은 또한 본 발명의 융합 폴리펩티드 (FynomAb) 를 포함하며 적합한 패키징 물질로 패키징된 키트를 제공한다. 키트는 임의로는 그 안의 성분의 시험관내, 생체내 또는 생체의 사용을 위한 지시사항 또는 성분의 설명을 포함하는 패키징 삽입물 또는 표지를 포함할 수 있다. 예시적인 지시사항은 방법, 치료 프로토콜 또는 치료 계획에 대한 지시사항을 포함한다.
- [0186] 키트는 성분의 집합물, 예를 들어 상이한 이중특이적 융합 폴리펩티드를 각각 포함하는 둘 이상의 조성물, 또는 이중특이적 융합 폴리펩티드를 포함하는 조성물 및 또 다른 치료적으로 유용한 조성물 (예를 들어, 항-중식 또는 면역-강화 약물) 을 포함하는 조성물을 함유할 수 있다. 용어 "패키징 물질" 은 키트의 성분을 수용하는 물리적 구조를 나타낸다. 패키징 물질은 성분을 살균적으로 유지할 수 있으며, 이러한 목적을 위해 흔히 사용되는 물질로 만들어질 수 있다 (예를 들어 종이, 골판지, 유리, 플라스틱, 호일, 앰플, 바이알 또는 튜브).
- [0187] 키트는 표지 및 삽입물을 포함할 수 있다. 표지 또는 삽입물은 "인쇄물", 예를 들어 종이 또는 카드보드, 또는 별도의 또는 성분에 첨부된 것, 키트 또는 패키징 물질 (예를 들어 상자), 또는 앰플, 튜브 또는 바이알 (키트 성분 함유) 에 부착된 것일 수 있다. 표지 또는 삽입물은 컴퓨터 판독가능 매체, 광 디스크 예컨대 CD- 또는 DVD-ROM/RAM, DVD, MP3, 마그네틱 테이프, 또는 전기 저장 매체 예컨대 RAM 및 ROM 또는 이들의 하이브리드 예컨대 마그네틱/광학 저장 매체, FLASH 매체 또는 메모리형 카드일 수 있다.
- [0188] 표지 또는 삽입물은 작용 메커니즘, 약동학 (PK) 및 약력학 (PD) 을 포함하는 활성 성분(들) 의 임상 약리학, 용량, 그 안의 하나 이상의 성분의 정보를 확인하는 것을 포함할 수 있다. 표지 또는 삽입물은 제조사 정보, 로트 번호, 제조사 위치 및 일자를 확인하는 정보를 포함할 수 있다.
- [0189] 표지 또는 삽입물은 키트 성분을 그에 대해 사용할 수 있는 병상, 장애, 질환 또는 증상에 대한 정보를 포함할 수 있다. 표지 또는 삽입물은 방법, 치료 프로토콜 또는 치료 계획에서 키트 성분 중 하나 이상을 사용하기 위한 대상 또는 임상용 지시사항을 포함할 수 있다. 지시사항은 본원에 나타낸 방법, 치료 프로토콜 또는 치료적 계획 중 임의의 것을 실행하기 위한 투약량, 빈도 또는 지속기간 및 지시사항을 포함할 수 있다. 따라서 본 발명의 키트는 추가로, 본원에 기재된 본 발명의 방법 및 용도 중 임의의 것을 실행하기 위한 표지 또는 지시사항을 포함할 수 있다.
- [0190] 표지 또는 삽입물은 성분이 제공할 수 있는 임의의 이득, 예컨대 예방적 또는 치료적 이득에 대한 정보를 포함할 수 있다. 표지 또는 삽입물은 잠재적 유해 부작용에 대한 정보, 예컨대 특정 조성물을 사용하는 것이 적절하지 않을 수 있는 상황에 관한 대상 또는 임상예에 대한 경고를 포함할 수 있다. 유해한 부작용은 또한, 대상이 조성물과 불양립성일 수 있는 하나 이상의 다른 약을 섭취할 것이거나 현재 섭취하고 있거나, 대상이 조성물과 불양립성일 또 다른 치료 프로토콜 또는 치료 계획을 거칠 것이거나 현재 거치고 있는 경우 발생할 수 있으며, 따라서 지시사항은 이러한 불양립성에 관한 정보를 포함할 수 있다.
- [0191] 키트는 추가로 다른 성분을 포함할 수 있다. 키트의 각 성분은 개별 용기 내에 동봉될 수 있으며 모든 각종 용기는 단일 패키지 내에 있을 수 있다. 본 발명의 키트는 냉장 보관용으로 설계될 수 있다. 본 발명의 키트는 또한 본 발명의 융합 폴리펩티드를 발현하는 숙주 세포를 함유하거나, 융합 폴리펩티드를 인코딩하는 핵산을 함유하도록 설계될 수 있다. 키트 내 세포는 세포가 사용할 준비가 될 때까지 적절한 보관 조건 하에 유지될 수 있다. 예를 들어, 하나 이상의 세포를 포함하는 키트는 세포가 해동되고 생장될 수 있도록 적절한 세포 저장 배지를 함유할 수 있다.
- [0192] 다르게 정의하지 않는 한, 본원에서 사용한 모든 기술적 및 과학적 용어는 본 발명이 속하는 당업계에서의 통상의 지식 중 하나에 의해 흔히 이해되는 바와 동일한 의미를 갖는다. 본원에 기재한 것들과 유사하거나 동등한 방법 및 물질이 본 발명의 실행 또는 시험에서 사용될 수 있으나, 적합한 방법 및 물질이 본원에 기재된다.
- [0193] 본원에 인용된 모든 출원, 공개물, 특허 및 기타 참조, GenBank 인용 및 ATCC 인용은 그 전체가 참조로 포함된

다. 컨플릭트의 경우, 정의를 포함하는 명세서가 제어할 것이다.

- [0194] 본원에서 사용하는 바와 같이, 문맥상 다르게 명백히 표시하지 않는 한, 단수형 표현은 복수형 표현을 포함한다. 따라서 예를 들어, "융합 폴리펩티드 (FynomAb)" 또는 "표적 (예를 들어, IL-17a 또는 IL-6R)"에 대한 언급은 단일한 또는 다수의 이러한 융합 폴리펩티드, 표적 등을 포함할 수 있다.
- [0195] 본원에서 사용하는 바와 같이, 이 문헌 전체에 걸쳐 수치는 종종 범위 포맷으로 표현된다. 범위 포맷의 사용은 단지 편리함 및 간결성을 위한 것이며 문맥상 다르게 명백히 나타내지 않는 한 본 발명의 범주에서의 변경할 수 없는 정보로서 이해되어서는 안 된다. 따라서, 범위는 문맥상 다르게 명백히 나타내지 않는 한, 모든 가능한 하위범위, 그 범위 내의 모든 개별적 수치, 및 이러한 범위 내의 정수를 포함하는 모든 수치 또는 수치 범위 및 범위 내의 정수 또는 값의 분수를 명백히 포함한다. 이러한 구성은 범위의 폭에 관계없이, 그리고 이 특허 문헌 전체에 걸쳐 모든 문맥에서 적용된다. 따라서 예를 들어, 90-100%의 범위에 대한 언급은 91-99%, 92-98%, 93-95%, 91-98%, 91-97%, 91-96%, 91-95%, 91-94%, 91-93% 등을 포함한다. 90-100%의 범위에 대한 언급은 또한 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 95%, 97% 등 뿐 아니라 91.1%, 91.2%, 91.3%, 91.4%, 91.5% 등, 92.1%, 92.2%, 92.3%, 92.4%, 92.5% 등을 포함한다.
- [0196] 또한, 1-5,000 배의 범위에 대한 언급은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 배 등 뿐 아니라 1.1, 1.2, 1.3, 1.4, 1.5 배 등, 2.1, 2.2, 2.3, 2.4, 2.5 배 등, 및 이러한 범위 내의 임의의 수 범위, 예컨대 1-2, 5-10, 10-50, 50-100, 100-500, 100-1000, 500-1000, 1000-2000, 1000-5000 배 등을 포함한다. 추가예에서, $KD\ 10^{-5}$ M 내지 약 $KD\ 10^{-13}$ M의 범위에 대한 언급은 이러한 값 내 또는 이를 포함하는 임의의 수치 또는 범위를 포함한다.
- [0197] 본원에서 또한 사용되는 바와 같이 일련의 범위가 이 문헌 전체에 걸쳐 개시된다. 일련의 범위의 사용은 또 다른 범위가 제공되도록 상위 범위 및 하위 범위의 조합을 포함한다. 이러한 구성은 범위의 폭에 관계없이, 그리고 이 특허 문헌 전체에 걸쳐 모든 문맥에서 적용된다. 따라서 예를 들어, 일련의 범위 예컨대 5-10, 10-20, 20-30, 30-40, 40-50, 50-75, 75-100, 100-150, 150-200 등에 대한 언급은 5-20, 5-30, 5-40, 5-50, 5-75, 5-100, 5-150, 5-200, 및 10-30, 10-40, 10-50, 10-75, 10-100, 10-150, 10-171, 및 20-40, 20-50, 20-75, 20-100, 20-150, 20-200 등과 같은 범위를 포함한다.
- [0198] 본 발명은 일반적으로, 수많은 구현예를 기재하기 위해 긍정적 언어를 사용하여 본원에 개시된다. 본 발명은 또한, 실체 또는 물질, 방법 단계 및 조건, 프로토콜, 절차, 검정 또는 분석과 같은 특정 주제가 전체 또는 일부 배제되는 구현예를 특별히 포함한다. 따라서 본 발명에 명백히 포함되지 않는 양태를 본 발명이 포함하지 않는다는 면에 있어서 본 발명이 일반적으로 본원에 표현되어 있지 않는다고 해도, 이는 본원에 개시된다.
- [0199] 본 발명의 수많은 구현예가 기재되어 있다. 그럼에도 불구하고, 본 발명의 취지 및 범주에서 벗어남이 없이 다양한 변형이 이루어질 수 있다는 것이 이해될 것이다. 따라서, 하기 실시예는 설명을 위한 것으로 의도되지만 특허청구범위에 기재된 본 발명의 범주를 제한하지 않는다.
- [0200] 실시예
- [0201] 실시예 1
- [0202] 본 발명의 Fyn SH3-유래 폴리펩티드는 단일클론 용해물 ELISA에 의해 측정된 바와 같이 IL-17A에 결합한다.
- [0203] 방법
- [0204] IL-17a에 결합하는 fynomer의 생성을 위한 공정이 PCT/EP2013/069481에 기재되어 있다. 간략하게, IL-17A에 특이적인 Fyn-SH3 유래 결합 단백질을, 항원으로서 재조합체 IL-17A (R&D Systems) 및 선별 기술로서 표준 파지 디스플레이 (Grabulovski D. et al., (2007) J Biol Chem 282, p. 3196-3204, Viti, F. et al. (2000) Methods Enzymol. 326, 480-505)를 사용하여 단리하였다. 본 발명의 Fyn SH3-유래 폴리펩티드에 있어서 n-src-루프 서열 "STHEYE"를 운반하는 IL3-B09를 선별 공정 동안 풍부화시켰다. IL3-B09는 IL-17A에 결합하였으며 비-글리코실화된 IL-17A와 마찬가지로 글리코실화된 IL-17A를 저해하는 것으로 발견되었다. 고친화성을 갖는 Fyn SH3-유래 IL-17A 결합제를 수득하기 위해, IL3-B09를 친화성 성숙을 위한 주형으로서 사용하였다. n-src-루프 서열 "STHEYE"는 불변으로 유지되었으며 무작위화된 RT-루프 레퍼토리 (repertoire) ((X1)(X2)(X3)(X4)(X5)(X6)로서 지정된 6개 아미노산 잔기)와 조합되었다. 친화성 성숙 라이브러리 발생의 공정은 무작위화된 RT-루프를 갖는 순수 (naive) 라이브러리의 클로닝에 대해 기재한 바와 본질적으로 동일하였다 (Schlatte et al. (2012) mAbs, 4(4) p. 497-50에서의 "라이브러리 0").

[0205] 순수 및 친화성 성숙 선별 후, 풍부화된 Fyn SH3-유래 폴리펩티드를, 용해물 ELISA 에 의해 IL-17A 에 대한 결합에 대하여 스크리닝하였다. Fyn SH3-유래 결합 단백질을 인코딩하는 DNA 를 박테리아 발현 벡터 pQE12 (Qiagen) 에 클로닝하여, 생성된 구축물이 Grabulovski et al. (Grabulovski et al. (2007) JBC, 282, p. 3196-3204) 에 기재된 바와 같이 C-말단 myc-헥사히스티딘 태그를 운반하게끔 하였다. 폴리펩티드를 96-웰 포맷에서 대장균 박테리아의 시토솔에서 발현시키고 웰 당 200 μ l 의 맑아진 용해물을 Bertschinger et al. (Bertschinger et al. (2007) Protein Eng Des Sel 20(2): p. 57-68) 에서 기재된 바와 같이 제조하였다. 간략하게는, 형질전환된 박테리아 콜로니를 한천 플레이트로부터 골라내고 100 μ g/ml 암피실린 및 0.1% (w/v) 글루코오스를 함유하는 200 μ l 2xYT 배지 중에서 둥근 바닥 96-웰 플레이트 (Nunc, 카탈로그 번호 163320) 에서 성장시켰다. 3 시간 동안 37°C 및 200 r.p.m 에서 성장시킨 후, 1 mM IPTG (Applchem, Germany) 를 첨가함으로써 단백질 발현을 유도하였다. 단백질을 회전식 진탕기 (200 r.p.m., 30°C) 에서 밤새 발현시켰다. 이후, 96-웰 플레이트를 1800 g 에서 10 분 동안 원심분리하고 상청액을 폐기하였다. 박테리아 펠렛을, 1 mg/ml 리소자임을 함유하는 200 μ l 용해 완충액 (50 mM NaH₂PO₄, 300 mM NaCl, 10 mM 이미다졸, pH 8.0) 에 재현탁하고 30 분 동안 얼음 상 두었다. 그 후, 박테리아 세포를 수조에서 초음파 처리 (10 초 동안 6 회 버스트 (burst)) 에 의해 용해한 다음, 1800 g 에서 10 분 동안 원심분리하였다. 단일클론 박테리아 용해물을 ELISA 에 사용하였고: 비오티닐화 IL-17A (HEK EBNA 세포에서 인-하우스 (in-house) 생산됨, 제조사 지시사항에 따라 비오티닐화를 NHS-PEO4-비오티닌 (Pierce) 으로 수행하였음) 를 스트렙타비딘-코팅된 웰 (StreptaWells, High Bind, Roche) 에 고정화시키고, PBS 로 블로킹한 후, 2% 밀크 (Rapilait, Migros, Switzerland), 50 μ l 의 PBS, 6 μ g/ml 항-myc 항체 9E10 (최종 농도 3 μ g/ml) 함유 4% 밀크 및 50 μ l 의 박테리아 용해물을 가하였다. 1 시간 동안 인큐베이션하고 세척한 후, 결합한 Fyn SH3-유래 폴리펩티드를 항-마우스-HRP 항체 접합체 (Sigma) 로 검출하였다. BM blue POD 기질 (Roche) 을 첨가하여 퍼옥시다아제 활성의 검출을 수행하였고, 1 M H₂SO₄ 를 첨가하여 반응을 중단시켰다. 특이적 결합체의 DNA 서열을 DNA 서열분석에 의해 확인하였다.

[0206] 결과

[0207] 7 개의 대표적 IL-17A 결합 fynomer 서열 (SEQ ID NO:1-7) 의 서열은 하기와 같다:

SEQ ID NO:1 (1L3-B9):

GVTLFVALYDYANHGNDLSFHKGEKFQILSTHEYEDWEARSLTTGETGYIPSNYVAPVDSI
Q;

SEQ ID NO:2 (1L0-C06):

GVTLFVALYDYKQKGHLDSFHKGEKFQILSTHEYEDWEARSLTTGETGYIPSNYVAPVDSI
Q;

SEQ ID NO:3 (1L5-B06):

GVTLFVALYDYSARGQLDSFHKGEKFQILSTHEYEDWEARSLTTGETGYIPSNYVAPVDSI
Q;

SEQ ID NO:4 (1L6-F03):

GVTLFVALYDYDKLSALDSFHKGEKFQILSTHEYEDWEARSLTTGETGYIPSNYVAPVDSI
Q;

SEQ ID NO:5 (1L9-C09):

GVTLFVALYDYESVSWSDLSFHKGEKFQILSTHEYEDWEARSLTTGETGYIPSNYVAPVDSI
Q;

SEQ ID NO:6 (1L10-A05):

GVTLFVALYDYSSRGVLDLSFHKGEKFQILSTHEYEDWEARSLTTGETGYIPSNYVAPVDSI
Q; and

SEQ ID NO:7 (1L11-A09):

GVTLFVALYDYSRKNLDSFHKGEKFQILSTHEYEDWEARSLTTGETGYIPSNYVAPVDSI
Q.

[0209]

[0210] 4 개의 별개 항-IL-17A 결합 fynomer 를 IL-6R 결합 항체, 토실리주맙의 중쇄의 C-말단 (COVA801, COVA803, COVA805, COVA807) 또는 경쇄의 C-말단 (COVA802, COVA804, COVA806, COVA808) 에 융합시켜, 8 개의 상이한 fynomer-항체 (FynomAb) 융합물을 제작하였다 (표 1 참조).

[0211] 표 1: FynomAb 설명

FynomAb	Fynomer	포맷	MW (kDa)	pI
악템라	-	부모	145.0	8.62
COVA801	11L0-C06	HC, C-말단	161.6	8.23
COVA802	11L0-C06	LC, C-말단	161.6	8.23
COVA803	11L5-B06	HC, C-말단	161.5	8.09
COVA804	11L5-C06	LC, C-말단	161.5	8.09
COVA805	11L9-C09	HC, C-말단	161.6	7.65
COVA806	11L9-C09	LC, C-말단	161.6	7.65
COVA807	11L10-A05	HC, C-말단	161.4	8.09
COVA808	11L10-A05	LC, C-말단	161.4	8.09

[0212]

[0213] HC: 중쇄; LC: 경쇄; pI: 등전점; MW: 분자량; kDa: 킬로달톤

[0214] 연구는 이러한 상이한 FynomAb 의 생화학적 및 기능적 특징 뿐 아니라 약동학 특성을 평가한다. 여러 상이한 로트의 COVA801-808 FynomAb 를 평가하였다. FynomAb 를 CHO 세포의 일시적 또는 안정적 트랜스펙션으로부터 생산시켰다. 마우스 및 사이노몰거스 (cyno) 원숭이 PK 연구를 위한 FynomAb 를 안정적 CHO 세포주로부터 생산시켰다.

[0215] 실시예 2

[0216] 단백질 발현 및 정제

[0217] 4 개 별개 로트의 FynomAb 를 제조하고 하기 기록한 연구에서 평가하였다. 2 개 로트의 물질은 일시적 트랜스펙션된 CHO 세포로부터 유래하였다. 인 하우스로 생성된 로트의 물질은 하기 기재한 바와 같은 Lonza 발현 벡터를 사용하여 안정적 CHO 풀 (pool) 로부터 유래하였다.

[0218] 악템라 (Actemra) (토실리주맵) 의 중쇄 및 경쇄 서열을 CAS 데이터베이스로부터 획득하였고, 이는 또한 US 2011/0076275 A1 에서의 서열 #15 로서 확인되었다. 서열에 대해 변형을 가하여 아미노산 356-358 DEL 을 EEM 으로 돌연변이시켰다. 이는 G1m1 동종이인자형으로부터 nG1m1 로의 돌연변이이며 잠재적으로 면역원성을 감소시킬 수 있다.

[0219] 악템라 (토실리주맵) 중쇄 서열 (SEQ ID NO:8) (CDR 은 볼드체임)

1 QVQLQESGPG LVRPSQTL~~SL~~ TCTVSGYSIT **SDHAW**SWVRQ PPGRGLEWIG
51 **YISYSGITTY NPSLKS**RVTM LRDTSKNQFS LRLSSVTAAD TAVYYCAR**SL**
101 **ARTTAMDY**WG QGSLVTVSSA STKGPSVFPL APSSKSTSGG TAALGCLVKD
151 YFPEPTVTSW NSGALTSGVH TFPAVLQSSG LYSLSVTVV PSSSLGTQTY
201 ICNVNHNKPSN TKVDKKVEPK SCDKTHTCPP CPAPELLGGP SVFLFPPKPK
251 DTLMISRTPE VTCVVVDVSH EDPEVKFNWY VDGVEVHNAK TKPREEQYNS
301 TYRVVSVLTV LHQDWLNGKE YKCKVSNKAL PAPIEKTISK AKGQPREPQV
351 YTLPPSREEM TKNQVSLTCL VKGFYPSDIA VEWESNGQPE NNYKTTTPVL
401 DSDGSFFLYS KLTVDKSRWQ QGNVFSCSVM HEALHNHYTQ KSLSLSPG*

[0220]

[0221] 악템라 (토실리주맵) 경쇄 서열 (SEQ ID NO:9) (CDR 은 볼드체임)

1 DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITC**RASQDIS SYLN**WYQQKP GKAPKLLIYY
51 **TSRLHSG**VPS RFSGSGSGTD FTFTISSLQP EDIATYYC**QQ GNTLPY**TFGQ
101 GTKVEIKRTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNIFY PREAKVQWKV
151 DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYLSSTLT LSKADYEKHK VYACEVTHQG
201 LSSPVTKSFN RGECS*

[0222]

[0223] 토실리주맵 중쇄 및 경쇄에 대한 이들 서열을 CHO 발현에 대해 코돈 최적화하고, 유전자를 합성하였다. 신

호 서열을 각 유전자의 5' 말단에 첨가하였다 (Hc ss = MEWSWVFLFSLSVTTGVHS; Lc ss = MSVPTQVLGLLLWLTDARC).

FynomAb 융합 단백질을, 토실리주맙의 중쇄 또는 경쇄의 C-말단에 각각의 4 개 fynomer 서열을 놓음으로써 구축하였다 (그 사이에 15 개 아미노산 링커를 가짐 (GGGGSx3)). 이는 8 개 FynomAb 를 생성시키기에 필요한 유전자가 제작되게 하였다. 합성한 유전자를 Lonza pEE 12.4 (중쇄) 및 6.4 (경쇄) 벡터에 클로닝하였다. 이러한 벡터를 조합하여, 모든 8 개 FynomAb 분자 및 토실리주맙에 대한 중쇄 및 경쇄 조합이 발현되도록 단일 발현 벡터를 제작하였다.

표 2: fynomer 서열로의 FynomAb 설명

분자	설명	Fynomer 서열
COVA801	중쇄에 C-말단 11L0_C06 fynomer 를 갖는 토실리주맙	GVTLFVALYDYKQKGHLDLSPFKGE KFQILSTHEYEDWWEARSLTTGETG YIPSNYVAPVDSIQ (SEQ ID NO: 2)
COVA802	경쇄에 C-말단 11L0_C06 fynomer 를 갖는 토실리주맙	GVTLFVALYDYKQKGHLDLSPFKGE KFQILSTHEYEDWWEARSLTTGETG YIPSNYVAPVDSIQ (SEQ ID NO: 2)
COVA803	중쇄에 C-말단 11L5_B06 fynomer 를 갖는 토실리주맙	GVTLFVALYDYSARGQLDLSPFKGE KFQILSTHEYEDWWEARSLTTGETG YIPSNYVAPVDSIQ (SEQ ID NO: 3)
COVA804	경쇄에 C-말단 11L5_B06 fynomer 를 갖는 토실리주맙	GVTLFVALYDYSARGQLDLSPFKGE KFQILSTHEYEDWWEARSLTTGETG YIPSNYVAPVDSIQ (SEQ ID NO: 3)
COVA805	중쇄에 C-말단 11L9_C09 fynomer 를 갖는 토실리주맙	GVTLFVALYDYESVSWSDLSFKGE KFQILSTHEYEDWWEARSLTTGETG YIPSNYVAPVDSIQ (SEQ ID NO: 5)
COVA806	경쇄에 C-말단 11L9_C09 fynomer 를 갖는 토실리주맙	GVTLFVALYDYESVSWSDLSFKGE KFQILSTHEYEDWWEARSLTTGETG YIPSNYVAPVDSIQ (SEQ ID NO: 5)
COVA807	중쇄에 C-말단 11L10_A05 fynomer 를 갖는 토실리주맙	GVTLFVALYDYSSRGVLDLSFKGE KFQILSTHEYEDWWEARSLTTGETG YIPSNYVAPVDSIQ (SEQ ID NO: 6)
COVA808	경쇄에 C-말단 11L10_A05 fynomer 를 갖는 토실리주맙	GVTLFVALYDYSSRGVLDLSFKGE KFQILSTHEYEDWWEARSLTTGETG YIPSNYVAPVDSIQ (SEQ ID NO: 6)

CHO-K1-SV 세포를 8 개의 FynomAb 벡터 및 토실리주맙 각각의 선형화된 DNA 로 뉴클레오펙션 (Amaxa) 하였다.

이러한 세포를 MSX 선별되게 하고, 배양물이 회수될 때까지 고정 플라스크 쌍에서 배양하였다. 세포가 회수되고 나면, 이들을 진탕 플라스크에 옮기고 바로 동결시키거나 대규모 단백질 발현을 위해 생산 플라스크로 확장시켰다.

인-하우스 마우스 PK 연구용 물질의 생성 및 시험관내 검정에서의 사용을 위해 생산 플라스크의 제 1 라운드 (round) 를 정제하였다. 이러한 동일 폴의 동결 배양물을 이후 해동하고, 사이노물거스 PK 연구에 더 많은 단백질이 필요한 경우 확장시켰다.

AlphaLISA 및 웨스턴 블롯에 의해 발현 수준을 정량하였다. 안정적 폴의 발현 수준은 대략 100-500 mg/L 의 범위였다. 생산 플라스크를 10 일 동안 배양한 후, 수확, 여과하고 프로테아제 저해제로 동결시켰다. 일부 저발현 폴을 "저온 포획 (cold captured) 하고 분류하였다 - 세포 표면 상의 항체를 염색한 후 유세포분석

에 의해 세포를 분류함으로써 배양 및 생산을 위한 최고 생산 세포를 포획하였다. 안정적 폴로부터의 상청액 (0.5 - 8.0 L) 을 수확시 0.2 μ M 진공 필터를 통해 여과하고, 프로테아제 저해제 정제 (Sigma, 카탈로그 번호 P2714, 1 정제/100 mL 상청액) 를 동결 또는 4°C 에서 보관하기 전에 첨가하였다.

[0229] 모든 FynomAb 생산 세포주에 대한 상청액을, 5-20 mL/분의 유속에서 로딩하는 HiTrap MabSelect SuRe 컬럼 (1 또는 5 mL 컬럼; 때때로 동시에 다수) 을 사용하여 무균 조건 하에 초기 정제하였다. 기준선 A280 판독에 도달할 때까지 PBS 로 컬럼을 세척한 후, 글리신, pH 3.0 으로 용리하였다.

[0230] 각각의 FynomAb 에 대해 제작한 상이한 로트의 CHO 안정적 물질을 단백질 수율과 함께 표 3 에서 열거한다.

[0231] 표 3: 생산된 FynomAb 및 토실리주맙의 수율

구축물	숙주/발현	수율 (mg)	농도 mg/mL (μ M)	부피 (mL)	수율 (mg/L 상청액)
토실리주맙	CHO-S/ 일시적	1.31	5.0 (35.5)	0.26	2.6
토실리주맙	CHO-K1SV/ 안정	2.9	4.40 (30.3)	0.66	1.2
토실리주맙	CHO-K1SV/ 안정 (분류됨)	291	2.75 (19.0)	105.8	36.4
COVA801	CHO-K1SV/ 안정	36.0	4.0 (24.7)	9.0	> 72
COVA801	CHO-K1SV/ 안정	410	1.35 (8.3)	303.7	205
COVA802	CHO-K1SV/ 안정	1.43	3.96 (24.4)	0.36	3.0
COVA802	CHO-K1SV/ 안정	7.1	1.68 (10.3)	4.3	1.6
COVA802	CHO-K1SV/ 안정	252	0.91 (5.6)	276.9	45.8
COVA803	CHO-K1SV/ 안정	26.1	3.86 (23.8)	6.8	> 50

[0232]

구축물	숙주/발현	수율 (mg)	농도 mg/mL (μ M)	부피 (mL)	수율 (mg/L 상청액)
COVA803	CHO-K1SV/ 안정	330	1.27 (7.8)	259.8	110.0
COVA804	CHO-K1SV/ 안정	32.2	4.81 (29.7)	6.7	> 72
COVA804	CHO-K1SV/ 안정	337	0.96 (5.9)	351.0	112.3
COVA805	CHO-K1SV/ 안정	19.5	2.78 (17.2)	7.0	> 41
COVA806	CHO-K1SV/ 안정	47.9	5.1 (31.5)	9.4	> 90
COVA806	CHO-K1SV/ 안정	428	2.74 (16.9)	156.2	142.7
COVA807	CHO-K1SV/ 안정	59.7	6.63 (40.9)	9.0	> 120
COVA807	CHO-K1SV/ 안정	59.7	6.63 (40.9)	9.0	> 120
COVA808	CHO-K1SV/ 안정	22.8	3.35 (20.7)	6.8	> 48

[0233]

구축물	숙주/발현	수율 (mg)	농도 mg/mL (μ M)	부피 (mL)	수율 (mg/L 상청액)
COVA808	CHO-K1SV/ 안정 (분류됨)	245	1.41 (8.7)	173.8	54.4

[0234]

[0235]

실시예 3

[0236]

SDS-PAGE 분석

[0237]

3 개 별개 랑트의 각각의 FynomAb 및 토실리주맙에 대해 SDS-PAGE 분석을 수행하였다. 5 μ g 의 각 단백질을, Tris-글리신 SDS 샘플 및 전개 완충액 (running buffer) 을 사용하여 4-20% Tris-글리신 구배 겔 상에서 환원 및 비-환원 조건 모두 하에 전기영동하였다. 쿠마시 브릴리언트 블루 (SimplyBlue SafeStain, Invitrogen) 로 겔을 밤새 염색하고, 충분히 깨끗해질 때까지 증류수로 탈색하였다. 결과를 도 1 (일시적 CHO 물질의 SDS-PAGE 분석), 도 2 및 3 (마우스 PK 연구용으로 제작된 안정적 CHO 물질의 SDS-PAGE 분석) 에 나타낸다.

[0238]

실시예 4

[0239]

분석적 HPLC-SEC

- [0240] 3 개 별개 콧트의 FynomAb 를 분석적 HPLC-SEC 에 의해 평가하였다. 1 개 콧트의 일시적 CHO 물질, 및 다른 2 개 콧트를, 안정적으로 트랜스펙션된 CHO 세포주로부터 내부적으로 생산시켰다. 10 μ g 의 각 FynomAb 단 백질을, 1 mL/분의 유속으로 이동상으로서 PBS 를 사용하여 Zenix-C SEC-300 컬럼 (Sepax Technologies) 에 주 입하였다. A280 에서의 흡광도를 모니터링하였다. fynomer 의 존재는, 아마도 고체상과 fynomer 사이의 2 차적 상호작용으로 인해, 악템라와 비교하여 FynomAb 의 용리를 다양한 정도로 지체시킨다. 가용성 집합 물이 FynomAb 의 주요 피크 전에 용리하는 피크로서 관찰되며, 중쇄 융합 구축물 COVA801, COVA803, COVA805 및 COVA807 에서 가장 분명하다 .
- [0241] 경쇄 융합물 (COVA802, COVA804, COVA806 및 COVA808 FynomAb) 은 COVA804 또는 COVA806 FynomAb 에 대해 관찰 된 응집물이 없이, 훨씬 더 깨끗한 SEC 프로파일을 가졌다. 이러한 데이터는 경쇄 융합물이 덜 분명한 가용 성 응집물을 가지면서 더 깨끗한 SEC 프로파일을 가졌다는 것을 또한 나타낸 이전 데이터와 일치한다.
- [0242] 실시예 5
- [0243] 인간 IL-17A 및 인간 IL-6R 에 대한 친화성 측정
- [0244] 인간 IL-17A 및 인간 IL-6R 에 결합하는 FynomAb 의 친화성 및 운동 매개변수를 측정하기 위해, 항-인간 항체 를 GLM 칩에 아민 커플링시켰다. 그런 다음, COVA801-808 FynomAb 또는 대조군 항체를 리간드로서 포획하고, IL-17A 또는 IL-6R 을 분석물로서 흘려보냈다. PBST 를 이동상으로서 이용하고, 100 mM HCl 의 2 회 15-초 주입으로 재생시켰다. 세쿠키누마를 IL-17A 결합에 대한 양성 대조군으로서, 및 IL-6R 결합에 대한 음성 대조군으로서 사용하였다. 토실리주마 및/또는 악템라를 IL-6R 결합에 대한 양성 대조군으로서, 및 IL-17-A 결합에 대한 음성 대조군으로서 사용하였다.
- [0245] 세쿠키누마를 IL-17A 결합에 대한 양성 대조군으로서, 및 IL-6R 결합에 대한 음성 대조군으로서 사용하였다. 세쿠키누마의 VH 및 VL 사슬은 하기와 같다:
- [0246] 가변 경쇄 (SEQ ID NO: 33)
- [0247] 신호 서열 (밑줄), 가변 도메인 (카파) (볼드체)
- MSVPTQVLGLLLWLTDARCEIVLTQSPGTLSPGGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQ**
APRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFLTITSRLEPEDFAVYYCQQYGSSPCTFGQGRLE
IKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYFPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDS
KDSTYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC*
- [0248]
- [0249] 가변 중쇄 (SEQ ID NO: 34)
- [0250] 신호 서열 (밑줄), 가변 도메인 (카파) (볼드체)
- MEWSWVFLFFLSVTGTGVHSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYWMNWVRQAPGKG**
LEWVAAINQDGSEKYYVGSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRVEDTAVYYCVRDYYDILT
YIHYYWYFDLWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS
GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKT
HTCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN
AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY
TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTV
DKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG*
- [0251]
- [0252] 토실리주마 및/또는 악템라를 IL-6R 결합에 대한 양성 대조군으로서, 및 IL-17-A 결합에 대한 음성 대조군으로 서 사용하였다.
- [0253] IL-17A 결합
- [0254] COVA801-808 FynomAb 에 의한 IL-17A 결합 뿐 아니라 세쿠키누마 (양성 대조군 및 참조물) 및 토실리주마 또는 악템라 (음성 대조군) 에 대한 대표적 센서그램을 도 4 에 나타낸다. 여러 콧트의 각 FynomAb 및 세쿠키누 마에 대한 다수 연구로부터의 운동학적 결합 (kinetic binding) 데이터 요약은 표 4 에 요약한다. 나타낸 센서그램은 COVA801-808, 별개 콧트의 토실리주마 (toc), 상업적 악템라 및 세쿠키누마 (sec) 에 대한 것이다.
- [0255] 피트 운동학 (Fit kinetics) 은 다른 데이터 값과 상당히 일치하며, 대부분의 구축물은 세쿠키누마와 유사한 분

명한 KD 를 갖는다. FynomAb 데이터 집합에서의 1:1 결합으로부터의 유의한 편차에 의해 나타난 바와 같이 (세쿠키누맙 데이터 세트에서는 그렇지 않음), IL17A 에 대한 결합의 평가는 FynomAb 와의 복잡한 연관에 의해 교란 (confound) 된다. IL-17A 의 유의한 재결합이 발생하는 것으로 나타나며, 이는 연장된 해리상으로 보 다 용이하게 관찰된다. 따라서, 보고된 FynomAb/IL-17A 상호작용에 대한 운동학 및 친화성 값은 주의깊게 해석되어야 한다. COVA807 및 COVA808 이 더 낮은 KD 값을 갖지만, 이들 2 개 FynomAb 에 의한 IL-17A 의 1:1 결합으로부터의 유의한 편차는 이들의 분명한 더 높은 친화성을 설명할 수 있다. 본 발명자는 IL-17A 기능적 검정에서 COVA807 FynomAb 의 열등한 기능적 활성을 관찰하였다 (하기 나타낸 HT29 IL-17A 기능적 검정 데이터 참조).

표 4: 인간 IL-17A 에 대한 FynomAb 결합에 관한 SPR 데이터 요약

FynomAb	평균 k_a (1/Ms)	평균 k_d (1/s)	평균 KD (nM)	KD (M) 의 표준 편차	실험 번호
COVA801	6.17E+06	4.11E-04	4.86E-11	$\pm 6.61E-10$	4
COVA802	3.26E+06	2.53E-04	7.82E-11	$\pm 1.14E-10$	4
COVA803	4.96E+06	3.57E-04	6.89E-11	$\pm 1.26E-10$	5
COVA804	2.42E+06	1.29E-04	4.68E-11	$\pm 6.78E-11$	8
COVA805	3.53E+06	5.81E-04	1.43E-10	$\pm 1.92E-10$	2
COVA806	2.01E+06	2.33E-04	9.98E-11	$\pm 1.27E-10$	5
COVA807	4.34E+06	9.66E-05	2.23E-11	$\pm 7.07E-14$	2
COVA808	2.95E+06	7.97E-05	3.11E-11	$\pm 1.74E-11$	5
세쿠키누맙	6.46E+05	1.01E-04	4.47E-10	$\pm 3.97E-10$	4

FynomAb 구축물과 재조합체 IL-17A 동종이량체의 복잡한 연관으로 인해, 간단한 결합 ELISA 를 수행하여 인간 IL-17A 에 대한 COVA804 및 COVA806 의 특이성 및 상대적 친화성을 연구하였다. 간략하게는, PBS 중 1 μ g/mL 의 재조합체 인간 IL-17A 를 ELISA 플레이트 상에서 코팅한 후, BSA 로 블로킹하고 0-10 μ g/mL 시험 항체 또는 FynomAb 와 함께 인큐베이션하였다. 서양고추냉이 퍼옥시다아제에 접합된 염소-항-인간 항체를, TMB 를 사용하는 결합을 검출하는데 사용하였다. IL-17A 에 대한 농도-반응 결합의 결과는 4 개 연구에 걸쳐 매우 재현가능하였으며, 대표적 연구를 도 5 에 나타내었다. 인간 IL-17A 에 대한 결합을 COVA804 (804), COVA806 (806) 및 세쿠키누맙 (sec) 에 대한 ELISA 에 의해 평가하였다. 악템라를 IL-17A 결합에 대한 음성 대조군으로서 사용하였다. 상이한 구축물에 대한 EC50 값은 다음과 같았다: 세쿠키누맙 = 0.36 ± 0.12 nM; COVA804 = 1.02 ± 0.24 nM; COVA806 = 0.98 ± 0.23 nM. 따라서, 이러한 데이터는 FynomAb COVA804 및 COVA806 이 IL-17A 에 대해 세쿠키누맙과 유사한 친화성을 갖는다는 것을 입증하는 SPR 데이터를 지지한다.

IL-6R 결합

COVA801-808 FynomAb 에 의한 IL-6R 결합 뿐 아니라 토실리주맙 및 악템라 (양성 대조군 및 참조물) 및 세쿠키누맙 (음성 대조군) 에 대한 대표적 센서그램을 도 6 에 나타낸다. SPR 에 의한 FynomAb/IL6R 상호작용의 평가는 매우 재현가능하며, 상호작용은 도 6 에서 나타낸 바와 같은 고전적 랭뮤어 피트 (Langmuir fit) 로 용이하게 모델화될 수 있다. 나타낸 센서그램은 COVA801-808, 별개 롯데의 토실리주맙 (toc), 상업적 악템라 및 세쿠키누맙 (sec) 에 대한 것이다. 다수 롯데의 각 FynomAb 및 토실리주맙에 대한 다수 연구로부터의 운동학적 결합 데이터 요약을 표 5 에서 요약한다. 이러한 데이터는 경쇄 또는 중쇄의 C-말단 상의 Fynomer 의 존재가 부모 항체에 대한 IL-6R 의 결합에 영향을 주지 않는다는 것을 보여준다. 모든 FynomAb 는 서로에 대해, 그리고 부모 항체 토실리주맙에 대해 매우 유사한 결합 운동학을 나타낸다.

표 5: 인간 IL-6R 에 대한 FynomAb 결합에 대한 SPR 데이터의 요약

FynomAb	평균 k_a (1/Ms)	평균 k_d (1/s)	평균 KD (nM)	KD (M) 의 표준 편차	실험 번호
COVA801	4.99E+05	1.50E-04	2.97E-10	$\pm 0.29E-10$	4
COVA802	4.72E+05	1.68E-04	3.95E-10	$\pm 1.45E-10$	6
COVA803	3.63E+05	2.19E-04	6.04E-10	$\pm 3.31E-10$	6
COVA804	4.08E+05	2.01E-04	6.32E-10	$\pm 3.71E-10$	9
COVA805	6.13E+05	1.78E-04	3.14E-10	$\pm 1.49E-10$	2
COVA806	4.34E+05	1.72E-04	5.14E-10	$\pm 3.20E-10$	5
COVA807	6.92E+05	1.89E-04	3.07E-10	$\pm 1.53E-10$	2
COVA808	4.25E+05	1.70E-04	5.46E-10	$\pm 3.04E-10$	4
토실리주맙	4.73E+05	1.86E-04	4.17E-10	$\pm 1.06E-10$	4
악템라	4.13E+05	1.91E-04	4.99E-10	$\pm 1.42E-10$	6

실시예 6

[0264] HT-29 IL-17A 저해 검정

[0265] 인간 IL-17A 에 대한 COVA801-808 FynomAb 의 생물활성을 평가하기 위해, HT-29 세포 (ATCC, #HTB-38) 를 다양한 농도의 각 FynomAb (100 nM 내지 6 pM 범위) 의 존재 하에 IL-17A (1.9 nM) 로 자극하였다. 세쿠키누맵을 IL-17A 기능의 차단에 대한 양성 대조군으로서 사용하였다. 각각의 조건에 대해, 20,000 개의 생존가능 세포를 첨가하고 평평 바닥 96-웰 플레이트 내에서 37℃ 및 5% CO₂ 에서 48 시간 동안 인큐베이션하였다. 각각의 조건을 이반복하여 시험하였다.

[0266] IL17A 로 HT29 세포를 자극하는 것은 Gro α 의 생산 및 세포 상청액으로의 배출을 초래하였다. 상청액 중 Gro α 농도는, R&D Systems사제 DuoSet ELISA 키트 (DY275) 를 사용하여 ELISA 에 의해 측정하였다. 제조사의 매뉴얼에 따라 ELISA 를 수행하였다 (모든 항체를 1:200 로 사용한 것을 제외하고는).

[0267] 이반복 결과의 평균을 표준편차와 함께 플롯팅하였고, IC₅₀ 값을 GraphPad Prism® 에서의 4-매개변수 용량-반응 저해 기능을 사용하여 계산하였다. 3 개 상이한 로트의 COVA801-808 FynomAb 를 사용하는 다수 연구로부터의 대표적 데이터를 도 7-9 에 나타낸다. 대표적 데이터로부터 계산한 IC₅₀ 값을 표 6 에 나타낸다. 모든 FynomAb 는 IL-17A 에 대해 참조물 세쿠키누맵과 유사한 활성을 나타내었으며, 모든 FynomAb 는 더 높은 농도에서 완전한 차단을 달성할 수 있었다. COVA806 은 IL-17A 에 대해 가장 강력한 활성을 지속적으로 나타내었으며, 세쿠키누맵보다 지속적으로 더 강력하였다.

[0268] 표 6A

도 7A	801	802	세쿠키누맵
IC ₅₀	1.362	1.148	1.542
도 7B	803	804	세쿠키누맵
IC ₅₀	1.476	1.104	1.457
도 7C	805	806	세쿠키누맵
IC ₅₀	0.8135	0.8537	1.155
도 7D	807	808	세쿠키누맵
IC ₅₀	1.929	1.702	1.597

[0269]

[0270] 표 6B

도 8A	801 인-하우스	802 인-하우스	세쿠키누맵
IC ₅₀	1.599	1.783	2.395
도 8B	803 인-하우스	804 인-하우스	세쿠키누맵
IC ₅₀	2.625	2.317	2.560
도 8C	805 인-하우스	806 인-하우스	세쿠키누맵
LogIC ₅₀	0.2796	0.07429	0.2138
도 8D	807 인-하우스	808 인-하우스	세쿠키누맵
LogIC ₅₀	0.6443	0.4065	0.3166

[0271]

[0272] 표 6C

도 9A	801	802	세쿠키누맵
IC ₅₀	1.520	0.9410	1.259
도 9B	803	804	세쿠키누맵
IC ₅₀	12.118	1.507	1.960
도 9C	806	808	세쿠키누맵
IC ₅₀	1.132	2.036	2.070

[0273]

[0274] 실시예 7

[0275] HEK-Blue™ IL-6R 저해 검정

[0276] COVA801-808 구축물에서의 항-IL-6R 부분의 생물활성을 평가하기 위해, HEK Blue IL-6 세포 (Invivogen, hkb-il6) 를 다양한 농도의 FynomAb (500 nM 내지 0.2 nM 범위) 의 존재 하에 IL-6 (15 pM) 으로 자극하였다. 저해제를, IL-6 첨가 전에 30 분 동안 세포와 함께 예비인큐베이션하였다. 대조군으로서, 배지 단독, 또는 IL-6 (15 pM) 을 함유하는 배지를 사용하였다. 또한, 토실리주맵 또는 악템라를 IL-6R 차단에 대한 양성 대조군으로서 사용하였다. 각각의 샘플에 대해, 50,000 개의 생존가능 세포를 첨가하고 96-웰 플레이트의 웰 내에서 37℃, 5% CO₂ 에서 20-24 시간 동안 인큐베이션하였다. 각각의 조건을 삼반복하여 시험하였다.

[0277] 세포에 IL-6 을 첨가하는 것은 IL-6R 신호전달 경로의 자극을 초래하였는데, 이는 STAT3-유도성 SEAP 리포터 유

전자를 활성화시켰다. 상청액 중 SEAP 를 HEK-Blue™ 검출 시약 (Invivogen, hb-det2) 을 사용하여 측정하였고, 제조사의 매뉴얼에 따라 사용하였다.

삼반복 결과의 평균을 표준 편차와 함께 플롯팅하였다. IC50-값을 GraphPad Prism® 에서의 4-매개변수 용량-반응 저해 기능을 사용하여 계산하였다. 3 개의 상이한 콧트의 COVA801-808 FynomAb 를 사용하는 다수 연구로부터의 대표적 데이터를 도 10-12 에서 나타낸다. 대표적 데이터로부터 계산한 IC50 값을 표 7 에서 나타낸다. 모든 3 개 콧트로부터의 모든 FynomAb 는 상업적 등급 악템라 및 토실리주맙과 유사한 IL-6R 의 차단을 나타내었다. 이러한 데이터는 다른 데이터와 유사하며 토실리주맙 백본 Ab 상의 IL-17A 결합 fynomer 의 존재가 이들 FynomAb 의 IL-6R 차단 활성화에 영향을 주지 않는다는 것을 나타낸다.

표 7A

도 10A	악템라	COVA801
IC50	19.96	22.28
도 10B	악템라	COVA802
IC50	19.96	21.29
도 10C	악템라	COVA803
IC50	19.96	25.52
도 10D	악템라	COVA804
IC50	19.09	20.84
도 10E	악템라	COVA805
IC50	19.09	21.14
도 10F	악템라	COVA806
IC50	19.09	22.80
도 10G	악템라	COVA807
IC50	14.37	26.18
도 10H	악템라	COVA808
IC50	14.37	21.45
도 10I	악템라	토실리주맙
IC50	14.37	19.23

표 7B

도 11A	악템라	COVA801
IC50	7.869	8.214
도 11B	악템라	COVA802
IC50	7.869	8.526
도 11C	악템라	COVA803
IC50	7.869	11.63
도 11D	악템라	COVA804
IC50	10.55	12.29
도 11E	악템라	COVA805
IC50	10.55	12.38
도 11F	악템라	COVA806
IC50	10.55	14.76
도 11G	악템라	COVA807
IC50	17.05	19.32
도 11H	악템라	COVA808
IC50	17.05	14.69
도 11I	악템라	토실리주맙
IC50	17.05	12.35

표 7C

도 12A	801	802	토실리주맙	악템라
IC50	12.26	13.40	13.29	6.903
도 12B	803	804	토실리주맙	악템라
IC50	10.75	9.108	9.176	8.406
도 12C	806	808	토실리주맙	악템라
IC50	8.957	11.79	11.15	8.142

실시예 8

혈청 안정성 검정

- [0287] 인간 혈청 중 각각의 FynomAb 의 안정성을 평가하기 위해, COVA801-808 FynomAb 를 각각 90% 인간 혈청 (Sigma #H4522) 중에서 6 일 동안 37°C, 10 μ g/ml 의 농도에서 인큐베이션한 후, 샌드위치 ELISA 에서 시험하여 FynomAb가 IL-17A 및 IL-6R 둘 모두에 결합하는 그의 능력을 유지하였는지 여부를 평가하였다. 샌드위치 ELISA 를 사용하여, PBS 또는 인간 혈청 중 인큐베이션한 후 FynomAb 의 동시 결합을 평가하였다. 샌드위치 ELISA 의 설정을 도 13 에 나타낸다.
- [0288] 간략하게는, 인간 IL17A 를 Maxisorp 96 웰 플레이트에서 PBS 중 5 μ g/ml 로 코팅하고, FynomAb 샘플을 50 nM 에서 0.003 nM 로 1% BSA/PBST 중에서 5 배 희석하고, 플레이트에 첨가하였다. 그런 다음, His-택 인간 IL-6R 을 FynomAb 를 함유하는 각각의 웰에 첨가하고 항-His-HRP mAb 로 현상하였다. 플레이트를 세척하고 TMB 기질 (Sigma #T0440) 을 사용하여 현상하고 산으로 중단시켰다. 삼반복의 평균을 표준 편차와 함께 플롯팅하였다 (도 14 참조).
- [0289] 보다 상세히, COVA801-808 FynomAb 를 다음의 조건 (a-d) 하에 인큐베이션한 후, 도 10 에서 개략적으로 나타낸 ELISA 에서 이중 결합 활성의 유지에 대해 평가하였다: a) PBS 중 희석 및 즉시 검정 (PBS 제 0 일), b) PBS 중 희석 및 4°C 에서 6 일 동안 보관 (PBS 제 6 일), c) 90% 인간 혈청 중 희석 및 즉시 검정 (인간 혈청 제 0 일), d) 90% 인간 혈청 중 희석 및 37°C 에서 6 일 동안 인큐베이션 (인간 혈청 제 6 일).
- [0290] 별개 집합의 대조군 샘플을 PBS 중 4°C 에서 6 일 동안 인큐베이션하였다 (PBS 제 6 일). 또 다른 집합의 대조군 샘플을 인간 혈청 중 희석하고 검정에 즉시 사용하였다 (인간 혈청 제 0 일). 인간 혈청 제 0 일 샘플의 목적은, 인간 혈청의 존재가 그의 표적 둘 모두에 동시에 결합하는 FynomAb 의 능력에 영향을 미치는지 여부를 평가하기 위한 것이었다. 도 14 에서 나타낸 바와 같이, 인간 혈청 중 FynomAb 의 6 일 동안의 보관은 그의 결합 활성을 감소시키지 않았으며 (인간 혈청 제 0 일과 비교하여), 이는 모든 8 개 FynomAb 가 인간 혈청 중에서 안정하다는 것을 제시한다. 도 15 에서 나타낸 바와 같이, COVA804 및 COVA806 의 이중 결합 활성은 인간 혈청의 존재에 영향을 받지 않았다.
- [0291] 실시예 9
- [0292] IL-6R 및 IL-17A 의 동시 결합
- [0293] 데이터는, COVA801-808 FynomAb 가 인간 IL-17A 및 인간 IL-6R 에 동시에 모두 결합할 수 있다는 것을 나타내었다.
- [0294] 세포-기반 유세포분석 검정을 수행하여, COVA801-808 FynomAb 가 세포 표면 상 IL-6R 및 가용성 IL-17A 에 동시에 결합할 수 있다는 것을 입증하였다. 이러한 검정에서, 표면 상 인간 IL-6R 을 발현하는 HEK Blue IL-6 세포 (Invivogen hkb-il6) 를 사용하였다. 간략하게, COVA801-808 FynomAb (또는 대조군) 를 각각 60 분 동안 300 nM 내지 5 pM 범위의 다양한 농도에서의 HEK-Blue IL-6 세포 (또는 음성 대조군으로서 HEK-293 세포) 와 함께 인큐베이션하였다. 이러한 1 차적 인큐베이션 후에, IL-6R 에 대한 구축물의 결합을 Alexa488 형광단에 접합된 항-인간-IgG 항체 (Invitrogen A11013) 를 사용하여 검출하였다.
- [0295] 결과를 도 16 에 나타낸다. HEK-Blue-IL6 세포 (IL6R+) 또는 HEK-293 세포 (IL6R-) 를 표시한 FynomAb 와 함께 인큐베이션한 후, 세포 표면에 결합한 FynomAb 를 검출하기 위해 항-인간 IgG-Alexa488 과, 또는 연속 결합을 평가하기 위해 비오틴화 IL-17A + 스트렙타비딘 APC 와 함께 인큐베이션하였다. 토실리주맙을 IL-6R 결합에 대한 양성 대조군으로서, 그리고 IL-17A 결합에 대한 음성 대조군으로서 사용하였다.
- [0296] 도 16 A, C, E, G, I, K, M 및 O 에서의 데이터는, 모든 8 개의 FynomAb 구축물 뿐 아니라 토실리주맙이 세포 표면 상에 인간 IL-6R 을 발현하는 HEK-Blue IL-6 세포에 결합하지만, 세포 표면 상에 인간 IL-6R 을 발현하지 않는 대조군 HEK-293 세포에 결합하는 구축물은 없다는 것을 보여준다. 세포 표면 IL-6R 및 가용성 인간 IL-17A 에 대한 동시 결합을 검출하기 위해서, 각각의 구축물과 함께 1 차적 인큐베이션을 실시한 후, 비오틴화 IL-17A (R&D 317-ILB) 와의 2 차적 인큐베이션 이후 스트렙타비딘-알로피코시아닌 (APC; eBioscience 17-4317) 과의 인큐베이션을 수행한, 별개의 연구를 수행하였다. 도 16 B, D, F, H, J, L 및 P 에서 나타낸 바와 같이, 모든 8 개의 FynomAb 는 세포 표면 IL-6R 및 가용성 IL-17A 에 대한 동시 결합을 나타내었다. 예상한 바처럼, 토실리주맙은 HEK Blue IL-6 세포의 표면 상에서 발현된 IL-6R 에 결합할 수 있으나 가용성 IL-17A 에는 결합하지 않았다.
- [0297] 실시예 10
- [0298] IL-17A 및 IL-6R 둘 모두의 존재 하의 이중특이적 FynomAb 의 기능적 활성

[0299] 도 15 및 도 16 에서의 데이터는 FynomAb 가 인간 IL-17A 및 인간 IL-6R 에 동시에 결합할 수 있다는 것을 보여 준다. 그러나, FynomAb 의 mAb 부분에 의한 IL-6R 의 결합이 그의 리간드 IL-17A 에 결합하고 저해하는 fynomer 의 능력에 영향을 주는지 여부는 분명하지 않다. 이러한 쟁점을 다루기 위해서, FynomAb 에 의한 IL-6R 의 결합이 IL-17A 에 대한 그의 결합 및 기능적 활성을 감소시켰는지를 보기 위해 가용성 IL-6R 의 존재 하에 HT-29 IL-17A 기능적 검정을 수행하였다. 과량의 가용성 IL-6R 의 존재 및 부재 하에 수행한 것을 제외하고는, 정확히 상기 기재한 바와 같이 HT-29 IL-17A 검정을 수행하였다. 간략하게는, 적정된 양의 COVA804 또는 COVA806 을 과량의 가용성 IL-6R (20 nM) 의 존재 또는 부재 하에 IL-17A (1.9 nM) 와 혼합한 후, 이러한 혼합물을 IL-17A 반응성 세포주 HT-29 에 첨가하였다. 그런 다음, GRO α 의 배출을 상기 기재한 바와 같이 ELISA 에 의해 48 시간 후 측정하였다. 세쿠키누맙을 IL-17A 차단에 대한 양성 대조군으로서 사용하였다.

[0300] 결과를 도 17 에 나타낸다. HT-29 세포를 재조합체 인간 IL-17A 단독 (상부 패널) 또는 인간 IL-17A 및 가용성 인간 IL-6R (하부 패널) 로, 적정된 양의 COVA804 또는 COVA806 의 존재 하에 자극하고, GRO α 생성을 ELISA 에 의해 평가하였다. 세쿠키누맙을 IL-17A 차단에 대한 양성 대조군으로서 사용하였다.

[0301] 도 17 및 표 8 에서 나타낸 바와 같이, COVA804 및 COVA806 둘 모두는 과량의 가용성 IL-6R 의 존재 하에 IL-17A-유도된 GRO α 생성의 차단을 나타내었으며, 유사한 IC50 값이 IL-6R 의 존재 및 부재 하에 관찰되었다. 이러한 데이터는, IL-6R 의 결합이 IL-17A 에 결합하고 저해하는 FynomAb 의 fynomer 부분의 능력에 영향을 주지 않는다는 것을 제시한다.

[0302] 표 8

도 17A	804	806	세쿠키누맙
IC50	1.077	0.6264	1.283
도 17B	804	806	세쿠키누맙
IC50	1.112	0.6472	1.766

[0303]

[0304] IL-17A 의 존재 하 FynomAb 에 의한 IL-6R 차단을 평가하기 위해 유사한 연구를 수행하였다 (도 18 참조). 20 nM 재조합체 인간 IL-17A 의 존재 및 부재 하에 수행한 것을 제외하고는, HEK-Blue IL-6R 저해 검정을 정확히 상기 기재한 바와 같이 수행하였다. 가능하게는 이러한 세포주에서 IL-6 의 IL-17A 유도를 통해, 더 높은 농도의 IL-17A 가 STAT3-유도성 SEAP 리porter 유전자의 강력한 활성화를 초래하였으므로, 20 nM 농도를 사용하였다. 간략하게는, HEK Blue IL-6 세포를, 다양한 농도의 FynomAb COVA803 또는 COVA804 의 존재 하에 IL-6 (15 pM) 으로 자극하였다. 저해제를 IL-6 의 첨가 전 30 분 동안 20 nM IL-17A 의 존재 또는 부재 하에 세포와 함께 예비인큐베이션하였다. 이러한 FynomAb 가 중쇄 또는 경쇄에 융합된 동일한 fynomer 를 함유하므로, COVA803 및 COVA804 를 사용하였다. COVA803 및 COVA804 를, IL-17A 의 존재 또는 부재 하에 IL-6 신호화를 차단하는 그의 능력에 대해 토실리주맙 (인하우스 생산) 과 비교하였다.

[0305] 도 18 및 표 9 에서 나타낸 바와 같이, IL-6R 을 통한 신호화를 차단하는 FynomAb 및 토실리주맙의 능력은 IL-17A 의 존재에 의해 영향받지 않았다. 유사한 IC50 값이 IL-17A 의 존재 및 부재 하에 획득되었다. 이러한 데이터는, FynomAb (부모 Ab 의 중쇄 또는 경쇄에 부착됨) 의 fynomer 부분에 의한 IL-17A 의 결합이 IL-6R 에 결합하고 저해하는 FynomAb 의 능력에 영향을 주지 않는다는 것을 제시한다.

[0306] 표 9

도 18A	803	803+IL-17A
IC50	41.73	37.67
도 18B	804	804+ IL-17A
IC50	31.19	44.84
도 18C	토실리주맙	토실리주맙
IC50	30.38	+IL-17A 27.18

[0307]

[0308] 실시예 11

[0309] 글리코실화된 인간 IL-17A 에 고친화성으로 결합하는 Fynomer 폴리펩티드

[0310] 이 실시예는 IL-17A-결합 fynomer 폴리펩티드의 발현 수율 및 크기 배제 크로마토그래피 및 표면 플라즈몬 공명 연구에 의한 이들 폴리펩티드의 분석을 나타낸다.

[0311] 친화성 측정

[0312] BIAcore T200 기기 (GE Healthcare) 를 사용하여 친화성 측정을 수행하였다. 글리코실화된 IL-17A (HEK EBNA 세포 중 인-하우스 생산됨) 와 단량체 IL-17A-결합 fynomer 폴리펩티드 사이의 상호작용 분석을 위해, Series S CM5 칩 (GE Healthcare) 을 아민 커플링 키트 (GE healthcare) 를 사용하여 고정화된 2000 RU IL-17A 와 함께 사용하였다. 전개 완충액은 0.05% Tween 20 을 함유하는 PBS 였다. 30 μ l/분의 흐름 및 상이한 농도의 IL-17A-결합 fynomer 폴리펩티드의 주입에서 상호작용을 측정하였다. 상호작용의 모든 운동학적 데이터를 BIAcore T200 평가 소프트웨어를 사용하여 평가하였다.

[0313] 결합 특성

[0314] 결합 특성을, 선별된 IL-17A-결합 fynomer 폴리펩티드에 대한 하기 해리 상수 (KD) 를 밝혀내는 BIAcore 칩에서의 실시간 상호작용 분석에 의해 분석하였다:

[0315] 표 10. 재조합체 인간 글리코실화 IL-17A (HEK EBNA 세포 중 생산됨) 에 대한 fynomer IL-17A-결합 폴리펩티드의 결합의 운동 상수

FYNOMER	SEQ ID NO.	K _D (nM)
1L3-B09	1	245
11L0-C06	2	7
11L5-B06	3	12
11L6-F03	4	11
11L9-C09	5	11
11L10-A05	6	7
11L11-A09	7	24

실시에 11 에서의 데이터는 WO2014/044758 (PCT/EP2013/069481) 에 개시되어 있다.

[0316]

[0317] 실시예 12

[0318] Fynomer 폴리펩티드가 글리코실화된 IL-17A 를 저해함

[0319] 클론 1L3-B09 (SEQ ID NO:1) 및 IL-17A 에 대해 최고 결합 친화성을 갖는 5 개 fynomer 폴리펩티드 (11L0-C06, 11L5-B06, 11L6-F03, 11L9-C09, 11L10-A05, SEQ ID NO:2-6) 를, IL-17A 를 저해하는 그의 능력에 대해 시험하였다. 다양한 농도의 IL-17A 결합 fynomer 폴리펩티드의 부재 또는 존재 하에 재조합체 글리코실화 IL-17A (HEK EBNA 세포 중 인-하우스 생산됨) 및 재조합체 TNF α (Thermo Fisher Scientific) 로 인간 진피 섬유아세포를 자극하여, 표시한 IL-17A-결합 fynomer 폴리펩티드의 저해 활성을 시험하였다. 자극 24 시간 후 세포 배양 상청액을 채취하고, 상청액 중 IL-6 농도를 ELISA 에 의해 측정하였다. 결과는 IL-17A 결합 fynomer 폴리펩티드가 글리코실화된 IL-17A 를 특이적으로 저해할 수 있다는 것을 보여준다.

[0320] 방법

[0321] 내독소 제거를 위해, 단백질 용액을 Acrodisc Mustang E 멤브레인 (VWR) 으로 3 회 여과하였다. 여과 후 저해성 IL-17A-결합 fynomer 폴리펩티드를 함유하는 단백질 용액의 내독소 수준은, 리물루스 변형 세포 용해질 (Limulus ameocyte lysate (LAL)) 시험 (PYROGENT Single test Gel Clot LAL 검정 (Lonza)) 에 의해 측정된 바와 같이 0.1 EU/ml 미만이었다. 약 3900 개의 정상 인간 진피 섬유아세포 (PromoCell, NHDF-c, C12300) 를 함유하는 100 μ l 의 세포 현탁액을 웰 당 분배하고 (96 웰 플레이트, TPP 또는 Corning) 24 시간 동안 37°C 에서 배양하였다 (배지: 섬유아세포 성장 배지 C-23010, PromoCell). 상청액을 흡입해내고, 상이한 농도의 IL-17A-결합 fynomer 폴리펩티드와 IL-17A 및 TNF α 함유 배지 (각각 최종 농도 1 ng/ml 및 50 pg/ml) 를 혼합한 후, 100 μ l 의 상응하는 용액을 웰 당 첨가하였다. 대조군으로서 PBS 를 IL-17A/TNF α 함유 배지 (양성 대조군 = "무-저해제") 및 단일 사이토카인 IL-17A 또는 TNF α 단독을 갖는 배지와 혼합하였다 (후자의 경우는 "TNF α 대조군" 웰임). 음성 대조군으로서 PBS 를 배지 단독과 혼합하였다. 비교를 위해, 동일 조건을 사용하여 비-글리코실화된 IL-17A (R&D Systems) 로도 검정을 수행하였다. 37°C 에서 24 시간 인큐베이션

후, 상청액을 ELISA 로, 제조사의 지시사항에 따라 IL-6 ELISA 키트를 사용하여 (IL-6 ELISA 키트, R&D Systems) IL-6 농도를 측정하였다. 저해 백분율을 플롯팅하고 소프트웨어 Prism 5 를 사용하여 IC50 값을 계산하였다. IL-17A 저해 백분율을 하기 식으로 결정하였다:

$$\text{저해(\%)} = \frac{(A450 - 650\text{nm} (\text{샘플}) - A450 - 650\text{nm} (\text{TNF}\alpha \text{ 대조군})) \times 100}{A450 - 650\text{nm} (\text{양성 대조군}) - A450 - 650\text{nm} (\text{TNF}\alpha \text{ 대조군})}$$

결과

정상 인간 진피 섬유아세포를 IL-17A/TNF α 및 상이한 농도의 표시한 IL-17A-결합 fynomer 폴리펩티드와 함께 인큐베이션하였다. fynomer 폴리펩티드가 글리코실화된 IL-17A 를 저해하였다는 것이 관찰되었다. IC50 값을 표 11 에 나타낸다.

표 11. IL-17A-결합 fynomer 폴리펩티드에 대해 수득한 글리코실화된 IL-17A 의 저해에 대한 IC50 값

FYNOMER	SEQ ID NO.	IC ₅₀ 값 (nM)
11L3-B09	1	300
11L0-C06	2	35
11L5-B06	3	43
11L6-F03	4	63
11L9-C09	5	32
11L10-A05	6	28

글리코실화 및 비-글리코실화된 IL-17A 모두를 저해하는 표시한 IL-17A-결합 fynomer 폴리펩티드의 용량-의존적 저해 곡선을 도 19 에 나타낸다.

IL-17A-결합 fynomer 폴리펩티드가 비-글리코실화된 IL-17A 와 비교하여 유사한 효력으로, 글리코실화된 IL-17A 를 완전히 저해할 수 있다는 것이 발견되었다. 이는 W02011/023685 에서 이전에 기재된 Fyn SH3-유래 IL-17A-결합 폴리펩티드와 비교하여 유리한 특성이다.

도 20 은 W02011/023685 에 기재된 Fyn SH3-유래 IL-17A-결합 폴리펩티드의 3 가지 예를 나타낸다.

Fyn SH3 유래 IL-17 결합제 2C1 (W02011/023685 에서의 SEQ ID NO:107), Fyn SH3 유래 IL-17 결합제 A1_2 (W02011/023685 에서의 SEQ ID NO:53) 및 Fyn SH3 유래 IL-17 결합제 B1_2 ("B1") (W02011/023685 에서의 SEQ ID NO:39) 는 심지어 고농도에서도 글리코실화된 IL-17A 를 완전히 저해하지 않으며/않거나 글리코실화 및 비-글리코실화된 IL-17A 사이의 저해 효력 (IC50 값) 에 있어서 큰 차이를 나타내지 않는다.

실시예 13

실시예 13 에서의 데이터는 W02014/044758 (PCT/EP2013/069481) 에 개시되어 있다.

Fynomer 폴리펩티드 11L11-A09 는 글리코실화된 IL-17A 를 저해함

방법

Fynomer 11L11-A09 를, IL-17A 를 저해하는 그의 능력에 대해 시험하였다. 연구 조건은 다른 fynomer 폴리펩티드에 대해 상기 기재한 바와 동일하였다.

결과

정상 인간 진피 섬유아세포를 IL-17A/TNF α 및 상이한 농도의 fynomer 폴리펩티드 11L11-A09 와 함께 인큐베이션하였다. 11L11-A09 가 66 nM 의 IC50 값으로 글리코실화된 IL-17A 를 저해한 것이 관찰되었다 (표 12).

표 12. IL-17A-결합 fynomer 폴리펩티드 11L11-A09 에 대해 수득한 글리코실화된 IL-17A 의 저해에 대한 IC50 값

FYNOMER	SEQ ID NO.	IC ₅₀ 값 (nM)
11L11-A09	7	66

[0339]

[0340] 도 21 은 fynomer 폴리펩티드 11L11-A09 의 용량-의존적 저해 곡선을 나타낸다. 11L11-A09 는 글리코실화 및 비-글리코실화된 IL-17A 모두를 비슷한 효력 및 효능으로 저해하였다.

[0341] 실시예 14

[0342] C57BL/6 마우스에서의 약동학 연구

[0343] COVA801-808 FynomAb 평가를 돕기 위해, 모든 8 개의 FynomAb 의 약동학 프로파일을 C57BL/6 마우스에서 평가하였다.

[0344] 투여 및 혈액 채취

[0345] COVA801, COVA802, COVA803, COVA804, COVA805, COVA806, COVA807, COVA808 로 나타낸 FynomAb 및 토실리주맙의 약동학 특성 측정을, 단일 안구 뒤 주사 후에 상이한 시점에서 채취한 마우스 혈청 중 ELISA 에 의해 농도 측정으로써 수행하였다. 6 내지 8 주령 암컷 C56BL/6 마우스 (Charles River, USA) 를 개별 체중을 기반으로 하여 10 mg/kg 용량으로 정맥내 주사하였다. 각각의 군은 5 마리의 마우스로 구성되었다. 안구 뒤 주사 30 분, 6, 24, 48, 96, 144, 192, 240 및 288 시간 후에 미정맥 (꼬리 정맥) 으로부터 혈액을 채취하였다. 혈액을 혈액 튜브 응고 활성화제 마이크로벳 (microvette) (CB300, Sarstedt) 내에 수집하고, 10 분 동안 10,000 rpm 에서 원심분리하여 혈청을 준비하였다. 분석할 때까지 혈청을 -20℃ 에서 보관하였다.

[0346] IL-6R 및 IL-17A ELISA

[0347] 시험한 FynomAb 및 토실리주맙의 혈청 농도를, 각각 고결합 Nunc ELISA 플레이트 (Thermo Scientific, 456537) 상에서 고정화된 인간 IL-17 알파 (Cell Signaling Technologies, 8928BF) 및 재조합체 인간 IL-6R 알파 (R&D Systems, Inc. 227-SR/CF) 를 사용하여 ELISA 에 의해 측정하였다. 둘 모두를 PBS 중 5 mg/ml 로 4℃ 에서 밤새 코팅하였다. 플레이트를 PBS + 0.05% Tween (PBST) 중에서 세척하고 PBST 중 1% 로 희석한 BSA (Fischer Scientific, 37525) 로 2 시간 동안 블로킹하였다. 각각의 마우스 및 시점에 대하여, 혈청의 800, 4,000 및 20,000-배 희석물을 차단제 희석액 중에서 제조하였다. 2 배 적정으로 4 nM 에서 시작하여 차단제 희석액 중에서 연속 희석하여 (4 nM-0.03125 nM), 각각의 FynomAb 에 대한 상응하는 표준물을 제조하였다. 50 µl 의 표준물 (이반복) 및 혈청 희석물 (삼반복) 을 플레이트에 첨가하고 실온에서 1 시간 동안 인큐베이션하였다. 플레이트를 PBST 로 3 회 세척하고, 1:5,000 로 희석한 50 µl 의 퍼옥시다아제-AffiniPure 염소 항-인간 IgG (H+L) (Jackson ImmunoResearch, 109-035-003) 와 함께 실온에서 1 시간 동안 인큐베이션하였다. 플레이트를 PBST 로 3 회 세척하였다. 50 µl 의 TMB 액체 기질 (Sigma-Aldrich Inc., T0440-1L) 을 모든 웰에 첨가하였다. 플레이트를 3 분 동안 인큐베이션하고, 50 µl 중단 용액으로 중단시켰다. 흡광도 값을 405 nM 에서 기록하였다 (PHERAstar Plus).

[0348] 데이터 분석

[0349] 각각의 마우스에 대한 혈청 농도를 표준 곡선 및 4 매개변수 피트 분석 (X 값 대수, Y 값 선형) 을 사용하여 계산하였다. 모든 시점 및 마우스에 대해, 삼반복물의 평균 nM 혈청 농도에 상응하는 희석 인자를 곱한 후, ug/ml 농도로 변환하였다. STDEV 및 %CV 를 각각의 시점 및 3 희석 인자에 대해 계산하였다. 표준 곡선의 선형 부분을 가장 최적으로 나타내고 최저 %CV 를 갖는 하나의 값을 각각의 시점에 대한 값으로서 선택하였다. 이러한 값을 약동학 매개변수 분석 처리하였다 (Phoenix 64, WinNonlin 6.3). 반감기 (시간), 곡선 하 면적 (AUC; 시간*ug/ml), 분포 부피 (V_z; ml) 및 청소율 (clearance) (Cl; ml/시간) 을, 비-구형성 PK 분석, 모델 유형: 플라스마 (200-202), 계산법: 선형 사다리꼴 선형 보간법을 사용하여 계산하였다. 각각의 마우스에 대한 표준 곡선은 균일한 정량 및 최적합 (best fit) 람다 Z 계산을 기반으로 하였으며 (회귀에 있어서 3 개 이상의 데이터점을 필요로 함), C_{max} 를 포함하지 않았다.

[0350] 결과

[0351] 각각의 FynomAb 및 토실리주맙의 혈청 농도 및 약동학 매개변수를 표 13-21 에서 나타낸다. IL-6R 및 IL-17A ELISA 모두를 사용하여 혈청 농도 및 PK 매개변수를 계산하였으나, IL-6R 데이터만을 여기서 나타낸다.

그러나, 유사한 혈청 농도 및 PK 매개변수를 IL-17A ELISA 데이터로부터 측정하였다. 따라서 2 개의 상이한 ELISA 방법에 대한 혈청 농도 대 시간 곡선은 각각의 FynomAb 에 대해 매우 유사하게 보인다 (도 22-25 참조). 이러한 데이터는, FynomAb 가 생체내 안정적이며 IL-6R 및 IL-17A 둘 모두에 결합하는 그의 능력이 유지된다는 것을 나타낸다. 일반적으로, 이러한 약동학 연구로부터의 결과는 동일한 마우스 종에서의 선행 데이터와 일치한다.

표 13A 및 13B: 토실리주맙의 혈청 농도 및 PK 매개변수

A) ELISA (IL-6R) 에 의해 측정된 바와 같은 각 시점에 대한 혈청 농도를 나타낸다. 평균값 및 표준 편차 (STDEV) 를 또한 표시한다. (B) 반감기, 분포 부피 (Vz), 청소율 (Cl) 및 곡선 하 면적 (AUC) 과 같은 중요한 약동학 매개변수의 요약. A 에서 나타난 혈청 농도를 사용하여 매개변수를 계산하였다.

표 13A

토실리주맙 (IL-6R)	농도 (ug/ml)					평균 (ug/ml)	STDEV
	마우스 1	마우스 2	마우스 3	마우스 4	마우스 5		
시간 (시)							
0.5	319.00	299.66	270.66	261.00	309.33	291.93	25.02
6	435.00	222.33	251.33	328.66	270.66	301.60	84.10
24	232.00	232.00	222.33	261.00	174.00	224.27	31.62
48	251.33	183.67	164.33	232.00	145.00	195.27	45.03
96	174.00	133.40	116.00	174.00	87.00	136.88	37.72
144	143.07	116.00	106.33	222.33	106.33	138.81	49.05
192	116.00	87.00	104.40	145.00	75.40	105.56	27.02
240	58.00	63.80	58.00	87.00	50.27	63.41	14.03

표 13B

약동학 매개변수					
토실리주맙 (IL-6R)	마우스 ID	반감기 (시간)	Vz (ml)	Cl (ml/시간)	AUC (시간*ug/ml)
	1	99.67	0.028	0.00020	42167.16
	2	111.30	0.037	0.00023	32673.59
	3	126.63	0.043	0.00024	31425.15
	4	70.92	0.018	0.00018	46549.51
	5	88.81	0.038	0.00030	27087.75
평균		99.47	0.033	0.00023	35980.63
STDEV		21.25	0.010	0.00005	8073.83

표 14A 및 14B: COVA801 의 혈청 농도 및 PK 매개변수

A) ELISA (IL-6R) 에 의해 측정된 바와 같은 각 시점에 대한 혈청 농도를 나타낸다. 평균값 및 표준 편차 (STDEV) 를 또한 표시한다. (B) 반감기, 분포 부피 (Vz), 청소율 (Cl) 및 곡선 하 면적 (AUC) 과 같은 중요한 약동학 매개변수의 요약. A 에서 나타난 혈청 농도를 사용하여 매개변수를 계산하였다. 유사한 혈청 농도 및 PK 매개변수를 IL-17A ELISA 로부터 측정하였다.

표 14A

COVA801 (IL-6R)	농도 (ug/ml)					평균 (ug/ml)	STDEV
	마우스 1	마우스 2	마우스 3	마우스 4	마우스 5		
시간 (시)							
0.5	355.56	355.56	204.72	422.36	430.98	353.83	90.68
6	258.59	409.43	196.10	275.83	284.45	284.88	77.73
24	159.46	209.02	135.76	161.62	183.17	169.81	27.61
48	96.97	144.38	96.97	129.29	118.52	117.23	20.65
96	64.65	96.97	75.42	96.97	84.04	83.61	14.00
144	38.79	103.43	114.21	90.51	120.67	93.52	32.67
192	51.72	64.65	58.18	45.25	58.18	55.60	7.37
240	38.79	38.79	43.10	38.79	45.25	40.94	3.05

[0362] 표 14B

약동학 매개변수					
COVA 801 (IL-6R)	마우스 ID	반감기 (시간)	Vz (ml)	Cl (ml/시간)	AUC (시간*ug/ml)
	1	94.41	0.055	0.00041	19322.94
	2	67.84	0.030	0.00030	29118.09
	3	68.28	0.037	0.00038	22189.49
	4	104.49	0.049	0.00033	24658.46
	5	67.84	0.032	0.00032	26453.49
평균		80.57	0.041	0.00035	24348.49
STDEV		17.60	0.011	0.00004	3781.32

[0363]

[0364] 표 15A 및 15B: COVA802 의 혈청 농도 및 PK 매개변수

[0365] A) ELISA (IL-6R) 에 의해 측정된 바와 같은 각 시점에 대한 혈청 농도를 나타낸다. 평균값 및 표준 편차 (STDEV) 를 또한 표시한다. (B) 반감기, 분포 부피 (Vz), 청소율 (Cl) 및 곡선 하 면적 (AUC) 과 같은 중요한 약동학 매개변수의 요약. A 에서 나타난 혈청 농도를 사용하여 매개변수를 계산하였다. 유사한 혈청 농도 및 PK 매개변수를 IL-17A ELISA 로부터 측정하였다.

[0366] 표 15A

COVA802 (IL-6R)	농도 (ug/ml)						
시간 (시)	마우스 1	마우스 2	마우스 3	마우스 4	마우스 5	평균 (ug/ml)	STDEV
0.5	193.94	258.59	340.47	297.38	269.36	271.95	53.88
6	131.45	247.81	226.26	258.59	193.94	211.61	51.16
24	129.29	161.62	129.29	161.62	122.83	140.93	19.07
48	96.97	140.07	88.35	129.29	120.67	115.07	21.80
96	64.65	88.35	62.49	109.90	84.04	81.89	19.39
144	45.25	77.58	56.03	99.13	25.86	60.77	28.44
192	30.17	53.87	43.10	64.65	30.60	44.48	14.95
240	16.81	45.25	32.32	23.27	20.26	27.58	11.44

[0367]

[0368] 표 15B

약동학 매개변수					
COVA 802 (IL-6R)	마우스 ID	반감기 (시간)	Vz (ml)	Cl (ml/시간)	AUC (시간*ug/ml)
	1	77.02	0.064	0.00058	15459.11
	2	116.06	0.053	0.00032	23760.41
	3	120.98	0.073	0.00042	18109.20
	4	45.92	0.024	0.00037	25673.85
	5	71.45	0.053	0.00052	17240.67
평균		86.28	0.054	0.00044	20048.64
STDEV		31.72	0.018	0.00011	4419.56

[0369]

[0370] 표 16A 및 16B: COVA803 의 혈청 농도 및 PK 매개변수

[0371] A) ELISA (IL-6R) 에 의해 측정된 바와 같은 각 시점에 대한 혈청 농도를 나타낸다. 평균값 및 표준 편차 (STDEV) 를 또한 표시한다. (B) 반감기, 분포 부피 (Vz), 청소율 (Cl) 및 곡선 하 면적 (AUC) 과 같은 중요한 약동학 매개변수의 요약. A 에서 나타난 혈청 농도를 사용하여 매개변수를 계산하였다. 유사한 혈청 농도 및 PK 매개변수를 IL-17A ELISA 로부터 측정하였다.

[0372] 표 16A

COVA803 (IL-6R)	농도 (ug/ml)					평균 (ug/ml)	STDEV
	마우스 1	마우스 2	마우스 3	마우스 4	마우스 5		
시간 (시)							
0.5	355.21	430.56	441.32	402.57	376.74	401.28	36.01
6	236.81	236.81	230.35	236.81	245.42	237.24	5.36
24	129.17	129.17	135.63	122.71	157.15	134.76	13.32
48	90.42	81.81	127.01	129.17	114.10	108.50	21.45
96	71.04	64.58	83.96	81.81	79.65	76.21	8.14
144	64.58	58.13	73.19	68.89	73.19	67.60	6.39
192	47.36	31.43	49.51	49.51	45.21	44.61	7.58
240	38.75	25.83	30.14	36.60	38.75	34.01	5.78

[0373]

[0374] 표 16B

약동학 매개변수					
COVA 803 (IL-6R)	마우스 ID	반감기 (시간)	Vz (ml)	Cl (ml/시간)	AUC (시간*ug/ml)
	1	158.43	0.081	0.00035	19528.98
	2	99.28	0.067	0.00047	17750.35
	3	74.99	0.043	0.00039	22094.56
	4	105.20	0.056	0.00037	21705.44
	5	110.88	0.057	0.00036	21858.29
평균		109.76	0.061	0.00039	20587.53
STDEV		30.45	0.014	0.00005	1891.15

[0375]

[0376] 표 17A 및 17B: COVA804 의 혈청 농도 및 PK 매개변수

[0377] A) ELISA (IL-6R) 에 의해 측정된 바와 같은 각 시점에 대한 혈청 농도를 나타낸다. 평균값 및 표준 편차 (STDEV) 를 또한 표시한다. (B) 반감기, 분포 부피 (Vz), 청소율 (Cl) 및 곡선 하 면적 (AUC) 과 같은 중요한 약동학 매개변수의 요약. A 에서 나타난 혈청 농도를 사용하여 매개변수를 계산하였다. 유사한 혈청 농도 및 PK 매개변수를 IL-17A ELISA 로부터 측정하였다.

[0378] 표 17A

COVA804 (IL-6R)	농도 (ug/ml)					평균 (ug/ml)	STDEV
	마우스 1	마우스 2	마우스 3	마우스 4	마우스 5		
시간 (시)							
0.5	441.32	419.79	387.50	376.74	398.27	404.72	25.92
6	419.79	312.15	292.78	262.64	226.04	302.68	73.11
24	215.28	202.36	167.92	144.24	161.46	178.25	29.57
48	178.68	176.53	142.08	129.17	129.17	151.13	24.75
96	129.17	142.08	129.17	92.57	122.71	123.14	18.48
144	96.88	124.86	131.32	103.33	116.25	114.53	14.39
192	66.74	101.18	94.72	96.88	73.19	86.54	15.48
240	24.54	75.35	75.35	53.82	64.58	58.73	21.09

[0379]

[0380] 표 17B

약동학 매개변수					
COVA 804 (IL-6R)	마우스 ID	반감기 (시간)	Vz (ml)	Cl (ml/시간)	AUC (시간*ug/ml)
	1	69.55	0.029	0.00029	31852.27
	2	160.73	0.044	0.00019	35010.19
	3	119.78	0.038	0.00022	32102.31
	4	190.81	0.065	0.00024	27240.23
	5	171.03	0.056	0.00023	28424.82
평균		142.38	0.047	0.00023	30925.96
STDEV		48.26	0.014	0.00004	3113.00

[0381]

[0382] 표 18A 및 18B: COVA805 의 혈청 농도 및 PK 매개변수

[0383] A) ELISA (IL-6R) 에 의해 측정된 바와 같은 각 시점에 대한 혈청 농도를 나타낸다. 평균값 및 표준 편차 (STDEV) 를 또한 표시한다. (B) 반감기, 분포 부피 (Vz), 청소율 (Cl) 및 곡선 하 면적 (AUC) 과 같은 중

요한 약동학 매개변수의 요약. A 에서 나타낸 혈청 농도를 사용하여 매개변수를 계산하였다. 유사한 혈청 농도 및 PK 매개변수를 IL-17A ELISA 로부터 측정하였다.

표 18A

COVA805 (IL-6R)	농도 (ug/ml)						
시간 (시)	마우스 1	마우스 2	마우스 3	마우스 4	마우스 5	평균 (ug/ml)	STDEV
0.5	336.10	323.17	463.21	264.78	290.85	335.62	76.58
6	185.28	165.89	193.90	172.36	159.43	175.37	14.09
24	99.11	86.18	96.95	95.87	92.64	94.15	5.03
48	84.02	73.25	66.79	58.82	73.25	71.23	9.30
96	64.63	45.24	48.69	43.95	58.17	52.14	8.93
144	51.71	40.50	0.00	43.74	45.24	36.24	20.66
192	25.42	32.32	32.32	32.32	32.32	30.94	3.08
240	19.82	25.85	26.28	19.35	23.70	23.00	3.27

표 18B

약동학 매개변수					
COVA 805 (IL-6R)	마우스 ID	반감기 (시간)	Vz (ml)	Cl (ml/시간)	AUC (시간*ug/ml)
	1	90.72	0.072	0.00055	15571.82
	2	148.22	0.111	0.00052	13653.16
	3	161.96	0.113	0.00048	14571.72
	4	81.58	0.076	0.00065	13174.81
	5	102.91	0.083	0.00056	14412.29
평균		117.08	0.091	0.00055	14276.76
STDEV		35.84	0.020	0.00006	920.02

표 19A 및 19B: COVA806 의 혈청 농도 및 PK 매개변수

A) ELISA (IL-6R) 에 의해 측정된 바와 같은 각 시점에 대한 혈청 농도를 나타낸다. 평균값 및 표준 편차 (STDEV) 를 또한 표시한다. (B) 반감기, 분포 부피 (Vz), 청소율 (Cl) 및 곡선 하 면적 (AUC) 과 같은 중요한 약동학 매개변수의 요약. A 에서 나타낸 혈청 농도를 사용하여 매개변수를 계산하였다. 유사한 혈청 농도 및 PK 매개변수를 IL-17A ELISA 로부터 측정하였다.

표 19A

COVA806 (IL-6R)	농도 (ug/ml)						
시간 (시)	마우스 1	마우스 2	마우스 3	마우스 4	마우스 5	평균 (ug/ml)	STDEV
0.5	258.54	321.02	312.40	355.49	333.94	316.28	36.13
6	183.13	215.45	185.28	226.22	226.22	207.26	21.51
24	96.95	129.27	129.27	109.88	124.96	118.06	14.24
48	68.94	105.57	105.57	88.33	94.80	92.64	15.16
96	62.48	79.72	77.56	66.79	86.18	74.54	9.71
144	51.71	71.10	68.94	73.25	58.17	64.63	9.27
192	43.09	51.71	58.17	51.71	40.93	49.12	7.05
240	38.78	38.78	38.78	45.24	21.54	36.63	8.88

표 19B

약동학 매개변수					
COVA 806 (IL-6R)	마우스 ID	반감기 (시간)	Vz (ml)	Cl (ml/시간)	AUC (시간*ug/ml)
	1	218.56	0.112	0.00036	15925.26
	2	109.78	0.059	0.00037	20661.31
	3	137.35	0.071	0.00036	20384.46
	4	184.33	0.084	0.00032	19501.67
	5	73.77	0.050	0.00047	19107.40
평균		144.76	0.075	0.00037	19116.02
STDEV		57.73	0.024	0.00006	1892.53

표 20A 및 20B: COVA807 의 혈청 농도 및 PK 매개변수

[0395] A) ELISA (IL-6R) 에 의해 측정된 바와 같은 각 시점에 대한 혈청 농도를 나타낸다. 평균값 및 표준 편차 (STDEV) 를 또한 표시한다. (B) 반감기, 분포 부피 (Vz), 청소율 (Cl) 및 곡선 하 면적 (AUC) 과 같은 중요한 약동학 매개변수의 요약. A 에서 나타난 혈청 농도를 사용하여 매개변수를 계산하였다. 유사한 혈청 농도 및 PK 매개변수를 IL-17A ELISA 로부터 측정하였다.

[0396] 표 20A

COVA807 (IL-6R)	농도 (ug/ml)						
시간 (시)	마우스 1	마우스 2	마우스 3	마우스 4	마우스 5	평균 (ug/ml)	STDEV
0.5	505.82	404.66	441.25	368.07	374.52	418.86	56.59
6	320.71	355.15	245.38	226.01	192.43	267.94	67.75
24	222.78	234.62	154.98	129.15	127.21	173.74	51.52
48	204.48	139.91	137.76	187.26	106.76	155.23	39.82
96	161.43	161.43	120.54	94.71	92.34	126.09	34.11
144	129.15	152.82	109.77	109.77	70.17	114.34	30.38
192	71.03	103.32	75.34	79.64	72.32	80.33	13.27
240	66.73	55.96	71.03	64.57	53.17	62.29	7.49

[0397]

[0398] 표 20B

약동학 매개변수					
COVA 807 (IL-6R)	마우스 ID	반감기 (시간)	Vz (ml)	Cl (ml/시간)	AUC (시간*ug/ml)
	1	106.59	0.033	0.00021	36284.17
	2	66.24	0.023	0.00024	36737.27
	3	186.18	0.056	0.00021	28796.38
	4	125.40	0.045	0.00025	28400.87
	5	187.97	0.074	0.00027	22447.23
평균		134.48	0.046	0.00024	30533.18
STDEV		52.56	0.020	0.00003	6010.62

[0399]

[0400] 표 21A 및 21B: COVA808 의 혈청 농도 및 PK 매개변수

[0401] A) ELISA (IL-6R) 에 의해 측정된 바와 같은 각 시점에 대한 혈청 농도를 나타낸다. 평균값 및 표준 편차 (STDEV) 를 또한 표시한다. (B) 반감기, 분포 부피 (Vz), 청소율 (Cl) 및 곡선 하 면적 (AUC) 과 같은 중요한 약동학 매개변수의 요약. A 에서 나타난 혈청 농도를 사용하여 매개변수를 계산하였다. 유사한 혈청 농도 및 PK 매개변수를 IL-17A ELISA 로부터 측정하였다.

[0402] 표 21A

COVA808 (IL-6R)	농도 (ug/ml)						
시간 (시)	마우스 1	마우스 2	마우스 3	마우스 4	마우스 5	평균 (ug/ml)	STDEV
0.5	226.01	256.14	290.58	408.96	279.82	292.30	69.77
6	172.20	191.57	163.59	288.43	204.48	204.05	49.82
24	129.15	161.43	96.86	129.15	126.99	128.72	22.85
48	90.40	124.84	77.49	126.99	161.43	116.23	33.17
96	77.49	90.40	66.73	96.86	109.77	88.25	16.74
144	77.49	96.86	64.57	105.47	96.86	88.25	16.74
192	51.66	58.12	49.51	73.18	75.34	61.56	12.04
240	45.20	21.09	40.90	66.73	27.98	40.38	17.63

[0403]

[0404] 표 21B

약동학 매개변수					
COVA 808 (IL-6R)	마우스 ID	반감기 (시간)	Vz (ml)	Cl (ml/시간)	AUC (시간*ug/ml)
	1	158.86	0.076	0.00033	19671.12
	2	43.65	0.026	0.00041	23188.10
	3	145.68	0.081	0.00039	17277.61
	4	220.91	0.066	0.00021	26725.74
	5	85.72	0.042	0.00034	25926.65
평균		130.96	0.058	0.00034	22557.84
STDEV		68.48	0.024	0.00008	4041.39

[0405]

[0406]

도 22 는 COVA801 및 COVA802 에 대한 플롯팅한 평균 혈청 농도 대 시간을 나타낸다.

[0407]

IL6R 또는 IL-17A ELISA 에 의해 측정된 바와 같은 평균 혈청 농도 +/- 표준 편차 (STDEV) 를 COVA801 및 COVA802 와 토실리주맙 (IL-6R ELISA) 에 대해 비교자로서 나타낸다.

[0408]

도 23 은 COVA803 및 COVA804 에 대한 플롯팅한 평균 혈청 농도 대 시간을 나타낸다.

[0409]

IL6R 또는 IL-17A ELISA 에 의해 측정된 바와 같은 평균 혈청 농도 +/- 표준 편차 (STDEV) 를 COVA803 및 COVA804 와 토실리주맙 (IL-6R ELISA) 에 대해 비교자로서 나타낸다.

[0410]

도 24 는 COVA805 및 COVA806 에 대한 플롯팅한 평균 혈청 농도 대 시간을 나타낸다.

[0411]

IL6R 또는 IL-17A ELISA 에 의해 측정된 바와 같은 평균 혈청 농도 +/- 표준 편차 (STDEV) 를 COVA805 및 COVA806 과 토실리주맙 (IL-6R ELISA) 에 대해 비교자로서 나타낸다.

[0412]

도 25 는 COVA807 및 COVA808 에 대한 플롯팅한 평균 혈청 농도 대 시간을 나타낸다.

[0413]

IL6R 또는 IL-17A ELISA 에 의해 측정된 바와 같은 평균 혈청 농도 +/- 표준 편차 (STDEV) 를 COVA807 및 COVA808 과 토실리주맙 (IL-6R ELISA) 에 대해 비교자로서 나타낸다.

[0414]

실시예 15

[0415]

사이노몰거스 원숭이에서의 약동학 연구

[0416]

투여, 혈액 채취

[0417]

COVA801, COVA802, COVA803, COVA804, COVA806, COVA808 로 나타난 FynomAb 및 토실리주맙의 약동학 특성의 측정을, 단일 i.v. 주사 후 상이한 시점에서 채취한 사이노몰거스 원숭이 혈청 중 ELISA 에 의해 농도 측정으로써 수행하였다. 수컷 및 암컷 원숭이를 개별 체중을 기반으로 하여 5 mg/kg 용량으로 정맥내 주사하였다. 각각의 군은 4 마리의 원숭이로 구성되었다. i.v. 주사 후 5 분, 30 분, 2 시간, 6 시간, 24 시간, 3 일, 4 일, 5 일, 7 일, 10 일, 13 일, 17 일, 22 일 및 27 일에 혈액을 채취하였다. 혈액을 어떠한 항-응고제 없이 튜브에 수집하고 혈청을 1-2 분 동안 10,000 rpm 에서 원심분리에 의해 준비하였다. 분석할 때까지 혈청을 -80℃ 에서 보관하였다.

[0418]

IL-6R 및 IL-17A ELISA

[0419]

시험한 FynomAb 및 토실리주맙의 혈청 농도를, 마우스 PK 연구에 대해 상기 개략적으로 나타난 동일한 프로토콜에 따라 ELISA 에 의해 측정하였다.

[0420]

데이터 분석

[0421]

각각의 원숭이에 대한 혈청 농도를 표준 곡선 및 4 매개변수 피트 분석 (X 값 대수, Y 값 선형) 을 사용하여 계산하였다. 모든 시점 및 원숭이에 대해, 이반복물의 평균 nM 혈청 농도에 상응하는 희석 인자를 곱한 후, ug/ml 농도로 변환하였다. STDEV 및 %CV 를 각각의 시점 및 3 희석 인자에 대해 계산하였다. 표준 곡선의 선형 부분을 가장 최적으로 나타난 최저 %CV 를 갖는 하나의 값을 각각의 시점에 대한 값으로서 선택하였다.

이러한 값을 약동학 매개변수 분석 처리하였다 (Phoenix 64, WinNonlin 6.3). 반감기 (시간), 곡선 하 면적 (AUC; 시간*ug/ml), 분포 부피 (Vz; ml) 및 청소율 (clearance) (Cl; ml/시간) 을, 비-구획성 PK 분석, 모델 유형: 플라스마 (200-202), 계산법: 선형 사다리꼴 선형 보간법을 사용하여 계산하였다. 각각의 원숭이에 대한 표준 곡선은 균일한 청량 및 최적합 람다 Z 계산을 기반으로 하였으며 (회귀에 있어서 3 개 이상의

데이터점을 필요로 함), Cmax 를 포함하지 않았다.

[0422] 결과

[0423] 각각의 FynomAb 및 토실리주맙의 혈청 농도 및 약동학 매개변수를 표 22-28 에서 나타낸다. IL-6R 및 IL-17A ELISA 모두를 사용하여 혈청 농도 및 PK 매개변수를 계산하였으나, IL-6R 데이터만을 여기서 나타낸다. 그러나, 유사한 혈청 농도 및 PK 매개변수를 IL-17A ELISA 데이터로부터 측정하였다. 따라서 2 개의 상이한 ELISA 방법에 대한 혈청 농도 대 시간 곡선은 각각의 FynomAb 에 대해 매우 유사하게 보인다 (도 26-29 참조). 이는 다시금, FynomAb 가 생체내 안정적이며 IL-6R 및 IL-17A 둘 모두에 결합하는 그의 능력이 유지된다는 것을 제시한다.

[0424] 일반적으로, FynomAb 중 아무것도 순환으로부터 신속히 내보내지지 않은 바, 모든 FynomAb 는 유리한 PK 프로파일을 나타내었다. COVA804 는 토실리주맙과 매우 유사한 최상의 AUC 를 갖는 가장 유리한 PK 프로파일을 갖는 것으로 나타났다.

[0425] 표 22A-22B: 사이노물거스 원숭이에서 토실리주맙의 혈청 농도 및 PK 매개변수

[0426] A) ELISA (IL-6R) 에 의해 측정된 바와 같은 각 시점에 대한 혈청 농도를 나타낸다. 평균값 및 표준 편차 (STDEV) 를 또한 표시한다. (B) 반감기, 분포 부피 (Vz), 청소율 (Cl) 및 곡선 하 면적 (AUC) 과 같은 중요한 약동학 매개변수의 요약. A 에서 나타난 혈청 농도를 사용하여 매개변수를 계산하였다.

[0427] 표 22A

토실리주맙 (IL-6R)	농도 (ug/ml)					
시간 (시)	원숭이 1	원숭이 2	원숭이 3	원숭이 4	평균 (ug/ml)	STDEV
0.083	141.52	168.20	121.51	129.05	140.07	20.49
0.5	139.20	131.37	91.35	116.29	119.55	21.07
6	95.70	118.90	88.45	109.04	103.02	13.59
24	76.85	88.45	76.85	100.05	85.55	11.11
72	62.35	65.83	46.40	92.80	66.84	19.26
120	40.60	40.89	37.70	69.60	47.20	15.00
168	27.84	33.06	25.81	63.80	37.63	17.71
240	22.62	22.91	21.17	32.19	24.72	5.04
312	11.54	14.67	7.02	21.46	13.67	6.07
408	5.10	3.31		8.64	5.68	2.71
528				2.44	2.44	

[0428]

[0429] 표 22B

약동학 매개변수					
토실리주맙 (IL-6R)	원숭이 ID	반감기 (시간)	Vz (ml)	Cl (ml/시간)	AUC (시간*ug/ml)
	1	68.09	0.035	0.00036	13880.12
	2	86.91	0.041	0.00033	14893.51
	3	92.55	0.055	0.00041	11238.18
	4	68.68	0.022	0.00023	21782.04
평균		79.05	0.038	0.00033	15448.47
STDEV		12.54	0.013	0.00008	4494.75

[0430]

[0431] 표 23A-23B: 사이노물거스 원숭이에서 COVA801 의 혈청 농도 및 PK 매개변수

[0432] A) ELISA (IL-6R) 에 의해 측정된 바와 같은 각 시점에 대한 혈청 농도를 나타낸다. 평균값 및 표준 편차 (STDEV) 를 또한 표시한다. (B) 반감기, 분포 부피 (Vz), 청소율 (Cl) 및 곡선 하 면적 (AUC) 과 같은 중요한 약동학 매개변수의 요약. A 에서 나타난 혈청 농도를 사용하여 매개변수를 계산하였다. 유사한 혈청 농도 및 PK 매개변수를 IL-17A ELISA 로부터 측정하였다.

[0433] 표 23A

COVA801 (IL-6R)	농도 (ug/ml)					
시간 (시)	원숭이 1	원숭이 2	원숭이 3	원숭이 4	평균 (ug/ml)	STDEV
0.083	177.78	119.60	161.62	174.55	158.38	26.78
0.5	189.09	112.16	132.53	126.06	139.96	33.84
6	136.08	84.04	109.90	106.67	109.17	21.31
24	83.72	66.59	74.34	67.88	73.13	7.83
72	48.81	52.04	58.18	58.18	54.30	4.67
120	36.53	27.54	32.32	38.79	33.79	4.96
168	21.66	19.59	25.86	19.39	21.62	3.00
240	10.67	9.37	12.93	8.40	10.34	1.96
312	4.27	2.91	0.16			
408						
528						

[0434]

[0435] 표 23B

약동학 매개변수					
COVA 801 (IL-6R)	원숭이 ID	반감기 (시간)	Vz (ml)	C1 (ml/시간)	AUC (시간*ug/ml)
	1	62.71	0.039	0.00043	11282.55
	2	64.86	0.049	0.00052	9321.33
	3	84.64	0.050	0.00041	10538.40
	4	54.77	0.037	0.00047	10030.71
평균		66.74	0.044	0.00046	10293.25
STDEV		12.70	0.007	0.00005	827.12

[0436]

[0437] 표 24A-24B: 사이노물거스 원숭이에서 COVA802 의 혈청 농도 및 PK 매개변수

[0438] A) ELISA (IL-6R) 에 의해 측정된 바와 같은 각 시점에 대한 혈청 농도를 나타낸다. 평균값 및 표준 편차 (STDEV) 를 또한 표시한다. (B) 반감기, 분포 부피 (Vz), 청소율 (C1) 및 곡선 하 면적 (AUC) 과 같은 중요한 약동학 매개변수의 요약. A 에서 나타난 혈청 농도를 사용하여 매개변수를 계산하였다. 유사한 혈청 농도 및 PK 매개변수를 IL-17A ELISA 로부터 측정하였다.

[0439] 표 24A

COVA802 (IL-6R)	농도 (ug/ml)					
시간 (시)	원숭이 1	원숭이 2	원숭이 3	원숭이 4	평균 (ug/ml)	STDEV
0.083	131.88	118.63	103.43	129.29	120.81	12.93
0.5	110.22	115.07	96.97	109.90	108.04	7.75
6	91.48	74.34	54.95	96.97	79.43	18.96
24	56.57	53.98	51.72	77.58	59.96	11.91
72	40.73	43.31	42.02	51.72	44.44	4.96
120	22.30	21.92	32.32	38.79	28.83	8.20
168	11.64	15.84	19.39	21.98	17.21	4.49
240	6.53	10.54	12.93	14.87	11.22	3.59
312		2.72		5.82		
408						
528						

[0440]

[0441] 표 24B

약동학 매개변수					
COVA 802 (IL-6R)	원숭이 ID	반감기 (시간)	Vz (ml)	C1 (ml/시간)	AUC (시간*ug/ml)
	1	66.00	0.060	0.00063	7259.29
	2	70.05	0.061	0.00061	7962.71
	3	103.17	0.076	0.00051	7862.69
	4	78.34	0.048	0.00043	10999.95
평균		79.39	0.062	0.00055	8521.16
STDEV		16.66	0.011	0.00009	1681.48

[0442]

[0443] 표 25A-25B: 사이노몰거스 원숭이에서 COVA803 의 혈청 농도 및 PK 매개변수

[0444] A) ELISA (IL-6R) 에 의해 측정된 바와 같은 각 시점에 대한 혈청 농도를 나타낸다. 평균값 및 표준 편차 (STDEV) 를 또한 표시한다. (B) 반감기, 분포 부피 (V_z), 청소율 (Cl) 및 곡선 하 면적 (AUC) 과 같은 중요한 약동학 매개변수의 요약. A 에서 나타난 혈청 농도를 사용하여 매개변수를 계산하였다. 유사한 혈청 농도 및 PK 매개변수를 IL-17A ELISA 로부터 측정하였다.

[0445] 표 25A

COVA803 (IL-6R)	농도 (ug/ml)					
시간 (시)	원숭이 1	원숭이 2	원숭이 3	원숭이 4	평균 (ug/ml)	STDEV
0.083	125.94	129.29	129.29	142.22	131.69	7.20
0.5	132.40	117.98	106.67	135.76	123.20	13.45
6	119.48	83.07	67.88	119.60	97.51	26.18
24	83.96	59.48	58.18	84.04	71.41	14.54
72	54.90	44.61	45.25	54.95	49.93	5.78
120	32.29	25.86	32.32	38.79	32.32	5.28
168	9.69	19.07	20.04	25.86	18.66	6.69
240		10.86	11.64	12.93	11.81	1.05
312		2.91	3.23	6.46		
408						
528						

[0446]

[0447] 표 25B

약동학 매개변수					
COVA 803 (IL-6R)	원숭이 ID	반감기 (시간)	V_z (ml)	Cl (ml/시간)	AUC (시간*ug/ml)
	1	48.48	0.036	0.00052	9015.21
	2	51.32	0.032	0.00043	11191.67
	3	67.61	0.037	0.00038	12088.07
	4	45.28	0.055	0.00084	5844.74
평균		53.17	0.040	0.00054	9534.92
STDEV		9.93	0.010	0.00021	2777.94

[0448]

[0449] 표 26A-26B: 사이노몰거스 원숭이에서 COVA804 의 혈청 농도 및 PK 매개변수

[0450] A) ELISA (IL-6R) 에 의해 측정된 바와 같은 각 시점에 대한 혈청 농도를 나타낸다. 평균값 및 표준 편차 (STDEV) 를 또한 표시한다. (B) 반감기, 분포 부피 (V_z), 청소율 (Cl) 및 곡선 하 면적 (AUC) 과 같은 중요한 약동학 매개변수의 요약. A 에서 나타난 혈청 농도를 사용하여 매개변수를 계산하였다. 유사한 혈청 농도 및 PK 매개변수를 IL-17A ELISA 로부터 측정하였다.

[0451] 표 26A

COVA804 (IL-6R)	농도 (ug/ml)					
시간 (시)	원숭이 1	원숭이 2	원숭이 3	원숭이 4	평균 (ug/ml)	STDEV
0.083	226.04	309.36	238.96	263.50	259.46	36.71
0.5	203.44	269.64	227.66	201.82	225.64	31.62
6	177.60	140.47	157.91	205.70	170.42	27.99
24	116.25	158.23	115.28	125.61	128.84	20.14
72	83.96	77.50	96.23	82.99	85.17	7.90
120	61.35	50.38	54.90	49.73	54.09	5.36
168	38.75	31.65	29.06	26.80	31.57	5.18
240	23.90		19.83	17.05	20.26	3.44
312	12.92			2.52		
408	4.52					
528						

[0452]

[0453] 표 26B

약동학 매개변수					
COVA 804 (IL-6R)	원숭이 ID	반감기 (시간)	V _z (ml)	C ₁ (ml/시간)	AUC (시간*ug/ml)
	1	69.55	0.026	0.00026	18904.03
	2	74.29	0.030	0.00028	14644.67
	3	76.60	0.030	0.00027	16104.51
	4	54.49	0.024	0.00030	16522.15
평균		68.73	0.027	0.00028	16543.84
STDEV		9.94	0.003	0.00002	1767.38

[0454]

[0455] 표 27A-27B: 사이노몰거스 원숭이에서 COVA806 의 혈청 농도 및 PK 매개변수

[0456] A) ELISA (IL-6R) 에 의해 측정된 바와 같은 각 시점에 대한 혈청 농도를 나타낸다. 평균값 및 표준 편차 (STDEV) 를 또한 표시한다. (B) 반감기, 분포 부피 (V_z), 청소율 (C₁) 및 곡선 하 면적 (AUC) 과 같은 중요한 약동학 매개변수의 요약. A 에서 나타난 혈청 농도를 사용하여 매개변수를 계산하였다. 유사한 혈청 농도 및 PK 매개변수를 IL-17A ELISA 로부터 측정하였다.

[0457] 표 27A

COVA806 (IL-6R)	농도 (ug/ml)					
시간 (시)	원숭이 1	원숭이 2	원숭이 3	원숭이 4	평균 (ug/ml)	STDEV
0.083	182.27	156.74	193.90	185.82	179.68	16.05
0.5	166.11	141.23	190.67	168.05	166.51	20.21
6	124.42	121.19	161.58	118.60	131.45	20.23
24	70.45	74.33	96.95	53.65	73.84	17.83
72	52.03	63.02	64.63	42.01	55.42	10.55
120	33.29	34.26	38.78	24.24	32.64	6.09
168	25.85	29.09	32.32	14.87	25.53	7.58
240	10.73	16.80	13.57		13.70	3.04
312		6.92				
408						
528						

[0458]

[0459] 표 27B

약동학 매개변수					
COVA 806 (IL-6R)	원숭이 ID	반감기 (시간)	V _z (ml)	C ₁ (ml/시간)	AUC (시간*ug/ml)
	1	81.01	0.050	0.00043	10356.49
	2	81.60	0.045	0.00038	12207.01
	3	78.52	0.039	0.00034	13102.11
	4	64.05	0.054	0.00058	7244.31
평균		76.29	0.047	0.00043	10727.48
STDEV		8.27	0.007	0.00010	2588.31

[0460]

[0461] 표 28A-28B: 사이노몰거스 원숭이에서 COVA808 의 혈청 농도 및 PK 매개변수

[0462] A) ELISA (IL-6R) 에 의해 측정된 바와 같은 각 시점에 대한 혈청 농도를 나타낸다. 평균값 및 표준 편차 (STDEV) 를 또한 표시한다. (B) 반감기, 분포 부피 (V_z), 청소율 (C₁) 및 곡선 하 면적 (AUC) 과 같은 중요한 약동학 매개변수의 요약. A 에서 나타난 혈청 농도를 사용하여 매개변수를 계산하였다. 유사한 혈청 농도 및 PK 매개변수를 IL-17A ELISA 로부터 측정하였다.

[0463] 표 28A

COVA808 (IL-6R)	농도 (ug/ml)					
시간 (시)	원숭이 1	원숭이 2	원숭이 3	원숭이 4	평균 (ug/ml)	STDEV
0.083	200.18	175.96	129.15	163.05	167.08	29.61
0.5	217.61	172.41	109.77	164.02	165.95	44.23
6	151.75	109.77	96.86	106.55	116.23	24.30
24	79.10	80.39	61.34	71.03	72.97	8.79
72	77.49	65.54	45.20	54.56	60.70	13.94
120	36.16	37.13	32.29	31.32	34.22	2.85
168	22.02	36.81	32.29	17.37	27.12	8.97
240	14.53	20.34	12.91	5.29	13.27	6.20
312						
408						
528						

표 28B

약동학 매개변수					
COVA 808 (IL-6R)	원숭이 ID	반감기 (시간)	Vz (ml)	Cl (ml/시간)	AUC (시간*ug/ml)
	1	92.98	0.047	0.00035	12386.59
	2	102.19	0.048	0.00033	12365.78
	3	87.98	0.056	0.00044	9641.05
	4	46.38	0.034	0.00051	9477.10
평균		82.38	0.046	0.00041	10967.63
STDEV		24.71	0.009	0.00008	1627.86

도 26 은 사이노몰거스 원숭이에서 COVA801 및 COVA802 에 대한 플롯팅한 평균 혈청 농도 대 시간을 나타낸다.

도 26 에서, IL6R 또는 IL-17A ELISA 에 의해 측정된 바와 같은 평균 혈청 농도 +/- 표준 편차 (STDEV) 를 COVA801 및 COVA802 와 토실리주맙 (IL-6R ELISA) 에 대해 비교자로서 나타낸다.

도 27 은 사이노몰거스 원숭이에서 COVA803 및 COVA804 에 대한 플롯팅한 평균 혈청 농도 대 시간을 나타낸다.

도 27 에서, IL6R 또는 IL-17A ELISA 에 의해 측정된 바와 같은 평균 혈청 농도 +/- 표준 편차 (STDEV) 를 COVA803 및 COVA804 와 토실리주맙 (IL-6R ELISA) 에 대해 비교자로서 나타낸다.

도 28 은 사이노몰거스 원숭이에서 COVA806 에 대한 플롯팅한 평균 혈청 농도 대 시간을 나타낸다. 도 28 에서, IL6R 또는 IL-17A ELISA 에 의해 측정된 바와 같은 평균 혈청 농도 +/- 표준 편차 (STDEV) 를 COVA806 과 토실리주맙 (IL-6R ELISA) 에 대해 비교자로서 나타낸다.

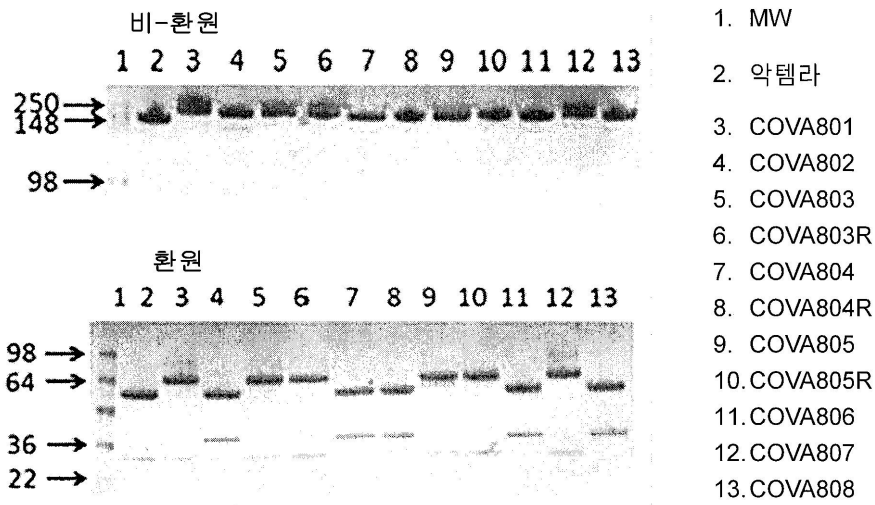
도 29 는 사이노몰거스 원숭이에서 COVA808 에 대한 플롯팅한 평균 혈청 농도 대 시간을 나타낸다. 도 29 에서, IL6R 또는 IL-17A ELISA 에 의해 측정된 바와 같은 평균 혈청 농도 +/- 표준 편차 (STDEV) 를 COVA808 과 토실리주맙 (IL-6R ELISA) 에 대해 비교자로서 나타낸다.

실시예의 요약

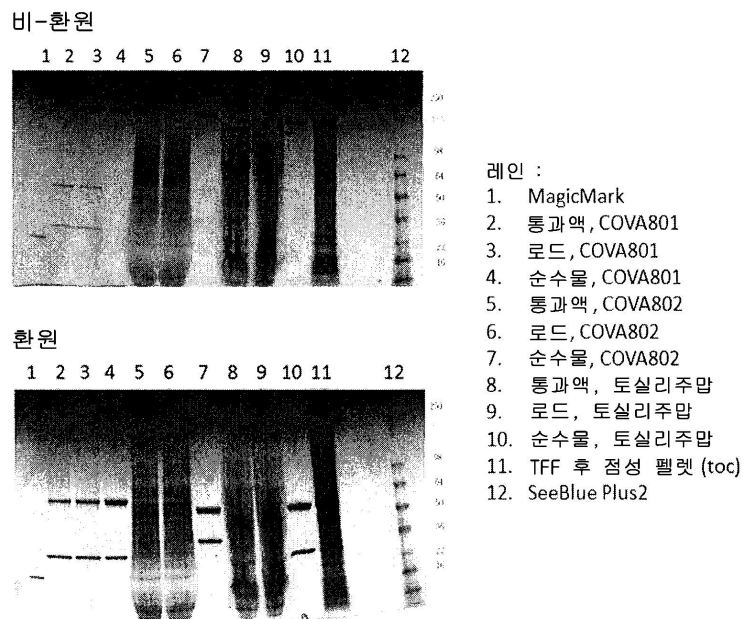
본원에 개시한 데이터는 모든 8 개의 FynomAb 가 IL-17A 및 IL-6R 둘 모두에 결합하고 기능적으로 차단할 수 있다는 것을 나타낸다. 모든 8 개의 구축물은 IL-17A 및 IL-6R 에 대해 매우 유사한 친화성을 가졌으며 세포 기반 검정에서 유사한 기능적 활성을 가졌고, 경쇄 fynomer 융합물 (COVA802, COVA804, COVA806 및 COVA808 로 나타낸 FynomAb) 은 보다 양호한 SEC 프로파일을 가졌고 응집하는 경향이 적었다.

도면

도면1



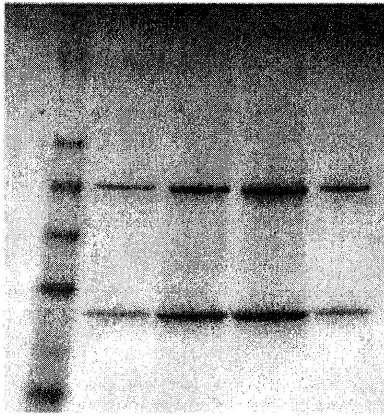
도면2a



도면2b

환원

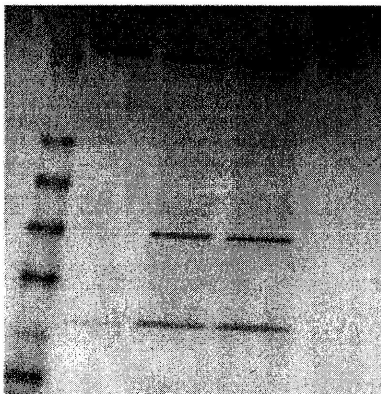
1 2 3 4 5



레인 :

1. SeeBlue Plus2
2. 컬럼 세척액, COVA805
3. 통과액, COVA805
4. 로드, COVA805
5. 순수물 COVA805

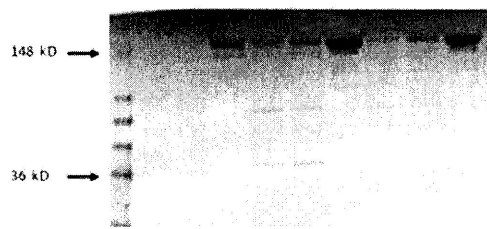
비-환원



도면2c

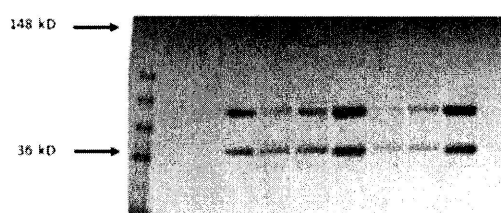
비-환원 :

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10



환원 :

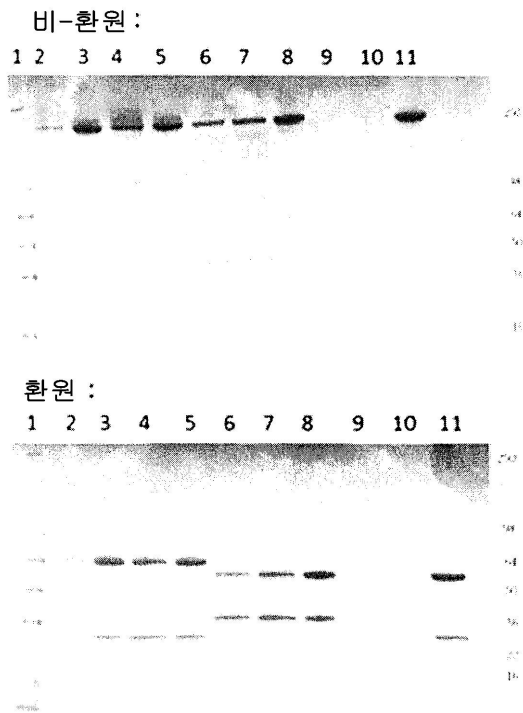
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10



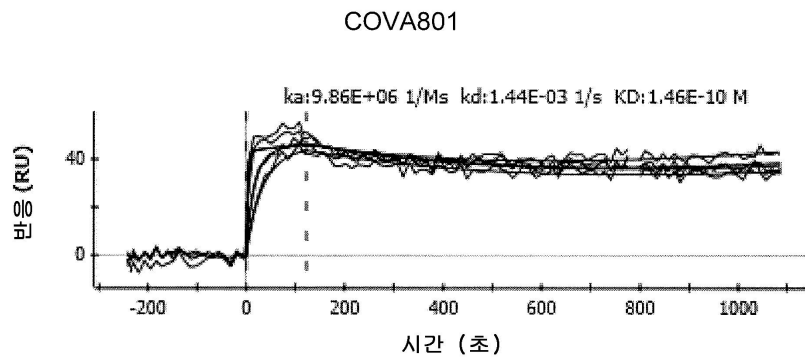
레인 :

1. MWM
2. 로드, COVA802
3. 통과액, COVA802
4. 순수물 COVA802
5. 로드, COVA804
6. 통과액, COVA804
7. 순수물 COVA804
8. 로드, COVA808
9. 통과액, COVA808
10. 순수물 COVA808

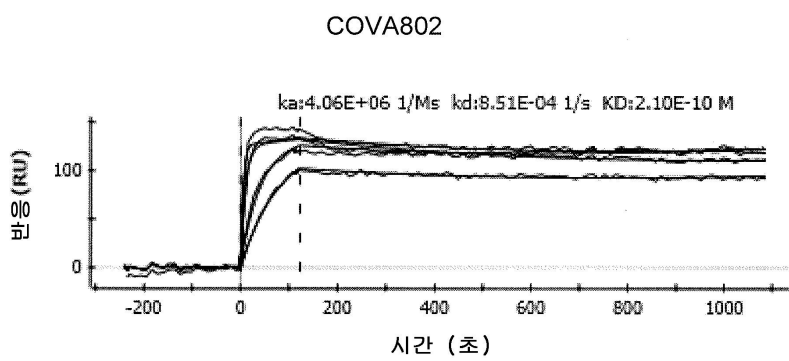
도면2d



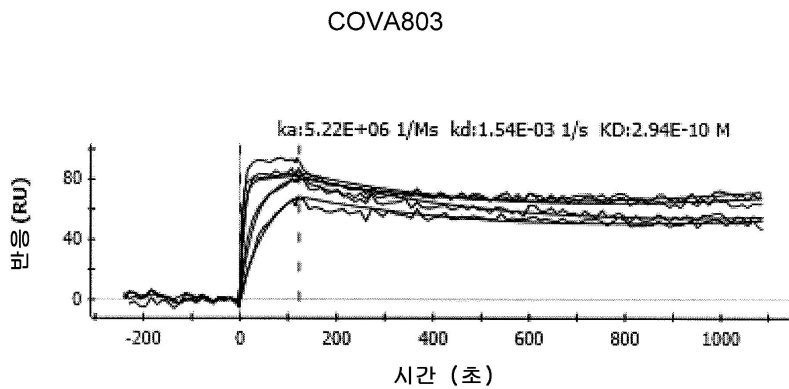
도면4a



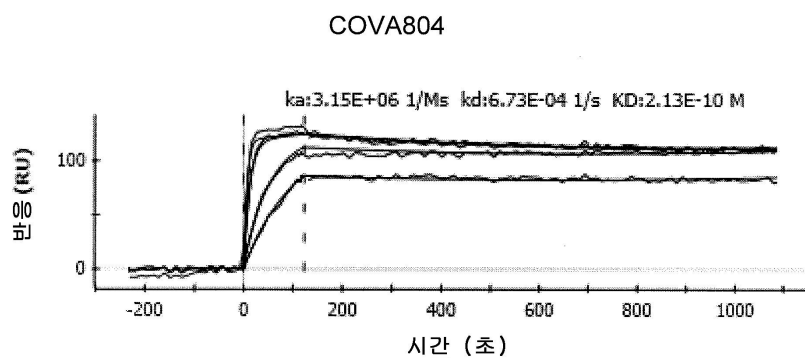
도면4b



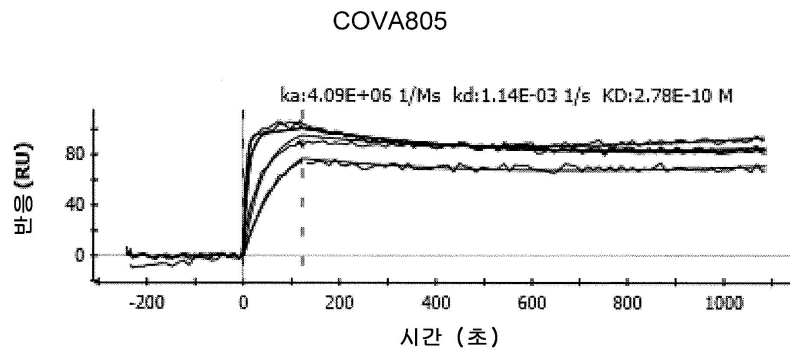
도면4c



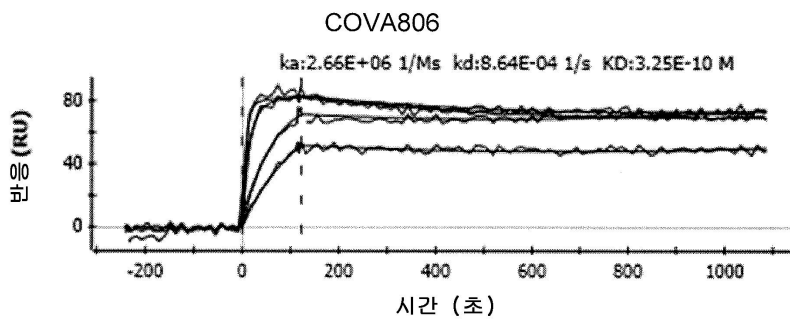
도면4d



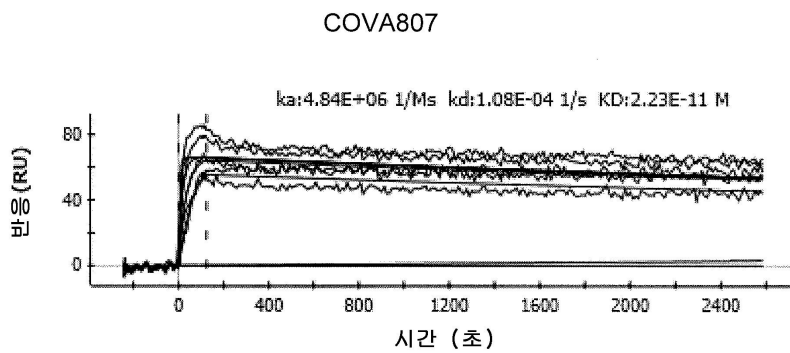
도면4e



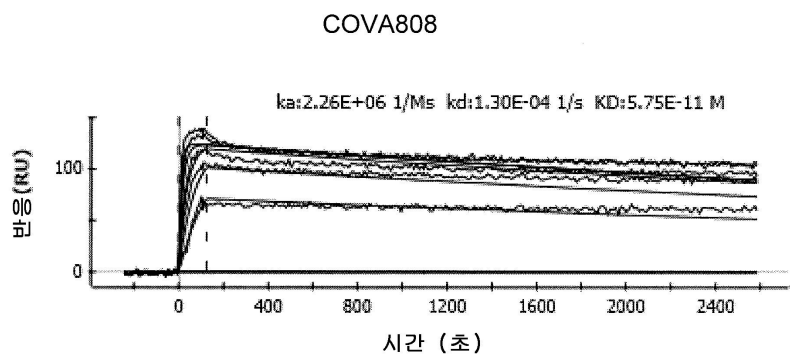
도면4f



도면4g

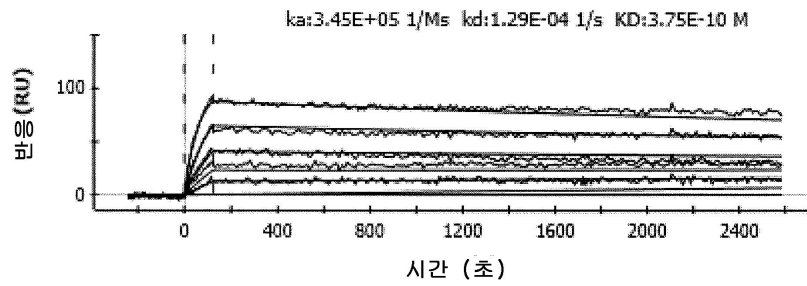


도면4h



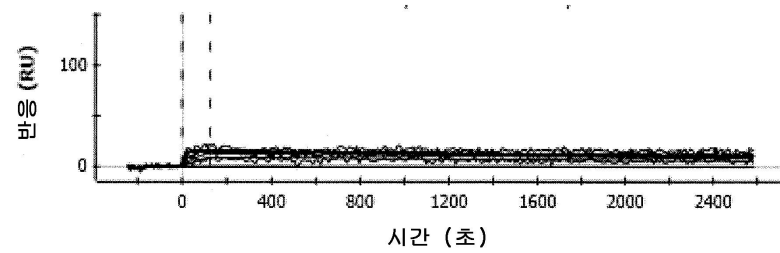
도면4i

세쿠키누말



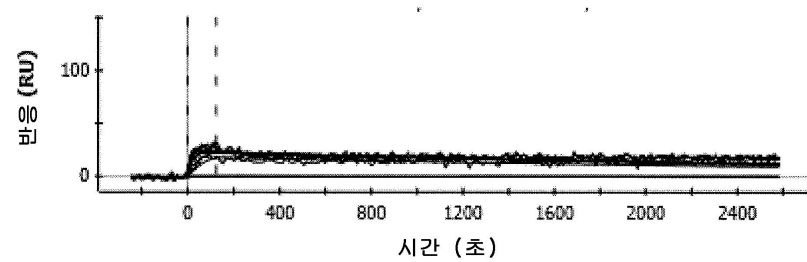
도면4j

악템라 (음성 대조군)



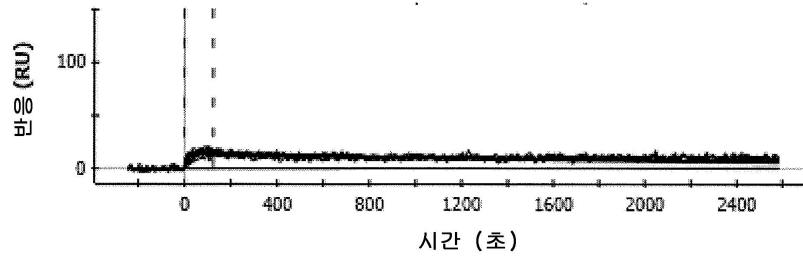
도면4k

토실리주말 (음성 대조군, TRL 롯데)

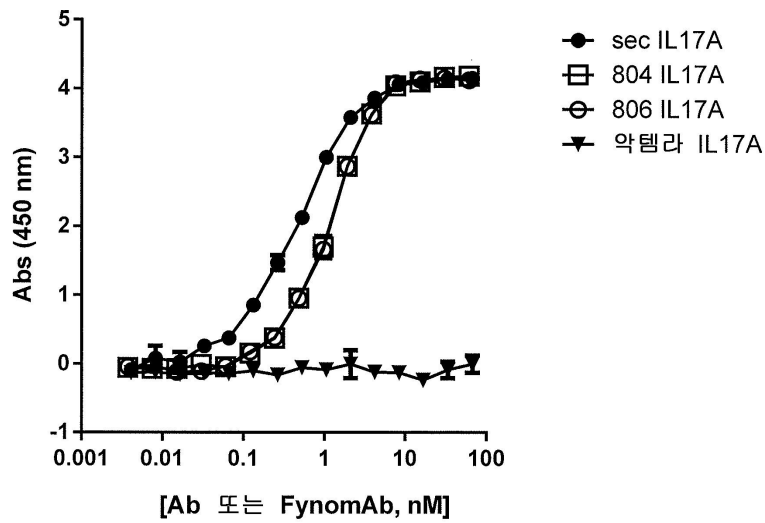


도면41

토실리주맙 (음성 대조군)

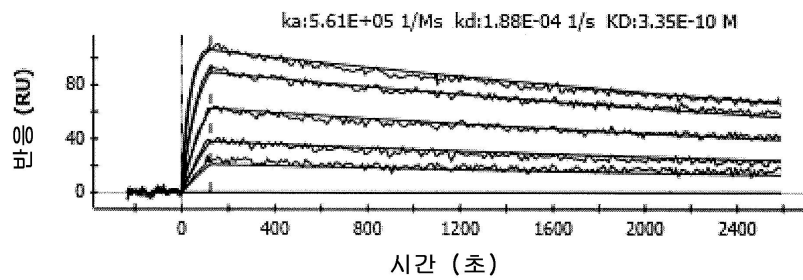


도면5

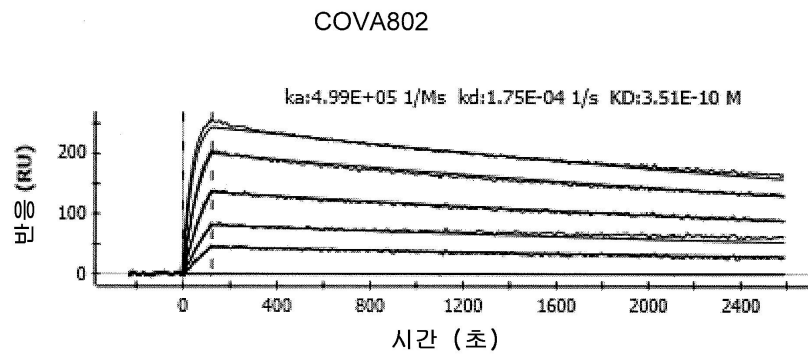


도면6a

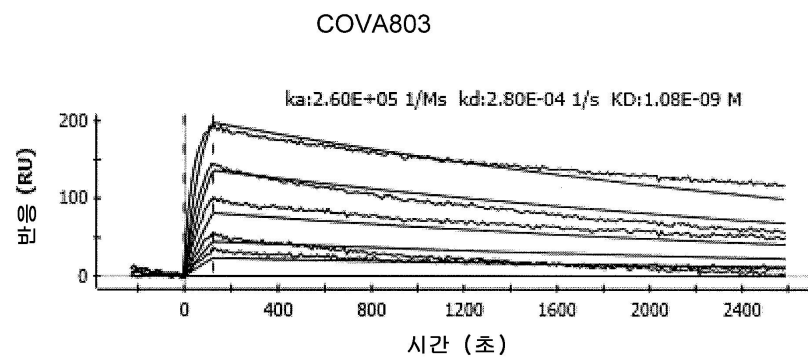
COVA801



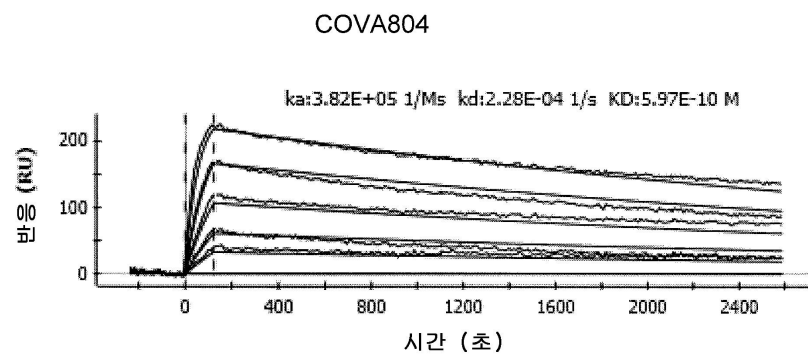
도면6b



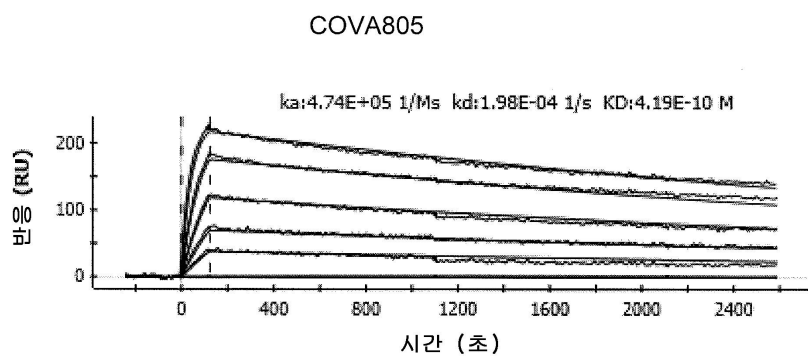
도면6c



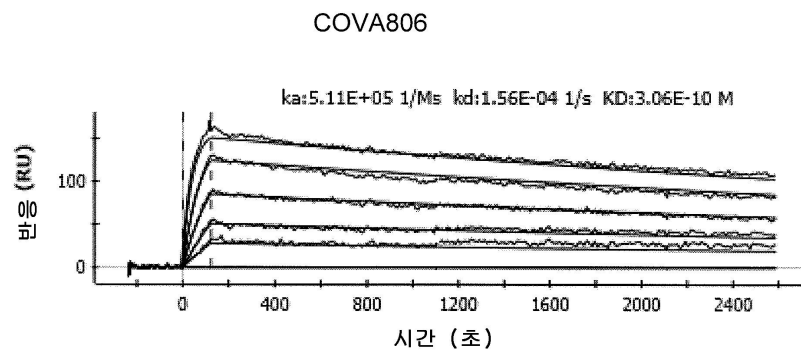
도면6d



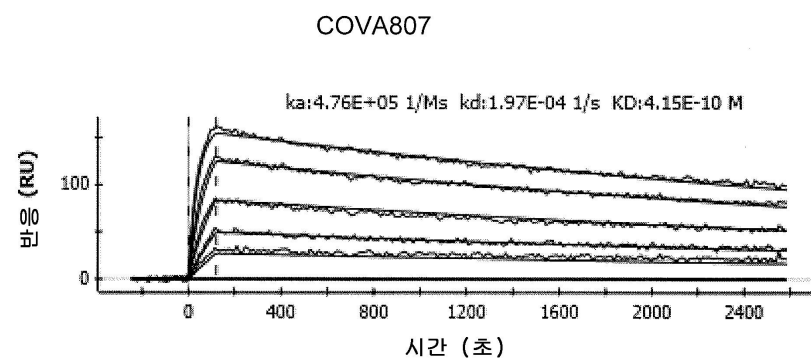
도면6e



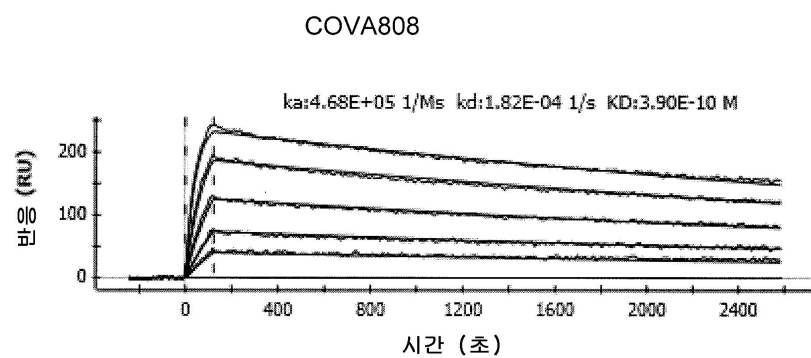
도면6f



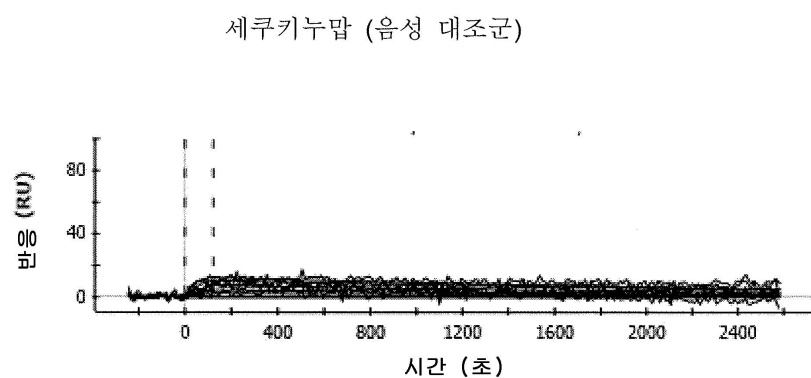
도면6g



도면6h

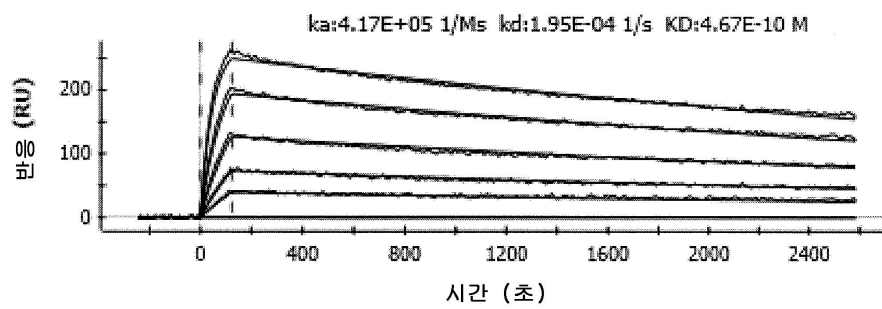


도면6i



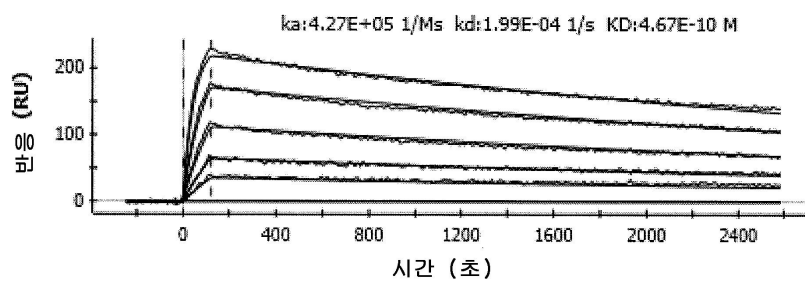
도면6j

악템라



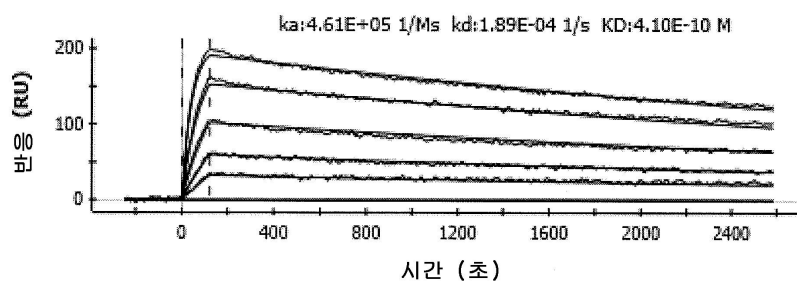
도면6k

토실리주맵 (TRL 롯데, 양성 대조군)

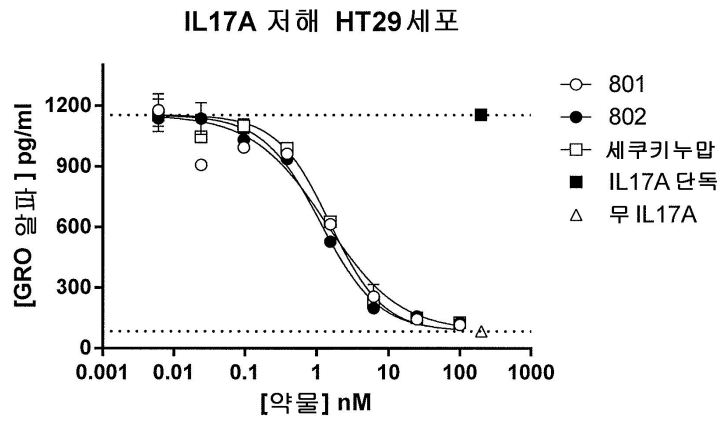


도면6l

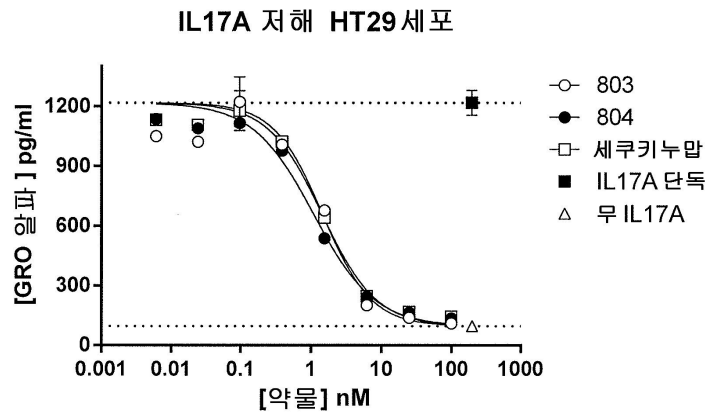
토실리주맵 (양성 대조군)



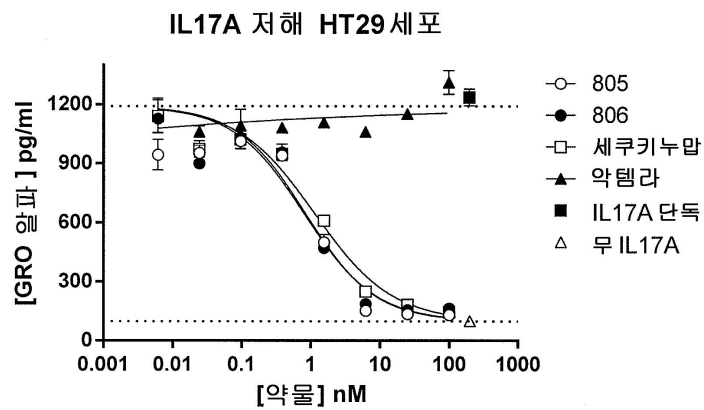
도면7a



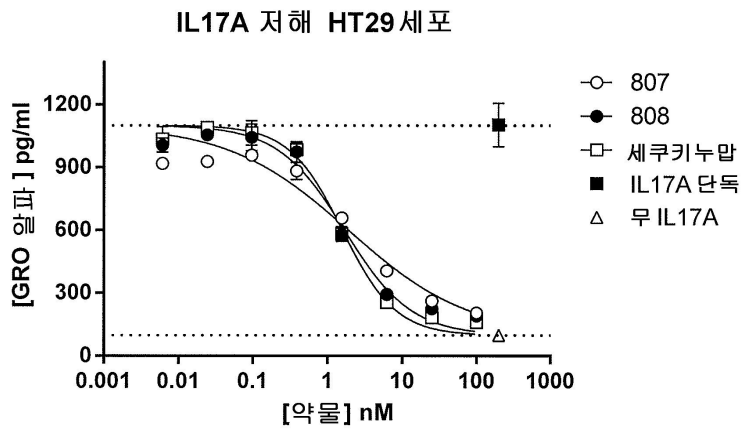
도면7b



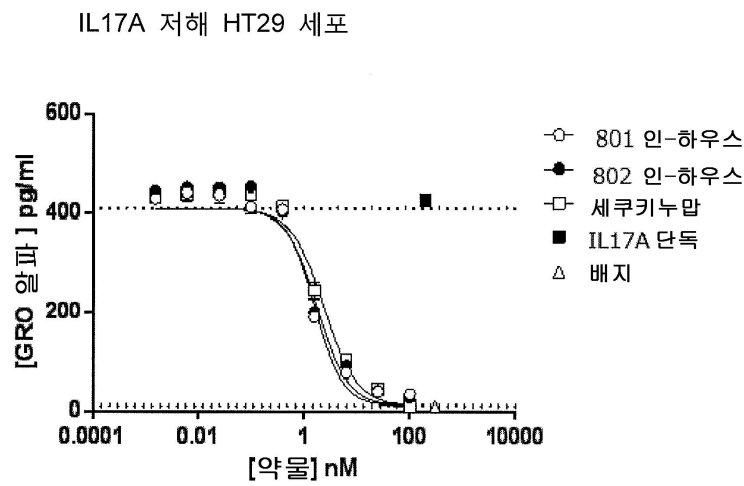
도면7c



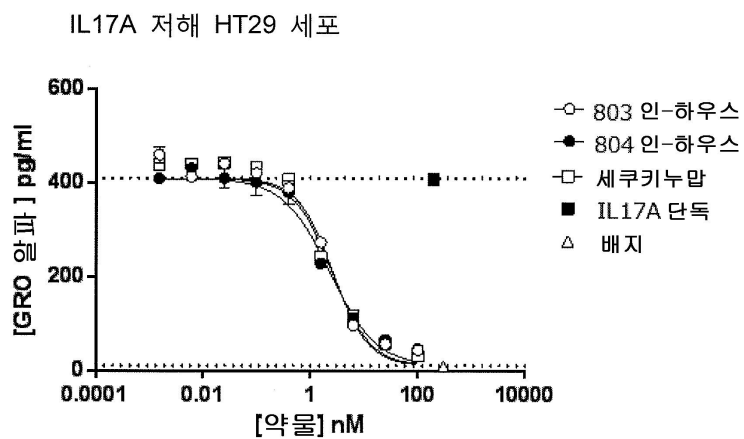
도면7d



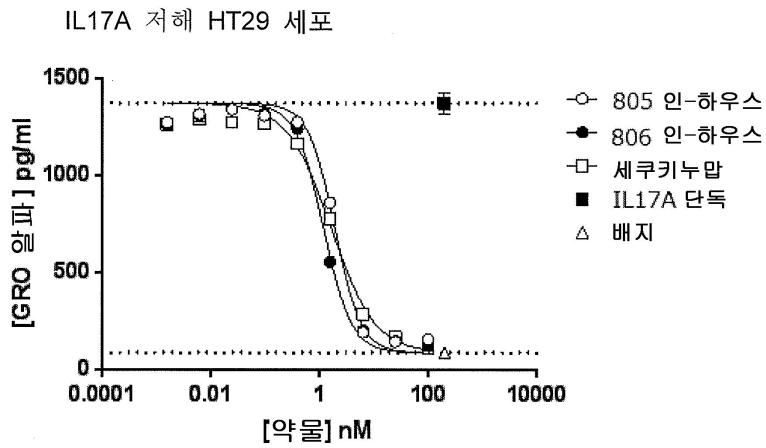
도면8a



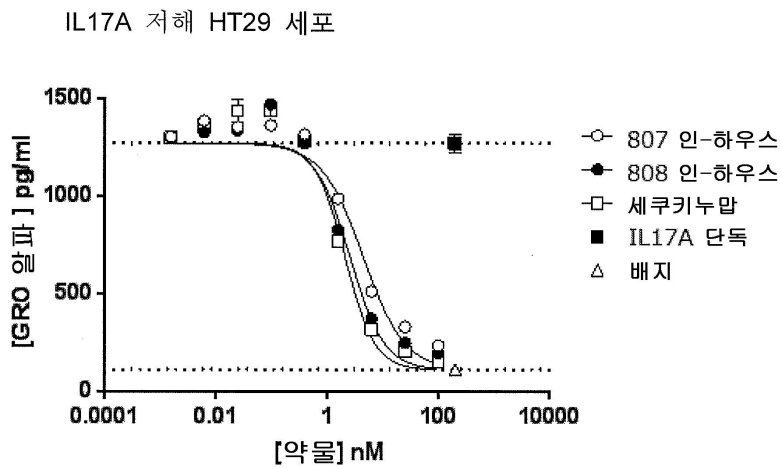
도면8b



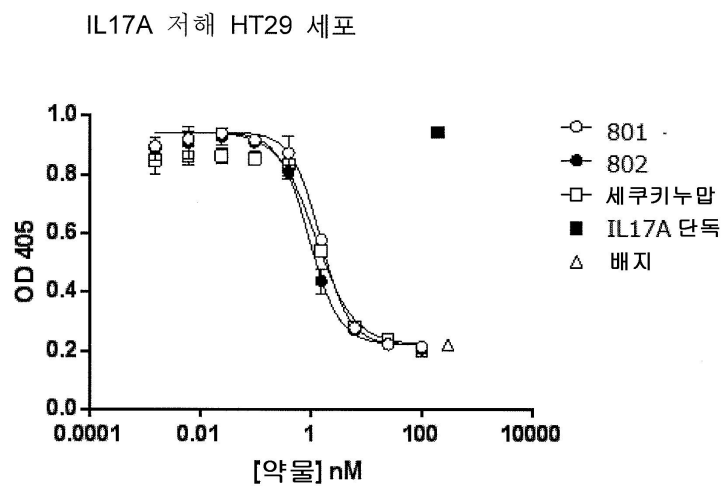
도면8c



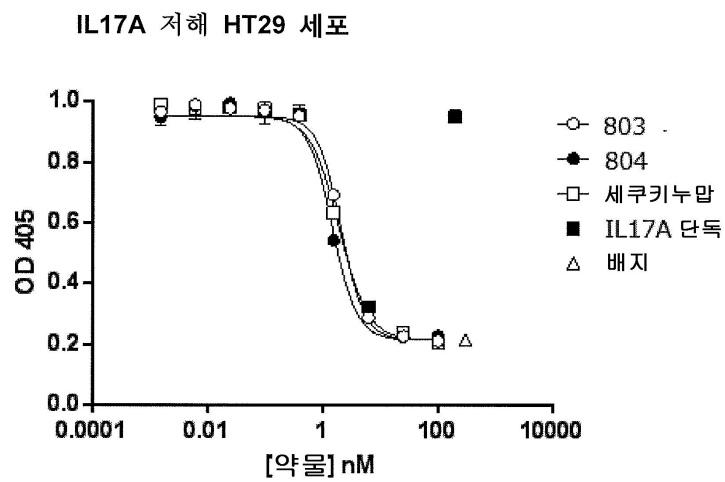
도면8d



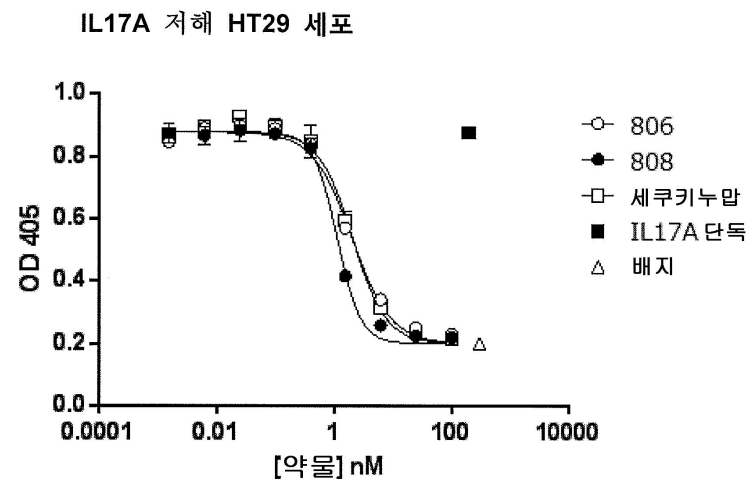
도면9a



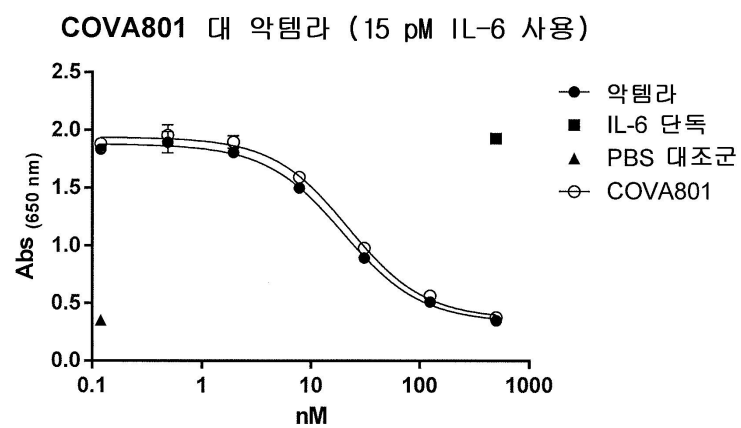
도면9b



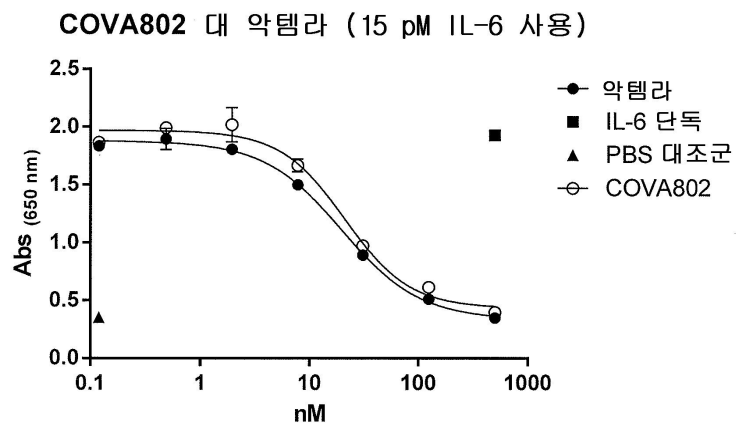
도면9c



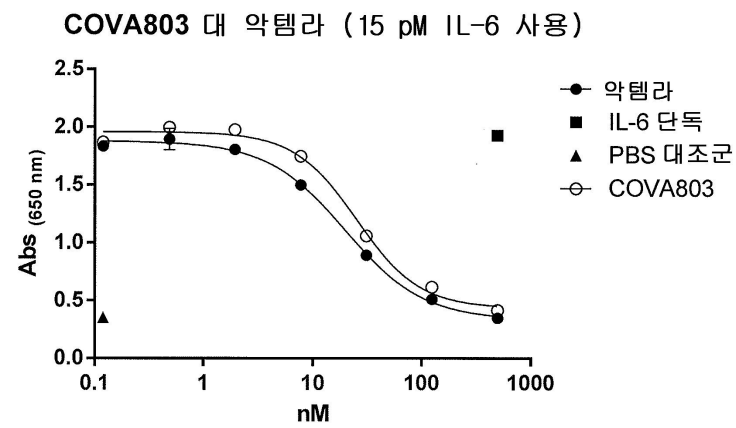
도면10a



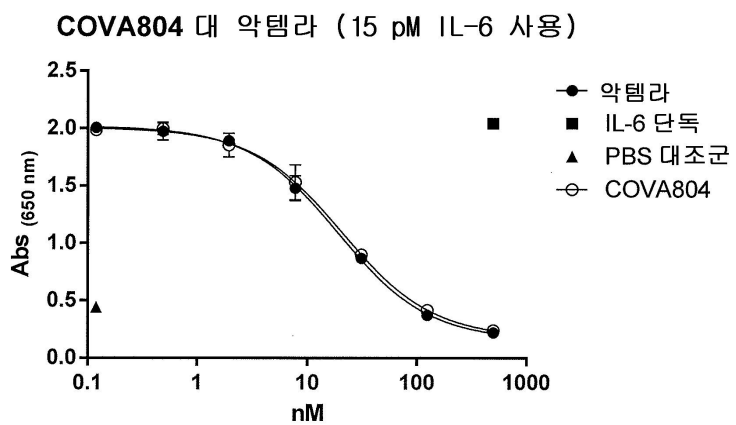
도면10b



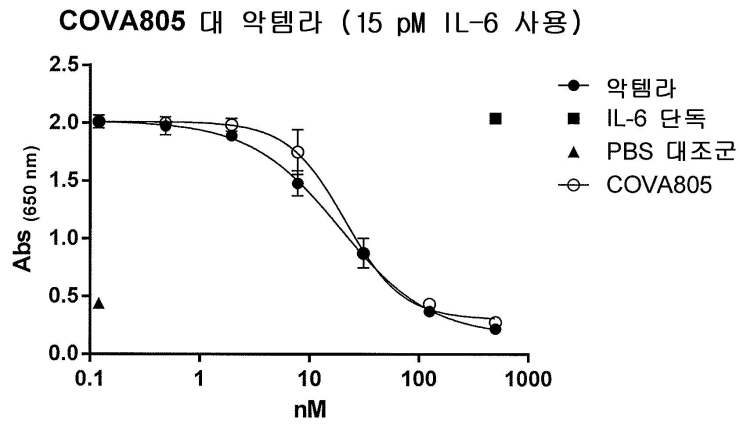
도면10c



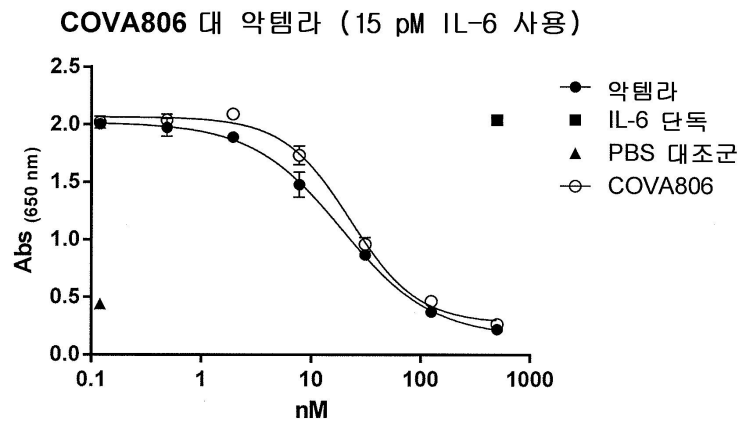
도면10d



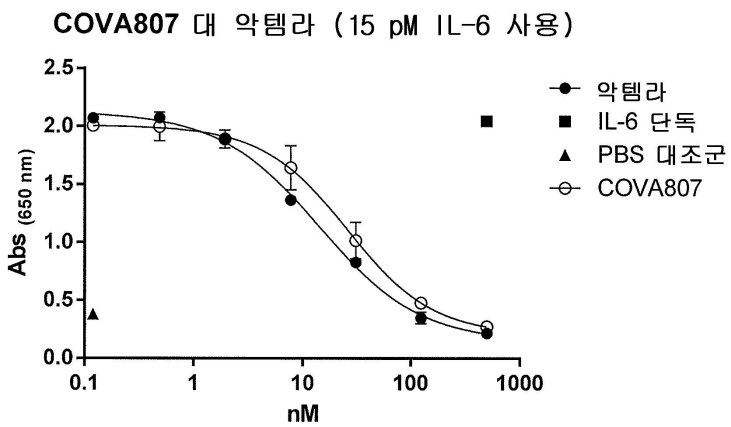
도면10e



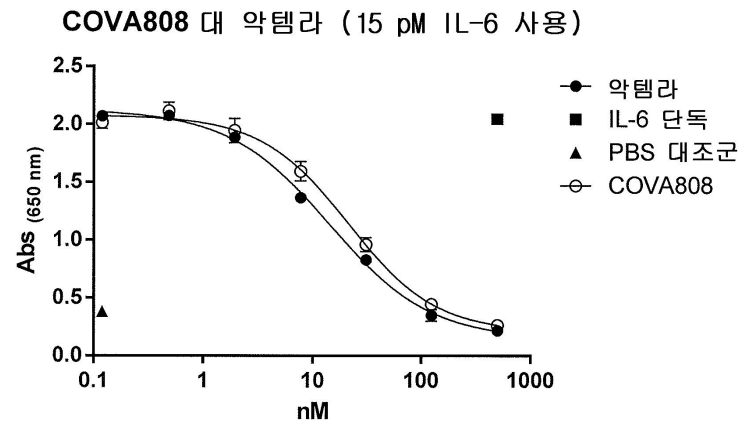
도면10f



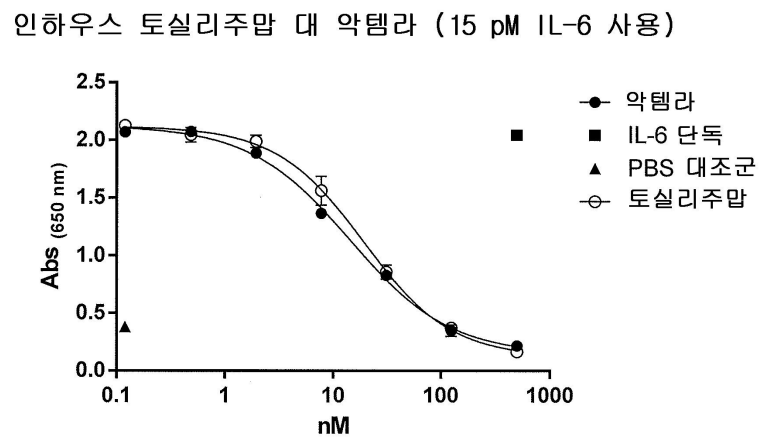
도면10g



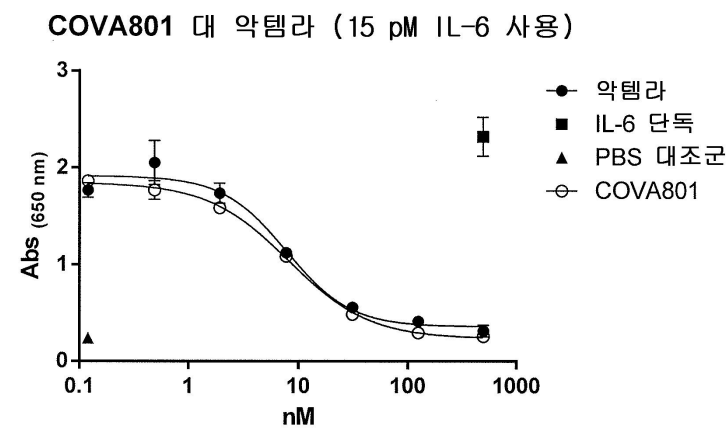
도면10h



도면10i

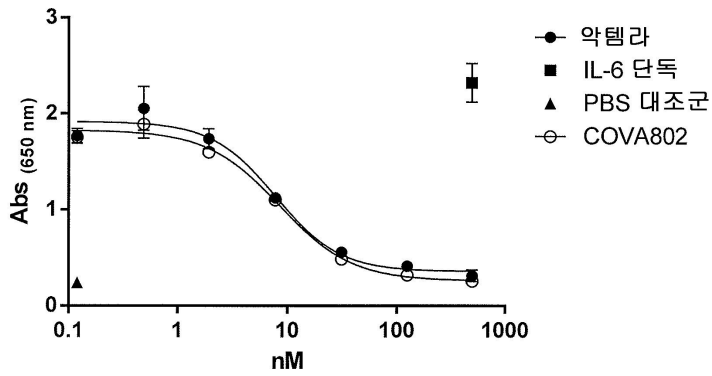


도면11a



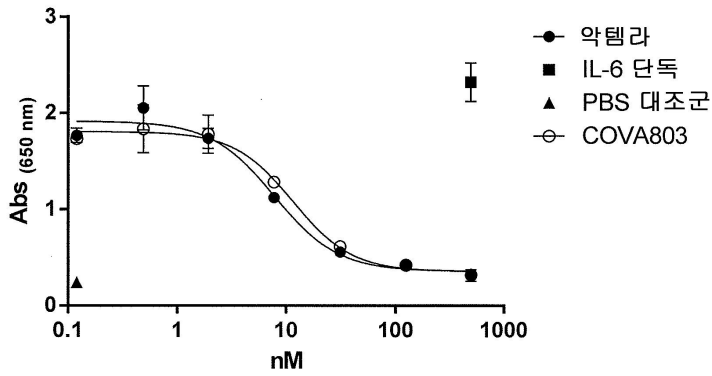
도면11b

COVA802 대 약템라 (15 pM IL-6 사용)



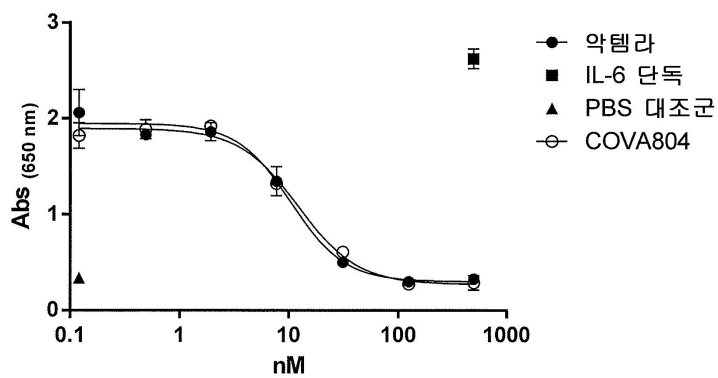
도면11c

COVA803 대 약템라 (15 pM IL-6 사용)



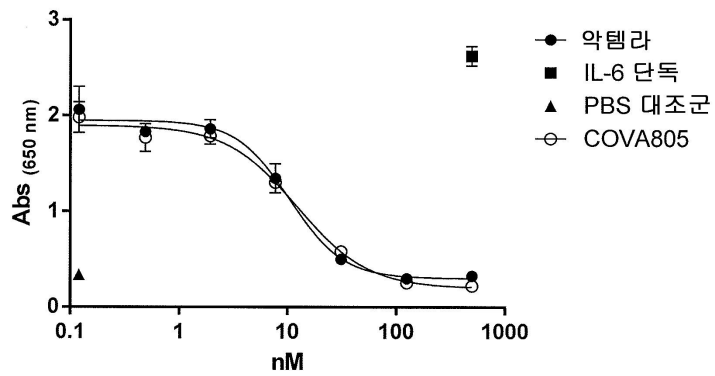
도면11d

COVA804 대 약템라 (15 pM IL-6 사용)



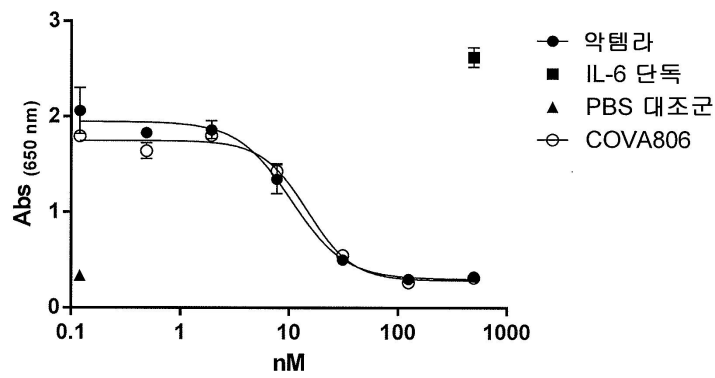
도면11e

COVA805 대 약템라 (15 pM IL-6 사용)



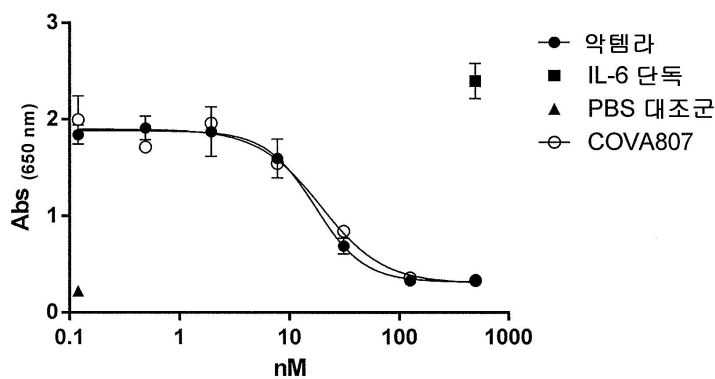
도면11f

COVA806 대 약템라 (15 pM IL-6 사용)



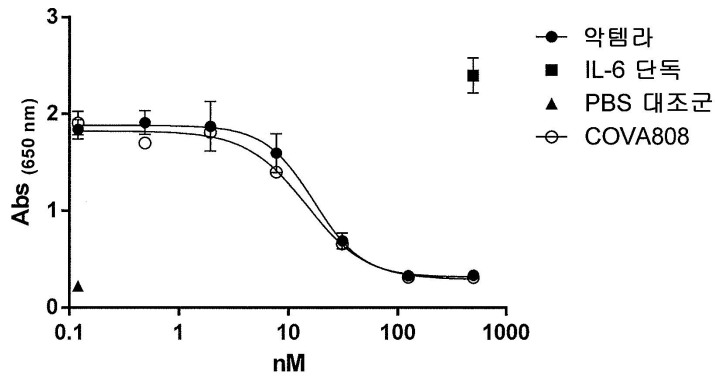
도면11g

COVA807 대 약템라 (15 pM IL-6 사용)



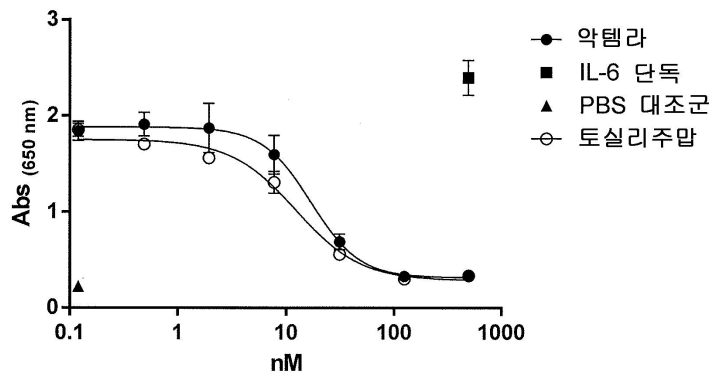
도면11h

COVA808 대 약템라 (15 pM IL-6 사용)

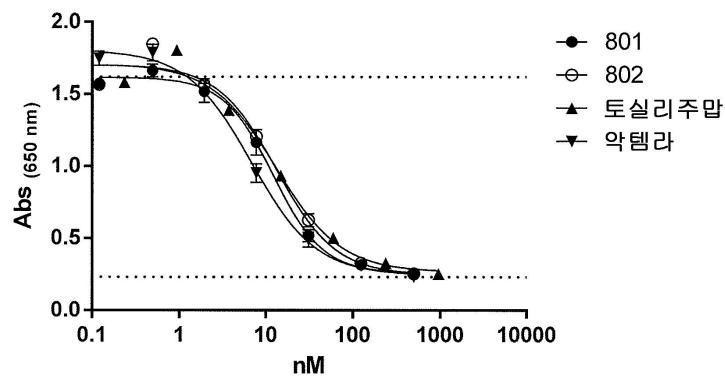


도면11i

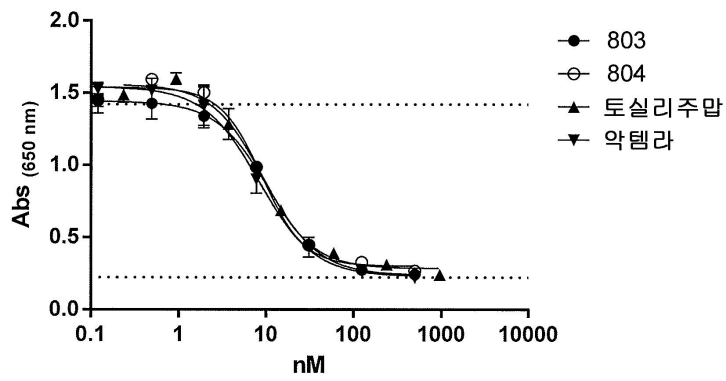
인하우스 토실리주맵 대 약템라 (15 pM IL-6 사용)



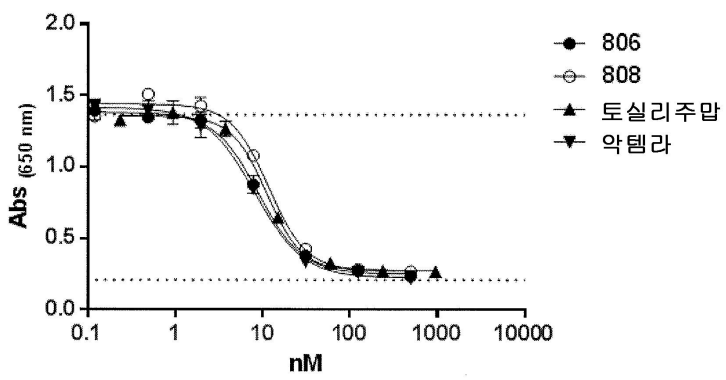
도면12a



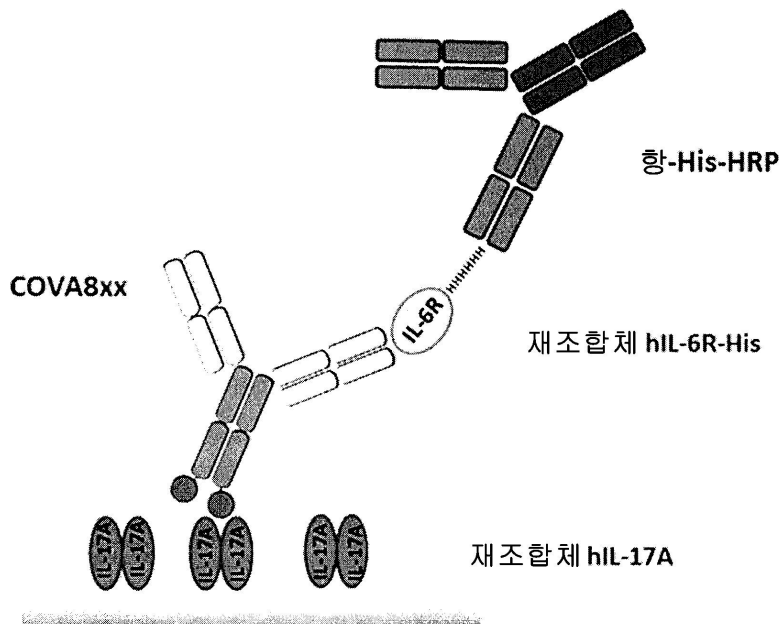
도면12b



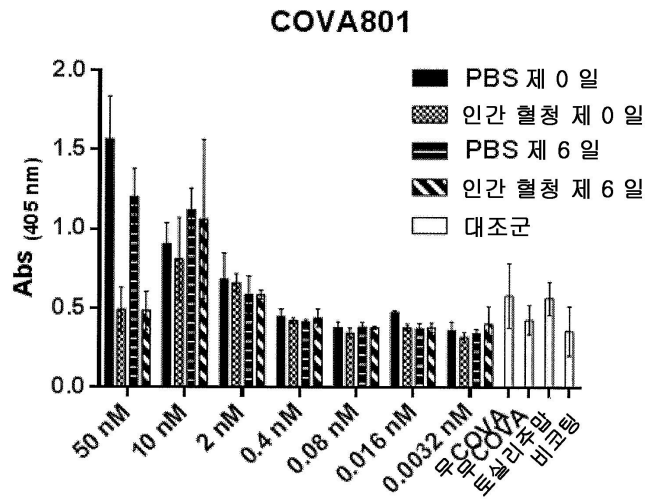
도면12c



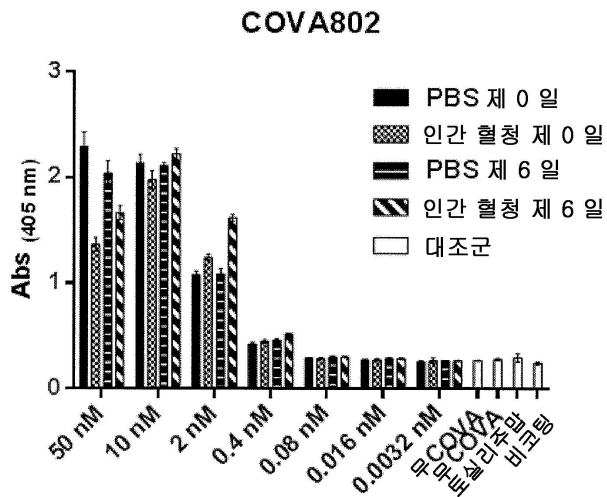
도면13



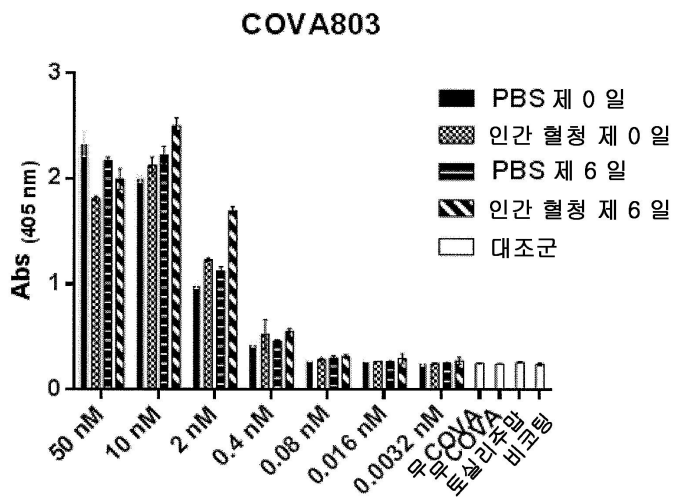
도면14a



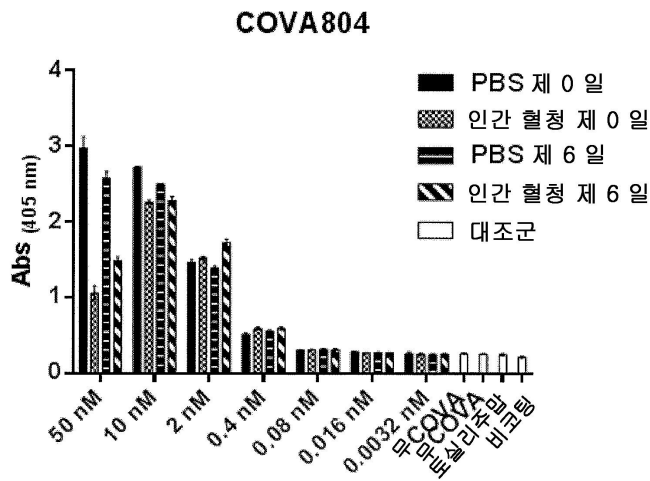
도면14b



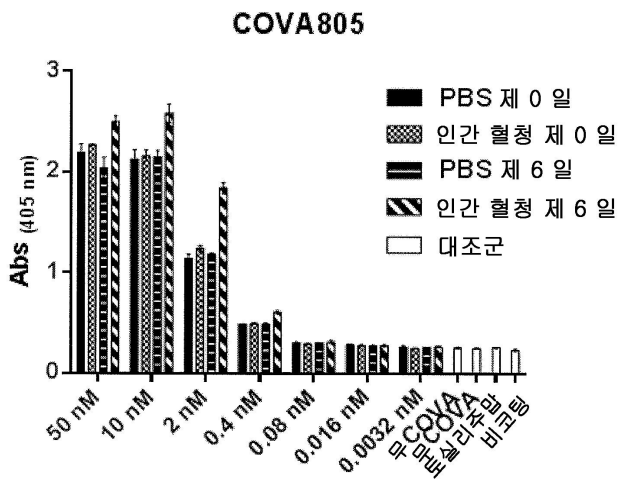
도면14c



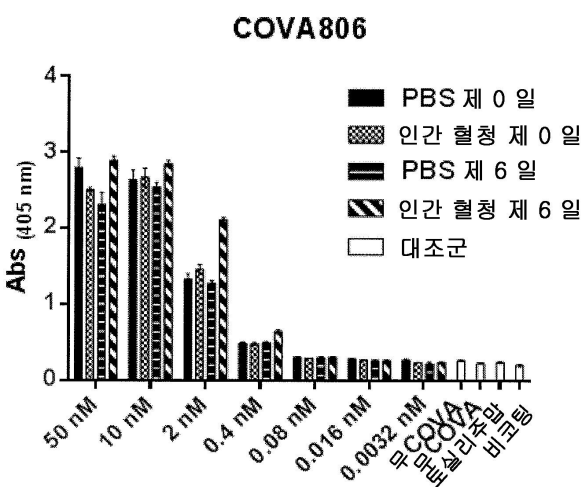
도면14d



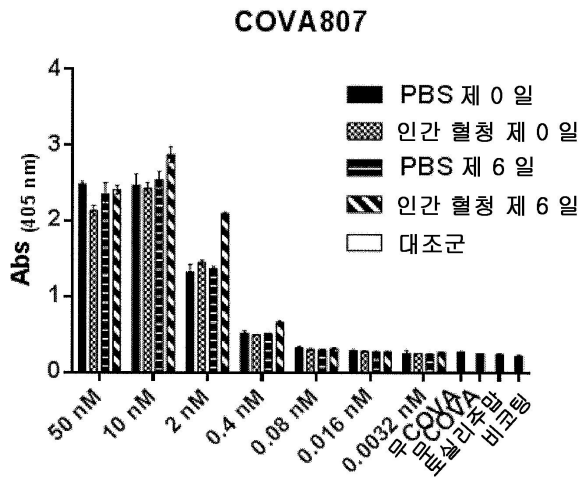
도면14e



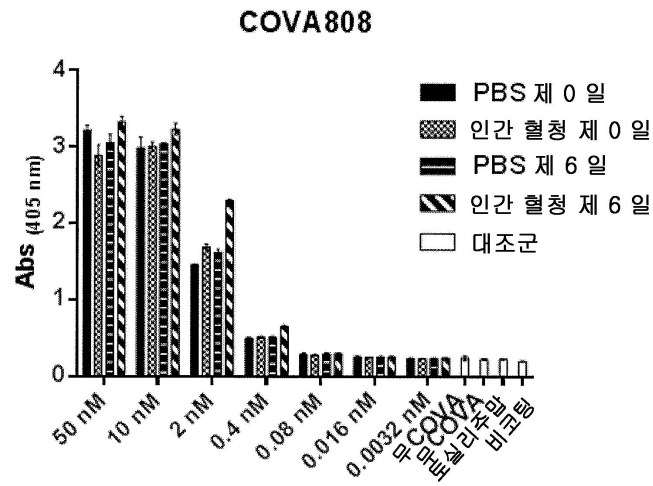
도면14f



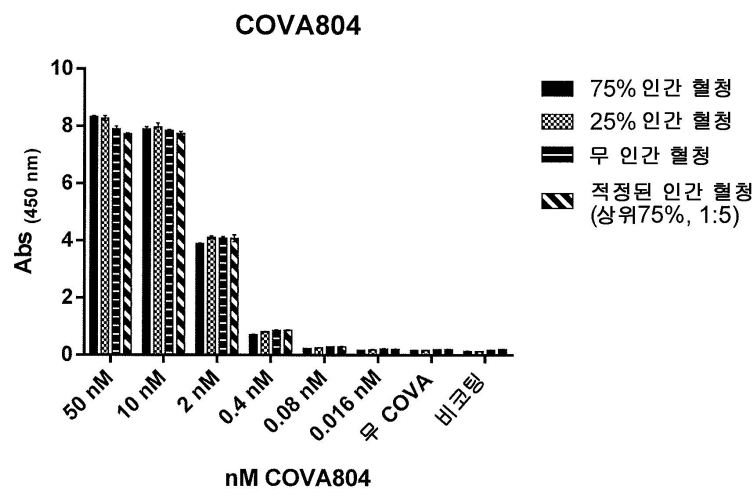
도면14g



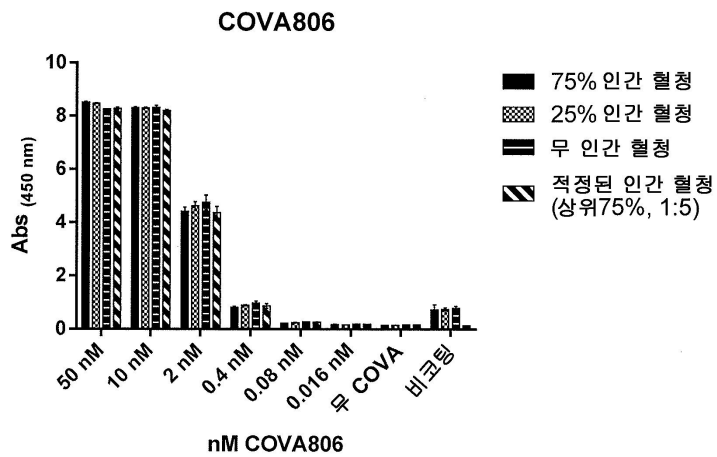
도면14h



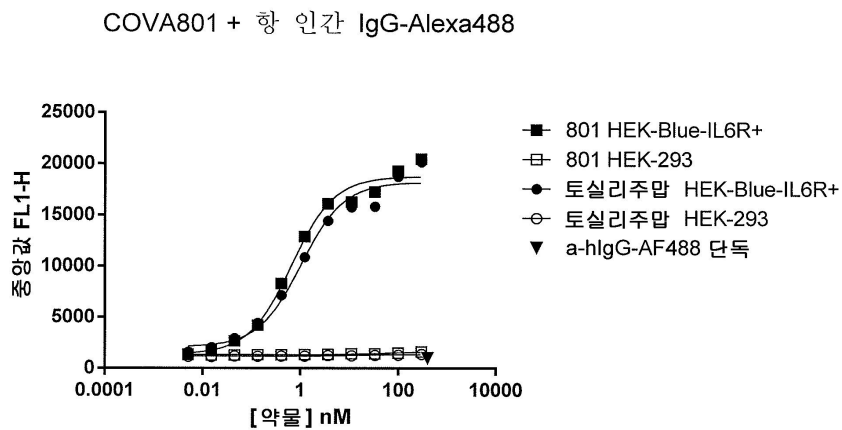
도면15a



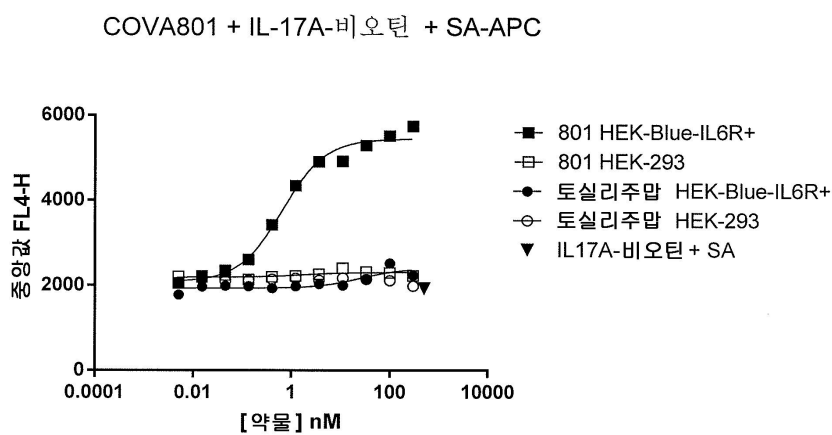
도면15b



도면16a

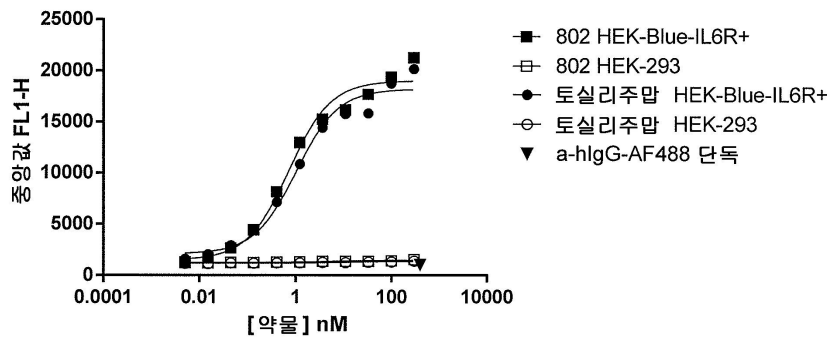


도면16b



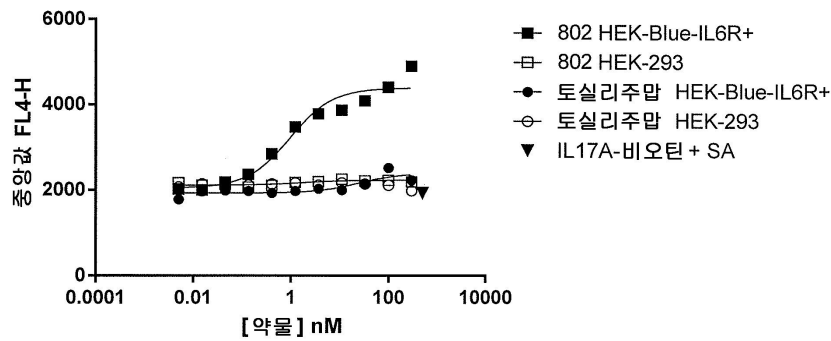
도면16c

COVA802 + 항 인간 IgG-Alexa488



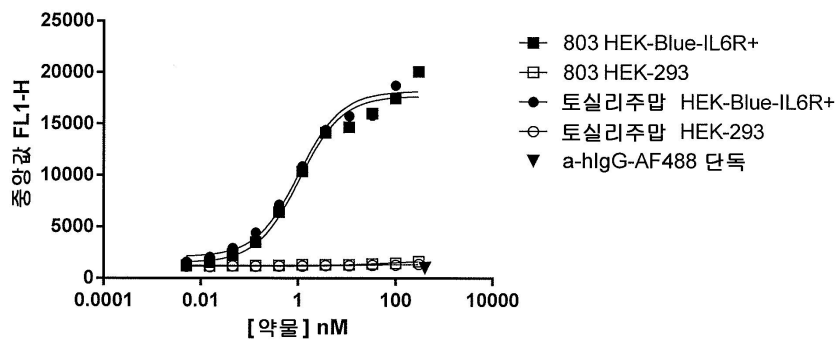
도면16d

COVA802 + IL-17A-비오틴 + SA-APC



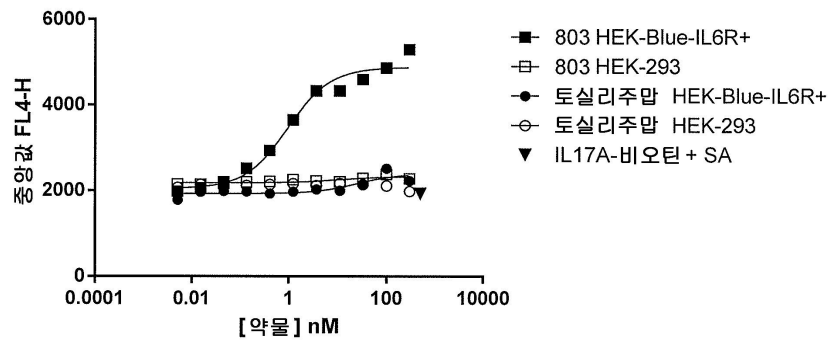
도면16e

COVA803 + 항 인간 IgG-Alexa488



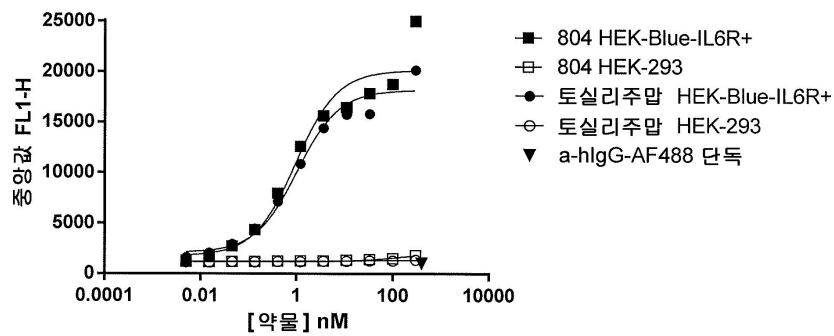
도면16f

COVA803 + IL-17A-비오틴 + SA-APC



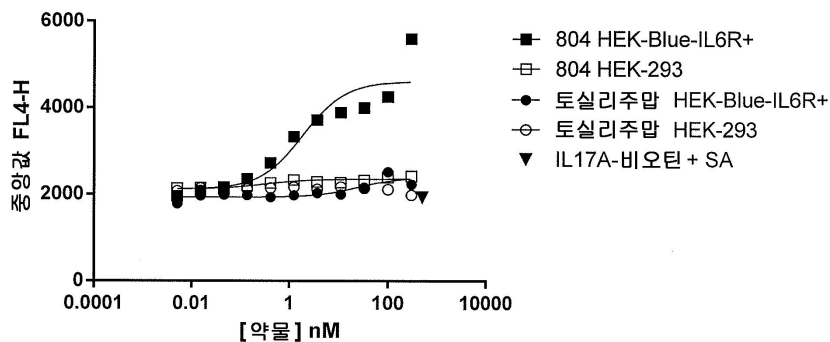
도면16g

COVA804 + 항 인간 IgG-Alexa488



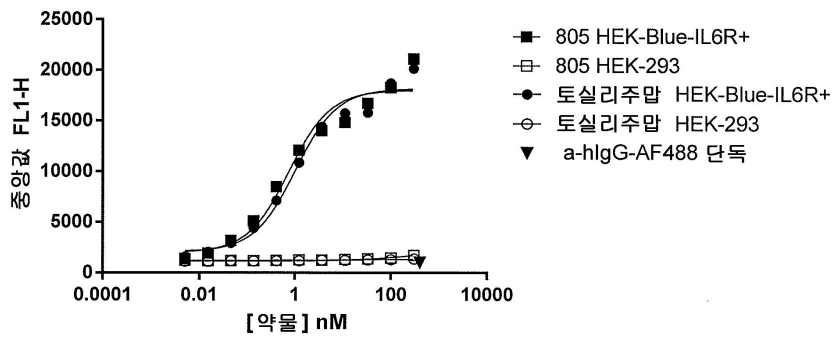
도면16h

COVA804 + IL-17A-비오틴 + SA-APC



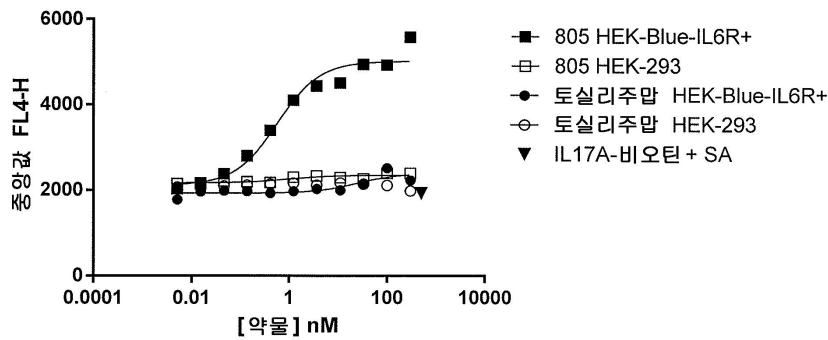
도면16i

COVA805 + 항 인간 IgG-Alexa488



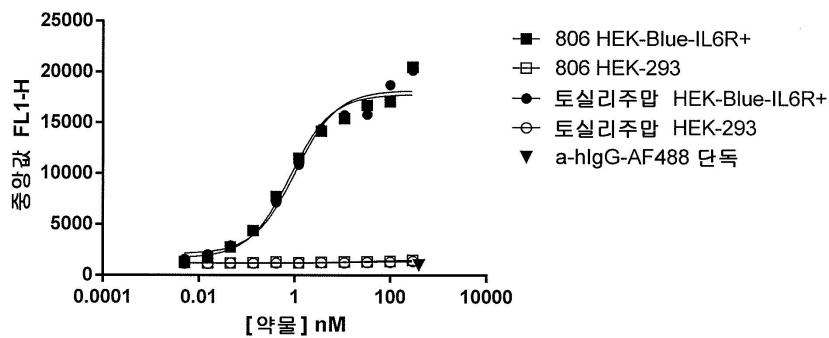
도면16j

COVA805 + IL-17A-비오틴 + SA-APC



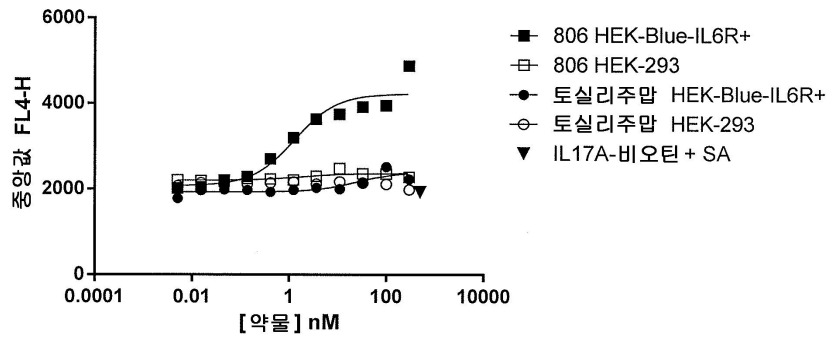
도면16k

COVA806 + 항 인간 IgG-Alexa488



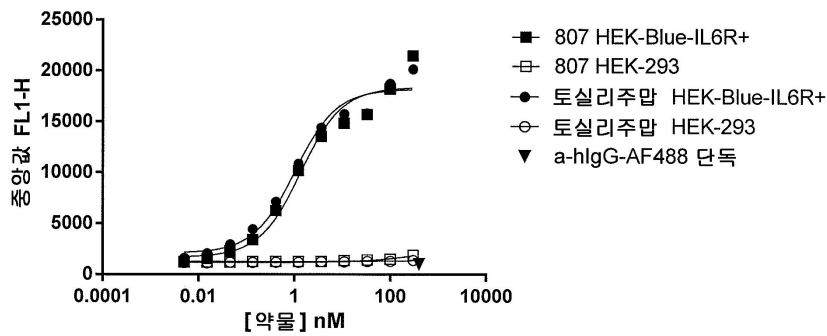
도면16l

COVA806 + IL-17A-비오틴 + SA-APC



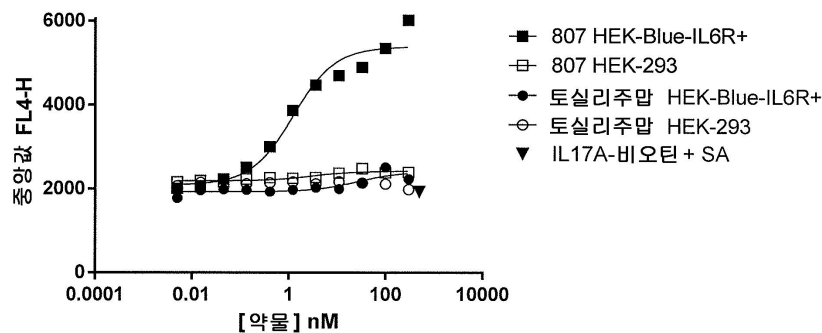
도면16m

COVA807 + 항 인간 IgG-Alexa488



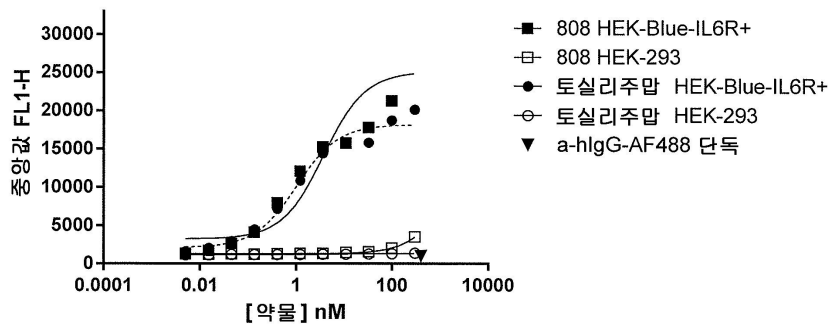
도면16n

COVA807 + IL-17A-비오틴 + SA-APC



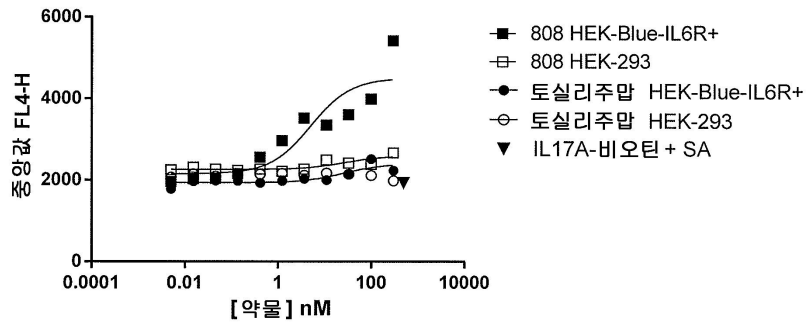
도면16o

COVA808 + 항 인간 IgG-Alexa488



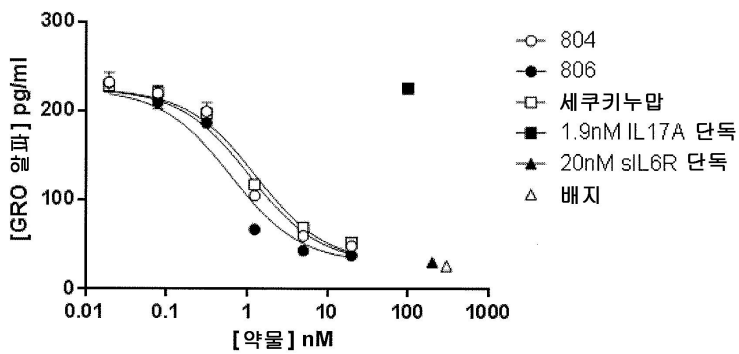
도면16p

COVA808 + IL-17A-비오틴 + SA-APC

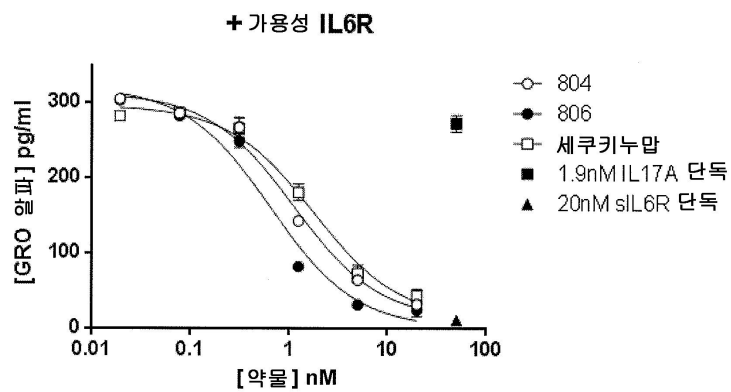


도면17a

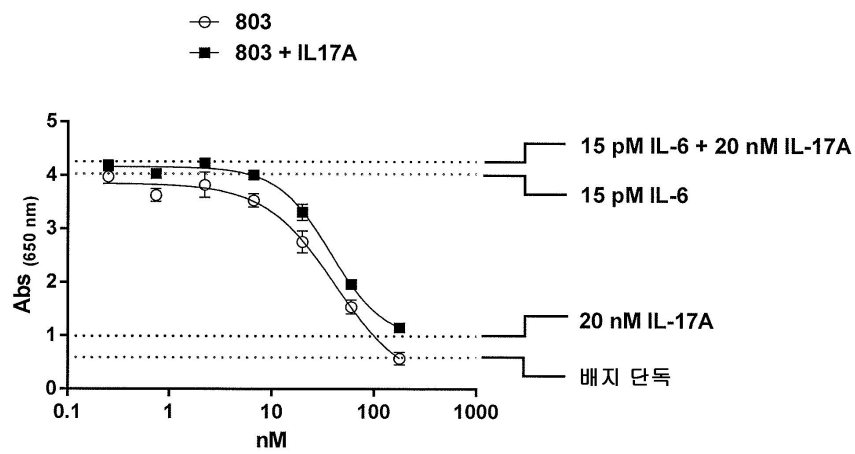
- 가용성 IL6R



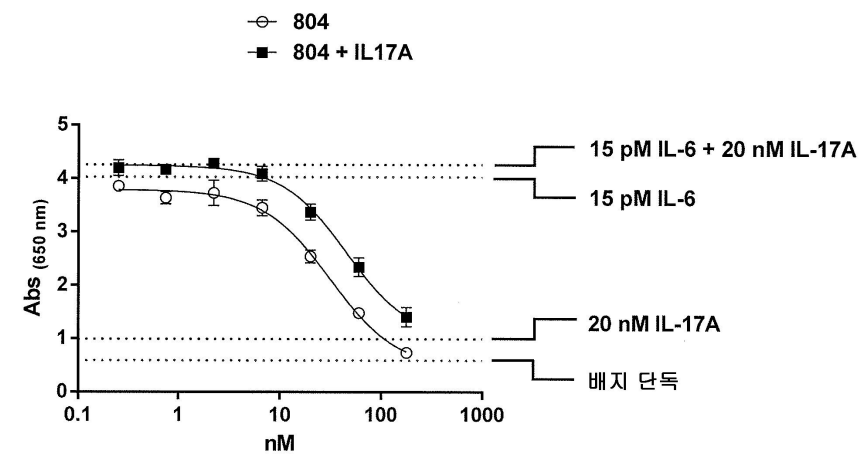
도면17b



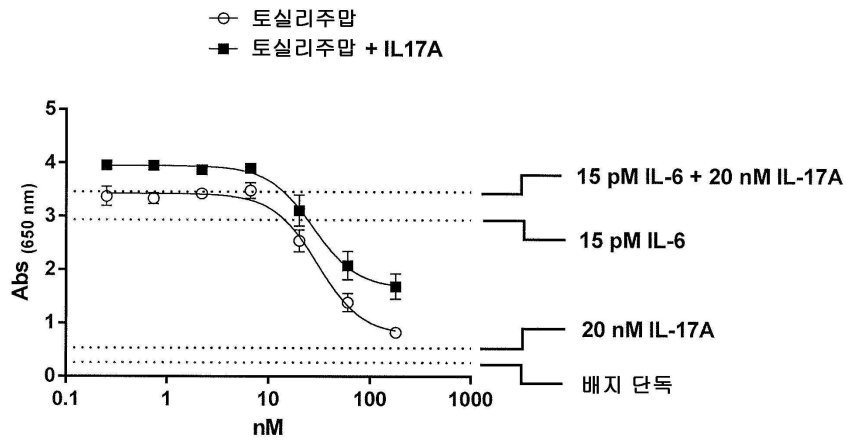
도면18a



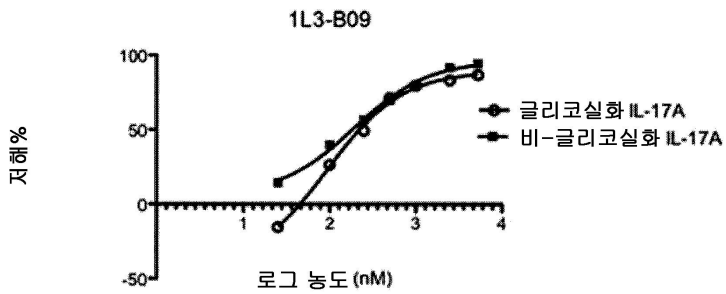
도면18b



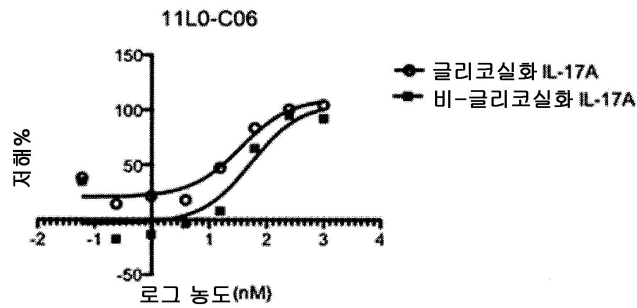
도면18c



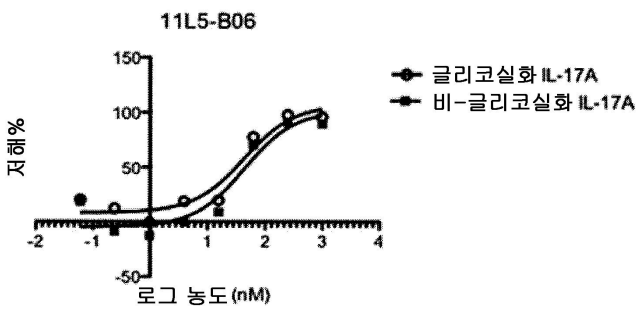
도면19a



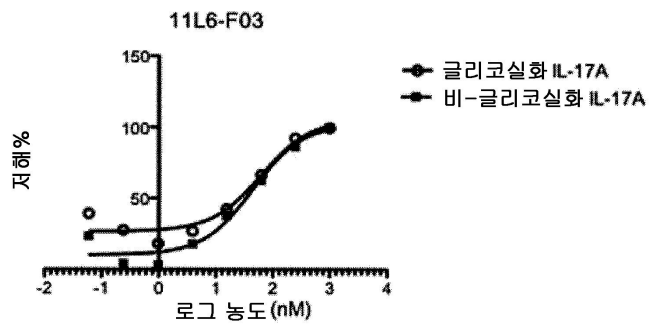
도면19b



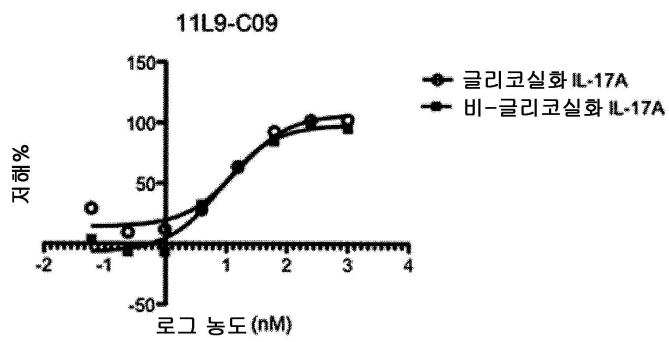
도면19c



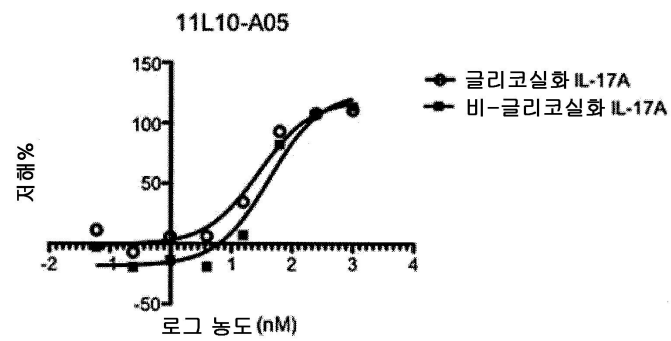
도면19d



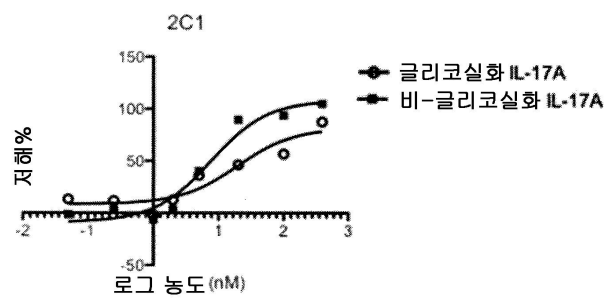
도면19e



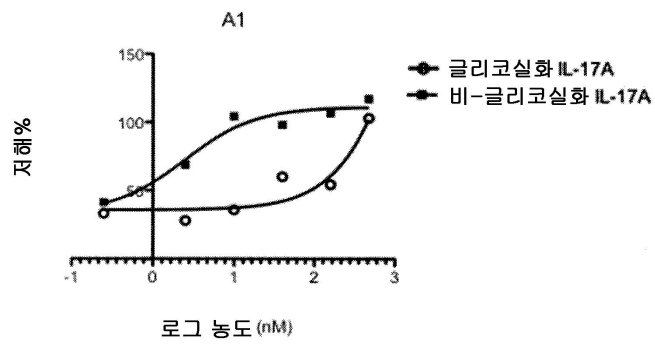
도면19f



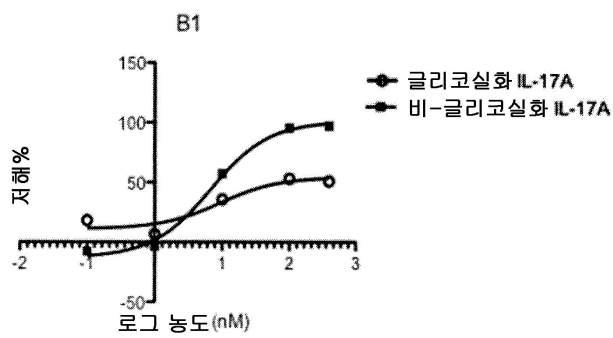
도면20a



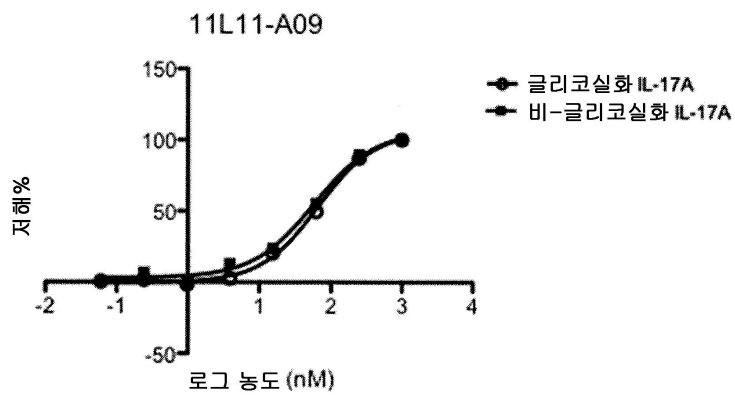
도면20b



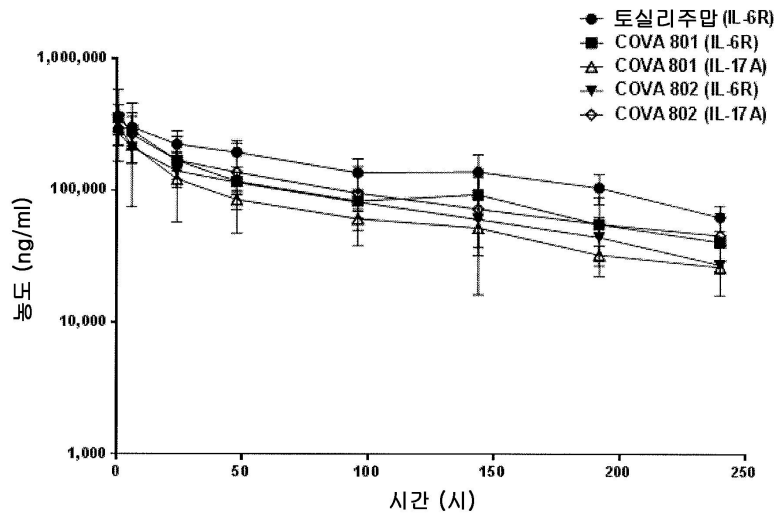
도면20c



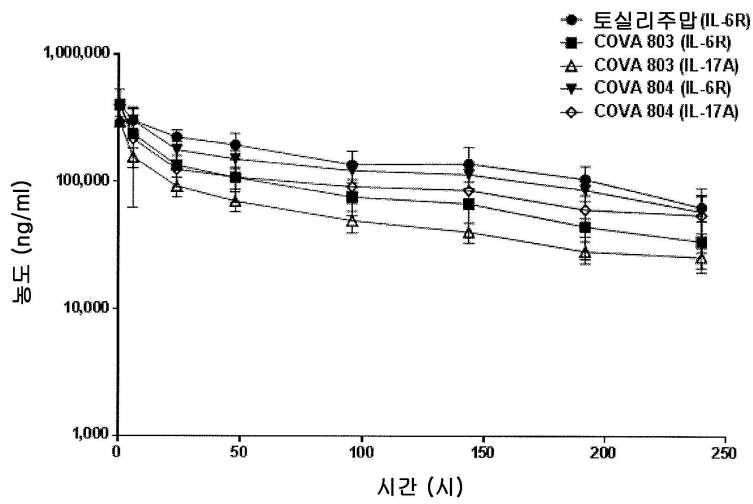
도면21



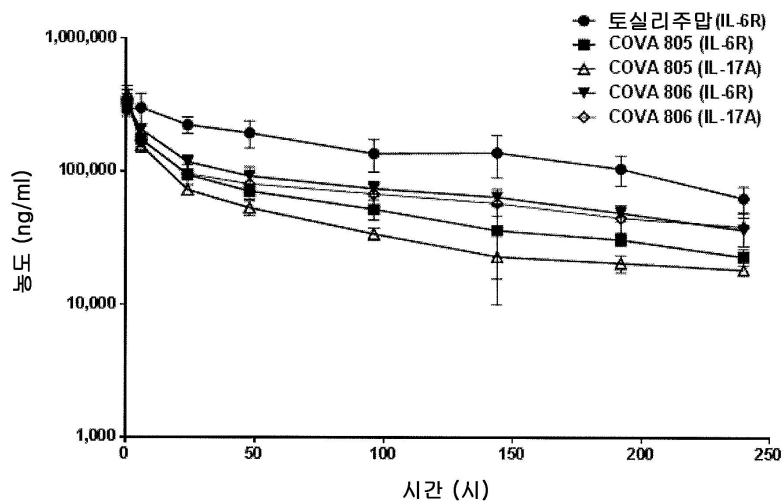
도면22



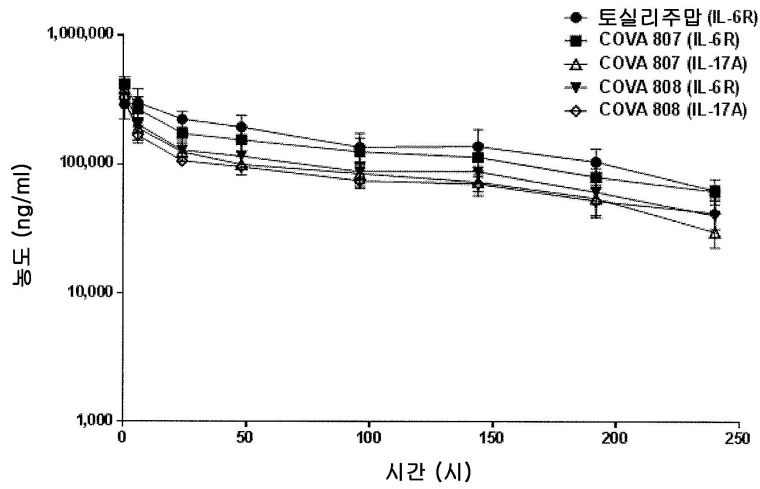
도면23



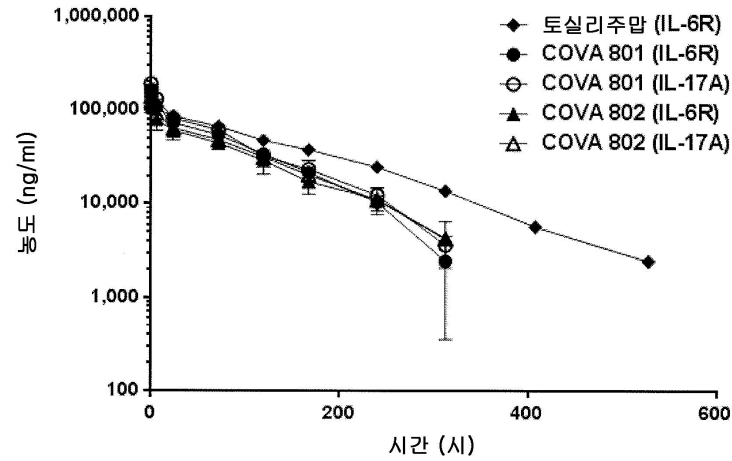
도면24



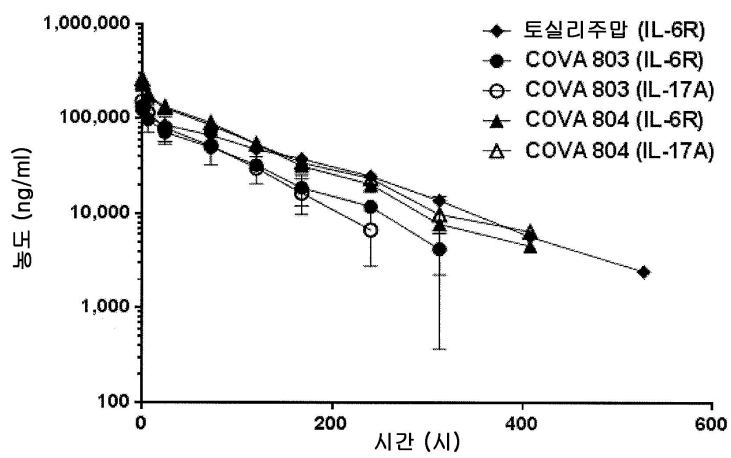
도면25



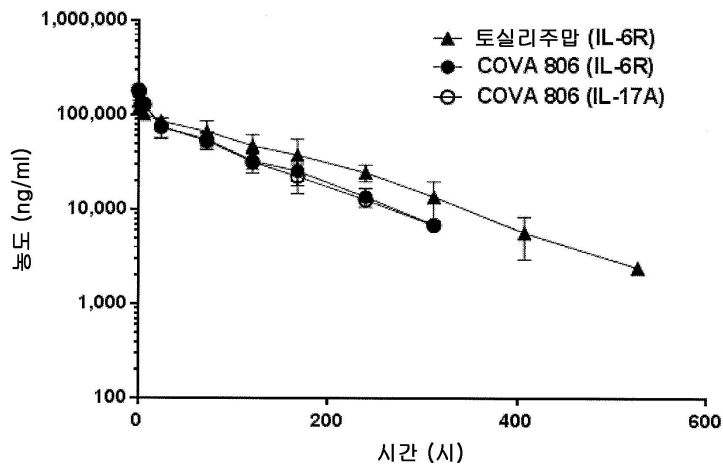
도면26



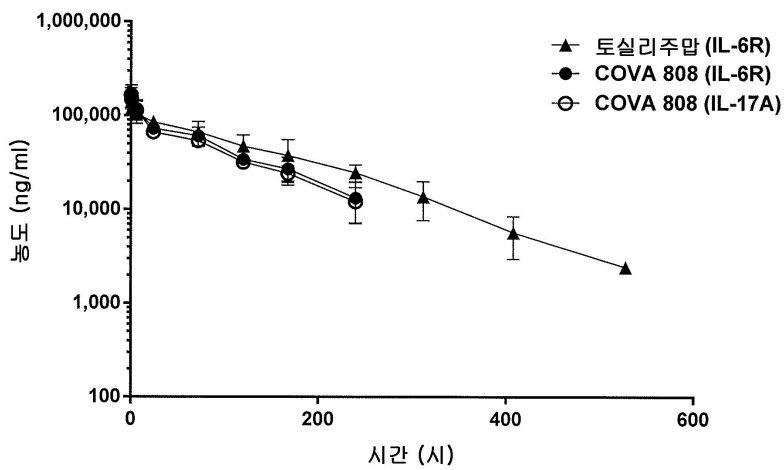
도면27



도면28



도면29



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> Mitsubishi Tanabe Pharma Corporation

<120> ANTIBODY-FYNOMER CONJUGATES

<130> 672274

<150> US 61/954,437

<151> 2014-03-17

<160> 34

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 64

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> IL-17a binding fynomer sequence

<400> 1

Gly Val Thr Leu Phe Val Ala Leu Tyr Asp Tyr Ala Asn His Gly Asn

1 5 10 15

Arg Asp Leu Ser Phe His Lys Gly Glu Lys Phe Gln Ile Leu Ser Thr

20 25 30

His Glu Tyr Glu Asp Trp Trp Glu Ala Arg Ser Leu Thr Thr Gly Glu

35 40 45

Thr Gly Tyr Ile Pro Ser Asn Tyr Val Ala Pro Val Asp Ser Ile Gln

50 55 60

<210> 2

<211> 64

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> IL-17a binding fynomer sequence

<400> 2

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

1 5 10 15

Leu Asp Leu Ser Phe His Lys Gly Glu Lys Phe Gln Ile Leu Ser Thr

20 25 30

His Glu Tyr Glu Asp Trp Trp Glu Ala Arg Ser Leu Thr Thr Gly Glu

35 40 45

Thr Gly Tyr Ile Pro Ser Asn Tyr Val Ala Pro Val Asp Ser Ile Gln

50 55 60

<210> 3

<211> 64

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> IL-17a binding fynomer sequence

<400> 3

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

1 5 10 15

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

50 55 60

<210> 4

<211> 64

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> IL-17a binding fynomer sequence

<400> 4

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

Leu Asp Leu Ser Phe His Lys Gly Glu Lys Phe Gln Ile Leu Ser Thr
20 25 30

His Glu Tyr Glu Asp Trp Trp Glu Ala Arg Ser Leu Thr Thr Gly Glu
35 40 45

Thr Gly Tyr Ile Pro Ser Asn Tyr Val Ala Pro Val Asp Ser Ile Gln
50 55 60

<210> 5

<211> 64

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> IL-17a binding fynomer sequence

<400> 5

Gly Val Thr Leu Phe Val Ala Leu Tyr Asp Tyr Glu Ser Val Ser Trp
1 5 10 15

Ser Asp Leu Ser Phe His Lys Gly Glu Lys Phe Gln Ile Leu Ser Thr
20 25 30

His Glu Tyr Glu Asp Trp Trp Glu Ala Arg Ser Leu Thr Thr Gly Glu
35 40 45

Thr Gly Tyr Ile Pro Ser Asn Tyr Val Ala Pro Val Asp Ser Ile Gln
50 55 60

<210> 6

<211> 64

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> IL-17a binding fynomer sequence

<400> 6

Gly Val Thr Leu Phe Val Ala Leu Tyr Asp Tyr Ser Ser Arg Gly Val

1 5 10 15

Leu Asp Leu Ser Phe His Lys Gly Glu Lys Phe Gln Ile Leu Ser Thr

20 25 30

His Glu Tyr Glu Asp Trp Trp Glu Ala Arg Ser Leu Thr Thr Gly Glu

35 40 45

Thr Gly Tyr Ile Pro Ser Asn Tyr Val Ala Pro Val Asp Ser Ile Gln

50 55 60

<210> 7

<211> 64

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> IL-17a binding fynomer sequence

<400> 7

Gly Val Thr Leu Phe Val Ala Leu Tyr Asp Tyr Ser Arg Lys Ser Asn

1 5 10 15

Leu Asp Leu Ser Phe His Lys Gly Glu Lys Phe Gln Ile Leu Ser Thr

20 25 30

His Glu Tyr Glu Asp Trp Trp Glu Ala Arg Ser Leu Thr Thr Gly Glu

35 40 45

Thr Gly Tyr Ile Pro Ser Asn Tyr Val Ala Pro Val Asp Ser Ile Gln

50 55 60

<210> 8

<211> 448

<212> PRT

<213> Tocilizumab heavy chain

<400> 8

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Thr Tyr Asn Pro Ser Leu

50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Met Leu Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser

65 70 75 80

Leu Arg Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Ser Leu Ala Arg Thr Thr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225					230				235				240			
Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	
				245				250				255				
Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	
				260				265				270				
Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	
				275				280				285				
Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	
				290				295				300				
Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	
305				310				315				320				
Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	
				325				330				335				
Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	
				340				345				350				
Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	
				355				360				365				
Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	
370				375				380								
Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	
385				390				395				400				
Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	
				405				410				415				
Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	
				420				425				430				
Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	
435				440				445								
<210>	9															
<211>	214															
<212>	PRT															
<213>	Artificial Sequence															

<220><223> Tocilizumab light chain

<400> 9

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ser Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala

100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln

145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser

165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr

180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 10

<211> 155

<212> PRT

<213> Homo Sapience

<400> 10

Met Thr Pro Gly Lys Thr Ser Leu Val Ser Leu Leu Leu Leu Ser
 1 5 10 15
 Leu Glu Ala Ile Val Lys Ala Gly Ile Thr Ile Pro Arg Asn Pro Gly
 20 25 30
 Cys Pro Asn Ser Glu Asp Lys Asn Phe Pro Arg Thr Val Met Val Asn
 35 40 45
 Leu Asn Ile His Asn Arg Asn Thr Asn Thr Asn Pro Lys Arg Ser Ser
 50 55 60

Asp Tyr Tyr Asn Arg Ser Thr Ser Pro Trp Asn Leu His Arg Asn Glu
 65 70 75 80
 Asp Pro Glu Arg Tyr Pro Ser Val Ile Trp Glu Ala Lys Cys Arg His
 85 90 95
 Leu Gly Cys Ile Asn Ala Asp Gly Asn Val Asp Tyr His Met Asn Ser
 100 105 110
 Val Pro Ile Gln Gln Glu Ile Leu Val Leu Arg Arg Glu Pro Pro His
 115 120 125

Cys Pro Asn Ser Phe Arg Leu Glu Lys Ile Leu Val Ser Val Gly Cys
 130 135 140
 Thr Cys Val Thr Pro Ile Val His His Val Ala
 145 150 155

<210> 11

<211> 467

<212> PRT

<213> Homo Sapience

<400> 11

Met Leu Ala Val Gly Cys Ala Leu Leu Ala Ala Leu Leu Ala Ala Pro
 1 5 10 15
 Gly Ala Ala Leu Ala Pro Arg Arg Cys Pro Ala Gln Glu Val Ala Arg

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

Leu Gln His His Cys Val Ile His Asp Ala Trp Ser Gly Leu Arg His
275 280 285

Val Val Gln Leu Arg Ala Gln Glu Glu Phe Gly Gln Gly Glu Trp Ser
290 295 300

Glu Trp Ser Pro Glu Ala Met Gly Thr Pro Trp Thr Glu Ser Arg Ser
305 310 315 320

Pro Pro Ala Glu Asn Glu Val Ser Thr Pro Met Gln Leu Thr Thr Asn
325 330 335

Lys Asp Asp Asp Asn Ile Leu Phe Arg Asp Ser Ala Asn Ala Thr Ser
340 345 350

Leu Pro Val Gln Asp Ser Ser Ser Val Pro Leu Pro Thr Phe Leu Val
355 360 365

Ala Gly Gly Ser Leu Ala Phe Gly Thr Leu Leu Cys Ile Ala Ile Val
370 375 380

Leu Arg Phe Lys Lys Thr Trp Lys Leu Arg Ala Leu Lys Glu Gly Lys
385 390 395 400

Thr Ser Met His Pro Pro Tyr Ser Leu Gly Gln Leu Val Pro Glu Arg
405 410 415

Pro Arg Pro Thr Pro Val Leu Val Pro Leu Ile Ser Pro Pro Val Ser
420 425 430

Pro Ser Ser Leu Gly Ser Asp Asn Thr Ser Ser His Asn Arg Pro Asp
435 440 445

Ala Arg Asp Pro Arg Ser Pro Tyr Asp Ile Ser Asn Thr Asp Tyr Phe
450 455 460

Phe Pro Arg
465

<210> 12

<211> 448

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> IL-6R binding antibody heavy chain

<400> 12

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Thr Tyr Asn Pro Ser Leu

50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Met Leu Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser

65 70 75 80

Leu Arg Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Ser Leu Ala Arg Thr Thr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245	250	255
Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp		
260	265	270
Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn		
275	280	285
Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val		
290	295	300
Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu		
305	310	315
		320
Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys		
325	330	335
Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr		
340	345	350
Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr		
355	360	365
Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu		
370	375	380
Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu		
385	390	395
Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys		
405	410	415
Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu		
420	425	430
Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly		
435	440	445

<210> 13

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> IL-6R binding antibody light chain

<400> 13

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

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

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

 Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
 180 185 190
 Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
 195 200 205
 Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210
 <210> 14
 <211> 527
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><223> aka COVA 801 heavy chain

<400> 14

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asp
20 25 30

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

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

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

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

Ala Arg Ser Leu Ala Arg Thr Thr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Ser Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

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

225 230 235 240
 Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
 245 250 255
 Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
 260 265 270

 Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
 275 280 285
 Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
 290 295 300
 Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
 305 310 315 320
 Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
 325 330 335

 Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
 340 345 350
 Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
 355 360 365
 Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
 370 375 380
 Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
 385 390 395 400

 Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
 405 410 415
 Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
 420 425 430
 Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 435 440 445
 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
 450 455 460

 Val Thr Leu Phe Val Ala Leu Tyr Asp Tyr Lys Gln Lys Gly His Leu
 465 470 475 480

Asp Leu Ser Phe His Lys Gly Glu Lys Phe Gln Ile Leu Ser Thr His
485 490 495
Glu Tyr Glu Asp Trp Trp Glu Ala Arg Ser Leu Thr Thr Gly Glu Thr
500 505 510
Gly Tyr Ile Pro Ser Asn Tyr Val Ala Pro Val Asp Ser Ile Gln
515 520 525

<210> 15

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> aka COVA 801 light chain

<400> 15

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

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

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 16

<211> 448

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> aka COVA 802 heavy chain

<400> 16

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asp
20 25 30

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

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

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

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

Ala Arg Ser Leu Ala Arg Thr Thr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Ser Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

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

130	135	140	
Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp			
145	150	155	160
Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu			
	165	170	175
Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser			
	180	185	190
Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro			
195	200	205	
Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys			
210	215	220	
Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro			
225	230	235	240
Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser			
	245	250	255
Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp			
260	265	270	
Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn			
275	280	285	
Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val			
290	295	300	
Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu			
305	310	315	320
Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys			
	325	330	335
Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr			
340	345	350	
Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr			
355	360	365	
Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu			
370	375	380	

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

<210> 17

<211> 293

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> aka COVA 802 light chain

<400> 17

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

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

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

Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

130 135 140
 Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
 145 150 155 160
 Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
 165 170 175
 Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
 180 185 190

 Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
 195 200 205
 Phe Asn Arg Gly Glu Cys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 210 215 220
 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Val Thr Leu Phe Val Ala Leu Tyr Asp Tyr
 225 230 235 240
 Lys Gln Lys Gly His Leu Asp Leu Ser Phe His Lys Gly Glu Lys Phe
 245 250 255

 Gln Ile Leu Ser Thr His Glu Tyr Glu Asp Trp Trp Glu Ala Arg Ser
 260 265 270
 Leu Thr Thr Gly Glu Thr Gly Tyr Ile Pro Ser Asn Tyr Val Ala Pro
 275 280 285
 Val Asp Ser Ile Gln
 290
 <210> 18
 <211> 527
 <212> PRT
 <213> artificial sequence
 <220><223> aka COVA 803 heavy chain
 <400> 18
 Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Arg Pro Ser Gln
 1 5 10 15

 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asp
 20 25 30
 His Ala Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp

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

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
450 455 460

Val Thr Leu Phe Val Ala Leu Tyr Asp Tyr Ser Ala Arg Gly Gln Leu
465 470 475 480

Asp Leu Ser Phe His Lys Gly Glu Lys Phe Gln Ile Leu Ser Thr His
485 490 495

Glu Tyr Glu Asp Trp Trp Glu Ala Arg Ser Leu Thr Thr Gly Glu Thr
500 505 510

Gly Tyr Ile Pro Ser Asn Tyr Val Ala Pro Val Asp Ser Ile Gln
515 520 525

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> aka COVA 803 light chain

<400> 19

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ser Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala

100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln

145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser

165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr

180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 20

<211> 448

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> aka COVA 804 heavy chain

<400> 20

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Thr Tyr Asn Pro Ser Leu

50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Met Leu Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser

65 70 75 80

Leu Arg Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Ser Leu Ala Arg Thr Thr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

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

 Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
 275 280 285
 Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
 290 295 300
 Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
 305 310 315 320
 Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
 325 330 335

 Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
 340 345 350
 Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
 355 360 365
 Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
 370 375 380
 Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
 385 390 395 400

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

<210> 21

<211> 293

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> aka COVA 804 light chain

<400> 21

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ser Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala

100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln

145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser

165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr

180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser

195 200 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
210 215 220
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Val Thr Leu Phe Val Ala Leu Tyr Asp Tyr
225 230 235 240
Ser Ala Arg Gly Gln Leu Asp Leu Ser Phe His Lys Gly Glu Lys Phe
245 250 255

Gln Ile Leu Ser Thr His Glu Tyr Glu Asp Trp Trp Glu Ala Arg Ser
260 265 270
Leu Thr Thr Gly Glu Thr Gly Tyr Ile Pro Ser Asn Tyr Val Ala Pro
275 280 285

Val Asp Ser Ile Gln

290

<210> 22

<211> 527

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> aka COVA 805 heavy chain

<400> 22

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asp
20 25 30

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

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

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

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

Ala Arg Ser Leu Ala Arg Thr Thr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

100	105	110
Ser Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe		
115	120	125
Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu		
130	135	140
Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp		
145	150	155
Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu		
165	170	175
Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser		
180	185	190
Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro		
195	200	205
Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys		
210	215	220
Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro		
225	230	235
Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser		
245	250	255
Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp		
260	265	270
Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn		
275	280	285
Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val		
290	295	300
Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu		
305	310	315
Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys		
325	330	335
Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr		
340	345	350

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

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
 405 410 415
 Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
 420 425 430
 Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 435 440 445
 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
 450 455 460

Val Thr Leu Phe Val Ala Leu Tyr Asp Tyr Glu Ser Val Ser Trp Ser
 465 470 475 480
 Asp Leu Ser Phe His Lys Gly Glu Lys Phe Gln Ile Leu Ser Thr His
 485 490 495
 Glu Tyr Glu Asp Trp Trp Glu Ala Arg Ser Leu Thr Thr Gly Glu Thr
 500 505 510
 Gly Tyr Ile Pro Ser Asn Tyr Val Ala Pro Val Asp Ser Ile Gln
 515 520 525

<210> 23

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> aka COVA 805 light chain

<400> 23

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ser Tyr
 20 25 30

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

Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

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

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr
 85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
 100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
 115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
 130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
 145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
 165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
 180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
 195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210

<210> 24

<211> 448

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> aka COVA 806 heavy chain

<400> 24

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

1	5	10	15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asp			
20		25	30
His Ala Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp			
35		40	45
Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Thr Tyr Asn Pro Ser Leu			
50		55	60
Lys Ser Arg Val Thr Met Leu Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser			
65	70	75	80
Leu Arg Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys			
85		90	95
Ala Arg Ser Leu Ala Arg Thr Thr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly			
100		105	110
Ser Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe			
115		120	125
Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu			
130		135	140
Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp			
145	150	155	160
Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu			
165		170	175
Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser			
180		185	190
Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro			
195		200	205
Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys			
210		215	220
Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro			
225	230	235	240
Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser			
245		250	255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

<210> 25

<211> 293

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> aka COVA 806 light chain

<400> 25

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1	5	10	15
Asp Arg Val Thr	Ile Thr Cys Arg Ala Ser	Gln Asp Ile Ser	Ser Tyr
20	25	30	
Leu Asn Trp Tyr	Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro	Lys Leu Leu Ile	
35	40	45	
Tyr Tyr Thr Ser	Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser	Arg Phe Ser Gly	
50	55	60	
Ser Gly Ser Gly	Thr Asp Phe Thr Phe Thr	Ile Ser Ser Leu	Gln Pro
65	70	75	80
Glu Asp Ile Ala	Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly	Asn Thr Leu Pro	Tyr
85	90	95	
Thr Phe Gly Gln	Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg	Thr Val Ala Ala	
100	105	110	
Pro Ser Val Phe	Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln	Leu Lys Ser Gly	
115	120	125	
Thr Ala Ser Val	Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr	Pro Arg Glu Ala	
130	135	140	
Lys Val Gln Trp	Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser	Gly Asn Ser Gln	
145	150	155	160
Glu Ser Val Thr	Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr	Tyr Ser Leu Ser	
165	170	175	
Ser Thr Leu Thr	Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His	Lys Val Tyr	
180	185	190	
Ala Cys Glu Val	Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro	Val Thr Lys Ser	
195	200	205	
Phe Asn Arg Gly	Glu Cys Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly	Gly Gly Ser	
210	215	220	
Gly Gly Gly Gly	Ser Gly Val Thr Leu Phe Val Ala	Leu Tyr Asp Tyr	
225	230	235	240
Glu Ser Val Ser	Trp Ser Asp Leu Ser Phe His Lys	Gly Glu Lys Phe	
245	250	255	

Gln Ile Leu Ser Thr His Glu Tyr Glu Asp Trp Trp Glu Ala Arg Ser
260 265 270

Leu Thr Thr Gly Glu Thr Gly Tyr Ile Pro Ser Asn Tyr Val Ala Pro
275 280 285

Val Asp Ser Ile Gln
290

<210> 26

<211> 527

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> aka COVA 807 heavy chain

<400> 26

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asp
20 25 30

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

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

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

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

Ala Arg Ser Leu Ala Arg Thr Thr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Ser Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
 165 170 175
 Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
 180 185 190
 Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
 195 200 205

 Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
 210 215 220
 Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
 225 230 235 240
 Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
 245 250 255
 Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
 260 265 270

 Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
 275 280 285
 Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
 290 295 300
 Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
 305 310 315 320
 Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
 325 330 335

 Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
 340 345 350
 Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
 355 360 365
 Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
 370 375 380
 Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
 385 390 395 400

 Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys

405 410 415
 Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
 420 425 430
 Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 435 440 445
 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
 450 455 460

Val Thr Leu Phe Val Ala Leu Tyr Asp Tyr Ser Ser Arg Gly Val Leu
 465 470 475 480
 Asp Leu Ser Phe His Lys Gly Glu Lys Phe Gln Ile Leu Ser Thr His
 485 490 495
 Glu Tyr Glu Asp Trp Trp Glu Ala Arg Ser Leu Thr Thr Gly Glu Thr
 500 505 510
 Gly Tyr Ile Pro Ser Asn Tyr Val Ala Pro Val Asp Ser Ile Gln
 515 520 525

<210> 27

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> aka COVA 807 light chain

<400> 27

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

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

85 90 95
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
 100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
 115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
 130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
 145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
 165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
 180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
 195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210

<210> 28

<211> 448

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> aka COVA 808 heavy chain

<400> 28

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asp
 20 25 30

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

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

Lys Ser Arg Val Thr Met Leu Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser

65	70	75	80
Leu Arg Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys			
	85	90	95
Ala Arg Ser Leu Ala Arg Thr Thr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly			
	100	105	110
Ser Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe			
	115	120	125
Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu			
	130	135	140
Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp			
	145	150	155
Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu			
	165	170	175
Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser			
	180	185	190
Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro			
	195	200	205
Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys			
	210	215	220
Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro			
	225	230	235
Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser			
	245	250	255
Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp			
	260	265	270
Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn			
	275	280	285
Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val			
	290	295	300
Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu			
	305	310	315
			320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

<210> 29

<211> 293

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> aka COVA 808 light chain

<400> 29

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

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

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

Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80
 Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
 100 105 110
 Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
 115 120 125

 Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
 130 135 140
 Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
 145 150 155 160
 Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
 165 170 175
 Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
 180 185 190

 Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
 195 200 205
 Phe Asn Arg Gly Glu Cys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 210 215 220
 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Val Thr Leu Phe Val Ala Leu Tyr Asp Tyr
 225 230 235 240
 Ser Ser Arg Gly Val Leu Asp Leu Ser Phe His Lys Gly Glu Lys Phe
 245 250 255

 Gln Ile Leu Ser Thr His Glu Tyr Glu Asp Trp Trp Glu Ala Arg Ser
 260 265 270
 Leu Thr Thr Gly Glu Thr Gly Tyr Ile Pro Ser Asn Tyr Val Ala Pro
 275 280 285
 Val Asp Ser Ile Gln
 290
 <210> 30
 <211> 63
 <212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> IL-17A binder 2C1

<400> 30

Gly Val Thr Leu Phe Val Ala Leu Tyr Asp Tyr Lys Ala Phe Trp Pro

1 5 10 15

Gly Asp Ile Ser Phe His Lys Gly Glu Lys Phe Gln Ile Leu Arg Thr

20 25 30

Ser Asp Gly Glu Trp Trp Ile Ala Arg Ser Leu Thr Thr Gly Glu Glu

35 40 45

Gly Tyr Ile Pro Ser Asn Tyr Val Ala Pro Val Asp Ser Ile Gln

50 55 60

<210> 31

<211> 63

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> IL-17A binder A1_2

<400> 31

Gly Val Thr Leu Phe Val Ala Leu Tyr Asp Tyr Lys Ala Phe Trp Pro

1 5 10 15

Gly Asp Leu Ser Phe His Lys Gly Glu Lys Phe Gln Ile Leu Arg Thr

20 25 30

Ser Asp Gly Glu Trp Trp Ile Ala Arg Ser Leu Thr Thr Gly Glu Ser

35 40 45

Gly Tyr Ile Pro Ser Asn Tyr Val Ala Pro Val Asp Ser Ile Gln

50 55 60

<210> 32

<211> 63

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> IL-17A binder B1_2

<400> 32

Gly Val Thr Leu Phe Val Ala Leu Tyr Asp Tyr Lys Ala Phe Trp Pro

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

<210> 33

<211> 235

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Secukinumab variable light chain

<400> 33

Met Ser Val Pro Thr Gln Val Leu Gly Leu Leu Leu Trp Leu Thr
 1 5 10 15
 Asp Ala Arg Cys Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser
 20 25 30
 Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser
 35 40 45

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

Gly Ser Ser Pro Cys Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
 115 120 125
 Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
 130 135 140
 Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe

145 150 155 160
Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
165 170 175

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
180 185 190

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
195 200 205

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
210 215 220

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
225 230 235

<210> 34

<211> 475

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Seckinumab variable heavy chain

<400> 34

Met Glu Trp Ser Trp Val Phe Leu Phe Phe Leu Ser Val Thr Thr Gly
1 5 10 15

Val His Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
20 25 30

Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
35 40 45

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

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

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

85 90 95

Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Val Glu Asp Thr Ala Val
100 105 110

Tyr Tyr Cys Val Arg Asp Tyr Tyr Asp Ile Leu Thr Asp Tyr Tyr Ile

115 120 125

His Tyr Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val

130 135 140

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

145 150 155 160

Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys

165 170 175

Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val

225 230 235 240

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

245 250 255

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe

260 265 270

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val

275 280 285

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe

290 295 300

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro

305 310 315 320

Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr

325 330 335

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val

340 345 350

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala

355 360 365
Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg

370 375 380
Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly

385 390 395 400

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro

405 410 415
Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser

420 425 430

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln

435 440 445
Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His

450 455 460
Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

465 470 475