(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2017-0063671
(43) 공개일자 2017년06월08일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/24 (2006.01) *A61K 39/00* (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01) *A61K 45/06* (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07K 16/244 (2013.01)
A61K 39/3955 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2017-7009048
(22) 출원일자(국제) 2015년09월22일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2017년04월03일
(86) 국제출원번호 PCT/US2015/051407
(87) 국제공개번호 WO 2016/049000
국제공개일자 2016년03월31일
(30) 우선권주장
62/054,167 2014년09월23일 미국(US)

(71) 출원인
리제너론 파마슈티칼스 인코포레이티드
미합중국 뉴욕주 10591 타리타운 울드 소우 밀 리버 로드 777
(72) 발명자
오렌고 제이미 엠.
미국 뉴욕 10591 테리타운 울드 소우 밀 리버 로드 777 리제너론 파마슈티칼스 인코포레이티드 내
알린느 잔
미국 뉴욕 10591 테리타운 울드 소우 밀 리버 로드 777 리제너론 파마슈티칼스 인코포레이티드 내
(74) 대리인
송봉식, 정삼영

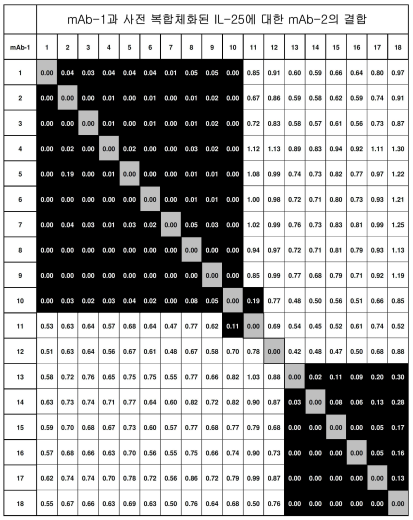
전체 청구항 수 : 총 42 항

(54) 발명의 명칭 **항-IL-25 항체 및 그것의 사용**

(57) 요 약

본 발명은 인간 인터류킨-25(IL-25)와 결합하는 항체 및 그것의 사용 방법을 제공한다. 특정 구체예에 따라서, 본 발명의 항체는 높은 친화도로 인간 IL-25에 결합한다. 특정 구체예에서, 본 발명은 인간 IL-25에 결합하고 IL-25-매개된 세포 신호화를 차단하는 항체를 포함한다. 본 발명의 항체는 완전한 인간, 비-천연 발생 항체일 수 있다. 본 발명의 항체는 천식, 알러지, 만성 폐쇄성 폐질환(COPD), 궤양성 대장염 및 크론병을 포함하는 염증성 장질환(IBD), 아토피 피부염(AD), 및 척스트라우스 증후군이라고도 알려진 호산성 다발혈관염 육아종증(EGPA)을 포함하는, IL-25 활성 또는 발현과 관련된 다양한 장애의 치료에 유용하다.

대 표 도



(52) CPC특허분류
A61K 45/06 (2013.01)
A61K 2039/505 (2013.01)
C07K 2317/21 (2013.01)
C07K 2317/51 (2013.01)
C07K 2317/515 (2013.01)
C07K 2317/76 (2013.01)
C07K 2317/92 (2013.01)

명 세 서

청구범위

청구항 1

인간 인터류킨-25(IL-25)에 특이적으로 결합하는 분리된 항체 또는 그것의 항원-결합 단편으로서, 상기 항체 또는 그것의 항원-결합 단편은 다음의 특징 중 둘 이상을 나타내는 분리된 항체 또는 그것의 항원-결합 단편:

(a) 완전한 인간 단클론성 항체이다;

(b) 25℃에서 표면 플라스몬 공명에 의해서 측정되었을 때 약 120 pM 미만의 K_D로 인간 IL-25에 결합한다;

(c) 25℃에서 표면 플라스몬 공명에 의해서 측정되었을 때 약 105분을 초과하는 해리 반감기($t_{1/2}$)로 인간 IL-25에 결합한다;

(d) 약 2 nM 미만의 IC_{50}으로 IL-25 수용체(IL-17RA/IL-17RB)를 발현하도록 조작된 세포에서 인간 IL-25 신호화를 차단한다;

(e) 약 16 nM 미만의 IC_{50}으로 인간 말초혈 단핵 세포(PBMC)에서 인간 IL-25 신호화를 차단한다;

(f) IL-25를 과발현하는 포유동물에서 순환하는 및/또는 폐 IgE 수준을 감소시킨다;

(g) IL-25를 과발현하는 포유동물에서 배상세포 화생을 감소시킨다;

(h) 표 1에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(HCVR) 내에 함유된 3개의 중쇄 상보성 결정 영역(HCDR)을 포함한다; 또는

(i) 표 1에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(LCVR) 내에 함유된 3개의 경쇄 상보성 결정 영역(LCDR)을 포함한다.

청구항 2

제 1 항에 있어서, 항체 또는 그것의 항원-결합 단편은 25℃ 또는 37℃에서 표면 플라스몬 공명에 의해서 측정되었을 때 약 100 pM 미만의 K_D로 인간 IL-25에 결합하는 것을 특징으로 하는 분리된 항체 또는 항원-결합 단편.

청구항 3

제 1 항 또는 제 2 항에 있어서, 항체 또는 그것의 항원-결합 단편은 25℃ 또는 37℃에서 표면 플라스몬 공명에 의해서 측정되었을 때 약 60 pM 미만의 K_D로 인간 IL-25에 결합하는 것을 특징으로 하는 분리된 항체 또는 항원-결합 단편.

청구항 4

제 1 항 내지 제 3 항 중 어느 한 항에 있어서, 항체 또는 그것의 항원-결합 단편은 25℃ 또는 37℃에서 표면 플라스몬 공명에 의해서 측정되었을 때 약 40 pM 미만의 K_D로 인간 IL-25에 결합하는 것을 특징으로 하는 분리된 항체 또는 항원-결합 단편.

청구항 5

제 1 항 내지 제 4 항 중 어느 한 항에 있어서, 항체 또는 그것의 항원-결합 단편은 25℃ 또는 37℃에서 표면 플라스몬 공명에 의해서 측정되었을 때 약 20 pM 미만의 K_D로 인간 IL-25에 결합하는 것을 특징으로 하는 분리된 항체 또는 항원-결합 단편.

청구항 6

제 1 항 내지 제 5 항 중 어느 한 항에 있어서, 항체 또는 그것의 항원-결합 단편은 25℃에서 표면 플라스몬 공

명에 의해서 측정되었을 때 약 150분을 초과하는 t½로 인간 IL-25에 결합하는 것을 특징으로 하는 분리된 항체 또는 항원-결합 단편.

청구항 7

제 1 항 내지 제 6 항 중 어느 한 항에 있어서, 항체 또는 그것의 항원-결합 단편은 25℃에서 표면 플라스몬 공명에 의해서 측정되었을 때 약 200분을 초과하는 t½로 인간 IL-25에 결합하는 것을 특징으로 하는 분리된 항체 또는 항원-결합 단편.

청구항 8

제 1 항 내지 제 7 항 중 어느 한 항에 있어서, 항체 또는 그것의 항원-결합 단편은 25℃에서 표면 플라스몬 공명에 의해서 측정되었을 때 약 250분을 초과하는 t½로 인간 IL-25에 결합하는 것을 특징으로 하는 분리된 항체 또는 항원-결합 단편.

청구항 9

제 1 항 내지 제 8 항 중 어느 한 항에 있어서, 항체 또는 그것의 항원-결합 단편은 25℃에서 표면 플라스몬 공명에 의해서 측정되었을 때 약 400분을 초과하는 t½로 인간 IL-25에 결합하는 것을 특징으로 하는 분리된 항체 또는 항원-결합 단편.

청구항 10

제 1 항 내지 제 9 항 중 어느 한 항에 있어서, 항체 또는 그것의 항원-결합 단편은 약 720 pM 미만의 IC_{50}으로 IL-25 수용체(IL-17RA/IL-17RB)를 발현하도록 조작된 세포에서 인간 IL-25 신호화를 차단하는 것을 특징으로 하는 분리된 항체 또는 항원-결합 단편.

청구항 11

제 1 항 내지 제 10 항 중 어느 한 항에 있어서, 항체 또는 그것의 항원-결합 단편은 약 500 pM 미만의 IC_{50}으로 IL-25 수용체(IL-17RA/IL-17RB)를 발현하도록 조작된 세포에서 인간 IL-25 신호화를 차단하는 것을 특징으로 하는 분리된 항체 또는 항원-결합 단편.

청구항 12

제 1 항 내지 제 11 항 중 어느 한 항에 있어서, 항체 또는 그것의 항원-결합 단편은 약 100 pM 미만의 IC_{50}으로 IL-25 수용체(IL-17RA/IL-17RB)를 발현하도록 조작된 세포에서 인간 IL-25 신호화를 차단하는 것을 특징으로 하는 분리된 항체 또는 항원-결합 단편.

청구항 13

제 1 항 내지 제 12 항 중 어느 한 항에 있어서, 항체 또는 그것의 항원-결합 단편은 약 2.0 nM 미만의 IC_{50}으로 인간 PBMC에서 인간 IL-25 신호화를 차단하는 것을 특징으로 하는 분리된 항체 또는 항원-결합 단편.

청구항 14

제 1 항 내지 제 13 항 중 어느 한 항에 있어서, 항체 또는 그것의 항원-결합 단편은 약 700 pM 미만의 IC_{50}으로 인간 PBMC에서 인간 IL-25 신호화를 차단하는 것을 특징으로 하는 분리된 항체 또는 항원-결합 단편.

청구항 15

제 1 항 내지 제 14 항 중 어느 한 항에 있어서, 항체 또는 그것의 항원-결합 단편은 약 30 pM 내지 약 150 pM의 범위의 IC_{50}으로 인간 PBMC에서 인간 IL-25 신호화를 차단하는 것을 특징으로 하는 분리된 항체 또는 항원-결합 단편.

청구항 16

인간 인터류킨-25(IL-25)에 결합하는 분리된 항체 또는 그것의 항원-결합 단편으로서, 상기 항체 또는 그것의

항원-결합 단편은 표 1에 제시된 중쇄 가변 영역/경쇄 가변 영역(HCVR/LCVR) 아미노산 서열 쌍을 포함하는 기준 항체와 인간 IL-25에 대한 결합에 대해 경쟁하는 분리된 항체 또는 그것의 항원-결합 단편.

청구항 17

제 16 항에 있어서, 기준 항체는 SEQ ID NOs: 2/10, 18/26, 34/42, 50/58, 66/74, 82/90, 98/106, 114/122, 130/138, 146/154, 162/170, 178/186, 194/202, 210/218, 226/234, 242/250 및 258/266으로 구성되는 군으로부터 선택된 HCVR/LCVR 아미노산 서열 쌍을 포함하는 것을 특징으로 하는 분리된 항체 또는 항원-결합 단편.

청구항 18

인간 인터류킨-25(IL-25)에 결합하는 분리된 항체 또는 그것의 항원-결합 단편으로서, 상기 항체 또는 그것의 항원-결합 단편은 표 1에 제시된 중쇄 가변 영역/경쇄 가변 영역(HCVR/LCVR) 아미노산 서열 쌍을 포함하는 기준 항체와 인간 IL-25 상에서 동일한 에피토프에 결합하는 분리된 항체 또는 그것의 항원-결합 단편.

청구항 19

제 18 항에 있어서, 기준 항체는 SEQ ID NOs: 2/10, 18/26, 34/42, 50/58, 66/74, 82/90, 98/106, 114/122, 130/138, 146/154, 162/170, 178/186, 194/202, 210/218, 226/234, 242/250 및 258/266으로 구성되는 군으로부터 선택된 HCVR/LCVR 아미노산 서열 쌍을 포함하는 것을 특징으로 하는 분리된 항체 또는 항원-결합 단편.

청구항 20

제 19 항에 있어서, 기준 항체는 SEQ ID NOs: 98/106; 114/122; 130/138; 및 178/186으로 구성되는 군으로부터 선택된 HCVR/LCVR 아미노산 서열 쌍을 포함하는 것을 특징으로 하는 분리된 항체 또는 항원-결합 단편.

청구항 21

인간 인터류킨-25(IL-25)에 결합하는 분리된 항체 또는 그것의 항원-결합 단편으로서, 상기 항체 또는 그것의 항원-결합 단편은 (a) 표 1에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(HCVR)의 상보성 결정 영역(CDR); 및 (b) 표 1에 제시된 아미노산 서열을 가진 경쇄 가변 영역(LCVR)의 CDR을 포함하는 분리된 항체 또는 그것의 항원-결합 단편.

청구항 22

제 1 항 내지 제 15 항 및 제 21 항 중 어느 한 항에 있어서, 항체 또는 그것의 항원-결합 단편은 (a) SEQ ID NOs: 2, 18, 34, 50, 66, 82, 98, 114, 130, 146, 162, 178, 194, 210, 226, 242 및 258로 구성되는 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 가진 HCVR의 CDR; 및 (b) SEQ ID NOs: 10, 26, 42, 58, 74, 90, 106, 122, 138, 154, 170, 186, 202, 218, 234, 250 및 266으로 구성되는 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 가진 LCVR의 CDR을 포함하는 것을 특징으로 하는 분리된 항체 또는 그것의 항원-결합 단편.

청구항 23

제 1 항 내지 제 15 항 및 제 21 항 내지 제 22 항 중 어느 한 항에 있어서, 항체 또는 그것의 항원-결합 단편은 (a) SEQ ID NOs: 98, 114, 130 및 178로 구성되는 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 가진 HCVR의 CDR; 및 (b) SEQ ID NOs: 106, 122, 138 및 186으로 구성되는 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 가진 LCVR의 CDR을 포함하는 것을 특징으로 하는 분리된 항체 또는 그것의 항원-결합 단편.

청구항 24

제 1 항 내지 제 15 항 및 제 21 항 내지 제 23 항 중 어느 한 항에 있어서, 항체 또는 그것의 항원-결합 단편은 SEQ ID NOs: 98/106; 114/122; 130/138; 및 178/186으로 구성되는 군으로부터 선택된 HCVR/LCVR 아미노산 서열 쌍의 CDR을 포함하는 것을 특징으로 하는 분리된 항체 또는 항원-결합 단편.

청구항 25

제 1 항 내지 제 15 항 및 제 21 항 내지 제 24 항 중 어느 한 항에 있어서, SEQ ID NOs: 2, 18, 34, 50, 66, 82, 98, 114, 130, 146, 162, 178, 194, 210, 226, 242 및 258로 구성되는 군으로부터 선택된 HCVR 아미노산

서열을 포함하는 것을 특징으로 하는 분리된 항체 또는 그것의 항원-결합 단편.

청구항 26

제 1 항 내지 제 15 항 및 제 21 항 내지 제 25 항 중 어느 한 항에 있어서, SEQ ID NOs: 10, 26, 42, 58, 74, 90, 106, 122, 138, 154, 170, 186, 202, 218, 234, 250 및 266으로 구성되는 군으로부터 선택된 LCVR 아미노산 서열을 포함하는 것을 특징으로 하는 분리된 항체 또는 그것의 항원-결합 단편.

청구항 27

제 1 항 내지 제 15 항 및 제 21 항 내지 제 26 항 중 어느 한 항에 있어서, SEQ ID NOs: 2, 18, 34, 50, 66, 82, 98, 114, 130, 146, 162, 178, 194, 210, 226, 242 및 258로 구성되는 군으로부터 선택된 HCVR 아미노산 서열; 및 SEQ ID NOs: 10, 26, 42, 58, 74, 90, 106, 122, 138, 154, 170, 186, 202, 218, 234, 250 및 266으로 구성되는 군으로부터 선택된 LCVR 아미노산 서열을 포함하는 것을 특징으로 하는 분리된 항체 또는 그것의 항원-결합 단편.

청구항 28

제 1 항 내지 제 15 항 및 제 21 항 내지 제 27 항 중 어느 한 항에 있어서, SEQ ID NOs: 2/10, 18/26, 34/42, 50/58, 66/74, 82/90, 98/106, 114/122, 130/138, 146/154, 162/170, 178/186, 194/202, 210/218, 226/234, 242/250 및 258/266로 구성되는 군으로부터 선택된 HCVR/LCVR 아미노산 서열 쌍을 포함하는 것을 특징으로 하는 분리된 항체 또는 그것의 항원-결합 단편.

청구항 29

제 1 항 내지 제 15 항 및 제 21 항 내지 제 28 항 중 어느 한 항에 있어서,

(a) SEQ ID NOs: 4, 20, 36, 52, 68, 84, 100, 116, 132, 148, 164, 180, 196, 212, 228, 244 및 260으로 구성되는 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 가진 HCDR1 도메인;

(b) SEQ ID NOs: 6, 22, 38, 54, 70, 86, 102, 118, 134, 150, 166, 182, 198, 214, 230, 246 및 262로 구성되는 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 가진 HCDR2 도메인;

(c) SEQ ID NOs: 8, 24, 40, 56, 72, 88, 104, 120, 136, 152, 168, 184, 200, 216, 232, 248 및 264로 구성되는 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 가진 HCDR3 도메인;

(d) SEQ ID NOs: 12, 28, 44, 60, 76, 92, 108, 124, 140, 156, 172, 188, 204, 220, 236, 252 및 268로 구성되는 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 가진 LCDR1 도메인;

(e) SEQ ID NOs: 14, 30, 46, 62, 78, 94, 110, 126, 142, 158, 174, 190, 206, 222, 238, 254 및 270으로 구성되는 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 가진 LCDR2 도메인; 및

(f) SEQ ID NOs: 16, 32, 48, 64, 80, 96, 112, 128, 144, 160, 176, 192, 208, 224, 240, 256 및 272로 구성되는 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 가진 LCDR3 도메인

을 포함하는 것을 특징으로 하는 분리된 항체 또는 그것의 항원-결합 단편.

청구항 30

제 1 항 내지 제 15 항 및 제 21 항 내지 제 29 항 중 어느 한 항에 있어서,

(a) SEQ ID NOs: 100, 116, 132, 및 180으로 구성되는 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 가진 HCDR1 도메인;

(b) SEQ ID NOs: 102, 118, 134, 및 182로 구성되는 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 가진 HCDR2 도메인;

(c) SEQ ID NOs: 104, 120, 136, 및 184로 구성되는 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 가진 HCDR3 도메인;

(d) SEQ ID NOs: 108, 124, 140, 및 188로 구성되는 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 가진 LCDR1 도메인;

(e) SEQ ID NOs: 110, 126, 142, 및 190으로 구성되는 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 가진 LCDR2 도메인; 및

(f) SEQ ID NOs: 112, 128, 144, 및 192로 구성되는 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 가진 LCDR3 도메인

을 포함하는 것을 특징으로 하는 분리된 항체 또는 그것의 항원-결합 단편.

청구항 31

제 1 항 내지 제 15 항 및 제 21 항 내지 제 30 항 중 어느 한 항에 있어서, 항체 또는 그것의 항원-결합 단편은 (a) SEQ ID NOs: 100, 102, 104, 108, 110, 112; (b) SEQ ID NOs: 116, 118, 120, 124, 126, 128; (c) SEQ ID NOs: 132, 134, 136, 140, 142, 144; 및 (d) SEQ ID NOs: 180, 182, 184, 188, 190, 192로 구성되는 군으로부터 선택된 6개의 CDR의 세트를 포함하는 것을 특징으로 하는 분리된 항체 또는 항원-결합 단편.

청구항 32

제 1 항 내지 제 15 항 및 제 21 항 내지 제 31 항 중 어느 한 항의 항체 또는 항원-결합 단편, 및 약학적으로 허용 가능한 담체 또는 희석제를 포함하는 약학적 조성물.

청구항 33

인터류킨-25(IL-25)와 관련된 질환 또는 장애를 치료하는 방법으로서, 상기 방법은 제 32 항의 약학적 조성물을 이러한 치료가 필요한 대상체에 투여하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 34

제 33 항에 있어서, 질환 또는 장애는 천식, 알러지, 알러지성 비염, 알러지성 기도 염증, 만성 폐쇄성 폐질환(COPD), 호산성 폐렴, 호산성 식도염, 과호산구 증후군, 이식편-대-숙주병, 아토피 피부염(AD), 건선, 염증성 장질환(IBD), 관절염, 포도막염, 심혈관 질환, 통증, 다발성 경화증, 루프스, 혈관염, 만성 특발성 두드러기 및 호산성 다발혈관염 육아종증(척스트라우스 증후군)으로 구성되는 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 35

제 34 항에 있어서, 천식은 알러지성 천식, 비알러지성 천식, 중증 난치성 천식, 악화된 천식, 바이러스 유발 천식, 또는 바이러스 유발 악화된 천식, 스테로이드 내성 천식, 스테로이드 민감성 천식, 호산성 천식 또는 비호산성 천식 및 기도 염증 또는 기도 과민성(AHR)을 특징으로 하는 다른 관련된 장애로 구성되는 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 36

제 34 항에 있어서, COPD는 담배 흡연, 공기 오염, 직업관련 화학물질, 알러지 또는 기도 과민성과 부분적으로 관련되거나, 또는 그것에 의해서 야기된 질환 또는 장애인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 37

제 34 항에 있어서, AD는 상피 장벽 기능부전, 알러지, 또는 방사선 노출과 부분적으로 관련되거나, 또는 그것에 의해서 야기되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 38

제 37 항에 있어서, 알러지는 음식, 화분, 곰팡이, 먼지 진드기, 동물, 또는 동물 비듬에 대한 것인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 39

제 34 항에 있어서, IBD는 궤양성 대장염, 크론병, 교원성 대장염, 림프구성 대장염, 허혈성 대장염, 우회 대장염, 베체트 증후군, 감염성 대장염, 부정성 대장염, 및 큰창자 또는 결장의 점막층의 염증을 특징으로 하는 다른 장애로 구성되는 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 40

제 34 항에 있어서, 관절염은 골관절염, 류마티스성 관절염 및 건선성 관절염으로 구성되는 군으로부터 선택되

는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 41

제 33 항에 있어서, 약학적 조성물은 제2 치료제와 조합하여 환자에 투여되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 42

제 41 항에 있어서, 제2 치료제는 비스테로이드계 항염제(NSAID), 스테로이드, 코르티코스테로이드(흡입 또는 국소), 면역억제제(예를 들어, 사이클로포스파미드), 항콜린제(예를 들어, 티오트로퓸), 무스카린제(예를 들어, 글리코피로늄), 포스포디에스테라제 억제제(예를 들어, 테오필린, 로플루밀라스트, 실로밀라스트), 베타 차단제, 사이클로스포린, 타클롤리무스, 피메크롤리무스, 아자티오프린, 메토트렉세이트, 크로몰린 나트륨, 프로테이나제 억제제, 기관제 확장제, 베타-2-아고니스트, 항히스타민, 에피네프린, 충혈완화제, 류코트리엔 억제제, 비만세포 억제제, 흉선 기질 림포포이에틴(TSLP) 안타고니스트, TNF 안타고니스트, IgE 안타고니스트, IL-1 안타고니스트, IL-4 또는 IL-4R 안타고니스트, IL-13 또는 IL-13R 안타고니스트, IL-4/IL-13 이중 안타고니스트, IL-5 안타고니스트, IL-6 또는 IL-6R 안타고니스트, IL-8의 안타고니스트, IL-9 안타고니스트, IL-12/23 안타고니스트, IL-22 안타고니스트, IL-17 안타고니스트, IL-31 안타고니스트, IL-33 안타고니스트, 경구 PDE4 억제제, 및 IL-25에 대한 상이한 항체로 구성되는 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 방법.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 인터류킨-25(IL-25)와 특이적으로 결합하는 항체, 및 그것의 항원-결합 단편, 이 항체를 포함하는 약학적 조성물 및 그것의 사용 방법에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 인터류킨-25(IL-25)는 인터류킨-17(IL-17)과 구조적으로 관련되며 때로 IL-17E라고 언급된다. 그것은 헤테로다이머 IL-17RB/IL-17RA 수용체와 상호작용하며 이것을 통해서 신호를 내보내는 분비된 호모다이머 당단백질이다(Iwakura, *et al.*, (2010), Immunity, 34:149). IL-25는 Th2 세포, 상피 세포, 내피 세포, 폐포 대식세포, 비만 세포, 호산구 및 호염구에 의해 생성된다(Rouvier, E. *et al.*, (1993), J. Immunol. 150:5445-5456; Pan, G. *et al.*, (2001), J. Immunol. 167:6559-6567; Kim, M. *et al.*, (2002), Blood 100:2330-2340). IL-25를 통한 신호화는 호산구 모집, Th2 및 Th9 반응의 개시 및 Th1 및 Th17 세포 반응의 억제와 관련된다. IL-25는 다수의 조직에서 IL-4, IL-5 및 IL-13을 포함하는 다른 사이토카인의 생성을 유도한다(Fort, MM *et al.*, (2001), Immunity 15:985-995).

[0003] IL-25는 위장관과 관련된 만성 염증에 연루되며, IL-25 유전자는 염증성장질환(IBD)과 같은 위의 자가면역 질환과 관련된 염색체 영역에서 확인되었다(Buning, C. *et al.*, (2003), Eur. J. Immunogenet. Oct; 30(5):329-333). IL-25는 또한 천식 환자의 샘플에서 상향조절되는 것으로 나타났다(Sherkat, R. *et al.*, (2014), Asia Pac. Allergy Oct; 4(4):212-221). 따라서, IL-25 신호화의 차단은 IL-25 활성 또는 발현과 관련된 다양한 장애의 치료에 유용할 수 있다.

[0004] 항-IL-25 항체는, 예를 들어 미국특허 제8,785,605호; 제8,658,169호 및 제8,206,717호; 및 PCT 공보 WO2011/123507; WO2010/038155 및 WO2008/129263에 언급된다. 그럼에도 불구하고, IL-25 발현 및/또는 신호화와 관련된 질환 또는 장애, 또는 IL-25 발현 및/또는 신호화와 관련된 다른 상태의 치료를 위한, 본 발명의 항-IL-25 항체와 같은, 새로운 IL-25 안타고니스트가 본 분야에 필요하다.

발명의 내용

[0005] 본 발명은 인간 인터류킨-25(IL-25)에 특이적으로 결합하는 분리된 항체 및 그것의 항원-결합 단편을 제공한다.

[0006] 제1 양태에서, 본 발명은 인간 인터류킨-25(IL-25)에 특이적으로 결합하는 분리된 항체 또는 그것의 항원-결합 단편을 제공하며, 상기 항체 또는 그것의 항원-결합 단편은 다음의 특징들 중 둘 이상을 나타낸다:

[0007] (a) 완전한 인간 단클론성 항체이다;

[0008] (b) 25℃에서 표면 플라스몬 공명에 의해서 측정되었을 때 약 120 pM 미만의 K_D로 인간 IL-25에 결합한다;

[0009] (c) 25℃에서 표면 플라스몬 공명에 의해서 측정되었을 때 약 105분을 초과하는 해리 반감기(t½)로 인간 IL-25에 결합한다;

[0010] (d) 약 2.0 nM 미만의 IC_{50}으로 IL-25 수용체(IL-17RA/IL-17RB)를 발현하도록 조작된 세포에서 인간 IL-25 신호화를 차단한다;

[0011] (e) 약 16 nM 미만의 IC_{50}으로 인간 말초혈 단핵 세포(PBMC)에서 인간 IL-25 신호화를 차단한다;

[0012] (f) IL-25를 과발현하는 포유동물에서 순환하는 및/또는 폐 IgE 수준을 감소시킨다;

[0013] (g) IL-25를 과발현하는 포유동물에서 배상세포 화생(metaplasia)을 감소시킨다;

[0014] (h) 표 1에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(HCVR) 내에 함유된 3개의 중쇄 상보성 결정 영역(HCDR)을 포함한다; 또는

[0015] (i) 표 1에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(LCVR) 내에 함유된 3개의 경쇄 상보성 결정 영역(LCDR)을 포함한다.

[0016] 본 발명의 분리된 항체 및 항원-결합 단편은, 특히, 인터류킨-25(IL-25) 활성 또는 발현과 관련된 질환 및 장애를 치료하는데 유용하다.

[0017] 한 구체예에서, 본 발명은 25℃ 또는 37℃에서 표면 플라스몬 공명에 의해서 측정되었을 때 약 100 pM 미만의 K_D로 인간 IL-25에 특이적으로 결합하는 항-IL-25 항체 또는 그것의 항원-결합 단편을 제공한다.

[0018] 한 구체예에서, 본 발명은 25℃ 또는 37℃에서 표면 플라스몬 공명에 의해서 측정되었을 때 약 60 pM 미만의 K_D로 인간 IL-25에 특이적으로 결합하는 항-IL-25 항체 또는 그것의 항원-결합 단편을 제공한다.

[0019] 한 구체예에서, 본 발명은 25℃ 또는 37℃에서 표면 플라스몬 공명에 의해서 측정되었을 때 약 40 pM 미만의 K_D로 인간 IL-25에 특이적으로 결합하는 항-IL-25 항체 또는 그것의 항원-결합 단편을 제공한다.

[0020] 한 구체예에서, 본 발명은 25℃ 또는 37℃에서 표면 플라스몬 공명에 의해서 측정되었을 때 약 20 pM 미만의 K_D로 인간 IL-25에 특이적으로 결합하는 항-IL-25 항체 또는 그것의 항원-결합 단편을 제공한다.

[0021] 한 구체예에서, 본 발명은 25℃에서 표면 플라스몬 공명에 의해서 측정되었을 때 약 150분을 초과하는 t½로 인간 IL-25에 특이적으로 결합하는 항-IL-25 항체 또는 그것의 항원-결합 단편을 제공한다.

[0022] 한 구체예에서, 본 발명은 25℃에서 표면 플라스몬 공명에 의해서 측정되었을 때 약 200분을 초과하는 t½로 인간 IL-25에 특이적으로 결합하는 항-IL-25 항체 또는 그것의 항원-결합 단편을 제공한다.

[0023] 한 구체예에서, 본 발명은 25℃에서 표면 플라스몬 공명에 의해서 측정되었을 때 약 250분을 초과하는 t½로 인간 IL-25에 특이적으로 결합하는 항-IL-25 항체 또는 그것의 항원-결합 단편을 제공한다.

[0024] 한 구체예에서, 본 발명은 25℃에서 표면 플라스몬 공명에 의해서 측정되었을 때 약 400분을 초과하는 t½로 인간 IL-25에 특이적으로 결합하는 항-IL-25 항체 또는 그것의 항원-결합 단편을 제공한다.

[0025] 한 구체예에서, 본 발명은 약 720 pM 미만의 IC_{50}으로 IL-25 수용체(IL-17RA/IL-17RB)를 발현하도록 조작된 세포에서 인간 IL-25에 특이적으로 결합하고 인간 IL-25 신호화를 차단하는 항-IL-25 항체 또는 그것의 항원-결합 단편을 제공한다.

[0026] 한 구체예에서, 본 발명은 약 500 pM 미만의 IC_{50}으로 IL-25 수용체(IL-17RA/IL-17RB)를 발현하도록 조작된 세포에서 인간 IL-25에 특이적으로 결합하고 인간 IL-25 신호화를 차단하는 항-IL-25 항체 또는 그것의 항원-결합 단편을 제공한다.

[0027] 한 구체예에서, 본 발명은 약 100 pM 미만의 IC_{50}으로 IL-25 수용체(IL-17RA/IL-17RB)를 발현하도록 조작된 세포에서 인간 IL-25에 특이적으로 결합하고 인간 IL-25 신호화를 차단하는 항-IL-25 항체 또는 그것의 항원-결합 단편을 제공한다.

[0028] 한 구체예에서, 본 발명은 약 2.0 nM 미만의 IC_{50}으로 인간 PBMC에서 인간 IL-25에 특이적으로 결합하고 인간 IL-25 신호화를 차단하는 항-IL-25 항체 또는 그것의 항원-결합 단편을 제공한다.

[0029] 한 구체예에서, 본 발명은 약 700 pM 미만의 IC_{50}으로 인간 PBMC에서 인간 IL-25에 특이적으로 결합하고 인간 IL-25 신호화를 차단하는 항-IL-25 항체 또는 그것의 항원-결합 단편을 제공한다.

[0030] 한 구체예에서, 본 발명은 약 30 pM 내지 약 150 pM의 범위의 IC_{50}으로 인간 PBMC에서 인간 IL-25에 특이적으로 결합하고 인간 IL-25 신호화를 차단하는 항-IL-25 항체 또는 그것의 항원-결합 단편을 제공한다.

[0031] 본 발명의 항체는 전체 길이(예를 들어, IgG1 또는 IgG4 항체)일 수 있거나 또는 단지 항원-결합 부분(예를 들어, Fab, $F(ab')_2$ 또는 scFv 단편)만을 포함할 수도 있고, 기능에 영향을 미치도록, 예를 들어 잔류 효과기 기능을 제거하도록 변형될 수도 있다(Reddy et al., 2000, J. Immunol. 164:1925-1933).

[0032] 본 발명의 예시의 항-IL-25 항체는 본원에서 표 1 및 2에서 나열된다. 표 1은 예시의 항-IL-25 항체의 중쇄 가변 영역(HCVR), 경쇄 가변 영역(LCVR), 중쇄 상보성 결정 영역(HCDR1, HCDR2 및 HCDR3) 및 경쇄 상보성 결정 영역(LCDR1, LCDR2 및 LCDR3)의 아미노산 서열 식별자를 제시한다. 표 2는 예시의 항-IL-25 항체의 HCVR, LCVR, HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 및 LCDR3의 핵산 서열 식별자를 제시한다.

[0033] 본 발명은 표 1에서 나열된 HCVR 아미노산 서열 중 어느 것으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 이것에 대하여 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 가지는 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 HCVR을 포함하는, IL-25에 특이적으로 결합하는 항체 또는 그것의 항원-결합 단편을 제공한다.

[0034] 본 발명은 또한 표 1에서 나열된 LCVR 아미노산 서열 중 어느 것으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 이것에 대하여 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 가지는 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 LCVR을 포함하는, IL-25에 특이적으로 결합하는 항체 또는 그것의 항원-결합 단편을 제공한다.

[0035] 본 발명은 또한 표 1에서 나열된 LCVR 아미노산 서열 중 어느 것과 쌍을 이룬, 표 1에서 나열된 HCVR 아미노산 서열 중 어느 것을 포함하는 HCVR 및 LCVR 아미노산 서열 쌍(HCVR/LCVR)을 포함하는, IL-25에 특이적으로 결합하는 항체 또는 그것의 항원-결합 단편을 제공한다. 특정 구체예에 따르면, 본 발명은 표 1에서 나열된 예시의 항-IL-25 항체 중 어느 것 내에 함유된 HCVR/LCVR 아미노산 서열 쌍을 포함하는 항체, 또는 그것의 항원-결합 단편을 제공한다.

[0036] 인터류킨-25(IL-25)에 특이적으로 결합하는 분리된 항체 또는 그것의 항원-결합 단편으로서, 상기 항체 또는 그것의 항원-결합 단편은 (a) 표 1에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(HCVR)의 상보성 결정 영역(CDR); 및 (b) 표 1에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(LCVR)의 CDR을 포함한다.

[0037] 한 구체예에서, IL-25에 특이적으로 결합하는 분리된 항체 또는 그것의 항원-결합 단편은 (a) SEQ ID NOs: 2, 18, 34, 50, 66, 82, 98, 114, 130, 146, 162, 178, 194, 210, 226, 242 및 258로 구성되는 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 가진 HCVR의 CDR; 및 (b) SEQ ID NOs: 10, 26, 42, 58, 74, 90, 106, 122, 138, 154, 170, 186, 202, 218, 234, 250 및 266으로 구성되는 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 가진 LCVR의 CDR을 포함한다.

[0038] 한 구체예에서, IL-25에 특이적으로 결합하는 분리된 항체 또는 그것의 항원-결합 단편은 (a) SEQ ID NOs: 98, 114, 130 및 178로 구성되는 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 가진 HCVR의 CDR; 및 (b) SEQ ID NOs: 106, 122, 138 및 186으로 구성되는 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 가진 LCVR의 CDR을 포함한다.

[0039] 한 구체예에서, IL-25에 특이적으로 결합하는 분리된 항체 또는 그것의 항원-결합 단편은 SEQ ID NOs: 2, 18, 34, 50, 66, 82, 98, 114, 130, 146, 162, 178, 194, 210, 226, 242 및 258로 구성되는 군으로부터 선택된 HCVR 아미노산 서열을 포함한다.

[0040] 한 구체예에서, IL-25에 특이적으로 결합하는 분리된 항체 또는 그것의 항원-결합 단편은 SEQ ID NOs: 10, 26, 42, 58, 74, 90, 106, 122, 138, 154, 170, 186, 202, 218, 234, 250 및 266으로 구성되는 군으로부터 선택된 LCVR 아미노산 서열을 포함한다.

[0041] 한 구체예에서, IL-25에 특이적으로 결합하는 분리된 항체 또는 그것의 항원-결합 단편은 SEQ ID NOs: 2, 18, 34, 50, 66, 82, 98, 114, 130, 146, 162, 178, 194, 210, 226, 242 및 258로 구성되는 군으로부터 선택된 HCVR 아미노산 서열; 및 SEQ ID NOs: 10, 26, 42, 58, 74, 90, 106, 122, 138, 154, 170, 186, 202, 218,

234, 250 및 266으로 구성되는 군으로부터 선택된 LCVR 아미노산 서열을 포함한다.

[0042] 한 구체예에서, IL-25에 특이적으로 결합하는 분리된 항체 또는 그것의 항원-결합 단편은 SEQ ID NOs: 2/10, 18/26, 34/42, 50/58, 66/74, 82/90, 98/106, 114/122,30/138, 146/154, 162/170, 178/186, 194/202, 210/218, 226/234, 242/250 및 258/266으로 구성되는 군으로부터 선택된 HCVR/LCVR 아미노산 서열 쌍의 CDR을 포함한다.

[0043] 한 구체예에서, IL-25에 특이적으로 결합하는 분리된 항체 또는 항원-결합 단편은 SEQ ID NOs: 98/106; 114/122; 130/138; 및 178/186으로 구성되는 군으로부터 선택된 HCVR/LCVR 아미노산 서열 쌍의 CDR을 포함한다.

[0044] 한 구체예에서, IL-25에 특이적으로 결합하는 분리된 항체 또는 항원-결합 단편은 SEQ ID NOs: 2/10, 18/26, 34/42, 50/58, 66/74, 82/90, 98/106, 114/122, 130/138, 146/154, 162/170, 178/186, 194/202, 210/218, 226/234, 242/250 및 258/266으로 구성되는 군으로부터 선택된 HCVR/LCVR 아미노산 서열 쌍을 포함한다.

[0045] 한 구체예에서, IL-25에 특이적으로 결합하는 분리된 항체 또는 항원-결합 단편은 SEQ ID NOs: 98/106; 114/122; 130/138; 및 178/186으로 구성되는 군으로부터 선택된 HCVR/LCVR 아미노산 서열 쌍을 포함한다.

[0046] 본 발명은 또한 표 1에서 나열된 HCDR1 아미노산 서열 중 어느 것으로부터 선택된 아미노산 서열 또는 그것에 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 가진 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 중쇄 CDR1(HCDR1)을 포함하는, IL-25에 특이적으로 결합하는 항체 또는 그것의 항원-결합 단편을 제공한다.

[0047] 본 발명은 또한 표 1에서 나열된 HCDR2 아미노산 서열 중 어느 것으로부터 선택된 아미노산 서열 또는 그것에 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 가진 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 중쇄 CDR2(HCDR2)를 포함하는, IL-25에 특이적으로 결합하는 항체 또는 그것의 항원-결합 단편을 제공한다.

[0048] 본 발명은 또한 표 1에서 나열된 HCDR3 아미노산 서열 중 어느 것으로부터 선택된 아미노산 서열 또는 그것에 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 가진 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 중쇄 CDR3(HCDR3)를 포함하는, IL-25에 특이적으로 결합하는 항체 또는 그것의 항원-결합 단편을 제공한다.

[0049] 본 발명은 또한 표 1에서 나열된 LCDR1 아미노산 서열 중 어느 것으로부터 선택된 아미노산 서열 또는 그것에 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 가진 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 경쇄 CDR1(LCDR1)을 포함하는, IL-25에 특이적으로 결합하는 항체 또는 그것의 항원-결합 단편을 제공한다.

[0050] 본 발명은 또한 표 1에서 나열된 LCDR2 아미노산 서열 중 어느 것으로부터 선택된 아미노산 서열 또는 그것에 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 가진 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 경쇄 CDR2(LCDR2)를 포함하는, IL-25에 특이적으로 결합하는 항체 또는 그것의 항원-결합 단편을 제공한다.

[0051] 본 발명은 또한 표 1에서 나열된 LCDR3 아미노산 서열 중 어느 것으로부터 선택된 아미노산 서열 또는 그것에 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 가진 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 경쇄 CDR3(LCDR3)를 포함하는, IL-25에 특이적으로 결합하는 항체 또는 그것의 항원-결합 단편을 제공한다.

[0052] 본 발명은 또한 표 1에서 나열된 LCDR3 아미노산 서열 중 어느 것과 쌍을 이룬, 표 1에서 나열된 HCDR3 아미노산 서열 중 어느 것을 포함하는 HCDR3 및 LCDR3 아미노산 서열 쌍(HCDR3/LCDR3)을 포함하는, IL-25에 특이적으로 결합하는 항체 또는 그것의 항원-결합 단편을 제공한다. 특정 구체예에 따르면, 본 발명은 표 1에서 나열된 예시의 항-IL-25 항체 중 어느 것 내에 함유된 HCDR3/LCDR3 아미노산 서열 쌍을 포함하는 항체, 또는 그것의 항원-결합 단편을 제공한다. 특정 구체예에서, HCDR3/LCDR3 아미노산 서열 쌍은 104/112; 120/128; 136/144; 및 184/192로 구성되는 군으로부터 선택된다.

[0053] 본 발명은 또한 표 1에서 나열된 예시의 항-IL-25 항체 중 어느 것 내에 함유된 여섯 개의 CDR의 세트(즉, HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2, LCDR3)를 포함하는, IL-25에 특이적으로 결합하는 항체 또는 그것의 항원-결합 단편을 제공한다. 특정 구체예에서, HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2, LCDR3 아미노산 서열 세트는 (a) SEQ ID NOs: 100, 102, 104, 108, 110, 112; (b) SEQ ID NOs: 116, 118, 120, 124, 126, 128; (c) SEQ ID NOs: 132, 134, 136, 140, 142, 144; 및 (d) SEQ ID NOs: 180, 182, 184, 188, 190, 192로 구성되는 군으로부터 선택된다.

[0054] 관련 구체예에서, 본 발명은 표 1에서 나열된 예시의 항-IL-25 항체 중 어느 것에 의해 한정된 바와 같이 HCVR/LCVR 아미노산 서열 쌍 내에 함유된 여섯 개의 CDR의 세트(즉, HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2,

LCDR3)를 포함하는, IL-25에 특이적으로 결합하는 항체, 또는 그것의 항원-결합 단편을 제공한다. 예를 들어, 본 발명은 98/106; 114/122; 130/138 및 178/186으로 구성되는 군으로부터 선택된 HCVR/LCVR 아미노산 서열 쌍 내에 함유된 HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2, LCDR3 아미노산 서열 세트를 포함하는, IL-25에 특이적으로 결합하는 항체 또는 그것의 항원-결합 단편을 포함한다. HCVR 및 LCVR 아미노산 서열 내에서 CDR을 식별하는 방법 및 기술은 업계에 널리 공지되어 있으며, 본원에 개시된 특정된 HCVR 및/또는 LCVR 아미노산 서열 내에서 CDR을 식별하는데 사용될 수 있다. CDR의 경계를 식별하는데 사용될 수 있는 예시의 관례는, 예를 들어, 카바트(Kabat) 정의, 쵸티아(Chothia) 정의 및 AbM 정의를 포함한다. 일반적인 용어로, 카바트 정의는 서열 가변성을 기반으로 하고, 쵸티아 정의는 구조적 루프(loop) 영역의 위치를 기반으로 하며, AbM 정의는 카바트 접근법과 쵸티아 접근법의 절충안이다. 예를 들어, Kabat, "Sequences of Proteins of Immunological Interest", National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991); Al-Lazikani *et al.*, *J. Mol. Biol. 273*:927-948 (1997); 및 Martin *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86*:9268-9272 (1989) 참조. 공용 데이터베이스가 또한 항체 내 CDR 서열을 식별하는데 이용 가능하다.

[0055] 한 구체예에서, 본 발명은 다음을 포함하는 IL-25에 특이적으로 결합하는 분리된 항체 또는 그것의 항원-결합 단편을 제공한다:

[0056] (a) SEQ ID NOs: 4, 20, 36, 52, 68, 84, 100, 116, 132, 148, 164, 180, 196, 212, 228, 244 및 260으로 구성되는 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 가진 HCDR1 도메인;

[0057] (b) SEQ ID NOs: 6, 22, 38, 54, 70, 86, 102, 118, 134, 150, 166, 182, 198, 214, 230, 246 및 262로 구성되는 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 가진 HCDR2 도메인;

[0058] (c) SEQ ID NOs: 8, 24, 40, 56, 72, 88, 104, 120, 136, 152, 168, 184, 200, 216, 232, 248 및 264로 구성되는 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 가진 HCDR3 도메인;

[0059] (d) SEQ ID NOs: 12, 28, 44, 60, 76, 92, 108, 124, 140, 156, 172, 188, 204, 220, 236, 252 및 268로 구성되는 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 가진 LCDR1 도메인;

[0060] (e) SEQ ID NOs: 14, 30, 46, 62, 78, 94, 110, 126, 142, 158, 174, 190, 206, 222, 238, 254 및 270으로 구성되는 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 가진 LCDR2 도메인; 및

[0061] (f) SEQ ID NOs: 16, 32, 48, 64, 80, 96, 112, 128, 144, 160, 176, 192, 208, 224, 240, 256 및 272로 구성되는 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 가진 LCDR3 도메인.

[0062] 한 구체예에서, 본 발명은 다음을 포함하는 IL-25에 특이적으로 결합하는 분리된 항체 또는 그것의 항원-결합 단편을 제공한다:

[0063] (a) SEQ ID NOs: 100, 116, 132, 및 180으로 구성되는 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 가진 HCDR1 도메인;

[0064] (b) SEQ ID NOs: 102, 118, 134, 및 182로 구성되는 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 가진 HCDR2 도메인;

[0065] (c) SEQ ID NOs: 104, 120, 136, 및 184로 구성되는 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 가진 HCDR3 도메인;

[0066] (d) SEQ ID NOs: 108, 124, 140, 및 188로 구성되는 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 가진 LCDR1 도메인;

[0067] (e) SEQ ID NOs: 110, 126, 142, 및 190으로 구성되는 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 가진 LCDR2 도메인; 및

[0068] (f) SEQ ID NOs: 112, 128, 144, 및 192로 구성되는 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 가진 LCDR3 도메인.

[0069] 한 구체예에서, 본 발명은 (a) SEQ ID NOs: 100, 102, 104, 108, 110, 112; (b) SEQ ID NOs: 116, 118, 120, 124, 126, 128; (c) SEQ ID NOs: 132, 134, 136, 140, 142, 144; 및 (d) SEQ ID NOs: 180, 182, 184, 188, 190, 192로 구성되는 군으로부터 선택된 여섯 개의 CDR의 세트를 포함하는 분리된 항체 또는 그것의 항원-결합 단편을 제공한다.

[0070] 한 구체예에서, 본 발명은 인간 인터류킨-25(IL-25)에 결합하는 분리된 항체 또는 그것의 항원-결합 단편을 제공하며, 상기 항체 또는 그것의 항원-결합 단편은 표 1에 제시된 중쇄 가변 영역/경쇄 가변 영역(HCVR/LCVR) 아미노산 서열 쌍을 포함하는 기준 항체와 인간 IL-25에 대한 결합에 대해 경쟁한다. 기준 항체는 SEQ ID NOs: 2/10, 18/26, 34/42, 50/58, 66/74, 82/90, 98/106, 114/122, 130/138, 146/154, 162/170, 178/186, 194/202, 210/218, 226/234, 242/250 및 258/266으로 구성되는 군으로부터 선택된 HCVR/LCVR 아미노산 서열 쌍을 포함할

수 있다.

[0071] 한 구체예에서, 본 발명은 인간 인터류킨-25(IL-25)에 결합하는 분리된 항체 또는 그것의 항원-결합 단편을 제공하며, 상기 항체 또는 그것의 항원-결합 단편은 표 1에 제시된 중쇄 가변 영역/경쇄 가변 영역(HCVR/LCVR) 아미노산 서열 쌍을 포함하는 기준 항체와 인간 IL-25 상의 동일한 에피토프와 결합한다. 기준 항체는 SEQ ID NOs:2/10, 18/26, 34/42, 50/58, 66/74, 82/90, 98/106, 114/122, 130/138, 146/154, 162/170, 178/186, 194/202, 210/218, 226/234, 242/250 및 258/266으로 구성되는 군으로부터 선택된 HCVR/LCVR 아미노산 서열 쌍을 포함할 수 있다.

[0072] 제2 양태에서, 본 발명은 항-IL-25 항체 또는 그것의 일부를 암호화하는 핵산 분자를 제공한다. 예를 들어, 본 발명은 표 1에서 나열된 HCVR 아미노산 서열 중 어느 것을 암호화하는 핵산 분자를 제공한다; 특정 구체예에서, 핵산 분자는 표 2에서 나열된 HCVR 핵산 서열 중 어느 것으로부터 선택된 폴리뉴클레오타이드 서열, 또는 이것에 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 가진 실질적으로 유사한 서열을 포함한다.

[0073] 본 발명은 또한 표 1에서 나열된 LCVR 아미노산 서열 중 어느 것을 암호화하는 핵산 분자를 제공한다; 특정 구체예에서, 핵산 분자는 표 2에서 나열된 LCVR 핵산 서열 중 어느 것으로부터 선택된 폴리뉴클레오타이드 서열, 또는 이것에 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 가진 실질적으로 유사한 서열을 포함한다.

[0074] 본 발명은 또한 표 1에서 나열된 HCDR1 아미노산 서열 중 어느 것을 암호화하는 핵산 분자를 제공한다; 특정 구체예에서, 핵산 분자는 표 2에서 나열된 HCDR1 핵산 서열 중 어느 것으로부터 선택된 폴리뉴클레오타이드 서열, 또는 이것에 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 가진 실질적으로 유사한 서열을 포함한다.

[0075] 본 발명은 또한 표 1에서 나열된 HCDR2 아미노산 서열 중 어느 것을 암호화하는 핵산 분자를 제공한다; 특정 구체예에서, 핵산 분자는 표 2에서 나열된 HCDR2 핵산 서열 중 어느 것으로부터 선택된 폴리뉴클레오타이드 서열, 또는 이것에 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 가진 실질적으로 유사한 서열을 포함한다.

[0076] 본 발명은 또한 표 1에서 나열된 HCDR3 아미노산 서열 중 어느 것을 암호화하는 핵산 분자를 제공한다; 특정 구체예에서, 핵산 분자는 표 2에서 나열된 HCDR3 핵산 서열 중 어느 것으로부터 선택된 폴리뉴클레오타이드 서열, 또는 이것에 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 가진 실질적으로 유사한 서열을 포함한다.

[0077] 본 발명은 또한 표 1에서 나열된 LCDR1 아미노산 서열 중 어느 것을 암호화하는 핵산 분자를 제공한다; 특정 구체예에서, 핵산 분자는 표 2에서 나열된 LCDR1 핵산 서열 중 어느 것으로부터 선택된 폴리뉴클레오타이드 서열, 또는 이것에 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 가진 실질적으로 유사한 서열을 포함한다.

[0078] 본 발명은 또한 표 1에서 나열된 LCDR2 아미노산 서열 중 어느 것을 암호화하는 핵산 분자를 제공한다; 특정 구체예에서, 핵산 분자는 표 2에서 나열된 LCDR2핵산 서열 중 어느 것으로부터 선택된 폴리뉴클레오타이드 서열, 또는 이것에 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 가진 실질적으로 유사한 서열을 포함한다.

[0079] 본 발명은 또한 표 1에서 나열된 LCDR3 아미노산 서열 중 어느 것을 암호화하는 핵산 분자를 제공한다; 특정 구체예에서, 핵산 분자는 표 2에서 나열된 LCDR3 핵산 서열 중 어느 것으로부터 선택된 폴리뉴클레오타이드 서열, 또는 이것에 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 가진 실질적으로 유사한 서열을 포함한다.

[0080] 본 발명은 또한 HCVR을 암호화하는 핵산 분자를 제공하는데, HCVR은 세 개의 CDR의 세트(즉, HCDR1, HCDR2, HCDR3)를 포함하고, HCDR1, HCDR2, HCDR3 아미노산 서열 세트는 표 1에서 나열된 예시의 항-IL-25 항체 중 어느 것에 의해서 한정된 바와 같다.

[0081] 본 발명은 또한 LCVR을 암호화하는 핵산 분자를 제공하는데, LCVR은 세 개의 CDR의 세트(즉, LCDR1, LCDR2, LCDR3)를 포함하고, LCDR1, LCDR2, LCDR3 아미노산 서열 세트는 표 1에서 나열된 예시의 항-IL-25 항체 중 어느 것에 의해서 한정된 바와 같다.

[0082] 본 발명은 또한 HCVR 및 LCVR 둘 다를 암호화하는 핵산 분자를 제공하는데, HCVR은 표 1에서 나열된 HCVR 아미노산 서열 중 어느 것의 아미노산 서열을 포함하고, LCVR은 표 1에서 나열된 LCVR 아미노산 서열 중 어느 것의 아미노산 서열을 포함한다. 특정 구체예에서, 핵산 분자는 표 2에서 나열된 HCVR 핵산 서열 중 어느 것으로부터 선택된 폴리뉴클레오타이드 서열 또는 이것에 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 가진 실질적으로 유사한 서열, 및 표 2에서 나열된 LCVR 핵산 서열 중 어느 것으로부터 선택된 폴리뉴클레오타이드 서열 또는 이것에 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 가진 실질적으로 유사한 서열을 포함한다. 본 발명의 이 양태에 따르는 특정 구체예에서, 핵산 분자는 둘 다 표 1에서 나열된 같은 항-IL-25 항체로부터 유래되는 HCVR 및 LCVR을 암호화한다.

[0083] 제3 양태에서, 본 발명은 항-IL-25 항체의 중쇄 또는 경쇄 가변 영역을 포함하는 폴리펩타이드를 발현할 수 있는 재조합 발현 벡터를 제공한다. 예를 들어, 본 발명은 전술된 핵산 분자, 즉 표 1에서 제시된 바와 같이 HCVR, LCVR, 및/또는 CDR 서열 중 어느 것을 암호화하는 핵산 분자 중 어느 것을 포함하는 재조합 발현 벡터를 포함한다. 또한, 이러한 벡터가 도입된 숙주 세포, 뿐만 아니라 항체 또는 항체 단편의 생산을 허용하는 조건하에서 숙주 세포를 배양하고, 그렇게 생산된 항체 및 항체 단편을 회수함으로써 항체 또는 그것의 일부를 생산하는 방법이 본 발명의 범위 내에 포함된다.

[0084] 본 발명은 변형된 글리코실화 패턴을 가지는 항-IL-25 항체를 포함한다. 일부 구체예에서, 원치 않는 글리코실화 부위, 또는 올리고당 사슬에 존재하는 푸코스 모이어티가 없는 항체를 제거하기 위한 변형이, 예를 들어 항체 의존성 세포독성(antibody dependent cellular cytotoxicity; ADCC) 기능을 증가시키는데 유용할 수도 있다(Shield et al. (2002) JBC 277:26733 참조). 다른 용도에서는, 보체 의존성 세포독성(complement dependent cytotoxicity; CDC)을 변형시키기 위해 갈락토실화의 변형이 이루어질 수 있다.

[0085] 제4 양태에서, 본 발명은 IL-25에 특이적으로 결합하는 본 발명의 적어도 하나의 항체, 또는 그것의 항원-결합 단편 및 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 약학적 조성물을 제공한다.

[0086] 관련 양태에서, 본 발명은 항-IL-25 항체와 제2 치료제의 조합인 조성물을 특징으로 한다. 한 구체예에서, 제2 치료제는 항-IL-25 항체와 유리하게 조합되는 임의의 작용제이다. 제2 치료제는 염증성 질환 또는 장애, 또는 염증성 질환 또는 장애의 적어도 하나의 증상을 완화시키는데 유용할 수 있다.

[0087] 특정 구체예에서, 제2 치료제는 비스테로이드계 항염제(NSAID), 스테로이드, 코르티코스테로이드(흡입 또는 국소), 면역억제제(예를 들어, 사이클로포스파미드), 항콜린제(예를 들어, 티오트로퓸), 무스카린제(예를 들어, 글리코피로늄), 포스포디에스테라제 억제제(예를 들어, 테오필린, 로플루밀라스트, 실로밀라스트), 베타 차단제, 사이클로스포린, 타클롤리무스, 피메크롤리무스, 아자티오프린, 메토트렉세이트, 크로몰린 나트륨, 프로테이나제 억제제, 기관제 확장제, 베타-2-아고니스트, 항히스타민, 에피네프린, 충혈완화제, 류코트리엔 억제제, 비만세포 억제제, 흉선 기질 림포포이에틴(TSLP) 안타고니스트, TNF 안타고니스트, IgE 안타고니스트, IL-1 안타고니스트, IL-4 또는 IL-4R 안타고니스트, IL-13 또는 IL-13R 안타고니스트, IL-4/IL-13 이중 안타고니스트, IL-5 안타고니스트, IL-6 또는 IL-6R 안타고니스트, IL-8의 안타고니스트, IL-9 안타고니스트, IL-12/23 안타고니스트, IL-22 안타고니스트, IL-17 안타고니스트, IL-31 안타고니스트, IL-33 안타고니스트, 흉선 기질 림포포이에틴 단백질(TSLP) 안타고니스트, 경구 PDE4 억제제, 및 IL-25에 대한 상이한 항체로 구성되는 군으로부터 선택될 수 있다.

[0088] 제5 양태에서, 본 발명은 본 발명의 항-IL-25 항체 또는 항체의 항원-결합 단백질을 사용하여, IL-25 활성 또는 발현과 관련된 질환 또는 장애, 또는 이러한 질환 또는 장애와 관련된 적어도 하나의 증상을 치료하기 위한 치료 방법을 제공한다. 본 발명의 이 양태에 따른 치료 방법은 본 발명의 항체 또는 항체의 항원-결합 단편을 포함하는 약학적 조성물의 치료적 유효량을 그것이 필요한 대상체에 투여하는 단계를 포함한다. 치료되는 장애는 IL-25를 표적화하고 및/또는 IL-25-매개된 세포 신호화를 억제함으로써 개선, 완화, 억제 또는 예방되는 임의의 질환 또는 상태이다.

[0089] 특정 구체예에서, 본 발명의 항-IL-25 항체, 또는 그것의 항원-결합 부분으로 치료될 수 있는 질환 또는 장애는 천식, 알러지, 알러지성 비염, 알러지성 기도 염증, 자가면역 질환, 만성 폐쇄성 폐질환(COPD), 호산성 폐렴, 호산성 식도염, 과호산구 증후군, 이식편-대-숙주병, 아토피 피부염(AD), 만성 특발성 두드러기를 포함하는 두드러기, 건선, 염증성 장질환(IBD), 관절염, 포도막염, 심혈관 질환, 통증, 다발성 경화증, 루프스, 혈관염, 및 호산성 다발혈관염 육아종증((EGPA), 척스트라우스 증후군이라고도 알려짐)으로 구성되는 군으로부터 선택될 수 있다.

[0090] 한 구체예에서, 본 발명의 항체, 또는 그것의 항원-결합 단편에 의해서 치료될 수 있는 천식은 알러지성 천식, 비알러지성 천식, 중증 난치성 천식, 악화된 천식, 바이러스 유발 천식, 또는 바이러스 유발 악화된 천식, 스테로이드 내성 천식, 스테로이드 민감성 천식, 호산성 천식 또는 비호산성 천식 및 기도 염증 또는 기도 과민성(AHR)을 특징으로 하는 다른 관련된 장애로 구성되는 군으로부터 선택될 수 있다.

[0091] 한 구체예에서, 본 발명의 항체, 또는 그것의 항원-결합 단편에 의해서 치료될 수 있는 COPD는 담배 흡연, 공기 오염, 직업관련 화학물질, 알러지 또는 기도 과민성과 부분적으로 관련되거나, 또는 그것에 의해서 야기된다.

[0092] 한 구체예에서, 본 발명의 항체, 또는 그것의 항원-결합 단편에 의해서 치료될 수 있는 AD는 상피 장벽 기능부전, 알러지, 또는 방사선 노출과 부분적으로 관련되거나, 또는 그것에 의해서 야기된다.

[0093] 본 발명의 항체, 또는 그것의 항원-결합 단편에 의해서 치료될 수 있는 알러지는 특정한 음식, 화분, 곰팡이, 먼지 진드기, 동물, 또는 동물 비듬으로 인한 것일 수 있다.

[0094] 한 구체예에서, 본 발명의 항체, 또는 그것의 항원-결합 단편에 의해서 치료될 수 있는 IBD는 궤양성 대장염, 크론병, 교원성 대장염, 림프구성 대장염, 허혈성 대장염, 우회 대장염, 베체트 증후군, 감염성 대장염, 부정성 대장염, 및 큰창자 또는 결장의 점막층의 염증을 특징으로 하는 다른 장애들로 구성되는 군으로부터 선택될 수 있다.

[0095] 한 구체예에서, 본 발명의 항체, 또는 그것의 항원-결합 단편에 의해서 치료될 수 있는 관절염은 골관절염(OA), 류마티스성 관절염 및 건선성 관절염으로 구성되는 군으로부터 선택될 수 있다.

[0096] 다른 구체예들이 이후의 상세한 설명의 리뷰로부터 명백해질 것이다.

도면의 간단한 설명

[0097] 도 1은 인간 IL-25에 대한 항-IL-25 항체들 간의 교차 경쟁을 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0098] 본 발명이 기술되기 전에, 본 발명은 기술된 특정 방법 및 실험 조건이 달라질 수도 있기 때문에, 이러한 방법 및 조건에 제한되지 않는 것으로 생각되어야 한다. 또한, 본원에서 사용된 용어는 단지 특정 구체예를 기술하려는 목적만을 위한 것이며, 본 발명의 범위는 첨부된 청구범위에 의해서만 제한되기 때문에, 제한하려는 의도는 아닌 것으로 생각되어야 한다.

[0099] 달리 한정되지 않으면, 본원에서 사용되는 모든 기술적 및 과학적 용어는 본 발명이 속한 업계의 당업자에 의해 일반적으로 이해되는 바와 같은 의미를 가진다. 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "약"은, 특정 나열된 수치에 관하여 사용될 때, 그 값이 나열된 값과 1% 이하만큼 다를 수도 있다는 것을 의미한다. 예를 들어, 본원에서 사용된 바와 같이, 표현 "약 100"은 99 및 101 및 그 사이의 모든 값(예를 들어, 99.1, 99.2, 99.3, 99.4, 등)을 포함한다.

[0100] 본원에서 기술된 방법 및 재료와 유사하거나 동등한 임의의 방법 및 재료가 본 발명의 실행 또는 테스트에 사용될 수 있지만, 바람직한 방법 및 재료가 이제 기술된다. 본 명세서에서 언급된 모든 특허, 출원 및 비-특허 간행물은 그 전문이 본원에 참조로 포함된다.

[0101] **정의**

[0102] 표현 "인터류킨-25", "IL-25" 등은 "IL-17E"로도 알려져 있으며, 수탁 번호 NP_073626.1의 아미노산 잔기 33-177에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 인간 사이토카인이다(다른 종으로부터의 것이라고 지정되지 않는다면). myc-myc-헥사히스티딘 택을 함유하는 인간 IL-25는 SEQ ID NO: 273으로 나타낸다(아미노산 잔기 1-145는 신호 서열 없는 인간 IL-25이고, 아미노산 잔기 146-173은 myc-myc-헥사히스티딘 택이다). SEQ ID NO: 274(아미노산 잔기 1-144는 *M. fascicularis* IL-25이고, 아미노산 잔기 145-172는 myc-myc-헥사히스티딘 택이다)로 나타낸, myc-myc-헥사히스티딘 택을 함유하는 원숭이 IL-25(수탁 번호 XP_001107906.2의 아미노산 33-176); SEQ ID NO: 275(아미노산 잔기 1-153은 마우스 IL-25이고, 아미노산 잔기 154-181은 myc-myc-헥사히스티딘 택이다)로 나타낸, myc-myc-헥사히스티딘 택을 함유하는 마우스 IL-25(수탁 번호 NP_542767.1의 아미노산 17-169); 및 SEQ ID NO: 276(아미노산 잔기 1-153은 래트 IL-25이고, 아미노산 잔기 154-181은 myc-myc-헥사히스티딘 택이다)로 나타낸, myc-myc-헥사히스티딘 택을 함유하는 래트 IL-25(수탁 번호 NP_001178936.1의 아미노산 17-169)를 포함하는 추가의 IL-25 단백질이 본원에서 설명된다.

[0103] 본원에서 단백질, 폴리펩타이드 및 단백질 단편에 대한 모든 언급은 비-인간 종의 것으로 명백하게 명시되지 않는 한 각각의 단백질, 폴리펩타이드 또는 단백질 단편의 인간 버전을 말하는 것으로 의도된다. 따라서, 표현 "IL-25"는 비-인간 종의 것, 예를 들어 "원숭이 IL-25", "마우스 IL-25", "래트 IL-25" 등으로 명시되지 않는 한 인간 IL-25를 의미한다.

[0104] 본원에서 사용된 바와 같이, 표현 "항-IL-25 항체"는 단일 특이성을 가지는 1가 항체, 뿐만 아니라 IL-25에 결합하는 제1 암(arm) 및 제2 (표적) 항원에 결합하는 제2 암을 포함하는 이중-특이적 항체 둘 다를 포함하며, 여기서 항-IL-25 암은 본원의 표 1에서 제시된 HCVR/LCVR 또는 CDR 서열 중 임의의 것을 포함한다. 표현 "항-IL-25 항체"는 또한 약물 또는 독소(즉, 세포독성제)에 콘쥬게이트된 항-IL-25 항체 또는 그것의 항원-결합 부분을 포함하는 항체-약물 콘쥬게이트(ADC)를 포함한다. 표현 "항-IL-25 항체"는 또한 방사성핵종에 콘쥬게이트된 항-IL-25 항체 또는 그것의 항원-결합 부분을 포함하는 항체-방사성핵종 콘쥬게이트(ARC)를 포함한다.

[0105] 용어 "항-IL-25 항체"는, 본원에서 사용된 바와 같이, IL-25 또는 IL-25의 일부분에 특이적으로 결합하거나 이것과 상호작용하는 적어도 하나의 상보성 결정 영역(CDR)을 포함하는 임의의 항원-결합 분자 또는 분자 복합체를 의미한다. 용어 "항체"는 네 개의 폴리펩타이드 사슬, 이황화 결합에 의해 서로 연결된 두 개의 중쇄(H) 및 두 개의 경쇄(L)를 포함하는 면역글로불린 분자, 뿐만 아니라 그것들의 멀티머(예를 들어, IgM)를 포함한다. 각각의 중쇄는 중쇄 가변 영역(본원에서 HCVR 또는 V_H로 축약됨) 및 중쇄 불변 영역을 포함한다. 중쇄 불변 영역은 세 개의 도메인, C_H1, C_H2 및 C_H3를 포함한다. 각각의 경쇄는 경쇄 가변 영역(본원에서 LCVR 또는 V_L로 축약됨) 및 경쇄 불변 영역을 포함한다. 경쇄 불변 영역은 하나의 도메인(C_L1)을 포함한다. V_H 및 V_L 영역은 프레임워크 영역(FR)으로 불리는 더 보존된 영역이 산재된, 상보성 결정 영역(CDR)으로 불리는 초가변성의 영역으로 더 세분화될 수 있다. 각각의 V_H 및 V_L은 세 개의 CDR 및 네 개의 FR로 구성되며, 아미노 말단에서 카르복시 말단으로 다음 순서로 배열된다: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. 본 발명의 다른 구체예에서, 항-IL-25 항체(또는 그것의 항원-결합 부분)의 FR은 인간 생식 계열 서열과 동일할 수도 있거나, 자연적으로 또는 인공적으로 변형될 수도 있다. 아미노산 공통 서열은 둘 이상의 CDR의 사이드-바이-사이드(side-by-side) 분석에 기초하여 한정될 수 있다.

[0106] 용어 "항체"는 또한, 본원에서 사용된 바와 같이, 전체 길이 항체 분자의 항원-결합 단편을 포함한다. 용어 항체의 "항원-결합 부분", 항체의 "항원-결합 단편" 등은, 본원에서 사용된 바와 같이, 항원에 특이적으로 결합하여 복합체를 형성하는 임의의 효소에 의해 얻을 수 있는, 합성된, 또는 유전적으로 조작된 폴리펩타이드 또는 당단백질을 포함한다. 항체의 항원-결합 단편은 임의의 적합한 표준 기술, 예를 들어 단백질 가수분해 소화 또는 항체 가변 도메인 및 선택적으로 불변 도메인을 암호화하는 DNA의 조작 및 발현을 수반하는 재조합 유전자 조작 기술을 사용하여, 예를 들어 전체 항체 분자로부터 유래될 수 있다. 이러한 DNA는 공지되어 있고 및/또는, 예를 들어 상업적 공급처, DNA 라이브러리(예를 들어, 파지-항체 라이브러리 포함)로부터 쉽게 이용가능하거나 또는 합성될 수 있다. DNA는 시퀀싱되어, 예를 들어 하나 이상의 가변 및/또는 불변 도메인을 적합한 배치로 배열하거나, 또는 코돈을 도입하거나, 시스테인 잔기를 생성하거나, 아미노산을 변형시키거나, 추가하거나 또는 결실시키도록 화학적으로 또는 분자생물학 기술을 사용하여 조작될 수 있다.

[0107] 항원-결합 단편의 비제한적인 예들은 다음을 포함한다: (i) Fab 단편; (ii) F(ab')2 단편; (iii) Fd 단편; (iv) Fv 단편; (v) 단일 사슬 Fv (scFv) 분자; (vi) dAb 단편; 및 (vii) 항체 초가변 영역(예를 들어, 분리된 상보성 결정 영역(CDR), 예를 들어 CDR3 펩타이드), 또는 제약된 FR3-CDR3-FR4 펩타이드를 모방하는 아미노산 잔기로 구성된 최소 인식 유닛. 다른 조작된 분자, 예를 들어 도메인-특이적 항체, 단일 도메인 항체, 도메인-결실된 항체, 키메라 항체, CDR-이식된 항체, 디아바디(diabody), 트리아바디(triabody), 테트라바디(tetrabody), 미니바디(mini-body), 나노바디(예를 들어, 1가 나노바디, 2가 나노바디, 등), 소형 모듈 면역약제(SMIP), 및 상어 가변 IgNAR 도메인이 또한 본원에서 사용된 바와 같이 표현 "항원-결합 단편" 내에 포함된다.

[0108] 항체의 항원-결합 단편은 전형적으로 적어도 하나의 가변 도메인을 포함할 것이다. 가변 도메인은 임의의 크기 또는 아미노산 조성으로 되어 있을 수 있으며, 일반적으로는 하나 이상의 프레임워크 서열에 인접하거나 프레임 내에 있는 적어도 하나의 CDR을 포함한다. V_L 도메인과 회합된 V_H 도메인을 가진 항원-결합 단편에서, V_H 및 V_L 도메인은 서로에 대해 임의의 적합한 배열로 위치할 수 있다. 예를 들어, 가변 영역은 다이머일 수 있으며, V_H-V_H, V_H-V_L 또는 V_L-V_L 다이머를 함유할 수 있다. 대안으로, 항체의 항원-결합 단편은 모노머 V_H 또는 V_L 도메인을 함유할 수 있다.

[0109] 특정 구체예에서, 항체의 항원-결합 단편은 적어도 하나의 불변 도메인에 공유 결합에 의해 연결된 적어도 하나의 가변 도메인을 함유할 수 있다. 본 발명의 항체의 항원-결합 단편 내에서 발견될 수 있는 가변 및 불변 도메인의 비제한적 예시적 배치는 다음을 포함한다: (i) V_H-C_H1; (ii) V_H-C_H2; (iii) V_H-C_H3; (iv) V_H-C_H1-C_H2; (v) V_H-C_H1-C_H2-C_H3; (vi) V_H-C_H2-C_H3; (vii) V_H-C_L; (viii) V_L-C_H1; (ix) V_L-C_H2; (x) V_L-C_H3; (xi) V_L-C_H1-C_H2; (xii) V_L-C_H1-C_H2-C_H3; (xiii) V_L-C_H2-C_H3; 및 (xiv) V_L-C_L. 상기 나열된 예시의 배치 중 임의의 것을 포함하는 가변 및 불변 도메인의 임의의 배치에서, 가변 및 불변 도메인은 서로 직접 연결될 수 있거나 또는 전체 또는 부분적 힌지(hinge) 또는 링커(linker) 영역에 의해 연결될 수 있다. 힌지 영역은 단일 폴리펩타이드 분자에서 인접한 가변 및/또는 불변 도메인 사이에서 플렉시블(flexible) 또는 세미-플렉시블(semi-flexible) 연결을 발생시키는 적어도 2개(예를 들어, 5, 10, 15, 20, 40, 60개 이상)의 아미노산으로 구성될 수 있다. 더욱이, 본 발명의 항체의 항원-결합 단편은 서로 및/또는 하나 이상의 모노머 V_H 또는 V_L 도메인과의 비-공유 회합(예를 들어, 이황화 결합(들)에 의해)에서 상기 나열된 가변 및 불변 도메인 배치 중 어느 것의 호모다이머 또는 헤테로다이머(또는 다른 멀티머)를 포함할 수 있다.

[0110] 전체 항체 분자와 마찬가지로, 항원-결합 단편은 단일 특이적 또는 다중-특이적(예를 들어, 이중-특이적)일 수도 있다. 항체의 다중-특이적 항원-결합 단편은 전형적으로 적어도 두 개의 다른 가변 도메인을 포함할 것이며, 각각의 가변 도메인은 별개의 항원에 또는 같은 항원 상의 다른 에피토프에 특이적으로 결합할 수 있다. 본원에서 개시된 예시의 이중 특이적 항체 포맷을 포함하는 임의의 다중-특이적 항체 포맷은 업계에서 이용 가능한 일상적인 기술을 사용하여 본 발명의 항체의 항원-결합 단편의 맥락에서 사용되도록 개조될 수 있다.

[0111] 본 발명의 항체는 IL-25와 그것의 수용체 성분(들) 중 하나 이상의 상호작용을 차단하거나 방해함으로써 기능할 수 있다. 대안으로, 본 발명의 항체는 IL-25와 그것의 수용체의 상호작용을 차단하는 것을 수반하지 않는 메커니즘을 통해서 IL-25-매개된 신호화를 억제할 수 있다. 또 다른 구체예에서, 본 발명의 항체는 보체-의존성 세포독성(CDC) 또는 항체-의존성 세포-매개된 세포독성(ADCC)을 통해서 기능할 수 있다. "보체-의존성 세포독성"(CDC)은 보체의 존재하에 본 발명의 항체에 의한 항원-발현 세포의 용해를 말한다. "항체-의존성 세포-매개 세포독성"(ADCC)은 Fc 수용체(FcR)(예를 들어, 천연 킬러(NK) 세포, 호중구 및 대식세포)를 발현하는 비-특이적 세포독성 세포가 표적 세포 상에서 결합된 항체를 인식하고, 이로써 표적 세포의 용해를 초래하는 세포-매개 반응을 말한다. CDC 및 ADCC는 잘 알려진 본 분야에서 이용가능한 어쎄이를 사용하여 측정될 수 있다(예를 들어, 미국특허 제5,500,362호 및 제5,821,337호 및 Clynes *et al.* (1998) Proc. Natl. Acad. Sci. (USA) *95*:652-656 참조). 항체의 불변 영역은 보체를 고정하고 세포-의존성 세포독성을 매개하는 항체의 능력에 중요하다. 따라서, 항체의 아이소타입은 항체가 세포독성을 매개하기에 바람직한지의 여부에 기초하여 선택될 수 있다.

[0112] 용어 "인간 항체"는, 본원에서 사용된 바와 같이, 비-자연 발생 인간 항체를 포함하도록 의도된다. 이 용어는 비-인간 포유동물, 또는 비-인간 포유동물의 세포에서 재조합에 의해 생산되는 항체를 포함한다. 이 용어는 인간 대상체로부터 분리되거나 인간 대상체에서 생성된 항체를 포함하도록 의도되는 것은 아니다.

[0113] 본 발명의 항체는, 일부 구체예에서는, 재조합 및/또는 비-자연 발생 인간 항체일 수 있다. 용어 "재조합 인간 항체"는, 본원에서 사용된 바와 같이, 재조합 수단에 의해 제조, 발현, 생성 또는 분리된 모든 인간 항체, 예를 들어 숙주 세포로 트랜스펙션된 재조합 발현 벡터를 사용하여 발현된 항체(하기 더 기술됨), 재조합에 의해 조합된 인간 항체 라이브러리로부터 분리된 항체(하기 더 기술됨), 인간 면역글로불린 유전자가 이식된 동물(예를 들어, 마우스)로부터 분리된 항체(예를 들어, Taylor et al. (1992) Nucl. Acids Res. 20:6287-6295 참조) 또는 인간 면역글로불린 유전자 서열을 다른 DNA 서열로 스플라이싱하는 단계를 수반하는 임의의 다른 수단에 의해 제조, 발현, 생성 또는 분리된 항체를 포함하도록 의도된다. 특정 구체예에서, 이러한 재조합 인간 항체는 시험관내 돌연변이 생성(또는 인간 Ig 서열이 이식된 동물이 사용될 때는, 생체내 체세포 돌연변이 생성)되고, 따라서 재조합 항체의 V_H 및 V_L 영역의 아미노산 서열은 인간 생식 계열 V_H 및 V_L 서열과 관련이 있는 한편, 생체내 인간 항체 생식 계열 레퍼토리 내에서는 자연적으로 존재하지 않을 수도 있는 서열이다.

[0114] 인간 항체는 힌지 이질성과 관련된 두 가지 형태로 존재할 수 있다. 한 형태에서, 면역글로불린 분자는 다이머가 사슬간 중쇄 이황화 결합에 의해 결합되는, 대략 150-160 kDa의 안정한 네 개의 사슬 구조를 포함한다. 제2 형태에서, 다이머는 사슬간 이황화 결합을 통해 연결되지 않으며 약 75-80 kDa의 분자가 공유 결합에 의해 커플링된 경쇄 및 중쇄로 구성된다. 이 형태들은 심지어 친화도 정제 후에도 분리하는 것이 매우 어려웠다.

[0115] 다양한 온전한 IgG 아이소타입에서 제2 형태의 출현 빈도는 항체의 힌지 영역 아이소타입과 관련된 구조적 차이

때문이지만, 이에 제한되는 것은 아니다. 인간 IgG4 힌지의 힌지 영역에서 단일 아미노산 치환은 제2 형태의 출현을 인간 IgG1 힌지를 사용하여 전형적으로 관찰되는 수준으로 크게 감소시킬 수 있다(Angal et al. (1993) Molecular Immunology 30:105). 본 발명은, 예를 들어 생산시, 원하는 항체 형태의 수율을 향상시키기에 바람직할 수 있는 힌지, C_H2 또는 C_H3 영역에 하나 이상의 돌연변이를 가지는 항체를 포함한다.

[0116] 용어 "특이적으로 결합하다", 또는 "~에 특이적으로 결합하다" 등은 항체 또는 그것의 항원-결합 단편이 생리학적 조건하에서 비교적 안정한 항원과 복합체를 형성한다는 것을 의미한다. 특이적 결합은 적어도 약 $1x10^{-6}$ M 미만의 평형 해리 상수를 특징으로 할 수 있다(예를 들어, 더 작은 K_D가 더 단단한 결합을 나타낸다). 두 개의 분자가 특이적으로 결합하는지 여부를 결정하기 위한 방법은 업계에 널리 공지되어 있으며, 예를 들어 평형 투석, 표면 플라스몬 공명 등을 포함한다. 본원에서 기술된 바와 같이, IL-25에 특이적으로 결합하는 항체는 표면 플라스몬 공명, 예를 들어 BIACORE™에 의해 식별되었다. 더욱이, IL-25 단백질 및 하나 이상의 추가적인 항원에 결합하는 다중-특이적 항체 또는 IL-25의 두 개의 다른 영역에 결합하는 이중-특이적 항체는 그럼에도 불구하고 본원에서 사용된 바와 같이 "특이적으로 결합하는" 항체로 간주된다.

[0117] 본 발명의 항체는 분리된 항체일 수 있다. "분리된 항체"는, 본원에서 사용된 바와 같이, 천연 환경의 적어도 하나의 구성요소로부터 식별되고 분리 및/또는 회수된 항체를 의미한다. 예를 들어, 유기체의 적어도 하나의 구성요소, 또는 항체가 자연적으로 존재하거나 자연적으로 생산되는 조직 또는 세포로부터 분리 또는 제거된 항체는 본 발명의 목적을 위한 "분리된 항체"이다. 분리된 항체는 또한 재조합 세포 내 인시츄(*in situ*) 항체를 포함한다. 분리된 항체는 적어도 하나의 정제 또는 분리 단계를 거친 항체이다. 특정 구체예에 따르면, 분리된 항체에는 다른 세포 물질 및/또는 화학 물질이 실질적으로 없을 수 있다.

[0118] 본원에서 개시된 항-IL-25 항체는 중쇄 및 경쇄 가변 도메인의 프레임워크 및/또는 CDR 영역에서 하나 이상의 아미노산 치환, 삽입 및/또는 결실을 포함할 수 있다. 이러한 돌연변이는 본원에서 개시된 아미노산 서열을, 예를 들어 공용 항체 서열 데이터베이스로부터 이용 가능한 서열과 비교함으로써 쉽게 확인될 수 있다. 일단 획득한 후, 하나 이상의 돌연변이를 함유한 항체 및 항원-결합 단편은 하나 이상의 원하는 성질, 예를 들어 향상된 결합 특이성, 증가된 결합 친화도, 향상된 또는 강화된 안타고니스트 또는 아고니스트의 생물학적 성질(경우에 따라), 감소된 면역원성 등에 대하여 쉽게 테스트될 수 있다. 이러한 일반적인 방식으로 얻어진 항체 및 항원-결합 단편은 본 발명 내에 포함된다.

[0119] 본 발명은 또한 하나 이상의 보존적 치환을 가진, 본원에서 개시된 HCVR, LCVR, 및/또는 CDR 아미노산 서열 중 어느 것의 변종을 포함하는 항-IL-25 항체를 포함한다. 예를 들어, 본 발명은 본원의 표 1에서 제시된 HCVR, LCVR, 및/또는 CDR 아미노산 서열 중 어느 것에 관하여, 예를 들어, 10개 이하, 8개 이하, 6개 이하, 4개 이하, 등의 보존적 아미노산 치환을 가진 HCVR, LCVR, 및/또는 CDR 아미노산 서열을 가지는 항-IL-25 항체를 포함한다.

[0120] 용어 "에피토프"는 파라토프로 알려져 있는 항체 분자의 가변 영역에서 특이적 항원 결합 부위와 상호작용하는 항원의 결정요인을 말한다. 따라서, 다른 항체는 항원의 다른 부분에 결합할 수도 있고 다른 생물학적 효과를 가질 수도 있다. 에피토프는 입체구조 또는 선형일 수 있다. 입체구조 에피토프는 선형 폴리펩타이드 사슬의 다른 세그먼트로부터 공간적으로 병치된 아미노산에 의해 생산된다. 선형 에피토프는 폴리펩타이드 사슬에서 인접한 아미노산 잔기에 의해 생산된 것이다. 특정 상황에서, 에피토프는 항원 상의 당류, 포스포릴 기, 또는 설포닐 기의 모이어티를 포함할 수 있다.

[0121] 핵산 또는 그것의 단편을 나타낼 때, 용어 "실질적 동일성" 또는 "실질적으로 동일한"은, 하기 논의된 바와 같이, 또 다른 핵산(또는 그것의 상보적 가닥)으로 적절한 뉴클레오타이드 삽입 또는 결실에 맞게 최적으로 정렬될 때, 서열 동일성의 임의의 널리 공지되어 있는 알고리즘, 예를 들어 FASTA, BLAST 또는 Gap에 의해 측정된 바와 같이, 뉴클레오타이드 염기의 적어도 약 95%, 및 더 바람직하게는 적어도 약 96%, 97%, 98% 또는 99%에서 뉴클레오타이드 서열 동일성이 있다는 것을 나타낸다. 참조 핵산 분자에 대한 실질적 동일성을 가지는 핵산 분자는, 특정 경우에는, 참조 핵산 분자에 의해 암호화된 폴리펩타이드와 같거나 또는 실질적으로 유사한 아미노산 서열을 가진 폴리펩타이드를 암호화한다.

[0122] 폴리펩타이드에 적용된 바와 같이, 용어 "실질적 유사성" 또는 "실질적으로 유사한"은 디폴트 갭 중량(default gap weight)를 사용하여, 예를 들어 GAP 또는 BESTFIT에 의해 최적으로 정렬될 때, 두 개의 펩타이드 서열이 적어도 95% 서열 동일성, 더 바람직하게는 적어도 98% 또는 99% 서열 동일성을 공유한다는 것을 의미한다. 바람직하게는, 동일하지 않은 잔기 위치는 보존적 아미노산 치환만큼 다르다. "보존적 아미노산 치환"은 아미노산

잔기가 유사한 화학적 성질(예를 들어, 전하 또는 소수성)을 가진 측쇄(R 기)를 가지는 또 다른 아미노산 잔기에 의해 치환된 것이다. 일반적으로, 보존적 아미노산 치환은 실질적으로는 단백질의 기능적 성질을 변화시키지 않을 것이다. 둘 이상의 아미노산 서열이 보존적 치환에 의해 서로 다른 경우에서, 퍼센트 동일성 또는 유사성의 정도는 치환의 보존적 성질에 교정하기 위해 상향조정될 수 있다. 이 조정을 위한 수단은 당업자에게 널리 공지되어 있다. 예를 들어, Pearson (1994) Methods Mol. Biol. 24: 307-331 참조, 본원에 참조로 포함됨. 유사한 화학적 성질을 가진 측쇄를 가지는 아미노산의 군의 예는 (1) 지방족 측쇄: 글리신, 알라닌, 발린, 류신 및 아이소류신; (2) 지방족-하이드록실 측쇄: 세린 및 트레오닌; (3) 아미드-함유 측쇄: 아스파라긴 및 글루타민; (4) 방향족 측쇄: 페닐알라닌, 티로신, 및 트립토판; (5) 염기성 측쇄: 리신, 아르기닌, 및 히스티딘; (6) 산성 측쇄: 아스파르테이트 및 글루타메이트, 및 (7) 황-함유 측쇄: 시스테인 및 메티오닌을 포함한다. 바람직한 보존적 아미노산 치환 기는 발린-류신-아이소류신, 페닐알라닌-티로신, 리신-아르기닌, 알라닌-발린, 글루타메이트-아스파르테이트, 및 아스파라긴-글루타민이다. 대안으로, 보존적 대체는 본원에 참조로 포함된 Gonnet *et al.* (1992) Science 256: 1443-1445에서 기술된 PAM250 로그-우도(log-likelihood) 매트릭스에서 양의 값을 가지는 임의의 변화이다. "중간 보존적" 대체는 PAM250 로그-우도 매트릭스에서 비음성 값을 가지는 임의의 변화이다.

[0123] 서열 동일성으로도 불리는, 폴리펩타이드의 서열 유사성은 전형적으로 서열 분석 소프트웨어를 사용하여 측정된다. 단백질 분석 소프트웨어는 보존적 아미노산 치환을 포함하는 다양한 치환, 결실 및 다른 변형에 할당된 유사성의 측정값을 사용하여 유사한 서열과 일치시킨다. 예를 들어, GCG 소프트웨어는 Gap및 Bestfit와 같은 프로그램을 함유하며, 이것들은 디폴트 파라미터와 함께 밀접하게 관련된 폴리펩타이드, 예를 들어 유기체의 다른 종의 상동성 폴리펩타이드 사이에서 또는 야생형 단백질 및 그것의 돌연변이 단백질 사이에서 서열 상동성 또는 서열 동일성을 결정하는데 사용될 수 있다. 예를 들어, GCG Version 6.1 참조. 폴리펩타이드 서열은 또한 디폴트 또는 권장 파라미터를 사용하는 FASTA, GCG Version 6.1 내 프로그램을 사용하여 비교될 수 있다. FASTA (예를 들어, FASTA2 및 FASTA3)는 문의 및 검색 서열 사이에서 최상의 중첩 영역의 정렬 및 퍼센트 서열 동일성을 제공한다(Pearson (2000) 상기). 본 발명의 서열을 다른 유기체들의 다수의 서열을 함유하는 데이터베이스와 비교할 때 또 다른 바람직한 알고리즘은 디폴트 파라미터를 사용하는 컴퓨터 프로그램 BLAST, 특히 BLASTP 또는 TBLASTN이다. 예를 들어, Altschul *et al.* (1990) J. Mol. Biol. 215:403-410 및 Altschul *et al.* (1997) Nucleic Acids Res. 25:3389-402 참조, 각각은 본원에 참조로 포함됨.

[0124] **pH-의존적 결합**

[0125] 본 발명은 pH-의존적 결합 특성을 가진 항-IL-25 항체를 포함한다. 예를 들어, 본 발명의 항-IL-25 항체는 중성 pH와 비교하여 산성 pH에서 IL-25에 대한 감소된 결합을 나타낼 수 있다. 대안으로, 본 발명의 항-IL-25 항체는 중성 pH와 비교하여 산성 pH에서 강화된 IL-25에 대한 결합을 나타낼 수 있다. 표현 "산성 pH"는 약 6.2 미만, 예를 들어 약 6.0, 5.95, 5,9, 5.85, 5.8, 5.75, 5.7, 5.65, 5.6, 5.55, 5.5, 5.45, 5.4, 5.35, 5.3, 5.25, 5.2, 5.15, 5.1, 5.05, 5.0, 또는 그 미만의 pH 값을 포함한다. 본원에서 사용된 바와 같이, 표현 "중성 pH"는 약 7.0 내지 약 7.4의 pH를 의미한다. 표현 "중성 pH"는 약 7.0, 7.05, 7.1, 7.15, 7.2, 7.25, 7.3, 7.35, 및 7.4의 pH 값을 포함한다.

[0126] 특정 경우에서, "중성 pH와 비교하여 산성 pH에서 감소된 IL-25에 대한 결합"은 산성 pH에서 IL-25에 결합하는 항체의 K_D 값 대 중성 pH에서 IL-25에 결합하는 항체의 K_D 값의 비율(또는 그 반대)로 표시된다. 예를 들어, 항체 또는 그것의 항원-결합 단편은, 항체 또는 그것의 항원-결합 단편이 약 3.0 이상의 산성/중성 K_D 비율을 나타내는 경우 본 발명의 목적을 위해서 "중성 pH와 비교하여 산성 pH에서 IL-25에 대한 감소된 결합"을 나타내는 것으로 간주될 수 있다. 특정 예시의 구체예에서, 본 발명의 항체 또는 항원-결합 단편에 대한 산성/중성 K_D 비율은 약 3.0, 3.5, 4.0, 4.5, 5.0, 5.5, 6.0, 6.5, 7.0, 7.5, 8.0, 8.5, 9.0, 9.5, 10.0, 10.5, 11.0, 11.5, 12.0, 12.5, 13.0, 13.5, 14.0, 14.5, 15.0, 20.0. 25.0, 30.0, 40.0, 50.0, 60.0, 70.0, 100.0 또는 그 이상일 수 있다.

[0127] pH-의존적 결합 특성을 가진 항체는, 예를 들어 중성 pH와 비교하여 산성 pH에서 감소된(또는 강화된) 특정 항원으로의 결합에 대하여 항체의 집단을 스크리닝함으로써 얻어질 수 있다. 추가적으로, 아미노산 수준에서 항원-결합 도메인의 변형은 pH-의존적 특성을 가진 항체를 수득할 수 있다. 예를 들어, 항원-결합 도메인(예를 들어, CDR 내에서)의 하나 이상의 아미노산을 히스티딘 잔기로 치환함으로써, 중성 pH에 비해 산성 pH에서 감소된 항원-결합을 가지는 항체가 얻어질 수 있다.

[0128] **Fc 변종을 포함하는 항-IL-25 항체**

[0129] 본 발명의 특정 구체예에 따르면, 예를 들어 중성 pH와 비교하여 산성 pH에서 FcRn 수용체에 대한 항체 결합을 향상시키거나 감소시키는 하나 이상의 돌연변이를 포함하는 Fc 도메인을 포함하는 항-IL-25 항체가 제공된다. 예를 들어, 본 발명은 Fc 도메인의 C_H2 또는 C_H3 영역에 돌연변이를 포함하는 항-IL-25 항체를 포함하며, 돌연변이(들)는 산성 환경에서(예를 들어, pH의 범위가 약 5.5 내지 약 6.0인 엔도솜에서) FcRn에 대한 Fc 도메인의 친화도를 증가시킨다. 이러한 돌연변이는 동물에게 투여될 때 항체의 혈청 반감기의 증가를 초래할 수 있다. 이러한 Fc 변형의 비제한적 예는, 예를 들어 위치 250(예를 들어, E 또는 Q); 250 및 428 (예를 들어, L 또는 F); 252(예를 들어, L/Y/F/W 또는 T), 254(예를 들어, S 또는 T), 및 256(예를 들어, S/R/Q/E/D 또는 T)에서의 변형; 또는 위치 428 및/또는 433 (예를 들어, H/L/R/S/P/Q 또는 K) 및/또는 434(예를 들어, H/F 또는 Y)에서의 변형; 또는 위치 250 및/또는 428에서의 변형; 또는 위치 307 또는 308(예를 들어, 308F, V308F), 및 434에서의 변형을 포함한다. 한 구체예에서, 변형은 428L(예를 들어, M428L) 및 434S(예를 들어, N434S) 변형; 428L, 259I(예를 들어, V259I), 및 308F(예를 들어, V308F) 변형; 433K(예를 들어, H433K) 및 434(예를 들어, 434Y) 변형; 252, 254, 및 256(예를 들어, 252Y, 254T, 및 256E) 변형; 250Q 및 428L 변형(예를 들어, T250Q 및 M428L); 및 307 및/또는 308 변형(예를 들어, 308F 또는 308P)을 포함한다.

[0130] 예를 들어, 본 발명은 다음으로 구성된 군으로부터 선택된 돌연변이 중 하나 이상의 쌍 또는 군을 포함하는 Fc 도메인을 포함하는 항-IL-25 항체를 포함한다: 250Q 및 248L(예를 들어, T250Q 및 M248L); 252Y, 254T 및 256E(예를 들어, M252Y, S254T 및 T256E); 428L 및 434S(예를 들어, M428L 및 N434S); 및 433K 및 434F(예를 들어, H433K 및 N434F). 전술된 Fc 도메인 돌연변이, 및 본원에서 개시된 항체 가변 도메인 내 다른 돌연변이의 모든 가능한 조합이 본 발명의 범위 내에 있는 것으로 생각된다.

[0131] **항체의 생물학적 특징**

[0132] 본 발명은 25℃에서 표면 플라스몬 공명에 의해서 측정되었을 때 약 120 pM 미만의 K_D로 인간 IL-25와 결합하는 항-IL-25 항체를 포함한다. 특정 구체예에 따라서, 본 발명은 약 100 pM 미만, 약 90 pM 미만, 약 80 pM 미만, 약 70 pM 미만, 약 60 pM 미만, 약 50 pM 미만, 약 40 pM 미만, 약 30 pM 미만, 약 20 pM 미만, 약 18 pM 미만, 약 16 pM 미만, 약 14 pM 미만, 또는 약 12 pM 미만의 K_D로 인간 IL-25와 결합하는 항-IL-25 항체를 포함한다.

[0133] 본 발명은 25℃에서 표면 플라스몬 공명에 의해서 측정되었을 때 약 105분을 초과하는 해리 반감기(t½)로 인간 IL-25와 결합하는 항-IL-25 항체를 포함한다. 특정 구체예에 따라서, 본 발명은 약 105분 초과, 약 150분 초과, 약 175분 초과, 약 200분 초과, 약 250분 초과, 약 300분 초과, 약 350분 초과, 약 400분 초과, 약 450분 초과, 약 500분 초과, 약 550분 초과, 약 600분 초과, 약 700분 초과, 약 800분 초과, 약 900분 초과, 약 1000분 초과, 약 1100분 초과, 또는 약 1200분 초과의 t½로 인간 IL-25와 결합하는 항-IL-25 항체를 포함한다.

[0134] 본 발명은 원숭이 IL-25, 또는 마우스 또는 래트 IL-25에 결합할 수 있거나, 또는 결합하지 않을 수 있는 항-IL-25 항체를 포함한다. 본원에서 사용된 특정한 항원(예를 들어, 원숭이, 마우스 또는 래트 IL-25)"에 결합하지 않는" 항체는, 표면 플라스몬 공명과 같은 항원 결합 어쎄이에서 테스트되었을 때 항체가 약 1000 nM을 초과하는 K_D를 나타내거나, 또는 이러한 어쎄이에서 어떠한 항원 결합도 나타내지 않는 경우이다. 본 발명의 이 양태에 따르면, 항체가 특정한 항원에 결합하는지 또는 결합하지 않는지 결정하는데 사용될 수 있는 다른 어쎄이 포맷은 ELISA이다.

[0135] 본 발명은 약 2.0 nM 미만의 IC_{50}으로 IL-25 수용체(IL-17RA/IL-17RB)를 발현하도록 조작된 세포에서 인간 IL-25 신호화를 차단하는 항-IL-25 항체를 포함한다. 예를 들어, 본원의 실시예 6에 나타낸 대로, HEK293 세포가 인간 IL-17RA(수탁 번호 NP_055154.3의 아미노산 1-866) 및 IL-17RB(수탁 번호 NP_061195.2의 아미노산 1-502)를 안정하게 발현하도록 조작되었다. 이 셀라인은 또한 IL-17RA/IL-17RB 수용체를 통해서 IL-25-매개된 신호화의 검출을 허용하는 리포터 요소를 포함할 수 있다(예를 들어, 루시페라제 리포터 또는 IL-25와 그것의 수용체의 결합에 의해서 유도되는 다른 검출 가능한 수용체). 실시예 6에 설명된 어쎄이 포맷, 또는 실질적으로 유사한 어쎄이 포맷을 사용하여, IC_{50} 값은 항체의 부재하에 관찰된 최대 신호의 50%로 IL-25-매개된 신호화를 감소시키는데 필요한 항체의 농도로서 계산될 수 있다. 따라서, 특정 구체예에 따르면, 본 발명은 본원의 실시예 6에 설명된 어쎄이 포맷 또는 실질적으로 유사한 어쎄이를 사용하여 측정되었을 때, 약 720 pM 미만, 약 500 pM 미만, 약 400 pM 미만, 약 300 pM 미만, 약 200 pM 미만, 약 100 pM 미만, 약 90 pM 미만, 약 80 pM 미만,

약 70 pM 미만, 약 60 pM 미만, 약 50 pM 미만, 약 40 pM 미만, 약 30 pM 미만, 약 20 pM 미만, 약 10 pM 미만, 또는 약 5 pM 미만의 IC_{50}으로 IL-25 수용체(IL-17RA/IL-17RB)를 발현하도록 조작된 세포에서 인간 IL-25 신호화를 차단하는 항-IL-25 항체를 포함한다.

[0136] 본 발명은 약 16 nM 미만의 IC_{50}으로 인간 말초혈 단핵 세포(PBMC)에서 인간 IL-25 신호화를 차단하는 항-IL-25 항체를 포함한다. 예를 들어, 본원의 실시예 7에 나타낸 대로, 분리된 PBMC가 IL-25 및 다양한 양의 항-IL-25 항체와 함께 인큐베이션되었고, IL-25-매개된 신호화의 정도를 나타내기 위해 이 세포에 의해서 생성된 IL-5의 수준이 검출되었다. 실시예 7에 설명된 어쎄이 포맷, 또는 실질적으로 유사한 어쎄이 포맷을 사용하여, IC_{50} 값은 항체의 부재하에 관찰된 최대 신호의 50%로 IL-25-매개된 신호화를 감소시키는데 필요한 항체의 농도로서 계산될 수 있다. 따라서, 특정 구체예에 따르면, 본 발명은 본원의 실시예 7에 설명된 어쎄이 포맷 또는 실질적으로 유사한 어쎄이를 사용하여 측정되었을 때, 약 5 nM 미만, 약 4 nM 미만, 약 3 nM 미만, 약 1 nM 미만, 약 900 pM 미만, 약 800 pM 미만, 약 700 pM 미만, 약 600 pM 미만, 약 500 pM 미만, 약 400 pM 미만, 약 300 pM 미만, 약 200 pM 미만, 약 100 pM 미만, 약 90 pM 미만, 약 80 pM 미만, 약 70 pM 미만, 약 60 pM 미만, 약 50 pM 미만, 약 40 pM 미만, 약 30 pM 미만, 또는 약 20 pM 미만의 IC_{50}으로 PBMC에서 인간 IL-25 신호화를 차단하는 항-IL-25 항체를 포함한다. 한 구체예에서, 본 발명의 IL-25 항체는 약 30 pM 내지 약 150 pM의 범위의 IC_{50}으로 인간 PBMC에서 인간 IL-25 신호화를 차단한다.

[0137] 본 발명의 항체의 결합 특징(예를 들어, 상기 본원에서 언급된 결합 특징들 중 어느 것)은, "표면 플라스몬 공명에 의해서 측정되는" 것에 관해서 개시되었을 때, 항체와 항원 간 상호작용에 속하는 관련된 결합 특징이 본원의 실시예 2에 예시된 표준 Biacore 어쎄이 조건, 또는 실질적으로 유사한 어쎄이 포맷을 사용하는 표면 플라스몬 공명 기기(예를 들어, Biacore® 기기, GE Healthcare)를 사용하여 측정된다는 의미이다. 특정 구체예에서, 결합 변수는 25℃에서 측정되지만, 다른 구체예에서 결합 변수는 37℃에서 측정된다.

[0138] 본 발명은 실시예 8에 설명된 모델에 나타낸 대로, IL-25를 과발현하는 포유동물의 폐에서 발견된 IgG 수준 및/또는 순환하는 IgE 수준을 감소시키는 항-IL-25 항체를 포함한다. 또한, IL-25를 과발현하는 포유동물에서 배상세포 화생을 감소시키는 항-IL-25 항체가 본원의 실시예 8에서 설명된다.

[0139] 본 발명은 표 1에 나열된 HCVR 및/또는 LCVR 아미노산 서열 중 어느 것으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 HCVR 및/또는 LCVR을 포함하는, IL-25에 특이적으로 결합하는 항체 또는 그것의 항원-결합 단편을 포함한다.

[0140] 본 발명의 항체는 전술된 생물학적 특징 중 하나 이상, 또는 이들의 조합을 지닐 수 있다. 본 발명의 항체의 생물학적 특징의 전술한 리스트는 완벽한 것은 아니다. 본 발명의 항체의 다른 생물학적 특징들은 본원의 실시예를 포함하는 본 개시를 리뷰함으로써 당업자에게 자명해질 것이다.

[0141] **에피토프 맵핑 및 관련 기술**

[0142] 본 발명의 항체가 결합하는 에피토프는 IL-25 단백질의 3개 이상(예를 들어, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 또는 그 이상)의 아미노산의 단일 연속 서열로 구성될 수 있다. 대안으로, 에피토프는 IL-25의 복수의 비연속 아미노산(또는 아미노산 서열)으로 구성될 수 있다. 일부 구체예에서, 에피토프는 IL-25 수용체와 상호작용하는 IL-25의 표면에 또는 근처에 위치된다. 다른 구체예에서, 에피토프는 IL-25 수용체와 상호작용하지 않는 IL-25의 표면에 또는 근처에, 예를 들어 이러한 에피토프와 결합되었을 때 항체가 IL-25와 그것의 수용체 간 상호작용을 방해하지 않는 IL-25 표면의 위치에 위치된다.

[0143] 항체가 폴리펩타이드 또는 단백질 내에서 "하나 이상의 아미노산과 상호작용"하는지 여부를 결정하기 위해 당업자에게 공지되어 있는 다양한 기술들이 사용될 수 있다. 예시의 기술들은, 예를 들어 Antibodies, Harlow and Lane(Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harb., NY)에서 기술된 것과 같은 일상적인 교차-차단 검정, 알라닌 스캐닝 돌연변이 분석, 펩타이드 블롯(blot) 검정(Reineke, 2004, Methods Mol Biol 248:443-463), 및 펩타이드 절단 분석을 포함한다. 이에 더하여, 에피토프 절제, 에피토프 추출 및 항원의 화학적 변형과 같은 방법들이 이용될 수 있다(Tomer, 2000, Protein Science 9:487-496). 항체가 상호작용하는 폴리펩타이드 내에서 아미노산을 식별하는데 사용될 수 있는 또 다른 방법은 질량 분석법에 의해 검출되는 수소/중수소 교환이다. 일반적으로, 수소/중수소 교환 방법은 원하는 단백질을 중수소-라벨링한 후, 이어서 중수소-라벨링된 단백질에 항체를 결합시키는 단계를 수반한다. 다음에, 단백질/항체 복합체는 수소-중수소 교환이 항체(중수소-라벨링된 채로 유지됨)에 의해 보호되는 잔기를 제외한 모든 잔기에서 발생하도록 물로 이동된다. 항체의 해리 후, 표적 단백질은 프로테아제 절단 및 질량 분석법을 거치며, 이로 인해 항체가 상호작용하는 특이적 아미노산에 해당하

는 중수소-라벨링된 잔기를 나타낸다. 예를 들어, Ehring (1999) *Analytical Biochemistry* 267(2):252-259; Engen and Smith (2001) *Anal. Chem. 73*:256A-265A 참조.

[0144] 본 발명은 본원에서 기술된 특이적 예시의 항체 중 어느 것(예를 들어, 본원의 표 1에서 제시된 아미노산 서열 중 임의의 것을 포함하는 항체)과 같은 에피토프에 결합하는 항-IL-25 항체를 더 포함한다. 유사하게, 본 발명은 또한 IL-25에 대한 결합에 대하여 본원에서 기술된 특이적 예시의 항체 중 어느 것(예를 들어, 본원의 표 1에서 제시된 아미노산 서열 중 임의의 것을 포함하는 항체)과 경쟁하는 항-IL-25 항체를 포함한다.

[0145] 업계에 공지되고 본원에서 예시된 통상적인 방법을 사용함으로써 항체가 참조 항-IL-25 항체와 같은 에피토프에 결합하는지, 또는 결합에 대하여 기준 항-IL-25 항체와 경쟁하는지를 쉽게 결정할 수 있다. 예를 들어, 테스트 항체가 본 발명의 참조 항-IL-25 항체와 같은 에피토프에 결합하는지를 결정하기 위해서, 기준 항체는 IL-25 단백질에 결합하는 것이 허용된다. 다음에, IL-25 분자에 결합하는 테스트 항체의 능력이 평가된다. 테스트 항체가 기준 항-IL-25 항체와의 포화 결합 이후 IL-25에 결합할 수 있으면, 테스트 항체는 기준 항-IL-25 항체와 다른 에피토프에 결합하는 것으로 결론 내려질 수 있다. 다른 한편으로는, 테스트 항체가 기준 항-IL-25 항체와의 포화 결합 이후 IL-25에 결합할 수 없으면, 테스트 항체는 본 발명의 기준 항-IL-25 항체에 의해 결합된 에피토프와 같은 에피토프에 결합할 수 있다. 테스트 항체의 결합의 관찰된 결여가 사실상 기준 항체와 같은 에피토프로의 결합 때문인지 또는 입체적 차단(또는 또 다른 현상)의 원인이 관찰된 결합의 결여인지를 확인하기 위해 추가적인 통상적 실험(예를 들어, 펩타이드 돌연변이 및 결합 분석)이 수행될 수 있다. 이 부류의 실험들은 ELISA, RIA, Biacore, 유동 세포 분석법 또는 임의의 다른 정량적 항체-결합 검정 또는 업계에서 이용 가능한 정량적 항체-결합 검정을 사용하여 수행될 수 있다. 본 발명의 특정 구체예에 따르면, 예를 들어 한 항체의 1-, 5-, 10-, 20- 또는 100-배 초과량이 경쟁적 결합 검정에서 측정된 바와 같이 다른 것의 결합을 적어도 50% 하지만 바람직하게는 75%, 90% 또는 심지어는 99% 만큼 억제하는 경우, 두 개의 항체는 같은(또는 중첩) 에피토프에 결합한다(예를 들어, Junghans et al., Cancer Res. 1990:50:1495-1502 참조). 대안으로, 하나의 항체의 결합을 감소시키거나 제거하는 항원에서 근본적으로 모든 아미노산 돌연변이가 다른 것의 결합을 감소시키거나 제거하는 경우 두 개의 항체는 같은 에피토프에 결합하는 것으로 보인다. 단지 하나의 항체의 결합을 감소시키거나 제거하는 아미노산 돌연변이의 서브세트만이 다른 것의 결합을 감소시키거나 제거하는 경우 두 개의 항체는 "중첩 에피토프"를 갖는 것으로 보인다.

[0146] 항체가 결합에 대하여 기준 항-IL-25 항체와 경쟁하는지(또는 결합에 대하여 교차-경쟁하는지) 결정하기 위해서, 상기 기술된 결합 방법은 두 방향으로 수행된다: 첫 번째 방향으로는, 기준 항체는 포화 조건하에서 IL-25 단백질에 결합하는 것이 허용된 후 이어서 IL-25 분자에 테스트 항체의 결합이 평가된다. 두 번째 방향으로는, 테스트 항체는 포화 조건하에서 IL-25 분자에 결합하는 것이 허용된 후 이어서 IL-25 분자에 참조 항체의 결합이 평가된다. 두 방향 모두에서, 단지 첫 번째(포화) 항체만 IL-25 분자에 결합할 수 있는 경우, 테스트 항체 및 기준 항체는 IL-25 결합에 대하여 경쟁하는 것으로 결론 내려진다(예를 들어, 본원에서 실시예 4에 설명된 어쎄이 포맷을 참조하며, 여기서 IL-25 단백질은 센서 팁 위에 포착되고, IL-25-코팅된 센서 팁은 기준 항체[mAb-1]와 테스트 항-IL-25 항체[mAb-2]로 순차적으로 그리고 두 결합 순서로 처리된다). 당업자에 의해 이해되는 바와 같이, 결합에 대하여 기준 항체와 경쟁하는 항체가 반드시 기준 항체와 같은 에피토프에 결합하지 않을 수도 있지만, 중첩 또는 인접한 에피토프를 결합시킴으로써 기준 항체의 결합을 입체적으로 차단할 수도 있다.

[0147] **인간 항체의 제조**

[0148] 본 발명의 항-IL-25 항체는 완전한 인간 항체이지만 비-자연 발생 항체일 수 있다. 완전한 인간 단클론성 항체를 포함하는 단클론성 항체의 생성 방법은 업계에 공지되어 있다. 임의의 이러한 공지된 방법들은 본 발명의 맥락에서 인간 IL-25에 특이적으로 결합하는 인간 항체를 제조하는데 사용될 수 있다.

[0149] VELOCIMMUNE® 기술(예를 들어, US 6,596,541, Regeneron Pharmaceuticals, VELOCIMMUNE® 참조) 또는 단클론성 항체를 생성하기 위한 임의의 다른 공지된 방법을 사용하여, 인간 가변 영역 및 마우스 불변 영역을 가진, 알레르겐에 대한 고친화도 키메라 항체가 초기에 분리된다. VELOCIMMUNE® 기술은 마우스가 항원 자극에 반응하여 인간 가변 영역 및 마우스 불변 영역을 포함하는 항체를 생산하도록 내인성 마우스 불변 영역 유전자좌에 작동 가능하게 연결된 인간 중쇄 및 경쇄 가변 영역을 포함하는 게놈을 가진 트랜스제닉(transgenic) 마우스의 발생을 수반한다. 항체의 중쇄 및 경쇄의 가변 영역을 암호화하는 DNA가 분리되어 인간 중쇄 및 경쇄 불변 영역을 암호화하는 DNA에 작동 가능하게 연결된다. DNA는 이후 완전한 인간 항체를 발현할 수 있는 세포에서 발현된다.

[0150] 일반적으로, VELOCIMMUNE® 마우스는 원하는 항원으로 시험감염되고, 림프 세포(예를 들어, B-세포)는 항체를 발현하는 마우스로부터 회수된다. 림프 세포는 불멸의 하이브리도마(hybridoma) 세포주를 제조하기 위해 골수종(myeloma) 세포주와 융합될 수 있고, 이러한 하이브리도마 세포주는 원하는 항원에 특이적인 항체를 생산하는 하이브리도마 세포주를 식별하기 위해 스크리닝되고 선택된다. 중쇄 및 경쇄의 가변 영역을 암호화하는 DNA는 분리되어 중쇄 및 경쇄의 바람직한 아이소타입 불변 영역에 연결될 수 있다. 이러한 항체 단백질은 CHO와 같은 세포에서 생산될 수 있다. 대안으로, 항원-특이적 키메라 항체의 DNA 또는 경쇄 및 중쇄의 가변 도메인은 항원-특이적 림프구로부터 직접 분리될 수 있다.

[0151] 하기 실험 섹션에서 기술된 바와 같이, 인간 가변 영역 및 마우스 불변 영역을 가진, 분리된 고친화도 키메라 항체는 친화도, 선택성, 에피토프 등을 포함하는 바람직한 특성들에 대하여 특성화되고 선택된다. 마우스 불변 영역은 이후 원하는 인간 불변 영역으로 대체되어 본 발명의 완전한 인간 항체, 예를 들어 야생형 또는 변형된 IgG1 또는 IgG4를 생성한다. 선택된 불변 영역은 특이적 용도에 따라 달라질 수 있는 한편, 고친화도 항원-결합 및 표적 특이성 특성은 가변 영역에 존재한다.

[0152] 일반적으로, 본 발명의 항체는 매우 높은 친화도를 가지고 있으며, 전형적으로는 고체상에서 또는 액체상에서 고정된 항원으로의 결합에 의해 측정될 때, 약 10^{-12} 내지 약 10^{-9} M의 K_D를 가진다.

[0153] **생물학적 동등물**

[0154] 본 발명의 항-IL-25 항체 및 항체 단편은 기술된 항체의 아미노산 서열과 다르지만 인간 IL-25에 결합하는 능력을 보유하는 아미노산 서열을 가진 단백질을 포함한다. 이러한 변종 항체 및 항체 단편은 모체 서열과 비교하여 아미노산의 하나 이상의 추가, 결실, 또는 치환을 포함하지만, 기술된 항체와 근본적으로 동등한 생물학적 활성을 나타낸다. 마찬가지로, 본 발명의 항-IL-25 항체-암호화 DNA 서열은 개시된 서열과 비교하여 뉴클레오타이드의 하나 이상의 추가, 결실, 또는 치환을 포함하지만, 본 발명의 항-IL-25 항체 또는 항체 단편에 대하여 근본적으로 생물학적으로 동등한 항-IL-25 또는 항체 단편을 암호화하는 서열을 포함한다. 이러한 변종 아미노산 및 DNA 서열의 예는 상기 논의된다.

[0155] 두 개의 항원-결합 단백질, 또는 항체는, 예를 들어 유사한 실험 조건하에서 같은 몰 용량으로, 단일 용량 또는 다회수 용량으로 투여될 때 흡수율 및 흡수의 정도가 유의한 차이를 나타내지 않는 약학적 동등물 또는 약학적 대체물인 경우, 생물학적 동등물로 간주된다. 몇몇 항체는 흡수의 정도가 동등하지만 흡수율이 동등하지 않은 경우 동등물 또는 약학적 대체물인 것으로 간주될 것이지만 흡수율의 이러한 차이가 의도적이며 라벨링에 반영되고, 예를 들어 만성 사용에 대하여 효과적인 체내 약물 농도의 달성에 필수적인 것이 아니고, 연구되는 특정 약물 생성물에 대하여 의학적으로 유의하지 않은 것으로 간주되기 때문에 생물학적 동등물로서 간주될 수 있다.

[0156] 한 구체예에서, 두 개의 항원-결합 단백질은 안전성, 순도, 및 효능의 임상적으로 유의한 차이가 없는 경우 생물학적 동등물이다.

[0157] 한 구체예에서, 두 개의 항원-결합 단백질은 환자가 면역원성의 임상적으로 유의한 변화를 포함하는 부작용 위험의 예상치 못한 증가 또는 스위칭(switching)이 없는 지속적 치료법과 비교하여 감소된 효과 없이 참조 생성물 및 생물학적 생성물 사이에서 1회 이상 스위칭될 수 있는 경우 생물학적 동등물이다.

[0158] 한 구체예에서, 두 개의 항원-결합 단백질은 사용 조건 또는 조건들에 대한 일반적인 메커니즘 또는 메커니즘들에 의해 이러한 메커니즘이 공지된 정도로 작용하는 경우 생물학적 동등물이다.

[0159] 생물학적 동등성은 생체내 및 시험관내 방법에 의해 입증될 수 있다. 생물학적 동등성 측정은, 예를 들어 (a) 항체 또는 그것의 대사산물의 농도가 혈액, 혈장, 혈청, 또는 다른 생물학적 유체에서 시간의 함수로서 측정되는 인간 또는 다른 포유동물에서의 생체내 테스트; (b) 인간 생체 내 생체 이용률 데이터와 연관성이 있고 이것을 합리적으로 예측하는 시험관 내 테스트; (c) 항체(또는 그것의 표적)의 적절한 급성 약학적 효과가 시간의 함수로서 측정되는 인간 또는 다른 포유동물에서의 생체 내 테스트; 및 (d) 항체의 안전성, 효능, 또는 생체 이용률 또는 생물학적 동등성을 입증하는, 잘 제어된 임상 시험을 포함한다.

[0160] 본 발명의 항-IL-25 항체의 생물학적 동등물 변종은, 예를 들어 잔기 또는 서열의 다양한 치환을 제조함으로써 또는 생물학적 활성에 필요하지 않은 말단 또는 내부 잔기 또는 서열을 결실시킴으로써 구성될 수 있다. 예를 들어, 생물학적 활성에 필수이지 않은 시스테인 잔기는 결실되거나 다른 아미노산으로 대체되어 복원시 불필요하거나 부정확한 분자 내 이황화 브릿지(bridge)의 형성을 방지할 수 있다. 다른 맥락에서, 생물학적으로 동등한 항체는 항체의 글리코실화 특성을 변형시키는 아미노산 변화, 예를 들어 글리코실화를 없애거나(eliminate)

또는 제거(remove)하는 돌연변이를 포함하는 항-IL-25 항체 변종을 포함할 수 있다.

[0161] **다중 특이적 항체**

[0162] 본 발명의 항체는 단일 특이적 또는 다중 특이적(예를 들어, 이중 특이적)일 수 있다. 다중 특이적 항체는 하나의 표적 폴리펩타이드의 다른 에피토프에 특이적일 수 있거나 하나 이상의 표적 폴리펩타이드에 특이적인 항원-결합 도메인을 함유할 수 있다. 예를 들어, Tutt et al., 1991, J. Immunol. 147:60-69; Kufer *et al.*, 2004, Trends Biotechnol. 22:238-244 참조. 본 발명의 항-IL-25 항체는 또 다른 기능적 분자, 예를 들어 또 다른 펩타이드 또는 단백질에 연결되거나 이것과 동시-발현될 수 있다. 예를 들어, 항체 또는 그것의 단편은 하나 이상의 다른 분자 실체물, 예를 들어 또 다른 항체 또는 항체 단편에 기능적으로 연결되어(예를 들어, 화학적 커플링, 유전자 융합, 비공유 회합 등에 의해) 제2 결합 특이성을 가진 이중 특이적 또는 다중 특이적 항체를 생산할 수 있다.

[0163] 본 발명은 면역글로불린의 하나의 암이 인간 IL-25에 결합하고, 면역글로불린의 다른 암은 제2 항원에 특이적인 이중 특이적 항체를 포함한다. IL-25-결합 암은 본원의 표 1에서 제시된 HCVR/LCVR 또는 CDR 아미노산 서열 중 어느 것도 포함할 수 있다.

[0164] 본 발명의 맥락에서 사용될 수 있는 예시의 이중 특이적 항체 포맷은 제1 면역글로불린(Ig) C_H3 도메인 및 제2 Ig C_H3 도메인의 사용을 수반하며, 제1 및 제2 Ig C_H3 도메인은 서로 적어도 하나의 아미노산이 다르고, 적어도 하나의 아미노산 차이는 아미노산 차이가 없는 이중 특이적 항체와 비교하여 단백질 A로의 이중 특이적 항체의 결합을 감소시킨다. 한 구체예에서, 제1 Ig C_H3 도메인은 단백질 A에 결합하고 제2 Ig C_H3 도메인은 단백질 A 결합, 예를 들어 H95R 변형(IMGT 엑손 넘버링에 의해; EU 넘버링에 의해서는 H435R)을 감소시키거나 폐지하는 돌연변이를 함유한다. 제2 C_H3는 Y96F 변형(IMGT에 의해; EU에 의해서는 Y436F)을 더 포함할 수 있다. 제2 C_H3 내에서 발견될 수 있는 추가의 변형은 다음을 포함한다: IgG1 항체의 경우에 D16E, L18M, N44S, K52N, V57M, 및 V82I(IMGT에 의해; EU에 의해서는 D356E, L358M, N384S, K392N, V397M, 및 V422I); IgG2 항체의 경우에 N44S, K52N, 및 V82I(IMGT; EU에 의해서는 N384S, K392N, 및 V422I); 및 IgG4 항체의 경우에 Q15R, N44S, K52N, V57M, R69K, E79Q, 및 V82I(IMGT에 의해; EU에 의해서는 Q355R, N384S, K392N, V397M, R409K, E419Q, 및 V422I). 상기 기술된 이중 특이적 항체 포맷 상의 변이는 본 발명의 범위 내에 있는 것으로 생각된다.

[0165] 본 발명의 맥락에서 사용될 수 있는 다른 예시의 이중 특이적 포맷은, 제한 없이, 예를 들어 scFv-기반 또는 디아바디 이중 특이적 포맷, IgG-scFv 융합, 이중 가변 도메인(DVD)-Ig, 콰드로마(Quadroma), 놉스-인투-홀스(knobs-into-holes), 공통 경쇄(예를 들어, 놉스-인투-홀스를 가지는 공통 경쇄 등), CrossMab, CrossFab, (SEED)바디, 류신지퍼(zipper), 듀오바디(Duobody), IgG1/IgG2, 이중작용Fab(DAF)-IgG, 및 Mab^2 이중 특이적 포맷을 포함한다(전술 포맷의 재검토를 위해서, 예를 들어 Klein *et al.* 2012, mAb 4:6, 1-11, 및 본원에서 인용된 참고문헌 참조). 이중 특이적 항체는 또한 펩타이드/핵산 컨쥬게이션을 사용하여 구성될 수 있으며, 예를 들어 직교 화학 반응성을 가진 비천연 아미노산은 이후 한정된 조성, 원자가 및 기하학적 구조를 가진 멀티머 복합체로 자가-조립되는 부위-특이적 항체-올리고뉴클레오타이드 컨쥬게이트를 생성하는데 사용된다(예를 들어, Kazane *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.* [*Epub*: *Dec. 4, 2012*] 참조).

[0166] **치료적 제형 및 투여**

[0167] 본 발명은 본 발명의 항-IL-25 항체 또는 그것의 항원-결합 단편을 포함하는 약학적 조성물을 제공한다. 본 발명의 약학적 조성물은 적합한 담체, 부형제, 및 개선된 수송, 전달, 내성 등을 제공하는 다른 작용제와 함께 제형화된다. 모든 약사에게 공지된 처방집에서 다수의 적절한 제형이 발견될 수 있다: Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, PA. 이 제형들은, 예를 들어 분말, 페이스트, 연고, 젤리, 왁스, 오일, 지질, 지질(양이온성 또는 음이온성) 함유 소포(예를 들어, LIPOFECTIN™, Life Technologies, Carlsbad, CA), DNA 컨쥬게이트, 무수 흡수 페이스트, 수중유 및 유중수 에멀젼, 에멀젼 카보왁스(carbowax)(다양한 분자량의 폴리에틸렌 글리콜), 반고체 겔, 및 카보왁스를 함유하는 반고체 혼합물. 또한, Powell et al. "Compendium of excipients for parenteral formulations" PDA (1998) J Pharm Sci Technol 52:238-311 참조.

[0168] 환자에게 투여되는 항체의 용량은 환자의 나이 및 크기, 표적 질환, 상태, 투여 경로 등에 따라 다를 수 있다. 바람직한 용량은 전형적으로 체중 또는 체표면적에 따라 계산된다. 성인 환자에서, 본 발명의 항체를 보통 약 0.01 내지 약 20 mg/kg 체중, 더 바람직하게는 약 0.02 내지 약 7, 약 0.03 내지 약 5, 또는 약 0.05 내지 약

3 mg/kg 체중의 단일 용량으로 정맥 내 투여하는 것이 유리할 수 있다. 상태의 심각도에 따라, 처리 빈도 및 기간은 조정될 수 있다. 항-IL-25 항체를 투여하기 위한 효과적인 투약량 및 일정은 경험에 의해 결정될 수 있으며; 예를 들어, 환자의 경과는 주기적인 평가에 의해 모니터링될 수 있고, 따라서 용량이 조정된다. 더욱이, 투약량의 종간 스케일링(scaling)은 업계에 널리 공지된 방법을 사용하여 수행될 수 있다(예를 들어, Mordenti *et al.*, 1991, *Pharmaceut. Res. 8*:1351).

[0169] 다양한 전달 시스템이 공지되어 있으며, 본 발명의 약학적 조성물을 투여하는데 사용될 수 있고, 예를 들어 리포솜 내 캡슐화, 마이크로입자, 마이크로캡슐, 돌연변이 바이러스를 발현할 수 있는 재조합 세포, 수용체 매개 세포내 섭취(endo-cytosis)가 있다(예를 들어, Wu et al., 1987, J. Biol. Chem. 262:4429-4432). 도입 방법은 진피 내, 근육 내, 복강 내, 정맥 내, 피하, 비강 내, 경막 외, 및 경구 경로를 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 조성물은 임의의 편리한 경로로, 예를 들어 주입 또는 볼루스(bolus) 주사에 의해서, 또는 상피 또는 점막피부 라이닝(lining) (예를 들어, 구강 점막, 직장 및 장 점막, 등)을 통한 흡수에 의해 투여될 수도 있고, 다른 생물학적 활성제와 함께 투여될 수도 있다. 투여는 전신성 또는 국소적인 것일 수 있다.

[0170] 본 발명의 약학적 조성물은 표준 바늘 및 주사기를 이용하여 피하 또는 정맥 내로 전달될 수 있다. 이에 더하여, 피하 전달에 관하여, 펜 전달 디바이스는 본 발명의 약학적 조성물을 전달하는데 쉽게 적용될 수 있다. 이러한 펜 전달 디바이스는 재사용 가능하거나 일회용일 수 있다. 재사용 가능한 펜 전달 디바이스는 일반적으로 약학적 조성물을 함유한 교체 가능한 카트리지를 활용한다. 카트리지 내 모든 약학적 조성물이 투여되어 카트리지가 비어 있게 되면, 빈 카트리지는 쉽게 제거되고 약학적 조성물을 함유한 새로운 카트리지로 교체될 수 있다. 펜 전달 디바이스는 그 이후 재사용될 수 있다. 일회용 펜 전달 디바이스에서는, 교체 가능한 카트리지가 없다. 대신에, 일회용 펜 전달 디바이스는 디바이스 내 저장소에 보유된 약학적 조성물로 미리 채워져 있다. 저장소에 약학적 조성물이 없어지면, 전체 디바이스가 폐기된다.

[0171] 많은 재사용 가능한 펜 및 자동주사기 전달 디바이스는 본 발명의 약학적 조성물의 피하 전달에 적용된다. 예는, 단 몇 개의 이름을 들자면, AUTOPEN™(Owen Mumford, Inc., Woodstock, UK), DISETRONIC™ 펜(Disetronic Medical Systems, Bergdorf, Switzerland), HUMALOG MIX 75/25™ 펜, HUMALOG™ 펜, HUMALIN 70/30™ 펜(Eli Lilly and Co., Indianapolis, IN), NOVOPEN™ I, II 및 III(Novo Nordisk, Copenhagen, Denmark), NOVOPEN JUNIOR™(Novo Nordisk, Copenhagen, Denmark), BD™ 펜(Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ), OPTIPEN™, OPTIPEN PRO™, OPTIPEN STARLET™, 및 OPTICLIK™(sanofi-aventis, Frankfurt, Germany)을 포함하지만, 이에 제한되는 것은 아니다. 본 발명의 약학적 조성물의 피하 전달에 적용되는 일회용 펜 전달 디바이스의 예는, 단 몇 개의 이름을 들자면, SOLOSTAR™ 펜 (sanofi-aventis), FLEXPEN™(Novo Nordisk), 및 KWIKPEN™(Eli Lilly), SURECLICK™ 자동주사기(Amgen, Thousand Oaks, CA), PENLET™(Haselmeier, Stuttgart, Germany), EPIPEN(Dey, L.P.), 및 HUMIRA™ 펜(Abbott Labs, Abbott Park IL)을 포함하지만, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0172] 특정 상황에서, 약학적 조성물은 제어된 방출 시스템으로 전달될 수 있다. 한 구체예에서, 펌프가 사용될 수 있다(Langer, 상기; Sefton, 1987, CRC Crit. Ref. Biomed. Eng. 14:201 참조). 또 다른 구체예에서, 폴리머 재료가 사용될 수 있다; Medical Applications of Controlled Release, Langer and Wise (eds.), 1974, CRC Pres., Boca Raton, Florida 참조. 또 다른 구체예에서, 제어된 방출 시스템은 조성물의 표적에 근접하게 배치될 수 있으며, 따라서 전신 용량의 단지 일부만을 필요로 한다(예를 들어, Goodson, 1984, in Medical Applications of Controlled Release, supra, vol. 2, pp. 115-138 참조). 다른 제어된 방출 시스템은 Langer, 1990, Science 249:1527-1533에 의한 재검토에서 논의된다.

[0173] 주사 가능한 조제물은 정맥 내, 피하, 피부 내 및 근육 내 주사, 점적 주입, 등을 위한 투약 형태를 포함할 수 있다. 이 주사 가능한 조제물은 공지된 방법에 의해 제조될 수 있다. 예를 들어, 주사 가능한 조제물은, 예를 들어 주사에 통상적으로 사용되는 멸균 수성 매질 또는 유성 매질에 상기 기술된 항체 또는 그것의 염을 용해, 현탁 또는 에멀젼화함으로써 제조될 수 있다. 주사용 수성 배지로서, 예를 들어 생리 식염수, 글루코스 및 다른 보조제를 포함하는 등장성 용액 등이 있으며, 이것들은 적절한 가용화제, 예를 들어 알콜(예를 들어, 에탄올), 다가 알콜(예를 들어, 프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜), 비이온성 계면활성제[예를 들어, 폴리소르베이트 80, HCO-50(수소 첨가 피마자 오일의 폴리옥시에틸렌 (50 mol) 부가물)] 등과 조합으로 사용될 수 있다. 유성 매질로서, 예를 들어 참깨 오일, 대두 오일 등이 이용되며, 이것들은 가용화제, 예를 들어, 벤질 벤조에이트, 벤질 알콜 등과 조합으로 사용될 수 있다. 이와 같이 제조된 주사액은 바람직하게는 적절한 앰플에 채워진다.

[0174] 유리하게는, 상기 기술된 경구 또는 비경구 사용을 위한 약학적 조성물은 활성 성분의 용량에 맞추기에 적합한

단위 용량의 투약 형태로 제조된다. 단위 용량의 이러한 투약 형태는, 예를 들어 타블렛, 알약, 캡슐, 주사액(앰플), 좌약 등을 포함한다. 함유된 전술된 항체의 양은 일반적으로 단위 용량의 투약 형태 당 약 5 내지 약 500 mg이고; 특히 주사액의 형태에서, 전술된 항체는 약 5 내지 약 100 mg으로 및 다른 투약 형태에 대해서는 약 10 내지 약 250 mg으로 함유되는 것이 바람직하다.

[0175] **항체의 치료적 사용**

[0176] 본 발명은 항-IL-25 항체를 포함하는 치료 조성물을 그것이 필요한 대상체에 투여하는 단계를 포함하는 방법을 포함한다. 치료 조성물은 본원에서 개시된 항-IL-25 항체 또는 그것의 항원-결합 단편 중 어느 것, 및 약학적으로 허용 가능한 담체 또는 희석제를 포함할 수 있다.

[0177] 본 발명의 항체는 특히 IL-25 발현 또는 활성과 관련되거나 그것에 의해 매개되는 임의의 질환 또는 장애, 또는 IL-25와 IL-25 수용체 사이의 상호작용을 차단함으로써, 또는 아니면 IL-25 활성 및/또는 신호화를 억제함으로써 치료 가능한 임의의 질환 또는 장애의 치료, 예방 및/또는 완화에 유용하다.

[0178] 본 발명은 본원에서 개시된 항-IL-25 항체 또는 그것의 항원-결합 단편을 이러한 치료가 필요한 환자에게 투여함으로써 천식을 치료 또는 예방하는 방법을 포함한다. 본원에서 사용된 용어 "천식"은, 제한은 아니지만, 알러지성 천식, 비알러지성 천식, 중증 난치성 천식, 악화된 천식, 바이러스 유발된 천식, 또는 바이러스 유발된 악화된 천식, 스테로이드 내성 천식, 스테로이드 민감성 천식, 호산성 천식 또는 비호산성 천식 등, 및 기도 염증 또는 기도 과민성(AHR)을 특징으로 하는 다른 관련된 장애들을 포함한다. 이 용어는 또한 바이러스 유발된 악화된 천식을 포함하는 의미이다.

[0179] 본 발명은 본원에서 개시된 항-IL-25 항체 또는 그것의 항원-결합 단편을 이러한 치료가 필요한 환자에게 투여함으로써 만성 폐쇄성 폐질환(COPD)을 치료 또는 예방하는 방법을 포함한다. 본원에서 사용된 용어 "COPD"는, 제한은 아니지만, 호기류 감소 및 수개월에 걸쳐서 현저한 변화가 없는 폐의 느린 노력성 호기를 특징으로 하는 질환 및 장애를 포함한다. 본 발명의 이 양태에 따른 방법은, 예를 들어 담배 흡연(예를 들어, 장기간의 담배 흡연), 공기 오염(예를 들어, 이산화황, 간접 흡연 등), 직업관련 화학물질(예를 들어, 카드뮴), 알러지 또는 AHR과 관련되거나 그것에 의해서 야기된 COPD를 치료하기 위해 사용될 수 있다.

[0180] 본 발명은 또한 본원에서 개시된 항-IL-25 항체 또는 그것의 항원-결합 단편을 이러한 치료가 필요한 환자에게 투여함으로써 염증성 장질환(IBD)을 치료 또는 예방하는 방법을 포함한다. 본원에서 사용된 용어 "IBD"는, 제한은 아니지만, 궤양성 대장염, 크론병, 교원성 대장염, 림프구성 대장염, 허혈성 대장염, 우회 대장염, 베체트 증후군, 감염성 대장염, 부정성 대장염, 및 큰창자 또는 결장의 점막층의 염증을 특징으로 하는 다른 관련된 장애들을 포함한다.

[0181] 본 발명은 또한 본원에서 개시된 항-IL-25 항체 또는 그것의 항원-결합 단편을 이러한 치료가 필요한 환자에게 투여함으로써 아토피 피부염(AD)을 치료 또는 예방하는 방법을 포함한다. 본원에서 사용된 용어 "AD"는, 제한은 아니지만, 강한 소양감(예를 들어, 심한 가려움) 및 비늘이 생기고 건조한 습진성 병소를 특징으로 하는 염증성 피부 질환을 포함한다. 용어 "AD"는 상피 장벽 기능부전, 알러지(예를 들어, 특정한 음식, 화분, 곰팡이, 먼지 진드기, 동물 등에 대한 알러지), 방사선 노출, 및/또는 천식에 의해서 야기되거나 이들과 관련된 AD를 포함한다. 본 발명의 이 양태에 따른 방법은, 예를 들어 AD의 경증, 보통, 보통-내지-중증, 및 중증 형태를 치료하기 위해 사용될 수 있다.

[0182] 본 발명은 또한 본원에서 개시된 항-IL-25 항체 또는 그것의 항원-결합 단편을 이러한 치료가 필요한 환자에게 투여함으로써, 호산성 다발혈관염 육아종증 또는 EGPA(척스트라우스 증후군이라고도 알려짐), 알러지, 알러지성 비염, 알러지성 기도 염증, 음식 과민성, 두드러기(만성 특발성 두드러기를 포함하는), 호산성 폐렴, 호산성 식도염, 과호산구 증후군, 특발성 폐 섬유증, 과민성 폐렴, 류마티스성 관절염, 혈관염, 포도막염, 암, 및 이식편-대-숙주병과 같은 질환 및 장애를 치료 또는 예방하는 방법을 포함한다.

[0183] 본 발명은 또한 다른 염증성 장애, 심혈관 질환, 중추신경계 질환, 통증, 관절염(예를 들어, 류마티스성 관절염, 골관절염, 건선성 관절염 등), 거대세포 동맥염, 일반적인 혈관 장애, 헤노호-쉔라인 자반병, 다발성 경화증, 루푸스, 및 쇼그렌 증후군을 치료하기 위한 방법을 제공한다.

[0184] 본원에 설명된 치료 방법과 관련하여, 항-IL-25 항체는 단일요법으로서(즉, 유일한 치료제로서), 또는 하나 이상의 추가의 치료제(이것의 예들은 본원에서 설명된다)와 조합하여 투여될 수 있다.

[0185] **조합 치료법 및 제형**

[0186] 본 발명은 본원에서 설명된 항-IL-25 항체 중 어느 것을 하나 이상의 치료적 활성 성분과 조합하여 포함하는 조성물 및 치료 제형, 및 이러한 조합을 그것이 필요한 대상체에 투여하는 것을 포함하는 치료 방법을 포함한다.

[0187] 본 발명의 항-IL-25 항체는, 예를 들어 IL-4 또는 IL-4R 안타고니스트, 예를 들어 항-IL-4, 또는 항-IL-4R 항체, IL-13 안타고니스트, 예컨대 예를 들어 항-IL-13 또는 항-IL-13R 항체, IL-6 또는 IL-6R 안타고니스트, 예컨대 예를 들어 항-IL-6 또는 항-IL-6R 항체(예를 들어, US 7,582,298), 항-IL-1 안타고니스트, 예를 들어 릴로나셉트, TNF 안타고니스트, 예를 들어 에타네르셉트(ENBREL™), IgE 안타고니스트, 및 IL-5, IL-8, IL-9, IL-17, IL-17Ra, IL-22, TSLP 및 IL-33 안타고니스트로 구성되는 군으로부터 선택된 하나 이상의 추가의 치료적 활성 성분(들)과 조합하여 함께 조제되고 및/또는 투여될 수 있다.

[0188] 천식 및 관련된 상태를 치료하는 것과 관련하여, 추가의 치료적 활성 성분은 장기 작용 베타2-아고니스트(LABA, 예를 들어 살메테롤 또는 포모테롤), 흡입 코르티코스테로이드(ICS, 예를 들어 플루티카손 또는 부데소니드), LABA+ICS를 포함하는 조합(예를 들어, 플루티카손+살메테롤[예를 들어, ADVAIR®(GlaxoSmithKline)]; 또는 부데소니드+포모테롤[예를 들어, SYMBICORT®(AstraZeneca)]), 전신 코르티코스테로이드(예를 들어, 경구 또는 정맥내), 메틸잔틴, 네도크로밀 나트륨, 크로몰린 나트륨, 다음의 사이토카인 및/또는 이들의 수용체: IL-4, IL-5, IL-8, IL-9, IL-13, IL-17, IL-33, TSLP 중 하나 이상에 대한 안타고니스트(예를 들어, 항체) 및 이들의 조합으로 구성되는 군으로부터 선택될 수 있다.

[0189] 아토피 피부염 및 관련된 상태를 치료하는 것과 관련하여, 추가의 치료적 활성 성분은 국소 코르티코스테로이드(TCS, 예를 들어 하이드로코르티손, 베타메타손 발레레이트, 베타메타손 디프로피오네이트, 디플루코르콜론 발레레이트, 하이드로코르티손-17-부티레이트, 모메타손 푸로에이트, 메틸프레드니솔론 아세포네이트, 클로베타솔 프로피오네이트, 할시노나이드, 클로베타손 부티레이트, 및 트리암시 놀론 아세토나이드), 타크롤리무스, 피메크롤리무스, 사이클로스포린, 아자티오프린, 메토트렉세이트, 크로몰린 나트륨, 프로테이나제 억제제, 다음의 사이토카인 및/또는 이들의 수용체: IL-4, IL-5, IL-13, IL-17, IL-33, TSLP 중 임의의 하나 이상에 대한 안타고니스트(예를 들어, 항체) 및 이들의 조합으로 구성되는 군으로부터 선택될 수 있다. 본 발명의 이 양태의 특정 구체예에 따라서, 항-IL-25 항체는 자외선(UV) 광요법과 같은 비-약학적 치료법과 함께 대상체에 투여된다.

[0190] 만성 폐쇄성 폐질환(COPD)을 치료하는 것과 관련하여, 추가의 치료적 활성 성분은 베타2 아고니스트, 항콜린제, IL-5 항체(예를 들어, 메폴리주맙), 또는 IL-13 항체(예를 들어, 레브루쿠지맙)로부터 선택될 수 있다. 예를 들어, COPD를 치료하기 위해 본 발명의 항체와 조합하여 사용될 수 있는 제제는 다음 중 임의의 하나 이상을 포함할 수 있다: 인다카테롤(베타2 아고니스트), 글리코피로늄(무스카린제), 티오트로퓸(항콜린제), 아클리디늄(항무스카린제), 유메클리디늄 브로마이드(항콜린제), 또는 빌란테롤(장기 작용 베타2 아고니스트). COPD를 치료하기 위해 본 발명의 항체와 조합하여 사용될 수 있는 다른 제제는 포스포디에스테라제 억제제(예를 들어, 테오필린, 로필루밀라스트, 실로밀라스트), 내인성 오피오이드, 또는 베타-아드레날린성 안타고니스트(베타 차단제)를 포함한다.

[0191] 혈관염, 특히 척스트라우스 증후군(CSS)을 치료하는 것과 관련하여, 추가의 치료적 활성 성분은 스테로이드, 코르티코스테로이드 및 면역억제제(예를 들어, 사이클로포스파미드)로부터 선택될 수 있다.

[0192] 알러지를 치료하는 것과 관련하여, 본 발명의 항-IL-25 항체는 알러지 반응을 치료하기 위해 사용되는 임의의 일시적 처방 요법과 함께 사용될 수 있거나, 또는 알러지 상태를 치료하기 위해 사용되는 표준 면역요법(SIT)과 함께 사용될 수 있거나, 또는 알러지 반응과 관련된 적어도 하나의 증상을 완화시키기 위해 사용될 수 있다. 예를 들어, 추가의 치료적 활성 성분은 항히스타민, 스테로이드, 코르티코스테로이드, 충혈완화제, 류코트리엔 억제제, 및 비만세포 억제제로부터 선택될 수 있다. 알러지를 치료하기 위해 본 발명의 항-IL-25 항체와 함께 사용될 수 있는 다른 제제는 다음의 사이토카인 및/또는 이들의 수용체: IL-1, IL-4, IL-5, IL-8. IL-9, IL-13, IL-17, TSLP, IL-33 중 임의의 하나 이상에 대한 안타고니스트, 또는 TNF 안타고니스트일 수 있다.

[0193] 본 발명의 항-IL-25 항체는 또한 항바이러스제, 항생제, 진통제, 산소, 항산화제, COX 억제제, 심장보호제, 금속 킬레이터, IFN-감마, 및/또는 NSAID와 조합하여 투여되고 및/또는 함께 조제될 수 있다.

[0194] 추가의 치료적 활성 성분(들), 예를 들어 상기 나열된 제제 또는 그것의 유도체 중 어느 것은 본 발명의 항-IL-25 항체의 투여 직전에, 투여와 동시에, 또는 투여 직후에 투여될 수 있다; (본 개시의 목적을 위해서, 이러한 투여 양생법은 추가의 치료적 활성 성분"과 조합하여" 항-IL-25 항체를 투여하는 것으로 간주된다). 본 발명은 본 발명의 항-IL-25 항체가 본원에서 설명된 추가의 치료적 활성 성분(들) 중 하나 이상과 함께 조제된 약학적 조성물을 포함한다.

[0195] **투여 양생법**

[0196] 본 발명의 특정 구체예에 따르면, 항-IL-25 항체(또는 항-IL-25 항체와 본원에서 언급된 추가적인 치료적 활성제 중 어느 것의 조합을 포함하는 약학적 조성물)의 다회수 용량은 한정된 시간 경과에 따라 대상체에 투여될 수 있다. 본 발명의 이 양태에 따르는 방법은 본 발명의 항-IL-25 항체의 다회수 용량을 대상체에게 순차적으로 투여하는 단계를 포함한다. 본원에서 사용된 바와 같이, "순차적으로 투여하는"은 항-IL-25 항체의 각 용량이 다른 시점에, 예를 들어 사전 결정된 간격(예를 들어, 시간, 일, 주 또는 월)으로 구분된 다른 날에 대상체에게 투여된다는 것을 의미한다. 본 발명은 항-IL-25 항체의 단일 초기 용량, 이어서 항-IL-25 항체의 1회 이상의 2차 용량, 및 이어서 선택적으로 항-IL-25 항체의 1회 이상의 3차 용량을 환자에게 순차적으로 투여하는 단계를 포함하는 방법을 포함한다.

[0197] 용어 "초기 용량", "제2 용량", 및 "제3 용량"은 본 발명의 항-IL-25 항체 투여의 시간적 순서를 말한다. 따라서, "초기 용량"은 치료 양생법의 초반에 투여되는 용량이고("기저 용량"으로도 불림); "2차 용량"은 초기 용량 이후 투여되는 용량이고; "3차 용량"은 2차 용량 이후 투여되는 용량이다. 초기, 2차, 및 3차 용량은 모두 같은 양의 항-IL-25 항체를 함유할 수 있지만, 일반적으로는 투여의 빈도 측면에서 서로 다를 수 있다. 하지만, 특정 구체예에서, 초기, 2차 및/또는 3차 용량에 함유된 항-IL-25 항체의 양은 치료 과정에 따라 서로 다르다(예를 들어, 적절하게 상향 또는 하향 조정됨). 특정 구체예에서, 2회 이상(예를 들어, 2, 3, 4, 또는 5)의 용량이 "로딩 용량"으로서 치료 양생법의 초반에 투여된 후 이어서 덜 빈번하게 투여되는 후속 용량(예를 들어, "유지 용량")이 투여된다.

[0198] 본 발명의 특정 예시의 구체예에서, 각각의 2차 및/또는 3차 용량은 직전의 용량 이후 1 내지 26주(예를 들어, 1, 1½, 2, 2½, 3, 3½, 4, 4½, 5, 5½, 6, 6½, 7, 7½, 8, 8½, 9, 9½, 10, 10½, 11, 11½, 12, 12½, 13, 13½, 14, 14½, 15, 15½, 16, 16½, 17, 17½, 18, 18½, 19, 19½, 20, 20½, 21, 21½, 22, 22½, 23, 23½, 24, 24½, 25, 25½, 26, 26½, 또는 그 이상)에 투여된다. 구절 "직전 용량"은, 본원에서 사용된 바와 같이, 다회수 투여의 순서에서, 중간 용량이 없는 순서로 바로 다음 용량의 투여 이전에 환자에게 투여되는 항-IL-25 항체의 용량을 의미한다.

[0199] 본 발명의 이 양태에 따르는 방법은 항-IL-25 항체의 2차 및/또는 3차 용량 중 임의의 횟수를 환자에게 투여하는 단계를 포함할 수 있다. 예를 들어, 특정 구체예에서, 단지 1회의 2차 용량만이 환자에게 투여된다. 다른 구체예에서, 2회 이상(예를 들어, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 또는 그 이상)의 2차 용량이 환자에게 투여된다. 유사하게, 특정 구체예에서, 단지 1회의 3차 용량이 환자에게 투여된다. 다른 구체예에서, 2회 이상(예를 들어, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 또는 그 이상)의 3차 용량이 환자에게 투여된다. 투여 양생법은 특정 대상체의 수명 동안, 또는 이러한 치료가 더 이상 치료적으로 필요하지 않거나 유리하지 않을 때까지 무기한으로 수행될 수 있다.

[0200] 다회수 2차 용량을 수반하는 구체예에서, 각각의 2차 용량은 다른 2차 용량과 같은 빈도로 투여될 수 있다. 예를 들어, 각각의 2차 용량은 직전 용량 이후 1 내지 2주 또는 1 내지 2개월에 환자에게 투여될 수 있다. 유사하게, 다회수 3차 용량을 수반하는 구체예에서, 각각의 3차 용량은 다른 3차 용량과 같은 빈도로 투여될 수 있다. 예를 들어, 각각의 3차 용량은 직전 투여 이후 2 내지 12주에 환자에게 투여될 수 있다. 본 발명의 특정 구체예에서, 2차 및/또는 3차 용량이 환자에게 투여되는 빈도는 치료 양생법의 과정에 따라 다를 수 있다. 투여의 빈도는 또한 임상 검사 후 개개의 환자의 필요에 따라 치료 과정 중에 의사에 의해 조정될 수 있다.

[0201] 본 발명은 제1 빈도(예를 들어, 주 1회, 2주마다 1회, 3주마다 1회, 월 1회, 2개월마다 1회 등)로 환자에 2 내지 6회 로딩 용량이 투여되고, 이어서 덜 빈번하게 환자에 2회 이상의 유지 용량을 투여하는 투여 양생법을 포함한다. 예를 들어, 본 발명의 제1 양태에 따르면, 로딩 용량이 월 1회의 빈도로 투여되는 경우, 이후 유지 용량은 6주마다 1회, 2개월마다 1회, 3개월마다 1회 등으로 환자에 투여될 수 있다.

[0202] **항체의 진단적 사용**

[0203] 본 발명의 항-IL25 항체는 또한, 예를 들어 진단의 목적을 위해, 샘플에서 IL-25, 또는 IL-25-발현 세포를 검출 및/또는 측정하는데 사용될 수 있다. 예를 들어, 항-IL-25 항체, 또는 그것의 단편은 IL-25의 이상 발현(예를 들어, 과발현, 저발현, 발현 없음 등)을 특징으로 하는 상태 또는 질환을 진단하는데 사용될 수 있다. IL-25에 대한 예시의 진단 어쎄이는, 예를 들어 환자로부터 얻어진 샘플을 본 발명의 항-IL-25 항체와 접촉시키는 단계를 포함할 수 있는데, 항-IL-25 항체는 검출 가능한 라벨 또는 리포터 분자로 라벨링된다. 대안으로, 라벨링되지 않은 항-IL-25 항체가, 그 자체로 검출 가능하게 라벨링된 2차 항체와 조합으로 진단적 용도에 사용될 수 있다. 검출 가능한 라벨 또는 리포터 분자는 방사성 동위원소, 예를 들어 ^{3}H, ^{14}C, ^{32}P, ^{35}S, 또는 ^{125}I; 형광 또는

화학 발광 모이어티, 예를 들어 플루오레세인 아이소티오시아네이트, 또는 로다민; 또는 효소, 예를 들어 알칼린 포스페이트, 베타-갈락토시다제, 홀스래디쉬 퍼옥시다제 또는 루시퍼라제일 수 있다. 샘플에서 IL-25를 검출하거나 측정하는데 사용될 수 있는 특이적 예시의 검정은 효소-결합 면역흡착 어쎄이(ELISA), 방사성 면역 어쎄이(RIA), 및 형광 발광-활성화된 세포 분류(FACS)를 포함한다.

[0204] 본 발명에 따르는 IL-25 진단 어쎄이에 사용될 수 있는 샘플은 환자로부터 얻을 수 있는 임의의 조직 또는 유체 샘플을 포함하며, 이것은 정상 또는 병리학적 조건하에서 검출 가능한 양의 IL-25 단백질, 또는 그것의 단편을 함유한다. 일반적으로, 건강한 환자(예를 들어, 비정상 IL-25 수준 또는 활성과 관련된 질환 또는 상태로 고통받고 있지 않은 환자)로부터 얻어진 특정 샘플에서 IL-25 수준은 초기 IL-25의 베이스라인, 또는 표준 수준을 확립하기 위해서 측정될 것이다. IL-25의 이 베이스라인 수준은 이후 IL-25 관련 질환 또는 상태를 가진다고 의심되는 개체로부터 얻어진 샘플에서 측정된 IL-25의 수준과 비교될 수 있다.

[0205] **실시예**

[0206] 다음의 실시예들은 본 발명의 방법 및 조성물을 제조 및 사용하는 방식에 대한 완전한 개시 및 설명을 당업자에게 제공하기 위해서 제시되며, 본 발명자들이 자신의 발명으로서 간주하는 것의 범위를 제한하는 것으로 의도되지 않는다. 사용된 숫자(예를 들어, 양, 온도 등)와 관련하여 정확성을 보장하기 위한 노력이 이루어졌지만, 일부 실험 오차 및 편차가 고려되어야 한다. 달리 나타내지 않는다면, 부는 중량부, 분자량은 평균 분자량, 온도는 섭씨 온도, 압력은 대기압 또는 대기압 근처이다.

[0207] **실시예 1: 항-IL-25 항체의 생성**

[0208] 재조합 인간 IL-25(R & D Systems, Catalog No. 1258)로 VELOCIMMUNE® 마우스(인간 면역글로불린 중쇄 및 카파 경쇄 가변 영역을 암호화하는 DNA를 포함하는 유전자 조작된 마우스)를 면역화함으로써 항-IL-25 항체를 얻었다. IL-25-특이적 이뮤노어쎄이에 의해 항체 면역 반응을 모니터했다. 원하는 면역 반응이 달성되었을 때 비장세포를 수거하고 마우스 골수종 세포와 융합하여 이들의 생육성을 보존하고 하이브리도마 셀라인을 형성했다. 하이브리도마 셀라인을 스크리닝하고 선택하여 IL-25-특이적 항체를 생성하는 셀라인을 확인했다. 이 기술을 사용하여 몇몇 항-IL-25 키메라 항체(즉, 인간 가변 도메인과 마우스 불변 도메인을 지닌 항체)를 얻었다. 이에 더하여, 몇몇 완전한 인간 항-IL-25 항체를 US 2007/0280945A1에 설명된 대로 골수종 세포와의 융합 없이 항원-양성 B 세포로부터 직접 분리했다.

[0209] 이 실시예의 방법에 따라서 생성된 예시의 항-IL-25 항체의 특정한 생물학적 특성은 아래 제시된 실시예들에 상세히 설명된다.

[0210] **실시예 2: 중쇄 및 경쇄 가변 영역 아미노산 및 핵산 서열**

[0211] 표 1은 본 발명의 선택된 항-IL-25 항체의 중쇄 및 경쇄 가변 영역 및 CDR의 아미노산 서열 식별자를 제시한다. 상응하는 핵산 서열 식별자는 표 2에 제시된다.

표 1

[0212] 아미노산 서열 식별자

	SEQ ID NOs:							
항체 지칭	HCVR	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCVR	LCDR1	LCDR2	LCDR3
H1M11009N	2	4	6	8	10	12	14	16
H2M10690N	18	20	22	24	26	28	30	32
H2M11008N	34	36	38	40	42	44	46	48
H4H10861P	50	52	54	56	58	60	62	64
H4H10862P	66	68	70	72	74	76	78	80
H4H10863P	82	84	86	88	90	92	94	96
H4H10864P	98	100	102	104	106	108	110	112
H4H10871P	114	116	118	120	122	124	126	128
H4H10876P	130	132	134	136	138	140	142	144
H4H10883P	146	148	150	152	154	156	158	160
H4H10897P	162	164	166	168	170	172	174	176
H4H10900P	178	180	182	184	186	188	190	192
H4H10901P	194	196	198	200	202	204	206	208
H4H10903P	210	212	214	216	218	220	222	224

H4H10905P	226	228	230	232	234	236	238	240
H4H10906P	242	244	246	248	250	252	254	256
H4H10907P	258	260	262	264	266	268	270	272

표 2

[0213] 핵산 서열 식별자

	SEQ ID NOs:							
항체 지칭	HCVR	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCVR	LCDR1	LCDR2	LCDR3
H1M11009N	1	3	5	7	9	11	13	15
H2M10690N	17	19	21	23	25	27	29	31
H2M11008N	33	35	37	39	41	43	45	47
H4H10861P	49	51	53	55	57	59	61	63
H4H10862P	65	67	69	71	73	75	77	79
H4H10863P	81	83	85	87	89	91	93	95
H4H10864P	97	99	101	103	105	107	109	111
H4H10871P	113	115	117	119	121	123	125	127
H4H10876P	129	131	133	135	137	139	141	143
H4H10883P	145	147	149	151	153	155	157	159
H4H10897P	161	163	165	167	169	171	173	175
H4H10900P	177	179	181	183	185	187	189	191
H4H10901P	193	195	197	199	201	203	205	207
H4H10903P	209	211	213	215	217	219	221	223
H4H10905P	225	227	229	231	233	235	237	239
H4H10906P	241	243	245	247	249	251	253	255
H4H10907P	257	259	261	263	265	267	269	271

[0214] 항체는 전형적으로 다음의 명명법에 따라서 본원에서 언급된다: 표 1 및 2에 나타낸 대로, Fc 접두사(예를 들어, "H1M," "H2M," "H4H," 등), 다음에 숫자 식별자(예를 들어, "11009," "10690," "10861," 등), 다음에 "P" 또는 "N" 접미사. 따라서, 이 명명법에 따르면 본원에서 항체는, 예를 들어 "H1M11009N," "H2M10690N," "H4H10861P" 등으로 언급될 수 있다. 본원에서 사용된 항체 지칭에서 H1M, H2M 및 H4H 접두사는 항체의 특정한 Fc 영역 아이소타입을 나타낸다. 예를 들어, "H1M" 항체는 마우스 IgG1 Fc를 가지고, "H2M" 항체는 마우스 IgG2 Fc를 가지며, "H4H" 항체는 인간 IgG4 Fc(모든 가변 영역이 항체 지칭에서 최초의 'H'에 의해서 표시된 대로 완전히 인간이다)를 가진다. 당업자에 의해서 인정되는 대로, 특정한 Fc 아이소타입을 가진 항체는 상이한 Fc 아이소타입을 가진 항체로 전환될 수 있지만(예를 들어, 마우스 IgG1 Fc를 가진 항체는 인간 IgG4를 가진 항체로 전환될 수 있다, 등등), 임의의 사건에서는 가변 도메인(CDR을 포함하는) - 이것은 표 1 및 2에서 나타낸 숫자 식별자에 의해서 지시된다 - 은 동일하게 유지될 것이고, 결합 특성은 Fc 도메인의 성질과 무관하게 동일하거나 실질적으로 유사한 것으로 예상된다.

[0215] **다음의 실시예들에서 사용된 비교용 항체**

[0216] 비교용 항-IL25 항체가 비교 목적을 위해 다음의 실험들에 포함되었다. 특히, "비교용 I"는 US 8,658,169에 제시된 "RH2.5_R71V"의 상응하는 도메인의 아미노산 서열을 가진 중쇄 및 경쇄 가변 도메인을 가진 항-IL-25 항체이다.

[0217] **실시예 3: 인간 단클론성 항-IL-25 항체의 표면 플라스몬 공명 유래된 결합 친화도 및 동력학 상수**

[0218] 정제된 항-IL-25 항체에 대한 IL-25 결합의 평형 해리 상수(K_D값)를 Biacore 4000 기기(GE Healthcare)에서 실시간 표면 플라스몬 공명 바이오센서 어쎄이를 사용하여 결정했다. Biacore 센서 표면은 상이한 불변 영역을 가진 발현된 항-IL-25 항체를 포착하기 위해서 다클론성 토끼 항-마우스 항체(GE Healthcare, # BR-1008-38) 또는 단클론성 마우스 항-인간 Fc 항체(GE Healthcare, # BR-1008-39)와의 아민 커플링에 의해서 유도되었다. 모든 Biacore 결합 연구는 HBST 러닝 버퍼(0.01M HEPES pH 7.4, 0.15M NaCl, 3mM EDTA, 0.05% v/v Surfactant P20)에서 수행되었다. 모든 IL-25 시약은 C-말단 myc-myc-헥사히스티딘 택("IL-25-MMH"라고 본원에서 언급됨)과 함께 발현되었다. HBST 러닝 버퍼(100 nM 내지 3.7 nM의 범위, 3배 희석)에서 제조된, 사람 IL-25-MMH(SEQ

ID NO:273), 원숭이 IL-25-MMH(SEQ ID NO:274), 마우스 IL-25-MMH(SEQ ID NO:275) 및 래트 IL-25-MMH (SEQ ID NO:276)의 상이한 농도를 30μL/min의 유속에서 항-IL-25 항체 포착된 표면 위에 주사했다. 모든 IL-25-MMH 시약과 포착된 단클론성 항체의 각각의 회합을 4분 동안 모니터하고, HBST 러닝 버퍼에서 이들의 해리를 10분 동안 모니터했다. 모든 결합 동력학 실험은 아래 표에 지시된 대로 25℃ 또는 37℃에서 수행했다. 동력학 회합(k_a) 및 해리(k_d) 속도 상수는 Scrubber 2.0c 커브 피팅 소프트웨어를 사용하여 1:1 결합 모델에 실시간 센서그램을 피팅함으로써 결정되었다. 결합 해리 평형 상수(K_D) 및 해리 반감기(t½)는 K_D (M) = k_d / k_a 및 $t_{1/2}$ (min) = (ln2/(60*k_d)로서 동력학 속도 상수로부터 계산되었다. 25℃ 및 37℃에서 항-IL-25 항체에 대한 인간, 원숭이, 마우스 및 래트 IL-25-MMH 결합의 결합 동력학 변수는 표 3 내지 10에 제시된다("NB"는 테스트된 실험 조건하에 결합이 관찰되지 않은 것을 표시하고, "IC"는 항-mFc 표면에 대한 비-특이적 바탕 결합으로 인한 중요하지 않은 결합을 표시한다).

표 3

[0219] 25℃에서 인간 IL-25에 대한 항-IL-25 단클론성 항체 결합의 결합 동력학 변수

항체	포착된 항체의 양(RU)	결합된 100nM 인간 IL-25-MMH (RU)	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_D (M)	t½ (min)
H4H10900P	79 ± 0.44	43	1.74E+06	2.75E-05	1.58E-11	421
H4H10864P	136 ± 0.55	75	2.68E+06	4.51E-05	1.68E-11	256
H4H10901P	109 ± 0.61	62	2.28E+06	5.79E-05	2.54E-11	199
H4H10861P	83 ± 0.33	47	2.01E+06	2.34E-05	1.16E-11	493
H4H10862P	104 ± 0.61	56	1.88E+06	6.49E-05	3.44E-11	178
H4H10883P	99 ± 0.37	56	7.06E+05	1.00E-05	1.42E-11	1155
H4H10903P	96 ± 0.45	54	8.97E+05	1.73E-05	1.92E-11	670
H4H10907P	104 ± 0.26	40	7.36E+05	6.50E-05	8.83E-11	178
H4H10871P	94 ± 0.37	38	7.49E+05	6.38E-05	8.51E-11	181
H4H10897P	100 ± 2.61	39	6.23E+05	7.87E-05	1.26E-10	147
H4H10876P	127 ± 0.47	45	3.86E+05	4.78E-05	1.24E-10	242
H4H10905P	136 ± 0.48	49	4.78E+05	1.09E-04	2.28E-10	106
H4H10863P	96 ± 0.81	34	2.60E+05	7.25E-05	2.79E-10	159
H2aM11008N	111 ± 0.75	48	4.82E+05	2.10E-04	4.35E-10	55
H4H10906P	106 ± 0.30	61	1.64E+06	4.32E-05	2.64E-11	268
H1M11009N	96 ± 2.13	30	2.42E+05	3.04E-03	1.25E-08	4
H2aM10690N	159 ± 1.43	32	8.02E+04	2.90E-03	3.62E-08	4
비교용 1	241 ± 0.62	79	9.27E+05	1.12E-04	1.20E-10	103

표 4

[0220] 37℃에서 인간 IL-25에 대한 항-IL-25 단클론성 항체 결합의 결합 동력학 변수

항체	포착된 항체의 양(RU)	결합된 100nM 인간 IL-25-MMH (RU)	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_D (M)	t½ (min)
H4H10900P	92 ± 2.04	51	2.83E+06	9.91E-05	3.50E-11	117
H4H10864P	166 ± 2.68	94	3.73E+06	1.96E-04	5.26E-11	59
H4H10901P	121 ± 2.5	65	3.19E+06	2.08E-04	6.51E-11	56
H4H10861P	110 ± 2.49	63	2.91E+06	7.80E-05	2.68E-11	148
H4H10862P	134 ± 2.03	72	2.39E+06	2.10E-04	8.79E-11	55
H4H10883P	131 ± 3.8	74	1.58E+06	4.80E-05	3.04E-11	241
H4H10903P	111 ± 1.81	65	1.53E+06	7.75E-05	5.08E-11	149
H4H10907P	119 ± 1.72	47	1.19E+06	4.45E-05	3.75E-11	259

H4H10871P	126 ± 2.41	49	1.15E+06	3.18E-05	2.76E-11	363
H4H10897P	132 ± 2.4	48	1.04E+06	2.26E-04	2.18E-10	51
H4H10876P	170 ± 3.02	60	6.28E+05	5.93E-05	9.44E-11	195
H4H10905P	161 ± 2.46	55	8.09E+05	1.20E-04	1.49E-10	96
H4H10863P	130 ± 2.14	46	6.06E+05	7.78E-05	1.28E-10	149
H2aM11008N	130 ± 1.16	60	7.34E+05	7.93E-04	1.08E-09	15
H4H10906P	124 ± 2.05	72	2.90E+06	1.54E-04	5.29E-11	75
H1M11009N	103 ± 0.84	30	3.93E+05	8.29E-03	2.11E-08	1.4
H2aM10690N	196 ± 1.28	39	1.37E+05	8.44E-03	6.14E-08	1.4
비교용 1	301 ± 8.01	99	1.36E+06	1.82E-04	1.34E-10	64

표 5

[0221] 25℃에서 원숭이 IL-25에 대한 항-IL-25 단클론성 항체 결합의 결합 동력학 변수

항체	포착된 항체의 양(RU)	결합된 100nM 원숭이 IL-25-MMH (RU)	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_D (M)	t½ (min)
H4H10900P	78 ± 0.23	45	2.94E+06	1.18E-05	4.02E-12	980
H4H10864P	135 ± 0.85	78	3.68E+06	4.70E-05	1.28E-11	246
H4H10901P	108 ± 0.21	64	2.63E+06	3.06E-05	1.16E-11	377
H4H10861P	83 ± 0.18	48	3.26E+06	1.48E-05	4.54E-12	779
H4H10862P	104 ± 0.69	58	2.00E+06	5.10E-05	2.55E-11	226
H4H10883P	99 ± 0.30	58	1.04E+06	1.00E-05	9.65E-12	1155
H4H10903P	96 ± 0.27	57	1.15E+06	1.00E-05	8.71E-12	1155
H4H10907P	104 ± 0.34	43	1.39E+06	6.74E-05	4.85E-11	171
H4H10871P	94 ± 0.28	42	6.28E+05	6.06E-05	9.65E-11	191
H4H10897P	101 ± 0.47	42	1.13E+06	8.43E-05	7.49E-11	137
H4H10876P	126 ± 0.38	51	3.29E+05	7.18E-05	2.18E-10	161
H4H10905P	136 ± 0.45	54	4.17E+05	7.77E-05	1.86E-10	149
H4H10863P	96 ± 0.36	39	3.43E+05	6.83E-05	1.99E-10	169
H2aM11008N	109 ± 1.04	64	IC*	IC*	IC*	IC*
H4H10906P	106 ± 0.42	61	2.09E+06	2.95E-05	1.41E-11	391
H1M11009N	93 ± 0.38	17	IC*	IC*	IC*	IC*
H2aM10690N	156 ± 0.64	46	IC*	IC*	IC*	IC*
비교용 1	267 ± 0.76	100	8.60E+05	7.52E-05	8.80E-11	154

[0222] *IC = 항-mFc 표면에 대한 비-특이적 바탕 결합으로 인한 중요하지 않은 결합을 표시

표 6

[0223] 37℃에서 원숭이 IL-25에 대한 항-IL-25 단클론성 항체 결합의 결합 동력학 변수

항체	포착된 항체의 양(RU)	결합된 100nM 원숭이 IL-25-MMH (RU)	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_D (M)	t½ (min)
H4H10900P	86 ± 1.48	50	3.07E+06	7.49E-05	2.44E-11	154
H4H10864P	157 ± 2.66	94	4.35E+06	1.90E-04	4.36E-11	61
H4H10901P	114 ± 1.68	64	3.55E+06	1.65E-04	4.64E-11	70
H4H10861P	103 ± 1.86	61	3.03E+06	7.14E-05	2.36E-11	162
H4H10862P	127 ± 2.3	70	2.93E+06	1.72E-04	5.89E-11	67
H4H10883P	122 ± 2.21	72	1.75E+06	4.18E-05	2.39E-11	276
H4H10903P	105 ± 1.52	66	1.76E+06	6.59E-05	3.74E-11	175

H4H10907P	112 ± 1.68	50	1.51E+06	1.01E-04	6.71E-11	114
H4H10871P	118 ± 2.28	54	1.35E+06	7.40E-05	5.46E-11	156
H4H10897P	124 ± 1.98	49	1.22E+06	2.31E-04	1.89E-10	50
H4H10876P	162 ± 2.24	64	5.24E+05	5.45E-05	1.04E-10	212
H4H10905P	154 ± 1.5	59	6.68E+05	9.01E-05	1.35E-10	128
H4H10863P	122 ± 2.26	51	1.18E+06	8.07E-05	6.85E-11	143
H2aM11008N	127 ± 1	80	IC*	IC*	IC*	IC*
H4H10906P	118 ± 1.41	73	3.01E+06	1.30E-04	4.31E-11	89
H1M11009N	101 ± 0.94	23	IC*	IC*	IC*	IC*
H2aM10690N	193 ± 0.78	49	IC*	IC*	IC*	IC*
비교용 1	335 ± 7.64	124	1.32E+06	6.24E-05	4.73E-11	185

[0224] *IC = 항-mFc 표면에 대한 비-특이적 바탕 결합으로 인한 중요하지 않은 결합을 표시

표 7

[0225] 25℃에서 마우스 IL-25에 대한 항-IL-25 단클론성 항체 결합의 결합 동력학 변수

항체	포착된 항체의 양(RU)	결합된 100nM 마우스 IL-25-MMH (RU)	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_D (M)	t½ (min)
H4H10900P	78 ± 0.48	0	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H10864P	135 ± 0.14	-1	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H10901P	108 ± 0.33	1	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H10861P	82 ± 0.08	0	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H10862P	104 ± 0.08	0	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H10883P	99 ± 0.17	0	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H10903P	95 ± 0.16	0	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H10907P	104 ± 0.15	10	1.96E+05	1.15E-02	5.87E-08	1.0
H4H10871P	94 ± 0.04	30	1.21E+05	1.11E-04	9.18E-10	104
H4H10897P	101 ± 0.06	20	1.48E+05	1.04E-03	7.05E-09	11
H4H10876P	125 ± 0.10	40	1.74E+05	9.89E-05	5.70E-10	117
H4H10905P	135 ± 0.23	43	1.24E+05	1.45E-04	1.17E-09	80
H4H10863P	95 ± 0.10	22	5.57E+04	1.49E-04	2.67E-09	78
H2aM11008N	108 ± 0.33	-1	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H10906P	106 ± 0.50	1	NB*	NB*	NB*	NB*
H1M11009N	92 ± 0.25	0	NB*	NB*	NB*	NB*
H2aM10690N	156 ± 0.23	17	3.88E+04	3.19E-03	8.23E-08	4
비교용 1	271 ± 0.69	88	5.71E+05	1.17E-04	2.05E-10	99

[0226] *NB = 테스트된 실험 조건하에 결합이 관찰되지 않았음을 표시

표 8

[0227] 37℃에서 마우스 IL-25에 대한 항-IL-25 단클론성 항체 결합의 결합 동력학 변수

항체	포착된 항체의 양(RU)	결합된 100nM 마우스 IL-25-MMH (RU)	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_D (M)	t½ (min)
H4H10900P	84 ± 0.49	2	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H10864P	154 ± 0.42	1	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H10901P	111 ± 0.4	2	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H10861P	99 ± 0.69	2	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H10862P	123 ± 0.13	2	NB*	NB*	NB*	NB*

H4H10883P	117 ± 0.47	1	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H10903P	102 ± 0.47	1	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H10907P	109 ± 0.02	8	2.75E+05	3.76E-02	1.37E-07	0.3
H4H10871P	114 ± 0.88	41	3.22E+05	8.29E-05	2.58E-10	139
H4H10897P	121 ± 0.47	17	1.77E+05	6.41E-03	3.62E-08	1.8
H4H10876P	157 ± 0.58	51	3.69E+05	8.97E-05	2.43E-10	129
H4H10905P	151 ± 0.14	47	4.03E+05	1.78E-04	4.41E-10	65
H4H10863P	118 ± 1.04	37	1.34E+05	1.53E-04	1.14E-09	76
H2aM11008N	126 ± 0.89	2	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H10906P	114 ± 1.18	2	NB*	NB*	NB*	NB*
H1M11009N	100 ± 0.2	2	NB*	NB*	NB*	NB*
H2aM10690N	192 ± 0.85	27	9.53E+04	7.78E-03	8.17E-08	1.5
비교용 1	332 ± 8.16	111	1.01E+06	8.16E-05	8.08E-11	142

[0228] *NB = 테스트된 실험 조건하에 결합이 관찰되지 않았음을 표시

표 9

[0229] 25℃에서 래트 IL-25에 대한 항-IL-25 단클론성 항체 결합의 결합 동력학 변수

항체	포착된 항체의 양(RU)	결합된 100nM 래트 IL-25-MMH (RU)	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_D (M)	t½ (min)
H4H10900P	78 ± 0.06	0	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H10864P	135 ± 0.50	-1	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H10901P	108 ± 0.15	0	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H10861P	82 ± 0.34	0	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H10862P	103 ± 0.46	1	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H10883P	99 ± 0.30	0	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H10903P	95 ± 0.43	1	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H10907P	103 ± 0.4	10	2.20E+05	1.47E-02	6.69E-08	0.8
H4H10871P	94 ± 0.18	37	5.48E+05	7.23E-05	1.32E-10	160
H4H10897P	100 ± 0.24	23	3.33E+05	8.07E-04	2.42E-09	14
H4H10876P	125 ± 0.32	45	2.59E+05	8.81E-05	3.41E-10	131
H4H10905P	135 ± 0.24	45	1.67E+05	1.35E-04	8.10E-10	85
H4H10863P	95 ± 0.40	34	1.53E+05	1.64E-04	1.07E-09	70
H2aM11008N	107 ± 0.23	0	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H10906P	106 ± 0.38	2	NB*	NB*	NB*	NB*
H1M11009N	92 ± 0.26	-1	NB*	NB*	NB*	NB*
H2aM10690N	155 ± 0.26	18	9.18E+04	9.50E-03	1.03E-07	1.2
비교용 1	266 ± 0.53	91	9.27E+05	9.55E-05	1.03E-10	121

[0230] *NB = 테스트된 실험 조건하에 결합이 관찰되지 않았음을 표시

표 10

[0231] 37℃에서 래트 IL-25에 대한 항-IL-25 단클론성 항체 결합의 결합 동력학 변수

항체	포착된 항체의 양(RU)	결합된 100nM 래트 IL-25-MMH (RU)	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_D (M)	t½ (min)
H4H10900P	82 ± 0.55	2	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H10864P	153 ± 0.52	1	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H10901P	110 ± 0.53	1	NB*	NB*	NB*	NB*

H4H10861P	97 ± 0.71	2	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H10862P	121 ± 1.02	1	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H10883P	116 ± 0.77	0	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H10903P	100 ± 0.77	2	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H10907P	107 ± 0.78	8	2.38E+05	2.04E-02	8.54E-08	0.6
H4H10871P	112 ± 0.54	45	9.37E+05	5.64E-05	6.02E-11	205
H4H10897P	118 ± 0.75	22	2.45E+05	6.01E-03	2.46E-08	1.9
H4H10876P	156 ± 1.22	53	4.50E+05	1.07E-04	2.38E-10	108
H4H10905P	148 ± 1.25	49	4.81E+05	1.81E-04	3.77E-10	64
H4H10863P	116 ± 0.75	41	4.74E+05	3.41E-04	7.20E-10	34
H2aM11008N	125 ± 0.2	3	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H10906P	113 ± 0.73	3	NB*	NB*	NB*	NB*
H1M11009N	99 ± 0.5	3	NB*	NB*	NB*	NB*
H2aM10690N	191 ± 0.58	20	1.68E+05	1.93E-02	1.15E-07	0.6
비교용 1	325 ± 8.52	109	1.59E+06	1.02E-04	6.42E-11	113

[0232] *NB = 테스트된 실험 조건하에 결합이 관찰되지 않았음을 표시

[0233] 25℃에서 본 발명의 항-IL-25 항체는 11.6 pM 내지 36.2 nM의 범위의 K_D 값으로 인간 IL-25에 결합했지만, 비교용 1은 120 pM의 K_D 값으로 인간 IL-25에 결합했다(표 3). 37℃에서 본 발명의 항-IL-25 항체는 26.8 pM 내지 61.4 nM의 범위의 K_D 값으로 인간 IL-25에 결합했지만, 비교용 1은 134 pM의 K_D 값으로 인간 IL-25에 결합했다(표 4). 25℃에서 본 발명의 17개의 항-IL-25 항체 중 14개가 4.02 pM 내지 218 pM의 범위의 K_D 값으로 원숭이 IL-25에 결합했지만, 비교용 1은 88.0 pM의 K_D 값으로 원숭이 IL-25에 결합했다(표 5). 37℃에서 본 발명의 17개의 항-IL-25 항체 중 14개가 23.6 pM 내지 189 pM의 범위의 K_D 값으로 원숭이 IL-25에 결합했지만, 비교용 1은 47.3 pM의 K_D 값으로 원숭이 IL-25에 결합했다(표 6). 본 발명의 3개의 항체는 25℃ 또는 37℃에서 원숭이 IL-25에 대한 중요한 결합을 나타내지 않았다. 25℃에서 본 발명의 17개의 항-IL-25 항체 중 7개가 570 pM 내지 82.3 nM의 범위의 K_D 값으로 마우스 IL-25에 결합했지만, 비교용 1은 205 pM의 K_D 값으로 마우스 IL-25-MMH에 결합했다(표 7). 37℃에서 본 발명의 17개의 항-IL-25 항체 중 7개가 243 pM 내지 137 nM의 범위의 K_D 값으로 마우스 IL-25에 결합했지만, 비교용 1은 80.8 pM의 K_D 값으로 마우스 IL-25-MMH에 결합했다(표 8). 본 발명의 10개의 항체는 25℃ 또는 37℃에서 마우스 IL-25에 대한 결합을 나타내지 않았다. 25℃에서 본 발명의 17개의 항-IL-25 항체 중 7개가 132 pM 내지 103 nM의 범위의 K_D 값으로 래트 IL-25에 결합했지만, 비교용 1은 103 pM의 K_D 값으로 래트 IL-25에 결합했다(표 9). 37℃에서 본 발명의 17개의 항-IL-25 항체 중 7개가 60.2 pM 내지 115 nM의 범위의 K_D 값으로 래트 IL-25에 결합했지만, 비교용 1은 64.2 pM의 K_D 값으로 래트 IL-25에 결합했다(표 10). 본 발명의 10개의 항체는 25℃ 또는 37℃에서 래트 IL-25에 대한 결합을 나타내지 않았다.

[0234] **실시예 4: 항-IL-25 항체 교차-경쟁**

[0235] 항-IL-25 단클론성 항체들 간의 결합 경쟁을 Octet QK384 바이오센서(Pall ForteBio Corp.)에서 실시간 라벨-미사용 바이오-층 인터페로메트리 어쎄이를 사용하여 결정했다.

[0236] 전체 실험은 1000rpm의 속도에서 플레이트를 진동시키면서 HBST 동력학 버퍼(0.01M HEPES pH 7.4, 0.15M NaCl, 3mM EDTA, 0.05% v/v Surfactant P20, 5.1 mg/ml BSA)에서 25℃에서 수행했다. 2개의 항체가 C-말단 myc-myc-헥사히스티딘 택(hIL-25-MMH; SEQ ID NO:273)과 함께 발현된 재조합 인간 IL-25 상의 각자의 에피토프에 대한 결합에 대해 서로 결쟁할 수 있는지 평가하기 위해서, hIL-25-MMH의 4 μg/mL 용액을 함유하는 웰에 5분 동안 바이오센서를 담가둠으로써 약 ~0.5 내지 0.7 nm의 hIL-25-MMH를 먼저 항-펜타-His 항체 코팅된 Octet 바이오센서(Fortebio Inc, # 18-5079) 위에 포착시켰다. 다음에, 5분 동안 mAb-1의 50 μg/mL를 함유하는 웰에 침지시킴으로써 항원-포착된 바이오센서를 제1 항-IL-25 단클론성 항체(본원에서 mAb-1으로 언급됨)로 포화시켰다. 다음에, 바이오센서를 계속해서 제2 항-IL-25 단클론성 항체(본원에서 mAb-2로 언급됨)의 50 μg/mL 용액을 함유하는 웰에 침지시켰다. 바이오센서를 실험의 매 단계 사이에 HBST 동력학 버퍼에서 세척했다. 실시간 결합 반응을 실험 과정 동안 모니터하고, 매 단계의 마지막에 결합 반응을 기록했다. mAb-1과 미리 복합체화된 hIL-25-MMH에 대한 mAb-2 결합의 반응을 비교하고, 상이한 항-IL-25 단클론성 항체의 경쟁/비-경쟁 거동을

결정했다. 몇몇 경우, 항-IL-25 항체는 포착된 hIL-25-MMH 표면을 완전히 포화시킬 수 없었으며, 이로써 자체-경쟁 동안 특정한 양의 결합 신호가 관찰될 수 있었다. 따라서, 특이적 mAb-2 결합으로부터 자체-경쟁 신호를 차감함으로써 교차-경쟁 행렬이 생성되었고, 0 nm 미만의 임의의 결합 신호는 0 nm로 기록되었다. 결과는 도 1에 요약된다. mAb 식별자와 이들의 상응하는 항체 및 항-펜타-His 센서에 대한 hIL-25-MMH 결합 및 포착된 hIL-25-mmh에 대한 mAb-1 결합에서 관찰된 결합 반응에 대한 핵심이 표 11에 제시된다.

표 11

[0237] 도 1에 묘사된 교차-경쟁 어쎄이에서 테스트된 항체에 상응하는 항체 식별자

도 1에 나타낸 mAb 식별자	상응하는 항체	포착된 hIL-25-MMH (nm)	50ug/mL mAb-1 결합 (nm)
1	H4H10883P	0.58 ± 0.02	0.7 ± 0.04
2	H4H10900P	0.55 ± 0.03	0.68 ± 0.04
3	H4H10901P	0.53 ± 0.03	0.67 ± 0.04
4	H4H10903P	0.8 ± 0.03	1.03 ± 0.03
5	H4H10861P	0.67 ± 0.02	0.88 ± 0.03
6	H4H10862P	0.66 ± 0.02	0.83 ± 0.03
7	H2aM11008N	0.71 ± 0.02	0.81 ± 0.03
8	H4H10864P	0.67 ± 0.02	0.84 ± 0.04
9	H4H10906P	0.71 ± 0.03	0.88 ± 0.03
10	H4H10897P	0.57 ± 0.02	1.12 ± 0.06
11	H4H10907P	0.73 ± 0.03	1.74 ± 0.06
12	H1M11009N	0.69 ± 0.02	1.42 ± 0.05
13	H2aM10690N	0.79 ± 0.02	1.38 ± 0.04
14	H4H10863P	0.71 ± 0.03	1.13 ± 0.04
15	H4H10871P	0.65 ± 0.02	1.12 ± 0.04
16	H4H10876P	0.62 ± 0.02	1.07 ± 0.05
17	H4H10905P	0.77 ± 0.03	1.59 ± 0.05
18	비교용 1	0.69 ± 0.02	1.49 ± 0.07

[0238] 도 1에서 검은색 글자가 있는 연회색 상자는 자체-경쟁을 표시한다. 결합 순서에 독립적인 두 방향에서 경쟁하는 항체는 검은색 상자와 흰색 글자로 표시된다. 분리된 결합 에피토프를 시사하는 항체 간 경쟁이 없는 것은 흰색 상자에 검은색 글자로 표시된다. 암회색 상자와 흰색 글자는 아이소타입 대조군 항체와 버퍼 단독의 결합 반응을 표시한다.

[0239] 이 실시예는 본 발명의 항체 중 몇몇은 IL-25에 대한 결합에서 본 발명의 하나 이상의 다른 항체들과 교차-경쟁한다는 것을 나타낸다; 한편, 본 발명의 특정한 항체(예를 들어, H1M11009N [12])는 테스트된 다른 항체들과 교차-경쟁을 거의 또는 전혀 나타내지 않는다.

[0240] **실시예 5: 항-IL-25 항체는 IL-17RB에 대한 IL-25 결합을 차단한다**

[0241] 천연 수용체 중 하나인 인간 IL-17RB에 대한 인간 IL-25 결합을 차단하는 항-IL-25 항체의 능력을 경쟁 샌드위치 ELISA에서 측정했다.

[0242] C-말단 인간 Fc 택(hIL17RB-hFc; R&D Systems, #1207-BR)과 함께 발현된 인간 IL-17RB 단백질의 세포외 도메인을 4℃에서 하룻밤 96-웰 마이크로타이터 플레이트에서 PBS 버퍼에서 2 mg/mL로 코팅했다. 이어서, 비-특이적 결합 부위를 PBS 중의 BSA의 0.5% (w/v) 용액을 사용하여 차단했다. C-말단 myc-myc-헥사히스티딘 택(hIL-25-MMH; SEQ ID NO:273)과 함께 발현된 인간 IL-25의 2 nM의 일정한 농도를 항체의 최종 농도가 0 내지 200 nM의 범위가 되도록 항체의 연속 희석액에 첨가했다. 항체/hIL-25-MMH 혼합물을 실온(RT)에서 1시간 동안 인큐베이션한 후 hIL-17RB-hFc로 코팅된 마이크로타이터 플레이트로 옮겼다. 실온에서 1시간 동안 인큐베이션한 후 웰을 세척하고, 플레이트-결합된 hIL-25-MMH를 홀스래디쉬 퍼옥시다제 콘쥬게이트된 항-myc 다클론성 항체(Novus Biologicals, #NB600-341)로 검출했다. 샘플을 TMB 용액으로 전개시켜 비색 반응을 생성하고, 다음에 1M 황산으로 퀀칭한 후 Victor X5 플레이트 리더에서 450nm에서 흡광도를 측정했다. Prism™ 소프트웨어(GraphPad) 내의 시그모이달 용량-반응 모델을 사용하여 데이터 분석을 수행했다. hIL-17RB-hFc에 대한 hIL-25-MMH 결합의

50%를 차단하는데 필요한 항체의 농도로서 정의되는, 계산된 IC_{50} 값을 차단 효능의 지시자로서 사용했다. hIL-25-MMH만의 일정한 농도에 대해 측정된 흡광도는 0% 차단으로 정의되고, hIL-25-MMH를 첨가하지 않은 것에 대해 측정된 흡광도는 100% 차단으로 정의된다. 차단 퍼센트는 hIL-25-MMH만에서의 신호와 앞서 정의된 100% 차단으로부터 차감된 바탕값(HRP-콘쥬게이트된 2차 항체만으로부터의 신호) 사이의 차이에 대해서 항체의 존재하에 관찰된 신호에서 감소의 비율로서 계산되었다. 각 항체에 대해 최고 농도를 함유하는 웰의 흡광도 값을 사용하여 최대 차단 퍼센트를 결정했다. 테스트된 각 항체에 대한 IC_{50} 값 및 최대 차단 퍼센트는 표 12에 제시된다.

표 12

[0243] IL-17RB에 대한 IL-25 결합의 항체 차단

항체	hIL-17RB-hFc에 대한 2 nM hIL-25-MMH 결합의 차단, IC_{50}, (M)	hIL-17RB-hFc에 대한 2 nM의 hIL-25-MMH 결합을 차단하는 200 nM 항체의 최대 차단 %
H4H10900P	2.0E-10(*)	90
H4H10864P	2.6E-10(*)	88
H4H10901P	2.3E-10(*)	91
H4H10861P	2.0E-10(*)	92
H4H10862P	2.4E-10(*)	89
H4H10883P	2.0E-10(*)	93
H4H10903P	2.4E-10(*)	91
H4H10907P	5.5E-10(*)	87
H4H10871P	7.1E-10(*)	92
H4H10897P	3.2E-10(*)	94
H4H10876P	6.5E-10(*)	89
H4H10905P	5.3E-10(*)	86
H4H10863P	9.2E-10(*)	87
H2aM11008N	4.3E-10(*)	98
H1M11009N	비-차단제	20
H4H10906P	1.4E-10(*)	89
H2aM10690N	3.1E-08	70
비교용 1	2.5E-10(*)	90
hIgG4 아이소타입 대조군	비-차단제	-31
mIgG2a 아이소타입 대조군	비-차단제	-45

[0244] (*) - 이 어쎄이에서 1.0 nM로서 계산된 어쎄이의 이론적 바닥 아래, 여기서 용액 중 다이머 hIL-25MMH는 2 nM의 농도로 고정되었다.

[0245] hIL-25-MMH의 신호에 대해 일정한 효과를 갖지 않거나 결합 신호에서 25% 이하의 감소를 나타낸 항체는 비-차단제로서 정의되었다. 이론적 어쎄이 바닥은 0.5 nM이며, 이는 더 낮게 계산된 IC_{50} 값은 정량적 단백질-항체 부위 결합을 표시할 수 없음을 나타낸다. 이 이유 때문에 계산된 IC_{50} 값이 0.5 nM보다 낮은 항체는 표 12에서 <5.0E-10 M로 보고된다.

[0246] 표 12에 나타낸 대로, 테스트된 17개의 항-IL-25 항체 중 16개는 hIL-17RB-hFc에 대한 결합으로부터 2 nM의 hIL-25-MMH을 차단했으며, IC_{50} 값은 0.5 nM 미만에서 31 nM의 범위였고, 최대 차단 퍼센트는 70% 내지 98%의 범위였다. 비교용 1은 0.5 nM 미만의 IC_{50} 값으로 hIL-17RB-hFc에 대한 결합으로부터 2 nM hIL-25-MMH의 결합을 90% 차단했다. 1개의 항체 H1M11009N은 이들 어쎄이 조건하에 비-차단제로서 확인되었다.

[0247] **실시예 6: 항-IL-25 항체는 IL-17RA 및 IL-17RB를 발현하도록 조작된 셀라인에서 IL-25-매개된 신호화를 차단한다**

[0248] IL-25-매개된 세포 신호화를 검출하고 본 발명의 항-IL-25 항체가 시험관내 IL-25 신호화를 차단하는 정도를 측정하기 위한 바이오어쎄이를 개발했다.

[0249] 이 어쎄이를 위해서, 루시페라제 리포터[NFκB 반응 요소 (5x)-루시페라제-IRES-GFP]와 함께, 인간 IL-17RA(수탁 번호 NP_055154.3의 아미노산 1-502), IL-17RB(수탁 번호 NP_061195.2의 아미노산 1-502) 및 Act1(수탁 번호 NP_001157753.1의 아미노산 1-564)를 안정하게 발현하는 HEK293 셀라인을 생성했다. HEK293/NFκB-luc/hIL17RA/hIL17RB/hAct1로 언급되는, 결과의 안정한 셀라인을 분리하고, 10% FBS, NEAA, 페니실린/스트렙토마이신, 500 μg/mL G418, 100 μg/mL 하이그로마이신 B, 및 1 μg/mL 퓨로마이신을 함유하는 10% DMEM에서 유지했다.

[0250] 세포를 0.1% FBS로 보충된 OPTIMEM 중에 10,000 세포/웰로 96-웰 어쎄이 플레이트에 파종한 다음 하룻밤 5% CO_2 중에서 37℃에서 인큐베이션했다. 다음날 IL-25의 용량 반응을 결정하기 위하여, C-말단 myc-myc-헥사히스티딘 택(hIL-25-MMH; SEQ ID NO:273)과 함께 발현된 인간 IL-25, C-말단 myc-myc-헥사히스티딘 택(MfIL-25-MMH; SEQ ID NO:274)과 함께 발현된 사이몰거스 원숭이 IL-25 또는 C-말단 myc-myc-헥사히스티딘 택(mIL-25-MMH; SEQ ID NO:275)과 함께 발현된 마우스 IL-25를 1:3으로 연속 희석하고(3 nM에서 0.0001 nM까지) 세포에 첨가했다. 희석 버퍼를 함유하고 IL-25를 함유하지 않는 대조군을 세포의 하나의 샘플에 또한 첨가했다. 억제를 측정하기 위해, 항체를 연속 희석하고 세포에 첨가한 후, IL-25(hIL-25-MMH에 대해 5 pM, MfIL-25-MMH에 대해 12 pM 및 mIL-25-MMH에 대해 10 pM)의 일정한 농도를 첨가했다. 세포에 첨가하기 전 항체의 연속 희석액은 1:3으로 100 nM에서 시작하여 0.002 nM까지의 범위였고, 더해서 대조군 샘플은 항체 없이 버퍼만 함유했다. 5% CO_2 중에서 37℃에서 5.5시간 인큐베이션한 후 ONE-GLO® 시약(Promega, # E6051)을 첨가하고 Victor X(Perkin Elmer) 플레이트 리더에서 루시페라제 활성을 측정했다. 결과를 Prism 5 소프트웨어(GraphPad)를 사용한 비선형 회귀(4-변수 로지스틱스)를 사용해서 분석하여 EC_{50} 및 IC_{50} 값을 얻었다. 결과는 표 13에 제시된다.

표 13

[0251] IL-25-매개된 신호화의 억제

IL25 종	인간		원숭이	마우스
EC_{50} [M]	2.9E-12	1.6E-11	1.9E-11	8.4E-12
어쎄이에서 사용된 일정한 IL25	5pM		12pM	10pM
항체	IC_{50} [M]	IC_{50} [M]	IC_{50} [M]	IC_{50} [M]
H2aM10690N	고 농도에서 차단			
H4H10861P	6.3E-11		3.7E-11	
H4H10862P	8.4E-11		3.3E-11	
H4H10863P	6.9E-10		3.5E-10	4.3E-09
H4H10864P	3.6E-11		2.6E-11	
H4H10871P	3.2E-10		8.8E-11	6.7E-10
H4H10876P	4.6E-10		2.1E-10	8.8E-10
H4H10883P	1.4E-10		3.9E-11	
H4H10897P	4.6E-10		4.0E-10	1.5E-08
H4H10900P	3.1E-11		2.2E-11	
H4H10901P	5.6E-11		3.8E-11	
H4H10903P	1.4E-10		6.0E-11	
H4H10905P	5.1E-10		2.1E-10	6.8E-10
H4H10906P		2.7E-11	4.7E-11	
H4H10907P	2.2E-10		1.4E-10	NB
H2aM11008N	1.8E-09			
H1M11009N	고 농도에서 차단			
비교용 1	7.2E-10	2.2E-10	3.8E-10	6.1E-10
아이소타입 대조군 1	NB			
아이소타입 대조군 2	NB	NB	NB	NB

[0252] NB = 비-차단제

[0253] 표 13에 나타낸 대로, hIL-25-MMH는 두 다른 어쎄이 날에 2.9 pM 및 16 pM의 EC_{50} 값으로 활성화되었고; mfIL-25-MMH는 19 pM의 EC_{50} 값으로 활성화되었고; mIL-25-MMH는 8.4 pM의 EC_{50} 값으로 활성화되었다.

[0254] 차단과 관련하여, 본 발명의 17개 항체 중 15개는 27 pM 내지 1.8 nM의 IC_{50} 값으로 5 pM hIL-25-MMH에 의한 HEK293/NFκB-luc/hIL17RA/hIL17RB/hAct1 세포의 자극을 완전히 차단했고, 비교용 1은 두 다른 어쎄이 날에 720 pM 및 220 pM의 IC_{50} 값으로 완전히 차단했다. 테스트된 두 항체 H2aM10690N 및 H1M11009N은 높은 항체 농도에서 5 pM hIL-25-MMH를 부분적으로 억제했다. 테스트된 본 발명의 14개 항체는 모두 22 pM 내지 400 pM의 범위의 IC_{50} 값으로 12 pM MfIL-25-MMH에 의한 HEK293/NFκB-luc/hIL17RA/hIL17RB/hAct1 세포의 자극을 완전히 차단했고, 비교용 1은 380 pM의 IC_{50} 값으로 완전히 차단했다. 테스트된 본 발명의 6개 항체 중 5개는 670 pM 내지 15 nM의 범위의 IC_{50} 값으로 10 pM mIL-25-MMH에 의한 HEK293/NFκB-luc/hIL17RA/hIL17RB/hAct1 세포의 자극을 완전히 차단했고, 비교용 1은 610 pM의 IC_{50} 값으로 완전히 차단했다. 아이소타입 대조군 항체가 또한 시험되었고, 어떤 어쎄이에서도 억제를 나타내지 않았다.

[0255] **실시예 7: 항-IL-25 항체는 1차 세포-기반 어쎄이에서 IL-25-매개된 신호화를 차단한다**

[0256] 본 발명의 항-IL-25 항체의 차단 능력을 말초혈 단핵 세포(PBMC)를 사용하는 1차 세포-기반 어쎄이를 사용하여 더 평가했다(Rickel *et al., The Journal of Immunology*, 2008, vol. 181 (6) pp. 4299-4310 참조).

[0257] PBMC를 밀도 구배 원심분리에 의해서 두 상이한 도너로부터의 신선한 전혈로부터 정제했다. 간단히 말해서, K2 EDTA 전혈을 RPMI 1640에서 2배 희석하고, Ficoll-Paque(GE Healthcare, #17-1440-03) 위에 주의 깊게 층으로 만들고 20분 동안 원심분리했다. PBMC를 함유하는 간기 층을 흡인하고 새로운 튜브로 옮기고 PBS로 2번 세척했다. 분리된 PBMC를 10% FBS, 2 mM L-글루타민, 100 U/mL 페니실린 및 100 ng/mL의 재조합 흉선 기질 림포프로테인(TSLP; R&D Systems, #1398-TS/CF)로 보충된 RPMI 1640 중 2 x 10^6 세포/mL의 최종 농도로 75㎠ 플라스크에 플레이팅했다. 24시간 후 세포를 수거하고 RPMI 1640으로 세척하고, 10% FBS, 2 mM L-글루타민, 100 U/mL 페니실린 및 100 μg/mL 스트렙토마이신으로 보충된 RPMI 1640 중 3 x 10^5 세포/mL의 최종 농도로 둥근바닥 96-웰 플레이트에 플레이팅했다. 다음에, 세포를 200 μL/웰의 최종 부피로 50 ng/mL TSLP, 10 ng/mL 인간 IL-2(IL-2; R&D Systems, #202-IL/CF), C-말단 myc-myc-헥사히스티딘 택(hIL-25-MMH; SEQ ID:273)과 함께 발현된 1 nM 인간 IL-25 및 200 nM 내지 48.8 pM의 항체의 연속 희석액과 함께 인큐베이션했다. 각 샘플을 세 번 중복하여 테스트했다. 항체가 존재했을 때 이들을 IL-25와 함께 30분 예비 인큐베이션한 후 세포에 첨가했다.

[0258] 다음에, 세포를 5% CO_2와 함께 가습된 인큐베이터에서 37℃에서 72시간 동안 인큐베이션했다. 이어서, 상업적으로 이용가능한 ELISA(R&D Systems, #DY205)를 사용하여 배양 상청액에서 IL-5 수준을 측정했다. ELISA를 위해서 96-웰 평탄바닥 플레이트를 제조자의 지시에 따라서 포착 항체로 코팅했다. 세척 및 차단 후, 희석되지 않은 배양 상청액 100 μL를 플레이트에 첨가하고 2시간 동안 인큐베이션했다. 이어서, 제조자의 지시에 따라서 세척 및 검출을 수행했다. 결과는 표 14 및 15에 요약된다.

표 14

[0259] 인간 PBMC로부터 IL-5 방출의 hIL-25-MMH 유도

[hIL-25-MMH]	도너 727058-059 (ng/mL)로부터 방출된 IL-5		도너 727060 (ng/mL)로부터 방출된 IL-5	
(M)	평균	표준 편차	평균	표준 편차
1E-09	0.071	0.021	0.599	0.088
0	0.014	0.007	0.083	0.022

표 15

[0260] hIL-25-MMH의 차단은 항-IL-25 항체에 의한 인간 PBMC로부터 IL-5 방출을 유도했다

항체	도너 #727058-059로부터 IL-5 방출을 차단하기 위한 항체의 IC_{50} 값(M)	도너 #727060로부터 IL-5 방출을 차단하기 위한 항체의 IC_{50} 값(M)
H4H10900P	3.921E-11	5.781e-010
H4H10864P	1.149E-09	6.771e-010
H4H10871P	1.178E-10	6.363e-010
H4H10876P	1.720E-10	1.296e-010
비교용 1	5.685E-09	1.590e-008

[0261] 표 14에 나타낸 대로, TSLP 및 IL-2의 존재하에 1 nM에서 인간 IL-25-MMH는 도너 #727058-059로부터 얻어진 인간 총 PBMC로부터 0.071 ng/mL의 IL-5의 방출 및 도너 #727060으로부터 얻어진 인간 총 PBMC로부터 0.599 ng/mL의 IL-5의 방출을 유도했다.

[0262] 표 15에 나타낸 대로, 테스트된 본 발명의 4개 항-IL-25 항체는 모두 hIL-25-MMH의 1 nM에 의해서 유도된 인간 PBMC로부터의 IL-5의 방출을 차단했으며, IC_{50} 값은 도너 #727058-059에 대해 39.2 pM 내지 1.149 nM의 범위였고, 도너 #727060에 대해 129.6 pM 내지 677.1 pM의 범위였다. 비교용 1은 도너 #727058-059에 대해 5.685 nM의 IC_{50} 값 및 도너 #727060에 대해 15.9 nM의 IC_{50} 값으로 IL-5의 방출을 차단했다.

[0263] 이 실시예는 본 발명의 항-IL-25 항체가 비교용 항-IL-25 항체보다 더 큰 정도로 세포에서 IL-25 신호화를 효능있게 차단할 수 있다는 것을 확인한다.

[0264] **실시예 8: 후보 mAb의 생체내 효능을 연구하기 위한 DNA(HDD)-유도된 폐 호산구증가증, 배상세포 화생 및 상승된 혈청 IgE의 IL-25 유체역학적 송달**

[0265] 인간 IL-25는 DNA(HDD)의 유체역학적 송달에 의해서 야생형(WT) 마우스에서 과발현되었다. HDD 실험을 위해 WT 마우스에 전체 길이 인간 IL-25를 발현하는 플라스미드(NM_022789.3; hIL-25 및 또한 SEQ ID NO: 277(DNA) 및 SEQ ID NO: 278(단백질)) 25 μg 또는 코딩 서열을 결여한 동일한 플라스미드(빈 벡터) 25 μg을 주사했다. 이어서, hIL-25 플라스미가 주사된 마우스의 서브셋에 IL-25 항체, 또는 일치하는 용량의 아이소타입 대조군 항체를 HDD 주사 3일 전에, HDD 주사 당일, 및 다음에 HDD 주사 후 2일 및 4일째에 주사했다. 마우스를 HDD 주사 후 7일째에 죽이고 혈액과 폐를 수집했다. 혈청 IgE 수준을 ELISA에 의해서 정량했다; 폐 호산구증가증을 콜라게나제 처리 후 폐를 침윤한 세포의 분리 및 유세포계수법에 의해서 평가했다; 그리고 배상세포 화생을 주기적 산 Schiff(PAS) 염색된 폐 절편의 정량에 의해서 평가했다.

[0266] 마우스 그룹에 대한 실험 투약 및 치료 프로토콜은 표 16A 및 16B에 제시된다.

표 16

[0267]

표 16A - 연구 1					
그룹	**마우스**	**n**	**구성물**	**항체**	**mAb 용량**
1	WT	3	빈 벡터	없음	
2	WT	5	hIL-25	아이소타입 대조군	25 mg/kg
3	WT	5	hIL-25	항-IL-25 H4H10871P	25 mg/kg
4	WT	5	hIL-25	항-IL-25 H4H10900P	25 mg/kg
표 16B - 연구 2					
그룹	**마우스**	**n**	**구성물**	**항체**	**mAb 용량**
1	WT	5	빈 벡터	없음	
2	WT	4	hIL-25	없음	
3	WT	5	hIL-25	항-IL-25 H4H10871P	5 mg/kg
4	WT	5	hIL-25	항-IL-25 H4H10871P	25 mg/kg

[0268] **순환하는 IgE 수준의 측정**

[0269] 27G½ 1 mL TB 주사기(BD, #309306)를 사용하여 말단 심장 펀처를 통해서 각 마우스로부터 혈액 샘플을 수집하고, 수집된 혈액을 BD Microtainer® 혈청 분리장치 튜브(BD, #365956)에 넣었다. 원심분리 후, 혈청을 수집하고 새로운 튜브로 옮겼다.

[0270] 혈청 샘플에서 총 IgE 농도를 결정하기 위하여, 샌드위치 ELISA OPTEIA 키트(BD, #555248)를 BD OPTEIA 시약 세트 B(BD, #550534)와 함께 제조자의 지시에 따라서 사용했다. 간단히 말해서, 혈청 샘플을 시약 희석제에 희석하고, 항-IgE 포착 항체로 코팅된 96-웰 플레이트 위에 플레이팅했다. 제조자에 의해서 공급된, 정제된 마우스 IgE를 기준 표준물질로서 사용했다. 세척 후 플레이트-결합된 총 IgE를 바이오틴화된 항-마우스 IgE 항체를 사용한 후 스트렙타비딘-홀스래디쉬 퍼옥시다제 콘쥬게이트를 첨가하여 검출했다. 이어서, 발색단 3,3',5,5'-테트라메틸벤지딘을 첨가하여 비색 반응을 야기한 다음, 1M 황산으로 중화한 후 Molecular Devices SpectraMax M5 플레이트 리더에서 450nm에서 흡광도를 측정했다. 데이터 분석을 Prism™ 소프트웨어(GraphPad)를 사용하여 수행했다. 각 실험 그룹에 대해 순환하는 IgE의 평균량은 표 18 및 19에 나타낸 대로 ng/mL ± 표준편차(SD)로 표시된다.

[0271] **폐 세포 침윤물 분석을 위한 폐 수거**

[0272] 사혈 후 각 마우스로부터 우측 폐의 후엽을 제거하고 크기가 약 2 내지 3mm인 큐브로 잘라서 Hank 균형 염 용액(HBSS)(Gibco, #14025)에 희석된 20 μg/mL DNAse(Roche, #10104159001) 및 0.7 U/mL 리베라제 TH(Roche, #05401151001)의 용액을 함유하는 튜브에 넣고, 이것을 5분마다 뒤집으면서 20분 동안 37℃ 수조에서 인큐베이션했다. 10mM의 최종 농도로 에틸렌디아민테트라아세트산(Gibco, #15575)을 첨가함으로써 반응을 중단시켰다. 이어서, 각 폐를 gentleMACS dissociator®(Miltenyi Biotec, #130-095-937)을 사용하여 해리시킨 후 70 μm 필터를 통해서 여과하고 원심분리했다. 결과의 폐 펠릿을 1X 적혈구 용해 버퍼(Sigma, #R7757) 1 mL에 재현탁하여 적혈구를 제거했다. 실온에서 3분 동안 인큐베이션 후, 1X DMEM 3mL를 첨가하여 적혈구 용해 버퍼를 비활성화시켰다. 다음에, 세포 현탁액을 원심분리하고, 결과의 세포 펠릿을 MACS 버퍼(autoMACS 전개 버퍼; Miltenyi Biotec, #130-091-221) 5mL에 재현탁했다. 재현탁된 샘플을 70 μm 필터를 통해서 여과하고, 웰 당 $1x10^6$ 세포를 96-웰 V-바닥 플렐이트에 플레이팅했다. 다음에, 세포를 원심분리하고 펠릿을 1X PBS로 세척했다. 두 번째 원심분리 후, 세포 펠릿을 1X PBS 중에 1:1000으로 희석된 LIVE/DEAD® Fixable Aqua Dead Cell Stain(Life Technologies, #L34957) 100 μL에 재현탁하여 세포 생육성을 결정하고, 빛으로부터 보호하면서 실온에서 20분 동안 인큐베이션했다. 1X PBS에서 1번 세척한 후 세포를 4℃에서 10분 동안 정제된 래트 항-마우스 CD16/CD32 Fc Block(Clone: 2.4G2; BD Biosciences, #553142) 10 μg/mL를 함유하는 MACS 버퍼의 용액에서 인큐베이션했다. 세포를 1번 세척한 다음, 빛으로부터 보호하면서 4℃에서 30분 동안 MACS 버퍼에 희석된 적절한 항체 혼합물(표 17에 설명됨)에서 인큐베이션했다. 항체 인큐베이션 후, 세포를 MACS 버퍼에서 2번 세척하고, BD cytofix(BD Biosciences, #554655)에 재현탁한 다음, 빛으로부터 보호하면서 4℃에서 15분 동안 인큐베이션했다. 이어서, 세포를 세척하고 MACS 버퍼에 재현탁한 다음, 유세포계수법에 의해 호산구를 분석하기 위해 BD FACS 튜브(BD Biosciences, #352235)로 옮겼다.

[0273] 호산구는 Live, $CD45^+$, $GR1^-$, $CD11c^{lo}$, $SiglecF^{hi}$로서 정의되었다. 데이터는 표 20 및 21에 나타낸 대로 면역 세포 집단 내에서 호산구의 빈도로서 표시된다(CD45+ 세포의 % ± SD).

표 17

[0274] 유세포계수법 분석에서 사용된 항체

항체	형광색소	제조자	Catalog No.	최종 희석
CD11c	APC	BD Biosciences	550261	1/100
CD45	PerCP Cy5.5	eBiosciences	45-0454-82	1/800
F4/80	Pacific Blue	eBiosciences	48-4801-82	1/200
Siglec-F	PE	BD Biosciences	552126	1/100
Ly6G (Gr-1)	APC-eFluor780	eBiosciences	47-5931-82	1/200

[0275] **배상세포 화생 분석을 위한 폐 수거**

[0276] 사혈 후 각 마우스로부터 좌측 폐를 제거하고 1X 포스페이트 완충 식염수 중의 4% (w/v) 파라포름알데하이드(Boston Bioproducts, #BM-155)의 용액 5 mL를 함유하는 튜브에 넣어 적어도 24시간 동안 실온에 보관했다. 다음에, 폐 샘플에서 물기를 없애 건조되게 하고 70% 에탄올을 함유하는 튜브로 옮겼다. 샘플을 파라핀 포매, 절편화 및 주기적 산 Schiff(PAS) 염색을 위해 Histoserv, Inc(Germantown, MD)로 보냈다.

[0277] Zeiss Axio Imager A2 현미경(40X 대물)을 사용하여 PAS 염색된 폐 절편의 사진을 찍었다. PAS에 대해 양성 염색된 세포가 배상세포로서 확인되었으며, 기관지의 상피의 1 내지 2mm 길이 절편 내에서 계수했다. 배상세포 수는 상피의 분석된 절편 내에서 세포의 총수에 상대적으로 표시되었다. 배상세포의 빈도 ±SD로서 표시된 데이터는 표 22에 제시된다.

표 18

[0278] 연구 1로부터 총 마우스 IgE의 순환 수준

그룹	마우스	구성물	항체	mAb 용량	평균 순환 IgE 수준(ng/mL ±SD)
1	WT	빈 벡터	없음		311 ±200
2	WT	hIL-25	아이소타입 대조군	25 mg/kg	3417 ±1627
3	WT	hIL-25	H4H10871P	25 mg/kg	333 ±125
4	WT	hIL-25	H4H10900P	25 mg/kg	1240 ±2233

표 19

[0279] 연구 2로부터 총 마우스 IgE의 순환 수준

그룹	마우스	구성물	항체	mAb 용량	평균 순환 IgE 수준(ng/mL ±SD)
1	WT	빈 벡터	없음		93 ±71
2	WT	hIL-25	없음		1186 ±1370 **
3	WT	hIL-25	H4H10871P	5 mg/kg	190 ±99
4	WT	hIL-25	H4H10871P	25 mg/kg	118 ±26

[0280] Dunn 다중 비교 포스트-테스트를 동반한 Kruskal-Wallis 테스트에 의해서 결정된 빈 벡터 그룹과 비교된 통계적 유의성이 제시된다(** $p<0.001$).

표 20

[0281] 연구 1로부터 폐 호산구의 빈도

그룹	마우스	구성물	항체	mAb 용량	호산구의 평균 빈도(CD45+ 세포의 % ±SD)
1	WT	빈 벡터	없음		1.47 ±0.16
2	WT	hIL-25	아이소타입 대조군	25 mg/kg	17.20 ±2.39
3	WT	hIL-25	H4H10871P	25 mg/kg	1.03 ±0.16 **
4	WT	hIL-25	H4H10900P	25 mg/kg	1.36 ?0.19

[0282] Dunn 다중 비교 포스트-테스트를 동반한 Kruskal-Wallis 테스트에 의해서 결정된 아이소타입 대조군과 비교된 통계적 유의성이 제시된다(** $p<0.001$).

표 21

[0283] 연구 2로부터 폐 호산구의 빈도

그룹	마우스	구성물	항체	mAb 용량	호산구의 평균 빈도(CD45+ 세포의 % ±SD)
1	WT	빈 벡터	없음		6.35 ±1.46
2	WT	hIL-25	없음		32.29 ±18.35
3	WT	hIL-25	H4H10871P	5 mg/kg	4.46 ±1.66 *
4	WT	hIL-25	H4H10871P	25 mg/kg	5.23 ±2.13

[0284] Dunn 다중 비교 포스트-테스트를 동반한 Kruskal-Wallis 테스트에 의해서 결정된 hIL-25와 비교된 통계적 유의성이 제시된다(* $p<0.01$).

표 22

[0285] 연구 2로부터 배상세포 화생

그룹	마우스	구성물	항체	mAb 용량	배상세포의 평균 빈도(상피에서 총 세포 % ±SD)
1	WT	빈 벡터	없음		1.15 ±1.67
2	WT	hIL-25	없음		59.63 ±39.74
3	WT	hIL-25	H4H10871P	5 mg/kg	1.71 ±1.93
4	WT	hIL-25	H4H10871P	25 mg/kg	6.90 ±11.55

[0286] HDD에 의해서 인간 IL-25를 과발현한 야생형 마우스(연구 1에서 3417±1627 ng/mL 및 연구 2에서 1186±1370 ng/mL)는 HDD에 의해서 빈 벡터가 주어진 야생형 마우스(연구 1에서 311±200 ng/mL 및 연구 2에서 1186±1370 ng/mL)와 비교하여 순환하는 IgE의 증가된 수준을 나타냈다. 순환하는 IgE의 수준은 HDD에 의해서 인간 IL-25를 과발현하는 마우스가 표 18 및 19에 나타낸 대로 IL-25 항체로 처리되었을 때 각 연구에서 감소되었다. HDD에 의해서 인간 IL-25를 과발현한 야생형 마우스(연구 1에서 17.20±2.39% 및 연구 2에서 32.29±18.35%)는 HDD에 의해서 빈 벡터가 제공된 야생형 마우스(연구 1에서 1.47±0.16% 및 연구 2에서 6.35±1.46%)와 비교하여 폐 호산구의 증가된 빈도를 향한 경향을 나타냈다. 폐 호산구의 빈도는 HDD에 의해서 인간 IL-25를 과발현하는 마우스가 표 20 및 21에 나타낸 대로 IL-25 항체로 처리되었을 때 각 연구에서 감소되었다. HDD에 의해서 인간 IL-25를 과발현한 야생형 마우스(연구 2에서 59.63±39.74)는 HDD에 의해서 빈 벡터가 제공된 야생형 마우스(연구 2에서 1.15±1.67)와 비교하여 증가된 배상세포 화생을 향한 경향을 나타냈다. 배상세포 화생의 빈도는 HDD에 의해서 인간 IL-25를 과발현하는 마우스가 표 22에 나타낸 대로 IL-25 항체로 처리되었을 때 연구 2에서 감소되었다.

[0287] **실시예 9: WT 및 IL-25 KO 마우스에서 만성적인 집먼지 진드기 알레르겐(HDM)-유도된 폐 염증**

[0288] 관련된 생체내 모델에서 IL-25의 역할을 결정하기 위해, 만성적인 집먼지 진드기 알레르겐(HDM)-유도된 폐 염증 연구를 야생형 마우스(WT)와 마우스 IL-25의 결실에 대해 동형접합성이었던 마우스(IL-25 KO 마우스)에서 수행했다.

[0289] IL-25 KO 및 WT 마우스를 12주 동안 매주 5일간 1X 포스페이트 완충 식염수(PBS) 20 μL에 희석된 집먼지 진드기 추출물(HDM; Greer, #XPB70D3A2.5) 50 μg 또는 1X PBS 20 μL를 비내 투여했다. 모든 마우스는 13주차 연구의 첫날에 죽였고 폐를 수거했다. 마우스 그룹에 대한 실험 투약 및 치료 프로토콜은 표 23에 제시된다.

표 23

[0290] 마우스 그룹에 대한 실험 투약 및 치료 프로토콜

그룹	마우스	n	비내 시험감염	비내 시험감염 기간
1	WT	3	1X PBS (식염수)	12 주
2	WT	4	20 μL 1X PBS 중 50 μg HDM	12 주
3	IL-25 KO	4	1X PBS (식염수)	12 주

4	IL-25 KO	5	20 μL 1X PBS 중 50 μg HDM	12 주

[0291] **폐 세포 침윤물 분석을 위한 폐 수거**

[0292] 사혈 후 각 마우스로부터 우측 폐의 후엽을 제거하고 크기가 약 2 내지 3mm인 큐브로 잘라서 Hank 균형 염 용액(HBSS)(Gibco, #14025)에 희석된 20 μg/mL DNAse(Roche, #10104159001) 및 0.7 U/mL 리베라제 TH(Roche, #05401151001)의 용액을 함유하는 튜브에 넣고, 이것을 5분마다 뒤집으면서 20분 동안 37℃ 수조에서 인큐베이션했다. 10mM의 최종 농도로 에틸렌디아민테트라아세트산(Gibco, #15575)을 첨가함으로써 반응을 중단시켰다. 이어서, 각 폐를 gentleMACS dissociator®(Miltenyi Biotec, #130-095-937)을 사용하여 해리시킨 후 70 μm 필터를 통해서 여과하고 원심분리했다. 결과의 폐 펠릿을 1X 적혈구 용해 버퍼(Sigma, #R7757) 1 mL에 재현탁하여 적혈구를 제거했다. 실온에서 3분 동안 인큐베이션 후, MACS 버퍼(autoMACS Running Buffer; Miltenyi Biotec, #130-091-221) 3mL를 첨가하여 적혈구 용해 버퍼를 비활성화시켰다. 다음에, 세포 현탁액을 원심분리하고, 결과의 세포 펠릿을 MACS 버퍼 5mL에 재현탁했다. 재현탁된 샘플을 70 μm 필터를 통해서 여과하고, 웰당 $1x10^6$ 세포를 96-웰 V-바닥 플렐이트에 플레이팅했다. 다음에, 세포를 원심분리하고 펠릿을 1X PBS로 세척했다. 두 번째 원심분리 후, 세포 펠릿을 1X PBS 중에 1:1000으로 희석된 LIVE/DEAD® Fixable Aqua Dead Cell Stain(Life Technologies, #L34957) 100 μL에 재현탁하여 세포 생육성을 결정하고, 빛으로부터 보호하면서 실온에서 20분 동안 인큐베이션했다. 1X PBS에서 1번 세척한 후 세포를 4℃에서 10분 동안 정제된 래트 항-마우스 CD16/CD32 Fc Block(Clone: 2.4G2; BD Biosciences, #553142) 10 μg/mL를 함유하는 MACS 버퍼의 용액에서 인큐베이션했다. 세포를 1번 세척한 다음, 빛으로부터 보호하면서 4℃에서 30분 동안 MACS 버퍼에 희석된 적절한 항체 혼합물(표 24에 설명됨)에서 인큐베이션했다. 항체 인큐베이션 후, 세포를 MACS 버퍼에서 2번 세척하고, BD cytofix(BD Biosciences, #554655)에 재현탁한 다음, 빛으로부터 보호하면서 4℃에서 15분 동안 인큐베이션했다. 이어서, 세포를 세척하고 MACS 버퍼에 재현탁한 다음, 유세포계수법에 의해 호중구 및 림프구를 분석하기 위해 BD FACS 튜브(BD Biosciences, #352235)로 옮겼다.

[0293] 호중구는 Live, $CD45^+$, $F4/80^-$, $Ly6G^+$, $Ly6C^{Int}$로서 정의되었다. 호중구에 대한 데이터는 표 25에 나타낸 대로 분석된 살아있는 세포의 빈도로서 표시된다(살아있는 빈도, ± SD). CD4 및 CD8 T 세포는 Live, SSC^{Lo}, FSC^{Lo}, $CD45^+$, $CD19^-$, $CD3^+$, $CD8^-$, $CD4^+$ 및 Live, SSC^{Lo}, FSC^{Lo}, $CD45^+$, $CD19^-$, $CD3^+$, $CD8^+$, $CD4^-$로서 각기 정의되었다. CD4 및 CD8 T 세포에 대한 데이터는 표 25에 나타낸 대로 CD8 T 세포의 빈도에 대한 CD4 T 세포의 빈도로서 표시된다(CD4/CD8 비, ± SD). 활성화된 CD4 T 세포는 Live, $CD45^+$, SSC^{Lo}, FSC^{Lo}, $CD3^+$, $CD19^-$, $CD4^+$, $CD8^-$, 및 $CD69^+$이었던 세포로서 정의되었다. 활성화된 CD8 T 세포는 Live, $CD45^+$,SSC^{Lo}, FSC^{Lo}, $CD3^+$, $CD19^-$, $CD4^+$, $CD8^-$, 및 $CD69^+$이었던 세포로서 정의되었다. 활성화된 세포에 대한 데이터는 표 25에 나타낸 대로 모 집단 내에서 활성화된 세포($CD69^+$)의 빈도로서 표시되었다(CD4 또는 CD8 T 세포의 빈도, ± SD).

표 24

[0294] 유세포계수법 분석에 사용된 항체

항체	형광색소	제조자	Catalog No.	최종 희석
CD11c	APC	BD Biosciences	550261	1/100
CD45	PerCP Cy5.5	eBiosciences	45-0454-82	1/800
F4/80	Pacific Blue	eBiosciences	48-4801-82	1/200
Siglec-F	PE	BD Biosciences	552126	1/100
Ly6G(Gr-1)	APC-eFluor780	eBiosciences	47-5931-82	1/200
CD3	PE-Cy7	BD Biosciences	552774	1/200
CD19	eFluor 450	eBiosciences	48-0193-82	1/200
CD4	APC-H7	BD Biosciences	560181	1/200
CD8	APC	eBiosciences	17-0081-82	1/200
CD69	PE	eBiosciences	12-0691-82	1/200

[0295] **사이토카인 분석을 위한 폐 수거:**

[0296] 사혈 후 각 마우스로부터 우측 폐의 전엽과 중엽을 제거하고 1X Halt 프로테아제 억제제 칵테일(Pierce, #78430)로 보충된 조직 단백질 추출 시약(1X T-PER 시약; Pierce, #78510)의 용액을 함유하는 튜브에 넣었다. 모든 추가의 단계는 얼음 위에서 수행했다. T-PER 시약(프로테아제 억제제 칵테일을 함유하는)의 부피를 각 샘플에 대해 1:7.5 (w/v) 조직 대 T-PER 비와 일치하도록 조정했다. 폐 샘플을 일회용 막자(Argos Technologies, cat P9950-901)를 사용하여 튜브에서 손으로 균질화했다. 결과의 용해물을 원심분리하여 파편을 펠릿으로 만들었다. 가용성 단백질 추출물을 함유하는 상청액을 새 튜브로 옮겨서 추가의 분석시까지 4℃에 보관했다.

[0297] 폐 단백질 추출물에서 총 단백질 함량을 Bradford 어쎄이를 사용하여 측정했다. 이 어쎄이를 위해서 중복해서 희석된 추출물 샘플 10㎕를 96-웰 플레이트에 플레이팅하고 1X Dye 시약(Biorad, #500-0006) 200㎕와 혼합했다. 1X T-Per 시약 중 700 ㎍/mL에서 시작하는 소 혈청 알부민(Sigma, #A7979)의 연속 희석액을 표준물질로 사용하여 추출물의 정확한 단백질 농도를 결정했다. 실온에서 5분 인큐베이션한 후 595nm에서 흡광도를 Molecular Devices SpectraMax M5 플레이트 리더에서 측정했다. 총 단백질 함량을 결정하기 위한 데이터 분석을 GraphPad Prism™ 소프트웨어를 사용하여 수행했다.

[0298] 폐 단백질 추출물에서 사이토카인 농도를 Proinflammatory Panel 1(마우스) 멀티플렉스 이뮤노어쎄이 키트(MesoScale Discovery, # K15048D)를 사용하여 제조자의 지시에 따라서 측정했다. 간단히 말해서, 캘리브레이터와 샘플(희석제 41에 희석된) 50 ㎕/웰을 포착 항체로 미리 코팅된 플레이트에 첨가하고 2시간 동안 700rpm에서 진동시키면서 실온에서 인큐베이션했다. 다음에, 플레이트를 0.05% (w/v) Tween-20을 함유하는 1X PBS로 3번 세척하고, 이어서 희석제 45에 희석된 검출 항체 용액 25 ㎕를 첨가했다. 진동시키면서 실온에서 2시간 더 인큐베이션한 후 플레이트를 3번 세척하고, 2X Read 버퍼 150 ㎕를 각 웰에 첨가했다. 전기화학발광을 MSD Spector® 기기에서 즉시 판독했다. 데이터 분석을 GraphPad Prism™ 소프트웨어를 사용하여 수행했다.

[0299] 측정된 폐 총 단백질 추출물에서 각 사이토카인 농도를 Bradford 어쎄이에 의해서 측정된 추출물의 총 단백질 함량에 대해 정규화하고, 표 26에 나타낸 대로 총 폐 단백질의 mg 당 사이토카인의 pg(pg/mg 폐 단백질, ± SD)으로 표시했다.

표 25

[0300] 유세포계수법에 의해서 결정된 폐 세포 침윤물의 빈도

실험 그룹	호중구의 평균 빈도(살아 있는 세포의 %,±SD)	평균 CD4/CD8 비율(±SD)	활성화된 CD4+ T 세포의 평균 빈도(CD4 T 세포의 %,±SD)	활성화된 CD8+ T 세포의 평균 빈도(CD8 T 세포의 %,±SD)
WT 식염수	6.57 ±1.27 **	1.00 ±0.07 **	10.74 ±0.75 ***	3.01 ±1.24 **
WT HDM	13.53 ±2.63	3.89 ±1.63	57.10 ±4.03	26.18 ±13.16
IL-25 KO 식염수	5.98 ±0.26 **	1.33 ±0.21 **	10.16 ±2.14 ***	5.51 ±6.00 **
IL-25 KO HDM	6.89 ±2.68 **	2.02 ±0.48 *	38.65 ±11.06 **	6.37 ±3.10 **

[0301] Tukey 다중 비교 포스트-테스트를 동반한 2 WAY ANOVA에 의해서 결정된 WT HDM 그룹과 비교된 통계적 유의성이 제시된다(** p<0.001; *** p<0.0001).

표 26

[0302] 폐 단백질 추출물에서 사이토카인 농도

실험 그룹	폐 단백질 추출물에서 평균 [IL-1β](pg/mg 폐 단백질) ± SD	폐 단백질 추출물에서 평균 [TNFα](pg/mg 폐 단백질) ±SD
WT 식염수	0.24 ±0.11 **	0.76 ±0.22 ***
WT HDM	138.70 ±70.17	11.42 ±2.60
IL-25 KO 식염수	0.49 ±0.42 ***	0.78 ±0.14 ***
IL-25 KO HDM	21.69 ±17.90 **	5.01 ±2.94 **

[0303] Tukey의 다중 비교 포스트-테스트를 동반한 2 WAY ANOVA에 의해서 결정된 WT HDM 그룹과 비교된 통계적 유의성이 제시된다(** p<0.001; *** p<0.0001).

[0304] 표 25에 나타낸 대로, WT 마우스에서 HDM에 대한 장기적인 또는 만성적인 노출은 PBS에만 노출된 WT 마우스와 비교하여 폐 호중구증가증에 유의한 증가를 유도했다. WT 마우스에서 만성적인 HDM 시험감염은 또한 폐에서 CD4 및 CD8 T 세포의 균형에 이동을 유도했을 뿐만 아니라 활성화된 CD4 및 CD8 T 세포의 빈도에 증가를 유도했다. 만성 HDM 시험감염에 의해서 유도된 폐 호중구증가증 및 폐 세포 염증의 다른 특징들의 증가는 WT 마우스와 비교하여 IL-25 KO 마우스에서 유의하게 감소되었다.

[0305] HDM에 대한 장기적 노출은 PBS에만 노출된 WT 마우스와 비교하여 WT 마우스의 폐에서 IL-1β 및 TNFα와 같은 전-염증성 사이토카인의 수준에 유의한 증가를 유도했다. 반면, HDM에 대한 IL-25 KO 마우스의 만성적인 노출은 표 26에 나타낸 대로 이들 두 사이토카인의 폐 수준을 유의하게 증가시키지 않았다.

[0306] 요약하면, HDM에 대한 만성적인 노출은 WT 마우스에서 폐 염증의 특징을 유도하는데, 이것은 동일한 시험감염을 수용한 IL-25 KO 마우스의 폐에는 부재한다.

[0307] 본 발명은 본원에서 설명된 특정 구체예들에 의해서 범위가 제한되지 않는다. 실제로, 본원에서 설명된 것들에 더하여 본 발명의 다양한 변형이 전술한 설명 및 첨부한 도면으로부터 당업자에게 명백해질 것이다. 이러한 변형은 첨부된 청구항의 범위 내에 들어가도록 의도된다.

도면

도면1

	mAb-1과 사전 복합체화된 IL-25에 대한 mAb-2의 결합																	
mAb-1	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
1	0.00	0.04	0.03	0.04	0.04	0.04	0.01	0.05	0.05	0.00	0.85	0.91	0.60	0.59	0.66	0.64	0.80	0.97
2	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.01	0.00	0.01	0.02	0.00	0.67	0.86	0.59	0.58	0.62	0.59	0.74	0.91
3	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.01	0.00	0.01	0.02	0.00	0.72	0.83	0.58	0.57	0.61	0.56	0.73	0.87
4	0.00	0.02	0.00	0.00	0.02	0.00	0.00	0.03	0.02	0.00	1.12	1.13	0.89	0.83	0.94	0.92	1.11	1.30
5	0.00	0.19	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.01	0.01	0.00	1.08	0.99	0.74	0.73	0.82	0.77	0.97	1.22
6	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.01	0.00	1.00	0.98	0.72	0.71	0.80	0.73	0.93	1.21
7	0.00	0.04	0.03	0.01	0.03	0.02	0.00	0.05	0.03	0.00	1.02	0.99	0.76	0.73	0.83	0.81	0.99	1.25
8	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.94	0.97	0.72	0.71	0.81	0.79	0.93	1.13
9	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.85	0.99	0.77	0.68	0.79	0.71	0.92	1.19
10	0.00	0.03	0.02	0.03	0.04	0.02	0.00	0.08	0.05	0.00	0.19	0.77	0.48	0.50	0.56	0.51	0.66	0.85
11	0.53	0.63	0.64	0.57	0.68	0.64	0.47	0.77	0.62	0.11	0.00	0.69	0.54	0.45	0.52	0.61	0.74	0.52
12	0.51	0.63	0.64	0.56	0.67	0.61	0.48	0.67	0.58	0.70	0.78	0.00	0.42	0.48	0.47	0.50	0.68	0.88
13	0.58	0.72	0.76	0.65	0.75	0.75	0.55	0.77	0.66	0.82	1.03	0.88	0.00	0.02	0.11	0.09	0.20	0.30
14	0.63	0.73	0.74	0.71	0.77	0.64	0.60	0.82	0.72	0.82	0.90	0.87	0.03	0.00	0.08	0.06	0.13	0.28
15	0.59	0.70	0.68	0.67	0.73	0.60	0.57	0.77	0.68	0.77	0.79	0.68	0.00	0.00	0.00	0.00	0.05	0.17
16	0.57	0.68	0.66	0.63	0.70	0.56	0.55	0.75	0.66	0.74	0.90	0.73	0.00	0.00	0.00	0.00	0.05	0.16
17	0.62	0.74	0.74	0.70	0.78	0.72	0.56	0.86	0.72	0.79	0.99	0.87	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.13
18	0.55	0.67	0.66	0.63	0.69	0.63	0.50	0.76	0.64	0.68	0.50	0.76	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> Regeneron Pharmaceuticals, Inc.

<120> Anti-IL-25 Antibodies and Uses Thereof

<130> A0034W001

<150> 62/054,167

<151> 2014-09-23

<160> 278

<170> FastSEQ for Windows Version 4.0

<210> 1

<211> 363

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 1

gaggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc ttggtagagc ctgggggtc ccttagactc 60

tcctgtgtag cctctggatt cactttcagt aacgcctgga tgaactgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggttggccat attgaaagga aaactgatgg tgggacaaca 180

gacttcgctg cacccgtgaa aggcagattc accatctcaa gagatgattc aaaaaacacg 240

ctgtatctgc aaatgaacag cctgaaaacc gaggacacag ccgtgtatta ctgtaccaca 300

gtgggccccct acagtgtccc ttttgactac tggggccagg gaaccctggt caccgtctcc 360

tca 363

<210> 2

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 2

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly His Ile Glu Arg Lys Thr Asp Gly Gly Thr Thr Asp Phe Ala Ala

50 55 60

Pro Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

Tyr Cys Thr Thr Val Gly Pro Tyr Ser Val Pro Phe Asp Tyr Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 3

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 3

ggattcactt tcagtaacgc ctgg 24

<210> 4

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 4

Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala Trp

1 5

<210> 5

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 5

attgaaagga aaactgatgg tgggacaaca 30

<210> 6

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 6

Ile Glu Arg Lys Thr Asp Gly Gly Thr Thr

1 5 10

<210> 7

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 7

accacagtgg gcccctacag tgtccctttt gactac 36

<210> 8

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 8

Thr Thr Val Gly Pro Tyr Ser Val Pro Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 9

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 9

gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggcaagtca gagcattggc agctatttaa attggtatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180

aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240

gaagattttg caacttacta ctgtcaacag acttacagta cccccatcac cttcggccaa 300

gggacacgac tggagattaa a 321

<210> 10

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 10

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 Ser Ile Gly 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 Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Thr Tyr Ser Thr Pro Ile

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 11

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 11

cagagcattg gcagctat 18

<210> 12

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 12

Gln Ser Ile Gly Ser Tyr

1 5

<210> 13

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 13

gctgcatcc 9

<210> 14

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 14

Ala Ala Ser

1

<210> 15

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 15

caacagactt acagtacccc catcacc 27

<210> 16

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 16

Gln Gln Thr Tyr Ser Thr Pro Ile Thr

1 5

<210> 17

<211> 360

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 17

caggttcagc tggtgcagtc tggagctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60

tcctgcaagg cttctggtta cacctttacc agctatggta tcagctgggt gcgacaggcc 120

cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atcagcgctt acaatggtaa cacaaactat 180

gcacagaagc tccagggcag agtcaccatg accacagaca catccacgag cacagcctac 240

atggagctga ggagcctgag atctgacgac acggccgtgt attactgtgc gagagttccc 300

ataactggaa ctacctggtt cgacccctgg ggccagggaa ccctggtcac cgtctcctca 360

<210> 18

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 18

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Trp Ile Ser Ala Tyr Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Leu

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Val Pro Ile Thr Gly Thr Thr Trp Phe Asp Pro Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 19

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 19

ggttacacct ttaccagcta tggt 24

<210> 20

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 20

Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Gly

1 5

<210> 21

<211> 24

<212> DNA

<213>

Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 21

atcagcgctt acaatggtaa caca 24

<210> 22

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 22

Ile Ser Ala Tyr Asn Gly Asn Thr

1 5

<210> 23

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 23

gcgagagttc ccataactgg aactacctgg ttcgacccc 39

<210> 24

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 24

Ala Arg Val Pro Ile Thr Gly Thr Thr Trp Phe Asp Pro

1 5 10

<210> 25

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 25

gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggcaagtca gagcattagc agctatttaa attggtatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180

aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240

gaagattttg caacttacta ctgtcaacag acttacagta ccccccatcac cttcggccaa 300

gggacacgac tggagattaa a 321

<210> 26

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 26

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

<210> 27
<211> 18
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> synthetic
<400> 27
cagagcatta gcagctat 18

<210> 28
<211> 6
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> synthetic
<400> 28
Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
1 5

<210> 29
<211> 9
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> synthetic
<400> 29
gctgcatcc 9

<210> 30

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 30

Ala Ala Ser

1

<210> 31

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 31

caacagactt acagtacccc catcacc 27

<210> 32

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 32

Gln Gln Thr Tyr Ser Thr Pro Ile Thr

1 5

<210> 33

<211> 363

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 33

caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcggagac cctgtccctc 60

acctgcactg tctctggtgg ctccatcagt agtcactact ggagctggat ccggcagccc 120

ccagggaagg gactggaatg gattggtttt atctattaca gtgggagcac caacttcaac 180

ccctccctca agagtcgagt caccatttca atagacacgt ccaagaacca gttctccctg 240

aagctgagct ctgtgaccgc cgcagacacg gccgtgtatt actgtgcgag acatgactac 300

aatgactacg agctcaacta cttcgatctc tggggccgtg gcaccctggc ctctgtctcc 360

tca 363

<210> 34

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 34

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

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser His

20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Arg His Asp Tyr Asn Asp Tyr Glu Leu Asn Tyr Phe Asp Leu Trp Gly

100 105 110

Arg Gly Thr Leu Ala Ser Val Ser Ser

115 120

<210> 35

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 35

ggtggctcca tcagtagtca ctac 24

<210> 36

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 36

Gly Gly Ser Ile Ser Ser His Tyr

1 5

<210> 37

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 37

atctattaca gtgggagcac c 21

<210

> 38

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 38

Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr

1 5

<210> 39

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 39

gcgagacatg actacaatga ctacgagctc aactacttcg atctc 45

<210> 40

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 40

Ala Arg His Asp Tyr Asn Asp Tyr Glu Leu Asn Tyr Phe Asp Leu

1 5 10 15

<210> 41

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 41

gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggcaagtca gagcattagc agctatttaa attggtatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180

aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240

gaagattttg caacttacta ctgtcaacag acttacagta cccccatcac cttcggccaa 300

gggacacgac tggagattaa a 321

<210> 42

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 42

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

50 55 60

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

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

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

<210> 43

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 43

cagagcatta gcagctat 18

<210> 44

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 44

Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
1 5

<210> 45

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 45

gctgcatcc 9

<210> 46

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 46

Ala Ala Ser

1

<210> 47

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 47

caacagactt acagtacccc catcacc 27

<210> 48

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 48

Gln Gln Thr Tyr Ser Thr Pro Ile Thr

1 5

<210> 49

<211> 363

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 49

caggtgcagc tgcaggagtc gggcccaggt ctggtgaagc cttcggagac cctgtccctc 60

acctgcactg tctctggtgc ctccatcagt aattactact ggagttggat ccggcagccc 120

ccagggaagg gactggagtg gattggatat atcttttaca gtgggaacac caactacaac 180

ccctccctca agagtcgagt caccatttca gtagacacgt ccaagaacca gttctccctg 240

aagctgagct ctgtgaccgc cgcagacacg gccgtgtatt actgtgcgag agtcaggttc 300

agtgactacg aactaaactg gttcgacccc tggggccagg ggaccctggt caccgtctcc 360

tca 363

<210> 50

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 50

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Ala Ser Ile Ser Asn Tyr
20 25 30

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

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

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

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

Arg Val Arg Phe Ser Asp Tyr Glu Leu Asn Trp Phe Asp Pro Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 51

<211> 24

<212> DNA

<213

> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 51

ggtgcctcca tcagtaatta ctac 24

<210> 52

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 52

Gly Ala Ser Ile Ser Asn Tyr Tyr

1 5

<210> 53

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 53

atcttttaca gtgggaacac c 21

<210> 54

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 54

Ile Phe Tyr Ser Gly Asn Thr

1 5

<210> 55

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 55

gcgagagtca ggttcagtga ctacgaacta aactggttcg acccc 45

<210> 56

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 56

Ala Arg Val Arg Phe Ser Asp Tyr Glu Leu Asn Trp Phe Asp Pro

1 5 10 15

<210> 57

<211> 339

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 57

gacatcgtga tgacccagtc tccagactcc ctggctgtat ttctgggcga gcgggccacc 60

atcaactgca ggtccagcca gagtgttttt ctcggctcca acaataagaa ctacttagct 120

tggtaccagc agaaacctgg acagcctcct aaactactca tttactgggc gtcttcccgg 180

gaatccgggg tccctgaccg attcagtggc agcgggtcag ggacagattt cactctcact 240

atcaacagcc tgcaggctga agatgtggca gtttattact gtcagcaata tttcattact 300

ccgctcactt tcggcggagg gaccaaggtg gagatcaaa 339

<210

> 58

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 58

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

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ser Ser Gln Ser Val Phe Leu Gly
20 25 30

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

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Ser Arg Glu Ser Gly Val

50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

Ile Asn Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln
85 90 95

Tyr Phe Ile Thr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile
100 105 110

Lys

<210> 59

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 59

cagagtgttt ttctcggctc caacaataag aactac 36

<210> 60

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 60

Gln Ser Val Phe Leu Gly Ser Asn Asn Lys Asn Tyr

1 5 10

<210> 61

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 61

tgggcgtct 9

<210> 62

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 62

Trp Ala Ser

1

<210> 63

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 63

cagcaatatt tcattactcc gctcact 27

<210> 64

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 64

Gln Gln Tyr Phe Ile Thr Pro Leu Thr

1 5

<210> 65

<211> 363

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 65

caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcggagac cctgtccctc 60

acctgcactg tctctggtgg ctccatcagt agttacttct ggagctggat ccggcaggcc 120

ccaggaaagg gactggagtg gattggattt atcgattaca gtgggagcac caactacaac 180

ccctccctca agagtcgagt caccatatca gtagacacgt ccaagaacca gttctccctg 240

aagttgaact ctgtgaccgc cgcagacacg gccgtctatt actgtgcgag acaagagatc 300

attaacttcg agctgaactg gttcgacccc tggggccagg gaaccctggt cactgtctcc 360

tca 363

<210> 66

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 66

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Phe Trp Ser Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Lys Leu Asn Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

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

100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 67

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 67

ggtggctcca tcagtagtta cttc 24

<210> 68

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 68

Gly Gly Ser Ile Ser Ser Tyr Phe

1 5

<210> 69

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 69

atcgattaca gtgggagcac c 21

<210

> 70

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 70

Ile Asp Tyr Ser Gly Ser Thr

1 5

<210> 71

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 71

gcgagacaag agatcattaa cttcgagctg aactggttcg acccc 45

<210> 72

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 72

Ala Arg Gln Glu Ile Ile Asn Phe Glu Leu Asn Trp Phe Asp Pro

1 5 10 15

<210> 73

<211> 339

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 73

gacatcgtga tgacccagtc tccagcctcc ctggctgtgt ctctgggcga gagggccacc 60

atcaactgca agtccagcca gagtgtttta tacagttcca acaataagaa ctacttagct 120

tggtaccagc agaaaccagg acagcctcct aacctgctca tttactggtc atctacccgg 180

gactccgggg tccctgaccg attcagtggc agcggttctg gggcagattt cactctcacc 240

atcagcagcc tgcaggctga agatgtggca gtttattact gtcagcaata ttttagtact 300

ccgtggacgt tcggccaagg gaccaaggtg gaaatcaaa 339

<210> 74

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 74

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

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser

20 25 30

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

35 40 45

Pro Pro Asn Leu Leu Ile Tyr Trp Ser Ser Thr Arg Asp Ser Gly Val

50 55 60

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

65 70 75 80

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln

85 90 95

Tyr Phe Ser Thr Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile

100 105 110

Lys

<210> 75

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 75

cagagtgttt tatacagttc caacaataag aactac 36

<210> 76

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 76

Gln Ser Val Leu Tyr Ser Ser Asn Asn Lys Asn Tyr

1 5 10

<210> 77

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 77

tggtcatct 9

<210> 78

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 78

Trp Ser Ser

1

<210> 79

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 79

cagcaatatt ttagtactcc gtggacg 27

<210> 80

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 80

Gln Gln Tyr Phe Ser Thr Pro Trp Thr

1 5

<210> 81

<211> 363

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 81

caggttcagc tggtgcagtc cggagctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60

tcctgtaagg cttctggtta cacctttagt agttatggta ttagctgggt gcgacaggcc 120

cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atcagcgctt acaatgataa cacacagtat 180

gcacagaaat tccagggcag agtcaccatg accacagaca catccacgag cacagcctac 240

atggagctga ggagcctgag atctgacgac acggccgtgt attactgtgc gagagtccca 300

ttacaatggt tcggggagtc ctttgaccac tggggccagg gaaccctggt caccgtctcc 360

tca 363

<210> 82

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 82

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

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

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

Gly Trp Ile Ser Ala Tyr Asn Asp Asn Thr Gln Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

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

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

Ala Arg Val Pro Leu Gln Trp Phe Gly Glu Ser Phe Asp His Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 83

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 83

ggttacacct ttagtagtta tggt 24

<210> 84

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 84

Gly Tyr Thr Phe Ser Ser Tyr Gly

1 5

<210> 85

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 85

atcagcgctt acaatgataa caca 24

<210

> 86

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 86

Ile Ser Ala Tyr Asn Asp Asn Thr

1 5

<210> 87

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 87

gcgagagtcc cattacaatg gttcggggag tcctttgacc ac 42

<210> 88

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 88

Ala Arg Val Pro Leu Gln Trp Phe Gly Glu Ser Phe Asp His
1 5 10

<210> 89

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 89

gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtggggga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggcaagtca ggacattaac aactatttaa attggtttca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaagctcct gatcttttct acatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180

aggttcagtg gcagtggctc tggaacagat ttcactctca ccatcagcag tctccaatct 240

gaagattttg caacttatta ctgtcaacag actttcatta ccccgctcac tttcggcggc 300

gggaccaagg tggagatcaa a 321

<210> 90

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 90

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 Asn Asn Tyr
20 25 30

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

Phe Ser Thr Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Thr Phe Ile Thr Pro Leu

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 91

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 91

caggacatta acaactat 18

<210> 92

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 92

Gln Asp Ile Asn Asn Tyr

1 5

<210> 93

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 93

tctacatcc 9

<210> 94

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 94

Ser Thr Ser

1

<210> 95

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 95

caacagactt tcattacccc gctcact 27

<210> 96

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 96

Gln Gln Thr Phe Ile Thr Pro Leu Thr

1 5

<210> 97

<211> 363

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 97

caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcggagac cctgtccctc 60

acttgtactg tctctggtgg ctccatcagt aattacttct ggagctggat ccggcagccc 120
ccagggaagg gactggagtg gattgggttt aactataaca gtgggagcac caactataac 180
ccctccctca agagtcgagt caccatttca gtagacacgt ccaagaacca gttctccctg 240
aagctgagct ctgtgaccgc tgcggacacg gccgtgtatt actgtgcgag agggtataac 300
tggaactacg aaatagcttg gttcgacccc tggggccagg gaaccctggt cactgtctcc 360
tca 363

<210> 98
<211> 121
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> synthetic

<400> 98

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

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

<210> 99
<211> 24

<212> DNA

<213

> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 99

ggtggctcca tcagtaatta cttc 24

<210> 100

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 100

Gly Gly Ser Ile Ser Asn Tyr Phe

1 5

<210> 101

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 101

aactataaca gtgggagcac c 21

<210> 102

<211> 7

<212> PRT

<213

> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 102

Asn Tyr Asn Ser Gly Ser Thr

1 5

<210> 103

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 103

gcgagagggt ataactggaa ctacgaaata gcttggttcg acccc 45

<210> 104

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 104

Ala Arg Gly Tyr Asn Trp Asn Tyr Glu Ile Ala Trp Phe Asp Pro
1 5 10 15

<210> 105

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 105

gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggcaagtca gagcataagc agttatttaa attggtatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180

aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240

gaagattttg caacttacta ttgtcaacag agttacctta ccccgctcac tttcggcgga 300

gggaccaagg tggagatcaa a 321

<210> 106

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 106

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

50 55 60

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

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

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

<210> 107

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 107

cagagcataa gcagttat 18

<210> 108

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 108

Gln Ser Ile Ser Ser Tyr

1 5

<210> 109

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 109

gctgcatcc 9

<210> 110

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 110

Ala Ala Ser

1

<210> 111

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 111

caacagagtt accttacccc gctcact 27

<210> 112

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 112

Gln Gln Ser Tyr Leu Thr Pro Leu Thr

1 5

<210> 113

<211> 375

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 113

caggttcagc tggtgcagtc tggagctgag gtgatgaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60

tcctgcaagt cttctgactt cgcctttacc acctatggca tcagctgggt gcgacaggcc 120

cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atcagcgctt acaatggtaa cacaaactat 180

gaacagaggt tccagggcag aatcaccatg accacagaca catccacgac cacagtttat 240

atggagttga ggagcctgag atctgacgac acggccgtgt attactgtgc gagagatccc 300

gactattgta gtagtaacac ctgttctgat gcttttgatt tgtggggcca agggacaatg 360

gtcaccgtct cttca 375

<210> 114

<211> 125

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 114

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ser Ser Asp Phe Ala Phe Thr Thr Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Gly Trp Ile Ser Ala Tyr Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Glu Gln Arg Phe

50 55 60

Gln Gly Arg Ile Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Thr Thr Val Tyr

65 70 75 80

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

<210> 115

<211> 24
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> synthetic
<400> 115
gacttcgcct ttaccaccta tggc 24

<210> 116
<211> 8
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> synthetic
<400> 116
Asp Phe Ala Phe Thr Thr Tyr Gly
1 5

<210> 117
<211> 24
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> synthetic
<400> 117
atcagcgctt acaatggtaa caca 24

<210> 118

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 118

Ile Ser Ala Tyr Asn Gly Asn Thr

1 5

<210> 119

<211> 54

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 119

gcgagagatc ccgactattg tagtagtaac acctgttctg atgcttttga tttg 54

<210> 120

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 120

Ala Arg Asp Pro Asp Tyr Cys Ser Ser Asn Thr Cys Ser Asp Ala Phe

1 5 10 15

Asp Leu

<210> 121

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 121

gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtacgaga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggcgagtca gggcattacc aattatttag cctggtatca gcagaaacca 120

gggaaagttc ctaaggtcct gatctatgct gcatccactt tgcaatcagg ggtcccatct 180

cggttcagtg gcagtggctc tgggacagaa ttcactctcg ccatcagcag cctgcagcct 240

gaggatgttg caacttattt ctgtcaacag tatggcagtg ccccttggac gttcggccaa 300

gggaccaagg tggaaatcaa a 321

<210> 122

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 122

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Ala Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Val Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ala Pro Trp

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 123

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 123

cagggcatta ccaattat 18

<210> 124

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 124

Gln Gly Ile Thr Asn Tyr

1 5

<210> 125

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 125

gctgcatcc 9

<210> 126

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 126

Ala Ala Ser

1

<210> 127

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 127

caacagtatg gcagtgcccc ttggacg 27

<210> 128

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 128

Gln Gln Tyr Gly Ser Ala Pro Trp Thr

1 5

<210> 129

<211> 360

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 129

caggttcagc tggtgcagtc tggagctgag gtgaagaaac ctggggcctc agtgaaggtc 60

tcctgcaagg cttctgagta cacctttagc aactatggca tcagctgggt gcgacaggcc 120

cctggacaag gtcttgagtg gttggggtgg atcggcgctt atagtggttt cacaaaatat 180

gcacagaagg tccaggacag aatcaccatg accacagacg catccacgac cacagcctac 240

atggagctga gaaacctgag atctgacgac acggccgtgt attattgtgc gagagtggga 300

actggaactg actcttactt tgacttctgg ggccagggaa ccctggtcac cgtctcctca 360

<210> 130

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 130

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

1 5 10 15

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

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

<210> 131
<211> 24
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> synthetic
<400> 131
gagtacacct ttagcaacta tggc 24

<210> 132
<211> 8
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> synthetic
<400> 132
Glu Tyr Thr Phe Ser Asn Tyr Gly
1 5
<210> 133
<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 133

atcggcgctt atagtggttt caca 24

<210> 134

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 134

Ile Gly Ala Tyr Ser Gly Phe Thr

1 5

<210> 135

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 135

gcgagagtgg gaactggaac tgactcttac tttgacttc 39

<210> 136

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 136

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

1 5 10

<210> 137

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 137

gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggcaagtca gaacattaac agtcatttaa attggtatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaaactcct gatttatact gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatta 180

agattcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240

gaagattttg gaatttacat ctgtcaacag acttacataa ccccctctcac tttcggcggt 300

gggaccaagg tggagatcaa a 321

<210> 138

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 138

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 Asn Ile Asn Ser His

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Phe Gly Ile Tyr Ile Cys Gln Gln Thr Tyr Ile Thr Pro Leu

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 139

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 139

cagaacatta acagtcat 18

<210> 140

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 140

Gln Asn Ile Asn Ser His

1 5

<210> 141

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 141

actgcatcc 9

<210> 142

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 142

Thr Ala Ser

1

<210> 143

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 143

caacagactt acataacccc tctcact 27

<210> 144

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 144

Gln Gln Thr Tyr Ile Thr Pro Leu Thr

1 5

<210> 145

<211> 369

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 145

caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga cttgtgaagt cttcggagac cctgtccctc 60

acctgcactg tctctggtgg ctccatcagt agttactact ggagctggat ccggcagccc 120

ccagggaagg gcctggaatg gattggattt atctattaca gtgggagcac caactacaac 180

ccctccctca agagtcgagt caccttttca gtagacactt ccaaaaacca cttctccctg 240

aagctgaact ctgtgaccgc cacagacacg gccgtgtatt actgtgcgcg acattacttt 300

gattcgggga cttatgaact ggggcctttt gactactggg gccagggaac cctggtcacc 360

gtctcctca 369

<210> 146

<211> 123

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 146

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

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

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

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

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

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

Arg His Tyr Phe Asp Ser Gly Thr Tyr Glu Leu Gly Pro Phe Asp Tyr
100 105 110

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

<210> 147

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 147

ggtggctcca tcagtagtta ctac 24

<210> 148

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 148

Gly Gly Ser Ile Ser Ser Tyr Tyr

1 5

<210> 149

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 149

atctattaca gtgggagcac c 21

<210> 150

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 150

Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr

1 5

<210> 151

<211> 51

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 151

gcgcgacatt actttgattc ggggacttat gaactggggc cttttgacta c 51

<210> 152

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 152

Ala Arg His Tyr Phe Asp Ser Gly Thr Tyr Glu Leu Gly Pro Phe Asp

1 5 10 15

Tyr

<210> 153

<211> 339

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 153

gacatcgtga tgacccagtc tccagactcc ctggctgtgt ctctgggcga gagggccacc 60

atcaactgca agtccagcca gaatatttta ttaacttcca gtaataagaa ctacttaact 120

tggtaccagc agaaaccagg acagcctcct aagctgctca tttactgggc atctattcgg 180

gaatccgggg tccctgaccg attcagtggc agcgggtctg ggacagattt cactctcacc 240

atcagcagcc tgcaggctga agatgtggca ctttatttct gtcagcaata ttatattact 300

ccattcactt tcggccctgg gaccaaagtg gatatcaaa 339

<210> 154

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 154

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

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Asn Ile Leu Leu Thr

20 25 30

Ser Ser Asn Lys Asn Tyr Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln

35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Ile Arg Glu Ser Gly Val

50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr

65 70 75 80

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Leu Tyr Phe Cys Gln Gln

85 90 95

Tyr Tyr Ile Thr Pro Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile

100 105 110

Lys

<210> 155

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 155

cagaatattt tattaacttc cagtaataag aactac 36

<210> 156

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 156

Gln Asn Ile Leu Leu Thr Ser Ser Asn Lys Asn Tyr

1 5 10

<210> 157

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 157

tgggcatct 9

<210> 158

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 158

Trp Ala Ser

1

<210> 159

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 159

cagcaatatt atattactcc attcact 27

<210> 160

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 160

Gln Gln Tyr Tyr Ile Thr Pro Phe Thr

1 5

<210> 161

<211> 372

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 161

caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcggagac cctgtccctc 60

acctgcactg tctctggtgg ctccatcagt gattactact ggagctggat ccggcagccc 120

ccagggaagg gactggagtg gattggccat atctattaca gtgggagcac caaccacaac 180

ccctccctca agagtcgagt cgccatatca gtcgacacgt ccaagaacca gttctccctg 240

aggctgtact ctgtgaccgc tgcggacacg gccgtgtatt actgtgcgag agacgggtat 300

agtagctcgt ccggcttcta ctacttcggt atggacgtct ggggccaagg gaccacggtc 360

accgtctcct ca 372

<210> 162

<211> 124

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 162

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

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

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

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

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

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

Arg Asp Gly Tyr Ser Ser Ser Ser Gly Phe Tyr Tyr Phe Gly Met Asp
100 105 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 163

<

211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 163

ggtggctcca tcagtgatta ctac 24

<210> 164

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 164

Gly Gly Ser Ile Ser Asp Tyr Tyr

1 5

<210> 165

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 165

atctattaca gtgggagcac c 21

<210> 166

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 166

Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr

1 5

<210> 167

<211> 54

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 167

gcgagagacg ggtatagtag ctcgtccggc ttctactact tcggtatgga cgtc 54

<210> 168

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 168

Ala Arg Asp Gly Tyr Ser Ser Ser Ser Gly Phe Tyr Tyr Phe Gly Met

1 5 10 15

Asp Val

<210> 169

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 169

gacatccagt tgacccagtc tccatccttc ctgtctgcat ctgtcggaga cagagtcacc 60

atcacttgct gggccagtca ggacattaac agttatttag cctggtatca gcaaaaacca 120

gggaaagccc ctaagctcct gatctttgct gcatccactt tgcaaggtgg ggtcccttct 180

aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcactctca caatcagcag cctgcagcct 240

gaagattttg caacttatta ctgtcaacac cttagtagtt tccctcccac cttcggccaa 300

gggacacgac tggagattaa a 321

<210> 170

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 170

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

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

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

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

50 55 60

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

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

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

<210> 171

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 171

caggacatta acagttat 18

<210> 172

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 172

Gln Asp Ile Asn Ser Tyr

1 5

<210> 173

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 173

gctgcatcc 9

<210> 174

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 174

Ala Ala Ser

1

<210> 175

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 175

caacacctta gtagtttccc tcccacc 27

<210> 176

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 176

Gln His Leu Ser Ser Phe Pro Pro Thr
 1   5

<210> 177

<211> 363

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 177

caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaggc cttcggagac cctatccctc 60

atctgcactg tctctggtgg ctccatcaat agttactact ggagctggat ccggcagccc 120

ccagggaagg gactggaatg gattggatat atctattaca gtgggagcac caactacaac 180

ccctccctca agagtcgagt caccatatca ggagacacgt ccaagaacca gttctccctg 240

aagctgagct ctgtgaccgc tgcggacacg gccgtgtatt actgcgcgag aggggtaatc 300

tggaactacg aactccgaga atttgactac tggggccagg gaaccctggt caccgtctcc 360

tca   363

<210> 178

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 178

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

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

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

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

50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Gly Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu

65 70 75 80

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

85 90 95

Arg Gly Val Ile Trp Asn Tyr Glu Leu Arg Glu Phe Asp Tyr Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 179

<211> 24

<212> DNA

<213

> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 179

ggtggctcca tcaatagtta ctac 24

<210> 180

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 180

Gly Gly Ser Ile Asn Ser Tyr Tyr

1 5

<210> 181

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 181

atctattaca gtgggagcac c 21

<210> 182

<211> 7

<212> PRT

<213

> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 182

Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr

1 5

<210> 183

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 183

gcgagagggg taatctggaa ctacgaactc cgagaatttg actac 45

<210> 184

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 184

Ala Arg Gly Val Ile Trp Asn Tyr Glu Leu Arg Glu Phe Asp Tyr

1 5 10 15

<210> 185

<211> 339

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 185

gacatcgtga tgacccagtc tccagactcc ctggctgtgt ctctgggcga gagggccacc 60

atcaactgca agtccagcca gagtgtttta gacagttcca acaataagaa ctacttagtt 120

tggtaccagc agaaaccagg acagcctcct gagctgctca tttactgggc atctacccgg 180

gaatccgggg tccctgaccg attcagtggc agcgggtctg ggacagattt cactctcacc 240

atcagcagcc tgcaggctga agatgtggca gtttattact gtcagcaata ttattttact 300

ccgctcacct tcggcggagg gaccaaggtg gagatcaaa 339

<210> 186

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 186

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

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Asp Ser

20 25 30

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

35 40 45

Pro Pro Glu Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val

50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr

65 70 75 80

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln

85 90 95

Tyr Tyr Phe Thr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile

100 105 110

Lys

<210> 187

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 187

cagagtgttt tagacagttc caacaataag aactac 36

<210> 188

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 188

Gln Ser Val Leu Asp Ser Ser Asn Asn Lys Asn Tyr

1 5 10

<210> 189

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 189

tgggcatct 9

<

210> 190

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 190

Trp Ala Ser

1

<210> 191

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 191

cagcaatatt attttactcc gctcacc 27

<210> 192

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 192

Gln Gln Tyr Tyr Phe Thr Pro Leu Thr

1 5

<210> 193

<211> 369

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 193

cagctgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaggc cttcggagac cctgtccctc 60

acctgcagtg tctcgagtgg ctccatcaga agtagtaatt actactgggg ctggatccgc 120

cagcccccag ggaagggact ggagtggatt gggaatatct attatagtgg gaacaccttc 180

tataacccgt ccctcaaggg tcgagtcacc atatccgtag acacgtccaa gaaccagttc 240

tccctgaagc tgagctctgt gaccgccaca gacacggctg tgtattactg tgcgagacaa 300

ggatatagtg actacgagtt gaactggttc gacccctggg gccagggaac cctggtcacc 360

gtctcctca 369

<210> 194

<211> 123

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 194

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

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

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

Trp Ile Gly Asn Ile Tyr Tyr Ser Gly Asn Thr Phe Tyr Asn Pro Ser

50 55 60

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

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

Cys Ala Arg Gln Gly Tyr Ser Asp Tyr Glu Leu Asn Trp Phe Asp Pro
100 105 110

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

<210> 195

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 195

agtggctcca tcagaagtag taattactac 30

<210> 196

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 196

Ser Gly Ser Ile Arg Ser Ser Asn Tyr Tyr

1 5 10

<210> 197

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 197

atctattata gtgggaacac c 21

<210> 198

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 198

Ile Tyr Tyr Ser Gly Asn Thr

1 5

<210> 199

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 199

gcgagacaag gatatagtga ctacgagttg aactggttcg acccc 45

<210> 200

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 200

Ala Arg Gln Gly Tyr Ser Asp Tyr Glu Leu Asn Trp Phe Asp Pro

1 5 10 15

<210> 201

<211> 339

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 201

gacatcgtga tgacccagtc tccagactcc ctggtgctgt ctctgggcga gagggccacc 60

ttcaactgca agtccagcca gagtgtttta gacagttcca acaataagaa ctacttagct 120

tggtaccagc agaaaccagg acagcctcct aagttgctca tttactgggc atctacccgg 180

gaatccgggg tccctgaccg attcagtggc agcgggtctg ggacagattt ctctctcacc 240

atcagcagcc tgcaggctga agatgtggca ctttattact gtcaacaatt ttataatagt 300

ccgtggacgt tcggccaagg gaccaaggtg gaaatcaaa 339

<210> 202

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 202

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

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Phe Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Asp Ser

20 25 30

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

35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val

50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Ser Leu Thr

65 70 75 80

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Leu Tyr Tyr Cys Gln Gln

85 90 95

Phe Tyr Asn Ser Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile

100 105 110

Lys

<210> 203

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 203

cagagtgttt tagacagttc caacaataag aactac 36

<210> 204

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 204

Gln Ser Val Leu Asp Ser Ser Asn Asn Lys Asn Tyr

1 5 10

<210> 205

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 205

tgggcatct 9

<

210> 206

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 206

Trp Ala Ser

 1

<210> 207

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 207

caacaatttt ataatagtcc gtggacg 27

<210> 208

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 208

Gln Gln Phe Tyr Asn Ser Pro Trp Thr

 1 5

<210> 209

<211> 363

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 209

caggtgcagc tgcaggagtc gggcccaggg ctggtgaagc cctcggagac cctgtccctc 60

acctgcactg tctctggtgg ctccatcaat agttattctt ggacctggat ccggcagccc 120

ccagggaagg gactggaatg gattggaaat atctataata gtgagaatac caactacaac 180

ccctccctca agagtcgagt caccatatca gttgacacgt ccaagagtca ggtttccctg 240

aaactgaact ctgtgaccgc tgcggacacg gccgtatatt actgtgcgag aacatataac 300

tggaactacg aaataggggc catgggcgtc tggggccagg ggaccacggt caccgtctcc 360

tca 363

<210> 210

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 210

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Ser Trp Thr Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

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

50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Ser Gln Val Ser Leu

65 70 75 80

Lys Leu Asn Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

Arg Thr Tyr Asn Trp Asn Tyr Glu Ile Gly Ala Met Gly Val Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 211

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 211

ggtggctcca tcaatagtta ttct 24

<210> 212

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 212

Gly Gly Ser Ile Asn Ser Tyr Ser

1 5

<210> 213

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 213

atctataata gtgagaatac c 21

<210> 214

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 214

Ile Tyr Asn Ser Glu Asn Thr

1 5

<210> 215

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 215

gcgagaacat ataactggaa ctacgaaata ggggccatgg gcgtc 45

<210> 216

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 216

Ala Arg Thr Tyr Asn Trp Asn Tyr Glu Ile Gly Ala Met Gly Val

1 5 10 15

<210> 217

<211> 339

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 217

gacatcgtga tgacccagtt tccagactcc ctggctgtgt ctctgggcga gagggccacc 60

atcaactgca agtccagcca gaatgtttta atcacctcca acaataagaa ttatttagct 120

tggtaccagc agaaaccagg acagcctcct aagctgctca tttactgggc ttccacccgg 180

gaattcgggg tccctgcccg attcagtggc agcgggtctg ggacagattt cactctcacc 240

atcagcagcc tgcaggctga agatgtggca gtttattact gtcagcaata ttatagtact 300

ccattcactt tcggccctgg gaccaaagtg gatatcaaa 339

<210> 218

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 218

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

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

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

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Phe Gly Val

50 55 60

Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln
85 90 95

Tyr Tyr Ser Thr Pro Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile
100 105 110

Lys

<210> 219

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 219

cagaatgttt taatcacctc caacaataag aattat 36

<210> 220

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 220

Gln Asn Val Leu Ile Thr Ser Asn Asn Lys Asn Tyr

1 5 10

<210> 221

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 221

tgggcttcc 9

<

210> 222

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 222

Trp Ala Ser

1

<210> 223

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 223

cagcaatatt atagtactcc attcact 27

<210> 224

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 224

Gln Gln Tyr Tyr Ser Thr Pro Phe Thr

1 5

<210> 225

<211> 363

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 225

caggttcagc tggtgcagtc tggagctgag gtgaagaagc ctgggacctc agtgaaggtc 60

tcctgcaagg cttctggtta cacctttacc aactatggta tcagttgggt gcgacaggcc 120

cctggacaag gtcttgagtg gttgggatgg atcagcgctt ataatgataa cacagactat 180

gcacagaaac tccaggccag agtcaccatg accacagaca cattcacgag cacagcctac 240

atggacctga ggagcctgag atctgacgac acggccgtgt attactgtgc gagagttcct 300

ataactggaa ctacctcaag ttttgacttc tggggccagg gaaccctggt caccgtctcc 360

tca 363

<210> 226

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 226

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Gly Trp Ile Ser Ala Tyr Asn Asp Asn Thr Asp Tyr Ala Gln Lys Leu

50 55 60

Gln Ala Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Phe Thr Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Val Pro Ile Thr Gly Thr Thr Ser Ser Phe Asp Phe Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 227

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 227

ggttacacct ttaccaacta tggt 24

<210> 228

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 228

Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr Gly

1 5

<210> 229

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 229

atcagcgctt ataatgataa caca 24

<210> 230

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 230

Ile Ser Ala Tyr Asn Asp Asn Thr

1 5

<210> 231

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 231

gcgagagttc ctataactgg aactacctca agttttgact tc 42

<210> 232

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 232

Ala Arg Val Pro Ile Thr Gly Thr Thr Ser Ser Phe Asp Phe

1 5 10

<210> 233

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 233

gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atctcttgcc gggcaagtca gaccatttac agctatttaa attggtttca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaagctcct gatctatgat gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180

aggttcagtg gcagtggctc tgggacacat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240

gaggattttg caacttactt ctgccaacag acttacagta cccctctcac tttcggcgga 300

gggaccaagg tggagatcaa a 321

<210> 234

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 234

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 Ser Cys Arg Ala Ser Gln Thr Ile Tyr Ser Tyr

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Thr Tyr Ser Thr Pro Leu

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 235

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 235

cagaccattt acagctat 18

<210> 236

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 236

Gln Thr Ile Tyr Ser Tyr

1 5

<210> 237

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 237

gatgcatcc 9

<210> 238

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 238

Asp Ala Ser

1

<210> 239

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 239

caacagactt acagtacccc tctcact 27

<210> 240

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 240

Gln Gln Thr Tyr Ser Thr Pro Leu Thr

1 5

<210> 241

<211> 360

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 241

caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaaac cttcggagac cctgtccctc 60

acctgcactg tctctggtgg ctccatcagt agttactact ggagctggat ccggcagccc 120

ccagggaagg gactggagtg gattggcttt atctattaca gtgggagcac caactacaac 180

ccctccctca agagtcgagt caccatctca gtagacacgt ccaagaacca gttctccctg 240

aagctgagtt ctgtgaccgc cgcagacacg gccgtgtatt actgtgcgag acatgacagt 300

gactacgaac tctacggtat ggacgtctgg ggccaaggga ccacggtcac cgtctcctca 360

<210> 242

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 242

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Arg His Asp Ser Asp Tyr Glu Leu Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 243

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 243

ggtggctcca tcagtagtta ctac 24

<210> 244

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 244

Gly Gly Ser Ile Ser Ser Tyr Tyr

1 5

<210> 245

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 245

atctattaca gtgggagcac c 21

<210> 246

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 246

Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr

1 5

<210> 247

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 247

gcgagacatg acagtgacta cgaactctac ggtatggacg tc 42

<210> 248

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 248

Ala Arg His Asp Ser Asp Tyr Glu Leu Tyr Gly Met Asp Val

1 5 10

<210> 249

<211> 339

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 249

gacatcgtga tgacccagtc tccagactcc ctggctgtgt ctctgggcga gagggccacc 60

atcacctgca agtccagcca gagtatttta tacaactccg acaataagaa ctacttagct 120

tggtaccagc agaaatcagg acagcctcct aagctgctca tttcctgggc atctacccgg 180

gaatccgggg tccctgaccg tttcagtggc agcgggtctg ggacagattt cactctcacc 240

atcagcagcc tgcaggctga agatgtggca gtttattact gtcaacaata ttttttttact 300

ccattcactt tcggccctgg gaccaaagtg gatatcaaa 339

<210> 250

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 250

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

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Thr Cys Lys Ser Ser Gln Ser Ile Leu Tyr Asn

20 25 30

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

35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Ser Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val

50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr

65 70 75 80

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln

85 90 95

Tyr Phe Phe Thr Pro Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile

100 105 110

Lys

<210> 251

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 251

cagagtattt tatacaactc cgacaataag aactac 36

<210> 252

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 252

Gln Ser Ile Leu Tyr Asn Ser Asp Asn Lys Asn Tyr

1 5 10

<210> 253

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 253

tgggcatct 9

<210> 254

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 254

Trp Ala Ser

1

<210> 255

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 255

caacaatatt tttttactcc attcact 27

<210> 256

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 256

Gln Gln Tyr Phe Phe Thr Pro Phe Thr

1 5

<210> 257

<211> 363

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 257

gaggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt aactacgaca tacactgggt ccgccaagtt 120

ccaggaaaag gtctggagtg gatctcaact attggttctg ctggtgatac attctatcca 180

ggctccgtga agggccggtt caccatctcc agagaaaatg ccaagaactc cctgtatctt 240

caaatgaaca gcctgagagc cggggactcg gctgtatatt actgtgcaag aggggataac 300

tggaactacg tttcatggtt cttcgatctc tggggccgtg gcaccctggt cactgtctcc 360

tca 363

<210> 258

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 258

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

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

Asp Ile His Trp Val Arg Gln Val Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

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

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

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

Arg Gly Asp Asn Trp Asn Tyr Val Ser Trp Phe Phe Asp Leu Trp Gly
100 105 110

Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 259

<211> 24

<212> DNA

<213

> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 259

ggattcacct tcagtaacta cgac 24

<210> 260

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 260

Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Asp

1 5

<210> 261

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 261

attggttctg ctggtgatac a 21

<210> 262

<211> 7

<212> PRT

<213

> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 262

Ile Gly Ser Ala Gly Asp Thr

1 5

<210> 263

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 263

gcaagagggg ataactggaa ctacgtttca tggttcttcg atctc 45

<210> 264

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 264

Ala Arg Gly Asp Asn Trp Asn Tyr Val Ser Trp Phe Phe Asp Leu
1 5 10 15

<210> 265

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 265

gacatccagt tgacccagtc tccatccttc ctgtctacat ctgtcggaga cagagtcacc 60

atcacgtgct gggccagtca ggacatcagc agtttttttag cctggtatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaaactcct gatctatgct gcgtccgttt tgcaaagtgg ggtcccatca 180

aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcactctca caatcagcag tctgcagcct 240

gaagattttg caacttatta ctgtcagcag gttaatagtt acccgatcac cttcggccaa 300

gggacacgac tggagattaa a 321

<210> 266

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 266

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

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

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

Tyr Ala Ala Ser Val Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Val Asn Ser Tyr Pro Ile

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 267

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 267

caggacatca gcagtttt 18

<210> 268

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 268

Gln Asp Ile Ser Ser Phe

1 5

<210> 269

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 269

gctgcgtcc 9

<210> 270

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 270

Ala Ala Ser

1

<210> 271

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 271

cagcaggtta atagttaccc gatcacc 27

<210> 272

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 272

Gln Gln Val Asn Ser Tyr Pro Ile Thr

1 5

<210> 273

<211> 173

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> hIL-25-MMH

aa 1-145: hIL-25 (aa 33-177 of NP_073626.1)

aa 146-173: myc-myc-hexahistidine tag

<400> 273

Tyr Ser His Trp Pro Ser Cys Cys Pro Ser Lys Gly Gln Asp Thr Ser
1 5 10 15

Glu Glu Leu Leu Arg Trp Ser Thr Val Pro Val Pro Pro Leu Glu Pro
20 25 30

Ala Arg Pro Asn Arg His Pro Glu Ser Cys Arg Ala Ser Glu Asp Gly
35 40 45

Pro Leu Asn Ser Arg Ala Ile Ser Pro Trp Arg Tyr Glu Leu Asp Arg
50 55 60

Asp Leu Asn Arg Leu Pro Gln Asp Leu Tyr His Ala Arg Cys Leu Cys
65 70 75 80

Pro His Cys Val Ser Leu Gln Thr Gly Ser His Met Asp Pro Arg Gly
85 90 95

Asn Ser Glu Leu Leu Tyr His Asn Gln Thr Val Phe Tyr Arg Arg Pro
100 105 110

Cys His Gly Glu Lys Gly Thr His Lys Gly Tyr Cys Leu Glu Arg Arg
115 120 125

Leu Tyr Arg Val Ser Leu Ala Cys Val Cys Val Arg Pro Arg Val Met
130 135 140

Gly Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Gly Gly Glu Gln Lys
145 150 155 160

Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu His His His His His His
165 170

<210> 274

<211> 172

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> MfIL-25-MMH

aa 1-144: M.fascicularis IL-25 (aa 33-176 of

XP_001107906.2)

aa 145-172: myc-myc-hexahistidine tag

<400> 274

Tyr Ser His Trp Pro Ser Cys Cys Pro Ser Lys Gly Tyr Pro Ser Glu
1 5 10 15

Glu Leu Leu Arg Trp Ser Thr Val Pro Val Pro Pro Leu Lys Pro Ala
20 25 30

Ser Leu Asp Phe His Ser Val Ser Cys Arg Ala Ser Glu Asp Gly Pro
35 40 45

Leu Asn Ser Arg Ala Ile Ser Pro Trp Arg Tyr Glu Leu Asp Arg Asp
50 55 60

Leu Asn Arg Leu Pro Gln Asp Leu Tyr His Ala Arg Cys Leu Cys Pro
65 70 75 80

His Cys Val Ser Leu Gln Thr Gly Ser His Met Asp Pro Arg Gly Asn
85 90 95

Ser Glu Leu Leu Tyr His Asn Gln Thr Val Phe Tyr Arg Arg Pro Cys
100 105 110

His Gly Lys Lys Gly Asn His Lys Gly Tyr Cys Leu Glu Arg Arg Leu
115 120 125

Tyr Arg Val Ser Leu Ala Cys Val Cys Val Arg Pro Arg Val Met Gly
130 135 140

Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Gly Gly Glu Gln Lys Leu
145 150 155 160

Ile Ser Glu Glu Asp Leu His His His His His His
165 170

<210> 275

<211> 181

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> mouse IL-25-MMH

aa 1-153: Mouse IL-25 (aa 17-169 of NP_542767.1)

aa 154-181: myc-myc-hexahistidine tag

<400> 275

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

Pro Ser Lys Glu Gln Glu Pro Pro Glu Glu Trp Leu Lys Trp Ser Ser
20 25 30

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

Ser Cys Arg Ala Ser Lys Asp Gly Pro Leu Asn Ser Arg Ala Ile Ser
50 55 60

Pro Trp Ser Tyr Glu Leu Asp Arg Asp Leu Asn Arg Val Pro Gln Asp
65 70 75 80

Leu Tyr His Ala Arg Cys Leu Cys Pro His Cys Val Ser Leu Gln Thr
85 90 95

Gly Ser His Met Asp Pro Leu Gly Asn Ser Val Pro Leu Tyr His Asn
100 105 110

Gln Thr Val Phe Tyr Arg Arg Pro Cys His Gly Glu Glu Gly Thr His
115 120 125

Arg Arg Tyr Cys Leu Glu Arg Arg Leu Tyr Arg Val Ser Leu Ala Cys
130 135 140

Val Cys Val Arg Pro Arg Val Met Ala Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu
145 150 155 160

Glu Asp Leu Gly Gly Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu His
165 170 175

His His His His His
180

<210> 276

<211> 181

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> rat IL-25-MMH

aa 1-153: Rat IL-25 (aa 17-169 of NP_001178936.1)

aa 154-181: myc-myc-hexahistidine tag

<400> 276

Val Ser Leu Arg Ile Gln Glu Asp Cys Ser His Leu Pro Arg Cys Cys
1 5 10 15

Pro Ser Lys Gln Gln Glu Phe Pro Glu Glu Trp Leu Lys Trp Asn Pro
20 25 30

Ala Pro Val Ser Pro Pro Glu Pro Leu Arg His Thr His His Pro Glu
35 40 45

Ser Cys Arg Ala Ser Lys Asp Gly Pro Leu Asn Ser Arg Ala Ile Ser
50 55 60

Pro Trp Ser Tyr Glu Leu Asp Arg Asp Leu Asn Arg Val Pro Gln Asp
65 70 75 80

Leu Tyr His Ala Arg Cys Leu Cys Pro His Cys Val Ser Leu Gln Thr
85 90 95

Gly Ser His Met Asp Pro Met Gly Asn Ser Val Pro Leu Tyr His Asn
100 105 110

Gln Thr Val Phe Tyr Arg Arg Pro Cys His Gly Glu Gln Gly Ala His
115 120 125

Gly Arg Tyr Cys Leu Glu Arg Arg Leu Tyr Arg Val Ser Leu Ala Cys
130 135 140

Val Cys Val Arg Pro Arg Met Met Ala Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu
145 150 155 160

Glu Asp Leu Gly Gly Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu His
165 170 175

His His His His His
180

<210> 277

<211> 1335

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Human IL-25 (NM_022789.3)

<400> 277

ggcttgctga aaataaaatc aggactccta acctgctcca gtcagcctgc ttccacgagg 60

cctgtcagtc agtgccccac ttgtgactga gtgtgcagtg cccagcatgt accaggtcag 120

tgcagagggc tgcctgaggg ctgtgctgag agggagagga gcagagatgc tgctgagggt 180

ggagggaggc caagctgcca ggtttggggc tgggggccaa gtggagtgag aaactgggat 240

cccaggggga gggtgcagat gagggagcga cccagattag gtgaggacag ttctctcatt 300

agccttttcc tacaggtggt tgcattcttg gcaatggtca tgggaaccca cacctacagc 360

cactggccca gctgctgccc cagcaaaggg caggacacct ctgaggagct gctgaggtgg 420

agcactgtgc ctgtgcctcc cctagagcct gctaggccca accgccaccc agagtcctgt 480

agggccagtg aagatggacc cctcaacagc agggccatct ccccctggag atatgagttg 540

gacagagact tgaaccggct cccccaggac ctgtaccacg cccgttgcct gtgcccgcac 600

tgcgtcagcc tacagacagg ctcccacatg gacccccggg gcaactcgga gctgctctac 660

cacaaccaga ctgtcttcta ccggcggcca tgccatggcg agaagggcac ccacaagggc 720

tactgcctgg agcgcaggct gtaccgtgtt tccttagctt gtgtgtgtgt gcggccccgt 780

gtgatgggct agccggacct gctggaggct ggtccctttt tgggaaacct ggagccaggt 840

gtacaaccac ttgccatgaa gggccaggat gcccagatgc ttggcccctg tgaagtgctg 900

tctggagcag caggatcccg ggacaggatg gggggctttg gggaaagcct gcacttctgc 960

acattttgaa aagagcagct gctgcttagg gccgccggaa gctggtgtcc tgtcattttc 1020

tctcaggaaa ggttttcaaa gttctgccca tttctggagg ccaccactcc tgtctcttcc 1080

tcttttccca tcccctgcta ccctggccca gcacaggcac tttctagata tttccccctt 1140

gctggagaag aaagagcccc tggttttatt tgtttgttta ctcatcactc agtgagcatc 1200

tactttgggt gcattctagt gtagttacta gtcttttgac atggatgatt ctgaggagga 1260

agctgttatt gaatgtatag agatttatcc aaataaatat ctttatttaa aaatgaaaaa 1320

aaaaaaaaaa aaaaa 1335

<210> 278

<211> 177

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Human IL-25

<400> 278

Met Arg Glu Arg Pro Arg Leu Gly Glu Asp Ser Ser Leu Ile Ser Leu
1 5 10 15

Phe Leu Gln Val Val Ala Phe Leu Ala Met Val Met Gly Thr His Thr
20 25 30

Tyr Ser His Trp Pro Ser Cys Cys Pro Ser Lys Gly Gln Asp Thr Ser
35 40 45

Glu Glu Leu Leu Arg Trp Ser Thr Val Pro Val Pro Pro Leu Glu Pro
50 55 60

Ala Arg Pro Asn Arg His Pro Glu Ser Cys Arg Ala Ser Glu Asp Gly
65 70 75 80

Pro Leu Asn Ser Arg Ala Ile Ser Pro Trp Arg Tyr Glu Leu Asp Arg
85 90 95

Asp Leu Asn Arg Leu Pro Gln Asp Leu Tyr His Ala Arg Cys Leu Cys
100 105 110

Pro His Cys Val Ser Leu Gln Thr Gly Ser His Met Asp Pro Arg Gly
115 120 125

Asn Ser Glu Leu Leu Tyr His Asn Gln Thr Val Phe Tyr Arg Arg Pro
130 135 140

Cys His Gly Glu Lys Gly Thr His Lys Gly Tyr Cys Leu Glu Arg Arg
145 150 155 160

Leu Tyr Arg Val Ser Leu Ala Cys Val Cys Val Arg Pro Arg Val Met
165 170 175

Gly