

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2012-0136416
(43) 공개일자 2012년12월18일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

C07K 19/00 (2006.01) **C07K 16/18** (2006.01)

C07K 16/24 (2006.01)

(21) 출원번호 **10-2012-7028781(분할)**

(22) 출원일자(국제) **2004년11월12일**

심사청구일자 **없음**

(62) 원출원 **특허 10-2006-7009221**

원출원일자(국제) **2004년11월12일**

심사청구일자 **2009년11월12일**

(85) 번역문제출일자 **2012년11월01일**

(86) 국제출원번호 **PCT/US2004/037971**

(87) 국제공개번호 **WO 2005/047307**

국제공개일자 **2005년05월26일**

(30) 우선권주장

10/706,689 2003년11월12일 미국(US)

(71) 출원인

아보트 러보러터리즈

미국 일리노이주 60064-6008 아보트 파크 아보트
파크 로드 100 디파트먼트 377 빌딩 에이피6
에이-1

(72) 발명자

가위르 타리크

미국 매사추세츠주 01746 홀리스톤 워싱턴 스트리트 1014

라브코프스키 보리스

미국 매사추세츠주 01752 말보로우 브로드메도우
로드 107에이-5

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

장훈

전체 청구항 수 : 총 79 항

(54) 발명의 명칭 **I L-18 결합 단백질**

(57) 요약

본 발명은 IL-18 결합 단백질, 구체적으로 사람 인터류킨-18(hIL-18)에 결합하는 항체를 제공한다. 더 구체적으로, 본 발명은 완전하게 사람 항체인 항체에 관한 것이다. 바람직한 항체는 hIL-18에 대한 친화성이 높고/높거나 시험관내 및 생체내에서 hIL-18 활성을 중화시키는 항체이다. 본 발명의 항체는 전장의 항체 또는 이의 항원 결합부일 수 있다. 또한, 본 발명의 항체를 제조 및 사용하는 방법도 제공한다. 본 발명의 항체 또는 항체 일부는 hIL-18 검출 및 예컨대 hIL-18 활성이 해로운 질환을 앓고 있는 사람 대상체에서 hIL-18 활성 억제에 유용하다.

[색인어]

IL-18, 인터류킨, 항체, 결합 단백질, hIL-18

(72) 발명자

보스 제프리 더블유

미국 매사추세츠주 01520 홀덴 쉬루스베리 스트리트 257

그린 래리

미국 캘리포니아주 94114 샌 프란시스코 힐 스트리트 464

밤콧 존

캐나다 브리티쉬 콜럼비아 브이6알 2알2 밴쿠버 더블유 12번 애비뉴 4480

자 샤오츠

미국 캘리포니아주 90034 로스앤젤레스 에스 비버리 드라이브 2262

월러 제임스

미국 매사추세츠주 01915 비버리 브로우톤 드라이브 508

강 야스팔 싱

캐나다 브리티쉬 콜럼비아 브이4엔 5에이취6 수레이 109 애비뉴 16727

헤드버그 브래드

캐나다 브리티쉬 콜럼비아 브이6비 6엔6 밴쿠버 키퍼 플레이스 #1607-63

특허청구의 범위

청구항 1

하기 서열로 이루어진 그룹 중에서 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 하나 이상의 CDR을 포함하고 사람 IL-18 에 결합할 수 있는 항원 결합 도메인을 포함하는 결합 단백질:

CDR-H1. X_1 - X_2 - X_3 - X_4 - X_5 - X_6 - X_7 (서열 번호 42)

(여기서, X_1 은 S, N, H, R 또는 Y이고;

X_2 는 Y, G, R, S 또는 C이고;

X_3 은 W, G, Y, D, S, V 또는 I이고;

X_4 는 I, H, W, Y, M, L 또는 D이고;

X_5 는 G, Y, S, N 또는 H이고;

X_6 은 W 이거나 존재하지 않으며;

X_7 은 T, S, G 이거나 존재하지 않는다)

CDR-H2. X_1 - X_2 - X_3 - X_4 - X_5 - X_6 - X_7 - X_8 - X_9 - X_{10} - X_{11} - X_{12} - X_{13} - X_{14} - X_{15} - X_{16} - X_{17} (서열 번호 43),

(여기서, X_1 은 F, Y, H, S 또는 V 이고;

X_2 는 I 또는 F이고;

X_3 은 Y, S 또는 W이고;

X_4 는 P, Y 또는 S이고;

X_5 는 G, S, R 또는 D이고;

X_6 은 D 또는 G이고;

X_7 은 S, T, G 또는 R이고;

X_8 은 E, T, I 또는 N이고;

X_9 는 T, Y, N, I, K 또는 H이고;

X_{10} 은 R, Y 또는 S이고;

X_{11} 은 Y, N 또는 S이고;

X_{12} 는 S, P, A 또는 V이고;

X_{13} 은 P, S, 또는 D이고;

X_{14} 는 T, L, 또는 S이고;

X_{15} 는 F, K, 또는 V이고;

X_{16} 은 Q, S 또는 K이고;

X_{17} 은 G이거나 존재하지 않는다);

CDR-H3: $X_1-X_2-X_3-X_4-X_5-X_6-X_7-X_8-X_9-X_{10}-X_{11}-X_{12}-X_{13}-X_{14}-X_{15}-X_{16}-X_{17}-X_{18}$ (서열 번호 44),

(여기서, X_1 은 V, D, E, S 또는 C이고;

X_2 는 G, R, D, S, K, L, Y 또는 A이고;

X_3 은 S, G, Y 또는 R이고;

X_4 는 G, S, Y, N, T 또는 D이고;

X_5 는 W, S, A, G, Y 또는 T이고;

X_6 은 Y, G, S, F, W 또는 N이고;

X_7 은 P, S, F, Y, V, G, W 또는 V이고;

X_8 은 Y, F, D, P, M, I 또는 N이고;

X_9 는 T, W, D, L, Y, E, P, F 또는 G이고;

X_{10} 은 F, D, Y, H, V, Y이거나 존재하지 않고;

X_{11} 은 D, Y, F, L이거나 존재하지 않으며;

X_{12} 는 I, D, Y이거나 존재하지 않고;

X_{13} 은 Y이거나 존재하지 않으며;

X_{14} 는 Y이거나 존재하지 않고;

X_{15} 는 G이거나 존재하지 않으며;

X_{16} 은 M이거나 존재하지 않고;

X_{17} 은 D이거나 존재하지 않으며;

X_{18} 은 V이거나 존재하지 않는다);

CDR-L1. $X_1-X_2-X_3-X_4-X_5-X_6-X_7-X_8-X_9-X_{10}-X_{11}-X_{12}-X_{13}-X_{14}-X_{15}-X_{16}-X_{17}$ (서열 번호 45),

(여기서, X_1 은 R 또는 K이고;

X_2 는 A, G 또는 S이고;

X_3 은 S이고;

X_4 는 E, R, Q 또는 H이고;

X_5 는 S, I, T 또는 N이고;

X_6 은 I, V, L 또는 F이고;

X_7 은 S, G, L, N 또는 R이고;

X_8 은 S, G, Y, R, N, H 또는 D이고;

X_9 는 N, G, Y, R 또는 S이고;

X_{10} 은 L, Y, S 또는 D이고;

X_{11} 은 A, L, N, V, G 또는 D이고;

X_{12} 는 A, N, E, K, G이거나 존재하지 않고;

X_{13} 은 K, T, N이거나 존재하지 않으며;

X_{14} 는 N, Y, T이거나 존재하지 않고;

X_{15} 는 Y, L이거나 존재하지 않으며;

X_{16} 은 L, C, Y이거나 존재하지 않고;

X_{17} 은 A, D이거나 존재하지 않는다);

CDR-L2. X_1 - X_2 - X_3 - X_4 - X_5 - X_6 - X_7 (서열 번호 46),

(여기서, X_1 은 T, G, S, W 또는 E이고;

X_2 는 A, V, T, I 또는 L이고;

X_3 은 S 또는 F이고;

X_4 는 T, I, N, S, R 또는 Y이고;

X_5 는 R 또는 L이고;

X_6 은 A, Q, E 또는 F이고;

X_7 은 T 또는 S이다); 및

CDR-L3. X_1 - X_2 - X_3 - X_4 - X_5 - X_6 - X_7 - X_8 - X_9 - X_{10} (서열 번호 47),

(여기서, X_1 은 Q 또는 M이고;

X_2 는 Q, H 또는 Y이고;

X_3 은 Y, N, G, S 또는 R이고;

X_4 는 N, H, Y, D, G, V, L 또는 I이고;

X_5 는 N, G, I, Y, S, Q, F 또는 E이고;

X_6 은 W, S, T, L, I 또는 F이고;

X_7 은 P, L, T, D 또는 I이고;

X_8 은 S, L, P, C, W, I 또는 F이고;

X_9 는 I, T, S이거나 존재하지 않고;

X_{10} 은 T이거나 존재하지 않는다).

청구항 2

제1항에 있어서, 하나 이상의 CDR이 다음과 같은 잔기들로 이루어진 그룹 중에서 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 결합 단백질:

서열 번호 6의 잔기 31-35; 서열 번호 6의 잔기 50-66; 서열 번호 6의 잔기 99-110;

서열 번호 7의 잔기 24-34; 서열 번호 7의 잔기 50-56; 서열 번호 7의 잔기 89-98;

서열 번호 8의 잔기 31-37; 서열 번호 8의 잔기 52-67; 서열 번호 8의 잔기 100-110;
 서열 번호 9의 잔기 24-35; 서열 번호 9의 잔기 51-57; 서열 번호 9의 잔기 90-98;
 서열 번호 10의 잔기 31-35; 서열 번호 10의 잔기 50-65; 서열 번호 10의 잔기 98-107;
 서열 번호 11의 잔기 24-34; 서열 번호 11의 잔기 50-56; 서열 번호 11의 잔기 89-97;
 서열 번호 12의 잔기 31-37; 서열 번호 12의 잔기 52-67; 서열 번호 12의 잔기 100-108;
 서열 번호 13의 잔기 24-35; 서열 번호 13의 잔기 51-57; 서열 번호 13의 잔기 90-98;
 서열 번호 14의 잔기 31-35; 서열 번호 14의 잔기 50-66; 서열 번호 14의 잔기 99-111;
 서열 번호 15의 잔기 24-40; 서열 번호 15의 잔기 56-62; 서열 번호 15의 잔기 95-103;
 서열 번호 16의 잔기 31-37; 서열 번호 16의 잔기 52-67; 서열 번호 16의 잔기 100-109;
 서열 번호 17의 잔기 24-35; 서열 번호 17의 잔기 51-57; 서열 번호 17의 잔기 90-98;
 서열 번호 18의 잔기 31-35; 서열 번호 18의 잔기 20-36; 서열 번호 18의 잔기 99-108;
 서열 번호 19의 잔기 24-34; 서열 번호 19의 잔기 50-56; 서열 번호 19의 잔기 89-97;
 서열 번호 20의 잔기 31-35; 서열 번호 20의 잔기 52-67; 서열 번호 20의 잔기 100-108;
 서열 번호 21의 잔기 24-35; 서열 번호 21의 잔기 51-57; 서열 번호 21의 잔기 90-98;
 서열 번호 22의 잔기 31-35; 서열 번호 22의 잔기 50-66; 서열 번호 22의 잔기 99-116;
 서열 번호 23의 잔기 24-39; 서열 번호 23의 잔기 55-61; 서열 번호 23의 잔기 94-102;
 서열 번호 24의 잔기 31-37; 서열 번호 24의 잔기 52-67; 서열 번호 24의 잔기 100-109;
 서열 번호 25의 잔기 24-35; 서열 번호 25의 잔기 51-57; 서열 번호 25의 잔기 90-98;
 서열 번호 26의 잔기 31-37; 서열 번호 26의 잔기 52-67; 서열 번호 26의 잔기 100-109;
 서열 번호 27의 잔기 24-35; 서열 번호 27의 잔기 51-57; 서열 번호 27의 잔기 90-98;
 서열 번호 28의 잔기 31-37; 서열 번호 28의 잔기 52-67; 서열 번호 28의 잔기 100-108;
 서열 번호 29의 잔기 24-35; 서열 번호 29의 잔기 51-57; 서열 번호 29의 잔기 90-98;
 서열 번호 30의 잔기 31-37; 서열 번호 30의 잔기 52-67; 서열 번호 30의 잔기 99-109;
 서열 번호 31의 잔기 24-35; 서열 번호 31의 잔기 51-57; 서열 번호 31의 잔기 90-98;
 서열 번호 32의 잔기 31-37; 서열 번호 32의 잔기 52-67; 서열 번호 32의 잔기 100-109;
 서열 번호 33의 잔기 24-35; 서열 번호 33의 잔기 51-57; 서열 번호 33의 잔기 90-98;
 서열 번호 34의 잔기 31-37; 서열 번호 34의 잔기 52-67; 서열 번호 34의 잔기 100-108;
 서열 번호 35의 잔기 24-35; 서열 번호 35의 잔기 51-57; 서열 번호 35의 잔기 90-98;
 서열 번호 36의 잔기 31-35; 서열 번호 36의 잔기 50-66; 서열 번호 36의 잔기 99-116;
 서열 번호 37의 잔기 24-39; 서열 번호 37의 잔기 55-61; 서열 번호 37의 잔기 94-102;
 서열 번호 38의 잔기 31-35; 서열 번호 38의 잔기 50-66; 서열 번호 38의 잔기 99-108;
 서열 번호 39의 잔기 24-35; 서열 번호 39의 잔기 51-57; 서열 번호 39의 잔기 90-98;
 서열 번호 40의 잔기 31-37; 서열 번호 40의 잔기 52-67; 서열 번호 40의 잔기 97-109; 및
 서열 번호 41의 잔기 24-40; 서열 번호 41의 잔기 56-62; 및 서열 번호 41의 잔기 95-103.

청구항 3

제2항에 있어서, 3개 이상의 CDR을 포함하는 결합 단백질.

청구항 4

제2항에 있어서, 항원 결합 도메인이 V_H 를 포함하는 결합 단백질.

청구항 5

제4항에 있어서, V_H 가 다음 서열들로 이루어진 그룹 중에서 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 결합 단백질.

서열 번호 6; 서열 번호 8; 서열 번호 10; 서열 번호 12; 서열 번호 14; 서열 번호 16; 서열 번호 18; 서열 번호 20; 서열 번호 22; 서열 번호 24; 서열 번호 26; 서열 번호 28; 서열 번호 30; 서열 번호 32; 서열 번호 34; 서열 번호 36; 서열 번호 38 및 서열 번호 40.

청구항 6

제2항에 있어서, 항원 결합 도메인이 V_L 을 포함하는 결합 단백질.

청구항 7

제6항에 있어서, V_L 이 하기 서열들로 이루어진 그룹 중에서 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 결합 단백질.

서열 번호 7; 서열 번호 9; 서열 번호 11; 서열 번호 13; 서열 번호 15; 서열 번호 17; 서열 번호 19; 서열 번호 21; 서열 번호 23; 서열 번호 25; 서열 번호 27; 서열 번호 29; 서열 번호 31; 서열 번호 33; 서열 번호 35; 서열 번호 37; 서열 번호 39 및 서열 번호 41.

청구항 8

제2항에 있어서, 항원 결합 도메인이 V_H 및 V_L 을 포함하는 결합 단백질.

청구항 9

제7항에 있어서, 하기 서열들로 이루어진 그룹 중에서 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 V_H 를 추가로 포함하는 결합 단백질.

서열 번호 6; 서열 번호 8; 서열 번호 10; 서열 번호 12; 서열 번호 14; 서열 번호 16; 서열 번호 18; 서열 번호 20; 서열 번호 22; 서열 번호 24; 서열 번호 26; 서열 번호 28; 서열 번호 30; 서열 번호 32; 서열 번호 34; 서열 번호 36; 서열 번호 38 및 서열 번호 40.

청구항 10

제8항에 있어서, V_L 이 서열 번호 7의 아미노산 서열을 포함하고, V_H 가 서열 번호 6의 아미노산 서열을 포함하는 결합 단백질.

청구항 11

제2항에 있어서, 사람 IgM 불변 도메인; 사람 IgG1 불변 도메인; 사람 IgG2 불변 도메인; 사람 IgG3 불변 도메인; 사람 IgG4 불변 도메인; 사람 IgE 불변 도메인 및 사람 IgA 불변 도메인으로 이루어진 그룹 중에서 선택되는 중쇄 면역글로불린 불변 도메인을 추가로 포함하는 결합 단백질.

청구항 12

제11항에 있어서, 중쇄 면역글로불린 불변 영역 도메인이 사람 IgG1 불변 도메인인 결합 단백질.

청구항 13

제12항에 있어서, 사람 IgG1 불변 도메인이 서열 번호 2 및 서열 번호 3으로 이루어진 그룹 중에서 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 결합 단백질.

청구항 14

제2항에 있어서, 사람 Ig 카파 불변 도메인; 및 사람 Ig 람다 불변 도메인으로 이루어진 그룹 중에서 선택되는 경쇄 면역글로불린 불변 도메인을 추가로 포함하는 결합 단백질.

청구항 15

제14항에 있어서, 경쇄 면역글로불린 불변 영역 도메인이 서열 번호 4의 아미노산 서열을 포함하는 사람 Ig 카파 불변 도메인인 결합 단백질.

청구항 16

제14항에 있어서, 경쇄 면역글로불린 불변 영역 도메인이 서열 번호 5의 아미노산 서열을 포함하는 사람 Ig 람다 불변 도메인인 결합 단백질.

청구항 17

제2항에 있어서, 면역글로불린 분자; scFv; 모노클로날 항체; 사람 항체; 키메라 항체; 사람화된 항체; 단일 도메인 항체; Fab 단편; Fab' 단편; F(ab')₂; Fv; 및 디설파이드 연결된 Fv로 이루어진 그룹 중에서 선택되는 결합 단백질.

청구항 18

제17항에 있어서, 사람 항체인 결합 단백질.

청구항 19

서열 번호 2 및 서열 번호 3으로 이루어진 그룹 중에서 선택되는 아미노산 서열을 갖는 Ig 불변 중쇄 영역;
서열 번호 4 및 서열 번호 5로 이루어진 그룹 중에서 선택되는 아미노산 서열을 갖는 Ig 불변 경쇄 영역;
서열 번호 6의 아미노산 서열을 갖는 Ig 가변 중쇄 영역; 및
서열 번호 7의 아미노산 서열을 갖는 Ig 가변 경쇄 영역
을 포함하는, 사람 IL-18에 결합할 수 있는 결합 단백질.

청구항 20

서열 번호 3의 아미노산 서열을 갖는 Ig 불변 중쇄 영역;
서열 번호 4의 아미노산 서열을 갖는 Ig 불변 경쇄 영역;
서열 번호 6의 아미노산 서열을 갖는 Ig 가변 중쇄 영역; 및
서열 번호 7의 아미노산 서열을 갖는 Ig 가변 경쇄 영역
을 포함하는, 사람 IL-18에 결합할 수 있는 결합 단백질.

청구항 21

제1항 내지 제20항 중 어느 한 항에 따른 결합 단백질을 포함하고, IL-18을 중화시킬 수 있는 중화 결합 단백질.

청구항 22

제21항에 있어서, IL-18이 사람 IL-18 전구체; 성숙 사람 IL-18 및 절단된 사람 IL-18로 이루어진 그룹 중에서 선택되는 중화 결합 단백질.

청구항 23

제21항에 있어서, IL-18이 이의 수용체에 결합하는 능력을 감소시키는 중화 결합 단백질.

청구항 24

제23항에 있어서, 사람 IL-18 전구체, 성숙 사람 IL-18 또는 절단된 사람 IL-18이 이의 수용체에 결합하는 능력을 감소시키는 중화 결합 단백질.

청구항 25

제21항에 있어서, Th1 조절(modulation); Th2 조절; Nk 조절; 호중구 조절; 단핵구-마크로파아지 계통 조절; 호중구 조절; 호산구 조절; B-세포 조절; 사이토킨 조절; 케모킨 조절; 접착 분자 조절; 및 세포 보충 조절로 이루어진 그룹 중에서 선택되는 IL-18 생물학적 활성 하나 이상을 감소시킬 수 있는 중화 결합 단백질.

청구항 26

제21항에 있어서, 약 10^{-7} M 이하; 약 10^{-8} M 이하; 약 10^{-9} M 이하; 약 10^{-10} M 이하; 약 10^{-11} M 이하; 약 10^{-12} M 이하; 및 약 10^{-13} M 이하로 이루어진 그룹 중에서 선택되는 해리 상수(K_D)를 갖는 중화 결합 단백질.

청구항 27

제21항에 있어서, 약 $10^2 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 이상; 약 $10^3 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 이상; 약 $10^4 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 이상; 약 $10^5 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 이상; 및 약 $10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 이상으로 이루어진 그룹 중에서 선택되는 결합율(on rate)을 갖는 중화 결합 단백질.

청구항 28

제21항에 있어서, 약 10^{-3} s^{-1} 이하; 약 10^{-4} s^{-1} 이하; 약 10^{-5} s^{-1} 이하; 및 약 10^{-6} s^{-1} 이하로 이루어진 그룹 중에서 선택되는 해리율(off rate)을 갖는 중화 결합 단백질.

청구항 29

제1항 내지 제20항 중 어느 한 항에 따른 결합 단백질을 포함하고, 당해 결합 단백질이 검출가능한 표지에 접합되어 있는 표지된 결합 단백질.

청구항 30

제29항에 있어서, 검출가능한 표지가 방사성 표지, 효소, 형광 표지, 발광 표지, 생물발광 표지, 자기성 표지 및 비오틴으로 이루어진 그룹 중에서 선택되는 표지된 결합 단백질.

청구항 31

제30항에 있어서, 표지가 ^3H , ^{14}C , ^{35}S , ^{90}Y , ^{99}Tc , ^{111}In , ^{125}I , ^{131}I , ^{177}Lu , ^{166}Ho 및 ^{153}Sm 으로 이루어진 그룹 중에서 선택되는 방사성 표지인 표지된 결합 단백질.

청구항 32

제1항 내지 제20항 중 어느 한 항에 따른 결합 단백질을 포함하고, 당해 결합 단백질이 치료제 또는 세포독성제에 접합되어 있는 접합 결합 단백질.

청구항 33

제32항에 있어서, 치료제 또는 세포독성제가 항대사산물, 알킬화제, 항생제, 성장 인자, 사이토킨, 혈관형성억제제, 유사분열억제제, 안트라사이클린, 독소 및 아포토시스 제제로 이루어진 그룹 중에서 선택되는 접합 결합 단백질.

청구항 34

제1항 내지 제20항 중 어느 한 항에 따른 결합 단백질의 아미노산 서열을 암호화하는 분리된 핵산.

청구항 35

제34항에 따른 분리된 핵산을 포함하는 벡터.

청구항 36

제35항에 있어서, pcDNA, pTT, pTT3, pEFBOS, pBV, pJV 및 pBJ로 이루어진 그룹 중에서 선택되는 벡터.

청구항 37

제35항 또는 제36항에 따른 벡터를 포함하는 숙주 세포.

청구항 38

제37항에 있어서, 원핵생물 세포인 숙주 세포.

청구항 39

제38항에 있어서, 이.콜리인 숙주 세포.

청구항 40

제37항에 있어서, 진핵생물 세포인 숙주 세포.

청구항 41

제40항에 있어서, 진핵생물 세포가 원핵생물 세포, 동물 세포, 식물 세포 및 진균류 세포로 이루어진 그룹 중에서 선택되는 숙주 세포.

청구항 42

제41항에 있어서, 진핵생물 세포가 포유동물 세포, 조류 세포 및 곤충 세포로 이루어진 그룹 중에서 선택되는 동물 세포인 숙주 세포.

청구항 43

제42항에 있어서, 동물 세포가 CHO 세포인 숙주 세포.

청구항 44

제42항에 있어서, COS인 숙주 세포.

청구항 45

제41항에 있어서, 진핵생물 세포가 사카로마이세스 세레비지애(*Saccharomyces cerevisiae*)인 숙주 세포.

청구항 46

제42항에 있어서, 동물 세포가 곤충 Sf9 세포인 숙주 세포.

청구항 47

제37항 내지 제46항 중 어느 한 항에 따른 숙주 세포를 사람 IL-18에 결합하는 결합 단백질을 생산하기에 충분한 조건 하에 배양 배지에서 배양하는 것을 포함하는, 사람 IL-18에 결합하는 결합 단백질의 생산 방법.

청구항 48

제47항에 따른 방법에 따라 생산된 결합 단백질.

청구항 49

제1항 내지 제28항 중 어느 한 항에 따른 결합 단백질을 포함하고, 당해 결합 단백질이 결정으로서 존재하는 결정화된 결합 단백질.

청구항 50

제49항에 있어서, 결정이 무담체성 약제학적 조절 방출 결정인 결정화된 결합 단백질.

청구항 51

제49항에 있어서, 결합 단백질의 가용성 대응물보다 생체내 반감기가 더 긴 결정화된 결합 단백질.

청구항 52

제49항에 있어서, 생물학적 활성을 보유하는 결정화된 결합 단백질.

청구항 53

(a) 제49항 내지 제52항 중 어느 한 항에 따른 결정화된 결합 단백질 및 성분을 포함하는 제제 및

(b) 하나 이상의 중합체 담체

를 포함하는, 결합 단백질 방출용 조성물.

청구항 54

제53항에 있어서, 중합체 담체가 폴리(아크릴산), 폴리(시아노아크릴레이트), 폴리(아미노산), 폴리(무수물), 폴리(펩타이드), 폴리(에스테르), 폴리(락트산), 폴리(락트-코-글리콜산) 또는 PLGA, 폴리(b-하이드록시부티레이트), 폴리(카프롤락톤), 폴리(디옥사논), 폴리(에틸렌 글리콜), 폴리(하이드록시프로필)메타크릴아미드, 폴리[(유기)포스포젠], 폴리(오르토 에스테르), 폴리(비닐 알콜), 폴리(비닐피롤리돈), 말레산 무수물-알킬 비닐 에테르 공중합체, 플루론산 폴리올, 알부민, 알기네이트, 셀룰로스 및 셀룰로스 유도체, 콜라겐, 피브린, 젤라틴, 하이알루론산, 올리고사카라이드, 글리카미노글리칸, 황화된 폴리사카라이드, 이의 배합물 및 공중합체로 이루어진 그룹 중에서 선택된 하나 이상의 중합체인 조성물.

청구항 55

제53항에 있어서, 성분이 알부민, 슈크로스, 트레할로스, 락티톨, 젤라틴, 하이드록시프로필- β -시클로덱스트린, 메톡시폴리에틸렌 글리콜 및 폴리에틸렌 글리콜로 이루어진 그룹 중에서 선택되는 조성물.

청구항 56

제53항에 따른 조성물의 유효량을 포유동물에게 투여하는 단계를 포함하는, 포유동물의 치료 방법.

청구항 57

(a) IL-18 조절인자를 제공하는 단계 및

(b) 상기 조절인자를 세포와 접촉시키는 단계

를 포함하는, 하기 진뱅크 확인 번호의 유전자들로 이루어진 그룹 중에서 선택되는 목적하는 유전자의 발현을 조절하는 방법:

NM_000389, NM_002198, NM_002163, NM_006144, NM_006515, NM_007185, NM_002288,
 NM_003661, NM_021958, NM_001335, Hs.382006, NM_020125, NM_007210, NM_021798,
 NM_013324, M11313, D88152, NM_001103, U37519, NM_000697, J03600,
 NM_014578, S66793, U47054, L19871, M81181, NM_001188, U15460,
 NM_014417, Z23115, NM_001713, U45878, U37546, U72649, U49187,
 J03507, U50360, XM_071866, NM_005623, Z32765, Z11697, XM_071866,
 U51096, M83667, D87469, L07765, U66468, X14830, L29217,
 X15880, NM_001851, M27691, M37435, X13589, X16866, X59131,
 NM_004393, U73328, L19267, U53445, X68277, U48807, NM_001950,
 U87269, M57730, X52541, J04076, X63741, L07077, M62831,
 M60830, U53786, NM_001988, NM_000141, M23668, U60062, NM_000141,
 U49973, U89995, U27326, A28102, M25667, L34357, U19523,
 L01406, U03486, X68285, Z18859, D49958, D43772, AC000099,
 M57731, X53800, M91036, D16583, X64877, X58431, M16937,
 NM_014468, X92814, L19314, M26665, D10995, L41147, M24283,
 S81914, J03171, J00219, NM_000619, NM_000585, U31628, X04500,
 M27492, X01057, M26062, Y00081, Y00787, Z31695, X06256,
 X57206, U20734, NM_014879, D31762, D42038, NM_005551, NM_014846,
 X06182, NM_005551, X07730, M13955, M57710, S83362, NM_002314,
 NM_005569, U49957, U89922, X14008, U59914, D14497, X59727,
 NM_000429, U43944, X72755, NM_021230, NM_005951, X78710, X70991,
 M32011, S77763, M58603, S76638, M69043, U91616, D86425,
 L13740, U44848, U79251, M27288, AF000234, D50640, L20971,
 L10343, U77735, NM_003579, U17034, AB000584, X63131, D11428,
 NM_032940, NM_005035, NM_003579, M18255, L01087, D38128, Y10375,
 D15049, M31166, U59877, NM_003579, U64675, S57153, NM_002903,
 NG_000013, X75042, M83221, NM_000537, U22314, S59049, U70426,
 U22377, U38480, L10338, M23178, M69203, NM_005409, D79206,
 NM_005065, NM_004186, J03764, NM_006802, D89077, NM_003037, M91463,
 D82326, L05568, U96094, X83301, D21267, L31529, M62800,
 NM_021014, Z35093, NM_005816, L25444, M95787, NM_005421, L47345,
 M57732, NM_003205, M96956, U19878, M92357, M59465, X83490,
 U37518, NM_003294, U19261, U78798, S69790, U53476, L15309,
 U78722, X57809, U79249, AB000464, X77744, U79248, A1420129,
 HG2981-HT3127, HG3548-HT3749, HG870-HT870, HG4333-HT4603,
 HG3111-HT3287, HG4593-HT4998, HG961-HT961, HG1877-HT1917,
 HG3115-HT3291, HG4115-HT4385 및 HG3925-HT4195.

청구항 58

제57항에 있어서, 조절인자가 길항제인 방법.

청구항 59

제57항에 있어서, 조절인자가 IL-18인 방법.

청구항 60

제57항에 있어서, 조절인자가 제1항 내지 제28항 중 어느 한 항에 따른 결합 단백질로 이루어진 그룹 중에서 선택되는 방법.

청구항 61

제1항 내지 제28항 중 어느 한 항에 따른 결합 단백질 및 약제학적으로 허용되는 담체를 포함하는 약제학적 조성물.

청구항 62

제61항에 있어서, IL-18 활성이 해로운 질환을 치료하기 위한 하나 이상의 치료제를 추가로 포함하는 약제학적 조성물.

청구항 63

제62항에 있어서, 추가 치료제가 혈관생성 억제제; 키나제 억제제; 공동자극 분자 차단제; 접착 분자 차단제; 항사이토킨 항체 또는 이의 기능성 단편; 메토타렉세이트; 코르티코스테로이드; 사이클로스포린; 라파마이신; FK506; 및 비스테로이드성 소염제로 이루어진 그룹 중에서 선택되는 약제학적 조성물.

청구항 64

사람 IL-18 활성이 감소되도록 제1항 내지 제28항 중 어느 한 항에 따른 결합 단백질과 사람 IL-18을 접촉시킴

을 포함하는, 사람 IL-18 활성을 감소시키는 방법.

청구항 65

사람 대상체 중의 사람 IL-18 활성이 감소되도록 제1항 내지 제28항 중 어느 한 항에 따른 결합 단백질을 사람 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, IL-18 활성이 해로운 질환을 앓고 있는 사람 대상체의 사람 IL-18 활성을 감소시키는 방법.

청구항 66

IL-18 활성이 해로운 질병 또는 질환이 있는 대상체에게 이러한 질병 또는 질환이 치료되도록 제1항 내지 제28항 중 어느 한 항에 따른 결합 단백질을 투여하여 상기 대상체를 치료하는 방법.

청구항 67

제66항에 있어서, 질환이 류마티스성 관절염, 골관절염, 소아만성관절염, 라임(Lyme) 관절염, 건선 관절염, 반응관절염 및 폐혈성 관절염, 척추관절염, 전신홍반루푸스, 크론병, 켈양성 결장염, 염증장병, 인슐린 의존 당뇨병, 갑상샘염, 천식, 알레르기병, 건선, 피부염 피부경화증, 이식대숙주병, 기관 이식거부, 기관 이식과 관련된 급성 또는 만성 면역병, 사르코이드증, 죽상경화증, 파종 혈관내 응고, 가와사키병, 그레이브스병, 신장증후군, 만성피로증후군, 베게너 육아종증, 헨녹-셴라인 자반증(Henoch-Schonlein purpura), 신장의 현미경적 혈관염, 만성 활성 간염, 포도막염, 폐혈 쇼크, 독소 쇼크 증후군, 폐혈증 증후군, 악액질, 감염성 질병, 기생충병, 후천성 면역결핍 증후군, 급성 횡단 척수염, 헌팅턴씨 무도병, 파킨슨씨병, 알츠하이머병, 발작, 1차담관성간경화증, 용혈빈혈, 악성암, 심장부전, 심근경색, 애디슨씨병, 산발성, 다선성 결핍 I형 및 다선성 결핍 II형, 슈미트씨 증후군, 성인(급성) 호흡곤란증후군, 탈모증, 원형탈모증, 흡성혈청 관절증, 관절증, 라이터씨병, 건선 관절증, 켈양성결장염관절증, 창자병 윤활막염, 클라미디아, 에르시니아 및 살모넬라 관련 관절증, 척추관절증, 죽상병/동맥경화증, 아토피성 알레르기, 자가면역수포병, 보통천포창, 낙엽천포창, 유사천포창, 1차 IgA 병, 자가면역 용혈빈혈, 콕스 양성 용혈빈혈, 후천성 악성빈혈, 소아악성빈혈, 근육통성 뇌염/로알 프리병(Royal Free Disease), 만성 점막피부칸디다증, 거대세포 동맥염, 1차 경화증 간염, 잠복성 자가면역 간염, 후천성 면역결핍 증후군, 후천성 면역결핍 관련병, B형 간염, C형 간염, 공통가변성면역결핍(공통가변성 저감마글로불린혈증), 확장성 심근증, 여성 불임, 난소부전, 조기 난소부전, 섬유소성 폐병, 잠복성 섬유화 폐포염, 염증후 간질성 폐병, 간질성 폐렴, 결합조직병 관련 간질성 폐병, 복합 결합조직병 관련 폐병, 전신 경화증 관련 간질성 폐병, 류마티스성 관절염 관련 간질성 폐병, 전신홍반루푸스 관련 폐병, 피부근육염/다발근육염 관련 폐병, 쇼그렌병 관련 폐병, 강직척추염 관련 폐병, 혈관염성 광범위 폐병, 혈철소증 관련 폐병, 약물 유도 간질성 폐병, 방사선 섬유증, 폐쇄세기관지염, 만성 호산구성 폐렴, 림프구성 침윤 폐병, 감염후 간질성 폐병, 통풍 관절염, 자가면역 간염, 1형 자가면역 간염(고전적 자가면역 또는 루푸스 간염), 2형 자가면역 간염(항LKM 항체 간염), 자가면역 매개 저혈당증, 흑색가시세포증 관련 B형 인슐린 내성, 부갑상샘저하증, 기관 이식 관련 급성 면역 질환, 기관 이식 관련 만성 면역 질환, 골관절염, 1차경화담관염, 건선 1형, 건선 2형, 특발 백혈구감소증, 자가면역 호중구 감소증, 신장병 NOS, 사구체신염, 신장의 현미경적 혈관염, 라임병, 원반형 홍반루푸스, 특발성 또는 NOS 남성 불임, 정자 자가면역성, 다발성 경화증(모든 서브타입), 교감 눈염증, 결합조직 질환에 부차적인 폐 고혈압, 굿파스처 증후군, 결절다발동맥염의 폐동맥 징후, 급성 류마티스열, 류마티스성 척추염, 스틸스병, 전신 경화증, 쇼그렌 증후군, 다카야씨씨병/동맥염, 자가면역 저혈소판증, 특발 저혈소판증, 자가면역 갑상샘 질환, 갑상샘저하증, 갑상샘종 자가면역 갑상샘저하증(하시모토씨병), 위축 자가면역 갑상샘저하증, 1차 점액부종, 수정체성 포도막염, 1차 혈관염, 백반증, 급성 간질환, 만성 간질환, 알콜간경화증, 알콜 유도 간 손상, 담즙정체, 특히 간질환, 약물 유도 간염, 비알콜성 지방간염, 알레르기 및 천식, 그룹 B 스트렙토코커스(GBS) 감염, 정신 질환(예, 우울증 및 정신분열병), Th2 형 및 Th1 형 매개 병, 급성 및 만성 통증 및 암을 포함하는 그룹 중에서 선택되는 방법.

청구항 68

사람 IL-12에 결합할 수 있는 항체 또는 이의 단편; 메토타렉세이트; 사람 TNF에 결합할 수 있는 항체 또는 이의 단편; 코르티코스테로이드, 사이클로스포린, 라파마이신, FK506 및 비스테로이드성 소염제로 이루어진 그룹 중에서 선택되는 제2 약물의 투여 전이나, 동시에 또는 투여 후에 제1항 내지 제28항 중 어느 한 항에 따른 결합 단백질을 투여하는 단계를 포함하는, IL-18이 해로운 질환을 앓고 있는 환자의 치료 방법.

청구항 69

성숙한 사람 IL-18에는 결합할 수 있지만, 사람 IL-18 전구체에는 특이적으로 결합하지 않고, 사람 항체, 키메라 항체, 사람화된 항체 및 CDR 접목(grafted) 항체로 이루어진 그룹 중에서 선택되는 중화 결합 단백질.

청구항 70

제1항에 있어서, 성숙한 사람 IL-18에는 결합할 수 있지만, 사람 IL-18 전구체에는 특이적으로 결합하지 않는 결합 단백질.

청구항 71

사람 IL-18에 결합하기 위해 125-2H 항체와 경쟁할 수 있고, 사람 항체; 키메라 항체; 사람화된 항체 및 CDR 접목 항체로 이루어진 그룹 중에서 선택되는 중화 결합 단백질.

청구항 72

제1항에 있어서, 사람 IL-18에 결합하기 위해 125-2H 항체와 경쟁할 수 있는 결합 단백질.

청구항 73

사람 IL-18에 결합하기 위해 125-2H 항체와 경쟁할 수 없고, 사람 항체; 키메라 항체; 사람화된 항체 및 CDR 접목 항체로 이루어진 그룹 중에서 선택되는 중화 결합 단백질.

청구항 74

제1항에 있어서, 사람 IL-18에 결합하기 위해 125-2H 항체와 경쟁할 수 없는 결합 단백질.

청구항 75

사람 IL-18에 결합하기 위해 2.5(E)mg1 항체 및 IL-18BP로 이루어진 그룹 중에서 선택되는 결합 단백질과 경쟁할 수 없고, 사람 항체; 키메라 항체; 사람화된 항체 및 CDR 접목 항체로 이루어진 그룹 중에서 선택되는 중화 결합 단백질.

청구항 76

제1항에 있어서, 사람 IL-18에 결합하기 위해 2.5(E)mg1 항체 및 IL-18BP로 이루어진 그룹 중에서 선택되는 결합 단백질과 경쟁할 수 없는 결합 단백질.

청구항 77

제8항에 있어서, V_L 이 서열 번호 9의 아미노산 서열을 포함하고, V_H 가 서열 번호 8의 아미노산 서열을 포함하는 결합 단백질.

청구항 78

서열 번호 2 및 서열 번호 3으로 이루어진 그룹 중에서 선택되는 아미노산 서열을 갖는 Ig 불변 중쇄 영역;

서열 번호 4 및 서열 번호 5로 이루어진 그룹 중에서 선택되는 아미노산 서열을 갖는 Ig 불변 경쇄 영역;

서열 번호 8의 아미노산 서열을 갖는 Ig 가변 중쇄 영역; 및

서열 번호 9의 아미노산 서열을 갖는 Ig 가변 경쇄 영역을 포함하는, 사람 IL-18에 결합할 수 있는 결합 단백질.

청구항 79

서열 번호 3의 아미노산 서열을 갖는 Ig 불변 중쇄 영역;

서열 번호 4의 아미노산 서열을 갖는 Ig 불변 경쇄 영역;

서열 번호 8의 아미노산 서열을 갖는 Ig 가변 중쇄 영역; 및

서열 번호 9의 아미노산 서열을 갖는 Ig 가변 경쇄 영역을 포함하는, 사람 IL-18에 결합할 수 있는 결합 단백질.

명세서

기술분야

[0001] 관련 출원에 대한 상호 참조

[0002] 본 출원은 2003년 11월 12일에 출원된 미국 특허 출원번호 제10/706,689호를 우선권으로 주장한다.

[0003] 본 발명은 인터류킨 18 (IL-18) 결합 단백질, 상세하게는 급성 및/또는 만성 염증 질환의 예방 및/또는 치료에 유용한 이의 용도에 관한 것이다.

배경기술

[0004] 인터류킨 18 (IL-18)은 1989년에 인터페론 감마 유도 인자 (IGIF)로 처음으로 개시되었고 인터페론 감마를 유도하는 능력 외에도 다양한 기능이 있는 염증 촉진 사이토킨 (pro-inflammatory cytokine)이다. 이러한 생물학적 성질에는 NF- κ b 활성화, Fas 리간드 발현, CC 및 CXC 케모킨 둘다의 유도, 및 적합한 사람 면역결핍 바이러스의 생산 증가를 포함한다. IL-18은 T 세포 및 마크로파아지에서 인터페론 감마의 생산을 유도하기 때문에 Th1형 면역반응에 주요 역할을 하고, 선천성 및 후천성 면역 모두에 관여한다. IL-18은 구조 및 기능 면에서 IL-1 계열과 관련이 있다. IL-18 구조, 기능 및 생물학적 활성화에 대해서는 다음과 같은 문헌들을 참조할 수 있다: Dinarello, C. et al. (1998) J. Leukoc. Biol. 63: 658-654; Dinarello, C. A. (1999) Methods 19: 121-132; 및 Dinarello, C. A. (1999) J. Allergy Clin. 103: 11-24; (McInnes, I.B. et.al. (2000) Immunology Today 21: 312-315; Nakanishi, K. et al(2001) Ann. Rev. Immunol 19: 423-474.

[0005] 세포내 IL-18 전구체는 내독소 자극 세포에서는 카스파제 1(Ghayur, T. et al.,(1997) Nature 386: 619-623; Gu, et al., (1997) Science 275: 206-209)에 의해, 그리고 Fas-L 또는 세균 DNA 자극 세포에서는 카스파제 4, 5 및 6(Tsutsui, H. et al., (1999) Immunity 11: 359-67; Ghayur, T., 미공개 보고서)에 의해 18kDa 활성형으로 단백질분해적으로 프로세싱된다. 또한, IL-18 전구체는 다른 프로테아제, 예컨대 호중구 프로테이나제 3(Sugawara, S. et al., (2001) J. Immunol., 167, 6568-6575), 카스파제 3(Akita, K. et al., (1997) J.Biol.Chem., 272, 26595-26603) 및 세린 프로테아제인 엘라스타제 및 카텝신(Gracie J.A., et al., (2003) Journal of Leukocyte Biology 73, 213-224)에 의해서도 단백질분해적으로 프로세싱된다. 사람 및 쥐의 IL-18은 모두 전형적 리더 서열이 없고, 세포에 의한 성숙 IL-18 방출 기작은 분명하게 알려진 바가 없다.

[0006] IL-18의 생물학적 활성화는 2개의 서브유닛인 α -서브유닛 (IL-1R 관련 단백질-1 또는 IL-1Rrp1이라고도 불리는 IL-1R계의 구성원) 및 β -서브유닛 (IL-18R 부속 단백질, IL-18AP 또는 AcPL이라고도 불림)으로 이루어진 이종이량체성 IL-18 수용체 (IL-18R)에 대한 IL-18의 결합을 통해 매개된다. IL-18R α 서브유닛은 IL-18에 직접 결합하지만 시그널 전달을 수행할 수 없다. β -서브유닛은 IL-18 자체에 결합하지 않지만 α -서브유닛과 함께 시그널 전달에 필요한 친화성이 높은 수용체 ($K_D = \sim 0.3nM$)를 형성한다 (문헌참조: Sims, J.E., (2002) current Opin Immunol. 14:117-122). IL-18R $\alpha \beta$ 복합체를 통한 IL-18 시그널 전달은 IL-1R 및 Toll 유사 수용체 (TLR) 시스템과 유사하다. IL-18R 시그널 전달은 MyD88, IRAK, TRAF6와 같은 시그널 전달 분자를 이용하고, IL-1과 유사한 반응을 일으킨다 (예컨대, NIK, I κ B 키나제, NF- κ B, JNK 및 p38 MAP 키나제의 활성화). IL-18 생체활성의 매개 시, IL-18R α 및 시그널 전달 분자의 필요성은 IL-18R α 서브유닛 (Hoshino K., et al (1999) J. Immunol. 162: 5041-5044), MyD88(Adachi O., et al. (1998) 9:143-150) 또는 IRAK(Kanakaraj P.,(1999) J. Exp. Med. 189: 1129-1138) 녹아웃에 의해 각각 확인되었다.

[0007] IL-18에 결합하는 항체는 당업계에서 공지되어 있다. IL-18을 중화시킬 수 있는 마우스 항체는 EP 0 974 600에 개시되어 있다. IL-18에 대한 사람 항체는 PCT 공개번호 WO 0158956에 개시되어 있고, 이 문헌은 본원에 참고인용되었다. 본 발명은 IL-18에 결합할 수 있고, 높은 친화성으로 결합할 수 있으며, IL-18에 결합하여 중화시킬 수 있는, 신규 계열의 결합 단백질 그룹, 사람 항체 및 이의 단편을 제공한다.

- [0008] 발명의 개요
- [0009] 본 발명은 IL-18 결합 단백질, 구체적으로 사람 IL-18에 대한 항체, 및 이러한 결합 단백질의 제조 및 사용 방법에 관한 것이다. 본 발명의 일 관점은 IL-18의 조절인자 (modulator)를 사용하여 유전자 발현을 조절하는 방법에 관한 것이다.
- [0010] 본 발명의 일 관점은 사람 IL-18에 결합할 수 있는 항원 결합 도메인을 포함하는 결합 단백질에 관한 것이다. 일 양태에서, 항원 결합 도메인은 하기 서열로 이루어진 그룹 중에서 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR을 하나 이상 포함한다:
- [0011] CDR-H1. $X_1-X_2-X_3-X_4-X_5-X_6-X_7$ (서열 번호 42)
- [0012] (여기서, X_1 은 S, N, H, R 또는 Y이고;
- [0013] X_2 는 Y, G, R, S 또는 C이고;
- [0014] X_3 은 W, G, Y, D, S, V 또는 I이고;
- [0015] X_4 는 I, H, W, Y, M, L 또는 D이고;
- [0016] X_5 는 G, Y, S, N 또는 H이고;
- [0017] X_6 은 W 이거나 존재하지 않으며;
- [0018] X_7 은 T, S, G 이거나 존재하지 않는다);
- [0019] CDR-H2. $X_1-X_2-X_3-X_4-X_5-X_6-X_7-X_8-X_9-X_{10}-X_{11}-X_{12}-X_{13}-X_{14}-X_{15}-X_{16}-X_{17}$ (서열 번호 43),
- [0020] (여기서, X_1 은 F, Y, H, S 또는 V 이고;
- [0021] X_2 는 I 또는 F이고;
- [0022] X_3 은 Y, S 또는 W이고;
- [0023] X_4 는 P, Y 또는 S이고;
- [0024] X_5 는 G, S, R 또는 D이고;
- [0025] X_6 은 D 또는 G이고;
- [0026] X_7 은 S, T, G 또는 R이고;
- [0027] X_8 은 E, T, I 또는 N이고;
- [0028] X_9 는 T, Y, N, I, K 또는 H이고;
- [0029] X_{10} 은 R, Y 또는 S이고;
- [0030] X_{11} 은 Y, N 또는 S이고;
- [0031] X_{12} 는 S, P, A 또는 V이고;
- [0032] X_{13} 은 P, S 또는 D이고;
- [0033] X_{14} 는 T, L 또는 S이고;
- [0034] X_{15} 는 F, K 또는 V이고;
- [0035] X_{16} 은 Q, S 또는 K이고;

- [0036] X_{17} 은 G이거나 존재하지 않는다);
- [0037] CDR-H3: X_1 - X_2 - X_3 - X_4 - X_5 - X_6 - X_7 - X_8 - X_9 - X_{10} - X_{11} - X_{12} - X_{13} - X_{14} - X_{15} - X_{16} - X_{17} - X_{18} (서열 번호 44)
- [0038] (여기서, X_1 은 V, D, E, S 또는 C이고;
- [0039] X_2 는 G, R, D, S, K, L, Y 또는 A이고;
- [0040] X_3 은 S, G, Y 또는 R이고;
- [0041] X_4 는 G, S, Y, N, T 또는 D이고;
- [0042] X_5 는 W, S, A, G, Y 또는 T이고;
- [0043] X_6 은 Y, G, S, F, W 또는 N이고;
- [0044] X_7 은 P, S, F, Y, V, G, W 또는 V이고;
- [0045] X_8 은 Y, F, D, P, M, I 또는 N이고;
- [0046] X_9 는 T, W, D, L, Y, E, P, F 또는 G이고;
- [0047] X_{10} 은 F, D, Y, H, V, Y이거나 존재하지 않고;
- [0048] X_{11} 은 D, Y, F, L이거나 존재하지 않으며;
- [0049] X_{12} 는 I, D, Y이거나 존재하지 않고;
- [0050] X_{13} 은 Y이거나 존재하지 않으며;
- [0051] X_{14} 는 Y이거나 존재하지 않고;
- [0052] X_{15} 는 G이거나 존재하지 않으며;
- [0053] X_{16} 은 M이거나 존재하지 않고;
- [0054] X_{17} 은 D이거나 존재하지 않으며;
- [0055] X_{18} 은 V이거나 존재하지 않는다);
- [0056] CDR-L1. X_1 - X_2 - X_3 - X_4 - X_5 - X_6 - X_7 - X_8 - X_9 - X_{10} - X_{11} - X_{12} - X_{13} - X_{14} - X_{15} - X_{16} - X_{17} (서열 번호 45)
- [0057] (여기서, X_1 은 R 또는 K이고;
- [0058] * X_2 는 A, G 또는 S이고;
- [0059] X_3 은 S이고;
- [0060] X_4 는 E, R, Q 또는 H이고;
- [0061] X_5 는 S, I, T 또는 N이고;
- [0062] X_6 은 I, V, L 또는 F이고;
- [0063] X_7 은 S, G, L, N 또는 R이고;
- [0064] X_8 은 S, G, Y, R, N, H 또는 D이고;

- [0065] X_9 는 N, G, Y, R 또는 S이고;
- [0066] X_{10} 은 L, Y, S 또는 D이고;
- [0067] X_{11} 은 A, L, N, V, G 또는 D이고;
- [0068] X_{12} 는 A, N, E, K, G이거나 존재하지 않고;
- [0069] X_{13} 은 K, T, N이거나 존재하지 않으며;
- [0070] X_{14} 는 N, Y, T이거나 존재하지 않고;
- [0071] X_{15} 는 Y, L이거나 존재하지 않으며;
- [0072] X_{16} 은 L, C, Y이거나 존재하지 않고;
- [0073] X_{17} 은 A, D이거나 존재하지 않는다);
- [0074] CDR-L2. X_1 - X_2 - X_3 - X_4 - X_5 - X_6 - X_7 (서열 번호 46)
- [0075] (여기서, X_1 은 T, G, S, W 또는 E이고;
- [0076] X_2 는 A, V, T, I 또는 L이고;
- [0077] X_3 은 S 또는 F이고;
- [0078] X_4 는 T, I, N, S, R 또는 Y이고;
- [0079] X_5 는 R 또는 L이고;
- [0080] X_6 은 A, Q, E 또는 F이고;
- [0081] X_7 은 T 또는 S이다); 및
- [0082] CDR-L3. X_1 - X_2 - X_3 - X_4 - X_5 - X_6 - X_7 - X_8 - X_9 - X_{10} (서열 번호 47)
- [0083] (여기서, X_1 은 Q 또는 M이고;
- [0084] X_2 는 Q, H 또는 Y이고;
- [0085] X_3 은 Y, N, G, S 또는 R이고;
- [0086] X_4 는 N, H, Y, D, G, V, L 또는 I이고;
- [0087] X_5 는 N, G, I, Y, S, Q, F 또는 E이고;
- [0088] X_6 은 W, S, T, L, I 또는 F이고;
- [0089] X_7 은 P, L, T, D 또는 I이고;
- [0090] X_8 은 S, L, P, C, W, I 또는 F이고;
- [0091] X_9 는 I, T, S이거나 존재하지 않고;
- [0092] X_{10} 은 T이거나 존재하지 않는다).
- [0093] 바람직하게는, 항원 결합 도메인은 다음과 같은 잔기들로 이루어진 그룹 중에서 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR을 하나 이상 포함한다: 서열 번호 6의 잔기 31-35; 서열 번호 6의 잔기 50-66; 서열 번호 6의 잔기 99-110; 서열 번호 7의 잔기 24-34; 서열 번호 7의 잔기 50-56; 서열 번호 7의 잔기 89-98; 서열 번호 8의 잔기

기 31-37; 서열 번호 8의 잔기 52-67; 서열 번호 8의 잔기 100-110; 서열 번호 9의 잔기 24-35; 서열 번호 9의 잔기 51-57; 서열 번호 9의 잔기 90-98; 서열 번호 10의 잔기 31-35; 서열 번호 10의 잔기 50-65; 서열 번호 10의 잔기 98-107; 서열 번호 11의 잔기 24-34; 서열 번호 11의 잔기 50-56; 서열 번호 11의 잔기 89-97; 서열 번호 12의 잔기 31-37; 서열 번호 12의 잔기 52-67; 서열 번호 12의 잔기 100-108; 서열 번호 13의 잔기 24-35; 서열 번호 13의 잔기 51-57; 서열 번호 13의 잔기 90-98; 서열 번호 14의 잔기 31-35; 서열 번호 14의 잔기 50-66; 서열 번호 14의 잔기 99-111; 서열 번호 15의 잔기 24-40; 서열 번호 15의 잔기 56-62; 서열 번호 15의 잔기 95-103; 서열 번호 16의 잔기 31-37; 서열 번호 16의 잔기 52-67; 서열 번호 16의 잔기 100-109; 서열 번호 17의 잔기 24-35; 서열 번호 17의 잔기 51-57; 서열 번호 17의 잔기 90-98; 서열 번호 18의 잔기 31-35; 서열 번호 18의 잔기 20-36; 서열 번호 18의 잔기 99-108; 서열 번호 19의 잔기 24-34; 서열 번호 19의 잔기 50-56; 서열 번호 19의 잔기 89-97; 서열 번호 20의 잔기 31-35; 서열 번호 20의 잔기 52-67; 서열 번호 20의 잔기 100-108; 서열 번호 21의 잔기 24-35; 서열 번호 21의 잔기 51-57; 서열 번호 21의 잔기 90-98; 서열 번호 22의 잔기 31-35; 서열 번호 22의 잔기 50-66; 서열 번호 22의 잔기 99-116; 서열 번호 23의 잔기 24-39; 서열 번호 23의 잔기 55-61; 서열 번호 23의 잔기 94-102; 서열 번호 24의 잔기 31-37; 서열 번호 24의 잔기 52-67; 서열 번호 24의 잔기 100-109; 서열 번호 25의 잔기 24-35; 서열 번호 25의 잔기 51-57; 서열 번호 25의 잔기 90-98; 서열 번호 26의 잔기 31-37; 서열 번호 26의 잔기 52-67; 서열 번호 26의 잔기 100-109; 서열 번호 27의 잔기 24-35; 서열 번호 27의 잔기 51-57; 서열 번호 27의 잔기 90-98; 서열 번호 28의 잔기 31-37; 서열 번호 28의 잔기 52-67; 서열 번호 28의 잔기 100-108; 서열 번호 29의 잔기 24-35; 서열 번호 29의 잔기 51-57; 서열 번호 29의 잔기 90-98; 서열 번호 30의 잔기 31-37; 서열 번호 30의 잔기 52-67; 서열 번호 30의 잔기 99-109; 서열 번호 31의 잔기 24-35; 서열 번호 31의 잔기 51-57; 서열 번호 31의 잔기 90-98; 서열 번호 32의 잔기 31-37; 서열 번호 32의 잔기 52-67; 서열 번호 32의 잔기 100-109; 서열 번호 33의 잔기 24-35; 서열 번호 33의 잔기 51-57; 서열 번호 33의 잔기 90-98; 서열 번호 34의 잔기 31-37; 서열 번호 34의 잔기 52-67; 서열 번호 34의 잔기 100-108; 서열 번호 35의 잔기 24-35; 서열 번호 35의 잔기 51-57; 서열 번호 35의 잔기 90-98; 서열 번호 36의 잔기 31-35; 서열 번호 36의 잔기 50-66; 서열 번호 36의 잔기 99-116; 서열 번호 37의 잔기 24-39; 서열 번호 37의 잔기 55-61; 서열 번호 37의 잔기 94-102; 서열 번호 38의 잔기 31-35; 서열 번호 38의 잔기 50-66; 서열 번호 38의 잔기 99-108; 서열 번호 39의 잔기 24-35; 서열 번호 39의 잔기 51-57; 서열 번호 39의 잔기 90-98; 서열 번호 40의 잔기 31-37; 서열 번호 40의 잔기 52-67; 서열 번호 40의 잔기 97-109; 서열 번호 41의 잔기 24-40; 서열 번호 41의 잔기 56-62; 및 서열 번호 41의 잔기 95-103. 결합 단백질은 CDR을 적어도 3개 포함하는 것이 바람직하다.

[0094] 다른 바람직한 양태에서, 결합 단백질은 V_H 도메인을 포함한다. 이러한 V_H 도메인은 다음 서열들로 이루어진 그룹 중에서 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 것이 바람직하다: 서열 번호 6; 서열 번호 8; 서열 번호 10; 서열 번호 12; 서열 번호 14; 서열 번호 16; 서열 번호 18; 서열 번호 20; 서열 번호 22; 서열 번호 24; 서열 번호 26; 서열 번호 28; 서열 번호 30; 서열 번호 32; 서열 번호 34; 서열 번호 36; 서열 번호 38; 및 서열 번호 40. 다른 양태에서, 결합 단백질은 V_L 도메인을 포함한다. 이러한 V_L 도메인은 하기 서열들로 이루어진 그룹 중에서 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 것이 바람직하다: 서열 번호 7; 서열 번호 9; 서열 번호 11; 서열 번호 13; 서열 번호 15; 서열 번호 17; 서열 번호 19; 서열 번호 21; 서열 번호 23; 서열 번호 25; 서열 번호 27; 서열 번호 29; 서열 번호 31; 서열 번호 33; 서열 번호 35; 서열 번호 37; 서열 번호 39; 및 서열 번호 41.

[0095] 바람직한 양태에서, 결합 단백질은 V_H 및 V_L 도메인을 포함한다. 이러한 결합 단백질은 서열 번호 6; 서열 번호 8; 서열 번호 10; 서열 번호 12; 서열 번호 14; 서열 번호 16; 서열 번호 18; 서열 번호 20; 서열 번호 22; 서열 번호 24; 서열 번호 26; 서열 번호 28; 서열 번호 30; 서열 번호 32; 서열 번호 34; 서열 번호 36; 서열 번호 38; 및 서열 번호 40으로 이루어진 그룹 중에서 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 V_H 도메인을 포함하고, 서열 번호 7, 서열 번호 9, 서열 번호 11, 서열 번호 13, 서열 번호 15, 서열 번호 17, 서열 번호 19, 서열 번호 21, 서열 번호 23, 서열 번호 25, 서열 번호 27, 서열 번호 29, 서열 번호 31, 서열 번호 33, 서열 번호 35, 서열 번호 37, 서열 번호 39 및 서열 번호 41로 이루어진 그룹 중에서 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 V_L 도메인을 포함하는 것이 더 바람직하다. 가장 바람직하게는, 결합 단백질이 서열 번호 7의 아미노산 서열을 포함하는 V_L 도메인 및 서열 번호 6의 아미노산 서열을 포함하는 V_H 도메인을 포함하는 것이다.

[0096] 다른 양태에서, 결합 단백질은 추가로 사람 IgM 불변 도메인; 사람 IgG1 불변 도메인; 사람 IgG2 불변 도메인; 사람 IgG3 불변 도메인; 사람 IgG4 불변 도메인; 사람 IgE 불변 도메인 및 사람 IgA 불변 도메인으로 이루어진

그룹 중에서 선택되는 중쇄 면역글로불린 불변 도메인을 포함한다. 이러한 중쇄 면역글로불린 불변 영역 도메인은 사람 IgG1 불변 도메인인 것이 바람직하다. 항체의 작동인자 (effector) 기능이 변경되도록 중쇄 불변 영역 도메인에 존재하는 적어도 하나의 아미노산 잔기는 치환되는 것이 바람직하다. 더 바람직하게는, 사람 IgG1 불변 도메인이 서열 번호 2 및 서열 번호 3으로 이루어진 그룹 중에서 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 것이다.

[0097] 다른 양태에서, 결합 단백질은 추가로 사람 Ig 카파 결합 도메인; 및 사람 Ig 람다 불변 도메인으로 이루어진 그룹 중에서 선택되는 경쇄 면역글로불린 불변 도메인을 포함한다. 사람 Ig 카파 불변 도메인은 서열 번호 4의 아미노산 서열을 포함하고, 사람 Ig 람다 불변 도메인은 서열 번호 5의 아미노산 서열을 포함하는 것이 바람직하다.

[0098] 다른 양태에서, 결합 단백질은 서열 번호 2 및 서열 번호 3으로 이루어진 그룹 중에서 선택되는 아미노산 서열을 가진 Ig 불변 중쇄 영역; 서열 번호 4 및 서열 번호 5로 이루어진 그룹 중에서 선택되는 아미노산 서열을 가진 Ig 불변 경쇄 영역; 서열 번호 6의 아미노산 서열을 가진 Ig 가변 중쇄 영역; 및 서열 번호 7의 아미노산 서열을 가진 Ig 가변 경쇄 영역을 포함한다.

[0099] 다른 양태에서, 결합 단백질은 서열 번호 3의 아미노산 서열을 갖는 Ig 불변 중쇄 영역; 서열 번호 4의 아미노산 서열을 갖는 Ig 불변 경쇄 영역; 서열 번호 6의 아미노산 서열을 갖는 Ig 가변 중쇄 영역; 및 서열 번호 7의 아미노산 서열을 갖는 Ig 가변 경쇄 영역을 포함한다.

[0100] 다른 양태에서, 결합 단백질은 당업계에 공지된 면역글로불린 분자 또는 이의 기능성 변형체로 이루어진 그룹 중에서 선택되고, 여기서 변형체는 결합 단백질의 특징적 결합성을 보유하는 것이다. 면역글로불린의 구체예에는 scFv; 노도클로날 항체; 사람 항체; 키메라 항체; 사람화된 항체; 단일 도메인 항체; Fab 단편; Fab' 단편; F(ab')₂; Fv; 이황화 결합된 Fv 및 쌍특이 또는 이중특이 항체를 포함하나, 이에 국한되는 것은 아니다. 결합 단백질은 사람 항체인 것이 가장 바람직하다.

[0101] 다른 관점으로서, 본 발명은 앞에 개시한 결합 단백질 중 어느 하나를 포함하고, IL-18을 중화시킬 수 있는 중화성 결합 단백질을 제공한다. 이러한 중화성 결합 단백질은 사람 IL-18 전구체; 성숙 사람 IL-18 또는 절두형 사람 IL-18 중 어느 하나를 중화시킬 수 있다. 다른 양태에서, 중화성 결합 단백질은 IL-18의 자기 수용체에 대한 결합능을 감소시킨다. 이러한 중화성 결합 단백질은 사람 IL-18 전구체, 성숙 사람 IL-18 또는 절두형 사람 IL-18의 자기 수용체에 대한 결합능을 감소시키는 것이 바람직하다.

[0102] 다른 양태에서, 중화성 결합 단백질은 Th1 조절 (modulation); Th2 조절 (Nakanishi K., et al (2001) Cytokine and Growth Factor Rev. 12:53-72); Nk 조절; 호중구 조절; 단핵구-마크로파아지 계통 조절; 호중구 조절; 호산구 조절; B-세포 조절; 사이토킨 조절; 케모킨 조절; 접착 분자 조절; 및 세포 동원 조절로 이루어진 그룹 중에서 선택되는 IL-18 생물학적 활성 하나 이상을 억제할 수 있다.

[0103] 바람직한 양태에서, 중화성 결합 단백질은 해리 상수 (K_D)가 최대 약 10⁻⁷M; 최대 약 10⁻⁸M; 최대 약 10⁻⁹M; 최대 약 10⁻¹⁰M; 최대 약 10⁻¹¹M; 최대 약 10⁻¹²M; 및 최대 약 10⁻¹³M로 이루어진 그룹 중에서 선택되는 것이다.

[0104] 다른 양태에서, 중화성 결합 단백질은 적어도 약 10²M⁻¹s⁻¹; 적어도 약 10³M⁻¹s⁻¹; 적어도 약 10⁴M⁻¹s⁻¹; 적어도 약 10⁵M⁻¹s⁻¹; 및 적어도 약 10⁶M⁻¹s⁻¹으로 이루어진 그룹 중에서 선택되는 결합률 (on rate)을 나타낸다.

[0105] 또 다른 양태에서, 중화성 결합 단백질은 최대 약 10⁻³s⁻¹; 최대 약 10⁻⁴s⁻¹; 최대 약 10⁻⁵s⁻¹; 및 최대 약 10⁻⁶s⁻¹으로 이루어진 그룹 중에서 선택되는 해리율 (off rate)을 나타낸다.

[0106] 또 다른 관점에서, 본 발명은 앞에 개시한 결합 단백질 중 어느 하나를 포함하고, 이 결합 단백질이 검출성 표지에 접합되어 있는 것이 특징인 표지된 결합 단백질을 제공한다. 검출성 표지는 방사성 동위원소, 효소, 형광 표지, 발광 표지, 생물발광 표지, 자성 표지 및 비오틴으로 이루어진 그룹 중에서 선택되는 것이 바람직하다. 더 바람직하게는, 방사성 동위원소가 ³H, ¹⁴C, ³⁵S, ⁹⁰Y, ⁹⁹Tc, ¹¹¹In, ¹²⁵I, ¹³¹I, ¹⁷⁷Lu, ¹⁶⁶Ho 또는 ¹⁵³Sm 인 것이다.

[0107] 또 다른 관점에서, 본 발명은 앞에 개시한 결합 단백질 중 어느 하나를 포함하고, 이 결합 단백질이 치료제 또는 세포독성제에 접합되어 있는 것이 특징인 접합된 결합 단백질을 제공한다. 치료제 또는 세포독성제는 항대사산물, 알킬화제, 항생제, 성장 인자, 사이토킨, 혈관형성억제제, 유사분열억제제, 안트라사이클린, 독소 및 아

포토시스제로 이루어진 그룹 중에서 선택되는 것이 바람직하다.

- [0108] 일 양태로서, 앞에 개시한 결합 단백질 중 어느 하나를 암호화하는 분리된 핵산을 제공한다. 다른 양태는 앞에 개시한 분리된 핵산을 포함하고, pcDNA, pTT (Durocher et al., Nucleic Acids Research 2002, Vol 30, No.2), pTT3 (다중 클로닝 부위가 추가된 pTT), pEFBOS (Mizushima, S. and Nagata, S., (1990) Nucleic Acids Research Vol 18, No. 17), pBV, pJV 및 pBJ로 이루어진 그룹 중에서 선택되는 벡터를 제공한다.
- [0109] 다른 양태에서, 상기 벡터로 형질전환된 숙주 세포가 제공된다. 숙주 세포는 원핵생물 세포인 것이 바람직하다. 더 바람직하게는 숙주 세포가 이. 콜리인 것이다. 관련 양태에서, 숙주 세포는 진핵생물 세포이다. 이러한 진핵생물 세포는 원핵생물 세포, 동물 세포, 식물 세포 및 진균류 세포로 이루어진 그룹 중에서 선택되는 것이 바람직하다. 더 바람직하게는 숙주 세포가 CHO 및 COS를 포함하며 이에 국한되지 않는 포유동물 세포; 또는 사카로마이세스 세레비지에와 같은 진균류 세포; 또는 Sf9와 같은 곤충 세포인 것이다.
- [0110] 다른 관점에서, 본 발명은 앞에 개시한 숙주 세포 중 어느 하나를 사람 IL-18에 결합하는 결합 단백질을 생산하기에 충분한 조건 하에 배양 배지에서 배양하는 것을 포함하는, 사람 IL-18에 결합하는 결합 단백질의 생산 방법을 제공한다. 다른 양태로서, 앞에 개시한 방법에 따라 생산된 결합 단백질을 제공한다.
- [0111] 다른 관점에서, 본 발명은 앞에 개시한 결합 단백질 중 어느 하나를 포함하고, 이 결합 단백질이 결정으로서 존재하는 것이 특징인 결정화된 결합 단백질을 제공한다. 결정은 무담체성 약제학적 조절 방출 결정인 것이 바람직하다. 일 양태에서, 결정으로서 존재하는 결합 단백질은 이에 대응하는 용해성 결합 단백질보다 반감기가 더 길다. 다른 양태에서, 이 결합 단백질은 결정화 후 생물학적 활성을 그대로 보유하는 것이다.
- [0112] 일 양태로서, 본 발명은 앞에 개시한 결정화된 결합 단백질 및 성분을 포함하는 제제; 및 적어도 하나의 중합체 담체를 포함하는, 결합 단백질 방출용 조성물을 제공한다. 중합체 담체는 폴리(아크릴산), 폴리(시아노아크릴레이트), 폴리(아미노산), 폴리(무수물), 폴리(펩타이드), 폴리(에스테르), 폴리(락트산), 폴리(락트-코-글리콜산) 또는 PLGA, 폴리(b-하이드록시부티레이트), 폴리(카프롤락톤), 폴리(디옥사논), 폴리(에틸렌 글리콜), 폴리(하이드록시프로필)메타크릴아미드, 폴리[(유기)포스파젠], 폴리(오르토 에스테르), 폴리(비닐 알콜), 폴리(비닐피롤리돈), 말레산 무수물-알킬 비닐 에테르 공중합체, 플루론산 폴리올, 알부민, 알기네이트, 셀룰로스 및 셀룰로스 유도체, 콜라겐, 피브린, 젤라틴, 하이알루론산, 올리고사카라이드, 글리카미노글리칸, 황화된 폴리사카라이드, 이의 배합물 및 공중합체로 이루어진 그룹 중 하나 이상에서 선택된 중합체인 것이 바람직하다. 성분은 알부민, 슈크로스, 트레할로스, 락티톨, 젤라틴, 하이드록시프로필- β -시클로덱스트린, 메톡시폴리에틸렌 글리콜 및 폴리에틸렌 글리콜로 이루어진 그룹 중에서 선택되는 것이 바람직하다. 또 다른 양태는 앞에 개시한 조성물의 유효량을 포유동물에게 투여하는 단계를 포함하는 포유동물의 치료 방법을 제공한다.
- [0113] 다른 관점에서, 본 발명은 IL-18 폴리펩타이드 또는 IL-18 조절인자를 제공하는 단계; 및 상기 폴리펩타이드 또는 조절인자를 세포와 접촉시키는 단계를 포함하여, 당해 목적하는 유전자의 유전자 발현을 조절하는 방법으로, 상기 당해 목적하는 유전자가 하기 진뱅크 번호의 유전자들로 이루어진 그룹 중에서 선택되는 것이 특징인 방법을 제공한다:

NM_000389, NM_002198, NM_002163, NM_006144, NM_006515, NM_007185, NM_002288,
 NM_003661, NM_021958, NM_001335, Hs.382006, NM_020125, NM_007210, NM_021798,
 NM_013324, M11313, D88152, NM_001103, U37519, NM_000697, J03600,
 NM_014578, S66793, U47054, L19871, M81181, NM_001188, U15460,
 NM_014417, Z23115, NM_001713, U45878, U37546, U72649, U49187,
 J03507, U50360, XM_071866, NM_005623, Z32765, Z11697, XM_071866,
 U51096, M83667, D87469, L07765, U66468, X14830, L29217,
 X15880, NM_001851, M27691, M37435, X13589, X16866, X59131,
 NM_004393, U73328, L19267, U53445, X68277, U48807, NM_001950,
 U87269, M57730, X52541, J04076, X63741, L07077, M62831,
 M60830, U53786, NM_001988, NM_000141, M23668, U60062, NM_000141,
 U49973, U89995, U27326, A28102, M25667, L34357, U19523,
 L01406, U03486, X68285, Z18859, D49958, D43772, AC000099,
 M57731, X53800, M91036, D16583, X64877, X58431, M16937,
 NM_014468, X92814, L19314, M26665, D10995, L41147, M24283,
 S81914, J03171, J00219, NM_000619, NM_000585, U31628, X04500,
 M27492, X01057, M26062, Y00081, Y00787, Z31695, X06256,
 X57206, U20734, NM_014879, D31762, D42038, NM_005551, NM_014846,
 X06182, NM_005551, X07730, M13955, M57710, S83362, NM_002314,
 NM_005569, U49957, U89922, X14008, U59914, D14497, X59727,
 NM_000429, U43944, X72755, NM_021230, NM_005951, X78710, X70991,
 M32011, S77763, M58603, S76638, M69043, U91616, D86425,
 L13740, U44848, U79251, M27288, AF000234, D50640, L20971,
 L10343, U77735, NM_003579, U17034, AB000584, X63131, D11428,
 NM_032940, NM_005035, NM_003579, M18255, L01087, D38128, Y10375,
 D15049, M31166, U59877, NM_003579, U64675, S57153, NM_002903,
 NG_000013, X75042, M83221, NM_000537, U22314, S59049, U70426,
 U22377, U38480, L10338, M23178, M69203, NM_005409, D79206,
 NM_005065, NM_004186, J03764, NM_006802, D89077, NM_003037, M91463,
 D82326, L05568, U96094, X83301, D21267, L31529, M62800,
 NM_021014, Z35093, NM_005816, L25444, M95787, NM_005421, L47345,
 M57732, NM_003205, M96956, U19878, M92357, M59465, X83490,
 U37518, NM_003294, U19261, U78798, S69790, U53476, L15309,
 U78722, X57809, U79249, AB000464, X77744, U79248, A1420129,
 HG2981-HT3127, HG3548-HT3749, HG870-HT870, HG4333-HT4603,
 HG3111-HT3287, HG4593-HT4998, HG961-HT961, HG1877-HT1917,
 HG3115-HT3291, HG4115-HT4385 및 HG3925-HT4195.

[0114]

[0115]

상기 조절인자는 길항제인 것이 바람직하다. 더 바람직하게는, 조절인자가 결합 단백질 또는 중화성 결합 단백질인 것이다.

[0116]

또한, 본 발명은 앞에 개시한 결합 단백질 또는 중화성 결합 단백질 및 약제학적으로 허용되는 담체를 포함하는 약제학적 조성물을 제공한다. 다른 양태에서, 약제학적 조성물은 IL-18 활성이 해로운 질환을 치료하기 위한 다른 추가 치료제를 1종 이상 포함한다. 추가 치료제는 혈관생성 억제제 (항VEGF 항체 또는 VEGF-trap를 포함하며, 이에 국한되는 것은 아니다); 키나제 억제제 (KDR 및 TIE-2 억제제를 포함하며, 이에 국한되는 것은 아니다); 공동자극 분자 차단인자 (항-B7.1, 항-B7.2, CTL4-Ig, 항-CD20을 포함하나, 이에 국한되는 것은 아니다); 접착 분자 차단인자 (항-LFA-1 Ab, 항-E/L 셀렉틴 Ab, 소분자 억제제를 포함하나, 이에 국한되는 것은 아니다); 항사이토킨 항체 또는 이의 기능성 단편 (항-IL-12, 항-TNF; 항-IL-7/사이토킨 수용체 항체를 포함하나, 이에 국한되는 것은 아니다); 메토크세이트; 코르티코스테로이드; 사이클로스포린; 라파마이신; FK506; 및 비스테로이드성 소염제로 이루어진 그룹 중에서 선택되는 것이 바람직하다.

[0117]

다른 관점에서, 본 발명은 사람 IL-18 활성이 억제되도록 앞에 개시한 결합 단백질과 사람 IL-18을 접촉시키는 것을 포함하여, 사람 IL-18 활성을 억제하는 방법을 제공한다. 관련 관점으로서, 본 발명은 사람 대상체 중의 사람 IL-18 활성이 억제되고 치료가 완수되도록 앞에 개시한 결합 단백질을 사람 대상체에게 투여하는 것을 포함하여, IL-18 활성이 해로운 질환을 앓고 있는 사람 대상체의 사람 IL-18 활성을 억제하는 방법을 제공한다. 질환은 류마티스성 관절염, 골관절염, 소아만성관절염, 라임 (Lyme) 관절염, 건선 관절염, 반응 관절염 및 패혈성 관절염, 척추관절염, 전신홍반루푸스, 크론병, 췌양성 결장염, 염증장병, 인슐린 의존 당뇨병, 갑상샘염, 천식, 알레르기병, 건선, 피부염 피부경화증, 이식대수증, 기관 이식 거부 (골수 및 고형 기관 거부를 포함하나, 이에 국한되지 않는다), 기관 이식과 관련된 급성 또는 만성 면역병, 사르코이드증, 죽상경화증, 파중혈관내 응고, 가와사키병, 그레이브스병, 신장증후군, 만성피로증후군, 베게너 육아종증, 헨녹-췌라인 자반증 (Henoch-Schoenlein purpura), 신장의 현미경적 혈관염, 만성 활성 간염, 포도막염, 패혈 쇼크, 독소 쇼크 증후군, 패혈증 증후군, 악액질, 감염성 질병, 기생충병, 후천성 면역결핍 증후군, 급성 횡단 척수염, 헌팅턴씨 무도병, 파킨슨씨병, 알츠하이머병, 졸중 (stroke), 1차담관경화증, 용혈빈혈, 악성암, 심부전증, 심근경색, 애디슨씨병, 산발성, 다선성 결핍 I형 및 다선성 결핍 II형, 슈미트씨 증후군, 성인 (급성) 호흡곤란 증후군, 탈모증, 원형탈모증, 혈청음성 관절증, 관절증, 라이터씨병, 건선관절증, 췌양성결장염관절증, 창자병 윤활막염, 클라미디아, 예르시니아 및 살모넬라 관련 관절증, 척추관절증, 죽상병/동맥경화증, 아토피성 알레르

기, 자가면역수포병, 보통천포창, 낙엽천포창, 유사천포창, 선형 IgA 병, 자가면역 용혈빈혈, 콕스 양성 용혈빈혈, 후천성 악성빈혈, 소아악성빈혈, 근육통성 뇌염/로얄 프리병 (Royal Free Disease), 만성 점막피부칸디다증, 거대세포 동맥염, 1차 경화증 간염, 잠복성 자가면역 간염, 후천성 면역결핍증후군, 후천성 면역결핍 관련병, B형 간염, C형 간염, 공동가변성면역결핍 (공동가변성 저감마글로불린혈증), 확장성 심근증, 여성 불임, 난소부전, 조기 난소부전, 섬유소성 폐병, 잠복성 섬유화 폐포염, 염증후 간질성 폐병, 간질성 폐렴, 결합조직병 관련 간질성 폐병, 복합 결합조직병 관련 폐병, 전신 경화증 관련 간질성 폐병, 류마티스성 관절염 관련 간질성 폐병, 전신홍반루푸스 관련 폐병, 피부근육염/다발근육염 관련 폐병, 쇼그렌병 관련 폐병, 강직척추염 관련 폐병, 혈관염성 광범위 폐병, 혈철소증 관련 폐병, 약물 유도 간질성 폐병, 방사선 섬유증, 폐쇄세기관지염, 만성 호산구성 폐렴, 림프구성 침윤 폐병, 감염후 간질성 폐병, 통풍 관절염, 자가면역 간염, 1형 자가면역 간염 (전형적 자가면역 또는 루푸스 간염), 2형 자가면역 간염 (항LKM 항체 간염), 자가면역 매개 저혈당증, 흑색가시세포증 관련 B형 인슐린 내성, 부갑상샘저하증, 기관 이식 관련 급성 면역 질환, 기관 이식 관련 만성 면역 질환, 골관절염, 1차경화담관염, 건선 1형, 건선 2형, 특발성 백혈구감소증, 자가면역 호중구 감소증, 신장병 NOS, 사구체신염, 신장의 현미경적 혈관염, 라임병, 원반형 홍반루푸스, 특발성 또는 NOS 남성 불임, 정자 자가면역성, 다발성 경화증 (모든 서브타입), 교감 눈염증, 결합조직 질환에 부차적인 폐 고혈압, 굿파스처 증후군, 결절다발동맥염의 폐동맥 징후, 급성 류마티스열, 류마티스성 척추염, 스틸스병, 전신 경화증, 쇼그렌 증후군, 다카야스씨병/동맥염, 자가면역 저혈소판증, 특발성 저혈소판증, 자가면역 갑상샘 질환, 갑상샘항진증, 자가면역 갑상샘저하증 (하시모토씨병), 위축 자가면역 갑상샘저하증, 1차 점액부종, 수정체성 포도막염, 일차 혈관염, 백반증, 급성 간질환, 만성 간질환, 알콜간경화증, 알콜 유도 간 손상, 담즙정체증, 특이 간질환, 약물 유도 간염, 비알콜성 지방간염, 알레르기 및 천식, 그룹 B 스트렙토코커스 (GBS) 감염, 정신 질환 (예, 우울증 및 정신분열병), Th2형 및 Th1형 매개 병, 폐, 유방, 위, 방광, 결장, 췌장, 난소, 전립선 및 직장 암과 조혈계 암 (백혈병 및 림프종)과 같은 암을 포함하는 그룹 중에서 선택되는 것이 바람직하다.

- [0118] 다른 관점에서, 본 발명은 앞에 논의한 바와 같은 제2 약물의 투여 전이나, 동시에 또는 투여 후에 앞에 개시한 결합 단백질 중 어느 하나를 투여하는 단계를 포함하는, IL-18이 해로운 질환을 앓고 있는 환자의 치료 방법을 제공한다.
- [0119] 또 다른 관점에서, 본 발명은 성숙한 사람 IL-18에는 결합할 수 있지만, 사람 IL-18 전구체에는 특이적으로 결합하지 않으며, 사람 항체, 키메라 항체, 사람화된 항체 및 CDR 접목 항체로 이루어진 그룹 중에서 선택되는 것이 특징인 중화성 결합 단백질을 제공한다.
- [0120] 다른 관점에서, 본 발명은 사람 IL-18에 결합하기 위해 125-2H 항체와 경쟁할 수 있고, 사람 항체; 키메라 항체; 사람화된 항체 및 CDR 접목 항체로 이루어진 그룹 중에서 선택되는 것이 특징인 중화성 결합 단백질을 제공한다.
- [0121] 또 다른 관점에서, 본 발명은 사람 IL-18에 결합하기 위해 125-2H 항체와 경쟁할 수 없고, 사람 항체; 키메라 항체; 사람화된 항체 및 CDR 접목 항체로 이루어진 그룹 중에서 선택되는 것이 특징인 중화성 결합 단백질을 제공한다.
- [0122] 또 다른 관점에서, 본 발명은 사람 IL-18에 결합하기 위해 2.5(E)mg1 항체 및 IL-18BP로 이루어진 그룹 중에서 선택되는 결합 단백질과 경쟁할 수 없고, 사람 항체; 키메라 항체; 사람화된 항체 및 CDR 접목 항체로 이루어진 그룹 중에서 선택되는 것이 특징인 중화성 결합 단백질을 제공한다.
- [0123] 바람직한 양태에서, 결합 단백질은 성숙 사람 IL-18에는 결합할 수 있으나, 사람 IL-18 전구체에는 특이적으로 결합하지 않는다. 또 다른 양태에서, 결합 단백질은 사람 IL-18에 결합하기 위해 125-2H 항체와 경쟁할 수 있다. 다른 양태에서, 결합 단백질은 사람 IL-18에 결합하기 위한 125-2H 항체와 경쟁할 수 없다. 또 다른 양태에서, 결합 단백질은 사람 IL-18에 결합하기 위한 2.5(E)mg1 항체 및 IL-18BP로 이루어진 그룹 중에서 선택되는 결합 단백질과 경쟁할 수 없다.
- [0124] 바람직한 양태에서, 결합 단백질은 서열 번호 9의 아미노산 서열을 포함하는 V_L 도메인과 서열 번호 8의 아미노산 서열을 포함하는 V_H 도메인을 포함하는 것이다.
- [0125] 다른 양태에서, 결합 단백질은 서열 번호 2 및 서열 번호 3으로 이루어진 그룹 중에서 선택되는 아미노산 서열을 갖는 Ig 불변 중쇄 영역; 서열 번호 4 및 서열 번호 5로 이루어진 그룹 중에서 선택되는 아미노산 서열을 갖는 Ig 불변 경쇄 영역; 서열 번호 8의 아미노산 서열을 갖는 Ig 가변 중쇄 영역; 및 서열 번호 9의 아미노산 서열을 갖는 Ig 가변 경쇄 영역을 포함한다.

[0126] 다른 양태에서, 결합 단백질은 서열 번호 3의 아미노산 서열을 갖는 Ig 불변 중쇄 영역; 서열 번호 4의 아미노산 서열을 갖는 Ig 불변 경쇄 영역; 서열 번호 8의 아미노산 서열을 갖는 Ig 가변 중쇄 영역; 및 서열 번호 9의 아미노산 서열을 갖는 Ig 가변 경쇄 영역을 포함한다.

[0127]

발명의 내용

[0128] 본 발명은 IL-18 결합 단백질, 구체적으로 항-IL-18 항체 또는 이에 결합하는 항원 결합부를 제공한다. 본 발명의 다양한 관점은 항체 및 항체 단편, 이의 약제학적 조성물, 이러한 항체 및 단편을 제조하는 핵산, 재조합 발현 벡터 및 숙주 세포에 관한 것이다. 또한, 사람 IL-18을 검출하고, 시험관내 또는 생체내에서 사람 IL-18 활성을 억제하며, 유전자 발현을 조절하기 위해 본 발명의 항체를 사용하는 방법도 본 발명에 포함된다. 또한, 본 발명은 절두형 IL-18을 포함한다. 이와 관련된 관점으로서, 본 발명은 절두형 IL-18을 제조하는 핵산, 재조합 발현 벡터 및 숙주 세포도 포함한다.

[0129] 본 명세서에서 다른 표시가 없는 한, 본 발명과 관련하여 사용된 과학 및 기술적 용어들은 당업자가 통상적으로 이해되는 의미를 갖는다. 또한, 정황상 다른 필요가 없는 한, 용어의 단수적 표현은 복수도 포함하며, 복수적 표현은 단수도 포함하는 것이다. 본 명세서에서, "또는"은 다른 표시가 없는 한 "및/또는"을 의미한다. 또한, "포함하는" 및 이러한 유형어, 예컨대 "포함한다" 및 "포함한" 등은 제한적 의미가 아니다. 또한, "요소" 또는 "성분" 등의 용어도 다른 구체적 표현이 없는 한, 1 유닛을 포함하는 요소 및 성분은 물론 1 이상의 서브유닛을 포함하는 요소 및 성분들도 포함한다.

[0130] 일반적으로, 본 명세서에 기술된 세포 및 조직 배양, 분자 생물학, 면역학, 미생물학, 유전학 및 단백질과 핵산 화학 및 하이브리드화 등과 관련하여 사용된 용어들은 당업계에 공지되어 있는 통상적으로 사용되는 것이다. 본 발명의 방법 및 기술은 당업계에 공지되고, 다른 표시가 없는 한 본 명세서 전체에서 인용되고 논의된 각종 일반 서적 및 구체적인 문헌들에 기술된 바와 같은 통상의 방법에 따라 일반적으로 수행된다. 효소 반응 및 정제 기술은 당업계에서 공통적으로 수행되거나 본 명세서에 기술된 바와 같이 제조자의 지침에 따라 수행한다. 본 명세서에 기술된 분석 화학, 합성 유기 화학 및 의학 및 약제 화학과 관련하여 사용된 용어 및 그 실험 절차 및 기술은 당업계에 공지되어 일반적으로 사용되는 것이다. 화학 합성, 화학 분석, 약제 제조, 배합, 투여 및 환자 치료에 대해서도 표준 기술을 사용한다.

[0131] 본 발명을 더 용이하게 이해할 수 있도록 이하에 사용된 용어들의 정의를 정리했다.

[0132] 본 명세서에 사용된 "폴리펩타이드"란 용어는 아미노산의 임의의 중합체 체를 의미한다. "펩타이드" 및 "단백질"이란 용어는 폴리펩타이드란 용어와 혼용할 수 있는 것으로서, 이 역시 아미노산의 중합체 체를 의미한다. "폴리펩타이드"란 용어는 천연 또는 합성 단백질, 단백질 단편 및 단백질 서열의 폴리펩타이드 유사체를 포함한다. 폴리펩타이드는 단량체 또는 중합체일 수 있다.

[0133] "분리된 단백질" 또는 "분리된 폴리펩타이드"란 용어는 그 기원이나 파생 급원에 따라서 자연 상태일 때 동반되던 자연 관련 성분과 관련되어 있지 않은 단백질 또는 폴리펩타이드이다. 즉, 동일한 종 유래의 다른 단백질이 실질적으로 없고; 다른 종 유래의 세포에 의해서 발현되거나; 자연에서 발생되지 않는 것이다. 즉, 자연적으로 생성하는 세포와 다른 세포 시스템에서 합성되거나 화학적으로 합성된 폴리펩타이드는 이의 자연 관련 성분에서 "분리된" 것이다. 또한, 단백질은 당업계에 공지된 단백질 정제 기술을 사용하여 분리를 통해 자연 관련 성분으로부터 실질적으로 유리될 수도 있다.

[0134] 본 명세서에 사용된 "회수하는"이란 용어는 당업계에 공지된 단백질 정제 기술 등을 사용하여 분리에 의해 자연 관련 성분이 실질적으로 제거된 폴리펩타이드와 같은 화학종을 제공하는 과정을 의미한다.

[0135] 본 명세서에 사용된 "IL-18"이란 용어는 염증 촉진 사이토카인이고 인터페론 감마를 유도하는 능력 외에 다양한 기능을 나타내며 인터페론 감마 유도 인자 (IGIF)로도 알려져 있는 사이토카인을 의미한다. "hIL-18"이란 용어와도 혼용하여 사용된 "사람 IL-18"이란 용어는 서열 번호 1의 폴리펩타이드 및 이의 단편, 예컨대 사람 IL-18 전구체, 성숙 사람 IL-18 및 본 명세서에 기술된 바와 같은 IL-18의 생물학적 활성을 보유하는 임의의 절두형 사람 IL-18을 포함한다. 본 명세서에 사용된 "사람 IL-18 전구체"이란 용어는 서열 번호 1의 폴리펩타이드를 의미한다. 본 명세서에 사용된 "성숙 사람 IL-18"이란 용어는 서열 번호 1의 잔기 37-193을 의미하고, 본 명세서에 사용된 "절두형 사람 IL-18"이란 용어는 서열 번호 1의 잔기 59-193을 의미한다. IL-18 및 이의 단편을 생물학적으로 활성인 것이 바람직하다. 본 명세서에 사용된 "재조합 사람 IL-18" 또는 "rhIL-18"이란 용어는 재조합

DNA 기술을 사용하여 시험관내에서 생산된 사람 IL-18을 의미한다.

[0136] 본 명세서에 사용된 "IL-18의 생물학적 활성"은 사이토킨 IL-18의 모든 고유 생물학적 성질을 의미한다. IL-18의 생물학적 성질에는 IL-18 수용체에 대한 결합성; Th1 및 Tc1 세포의 성숙 및 활성화 촉진; 여러 세포 유형에 의한 TNF, IFN γ 및 IL-1 β 와 같은 사이토킨의 생산 촉진, 마크로파아지의 TNF, 및 IFN γ 와 같은 사이토킨 방출 촉진 및 NO 생산 촉진; NK세포로부터의 FasL 발현, 세포독성 및 사이토킨 방출 (IFN γ) 촉진; 호중구에서 사이토킨/케모킨 방출, 호흡 터짐, 과립 방출, 집착 분자 발현의 촉진; 내피세포 이동 촉진에 의한 혈관형성 촉진; 연골세포에서 GAG 방출 MMP 및 NO 생산 촉진; 일부 세포에서 COX2 발현 촉진; 및 일부 세포에서 세포 증식 감소 등이 있으나, 이에 국한되지 않는다.

[0137] 항체, 단백질 또는 펩타이드의 제2 화학종과의 상호작용과 관련하여 본 명세서에 사용된 "특이적 결합" 또는 "특이적으로 결합하는"이란 용어는 그 상호작용이 화학종 상의 특정 구조 (예컨대, 항원 결정인자 또는 에피토프)의 존재에 따라 이루어진다는 것을 의미한다. 예컨대, 항체는 일반적으로 단백질보다는 특정 단백질 구조를 인식하여 여기에 결합한다. 항체가 에피토프 "A"에 특이적이라면, 표지된 "A"와 항체를 포함하는 반응에서 에피토프 A (또는 미표지 A)를 포함하는 분자의 존재는 항체에 결합된 표지된 A의 양을 감소시킬 것이다.

[0138] 본 명세서에 사용된 "항체"란 용어는 4개의 폴리펩타이드 쇠, 즉 2개의 중쇄 (H)와 2개의 경쇄 (L)로 구성된 임의의 면역글로불린 (Ig) 분자 또는 이러한 Ig 분자의 필수적인 에피토프 결합 특징을 갖는 임의의 기능성 단편, 돌연변이체, 변형체 또는 유도체를 의미한다. 이러한 돌연변이체, 변형체 또는 유도체 항체형은 당업계에 공지되어 있다. 이의 구체예에 대해서는 이하에 논의되나, 이에 국한되지는 않는다.

[0139] 완전한 항체에서, 각 중쇄는 중쇄 가변 영역 (본 명세서에서 약어로 HCVR 또는 VH로 표시됨)과 중쇄 불변 영역으로 구성된다. 중쇄 불변 영역은 3개의 도메인, CH1, CH2 및 CH3으로 구성된다. 각 경쇄는 경쇄 가변 영역 (본 명세서에서 약어로 LCVR 또는 VL로 표시됨)과 경쇄 불변 영역으로 구성된다. 경쇄 불변 영역은 1개 도메인, CL로 구성된다. VH 및 VL 영역은 다시 상보성 결정 영역 (CDR)이라 불리는 초가변성 영역들로 나뉠 수 있고, 여기에는 프레임워크 영역 (FR)이라는 더 보존적인 영역들이 산재되어 있다. 각 VH 및 VL은 3개의 CDR 및 4개의 FR로 구성되며, 이들은 아미노 말단에서 카르복시 말단으로 다음과 같은 순서에 따라 배열된다: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4.

[0140] 본 명세서에 사용된 항체의 "항원 결합부" (또는 간단히 "항체부")란 용어는 항원 (예, hIL-18)에 대한 특이적 결합능을 갖는 1 이상의 항체 단편을 의미한다. 항체의 항원 결합 기능은 완전한 항체의 단편에 의해 수행될 수 있는 것으로 밝혀져 있다. 이러한 항체 양태들은 또한 쌍특이, 이중특이 또는 다중특이 형일 수 있으며, 즉 2개 이상의 다른 항원에 특이적으로 결합할 수 있다. 항체의 "항원 결합부"라는 용어에 포함되는 결합 단편의 예에는 (i) VL, VH, CL 및 CH1 도메인으로 이루어진 일가 단편인 Fab 단편; (ii) 2개의 Fab 단편이 힌지(hinge) 영역에서 이황화 가교에 의해 결합되어 있는 2가 단편인 F(ab')₂ 단편; (iii) VH 및 CH1 도메인으로 이루어진 Fd 단편; (iv) 항체 한쪽 아암의 VL 및 VH 도메인으로 이루어진 Fv 단편; (v) 하나의 가변 도메인을 포함하는 dAb 단편(Ward et al., (1989) Nature 341: 544-546); 및 (vi) 분리된 상보성 결정 영역(CDR)을 포함한다. 또한, Fv 단편의 두 도메인, VL 및 VH는 다른 유전자에 의해 암호화되지만, VL 및 VH 영역이 쌍을 이루어 일가 분자(단일 쇠 Fv(scFv)로 알려진 것; 예컨대 Bird et al. (1998) Science 242: 423-426; 및 Huston et al. (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883)를 형성하고 있는 단일 단백질 쇠로서 제조될 수 있게 하는 합성 링커를 이용하여 VL 및 VH 영역은 재조합법으로 결합될 수 있다. 이러한 단일쇄 항체는 항체의 "항원 결합부"라는 용어에도 포함되는 것으로도 간주된다. 단일쇄 항체의 다른 형태, 예컨대 디아바디 (diabody)도 포함된다. 디아바디는 단일쇄 폴리펩타이드에서 VH 및 VL 도메인이 발현되지만, 동일 쇠 상의 두 도메인 사이에 쌍 형성을 허용하기에는 너무 짧은 링커를 사용하여 상기 도메인들이 다른 쇠의 상보성 도메인과 쌍을 이루어 2개의 항원 결합 부위를 생성하는 2가의 쌍특이 항체이다 (예컨대, Holliger, P., et al. (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 6444-6448; Poljak, R.J., et al. (1994) Structure 2: 1121-1123). 이러한 항체 결합부는 당업계에 공지되어 있다 (Kontermann and Dubel eds., Antibody Engineering (2001) Springer-Verlag, New York, 790 pp. (ISBN 3-540-41354-5)).

[0141] 또 다른 항체 또는 이의 항원 결합부는 항체 또는 항체 일부와 하나 이상의 다른 단백질 또는 펩타이드의 공유 또는 비공유 결합에 의해 형성된, 큰 면역접착 분자의 일부일 수 있다. 이러한 면역접착 분자의 예에는 4량체 scFv 분자를 만들기 위한 스트랩타비딘 코어 영역의 사용 (Kipriyanov, S.M., et al. (1995) Human Antibodies and Hybridomas 6:93-101) 및 2가 비오틴화된 scFv 분자를 만들기 위한 시스템인 잔기, 마커 펩타이드 및 C-말단 폴리히스티딘 태그의 사용 (Kipriyanov, S.M., et al. (1994) Mol. Immunol. 1:1047-1058)이 포함된다.

Fab 및 F(ab')₂ 단편과 같은 항체 일부는 완전한 항체의 파파인 또는 펩신 분해와 같은 통상의 기술로 완전한 항체로부터 각각 제조될 수 있다. 또한, 항체, 항체 일부 및 면역접착 분자는 본 명세서에 기술된 바와 같은 표준 제조법 DNA법으로 수득할 수 있다.

[0142] 본 명세서에 사용된 바와 같은 "분리된 항체"는 다른 항원 특이성을 가진 다른 항체가 실질적으로 없는 항체 (예컨대, hIL-18 이외의 다른 항원에 특이적으로 결합하는 항체가 실질적으로 없는, hIL-18에 특이적으로 결합하는 분리된 항체)를 의미하는 것으로 간주한다. 하지만, hIL-18에 특이적으로 결합하는 분리된 항체는 다른 중 유래의 IL-18 분자와 같은 다른 항원에 대해 교차반응성이 있을 수 있다. 더욱이, 분리된 항체는 다른 세포 물질 및/또는 화학물질이 실질적으로 없는 것일 수 있다.

[0143] 본 명세서에 사용된 바와 같은 "사람 항체"란 용어는 사람 생식계열 면역글로불린 서열 유래의 가변 영역과 불변 영역을 보유한 항체를 포함하는 것으로 간주한다. 본 발명의 사람 항체는 예컨대 CDR에, 구체적으로 CDR3에 사람 생식계열 면역글로불린 서열에 의해 암호화된 것이 아닌 아미노산 잔기를 포함할 수 있다 (예컨대, 시험관 내 랜덤 또는 부위 특이적 돌연변이유발 또는 생체내 체세포 돌연변이를 통해 도입된 돌연변이). 하지만, 본 명세서에 사용된 바와 같은 "사람 항체"란 용어는 마우스와 같은 다른 포유동물 종의 생식계열 유래의 CDR 서열을 사람의 프레임워크 서열 위에 접목시킨 항체를 포함하는 것으로 간주되어서는 안 된다.

[0144] 본 명세서에 사용된 "제조합 사람 항체"란 용어는 제조합체 방식에 의해 제조, 발현, 창조 또는 분리된 모든 사람 항체, 예컨대 숙주 세포에 형질감염된 제조합 발현 벡터에 의해 발현된 항체 (이하, 섹션 II C에 상세히 설명됨), 제조합, 조합 사람 항체 라이브러리로부터 분리된 항체 (Hoogenboom H. R., (1997) Tech. 15: 62-70; Azzazy H., and W. E., (2002) Clin. 35: 425-445; Gavilondo J. V., and Larrick J. W. (2002) BioTechniques 29: 128-145; Hoogenboom H., and Chames P.(2000) Immunology Today 21: 371-378), 사람 면역글로불린 유전자에 대해 유전자 전이성인 동물(예, 마우스)로부터 분리된 항체(예컨대, Taylor, L. D., et al. (1992) Nucl. Acids Res. 20: 6287-6295; Kellermann S-A., and Green L.L.(2002) Current Opinion in Biotechnology 13: 593-597; Little M. et al (2000) Immunology Today 21: 364-370) 또는 다른 DNA 서열과 사람 면역글로불린 유전자 서열의 접목을 포함하는 임의의 다른 방식에 의해 제조, 발현, 창조 또는 분리된 항체를 포함하는 것으로 간주한다. 이러한 제조합 사람 항체는 사람 생식계열 면역글로불린 서열 유래의 가변 영역 및 불변 영역을 보유한다. 하지만, 특정 양태에서 이러한 제조합 사람 항체는 시험관내 돌연변이유발 (또는, 사람 Ig 서열에 대해 유전자 전이성 동물 서열이 사용될 때에는 생체내 체세포 돌연변이유발)로 처리되어, 제조합 항체의 VH 및 VL 영역의 아미노산 서열이 사람 생식계열 VH 및 VL 서열에서 유래하고 관련이 있지만, 생체내 사람 항체 생식계열 목록에는 본래 존재하지 않을 수 있는 서열이다.

[0145] "키메라 항체"란 용어는 한 종 유래의 중쇄 및 경쇄 가변 영역 서열과 다른 종 유래의 불변 영역 서열을 포함하는 항체, 예컨대 쥐의 중쇄 및 경쇄 가변 영역이 사람 불변 영역에 결합된 항체를 의미한다.

[0146] "CDR 접목 항체"란 용어는 한 종에서 유래되는 중쇄 및 경쇄 가변 영역 서열을 포함하지만, V_H 및/또는 V_L의 하나 이상의 CDR 영역의 서열들이 다른 종의 CDR 서열로 교체된 항체를 의미하는 것으로서, 예컨대 쥐의 CDR의 하나 이상 (예컨대, CDR3)이 사람 CDR 서열로 교체된 쥐의 중쇄 및 경쇄 가변 영역을 보유한 항체가 있다.

[0147] "사람화된 항체"란 용어는 사람을 제외한 종 (예컨대, 마우스) 유래의 중쇄 및 경쇄 가변 영역 서열을 포함하지만 VH 및/또는 VL 서열의 적어도 일부가 더 "사람다운", 즉 사람 생식계열 가변 서열과 더 유사한 서열로 변경된 항체를 의미한다. 사람화된 항체의 일 형태는 사람 CDR 서열이 대응하는 비사람 CDR 서열을 대신하기 위하여 비사람 VH 및 VL 서열로 도입된 CDR 접목 항체이다.

[0148] 본 명세서에 사용된 "hIL-18 중화성 결합 단백질"이란 용어는 hIL-18에 특이적으로 결합하고, hIL-18의 생물학적 활성을 중화시키는 단백질을 의미한다. 중화성 결합 단백질은 hIL-18에 대한 결합으로 hIL-18의 생물학적 활성이 억제되는 중화성 항체인 것이 바람직하다. 중화성 결합 단백질은 hIL-18에 결합하여 IL-18의 생물학적 활성을 적어도 약 20%, 40%, 60%, 80%, 85% 이상 감소시키는 것이 바람직하다. 이러한 중화성 결합 단백질에 의한 hIL-18의 생물학적 활성의 억제는 hIL-18 생물학적 활성의 하나 이상의 지표인자 (indicator)를 측정하여 평가할 수 있다. 이러한 hIL-18 생물학적 활성의 지표인자는 당업계에 공지된 여러 가지 표준 시험관내 또는 생체내 분석법 중 하나 이상으로 평가할 수 있다.

[0149] "에피토프"란 용어는 면역글로불린 또는 T-세포 수용체에 특이적 결합이 가능한 임의의 폴리펩타이드 결정인자를 포함한다. 특정 양태에서, 에피토프 결정인자에는 아미노산, 당 측쇄, 포스포릴 또는 설포닐과 같은 분자의 화학적 활성 표면기가 포함되고, 다른 특정 양태에서는 특이적인 입체 구조 특징, 및/또는 특이적 하전 특징을

갖는 것일 수 있다. 에피토프는 항체에 의해 결합되는 항원의 일 영역이다. 특정 양태에서, 항체는 단백질 및/또는 거대분자의 복합 혼합물에서 자신의 표적 항원을 우선적으로 인식할 때 항원에 특이적으로 결합한다고 한다.

[0150] 본 명세서에 사용된 "표면 플라즈몬 공명"이란 용어는 BIAcore 시스템 (Pharmacia Biosensor AB, Uppsala, Sweden and Piscataway, NJ) 등을 이용하여 바이오센서 매트릭스 내의 단백질 농도의 변경을 검출하여 생체특이적 상호작용을 실시간 분석할 수 있는 광학 현상을 의미한다. 이에 대한 상세한 설명은 문헌[Jonsson, U., et al. (1993) *Ann. Biol. Clin.* 51: 19-26; Jonsson, U., et al. (1991) *Biotechniques* 11: 620-627; Johnsson, B., et al. (1995) *J. Mol. Recognit.* 8: 125-131; 및 Johnson, B., et al. (1991) *Anal. Biochem.* 198: 268-277]에 기술되어 있다.

[0151] 본 명세서에 사용된 " K_{on} "이란 용어는 당업계에 공지된 바와 같이 항체/항원 복합체를 형성하기 위한 항원에 대한 항체의 결합을 나타내는 결합률 상수(on rate constant)를 의미하는 것으로 간주한다.

[0152] 본 명세서에 사용된 " K_{off} "란 용어는 당업계에 공지된 바와 같이 항체/항원 복합체로부터 항체의 해리를 나타내는 해리율 상수(off rate constant)를 의미하는 것으로 간주한다.

[0153] 본 명세서에 사용된 " K_d "란 용어는 당업계에 공지된 바와 같은 특정 항체-항원 상호작용의 해리 상수를 의미하는 것으로 간주한다.

[0154] 본 명세서에 사용된 "표지된 결합 단백질"이란 용어는 결합 단백질을 식별할 수 있게 하는 표지(label)가 혼입되어 있는 단백질을 의미한다. 표지는 검출성 마커, 예컨대 방사성동위원소 아미노산의 혼입 또는 표식된 아비딘에 의해 검출될 수 있는 비오틴 잔기(예컨대, 광학 또는 비색법으로 검출할 수 있는 형광 마커 또는 효소 활성을 포함하는 스트렙타비딘)의 폴리펩타이드에 대한 부착인 것이 바람직하다. 폴리펩타이드에 대한 표지의 예에는 다음과 같은 것이 있으나, 이에 국한되지 않는다: 방사성동위원소 또는 방사선택종(예, ^3H , ^{14}C , ^{35}S , ^{90}Y , ^{99}Tc , ^{111}In , ^{125}I , ^{131}I , ^{177}Lu , ^{166}Ho 또는 ^{153}Sm), 형광 표지(예: FITC, 로다민, 란타네 포스포르), 효소 표지(예, 양고추냉이 퍼옥시다제, 루시페라제, 알칼리성 포스포타제); 화학발광 마커; 비오틴 기; 2차 리포터(예컨대, 류신 지퍼 쌍 서열, 2차 항체에 대한 결합 부위, 금속 결합 도메인, 에피토프 태그)에 의해 인식되는 소정의 폴리펩타이드 에피토프; 및 자성 제제, 예컨대 가돌리늄 킬레이트.

[0155] "접합 결합 단백질"이란 용어는 제2 화학 잔기, 예컨대 치료제 또는 세포독성제에 화학적으로 결합된 결합 단백질을 의미한다. 본 명세서에 사용된 "제제"라는 용어는 화학적 화합물, 화학적 화합물의 혼합물, 생물학적 거대분자 또는 생물학적 물질로부터 제조된 추출물을 의미한다. 바람직하게는, 치료제 또는 세포독성제는 백일해 독소, 탁솔, 시토크알신 B, 그라미시딘 D, 에티디움 브로마이드, 에메틴, 미토마이신, 에토포사이드, 테노포사이드, 빈크리스틴, 빈블라스틴, 콜히친, 독소루비신, 다우노루비신, 디하이드록시 안트라신 디온, 미토코산트론, 미트라마이신, 액티노마이신 D, 1-데하이드로테스토스테론, 글루코코르티코이드, 프로카인, 테트라카인, 리도카인, 프로프라놀롤 및 퓨로마이신 및 이의 유사체 또는 동족체가 포함되나, 이에 국한되지 않는다.

[0156] 본 명세서에 사용된 "결정화된 결합단백질"이란 용어는 결정 형태로 존재하는 폴리펩타이드를 의미한다. 결정은 고체 상태의 물질의 일 형태로서, 무정형 고체 상태 또는 액정 상태와 같은 다른 형태와 상이하다. 결정은 원자, 이온, 분자(예, 항체와 같은 단백질) 또는 분자 어셈블리(예, 항원/항체 복합체)의 규칙적이고 반복적인 입체 배열로 구성된다. 이러한 입체 배열은 당업계에 공지된 특이적인 수학적 관계에 따라 배열된다. 결정 중에서 반복되는 기본 유닛 또는 빌딩 블록은 비대칭 유닛이라 한다. 배열내 비대칭 유닛의 반복은 분명한 소정의 결정학적 대칭과 일치하게 하여 결정의 "유닛 셀"을 제공한다. 모든 3차원에서 규칙적 해독에 의한 유닛 셀의 반복은 결정을 제공한다[Giege, R. and Ducruix, A. Barrett, *Crystallization of Nucleic Acids and Proteins, a Practical Approach*, 2nd ea., pp. 20 1-16, Oxford University Press, New York, New York (1999)].

[0157] 본 명세서에 사용된 "폴리뉴클레오타이드"란 용어는 2개 이상의 뉴클레오타이드의 중합체 형태를 의미하는 것으로서, 리보뉴클레오타이드이거나 데옥시리보뉴클레오타이드 또는 어느 한 뉴클레오타이드의 변형된 형태를 의미한다. 이 용어에는 일본쇄 및 이분쇄 형태의 DNA가 포함되지만, 이분쇄 DNA인 것이 바람직하다.

[0158] 본 명세서에 사용된 "분리된 폴리뉴클레오타이드"란 용어는 폴리뉴클레오타이드(예컨대, 게놈, cDNA 또는 합성 기원 또는 이의 일부 조합)를 의미하는데, 그 기원에 따라서, "분리된 폴리뉴클레오타이드"는 자연에서 발견되

는 "분리된 폴리뉴클레오타이드"의 폴리뉴클레오타이드 전부 또는 일부와 관련되어 있지 않거나, 자연에서는 결합되지 않았던 폴리뉴클레오타이드에 작동적으로 결합되거나; 또는 더 큰 서열의 일부로서 자연에서 발생되지 않는 폴리뉴클레오타이드이다.

[0159] 본 명세서에 사용된 "벡터"라는 용어는 결합된 다른 핵산을 수송할 수 있는 핵산 분자를 의미하는 것으로 간주한다. 벡터의 한가지 형태는 추가 DNA 분절이 연결될 수 있는 원형의 이분체 DNA 루프를 의미하는 "플라스미드"이다. 다른 형태의 벡터는 추가 DNA 분절이 바이러스 게놈에 연결될 수 있는 바이러스 벡터이다. 특정 벡터는 도입된 숙주 세포에서 자율 복제할 수 있다 (예컨대, 세균 복제 오리진을 보유한 세균 벡터 및 에피솜성 포유동물 벡터). 다른 벡터 (예컨대, 비에피솜성 포유동물 벡터)는 숙주 세포에 도입 시 숙주 세포의 게놈으로 통합될 수 있고, 이로써 숙주 게놈에 따라 복제된다. 더욱이, 특정 벡터는 작동적으로 결합된 유전자의 발현을 유도할 수 있다. 이러한 벡터는 본 명세서에서 "재조합 발현 벡터" (또는 간단히 "발현 벡터")라 한다. 일반적으로 재조합 DNA법에 유용한 발현 벡터는 흔히 플라스미드 형태이다. 따라서, 본 명세서에 사용된 "플라스미드" 및 "벡터"는 플라스미드가 벡터의 가장 일반적으로 사용되는 형태이기 때문에 대체될 수 있다. 하지만, 본 발명은 등가 기능을 하는 바이러스 벡터와 같은 다른 형태의 발현 벡터도 포함한다.

[0160] "작동적으로 결합된"이란 용어는 기술된 성분이 의도한 방식대로 기능할 수 있는 관계에 있는 병치 상태를 의미한다. 암호 서열에 "작동적으로 결합된" 조절 서열은 암호 서열의 발현이 조절 서열에 적합한 조건 하에서 수행되도록 연결된다. "작동적으로 결합된" 서열에는 당해 유전자에 근접한 발현 조절 서열 번호 및 당해 유전자를 조절하기 위하여 트랜스로 작용하거나 일정 거리에 있는 발현 조절 서열이 포함된다. 본 명세서에 사용된 바와 같은 "발현 조절 서열"이란 용어는 이들이 연결된 암호 서열의 발현과 프로세싱을 수행하는데 필요한 폴리뉴클레오타이드 서열을 의미한다. 발현 조절 서열에는 적당한 전사 개시, 종결, 프로모터 및 인핸서 서열; 접목 및 폴리아데닐화 시그널과 같은 효과적인 RNA 프로세싱 시그널; 세포질 mRNA를 안정화시키는 서열; 해독 효율을 증강시키는 서열 (즉, 코작 보존성 서열); 단백질 안정성을 증강시키는 서열; 필요한 경우 단백질 분비를 증강시키는 서열 번호 등이 포함된다. 이러한 조절 서열의 성질은 숙주 유기체에 따라 다르며, 원핵생물인 경우, 이러한 조절 서열에는 일반적으로 프로모터, 리보솜 결합 부위 및 전사 종결 서열이 있고; 진핵생물인 경우, 이러한 조절 서열에는 프로모터 및 전사 종결 서열이 있다. "조절 서열"이란 용어는 그 존재가 발현 및 프로세싱에 필수적인 성분을 포함하는 것으로 간주하고, 리더 서열 번호 및 융합 파트너 서열과 같이 그 존재가 유리한 추가 성분을 포함할 수도 있다.

[0161] 본 명세서에 정의된 바와 같은 "형질전환"은 외인성 DNA가 숙주 세포로 유입되는 임의의 공정을 의미한다. 형질전환은 당업계에 공지된 다양한 방법을 사용하여 자연 또는 인공 조건 하에서 실시될 수 있다. 형질전환은 이중 핵산 서열을 원핵생물 또는 진핵생물 숙주 세포로 삽입하기 위한 임의의 공지된 방법에 따라 달라질 수 있다. 이러한 방법은 형질전환되는 숙주 세포에 따라 선택되는데, 그 예로는 바이러스 감염, 전기천공, 리포펙션 및 입자 충격이 있으나, 이에 국한되지는 않는다. 이러한 "형질감염된" 세포는 삽입된 DNA가 자율 복제성 플라스미드로서 또는 숙주 염색체의 일부로서 복제할 수 있는 안정적으로 형질감염된 세포를 포함한다. 또한, 이들 세포는 삽입된 DNA 또는 RNA를 한정된 시간 동안 일시적으로 발현하는 세포도 포함한다.

[0162] 본 명세서에 사용된 "재조합 숙주 세포" (또는 간단히 "숙주 세포")란 용어는 외인성 DNA가 도입된 세포를 의미하는 것으로 간주한다. 이러한 용어는 특정 대상체 세포뿐만 아니라 이 세포의 자손도 의미하는 것으로 간주되어야 한다. 후속 세대에는 돌연변이 또는 환경적 영향으로 인해 특정 변형이 일어날 수 있기 때문에, 상기 자손은 사실상 모세포와 동일하지 않지만 본 명세서에 사용된 "숙주 세포"란 용어의 범위에는 포함되는 것으로 간주한다. 숙주 세포는 임의의 생물계에서 선택되는 원핵생물 및 진핵생물 세포를 포함하는 것이 바람직하다. 바람직한 진핵생물 세포에는 원생생물, 진균류, 식물 및 동물 세포가 포함된다. 가장 바람직한 숙주 세포는 원핵생물 세포주 이. 콜리; 포유동물 세포주 CHO 및 COS; 곤충 세포주 Sf9; 및 진균류 세포 사카로마이세스 세레비지애를 포함하며, 이에 국한되지는 않는다.

[0163] 재조합 DNA, 올리고뉴클레오타이드 합성 및 조직 배양과 형질전환 (예, 전기천공, 리포펙션)에는 표준 기술을 사용할 수 있다. 효소 반응과 정제 기술은 제조업자의 지침에 따라 수행하거나 당업계에서 일반적으로 수행하는 바와 같이 또는 본 명세서에 기술된 바와 같이 수행할 수 있다. 상기 기술 및 절차들은 당업계에 공지된 통상의 방법에 따라 또는 본 명세서에서 인용되고 논의된 각종 일반 문헌 및 특정 문헌들에 기술된 바와 같이 일반적으로 수행할 수 있다[본원에 참고인용된 문헌 Sambrook et al. Molecular Cloning: A Laboratory Manual (2d ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1989))].

[0164] 당업계에 공지되고 본 명세서에 사용된 바와 같은 "유전자전이 유기체"란 용어는 전이유전자를 포함하는 세포를

가진 유기체를 의미하는 것으로서, 유기체 (또는 이 유기체의 선조)에 도입된 전이유전자는 유기체에서 자연 발현되지 않는 폴리펩타이드를 발현한다. "전이유전자"는 유전자전이 유기체가 발생하는 세포의 계통으로 안정적이고 작동적으로 통합되어, 유전자전이 유기체의 1 이상의 세포 형태 또는 조직에서 암호화된 유전자 산물의 발현을 유도하는 DNA 작제물이다.

[0165] 본 명세서에 사용된 "조절하다"란 용어는 당해 분자의 활성 (즉, hIL-18의 생물학적 활성)에 있어서 변화 또는 변경을 의미한다. 조절은 당해 분자의 특정 활성 또는 기능의 정도 (magnitude)에 있어서의 증가 또는 감소일 수 있다. 분자 활성 및 기능의 예에는 결합 특징, 효소 활성, 세포 수용체 활성화 및 시그널 전달 등이 있으나, 이에 국한되지는 않는다.

[0166] 이와 마찬가지로, 본 명세서에 사용된 "조절인자"란 용어는 당해 분자의 활성 또는 기능 (즉, hIL-18의 생물학적 활성)을 변화 또는 변경시킬 수 있는 화합물이다. 예를 들어, 조절인자는 이 조절인자의 부재 시 관찰되는 활성 또는 기능의 정도에 비교했을 때 분자의 특정 활성 또는 기능의 정도에 있어서의 증가 또는 감소를 유발할 수 있다. 특정 양태에서, 조절인자는 분자의 1 이상의 활성 또는 기능의 정도를 감소시키는 억제제이다. 억제제의 예에는 단백질, 펩타이드, 항체, 펩티바디 (peptibody), 탄수화물 또는 유기 소분자가 있으나, 이에 국한되지 않는다. 펩티바디는 WO 01/83525 등에 기술되어 있다.

[0167] 본 명세서에 사용된 바와 같은 "효능제 (agonist)"란 용어는 당해 분자와 접촉했을 때 효능제의 부재 시 관찰되는 활성 또는 기능의 정도와 비교했을 때 당해 분자의 특정 활성 또는 기능의 정도에 있어서의 증가를 유발하는 조절인자를 의미한다. 당해 목적하는 효능제의 구체예에는 IL-18 폴리펩타이드 또는 hIL-18에 결합하는 폴리펩타이드, 핵산, 탄수화물 또는 임의의 다른 분자가 포함될 수 있으나, 이에 국한되는 것은 아니다.

[0168] 본 명세서에 사용된 "길항제" 또는 "억제제"란 용어는 당해 분자와 접촉했을 때, 길항제의 부재 시 관찰되는 활성이나 기능의 정도와 비교했을 때 당해 분자의 특정 활성이나 기능의 정도에 있어서의 감소를 유발하는 조절인자를 의미한다. 당해 길항제의 구체예에는 hIL-18의 생물학적 또는 면역학적 활성을 차단 또는 조절하는 물질이 포함된다. hIL-18의 길항제 및 억제제에는 hIL-18에 결합하는 단백질, 핵산, 탄수화물 또는 임의의 다른 분자가 포함되나, 이에 국한되지는 않는다.

[0169] 본 명세서에 사용된 "시료"란 용어는 가장 광범위한 의미로 사용되고 있다. 본 명세서에 사용된 "생물학적 시료"는 생물체 또는 이전 생물체에서 유래하는 임의의 양의 물질을 포함하나, 이에 국한되는 것은 아니다. 이러한 생물체에는 사람, 마우스, 래트, 원숭이, 개, 토끼 및 다른 동물이 있으나, 이에 국한되는 것은 아니다. 상기 물질에는 혈액, 혈청, 요, 윤활액, 세포, 기관, 조직, 골수, 림프절 및 비장이 있으나, 이에 국한되지 않는다.

[0170] 본 명세서에 사용되고, 당업자에게 일반적으로 알려지고 사용되는 바와 같은 "경쟁하다"란 용어는 양 결합 단백질에 공통적인 리간드에 대하여 제1 결합 단백질이 제2 결합 단백질의 결합을 간섭하거나 방해하는 능력을 의미한다 (예, IL-18). 결합 단백질의 경쟁 특성을 측정하는데 유용한 분석법은 당업계에 공지되어 있다. 바람직한 경쟁 분석법은 본 명세서에 설명되어 있다.

[0171] I. 사람 IL-18에 결합하는 사람 항체

[0172] 본 발명의 일 관점은 높은 친화성, 낮은 해리율 및 높은 중화능으로 IL-18에 결합하는 분리된 사람 항체 또는 이의 항원 결합부를 제공한다. 항체 및 이의 일부는 분리된 항체인 것이 바람직하다. 특히, 본 발명의 사람 항체는 중화성 사람 항-IL-18 항체인 것이 바람직하다.

[0173] A. 항-IL-18 항체의 제조방법

[0174] 본 발명의 항체는 당업계에 공지된 다양한 임의의 기술로 제조할 수 있다. 본 발명의 항-IL-18 항체를 제조하는 특히 바람직한 방법에는 XENOMOUSE 유전자 전이 마우스를 사용하는 방법, 항체 제조에 있어서 당업계에 공지된 하이브리도마 및 SLAM 세포 이식 기술 (Abgenix, Inc., 캘리포니아 프리몬트 소재)을 사용하는 방법, 및 실시예 3.2에 기술된 IL-18 펩타이드, 즉 서열 번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 사람 IL-18 및 이의 단편을 포함하는 항원을 사용하는 방법이 있다.

[0175] 본 발명의 일 양태에서, 사람 항체는 사람 면역글로불린 좌의 일부 또는 전부를 포함하는 사람 제외 동물 (이하, 비사람 동물이라 함)을 IL-18 항원으로 면역화시켜 생산한다. 바람직한 양태에서, 비사람 동물은 사람 면역글로부린 좌의 큰 단편을 포함하고 마우스 항체 생산 결손성인 유전자조작된 마우스 균주인 XENOMOUSE 유전자 전이 마우스이다[Green et al. *Nature Genetics* 7: 13-21 (1994) and 미국 특허 5,916,771, 5,939,598,

5,985,615, 5,998,209, 6,075,181, 6,091,001, 6,114,598 및 6,130,364 참조]. 또한, 1991년 7월 25일에 공개된 WO 91/10741, 1994년 2월 3일에 공개된 WO94/02602, 1996년 10월 31일에 공개된 WO 96/34096 및 WO 96/33735, 1998년 4월 23일에 공개된 WO98/16654, 1998년 6월 11일에 공개된 WO 98/24893, 1998년 11월 12일에 공개된 WO 98/50433, 1999년 9월 10일에 공개된 WO 99/45031, 1999년 10월 21일에 공개된 WO 99/53049, 2000년 2월 24일에 공개된 WO 00 09560 및 2000년 6월 29일에 공개된 WO 00/037504도 참조한다. XENOMOUSE 유전자 전이 마우스는 완전하게 사람 항체의 성인계 사람 목록을 생산하고, 항원 특이적인 사람 Mab를 생성한다. XENOMOUSE 유전자 전이 마우스는 사람 중쇄 좌 및 x 경쇄 좌의 메가염기 크기의 생식계열 형태 YAC 단편의 도입을 통해 사람 항체 목록의 약 80%를 포함한다[본원에 참고인용된 Mendez et al., Nature Genetics 15: 146-156 (1997), Green and Jakobovits J. Exp. Med. 188: 483-495 (1998) 참조].

[0176] 또한, 본 발명은 사람 면역글로불린 좌를 포함하는 비사람 유전자전이 동물을 면역화시켜 비사람, 비마우스 동물로부터 항-IL-18 항체를 제조하는 방법도 제공한다. 상기 동물은 바로 앞에서 설명한 방법을 사용하여 생산할 수 있다. 상기 특허들에 개시된 방법들은 미국 특허 5,994,619에 기술된 바와 같이 변형될 수 있다. 바람직한 양태에서, 비사람 동물은 래트, 양, 돼지, 염소, 소 또는 말일 수 있다.

[0177] 다른 양태에서, 사람 면역글로불린 유전자좌를 포함하는 비사람 동물은 사람 면역글로불린의 "미니좌"를 보유한 동물이다. 미니좌 법에서, 외인성 Ig 좌는 Ig 좌에서 유래하는 각 유전자의 혼입을 통해 모방된다. 즉, 1 이상의 V_H 유전자, 1 이상의 D_H 유전자, 1 이상의 J_H 유전자, mu 불변 영역 및 제2 불변 영역 (바람직하게는 감마 불변 영역)이 동물 삽입용 작제물로 제조된다. 이러한 방법은 특히 본원에 참고인용된 미국 특허 5,545,807, 5,545,806, 5,625,825, 5,625,126, 5,633,425, 5,661,016, 5,770,429, 5,789,650, 5,814,318, 5,591,669, 5,612,205, 5,721,367, 5,789,215 및 5,643,763에 설명되어 있다.

[0178] 미니좌법의 장점은 Ig 좌의 일부를 포함하는 작제물이 생산되고 동물에 도입될 수 있는 신속성이다. 하지만, 미니좌법의 잠재된 단점은 면역글로불린 다양성이 B 세포 발생을 완전하게 지지하기에 충분하지 않아서 항체 생산성이 낮을 수 있다는 점이다.

[0179] 사람 항-IL-18 항체를 생산하기 위해서는 사람 면역글로불린좌의 일부 또는 전체를 포함하는 비사람 동물을 IL-18 항원으로 면역화하고, 이 동물로부터 항체 또는 항체 생산 세포를 분리한다. IL-18 항원은 분리 및/또는 정제된 IL-18일 수 있고, 사람 IL-18인 것이 바람직하다. 다른 양태에서, IL-18 항원은 IL-18의 단편, 바람직하게는 성숙 IL-18이다. 다른 양태에서, IL-18 항원은 IL-18의 적어도 하나의 에피토프를 포함하는 단편이다.

[0180] 동물의 면역화는 당업계에서 공지된 임의의 방법으로 수행할 수 있다[예컨대, Harlow and Lane, Antibodies: Laboratory Manual, New York: Cold Spring Harbor Press, 1990 참조]. 마우스, 래트, 양, 염소, 돼지, 소 및 말과 같은 비사람 동물을 면역화하는 방법은 당업계에서 공지되어 있다[예컨대, Harlow and Lane 및 미국 특허 5,994,619 참조]. 바람직한 양태에서, IL-18 항원은 면역반응을 자극하기 위해 보강제와 함께 투여된다. 이러한 보강제에는 완전 또는 불완전 프로인트 보강제, RIBI (뮤라밀 디펩타이드) 또는 ISCOM (면역자극 복합체)이 있다. 이러한 보강제는 폴리펩타이드를 국소 침착물에 격리시켜 폴리펩타이드가 빠르게 분산되지 않도록 하거나 또는 마크로파아지에 화학주성인 인자 및 면역계의 다른 성분을 분비하도록 숙주를 자극하는 물질을 포함할 수 있다. 폴리펩타이드가 투여되는 경우, 면역화 스케줄은 수주 동안에 걸쳐 분산 투여되는 2회 이상의 폴리펩타이드의 투여를 수반할 수 있다.

[0181] 실시예 2.2.A는 인산염 완충 식염수 중의 사람 IL-18을 이용하여 XENOMOUSE 유전자 전이 마우스를 면역화하는 프로토콜을 제공한다.

[0182] B. 항체 및 항체 생산 세포주의 생산

[0183] 동물을 IL-18 항원으로 면역화시킨 후, 이 동물로부터 항체 및/또는 항체 생산 세포를 수득할 수 있다. 항-IL-18 항체 포함 혈청은 이 동물의 혈액을 채취하거나 죽여서 동물로부터 수득할 수 있다. 혈청은 동물에서 수득한 그대로 사용할 수도 있고, 혈청으로부터 면역글로불린 분획을 수득할 수도 있으며, 혈청으로부터 항-IL-18 항체를 정제할 수도 있다. 이러한 방식으로 수득한 혈청 또는 면역글로불린은 폴리클론성이어서, 이중성 성질의 배열을 보유한다.

[0184] 다른 양태에서, 면역화된 동물은 항체 생산성 불멸화된 하이브리도마의 제조에 사용될 수 있다. 면역화 후, 동물을 죽인 다음, 그 비장 B 세포를 당업계에 공지된 바와 같이 불멸화된 골수종 세포와 융합시킨다[예컨대, 상기 설명된 Harlow and Lane 문헌 참조]. 바람직한 양태에서, 골수종 세포는 면역글로불린 폴리펩타이드를 분비하지 않는 것이다 (비분비성 세포주). 하이브리도마는 융합 및 항생제 선별 후, IL-18 또는 이의 일부 또는 IL-

18을 발현하는 세포를 사용하여 선별한다. 바람직한 양태에서, 1차 선별은 효소 결합된 면역분석법 (ELISA) 또는 방사선면역분석법 (RIA), 바람직하게는 ELISA를 사용하여 수행한다. ELISA 선별의 예는 본원에 참고인용된 WO 00/37504에 제시되어 있다.

[0185] 항-IL-18 항체 생산 하이브리도마는 선별하여 클로닝한 뒤 추가로 바람직한 특징, 예컨대 이하에 논의되는 바와 같은 강력한 하이브리도마 성장, 높은 항체 생산성 및 바람직한 항체 특징들에 대해서 선별하여 수득한다. 하이브리도마는 동계 동물, 면역계가 결실된 동물, 예컨대 누드 마우스에서 생체내 배양 및 증대될 수도 있고, 시험관내 세포 배양으로 증대될 수 있다. 하이브리도마의 선별, 클로닝 및 증대 방법은 당업자에게 공지되어 있다.

[0186] 면역화된 동물은 사람 면역글로불린 유전자를 발현하는 비사람 동물이고, 비장 B 세포는 비사람 동물과 동일한 종에서 유래하는 골수종과 융합되는 것이 바람직하다. 더 바람직하게는, 면역화된 동물이 XENOMOUSE 유전자 전이 마우스이고, 골수종 세포주가 비분비성 마우스 골수종, 예컨대 P3X63Ag8.653 (예컨대, 실시예 2.2.B 참조)인 것이 바람직하다.

[0187] 일 관점에서, 본 발명은 사람 항-IL-18 항체를 생산하는 하이브리도마를 제공한다. 바람직한 양태에서, 하이브리도마는 전술한 바와 같은 마우스 하이브리도마이다. 다른 바람직한 양태에서, 하이브리도마는 래트, 양, 돼지, 염소, 소 또는 말과 같은 비사람, 비마우스 종에서 생산된다. 다른 양태에서, 하이브리도마는 사람 비분비성 골수종이 항-IL-18 항체를 발현하는 사람 세포와 융합된 사람 하이브리도마이다.

[0188] 본 발명의 다른 관점에서, 제조항체는 미국 특허 5,627,052, PCT 공개 WO 92/02551 및 문헌[Babcock, J.S. et al. (1996) Proc.Natl.Acad.Sci. USA 93: 7843-7848]에 기술된 바와 같은 당업계에서 선별 림프구 항체법 (SLMA)이라 불리는 절차를 사용하여 분리된 단일 림프구로부터 생산된다. 이 방법에서, 당해 항체를 분비하는 단세포, 예컨대 섹션 I(A)에 기술된 어느 한 면역화된 동물에서 유래되는 림프구는 항원 IL-18 또는 이의 단편이 비오틴과 같은 링커를 사용하여 양의 적혈구 세포에 결합되어 IL-18에 대한 특이성이 있는 항체를 분비하는 단세포의 동정에 사용되는 항원 특이적 용혈 플라크 분석법을 통해 선별한다. 당해의 항체 분비 세포를 동정한 후, 이 세포로부터 역전사효소-PCR에 의해 중쇄 및 경쇄 가변 영역 cDNA를 구한 다음, 이 가변 영역을 COS 또는 CHO 세포와 같은 포유동물 숙주 세포에서 적당한 면역글로불린 불변 영역 (예, 사람 불변 영역)의 전후관계 하에서 발현시킬 수 있다. 생체내 선별된 림프구에서 유래하는 증폭된 면역글로불린 서열로 형질감염된 숙주 세포는 그 다음 추가 분석과 시험관내 선별, 예컨대 IL-18에 대한 항체를 발현하는 세포를 분리하기 위한 형질감염 세포의 패닝으로 처리될 수 있다. 증폭된 면역글로불린 서열은 PCT 공개 WO 97/29131 및 PCT 공개 WO 00/56772에 기술된 것과 같은 시험관내 친화성 성숙법 등으로 시험관내 조작될 수 있다.

[0189] 또한, 본 발명의 항체 제조에는 시험관내 방법도 사용할 수 있는데, 여기서 바람직한 결합 특이성의 항체 동정에는 항체 라이브러리를 선별하는 방법이 사용된다. 제조항체 라이브러리를 선별하는 방법은 당업계에 공지되어 있고, 예컨대 문헌[Ladner et al. 미국 특허 5,223,409; Kang et al. PCT 공개 WO 92/18619; Dower et al. PCT 공개 WO 91/17271; Winter et al. PCT 공개 WO 92/20791; Markland et al. PCT 공개 WO 92/15679; Breitling et al. PCT 공개 WO 93/01288; McCafferty et al. PCT 공개 WO 92/01047; Garrard et al. PCT 공개 WO 92/09690; Fuchs et al. (1991) Bio/Technology 9: 1370-1372; Hay et al. (1992) Hum Antibod Hybridomas 3: 81-85 ; Huse et al. (1989) Science 246: 1275-1281; McCafferty et al., Nature (1990) 348:552-554; Griffiths et al. (1993) EMBO J. 12: 725-734; Hawkins et al. (1992) J. Mol.Biol. 226: 889-896; Clackson et al. (1991) Nature 352: 624-628; Gram et al. (1992) PNAS 89: 3576-3580; Garrad et al. (1991) Bio/Technology 9: 1373-1377; Hoogenboom et al. (1991) Nuc Acid Res 19: 4133-4137; 및 Barbas et al. (1991) PNAS 88: 7978-7982, 미국 출원 공개 20030186374, 및 PCT 공개 WO 97/29131 (각각 본원에 참고인용됨)] 등에 설명된 방법을 포함한다.

[0190] 제조항체 라이브러리는 IL-18로 면역화된 대상체 또는 IL-18의 일부로 면역화된 대상체에서 유래할 수 있다. 또는, 제조항체 라이브러리는 천연 대상체, 즉 사람 IL-18로 면역화된 적이 없는 사람 대상체 유래의 사람 항체 라이브러리와 같은, IL-18로 면역화된 적이 없는 대상체에서 유래할 수 있다. 본 발명의 항체는 IL-18을 인식하는 항체를 선별할 수 있도록 사람 IL-18을 포함하는 펩타이드 (예컨대, hIL-18의 일부에 상응하는 펩타이드)를 이용하여 제조항체 라이브러리를 선별하여 선별한다. 이러한 선별 및 선별을 수행하는 방법은 당업계에 공지되어 있으며, 예컨대 앞의 문단에 기술된 문헌들에 설명되어 있다. hIL-18에 대해 특별한 결합 친화성을 가진 본 발명의 항체, 예컨대 특정 k_{off} 을 상수로 사람 IL-18로부터 해리하는 항체를 선별하는 데에는 당업계에 공지된 표면 플라즈몬 공명법을 사용하여 바람직한 k_{off} 을 상수를 가진 항체를 선별할 수 있다. hIL-18에 대해

특별한 중화 활성을 가진 본 발명의 항체, 예컨대 특별한 IC₅₀을 가진 항체를 선별하는 데에는 hIL-18 활성의 억제제를 평가하는 당업계에 공지된 방법을 사용할 수 있다.

[0191] 일 관점에서, 본 발명은 사람 IL-18에 결합하는 분리된 항체 또는 항원 결합부를 제공한다. 바람직하게는, 항체는 중화성 항체이다. 특히 항체는 사람 항체인 것이 바람직하다. 다양한 양태에서, 항체는 재조합 항체 또는 모노클로날 항체이다. 가장 바람직한 본 발명의 중화성 항체는 본 명세서에서 2.5(E)로 부르는 것으로서, 서열 번호 7의 아미노산 서열을 가진 VL과 서열 번호 6의 아미노산 서열을 가진 VH를 보유한다. 가장 바람직하게는 2.5(E) 항체가 5×10^{-10} M 미만의 K_d 하에 사람 IL-18에 결합하는 것이 바람직하다 (실시예 2.2.F 참조).

[0192] 바람직하게는 본 발명의 항-IL-18 항체, 예컨대 2.5(E) 항체 및 관련 항체는 IL-18 활성을 감소시키거나 중화시키는 성능 (예컨대 당업계에 공지된 여러 시험관내 및 생체내 분석법 중 어느 한 방법에 의해 평가했을 때 수득되는 성능, 예컨대 실시예 3.2.F 참조)이 있는 것이 바람직하다. 예를 들어, 이러한 항체는 KG-1 세포에서 IL-18 유도의 사람 인터페론 감마 생산을, 적어도 약 10^{-8} M, 약 10^{-9} M 또는 약 10^{-10} M 범위의 IC₅₀ 값으로 중화시키는 것이다. 또한, 이러한 항체는 전 혈액 세포에서 사람 인터페론 감마의 IL-18 유도 생산을 적어도 약 10^{-8} M, 약 10^{-9} M 또는 약 10^{-10} M 범위의 IC₅₀ 값으로 중화시키는 것이다.

[0193] 특히 바람직한 양태에서, 항-IL-18 항체 2.5(E)는 IL-18 전구체, 성숙 IL-18 및 절두형 IL-18을 비롯한 다양한 형태의 사람 IL-18에 결합한다. 항체 2.5(E)는 다른 사이토킨, 예컨대 IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-11, IL-12, IL-13, IL-15, IL-16, IL-17, IL-21, TNF, LT (림프독소), LT α 1 β 2 및 LT α 2 β 1에는 특이적으로 결합하지 않는다. 하지만, 항체 2.5(E)는 다른 종에서 유래하는 IL-18에 대해 교차 반응성을 나타낸다. 예를 들어, 상기 항체는 필리핀 원숭이 (cynomolgus monkey) 유래의 IL-18의 활성을 중화시킨다 (cyno IL-18에 대한 IC₅₀ = 9.1×10^{-11} ; 실시예 2.2.J1 참조).

[0194] 일 관점에서, 본 발명은 2.5(E) 항체 및 이의 기능성 항체부, 그리고, 낮은 해리 속도와 높은 중화능과 함께 IL-18에 대한 높은 친화성 결합과 같은 2.5(E)와 등가의 성질을 가진 다른 사람 항체 및 기능성 항체부를 제공한다. 바람직한 양태에서, 분리된 항체 또는 이의 항원 결합부는 사람 IL-18에 결합하되, 상기 또는 이의 항원 결합부는 표면 플라즈몬 공명법으로 측정했을 때 약 0.1 s^{-1} 이하의 k_{off}을 상수를 나타내며 사람 IL-18로부터 해리하거나 또는 약 1×10^{-6} M 이하의 IC₅₀을 나타내며 사람 IL-18 활성을 억제한다. 대안적으로, 상기 항체 또는 이의 항원 결합부는 표면 플라즈몬 공명법으로 측정했을 때 약 $1 \times 10^{-2} \text{ s}^{-1}$ 이하의 k_{off}을 상수를 나타내며 사람 IL-18로부터 해리할 수 있거나 또는 약 1×10^{-7} M 이하의 IC₅₀을 나타내며 사람 IL-18 활성을 억제할 수 있다. 대안적으로, 상기 항체 또는 이의 항원 결합부는 표면 플라즈몬 공명법으로 측정했을 때 약 $1 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ 이하의 k_{off}을 상수를 나타내며 사람 IL-18로부터 해리할 수 있거나 또는 약 1×10^{-7} M 이하의 IC₅₀을 나타내며 사람 IL-18 활성을 억제할 수 있다. 대안적으로, 상기 항체 또는 이의 항원 결합부는 표면 플라즈몬 공명법으로 측정했을 때 약 $1 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ 이하의 k_{off}을 상수를 나타내며 사람 IL-18로부터 해리할 수 있거나 또는 약 1×10^{-9} M 이하의 IC₅₀을 나타내며 사람 IL-18 활성을 억제할 수 있다. 대안적으로, 상기 항체 또는 이의 항원 결합부는 표면 플라즈몬 공명법으로 측정했을 때 약 $1 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ 이하의 k_{off}을 상수를 나타내며 사람 IL-18로부터 해리할 수 있거나 또는 약 1×10^{-10} M 이하의 IC₅₀을 나타내며 사람 IL-18 활성을 억제할 수 있다. 대안적으로, 상기 항체 또는 이의 항원 결합부는 표면 플라즈몬 공명법으로 측정했을 때 약 $1 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ 이하의 k_{off}을 상수를 나타내며 사람 IL-18로부터 해리할 수 있거나 또는 약 1×10^{-11} M 이하의 IC₅₀을 나타내며 사람 IL-18 활성을 억제할 수 있다.

[0195] 또 다른 양태에서, 본 발명은 서열 번호 7; 서열 번호 9; 서열 번호 11; 서열 번호 13; 서열 번호 15; 서열 번호 17; 서열 번호 19; 서열 번호 21; 서열 번호 23; 서열 번호 25; 서열 번호 27; 서열 번호 29; 서열 번호 31; 서열 번호 33; 서열 번호 35; 서열 번호 37; 서열 번호 39; 또는 서열 번호 41의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (V_L)과 서열 번호 6; 서열 번호 8; 서열 번호 10; 서열 번호 12; 서열 번호 14; 서열 번호 16;

서열 번호 18; 서열 번호 20; 서열 번호 22; 서열 번호 24; 서열 번호 26; 서열 번호 28; 서열 번호 30; 서열 번호 32; 서열 번호 34; 서열 번호 36; 서열 번호 38; 또는 서열 번호 40의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (V_H)을 갖는 분리된 사람 항체 또는 이의 항원 결합부를 제공한다.

- [0196] 특정 양태에서, 상기 항체는 IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA, IgE, IgM 또는 IgD 불변 영역과 같은 중쇄 불변 영역을 포함한다. 중쇄 불변 영역은 IgG1 중쇄 불변 영역 또는 IgG4 중쇄 불변 영역인 것이 바람직하다. 또한, 항체는 카파 경쇄 불변 영역 또는 람다 경쇄 불변 영역 중 어느 하나인 경쇄 불변 영역을 포함할 수 있다. 항체는 카파 경쇄 불변 영역을 포함하는 것이 바람직하다. 대안적으로, 항체부는 Fab 단편 또는 단일쇄 Fv 단편과 같은 것일 수 있다.
- [0197] 항체 작동인자 기능을 변경시키기 위한 Fc부 내의 아미노산 잔기의 치환은 당업계에 공지되어 있다 (Winter et al., 미국 특허 5,648,260; 5624821). 항체의 Fc 부는 여러 중요한 작동인자 기능, 예컨대 사이토킨 유도, ADCC, 식세포작용, 보체 의존적 세포독성 (CDC) 및 항체와 항원-항체 복합체의 반감기/제거율 등을 매개한다. 몇몇 경우에는 이러한 작동인자 기능이 치료 항체에 바람직하지만, 어떤 다른 경우에는 치료 목적에 따라서 불필요하거나 심지어 유해할 수도 있다. 특정 사람 IgG 아이소타입, 구체적으로 IgG1 및 IgG3은 각각 Fc γ R 및 보체 C1q에 대한 결합을 통해 ADCC 및 CDC를 매개한다. 신생 Fc 수용체 (FcRn)는 항체의 혈행 반감기를 결정하는 중요한 성분이다. 또 다른 양태에서는, 항체의 불변 영역, 예컨대 항체의 Fc 영역에 존재하는 적어도 하나의 아미노산 잔기가 치환되어 작동인자 기능이 변경된 항체가 제공된다.
- [0198] 일 양태는 본 발명의 항체 또는 항체 일부가 유도체화되거나 또는 다른 기능성 분자 (예컨대, 다른 펩타이드 또는 단백질)에 결합된 표지된 결합 단백질을 제공한다. 예를 들어, 본 발명의 표지된 결합 단백질은 본 발명의 항체 또는 항체부 (화학적 커플링, 유전자 융합, 비공유 연합 등에 의해)를 하나 이상의 다른 분자 실체, 예컨대 다른 항체 (예, 이특이적 항체 또는 디아바디), 검출성 제제, 세포독성제, 약제 및/또는 다른 분자와 항체 또는 항체 일부의 연합을 매개할 수 있는 단백질이나 펩타이드 (예컨대, 스트렙타비딘 코어 영역 또는 폴리히스티딘 태그) 등에 기능적으로 연결시켜 취득할 수 있다.
- [0199] 본 발명의 항체 또는 항체 일부가 유도체화될 수 있는 유용한 검출성 제제에는 형광 화합물이 포함된다. 검출성 형광 제제의 예에는 플루오레세인, 플루오레세인 이소티오시아네이트, 로다민, 5-디메틸아민-1-나프탈렌설포닐 클로라이드, 피코에리트린 등이 있다. 또한, 항체는 검출성 효소, 예컨대 알칼리성 포스포타제, 양고추냉이 퍼옥시다제, 글루코스 옥시다제 등에 의해 유도체화될 수 있다. 항체가 검출성 효소로 유도체화된 경우에는, 효소가 검출성 반응 산물을 생산하기 위해 사용하는 추가 시약을 첨가하여 검출한다. 항체는 또한 비오틴으로 유도체화될 수 있고, 이 경우 아비딘이나 스트렙타비딘 결합의 간접 측정을 통해 검출한다.
- [0200] 본 발명의 다른 양태는 결정화된 결합 단백질을 제공한다. 바람직하게는, 본 발명은 본 명세서에 개시된 바와 같은 전체 항-IL-8 항체 및 이의 단편의 결정, 및 이러한 결정을 포함하는 배합물 및 조성물을 제공한다. 일 양태에서, 결정화된 결합 단백질은 이에 대응하는 용해성 결합 단백질보다 생체내 반감기가 더 길다. 다른 양태에서, 결합 단백질은 결정화 후 생물학적 활성을 유지한다.
- [0201] 본 발명의 결정화된 결합 단백질은 당업계에 공지되고 본원에 참고인용된 WO 02072636에 개시된 바와 같이 생산할 수 있다 (또한, 실시예 2.2.M 참조).
- [0202] 본 발명의 다른 양태는 항체 또는 이의 항원 결합부가 하나 이상의 탄수화물 잔기를 포함하는 글리코실화된 결합 단백질을 제공한다. 생체내 생산된 초기 단백질은 해독후 변형으로 알려진 추가 프로세싱으로 처리될 수 있다. 구체적으로, 당 (글리코실) 잔기는 글리코실화로 알려진 방법에 의해 효소적으로 첨가될 수 있다. 그 결과 수득되는 공유 결합된 올리고사카라이드 측쇄를 보유한 단백질은 글리코실화된 단백질 또는 당단백질이라 불린다. 단백질 글리코실화는 당해 단백질의 아미노산 서열, 및 단백질이 발현되는 숙주 세포에 따라 달라진다. 다른 유기체는 다른 글리코실화 효소 (예컨대, 글리코실트랜스퍼라제 및 글리코시다제)를 생산하고, 이용할 수 있는 기질 (뉴클레오타이드 당)이 다를 수 있다. 이러한 요인으로 인해, 단백질 글리코실화 패턴 및 글리코실 잔기의 조성은 특정 단백질이 발현되는 숙주계에 따라 다를 수 있다. 본 발명에 유용한 글리코실 잔기는 글루코스, 갈락토스, 만노스, 퓨코스, n-아세틸글루코사민 및 시알산 등을 이에 국한됨이 없이 포함할 수 있다. 이러한 글리코실화된 결합 단백질은 글리코실화 패턴이 사람이도록 글리코실 잔기를 포함하는 것이 바람직하다.
- [0203] 당업자에게 공지된 바와 같이, 상이한 단백질 글리코실화는 상이한 단백질 특징을 제공할 수 있다. 예를 들어, 효모와 같은 미생물 숙주에서 생산되고 효모 내인성 경로를 이용하여 글리코실화된 치료 단백질의 효능은 CHO 세포주와 같은 포유동물 세포에서 발현된 동일 단백질 효능에 비해 저하될 수 있다. 이러한 당단백질은 또한 사

람 중에서 면역원성일 수 있고 투여 후 생체내 반감기가 감소될 수 있다. 사람 및 다른 동물에 존재하는 특정 수용체는 특정 글리코실화 잔기를 인식하고 혈류로부터 그 단백질의 신속 제거를 촉진할 수 있다. 다른 부작용으로, 단백질 폴딩, 용해성, 프로테아제에 대한 민감성, 트래픽킹 (trafficking), 수송, 구획화, 분비, 다른 단백질이나 인자에 의해 인식, 항원성 또는 알레르기원성 등의 변화를 포함할 수 있다. 따라서, 당업자는 특정 조성물과 글리코실화 패턴을 가진 치료 단백질, 예컨대 사람 세포 또는 의도된 대상체 동물의 종 특이적 세포에서 생산되는 것과 동일하거나 적어도 유사한 글리코실화 조성 및 패턴을 가진 치료 단백질을 선호할 수 있다.

[0204] 숙주 세포와 상이한 글리코실화된 단백질의 발현은 숙주 세포의 유전자 변형을 통해 이중 글리코실화 효소를 발현하도록 함으로서 수득될 수 있다. 사람 단백질 글리코실화를 나타내는 항체 또는 항원 결합부는 당업계에 공지된 기술을 사용하여 당업자라면 제조할 수 있다. 예를 들어, 효모 균주는 비자연발생의 글리코실화 효소를 발현하도록 유전자 변형되어, 이 효모 균주에서 생산된 글리코실화된 단백질 (당단백질)이 동물 세포, 특히 사람 세포에서 생산된 것과 동일한 단백질 글리코실화가 수득된 바 있다 (미국 특허 출원 20040018590 및 20020137134).

[0205] 또한, 당해의 단백질은 다양한 글리코실화 효소를 발현하도록 유전자 조작된 숙주 세포의 라이브러리를 사용하여 발현시킬 수 있음을 당업자라면 잘 알고 있을 것이며, 이에 따라 상기 라이브러리의 구성 숙주 세포는 변형된 글리코실화 패턴을 가진 당해의 단백질을 생산한다. 그 다음, 당업자는 새로운 특정 글리코실화 패턴을 가진 당해의 단백질을 선별하여 분리할 수 있다. 특별하게 선별된 신규 글리코실화 패턴을 가진 단백질은 생물학적 성질이 개선되거나 변경된 단백질인 것이 바람직하다.

[0206] C. 제조할 IL-18 항체의 생산

[0207] 본 발명의 항체는 당업계에 공지된 임의의 다수의 기술을 통해 생산할 수 있다. 그 예에는, 중쇄 및 경쇄를 암호화하는 발현 벡터가 표준 기술로 숙주 세포에 형질감염된 숙주 세포로부터의 발현이 있다. "형질감염"이란 용어의 다양한 형태는 원핵생물 또는 진핵생물 숙주 세포에 이중 DNA를 도입시키는데 일반적으로 사용되는 다양한 기술, 예컨대 전기천공, 인산칼슘 침전, DEAE-텍스트란 형질감염 등을 포함하는 것으로 간주한다. 본 발명의 항체는 원핵생물 숙주 세포 또는 진핵생물 숙주 세포에서 발현시킬 수 있지만, 진핵생물 세포에서의 항체의 발현이 바람직하며, 특히 포유동물 숙주 세포에서의 발현이 가장 바람직한데, 그 이유는 이러한 진핵생물 세포 (특히 포유동물 세포)가 적당한 폴딩을 이루어 면역학적 활성인 항체를 회합 (assembly)하여 분비하는데 원핵생물 세포보다 더 적당하기 때문이다.

[0208] 본 발명의 제조할 항체를 발현하기에 바람직한 포유동물 숙주 세포에는 중국 햄스터 난소 (CHO 세포) (예컨대, R.J.Kaufman and P.A.Sharp (1982) Mol.Biol. 159:601-621에 기술된 바와 같은 DHFR 선택성 마커와 함께 사용된, Urlaub and Chasin (1980) Proc.Natl.Acad.Sci. USA 77:4216-4220에 기술된 dhfr-CHO 세포), NS0 골수종 세포, COS 세포 및 SP2 세포가 있다. 항체 유전자를 암호화하는 제조할 발현 벡터가 포유동물 숙주 세포에 도입되면, 항체는 숙주 세포에서 항체가 발현되기에 또는 바람직하게는 숙주 세포가 증식되는 배양 배지로 항체가 분비되기에 충분한 시간 동안 숙주 세포를 배양하여 생산한다. 항체는 표준 단백질 정제법을 사용하여 배양 배지로부터 회수할 수 있다.

[0209] 또한, 숙주 세포는 기능성 항체 단편, 예컨대 Fab 단편 또는 scFv 분자를 생산하는 데에도 사용할 수 있다. 상기 절차의 변형 역시 본 발명의 범위에 속하는 것임은 자명하다. 예를 들어, 숙주 세포를 본 발명에 따른 항체의 경쇄 및/또는 중쇄의 기능성 단편을 암호화하는 DNA로 형질감염시키는 것이 필요할 수 있다. 또한, 제조할 DNA 기술을 사용하여 당해 항원에 대한 결합에 필요하지 않은 경쇄 및 중쇄 중 어느 하나 또는 둘 모두를 암호화하는 DNA의 일부 또는 전부를 제거할 수 있다. 이러한 절두형 DNA 분자로부터 발현된 분자도 역시 본 발명의 항체 범위에 속한다. 또한, 본 발명의 항체를 표준 화학적 가교법을 통해 제2 항체에 가교결합시켜 하나의 중쇄 및 하나의 경쇄가 본 발명의 항체이고 다른 중쇄 및 경쇄가 당해 항원 이외의 다른 항원에 특이적인 쌍기능성 항체를 생산할 수 있다.

[0210] 본 발명의 항체 또는 이의 항원 결합부의 제조할 발현에 바람직한 시스템에 따르면, 항체 중쇄 및 항체 경쇄를 모두 암호화하는 제조할 발현 벡터가 인산칼슘 매개 형질감염에 의해 dhfr-CHO 세포로 도입된다. 이러한 제조할 발현 벡터에서, 항체 중쇄 및 경쇄 유전자는 CMV 인핸서/AdMLP 프로모터 조절 인자에 각각 작동적으로 결합되어 상기 유전자의 높은 전사율을 유도한다. 또한, 제조할 발현 벡터는 DHFR 유전자를 보유하며, 이 유전자는 메토타렉세이트 선별/증폭을 통해 상기 벡터로 형질감염된 CHO 세포를 선별할 수 있게 해준다. 선별된 형질전환 숙주 세포는 항체 중쇄 및 경쇄를 발현할 수 있도록 배양하고, 이러한 배양 배지로부터 완전한 항체를 회수한다. 제조할 발현 벡터 제조, 숙주 세포 형질감염, 형질전환체 선별, 숙주 세포 배양 및 배양 배지로부터 항체의 회

수에는 표준 분자 생물학 기술을 사용한다. 또한, 본 발명은 본 발명의 숙주 세포를 본 발명의 재조합 항체가 합성될 때까지 적당한 배양 배지에서 배양하여 본 발명의 재조합 항체를 합성하는 방법을 제공한다. 이 방법은 추가로 배양 배지로부터 재조합 항체를 분리하는 단계를 포함할 수 있다.

[0211] 표 1은 본 발명의 바람직한 항-hIL-18 항체의 VH 및 VL 영역의 아미노산 서열 번호 목록을 정리한 것이다. VH 영역에서 아미노 말단 (N-말단)의 위치 1에 존재하는 자연 발생의 아미노산은 글루타메이트 (E) 또는 글루타민 (Q)이다. 하지만, VH 영역을 포함하는 단백질의 대량 생산 동안 동종 N-말단을 가진 재조합 단백질을 제조하는 데에는 글루타메이트 (E)가 N-말단 1번으로 바람직하다.

[0212] [표 1a]

VH 및 VL 영역의 아미노산 서열 목록

단백질	서열 번호	서열
단백질 영역		12345678901234567890
VH 2.5(E)	서열 번호 6	E VQLVQSGTEVKKPGESLKI SCKGSGYTVTSYWIGWVRQM PGKGLEWMGFIYPGDSETRY SPTFQQQVTISADKSFNTAF LQWSSLKASDTAMYCARVG SGWYPYTFDIWGQGTMTVTS S
VH 2.5 CDR-H1	서열 번호 6의 31번 내지 35번 잔기	SYWIG
VH 2.5 CDR-H2	서열 번호 6의 50번 내지 66번 잔기	FIYPGDSETRYSPTFQG
VH 2.5 CDR-H3	서열 번호 6의 99번 내지 110번 잔기	VGSGWYPYTFDI
VL 2.5(E)	서열 번호 7	E IVMTQSPATLSVSPGERAT LSCRASESISNLAWYQQK GQAPRLFIYTASTRATDIPA RFSGSGSGTEFTLTISLQS EDFAVYQCQYNNWPSITFG QGTRLEIKR
VL 2.5 CDR-L1	서열 번호 7의 24번 내지 34번 잔기	RASESISNLA
VL 2.5 CDR-L2	서열 번호 7의 50번 내지 56번 잔기	TASTRAT
VL 2.5 CDR-L3	서열 번호 7의 89번 내지 98번 잔기	QQYNNWPSIT
VH 2.13	서열 번호 8	Q VQLQESGGLVTPSQTLSL TCTVSGGSISGGHYWTWIR QHPGKLEWIGYIYSGSTY YNPSLKSRLTISVDTSKNQF SLKLSSVAAADTAVYYCARD RGSGGSYWDYWGQGTMTVTS S
VH 2.13 CDR-H1	서열 번호 8의 31번 내지 37번 잔기	SGGHYWT
VH 2.13 CDR-H2	서열 번호 8의 52번 내지 67번 잔기	YIYSGSTYYNPSLKS
VH 2.13 CDR-H3	서열 번호 8의 100번 내지 110번 잔기	DRGSGGSYWDY
VL 2.13	서열 번호 9	E IVLTQSPGTLSLSPGERAT LSCRSRSVSSGYLAWYQQK PGQAPRLLIYGVSIATGIP DRFSGSGSGTDFTLTISRLE PEDFAVYQCQYHGSPITFG GGTKVEIKR

[0213]

[0214] [표 1b]

단백질	서열 번호	서열
단백질 영역		12345678901234567890
VL 2.13 CDR-L1	서열 번호 9 의 24 번 내지 35 번 잔기	RGSRSVSSGYLA
VL 2.13 CDR-L2	서열 번호 9 의 51 번 내지 57 번 잔기	GVSIRAT
VL 2.13 CDR-L3	서열 번호 9 의 90 번 내지 98 번 잔기	QQYHGSPLT
VH 2.3	서열 번호 10	QVQLQESGPGLVKPSSETLSL TCTVSGGSIRNYYSWIRQP PGKLEWVGYYSSGSTNYN PSLKSRVTISVDTSKNQFSL KLSSVTAADTAVYYCARDRG GASFFDYWGQGLVTVSS
VH 2.3 CDR-H1	서열 번호 10 의 31 번 내지 35 번 잔기	NYYS
VH 2.3 CDR-H2	서열 번호 10 의 50 번 내지 65 번 잔기	YYSSGSTNYNPSLKS
VH 2.3 CDR-H3	서열 번호 10 의 98 번 내지 107 번 잔기	DRGGASFFDY
VL 2.3	서열 번호 11	DIQMTQSPSSLSASIGDRVT ITCRASQIIGGYLNWYQORP GKAPKFLIYSTILQSGVPS RFGSGSGTDFTLTISLQP EDFATYYCQQTYYITPPTFGP GTKVDIKR
VL 2.3 CDR-L1	서열 번호 11 의 24 번 내지 34 번 잔기	RASQIIGGYLN
VL 2.3 CDR-L2	서열 번호 11 의 50 번 내지 56 번 잔기	STSIQS
VL 2.3 CDR-L3	서열 번호 11 의 89 번 내지 97 번 잔기	QQTYYITPPT
VH 215	서열 번호 12	QVQLQESGPGLVKPSQTLST TCTVSGGSINSGDYYSWIR QHPGKLEWIGHISYRGTTY YNPSLKSRVTISVDTSKNQF SLKLSSVTAADTAVYCCARD RGGGFFDLWGRGTLVTVSS
VH 215 CDR-H1	서열 번호 12 의 31 번 내지 37 번 잔기	SGDYYS
VH 215 CDR-H2	서열 번호 12 의 52 번 내지 67 번 잔기	HISYRGTTYNPSLKS
VH 215 CDR-H3	서열 번호 12 의 100 번 내지 108 번 잔기	DRGGGFFDL

[0215]

[0216] [표 1c]

단백질		서열
단백질 영역	서열 번호	12345678901234567890
VL 215	서열 번호 13	EIVLTQSPGTLTSLSPGERAT LSCRASRSLSSGYLAWYQQK PGQAPRLLIYGASIRATGIP DRFSGSGSATDFTLTISRLE PEDFAVYYCQQYNYSPLTFG GGTRVEINR
VL 215 CDR-L1	서열 번호 13 의 24 번 내지 35 번 잔기	RASRSLSSGYLA
VL 215 CDR-L2	서열 번호 13 의 51 번 내지 57 번 잔기	GASIRAT
VL 215 CDR-L3	서열 번호 13 의 90 번 내지 98 번 잔기	QQYNYSPLT
VH 231	서열 번호 14	EIVQLVESGGGVSQPRGSLRL SCAASGFTFSSYSMNWVRQA PGKGLEWVSFYFSSSGGIIYY ADSVKGRFTISRDNKNSLY LQMNSLRDEDTAVYYCARD SSGYYPYFFDYWGQGLTVTV SS
VH 231 CDR-H1	서열 번호 14 의 31 번 내지 35 번 잔기	SYSMN
VH 231 CDR-H2	서열 번호 14 의 50 번 내지 66 번 잔기	YFSSSGGIIYYADSVKG
VH 231 CDR-H3	서열 번호 14 의 99 번 내지 111 번 잔기	DDSSGYYPYFFDY
VL 231	서열 번호 15	DIVMTQSPDSLAVSLGERAT INCKSSQTVLYRSNNKNYLA WYQQKSGQPPKLLIYWASTR ESGVPDRFSGSGSGTDFTLT ISSLAEDVAVYYCQQYYST PLTFGGGTKVEIKR
VL 231 CDR-L1	서열 번호 15 의 24 번 내지 40 번 잔기	KSSQTVLYRSNNKNYLA
VL 231 CDR-L2	서열 번호 15 의 56 번 내지 62 번 잔기	WASTRES
VL 231 CDR-L3	서열 번호 15 의 95 번 내지 103 번 잔기	QQYYSTPLT
VH 251	서열 번호 16	QLQLQESGPGLVKPSSETLSL TCTVSGGSISSRVYYWGWIR QPPGKLEWIGSIYYSGSTY YNPSLKSRTISVDASKNQF SLKLSSVTAADTAIYYCARE DSSAWVFEHWGQGLTVTVSS
VH 251 CDR-H1	서열 번호 16 의 31 번 내지 37 번 잔기	SRVYYWG
VH 251 CDR-H2	서열 번호 16 의 52 번 내지 67 번 잔기	SIYYSGSTYYNPSLKS

[0217]

[0218] [표 1d]

단백질	서열 번호	서열
단백질 영역		12345678901234567890
VH 251 CDR-H3	서열 번호 16 의 100 번 내지 109 번 잔기	EDSSAWVFEH
VL 251	서열 번호 17	EIVLTQSPDTLSLSPGERAT LSCRASHILSRNYLAWYQQK PGQAPRLLMYGISIRATGIP DRFSGSGSGADFTLTINRLE PEDFAVYYCQHYDNSLCSFG QGTKLEVKR
VL 251 CDR-L1	서열 번호 17 의 24 번 내지 35 번 잔기	RASHILSRNYLA
VL 251 CDR-L2	서열 번호 17 의 51 번 내지 57 번 잔기	GISIRAT
VL 251 CDR-L3	서열 번호 17 의 90 번 내지 98 번 잔기	QHYDNSLCS
VH 268	서열 번호 18	QVQLVESGGGVVQPGRSRLR SCAASGFTFRNYGLHWVRQA PGKGLEWVAVIWDGSKYY ADSVKGRFTISRDNKNTLY LQMNSLRAEDTAVYYCARES YVYYGMDVWGQGTITVTVSS
VH 268 CDR-H1	서열 번호 18 의 31 번 내지 35 번 잔기	NYGLH
VH 268 CDR-H2	서열 번호 18 의 20 번 내지 36 번 잔기	VIWYDGSNKYYADSVKG
VH 268 CDR-H3	서열 번호 18 의 99 번 내지 108 번 잔기	ESVYYGMDV
VL 268	서열 번호 19	EIVMTQSPATLSVSPGERAT LSCRASQSFNSNLVWYQQK GQAPRLLIYGASTRATGIPA RFSGSGSGTEFTLTISLQS EDFAVYYCQYNNWTWTFGQ GTKVEIKR
VL 268 CDR-L1	서열 번호 19 의 24 번 내지 34 번 잔기	RASQSFNSNLV
VL 268 CDR-L2	서열 번호 19 의 50 번 내지 56 번 잔기	GASTRAT
VL 268 CDR-L3	서열 번호 19 의 89 번 내지 97 번 잔기	QYNNWTWT
VH 336	서열 번호 20	QVQLQESGPGLVKPSQTL TCTVSGGSINSGDYYSWIR QHPSGKLEWIGHISYRGTTY YNPSLKSRVTISVDTSKNQF SLKLSSVTAADTAVYCCARD RGGGFEDLWGRGTLVTVSS
VH 336 CDR-H1	서열 번호 20 의 31 번 내지 35 번 잔기	SGDYYS

[0219]

[0220] [표 1e]

단백질	서열 번호	서열
단백질 영역		12345678901234567890
VH 336 CDR-H2	서열 번호 20 의 52 번 내지 67 번 잔기	HISYRGTTYYNPSLKS
VH 336 CDR-H3	서열 번호 20 의 100 번 내지 108 번 잔기	DRGGGFFDL
VL 336	서열 번호 21	EIVLTQSPGTLSSLSPGERAT LSCRASQSVSSGYLAWYQQK PGQAPRLLIYGASIRATGIP DRFSGSGSATDFTLTISRLE PEDFAVYYCQQYGYSPLTFG GGTRVEINR
VL 336 CDR-L1	서열 번호 21 의 24 번 내지 35 번 잔기	RASQSVSSGYLA
VL 336 CDR-L2	서열 번호 21 의 51 번 내지 57 번 잔기	GASIRAT
VL 336 CDR-L3	서열 번호 21 의 90 번 내지 98 번 잔기	QQYGYSPLT
VH 351	서열 번호 22	QVQLVESGGGVVQPGRSRLR SCAASGFTFSHYGMHWVRQA PGKLEWVAVISYDGRNKYY VDSVKGRFTISRDNKNTLY LQMNSLRAEDTAVFYCAREK GGSGWPPFYYYYGMDVWGQG TTVTVSS
VH 351 CDR-H1	서열 번호 22 의 31 번 내지 35 번 잔기	HYGMH
VH 351 CDR-H2	서열 번호 22 의 50 번 내지 66 번 잔기	VISYDGRNKYYVDSVKG
VH 351 CDR-H3	서열 번호 22 의 99 번 내지 116 번 잔기	EKGSGWPPFYYYYGMDV
VL 351	서열 번호 23	DIVMTQTPLSLSVTPGQPAS ISCKSSQNLLYSDGETYLCW YLQKPGQPPQLLIYEVSNR SGVPERFSGSGSDFTLKI SRVEAEDVGIYYCMQNVQLP LTFGGGTRVEIKR
VL 351 CDR-L1	서열 번호 23 의 24 번 내지 39 번 잔기	KSSQNLLYSDGETYLC
VL 351 CDR-L2	서열 번호 23 의 55 번 내지 61 번 잔기	EVSNRFS
VL 351 CDR-L3	서열 번호 23 의 94 번 내지 102 번 잔기	MQNVQLPLT
VH 413	서열 번호 24	QTQLQESGPGLVKPSSETLSL TCTVSGGSISSRVYYWGWR QPPGKLEWIGSIYYSGSTY YSPSLKSRVTISVDTSKNQF SLKLSSVTAADTAIYYCARE DSSAWVFEHWGQGTLVTVSS

[0221]

[0222] [표 1f]

단백질	서열 번호	서열
단백질 영역		12345678901234567890
VH 413 CDR-H1	서열 번호 24 의 31 번 내지 37 번 잔기	SRVYYWG
VH 413 CDR-H2	서열 번호 24 의 52 번 내지 67 번 잔기	SIYYSGSTYYSPSLKS
VH 413 CDR-H3	서열 번호 24 의 100 번 내지 109 번 잔기	EDSSAWVFEH
VL 413	서열 번호 25	EIVLTQSPDTLSLSPGERAT LSCRASQILSRNYLAWYQQK PGQAPRLLIYGISIRATGIP DRFSGSGSGADFTLTINRLE PEDFAVYYCQHYDNSLCSFG QGTKLEVKR
VL 413 CDR-L1	서열 번호 25 의 24 번 내지 35 번 잔기	RASQILSRNYLA
VL 413 CDR-L2	서열 번호 25 의 51 번 내지 57 번 잔기	GISIRAT
VL 413 CDR-L3	서열 번호 25 의 90 번 내지 98 번 잔기	QHYDNSLCS
VH 435	서열 번호 26	QLQLQESGPGLVKPSSETLSL TCTVSGGSIDSRIYYGWIR QPPGKLEWIGSIYYRGSTY YNPSLKSRTISVDTPKNQF SLKLNSVTAADTAVYYCARE DSSAWVFDYWGQGTLATVSS
VH 435 CDR-H1	서열 번호 26 의 31 번 내지 37 번 잔기	SRIYYWG
VH 435 CDR-H2	서열 번호 26 의 52 번 내지 67 번 잔기	SIYYRGSTYYNPSLKS
VH 435 CDR-H3	서열 번호 26 의 100 번 내지 109 번 잔기	EDSSAWVFDY
VL 435	서열 번호 27	EIVLTQSPGTLTLSPGERAT LSCRASQSVRNYYLNWYQQK PGQAPRLLIYGAFSRATGIP DRFSGSGSGTDFTLTISSLE PEDFVYYCQYGNIDSFG QGTKLEINR
VL 435 CDR-L1	서열 번호 27 의 24 번 내지 35 번 잔기	RASQSVRNYYLN
VL 435 CDR-L2	서열 번호 27 의 51 번 내지 57 번 잔기	GAFSRAT
VL 435 CDR-L3	서열 번호 27 의 90 번 내지 98 번 잔기	QYGNIDS

[0223]

[0224] [표 1g]

단백질 단백질 영역	서열 번호	서열 12345678901234567890
VH 444	서열 번호 28	QVQLQESGPGLVKPSQTLSL TCTVSGGSINSGDYYSYIR QHPGKGLEWIGHISYRGTTY YNPSLKSRVTISVDTSKNQF SLKLSSVTAADTAVYCCARD RGGGFFDLWGRGTLTVSS
VH 444 CDR-H1	서열 번호 28 의 31 번 내지 37 번 잔기	SGDYYWS
VH 444 CDR-H2	서열 번호 28 의 52 번 내지 67 번 잔기	HISYRGTTYYNPSLKS
VH 444 CDR-H3	서열 번호 28 의 100 번 내지 108 번 잔기	DRGGGFFDL
VL 444	서열 번호 29	EIVLTQSPGTLSLSPGERAT LSCRASQSVSSGYLAWYQRK PGQAPRLLIYGTSIRATGIP DRFSGSGSATDFTLSISRLG PEDFAVYYCQYGYSPFTFG GGTRVEINR
VL 444 CDR-L1	서열 번호 29 의 24 번 내지 35 번 잔기	RASQSVSSGYLA
VL 444 CDR-L2	서열 번호 29 의 51 번 내지 57 번 잔기	GTSIRAT
VL 444 CDR-L3	서열 번호 29 의 90 번 내지 98 번 잔기	QYGYSPFT
VH 478	서열 번호 30	QVQLQESGPGLVKPSQTLSL TCTVSGGSISSGGHYWSWIR QHPGKGLEWIGYIYYSGSTH YNPSLKSRVTISVDTSKNQF SLKLRSVSAADTAGYYCASL YNGNGYFDLWGRGTLTVSS
VH 478 CDR-H1	서열 번호 30 의 31 번 내지 37 번 잔기	SGGHYWS
VH 478 CDR-H2	서열 번호 30 의 52 번 내지 67 번 잔기	YIYYSGSTHYNPSLKS
VH 478 CDR-H3	서열 번호 30 의 99 번 내지 109 번 잔기	SLYNGNGYFDL
VL 478	서열 번호 31	EIVLTQSPGTLSLSPGERAT LSCRASQSISSGYLAWYQQK PGQAPRLIIYGVSRRATGIP DRFSGSGSGADFTLTISRLD PEDFVYYCQYGFSPFTFG GGTKVEIKR
VL 478 CDR-L1	서열 번호 31 의 24 번 내지 35 번 잔기	RASQSISSGYLA
VL 478 CDR-L2	서열 번호 31 의 51 번 내지 57 번 잔기	GVSRRAT

[0225]

[0226] [표 1h]

단백질	서열 번호	서열
단백질 영역		12345678901234567890
VL 478 CDR-L3	서열 번호 31 의 90 번 내지 98 번 잔기	QQYGFSPILT
VH 521	서열 번호 32	QLQLQESGPGGLVKPSETLSL TCTVSGGSISRSYDWGWIR QPPGKGLEWIGSIYYRGSTY YNPSLKSRVTISVDTSKNQF SLKLSSVTAADTAVYYCARE YSTWTSIDYWGQGTLVTVSS
VH 521 CDR-H1	서열 번호 32 의 31 번 내지 37 번 잔기	RSYDWG
VH 521 CDR-H2	서열 번호 32 의 52 번 내지 67 번 잔기	SIYYRGSTYYNPSLKS
VH 521 CDR-H3	서열 번호 32 의 100 번 내지 109 번 잔기	EYSTWTSIDY
VL 521	서열 번호 33	ENVLTQSPGTLSPGERAT LSCRASQSIRNNYLAWYQQK PGQAPRLLIHGASSRATGIP DRFGSGSGTDFTLTISRLE PEDFAVYFCQQYGNIIITFG PGTKVDVNR
VL 521 CDR-L1	서열 번호 33 의 24 번 내지 35 번 잔기	RASQSIRNNYLA
VL 521 CDR-L2	서열 번호 33 의 51 번 내지 57 번 잔기	GASSRAT
VL 521 CDR-L3	서열 번호 33 의 90 번 내지 98 번 잔기	QQYGNIIIT
VH 550	서열 번호 34	QVQLQESGPGGLVKPSQTLTL TCTVSGGSINSGGYWWSWIR QHHPGKLEWIGHISYRGTTY SNPSLKSRVTISVDTSKNQF SLKLSSVTAADTAVYYCARD RGGGFFDLWGRGTLVTVSS
VH 550 CDR-H1	서열 번호 34 의 31 번 내지 37 번 잔기	SGGYWS
VH 550 CDR-H2	서열 번호 34 의 52 번 내지 67 번 잔기	HISYRGTTYSNPSLKS
VH 550 CDR-H3	서열 번호 34 의 100 번 내지 108 번 잔기	DRGGGFFDL
VL 550	서열 번호 35	EIVLTQSPGTLSPGERAT LSCRASQSVNSGYLAWYQQK PGQAPRLLIYGVSIKATDIP DRFSGSGSATDFTLTISRLE PEDFAVYFCQQYGFSPILTFG GGTRVEINR
VL 550 CDR-L1	서열 번호 35 의 24 번 내지 35 번 잔기	RASQSVNSGYLA

[0227]

[0228] [표 1i]

단백질	서열 번호	서열
단백질 영역		12345678901234567890
VL 550 CDR-L2	서열 번호 35 의 51 번 내지 57 번 잔기	GV SIRAT
VL 550 CDR-L3	서열 번호 35 의 90 번 내지 98 번 잔기	QQYGFSPLT
VH 581	서열 번호 36	QVQLVESGGGVVQPGRSLRL SCAASGFTFSHCGMHWVRQA PGKGLEWVAVISYDGSNKYY ADSVKGRFTISRDN SKNTLY LQMNSLRAEDTAVYYCAKDH GGSGSPFFYYYYGMDVWGQG TTVTVSS
VH 581 CDR-H1	서열 번호 36 의 31 번 내지 35 번 잔기	HCGMH
VH 581 CDR-H2	서열 번호 36 의 50 번 내지 66 번 잔기	VISYDGSNKYYADSVKG
VH 581 CDR-H3	서열 번호 36 의 99 번 내지 116 번 잔기	DHGGSGSPFFYYYYGMDV
VL 581	서열 번호 37	DILMTQTPLSLSVTPGQPAS ISCKSSQSL LHGDGKTYLYW YLQKPGQPPQFLIQELSNRF SGVPDRFSGSGSGTDFTLKI SRXEAEDVGVYYCMQSLQLP LTFGGGTKVQIKR
VL 581 CDR-L1	서열 번호 37 의 24 번 내지 39 번 잔기	KSSQSL LHGDGKTYLY
VL 581 CDR-L2	서열 번호 37 의 55 번 내지 61 번 잔기	ELSNRFS
VL 581 CDR-L3	서열 번호 37 의 94 번 내지 102 번 잔기	MQSLQLPLT
VH 7.5	서열 번호 38	QVQLVESGGGVVQPGRSLRL SCAASGFTFSYYGMHWVRQA PGKGLEWVAVIWDGRNKYY ADSVKGRVTISRDN SKKTLTY LQMNSLRAEDTAVYYCAREG GYYYGMDVWGQGT TTVTVSS
VH 7.5 CDR-H1	서열 번호 38 의 31 번 내지 35 번 잔기	YYGMH
VH 7.5 CDR-H2	서열 번호 38 의 501 번 내지 66 번 잔기	VIWYDGRNKYYADSVKG
VH 7.5 CDR-H3	서열 번호 38 의 99 번 내지 108 번 잔기	EGGYYYGMDV
VL 7.5	서열 번호 39	EILLTQSPGTLSPGERAT LSCRASQNVSSSYLAWYQQN PGQAPRLLIYGASSRATGIP DRFSGSGSGTDFTLTISRLE PEDFEVYYCQQSGSSLFTFG PGTKVDIKR

[0229]

[0230] [표 1j]

단백질	서열 번호	서열
단백질 영역		12345678901234567890
VL 7.5 CDR-L1	서열 번호 39 의 24 번 내지 35 번 잔기	RASQNVSSSYLA
VL 7.5 CDR-L2	서열 번호 39 의 51 번 내지 57 번 잔기	GASSRAT
VL 7.5 CDR-L3	서열 번호 39 의 90 번 내지 98 번 잔기	QSGSSSLFT
VH 2.11	서열 번호 40	QVQLQESGPGPLVKPSQTLSTL TCTVSGGSIRSGDHYWTWIR QHPGKGLEWIGHIYYSGSTY YNPSLKSRLTISIDTSKNQF SLKLSSVTAAADTAVYYCARD YGGNGYFDYWGGTGLVTVSS
VH 2.11 CDR-H1	서열 번호 40 의 31 번 내지 37 번 잔기	SGDHYWT
VH 2.11 CDR-H2	서열 번호 40 의 52 번 내지 67 번 잔기	HIYYSGSTYYNPSLKS
VH 2.11 CDR-H3	서열 번호 40 의 97 번 내지 109 번 잔기	CARDYGGNGYFDY
VL 2.11	서열 번호 41	DIVMTQTPLSLPVTGPGEPA ISCRSSQSLLDSDDGNTYLD WYLQKPGQSPQLLIYTLSTYR ASGVPDRFSGSGSGTDFTLN ISRVEAEDVGVYYCMQRIEF PITFCQGTRLEIKR
VL 2.11 CDR-L1	서열 번호 41 의 24 번 내지 40 번 잔기	RSSQSLLDSDDGNTYLD
VL 2.11 CDR-L2	서열 번호 41 의 56 번 내지 62 번 잔기	TLSTYRAS
VL 2.11 CDR-L3	서열 번호 41 의 95 번 내지 103 번 잔기	MQRIEFPIT

[0231]

[0232] 전술한 분리된 항-IL-18 항체 CDR 서열은 본 발명에 따라 분리되고 이하의 표 2에 정리된 CDR 서열을 포함하는 폴리펩타이드를 포함하는 IL-18 결합 단백질의 신규 그룹이다. 바람직한 IL-18 결합 활성 및/또는 중화 활성을 갖는 본 발명의 CDR을 제조 및 선별하는 데에는 본 명세서에 구체적으로 기술된 방법에 한정됨이 없이 본 발명의 결합 단백질을 제조하고 이 결합 단백질의 IL-18 결합 및/또는 중화 특성을 평가하는 당업계에 공지된 표준 방법을 사용할 수 있다.

[0233] [표 2]

보존성 IL-18 CDR 친화성 리간드 (또 다른 잔기가 각각의 아미노산 잔기 아래에 열거되어 있고 -는 잔기가 부재일 수 있음을 지적한다).

CDR 영역	서열 번호	보존성 서열
CDR-H1	서열 번호 42	$X_1 X_2 X_3 X_4 X_5 X_6 X_7$ S Y W I G - - N G G H Y W T H R Y W S S R S D Y N G Y C S M H V L I D
CDR-H2	서열 번호 43	$X_1 X_2 X_3 X_4 X_5 X_6 X_7 X_8 X_9 X_{10} X_{11} X_{12} X_{13} X_{14} X_{15} X_{16} X_{17}$ F I Y P G D S E T R Y S P T F Q - Y F S Y S G T T Y Y N P S L K S G H W S R G I N S S A D S V K S D R N I V V K H
CDR-H3	서열 번호 44	$X_1 X_2 X_3 X_4 X_5 X_6 X_7 X_8 X_9 X_{10} X_{11} X_{12} X_{13} X_{14} X_{15} X_{16} X_{17} X_{18}$ V G S G W Y P Y T - - - - - D R G S S G S F W F D I Y Y G M D V E D Y Y A S F D D D Y D S S R N G F Y P L Y F Y C K T Y W V M Y H L L D T N G I E V Y W N P Y A V F G
CDR-L1	서열 번호 45	$X_1 X_2 X_3 X_4 X_5 X_6 X_7 X_8 X_9 X_{10} X_{11} X_{12} X_{13} X_{14} X_{15} X_{16} X_{17}$ R A S E S I S S N L A - - - - - K G R I V G G Y L A K N Y L A S Q T L L Y Y S N N T Y L C D H N F N R R D V E N T Y R N S G K H D D G
CDR-L2	서열 번호 46	$X_1 X_2 X_3 X_4 X_5 X_6 X_7$ T A S T R A T G V F I L Q S S T N E W I S F E L R Y
CDR-L3	서열 번호 47	$X_1 X_2 X_3 X_4 X_5 X_6 X_7 X_8 X_9 X_{10}$ Q Q Y N N W P S - - M H N H G S L L I T Y G Y I T T P T S D Y L D C S R G S I I W V Q F I L F F I E

[0234]

[0235] D. 항-IL-18 항체의 용도

[0236] 사람 IL-18에 결합하는 성질이 있다면, 본 발명의 항-사람 IL-18 항체 또는 이의 일부는 통상의 면역분석법, 예컨대 효소 결합된 면역흡착분석법 (ELISA), 방사선면역분석법 (RIA) 또는 조직 면역조직화학법을 통해 사람 IL-18 (예컨대 혈청이나 혈장과 같은 생물학적 시료에서)을 검출하는데 사용할 수 있다. 따라서, 본 발명은 본 발명의 항체 또는 항체 일부와 생물학적 시료를 접촉시키는 단계 및 사람 IL-18에 결합된 항체 (또는 항체 일부) 또는 미결합된 항체 (또는 항체 일부)를 검출하여 생물학적 시료 중의 사람 IL-18을 검출하는 단계를 포함하여 생물학적 시료 중의 사람 IL-18을 검출하는 방법을 제공한다. 항체는 결합된 항체 또는 미결합된 항체의 검출을 용이하게 하기 위한 검출성 물질로 직접 또는 간접적으로 표지된다. 적당한 검출성 물질에는 각종 효소, 보결분자족, 형광 물질, 발광 물질 및 방사능 물질이 있다. 적당한 효소의 예에는 양고추냉이 퍼옥시다제, 알칼리성 포스파타제, β -갈락토시다제 또는 아세틸콜린에스테라제가 있고; 적당한 보결분자족 복합체의 예에는 스트렙타비딘/비오틴 및 아비딘/비오틴이 있으며; 적당한 형광 물질의 예에는 움벨리페론, 플루오레세인, 플루오레세인 이소티오시아네이트, 로다민, 디클로로트리아지닐아민 플루오레세인, 단실 클로라이드 또는 피코에리트린이 있고; 발광 물질의 예에는 루미놀이 있으며; 적당한 방사능 물질의 예에는 ^3H , ^{14}C , ^{35}S , ^{90}Y , ^{99}Tc , ^{111}In , ^{125}I , ^{131}I , ^{177}Lu , ^{166}Ho 또는 ^{153}Sm 이 있다.

[0237] 항체 표지화의 대안으로서, 사람 IL-18은 검출성 물질로 표지된 rhIL-18 표준물질과 미표지된 항사람 IL-18 항

체를 이용한 경쟁 면역분석법을 통해 생물학적 유체 중에서 분석될 수 있다. 이 분석법에 따르면, 생물학적 시료, 표지된 rhIL-18 표준물질 및 항사람 IL-18 항체가 혼합되고, 미표지된 항체에 결합된 표지된 rhIL-18 표준물질의 양이 측정된다. 생물학적 시료에 존재하는 사람 IL-18의 양은 항-IL-18 항체에 결합된 표지된 rhIL-18 표준물질의 양에 반비례한다.

[0238] 본 발명의 항체 및 항체 일부는 시험관내 및 생체내 모두에서 사람 IL-18 활성을 중화시킬 수 있는 것이 바람직하다. 따라서, 이러한 본 발명의 항체 및 항체 일부는 예컨대 hIL-18을 포함하는 세포 배양물에서 또는 본 발명의 항체가 교차반응하는 IL-18을 갖는 사람 대상체 또는 다른 포유동물 대상체에서 hIL-18 활성을 억제하는데 사용될 수 있다. 일 양태에서, 본 발명은 IL-18 활성이 억제되도록 본 발명의 항체 또는 항체 일부와 IL-18을 접촉시키는 것을 포함하여 IL-18 활성을 억제하는 방법을 제공한다. IL-18은 사람 IL-18인 것이 바람직하다. 예를 들어, hIL-18을 포함하거나 포함할 것으로 추정되는 세포 배양물에서, 본 발명의 항체 또는 항체 일부는 상기 배양 배지에 첨가되어 배양물에 존재하는 hIL-18의 활성을 억제할 수 있다.

[0239] 다른 양태에서, 본 발명은 대상체 또는 유리하게는 IL-18 활성이 해로운 질병 또는 질환을 앓고 있는 대상체의 IL-18 활성을 감소시키는 방법을 제공한다. 본 발명은 대상체의 IL-18 활성이 감소되도록 본 발명의 항체 또는 항체 일부를 대상체에게 투여하는 것을 포함하여, 상기 질환이나 질병을 앓고 있는 대상체의 IL-18 활성을 감소시키는 방법을 제공한다. IL-18은 사람 IL-18이고, 대상체는 사람 대상체인 것이 바람직하다. 또는, 대상체는 본 발명의 항체가 결합할 수 있는 IL-18을 발현하는 포유동물일 수 있다. 또한, 대상체는 hIL-18이 도입된 포유동물 (예컨대, hIL-18을 투여하거나 또는 hIL-18 전이유전자의 발현에 의해)일 수 있다. 본 발명의 항체는 치료학적 목적으로 사람 대상체에게 투여될 수 있다. 또한, 본 발명의 항체는 수의학적 목적에서 또는 사람 질병의 동물 모델로서 상기 항체가 결합할 수 있는 IL-18을 발현하는 비사람 포유동물에게 투여될 수 있다. 후자인 경우에, 이러한 동물 모델은 본 발명의 항체의 치료학적 효능을 평가하는데 유용할 수 있다 (예컨대, 투약량 검사 및 투여 시간 검사).

[0240] 본 명세서에 사용된 바와 같은, "IL-18 활성이 해로운 질환"이란 용어는 이 질환을 앓고 있는 대상체 중의 IL-18의 존재가 이 질환의 병태생리학에 책임이 있거나 이 질환의 악화에 기여하는 인자인 것으로 밝혀졌거나 의심되는 질병 및 다른 질환을 포함하는 것으로 간주한다. 따라서, IL-18 활성이 해로운 질환은 IL-18 활성의 감소로 그 증후군 및/또는 그 질환의 진행이 경감될 것으로 예상되는 질환이다. 이러한 질환은 예컨대 이 질병을 앓고 있는 대상체의 생물학적 유체에 존재하는 IL-18의 농도의 증가 (예컨대, 대상체의 혈청, 혈장, 윤활액 등에 존재하는 IL-18 농도의 증가)를 통해 확인할 수 있으며, 상기 농도는 예컨대 전술한 바와 같은 항-IL-18 항체를 사용하여 검출할 수 있다. 본 발명의 항체로 치료될 수 있는 질환의 비제한적 예에는 본 발명의 항체를 포함한 약제학적 조성물에 관한 이하의 문단에 논의되는 질환이 포함된다.

[0241] D. 약제학적 조성물

[0242] 또한, 본 발명은 본 발명의 항체 또는 항원 결합부와 약제학적으로 허용되는 담체를 포함하는 약제학적 조성물을 제공한다. 일 양태에서, 약제학적 조성물은 추가로 IL-18 활성이 해로운 질환을 치료하기 위한 다른 추가 치료제를 하나 이상 포함한다.

[0243] 본 발명의 항체 및 항체 일부는 대상체에게 투여하기에 적합한 약제학적 조성물에 혼입될 수 있다. 일반적으로, 약제학적 조성물은 본 발명의 항체 또는 항체 일부와 약제학적으로 허용되는 담체를 포함한다. 본 명세서에 사용된 바와 같은 "약제학적으로 허용되는 담체"란 용어에는 생리학적으로 화합성인 임의의 모든 용매, 분산매질, 코팅, 항균제 및 항진균제, 등장제 및 흡수 지연제 등이 포함된다. 약제학적으로 허용되는 담체의 예에는 물, 식염수, 인산염완충 식염수, 텍스트로스, 글리세롤, 에탄올 등 중의 하나 이상 또는 이의 조합물이 포함된다. 대부분의 경우에는 조성물에 당과 같은 등장제, 만니톨, 소르비톨과 같은 다알콜 또는 염화나트륨이 포함되는 것이 바람직하다. 약제학적으로 허용되는 담체는 추가로 항체 또는 항체 일부의 유효 수명이나 효과를 증강시키는 습윤화제 또는 유화제, 보존제 또는 완충액과 같은 보조 물질을 소량 포함할 수도 있다.

[0244] 본 발명의 항체 및 항체 일부는 비경구 투여에 적합한 약제학적 조성물에 혼입될 수 있다. 여기서, 항체 또는 항체 일부는 항체 0.1 내지 250mg/ml를 포함하는 주사 용액으로 제조하는 것이 바람직하다. 주사 용액은 플린트 또는 호박색 바이엘, 앰플 또는 사전충진 주사기 중의 액체 또는 동결건조 투약 형태로 구성될 수 있다. 완충액은 pH 5.0 내지 7.0 (최적으로는 pH 6.0)의 L-히스티딘 (1-50mM), 최적으로는 5-10mM일 수 있다. 다른 적당한 완충액으로는 석신산나트륨, 구연산나트륨, 인산나트륨 또는 인산칼륨이 있으나, 이에 국한되지 않는다. 염화나트륨은 0 내지 300mM (액체 투약량 형태인 경우 최적으로는 150mM)의 농도로 용액의 독성을 개질하는데 사용될 수 있다. 동결건조 투약 형태에는 동결방지제, 주로 0 내지 10% 슈크로스 (최적으로는 0.5 내지 1.0%)가 첨가될

수 있다. 다른 적당한 동결방지제에는 트레할로스 및 락토스가 있다. 동결건조 투약 형태에는 장확장성 약물, 주로 1 내지 10% 만니톨 (최적으로는 2 내지 4%)이 첨가될 수 있다. 액체 및 동결건조 투약 형태에는 안정화제, 주로 1 내지 50mM L-메티오닌 (최적으로는 5 내지 10mM)이 첨가될 수 있다. 다른 적당한 장확장성 약물에는 글리신, 아르기닌이 있으며, 이는 0 내지 0.05% 폴리소르베이트-80 (최적으로는 0.005 내지 0.01%)으로서 포함될 수 있다. 또 다른 계면활성제에는 폴리소르베이트 20 및 BRIJ 계면활성제가 있으나, 이에 국한되지 않는다.

[0245] 본 발명의 조성물은 다양한 형태일 수 있다. 이러한 형태에는 예컨대 액체, 반고체 및 고체 투약 형태, 예컨대 액체 용액 (예, 주사 용액 및 주입 용액), 분산액 또는 현탁액, 정제, 환제, 산제, 리포솜 및 좌약 등이 포함된다. 바람직한 형태는 의도하는 투여 방식 및 치료 용도마다 다르다. 일반적으로 바람직한 조성물은 주사 용액 또는 주입 용액 형태, 예컨대 다른 항체로 사람을 수동 면역화하는데 사용되는 조성물과 유사한 조성물이다. 바람직한 투여 방식은 비경구 (예컨대, 정맥내, 피하, 복강내, 근육내) 방식이다. 바람직한 양태에서, 항체는 정맥내 주입 또는 주사로 투여된다. 또 다른 바람직한 양태에서, 항체는 근육내 또는 피하 주사로 투여된다.

[0246] 치료학적 조성물은 일반적으로 멸균될 수 있고 제조 및 보관 조건 하에서 안정해야 한다. 이러한 조성물은 용액, 마이크로에멀전, 분산액, 리포솜 또는 높은 약물 농도에 적당한 다른 주문 구조로 조제될 수 있다. 멸균 주사 용액은 필요량의 활성 화합물 (즉, 항체 또는 항체 일부)을, 필요에 따라 앞에서 열거한 성분 중 하나 또는 성분의 조합과 함께 적당한 용매에서 혼합한 다음, 여과 멸균하여 제조할 수 있다. 일반적으로, 분산액은 기본 분산 매질과 필요에 따라 전술한 다른 성분을 포함하는 멸균 매개체에 활성 화합물을 첨가하여 제조한다. 멸균 주사 용액의 제조에 유용한 멸균 동결건조 분말의 경우에, 바람직한 제조방법은 전술한 멸균 여과 용액으로부터 활성 성분과 임의의 바람직한 추가 성분의 분말을 제공하는 진공 건조 및 분무 건조이다. 용액의 적당한 유체성은 예컨대 레시틴과 같은 코팅의 사용, 분산액의 경우에 필요한 입자 크기의 유지 및 계면활성제의 사용을 통해 유지될 수 있다. 주사 조성물의 지속적 흡수는 조성물에 흡수 지연제, 예컨대 모노스테아레이트 염 및 젤라틴을 첨가하여 제공할 수 있다.

[0247] 본 발명의 항체 및 항체 일부는 당업계에 공지된 다양한 방법으로 투여할 수 있지만, 다양한 치료학적 용도에서 바람직한 투여 경로/방식은 피하 주사, 정맥내 주사 또는 주입이다. 당업자라면 잘 알고 있듯이, 투여 경로 및/또는 방식은 원하는 결과에 따라 달라진다. 특정 양태에서, 활성 화합물은 이 화합물이 신속 방출되지 않게 하는 담체와 함께 조제될 수 있으며, 그 예에는 임플란트, 경피 패치 및 마이크로캡슐화된 전달 시스템을 비롯한 조절 방출 제형이 있다. 여기에는 에틸렌 비닐 아세테이트, 폴리무수물, 폴리글리콜산, 콜라겐, 폴리오르토에스테르 및 폴리락트산과 같은 생체분해성, 생체화합성 중합체가 사용될 수 있다. 이러한 제형을 제조하는 다수의 방법은 특허되어 있거나 당업자에게 일반적으로 공지되어 있다[예컨대, Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems, J.R.Robinson, ed., Marcel Dekker, Inc., New York, 1978].

[0248] 특정 양태에서, 본 발명의 항체 또는 항체 일부는 예컨대 불활성 희석제 또는 동화성 식용 담체와 함께 경구 투여될 수 있다. 이러한 화합물 (및 필요한 경우 다른 성분)은 또한 경질 또는 연질 외피의 젤라틴 캡슐에 충전되거나, 정제로 압착되거나 또는 대상체 식이에 직접 첨가될 수도 있다. 경구 치료 투여용인 경우, 상기 화합물은 부형제와 혼합되어 섭취성 정제, 협착 정제, 트로키, 캡슐; 엘릭시르, 현탁액, 시럽, 웨이퍼 등의 형태로 사용될 수 있다. 비경구 투여의 다른 방식으로 본 발명의 화합물을 투여하기 위해서는 화합물을 불활성화 방지용 물질로 코팅하거나 또는 상기 방지용 물질과 함께 공동 투여할 필요가 있을 수 있다.

[0249] 또한, 보충적 활성 화합물이 상기 조성물에 첨가될 수도 있다. 특정 양태에서, 본 발명의 항체 또는 항체 일부는 IL-18 활성이 해로운 질환의 치료에 유용한 하나 이상의 추가 치료제와 함께 공동조제되고 (되거나) 공동투여된다. 예를 들어, 본 발명의 항-hIL-18 항체 또는 항체 일부는 다른 표적 (예컨대, 다른 사이토킨에 결합하거나 세포 표면 분자에 결합하는 항체)에 결합하는 하나 이상의 추가 항체와 공동조제 및/또는 공동투여될 수 있다. 또한, 본 발명의 하나 이상의 항체는 전술한 치료제 2종 이상과 함께 사용될 수 있다. 이러한 복합 치료는 투여되는 치료제를 보다 낮은 투약량으로 사용할 수 있게 하여 각종 단독치료법과 관련된 가능한 독성 또는 합병증을 피할 수 있으므로 바람직하다.

[0250] 특정 양태에서, IL-18에 대한 항체 또는 이의 단편은 당업계에 공지된 반감기 확대 매개체에 결합되기도 한다. 이러한 매개체에는 Fc 도메인, 폴리에틸렌 글리콜 및 텍스트란이 있으나, 이에 국한되는 것은 아니다. 이러한 매개체는 본원에 참고인용된 미국 출원 일련번호 09/428,082 및 공개된 PCT 출원 WO 99/25044에 기술되어 있다.

[0251] 인터류킨 18은 면역 및 염증 인자를 수반하는 각종 질병과 관련 있는 병 상태에서 중요한 역할을 한다. 이러한 질병에는 류마티스성 관절염, 골관절염, 소아만성관절염, 패혈성 관절염, 라임 관절염, 건선 관절염, 반응 관절

염, 척추관절염, 전신홍반루푸스, 크론병, 폐양성 결장염, 염증장병, 인슐린 의존 진성 당뇨병, 갑상샘염, 천식, 알레르기병, 건선, 피부염 피부경화증, 이식대숙주병, 기관 이식거부, 기관 이식과 관련된 급성 또는 만성 면역병, 사르코이드증, 죽상경화증, 파종 혈관내 응고, 가와사키병, 그레이브스병, 신장증후군, 만성피로증후군, 베게너 육아종증, 헨녹-췌라인 자반증 (Henoch-Schoenlein purpura), 신장의 현미경적 혈관염, 만성 활성 간염, 포도막염, 패혈 쇼크, 독소 쇼크 증후군, 패혈증 증후군, 악액질, 감염성 질병, 기생충병, 후천성 면역결핍 증후군, 급성 횡단 척수염, 헌팅턴씨 무도병, 파킨슨씨병, 알츠하이머병, 졸중, 1차담관성간경화증, 용혈빈혈, 악성암, 심부전증, 심근경색, 애디슨씨병, 산발성, 다선성 결핍 I형 및 다선성 결핍 II형, 슈미트씨 증후군, 성인 (급성) 호흡곤란증후군, 탈모증, 원형탈모증, 혈청음성 관절증, 관절증, 라이터씨병, 건선관절증, 폐양성결장염관절증, 창자병 윤활막염, 클라미디아, 예르시니아 및 살모넬라 관련 관절증, 척추관절증, 죽상병/동맥경화증, 아토피성 알레르기, 자가면역수포병, 보통천포창, 낙엽천포창, 유사천포창, 선형 IgA 병, 자가면역 용혈빈혈, 쿼스 양성 용혈빈혈, 후천성 악성빈혈, 소아악성빈혈, 근육통성 뇌염/로알 프리병 (Royal Free Disease), 만성 점막피부칸디다증, 거대세포 동맥염, 1차 경화증 간염, 잠복성 자가면역 간염, 후천성 면역결핍 증후군, 후천성 면역결핍 관련병, B형 간염, C형 간염, 공통가변성면역결핍 (공통가변성 저감마글로불린결핍), 확장성 심근증, 여성 불임, 난소부전, 조기 난소부전, 섬유소성 폐병, 잠복성 섬유화 폐포염, 염증후 간질성 폐병, 간질성 폐렴, 결합조직병 관련 간질성 폐병, 복합 결합조직병 관련 폐병, 전신 경화증 관련 간질성 폐병, 류마티스성 관절염 관련 간질성 폐병, 전신홍반루푸스 관련 폐병, 피부근육염/다발근육염 관련 폐병, 쇼그렌병 관련 폐병, 감각척추염 관련 폐병, 혈관염성 광범위 폐병, 혈철소증 관련 폐병, 약물 유도 간질성 폐병, 섬유증, 방사선 섬유증, 폐쇄세기관지염, 만성 호산구성 폐렴, 림프구성 침윤 폐병, 감염후 간질성 폐병, 통풍 관절염, 자가면역 간염, 1형 자가면역 간염 (전형적 자가면역 또는 루푸스 간염), 2형 자가면역 간염 (항LKM 항체 간염), 자가면역 매개 저혈당증, 흑색가시세포증 관련 B형 인슐린 내성, 부갑상샘저하증, 기관 이식 관련 급성 면역 질환, 기관 이식 관련 만성 면역 질환, 골관절염, 1차경화담관염, 건선 1형, 건선 2형, 특발성 백혈구 감소증, 자가면역 호중구 감소증, 신장병 NOS, 사구체신염, 신장의 현미경적 혈관염, 라이병, 원반형 홍반루푸스, 특발성 또는 NOS 남성 불임, 정자 자가면역성, 다발성 경화증 (모든 서브타입), 교감 눈염증, 결합조직 질환에 부차적인 폐 고혈압, 굿파스처 증후군, 결절다발동맥염의 폐동맥 징후, 급성 류마티스열, 류마티스성 척추염, 스틸스병, 전신 경화증, 쇼그렌 증후군, 다카야스씨병/동맥염, 자가면역 저혈소판증, 특발성 저혈소판증, 자가면역 갑상샘 질환, 갑상샘항진증, 자가면역 갑상샘저하증 (하시모토씨병), 위축 자가면역 갑상샘저하증, 1차 점액부종, 수정체성 포도막염, 1차 혈관염, 백반증, 급성 간질환, 만성 간질환, 알콜간경화증, 알콜 유도 간손상, 담즙정체증, 특이 간질환, 약물 유도 간염, 비알콜성 지방간염, 알레르기 및 천식, 그룹 B 스트렙토코커스 (GBS) 감염, 정신 질환 (예, 우울증 및 정신분열병), Th2형 및 Th1형 매개 병, 급성 및 만성 통증 및 암, 예컨대 폐, 유방, 위, 방광, 결장, 췌장, 난소, 전립선 및 직장의 암 및 조혈계 암 (백혈병 및 림프종) 등이 있으나, 이에 국한되지 않는다. 본 발명의 사람 항체 및 항체 일부는 자가면역 질병, 구체적으로 염증 관련 질병, 예컨대 류마티스성 척추염, 알레르기, 자가면역 당뇨병, 자가면역 포도막염 등을 앓고 있는 사람의 치료에 사용될 수 있다.

[0252] 본 발명의 항체 또는 이의 항원 결합부는 류마티스성 관절염, 크론병, 다발성 경화증, 인슐린 의존 진성 당뇨병 및 건선의 치료에 사용되는 것이 바람직하다.

[0253] 또한, 본 발명의 항체 또는 항체 일부는 자가면역 및 염증 질병의 치료에 유용한 1종 이상의 추가 치료제와 함께 투여될 수 있다.

[0254] 본 발명의 항체 또는 이의 항원 결합부는 전술한 질병의 치료에 단독으로 또는 복합물로서 사용될 수 있다. 본 발명의 항체 또는 이의 항원 결합부는 단독으로 사용되거나 또는 의도한 목적에 따라 당업자에 의해 선택된 추가 제제, 예컨대 치료제와 함께 사용될 수 있는 것으로 이해되어야 한다. 예를 들어, 추가 제제는 본 발명의 항체에 의해 치료되는 질병이나 증상의 치료에 유용한 것으로 인식된 치료제 분야일 수 있다. 또한, 추가 제제는 치료 조성물에 유익한 특성을 부여하는 제제, 예컨대 조성물의 점도에 유효한 제제일 수 있다.

[0255] 또한, 본 발명에 포함되어야 하는 복합물은 의도한 목적에 유용한 복합물로 이해되어야 한다. 이하에 설명되는 제제는 목적에 유용한 예시적 제제로서, 한정하기 위한 것이 아니다. 본 발명의 일부인 복합물은 본 발명의 항체와 이하에 기술되는 목록 중에서 선택되는 하나 이상의 추가 제제일 수 있다. 이러한 복합물은 또한 하나 이상의 추가 제제를 포함할 수 있으며, 예를 들어 형성된 조성물이 의도한 기능을 수행할 수 있을 정도의 복합이라면 2개 또는 3개의 추가 제제가 첨가될 수도 있다.

[0256] 바람직한 복합물은 이부프로펜과 같은 약물을 포함하는 NSAID로 불리기도 하는 비스테로이드성 소염제이다. 다른 바람직한 복합물은 프레드니솔론을 비롯한 코르티코스테로이드류이며; 본 발명의 항-IL-18 항체와 함께 환자

를 치료하는 경우, 필요한 스테로이드 용량이 점감되어 스테로이드 사용 시의 공지된 부작용이 저하되거나 심지어 제거될 수 있다. 본 발명의 항체 또는 항체 일부와 배합될 수 있는 류마티스성 관절염용 치료제의 비제한적 예에는 다음과 같은 것이 있다: 사이토킨 억제성 소염제 (CSAID); 다른 사람 사이토킨 또는 성장인자 (예컨대, TNF, LT, IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-12, IL-15, IL-16, IL-21, IL-23, 인터페론, EMAP-II, GM-CSF, FGF 및 PDGF)에 대한 항체 또는 길항제. 본 발명의 항체 또는 이의 항원 결합부는 CD2, CD3, CD4, CD8, CD25, CD28, CD30, CD40, CD45, CD69, CD80 (B7.1), CD86 (B7.2), CD90, CTLA와 같은 세포 표면 분자 또는 이들의 리간드, 예컨대 CD154 (gp39 또는 CD40L)에 대한 항체와 조합될 수 있다.

[0257] 치료제의 바람직한 복합물은 자가면역 및 후속 염증 캐스캐이드의 여러 지점에서 방해할 수 있다; 바람직한 예에는 키메라, 사람화된 또는 사람 TNF 항체와 같은 TNF 길항제, D2E7 (PCT 공개 번호 WO 97/29131), CA2 (Remicade™), CDP 571 및 용해성 p55 또는 p75 TNF 수용체, 이의 유도체 (p75TNFR1gG (Enbrel™) 또는 p55TNFR1gG (Lenercept)), 및 TNF α 전환 효소 (TACE) 억제제가 있으며, 이와 마찬가지로 IL-1 억제제 (인터류킨-1 전환 효소 억제제, IL-1RA 등)가 같은 이유로 인해 효과적일 수 있다. 다른 바람직한 복합물에는 인터류킨 11이 있다. 또 다른 바람직한 복합물은 IL-18 기능과 병행하거나, IL-18 기능에 의존적이거나 IL-18 기능과 협동적인 작용을 할 수 있는 자가면역 반응의 다른 주요 작용인자이다. 특히 바람직한 예는 IL-12 항체 또는 용해성 IL-12 수용체를 포함하는 IL-12 길항제 또는 IL-12 결합 단백질이다. 확인된 바에 따르면, IL-12와 IL-18이 중복되지만 독특한 기능을 보유하여, 이 둘에 대한 길항제의 복합물이 가장 효과적이었다. 또 다른 바람직한 복합물은 비고갈성 항-CD4 억제제이다. 또 다른 바람직한 복합물에는 공동자극 경로의 길항제 CD80 (B8.1) 또는 CD86 (B7.2), 예컨대 항체, 용해성 수용체 또는 길항제성 리간드 등이 포함된다.

[0258] 본 발명의 항체 또는 이의 항원 결합부는 또한 메토크세이트, 6-MP, 아자티오프린 설파살라진, 메살라진, 올살라진 클로로퀸/하이드록시클로로퀸, 펜실라민, 오로 티오말레이트 (근육내 및 경구), 아자티오프린, 콜히친, 코르티코스테로이드 (경구, 흡입 및 국소 주사), 베타-2 아드레날린수용체 효능제 (살부타몰, 터부탈린, 살메테롤), 크산틴 (테오필린, 아미노필린), 크로모글리케이트, 네도크로밀, 케토티펜, 이프라트로핀 및 옥시트로핀, 사이클로스포린, FK506, 라파마이신, 미코페놀레이트 모페틸, 레플루노미드, NSAID, 예컨대 이부프로펜, 코르티코스테로이드, 예컨대 프레드니솔론, 포스포디에스테라제 억제제, 아데노신 효능제, 항혈전제, 보체 억제제, 아드레날린작용제, 염증 촉진 사이토킨, 예컨대 TNF α 또는 IL-1에 의한 시그널 전달을 방해하는 제제 (예, IRAK, NIK, IKK, p38 또는 MAP 키나제 억제제), IL-1 β 전환효소 억제제, 메탈로프로테이나제 억제제, 설파살라진, 아자티오프린, 6-머캅토프린, 안지오텐신 전환 효소 억제제, 용해성 사이토킨 수용체 및 이의 유도체 (예, 용해성 p55 또는 p75 TNF 수용체 및 유도체 p75TNFR1gG (Enbrel™ 및 p55TNFR1gG (Lenercept)), sIL-1RI, sIL-1RII, sIL-6R), 소염성 사이토킨 (예, IL-4, IL-10, IL-11, IL-13 및 TGF β), 셀레콕시브, 엽산, 하이드록시클로로퀸 설페이트, 로페콕시브, 에타너셉트, 인플릭시마브, 나프록센, 발데콕시브, 설파살라진, 메틸프레드니솔론, 멜록시캄, 메틸프레드니솔론 아세테이트, 골드 나트륨 티오말레이트, 아스파린, 트리아미놀론 아세토나이드, 프로폭시펜 나프실레이트/apap, 플레이트, 나부메톤, 디클로페낙, 피록시캄, 에토돌락, 디클로페낙 나트륨, 옥사프로진, 옥시코돈 hcl, 하이드로코돈 비타르트레이트/apap, 디클로페낙 나트륨/미소프로스톨, 펜타닐, 아나킨라, 사람 재조합제, 트라마돌 hcl, 살살레이트, 설린당, 시아노코발라민/fa/피리독신, 아세트아미노펜, 알렌드로네이트 나트륨, 프레드니솔론, 몰핀 설페이트, 리도카인 하이드로클로라이드, 인도메타신, 글루코사민 설프/콘드로이틴, 아미트립틸린 hcl, 설파디아진, 옥시코돈 hcl/아세트아미노펜, 울로파타딘 hcl, 미소프로스톨, 나프록센 나트륨, 오메프라졸, 시클로포스파미드, 리톡시마브, IL-1 TRAP, MRA, CTLA4-IG, IL-18BP, 항-IL-12, 항-IL15, BIRB-796, SCIO-469, VX-702, AMG-548, VX-740, 로플루밀라스트, IC-485, CDC-801 및 메소프람 등의 제제와도 배합될 수 있다. 바람직한 복합물에는 메토크세이트 또는 레플루노미드가 있으며, 보통 또는 중증 류마티스성 관절염 증례에는 사이클로스포린이 바람직하다.

[0259] 본 발명의 항체 또는 항체 일부가 배합될 수 있는 염증장병에 유용한 치료제의 비제한적 예에는 다음과 같은 것이 있다: 부데노사이드; 표피 성장 인자; 코르티코스테로이드; 사이클로스포린, 설파살라진; 아미노살리실레이트; 6-머캅토프린; 아자티오프린; 메트로니다졸; 리폭시게나제 억제제; 메살라민; 올살라진; 발살라지드; 항산화제; 트롬복산 억제제; IL-1 수용체 길항제; 항-IL-1 β 모노클로날 항체; 항-IL-6 모노클로날 항체; 성장인자; 엘라스타제 억제제; 피리디닐-이미다졸 화합물; 다른 사람 사이토킨 또는 성장인자, 예컨대 TNF, LT, IL-1, IL-2, IL-6, IL-7, IL-8, IL-12, IL-15, IL-16, EMAP-II, GM-CSF, FGF 및 PDGF 등에 대한 항체 또는 길항제. 본 발명의 항체 또는 이의 항원 결합부는 세포 표면 분자, 예컨대 CD2, CD3, CD4, CD8, CD25, CD30, CD40, CD45, CD69, CD90 또는 이들의 리간드에 대한 항체와 조합될 수도 있다. 본 발명의 항체 또는 이의 항원 결합부는 또한 제제, 예컨대 메토크세이트, 사이클로스포린, FK506, 라파마이신, 마이코페놀레이트 모페틸, 레플루노미드, NSAID, 예컨대 이부프로펜, 코르티코스테로이드, 예컨대 프레드니솔론, 포스포디에스테라제 억

제제, 아데노신 효능제, 항혈전제, 보체 억제제, 아드레날린작용제, TNF α 또는 IL-1과 같은 염증 촉진 사이토 킨에 의한 시그널 전달을 방해하는 제제 (예, IRAK, NIK, IKK, p38 또는 MAP 키나제 억제제), IL-1 β 전환효소 억제제, TNF α 전환효소 억제제, T-세포 시그널 전달 억제제, 예컨대 키나제 억제제, 메탈로프로테이나제 억제제, 설파살라진, 아자티오프린, 6-머캅토피린, 안지오텐신 전환 효소 억제제, 설파살라진, 아자티오프린, 6-머캅토피린, 안지오텐신 전환 효소 억제제, 용해성 사이토킨 수용체 및 이의 유도체 (예, 용해성 p55 또는 p75 TNF 수용체, sIL-1RI, sIL-1RII, sIL-6R) 및 소염성 사이토킨 (예, IL-4, IL-10, IL-11, IL-13 및 TGF β) 과 배합될 수 있다.

[0260] 항체 또는 항원 결합부가 배합될 수 있는 크론병 치료제의 바람직한 예에는 다음과 같은 것이 있다: TNF 길항제, 예컨대 항-TNF 항체, D2E7 (PCT 공개 WO 97/29131; HUMIRA), CA2 (REMICADE), CDP 571, TNFR-Ig 작제 물, (p75TNFR1gG (Enbrel™) 또는 p55TNFR1gG (Lenercept)) 억제제 및 PDE4 억제제. 본 발명의 항체 또는 이 의 항원 결합부는 코르티코스테로이드, 예컨대 부테노사이드 및 텍사메타손과 배합될 수 있다. 본 발명의 항체 또는 이의 항원 결합부는 또한 설파살라진, 5-아미노살리실산 및 올살라진과 같은 제제, 및 염증 촉진 사이토킨, 예컨대 IL-1, 예를 들어 IL-1 β 전환효소 억제제 및 IL-1ra의 합성 또는 작용을 방해하는 제제와 배 합될 수 있다. 본 발명의 항체 또는 이의 항원 결합부는 또한 T 세포 시그널 전달 억제제, 예컨대 타이로신 키 나제 억제제 6-머캅토피린과 함께 사용될 수 있다. 본 발명의 항체 또는 이의 항원 결합부는 IL-11과 배합될 수 있다. 본 발명의 항체 또는 이의 항원 결합부는 메살라민, 프레드니손, 아자티오프린, 머캅토피린, 인플릭시마 브, 메틸프레드니솔론 나트륨 석시네이트, 디페녹실레이트/아트로프 설페이트, 로퍼아미드 하이드로클로라이드, 메토트렉세이트, 오메프라졸, 플레이트, 시프로플록사신/텍스트로스-물, 하이드로코돈 비타르트레이트/apap, 테 트라사이클린 하이드로클로라이드, 플루오시노나이드, 메트로니다졸, 티메로살/붕산, 콜레스티라민/슈크로스, 시프로플록사신 하이드로클로라이드, 하이오시아민 설페이트, 메페리딘 하이드로클로라이드, 미다졸람 하이드로 클로라이드, 옥시코돈 hcl/아세트아미노펜, 프로메타진 하이드로클로라이드, 인산나트륨, 설파메톡사졸/트리메 토프림, 셀레코시브, 폴리카르보필, 프로폭시펜 나프실레이트, 하이드로코르티손, 멀티비타민, 발살라지드 이나 트륨, 코데인 포스페이트/메페, 콜레세벨람 hcl, 시아노코발라민, 엽산, 레보플록사신, 메틸프레드니솔론, 나탈 리주마브 및 인터페론-감마와 배합될 수 있다.

[0261] 본 발명의 항체 또는 항체 일부와 배합될 수 있는 다발성 경화증 치료제의 비제한적 예에는 다음과 같은 것이 있다: 코르티코스테로이드; 메토트렉세이트; 4-아미노피리딘; 티자니딘; 인터페론- β 1a (AVONEX; Biogen); 인터 페론- β 1b (BETASERON; Chiron/Berlex); 인터페론 α -n3 (Interferon Sciences/Fujimoto), 인터페론- α (Alfa Wassermann/J&J), 인터페론 β 1A-IF (Serono/Inhale Therapeutics), 페그인터페론 α 2b (Enzon/Schering- Plough), 코폴리머 1 (Cop-1; COPAXONE; Teva Pharmaceutical Industries, Inc.); 고압 산소; 정맥내 면역글로 불린; 클라브리빈; 다른 사람 사이토킨 또는 성장인자 및 이의 수용체, 예컨대 TNF, LT, IL-1, IL-2, IL-6, IL- 7, IL-8, IL-12, IL-23, IL-15, IL-16, EMAP-II, GM-CSF, FGF 및 PDGF에 대한 항체 또는 길항제. 본 발명의 항체 또는 이의 항원 결합부는 CD2, CD3, CD4, CD8, CD19, CD20, CD25, CD28, CD30, CD40, CD45, CD69, CD80, CD86, CD90과 같은 세포 표면 분자 또는 이의 리간드에 대한 항체와 조합될 수 있다. 본 발명의 항체 또는 이의 항원 결합부는 또한 제제, 예컨대 메토트렉세이트, 사이클로스포린, FK506, 라파마이신, 마이코페놀레이트 모페 틸, 레플루노마이드, NSAID, 예컨대 이부프로펜, 코르티코스테로이드, 예컨대 프레드니솔론, 포스포디에스테라 제 억제제, 아데노신 효능제, 항혈전제, 보체 억제제, 아드레날린작용제, TNF α 또는 IL-1과 같은 염증 촉진 사 이토킨에 의한 시그널 전달을 방해하는 제제 (예, IRAK, NIK, IKK, p38 또는 MAP 키나제 억제제), IL-1 β 전환 효소 억제제, TACE 억제제, T-세포 시그널 전달 억제제, 예컨대 키나제 억제제, 메탈로프로테이나제 억제제, 설 파살라진, 아자티오프린, 6-머캅토피린, 안지오텐신 전환 효소 억제제, 설파살라진, 아자티오프린, 6-머캅토피 린, 안지오텐신 전환 효소 억제제, 용해성 사이토킨 수용체 및 이의 유도체 (예, 용해성 p55 또는 p75 TNF 수용 체, sIL-1RI, sIL-1RII, sIL-6R) 및 소염성 사이토킨 (예, IL-4, IL-10, IL-13 및 TGF β)과 배합될 수 있다.

[0262] 본 발명의 항체 또는 이의 항원 결합부와 배합될 수 있는 다발성 경화증 치료제의 바람직한 예에는 인터페론 β , 예컨대 IFN β 1a 및 IFN β 1b; 코팍손, 코르티코스테로이드, 카스파제 억제제, 예컨대 카스파제-1 억제제, IL-1 억제제, TNF 억제제 및 CD40 리간드 및 CD80에 대한 항체가 포함된다.

[0263] 본 발명의 항체 또는 이의 항원 결합부는 또한 제제, 예컨대 알렘투주마브, 드로나비놀, 유니메드, 다클리주마 브, 미토크산트론, 크살리 프로텐 하이드로클로라이드, 팜프리딘, 글라티라머 아세테이트, 나탈리주마브, 신나 비돌, a-임퓨노킨 NNS03, ABR-215062, AnergiX.MS, 케목킨 수용체 길항제, BBR-2778, 칼라구알린, CPI-1189, LEM (리포좀 캡슐화된 미토크산트론), THC.CBD (칸나비노이드 효능제) MBP-8798, 메소프람 (PDE4 억제제), MNA-715, 항-IL-6 수용체 항체, 뉴로박스, 피르페니돈, 알로트랩 1258 (RDP-1258), sTNF-R1, 탈람파넬, 테리플

루노마이드, TGF-베타2, 티플리모타이드, VLA-4 길항제 (예컨대, TR-14035, VLA4 Ultrahaler, Antegran-ELAN/Biogen), 인터페론 감마 길항제, IL-4 효능제와 배합될 수 있다.

[0264] 본 발명의 항체 또는 항체 일부와 배합될 수 있는 협심증 치료제의 비제한적 예에는 다음과 같은 것이 있다: 아스피린, 니트로글리세린, 이소소르비드 모노니트레이트, 메토프롤롤 석시네이트, 아테놀로, 메토프롤롤 타르트레이트, 암로디핀 베실레이트, 딜티아젠펙 하이드로클로라이드, 이소소르비드 디니트레이트, 클로피도그렐 비설페이트, 니페디핀, 이토바스타틴 칼슘, 염화칼슘, 후로세미드, 심바스타틴, 베라파밀 hcl, 디곡신, 프로프라놀롤, 하이드로클로라이드, 카베딜롤, 리시노프릴, 스피로노락톤, 하이드로클로로티아지드, 에나라프릴 말레이트, 나돌로, 라미프릴, 에녹사파린 나트륨, 헤파린 나트륨, 발사르탄, 소탈롤 하이드로클로라이드, 페노피브레이트, 에세티미브, 부메타니드, 로사탄 포타슘, 리시노프릴/하이드로클로로티아지드, 펠로디핀, 캅토프릴, 비소프롤롤 푸마레이트.

[0265] 본 발명의 항체 또는 항체 일부와 배합될 수 있는 강직 척추염 치료제의 비제한적 예에는 다음과 같은 것이 있다: 이브프로펜, 디클로페낙 및 미소프로스톨, 나프록센, 멜록시캄, 인도메타신, 디클로페낙, 셀레콕시브, 로페콕시브, 설파살라진, 메토티렉세이트, 아자티오프린, 미노시클린, 프레드니손, 에타너셉트, 인플릭시마브.

[0266] 본 발명의 항체 또는 항체 일부와 배합될 수 있는 천식 치료제의 비제한적 예에는 다음과 같은 것이 있다: 알부테롤, 살메테롤/플루티카손, 몬테루카스트 나트륨, 플루티카손 프로피오네이트, 부테소니드, 프레드니손, 살메테롤 크시나포에이트, 레발부테롤 hcl, 알부테롤 설페이트/이프라트로프, 프레드니솔론 나트륨 포스페이트, 트리암시놀론 아세토나이드, 베클로메타손 디프로피오네이트, 이프라트로프 브로마이드, 아지트로마이신, 피르부테롤 아세테이트, 프레드니솔론, 무수 테오필린, 메틸프레드니솔론 나트륨 석시네이트, 클라리트로마이신, 자피르루카스트, 포르모테롤 푸마레이트, 인플루엔자 바이러스 백신, 메틸프레드니솔론, 아목시실린 트리하이드레이트, 플루니솔라이드, 알레르기 주사, 크로몰린 나트륨, 펙소페나딘 하이드로클로라이드, 플루니솔라이드/멘톨, 아목시실린/클라불라네이트, 레보플록사신, 흡입기 보조 장치, 구아이페네신, 텍사메타손 나트륨 포스페이트, 목시플록사신 hcl, 독시사이클린 하이드레이트, 구아이페네신/d-메토프, p-에페드린/cod/클로페니르, 가티플록사신, 세테리진 하이드로클로라이드, 모메타손 푸로에이트, 살메테롤 신나포에이트, 벤조나테이트, 세팔렉신, pe/하이드로코돈/클로르페니르, 세티리진 hcl/슈도에페드, 페닐에프린/cod/프로메타진, 코데인/프로메타진, 세프프로질, 텍사메타손, 구아이페네신/슈도에페드린, 클로페니라민/하이드로코돈, 네도크로밀 나트륨, 테르부탈린 설페이트, 에피네프린, 메틸프레드니솔론, 메타프로테레놀 설페이트.

[0267] 본 발명의 항체 또는 항체 일부와 배합될 수 있는 COPD 치료제의 비제한적 예에는 다음과 같은 것이 있다: 알부테롤 설페이트/이프라트로프, 이프라트로프 브로마이드, 살메테롤/플루티카손, 알부테롤, 살메테롤 크시나포에이트, 플루티카손 프로피오네이트, 프레드니손, 무수 테오필린, 메틸프레드니솔론 나트륨 석시네이트, 몬테루카스트 나트륨, 부테소니드, 포르모테롤 푸마레이트, 트리암시놀론 아세토나이드, 레보플록사신, 구아이페네신, 아지트로마이신, 베클로메타손 디프로피오네이트, 레발부테롤 hcl, 플루니솔라이드, 세프트리악손 나트륨, 아목시실린 트리하이드레이트, 가티플록사신, 자피르루카스트, 아목시실린/클라불라네이트, 플루니솔라이드/멘톨, 클로르페니라민/하이드로코돈, 메타프로테레놀 설페이트, p-에페드린/로라타딘, 테르부탈린 설페이트, 티오토프 브로마이드, (R,R)-포르모테롤, TgAAT, 실로밀라스트, 로플루밀라스트.

[0268] 본 발명의 항체 또는 항체 일부와 배합될 수 있는 HCV 치료제의 비제한적 예에는 다음과 같은 것이 있다: 인터페론-알파-2a, 인터페론-알파-2b, 인터페론-알파 con1, 인터페론-알파-n1, 폐길화된 인터페론-알파-2a, 폐길화된 인터페론-알파-2b, 리바비린, 페그인터페론 알파-2b + 리바비린, 우르소데옥시콜린산, 글리시리진산, 티말파신, 막사민, VX-497 및 표적, 즉 HCV 폴리머라제, HCV 프로테아제, HCV 헬리카제, HCV IRES (내부 리보솜 진입 부위)의 간섭을 통해 HCV를 치료하는데 사용되는 임의의 화합물.

[0269] 본 발명의 항체 또는 항체 일부와 배합될 수 있는 특발성 폐섬유증 치료제의 비제한적 예에는 다음과 같은 것이 있다: 프레드니손, 아자티오프린, 알부테롤, 콜히친, 알부테롤 설페이트, 디곡신, 감마 인터페론, 메틸프레드니솔론 sod succ. 로라제팜, 후로세미드, 리시노프릴, 니트로글리세린, 스피로놀락톤, 시클로포스파미드, 이프라트로프 브로마이드, 악티노마이신 d, 알테플라스, 플루티카손 프로피오네이트, 레보플록사신, 메타프로테레놀 설페이트, 몰핀 설페이트, 옥시코돈 hcl, 염화칼슘, 트리암시놀론 아세토나이드, 무수 테크로리무스, 칼슘, 인터페론-α, 메토티렉세이트, 마이코페놀레이트 모페틸, 인터페론-감마-1β.

[0270] 본 발명의 항체 또는 항체 일부와 배합될 수 있는 심근경색 치료제의 비제한적 예에는 다음과 같은 것이 있다: 아스피린, 니트로글리세린, 메토프롤롤 타르트레이트, 에녹사파린 나트륨, 헤파린 나트륨, 클로피도그렐 비설페이트, 카베딜롤, 아테놀롤, 몰핀 설페이트, 메토프롤롤 석시네이트, 워파린 나트륨, 리시노프릴, 이소소르비드

모노니트레이트, 디곡신, 후로세미드, 심바스타틴, 라미프릴, 테넥테플라스, 에나라프릴 말레이트, 토르세미드, 레타바스, 로사탄 포타슘, 퀴나프릴 hcl/mag carb, 부메타니드, 알테플라스, 아날라프릴라트, 아미오다론 하이드로클로라이드, 티로피반 hcl m-하이드레이트, 딜티아젠펜 하이드로클로라이드, 캅토프릴, 이르베사탄, 발사탄, 프로프라놀롤 하이드로클로라이드, 호시노프릴 나트륨, 리도카인 하이드로클로라이드, 엡티피바타이드, 세파졸린 나트륨, 아트로핀 설페이트, 아미노카프린산, 스피로노락톤, 인터페론, 소탈롤 하이드로클로라이드, 염화칼륨, 도큐세이트 나트륨, 도부타민 hcl, 알프라졸람, 프라바스타틴 나트륨, 아토바스타틴 칼슘, 미다졸람 염산염, 메페리딘 하이드로클로라이드, 이소소르비드 디니트레이트, 에피네프린, 도파민 하이드로클로라이드, 비파리루딘, 로수바스타틴, 액제티미브/심바스타틴, 아바시미브, 카리포라이드.

[0271] 본 발명의 항체 또는 항체 일부와 배합될 수 있는 건선 치료제의 비제한적 예에는 다음과 같은 것이 있다: 칼시포트리엔, 클로베타솔 프로피오네이트, 트리암시놀론 아세토나이드, 할로베타솔 프로피오네이트, 타자로텐, 메토티렉세이트, 플루오시노나이드, 베타메타손 diprop 보강형, 플루오시놀론 아세토나이드, 아시트레틴, 타르 샴푸, 베타메타손 발레레이트, 모메타손 후로에이트, 케토코나졸, 프라모신/플루오시놀론, 하이드로코르티손 발레레이트, 플루안드레놀라이드, 우레아, 베타메타손, 클로베타솔 프로피오네이트/에몰, 플루티카손 프로피오네이트, 아지트로마이신, 하이드로코르티손, 보습 포물라, 엽산, 데소니드, 피메크로리무스, 콜타르, 디플로라손 디아세테이트, 에타너셉트 폴레이트, 젯산, 메톡살렌, hc/비스무스 subgal/znox/resor, 메틸프레드니솔론 아세테이트, 프레드니손, 선스크린, 할시노나이드, 살리실산, 안트라린, 클로코르톨론 피발레이트, 석탄 추출물, 콜타르/살리실산, 콜타르/살리실산/황, 데속시메타손, 디아제팜, 피부연화제, 플루오시노나이드/피부연화제, 광유/피마자유/na lact, 광유/땅콩유, 석유/이소프로필 미리스테이트, 프소탈렌, 살리실산, 비누/트리브롬살란, 티메로살/붕산, 셀레코시브, 인플릭시마브, 사이클로스포린, 알레파셉트, 에팔리주마브, 태크로리무스, 피메크로리무스, PUVA, UVB, 설파살라진.

[0272] 본 발명의 항체 또는 항체 일부와 배합될 수 있는 건선 관절염 치료제의 비제한적 예에는 다음과 같은 것이 있다: 메토티렉세이트, 에타너셉트, 로페코시브, 셀레코시브, 엽산, 설파살라진, 나프록센, 레플루노미드, 메틸프레드니솔론 아세테이트, 인도메타신, 하이드록시클로로퀸 설페이트, 프레드니손, 설린단, 베타메타손 diprop 보강형, 인플릭시마브, 메토티렉세이트, 폴레이트, 트리암시놀론 아세토나이드, 디클로페낙, 디메틸설파이드, 피록시캄, 디클로페낙 나트륨, 케토프로펜, 멜록시캄, 메틸프레드니솔론, 나부메톤, 톨메틴 나트륨, 칼시포트리엔, 사이클로스포린, 디클로페낙 나트륨/미소프로스톨, 플루오시노나이드, 글루코사민 설페이트, 골드 나트륨 티오말레이트, 하이드로코돈 비타르트레이트/apap, 이부프로펜, 리세드로네이트 나트륨, 설파디아진, 티오구아닌, 발데코시브, 알레파셉트, 에팔리주마브.

[0273] 본 발명의 항체 또는 항체 일부와 배합될 수 있는 재협착증 치료제의 비제한적 예에는 다음과 같은 것이 있다: 시로리무스, 파클리탁셀, 에버로리무스, 태크로리무스, ABT-578, 아세타미노펜.

[0274] 본 발명의 항체 또는 항체 일부와 배합될 수 있는 좌골신경통 치료제의 비제한적 예에는 다음과 같은 것이 있다: 하이드로코돈 비타르트레이트/apap, 로페코시브, 시클로벤자프린 hcl, 메틸프레드니솔론, 나프록센, 이부프로펜, 옥시코돈 hcl/아세타미노펜, 셀렉코시브, 발데코시브, 메틸프레드니솔론 아세테이트, 프레드니손, 코데인 포스페이트/apap, 트라마돌 hcl/아세타미노펜, 메탁사론, 멜록시캄, 메토카르바몰, 리도카인 하이드로클로라, 디플로페낙 나트륨, 가바펜틴, 텍사메타손, 카리소프로돌, 케톨락 트로메타민, 인도메타신, 아세타미노펜, 디아제팜, 나부메톤, 옥시코돈 hcl, 티자니딘 hcl, 디클로페낙 나트륨/미소프로스톨, 프로폭시펜 냅실레이트/apap, asa/oxycod/옥시코돈 ter, 이부프로펜/하이드로코돈 bit, 트라마돌 hcl, 에토돌락, 프로폭시펜 hcl, 아미트립틸린 hcl, 카리소프로돌/코데인 phos/asa, 몰핀 설페이트, 멀티비타민, 나프록센 나트륨, 오르페나드린 시트레이트, 테마제팜.

[0275] 본 발명의 항체 또는 항원 결합부와 배합될 수 있는 SLE (루푸스) 치료제의 바람직한 예에는 다음과 같은 것이 있다: NSAID, 예컨대 디클로페낙, 나프록센, 이부프로펜, 피록시캄, 인도메타신; COX2 억제제, 예컨대 셀레코시브, 로페코시브, 발데코시브; 항말라리아제, 예컨대 하이드록시클로로퀸; 스테로이드, 예컨대 프레드니손, 프레드니솔론, 부데노사이드, 텍사메타손; 세파독성제, 예컨대 아자티오프린, 시클로포스파미드, 미코페놀레이트 모페틸, 메토티렉세이트; PDE4 억제제 또는 퓨린 합성 억제제, 예컨대 셀레셉트. 본 발명의 항체 또는 항원의 항원 결합부는 또한 설파살라진, 5-아미노살리실산, 올살라진, 이류란 및 IL-1과 같은 염증 촉진 사이토킨의 합성, 생산 또는 작용을 방해하는 제제, 예컨대 IL-1 β 전환효소 억제제 및 IL-1ra와 같은 카스파제 억제제와 배합될 수 있다. 본 발명의 항체 또는 항원의 항원 결합부는 또한 T 세포 시그널 전달 억제제, 예컨대 티로신 키나제 억제제; 또는 T 세포 활성화 분자를 표적으로 하는 분자, 예컨대 CTLA-4-IgG 또는 항-B7계 항체, 항-PD-1계 항체 등과 함께 사용될 수 있다. 본 발명의 항체 또는 항원의 항원 결합부는 IL-11 또는 항사이토킨 항체, 예컨대 포노

토리주마브 (항-IFN γ 항체) 또는 항수용체 항체, 예컨대 항-IL-6 수용체 항체 및 B-세포 표면 분자에 대한 항체와 조합될 수 있다. 또한, 본 발명의 항체 또는 이의 항원 결합부는 LJP 394 (아베티무스), B-세포를 불활성화시키거나 고갈시키는 제제, 예컨대 리툭시마브 (항-CD20 항체), 림포스태트-B (항-B1yS 항체), TNF 길항제, 예컨대 항-TNF 항체, D2E7 (PCT 공개 WO 97/29131; HUMIRA), CA2 (REMICADE), CDP571, TNFR-Ig 작제물 (P75TNFRIgG (ENBREL) 및 p55TNFRIgG (LENERCEPT))와 함께 사용될 수 있다.

[0276] 본 발명의 약제학적 조성물은 본 발명의 항체 또는 항체 일부의 "치료학적 유효량" 또는 "예방학적 유효량"을 포함할 수 있다. "치료학적 유효량"이란 용어는 원하는 치료 결과를 수득하기 위한 투약량과 필요 기간 동안의 유효한 양을 의미한다. 상기 항체 또는 항체 일부의 치료학적 유효량은 당업자라면 결정할 수 있는 것으로서, 질병 상태, 연령, 성별 및 개체의 체중과 개체 내에서 원하는 반응을 유도해내는 항체 또는 항체 일부의 능력과 같은 요인에 따라 달라질 수 있다. 또한, 치료학적 유효량은 치료학적 유익 효과가 항체 또는 항체 일부의 임의의 독성 또는 유해 효과를 능가하는 양이다. "예방학적 유효량"은 원하는 예방학적 결과를 수득하기 위한 투약량 및 필요 기간 동안의 유효한 양을 의미한다. 일반적으로, 예방학적 용량은 질병의 초기 단계전이나 초기 단계에 대상체에 사용되기 때문에 예방학적 유효량은 치료학적 유효량보다 적은 양일 것이다.

[0277] 투약 섭생은 원하는 최적 반응 (예컨대, 치료학적 또는 예방학적 반응)을 제공하도록 조정될 수 있다. 예를 들어, 볼러스 1정을 투여할 수도 있고, 여러 분할 용량을 경시적으로 투여할 수도 있으며 또는 치료 상황의 위급성에 따라 비례하여 감소 또는 증가된 용량을 투여할 수도 있다. 특히, 투여 용이성과 투약량의 균일성을 위해 비경구 조성물을 투약 단위 형태로 조제하는 것이 유리하다. 본 명세서에 사용된 투약 단위 형태는 치료하는 포유동물 대상체에 대하여 단일 투약량으로서 적당한 물리적으로 분리된 단위를 의미한다. 따라서, 각 단위는 필요한 약제학적 담체와 관련하여 원하는 치료 효과를 제공하도록 계산된 소정 양의 활성 화합물을 포함한다. 본 발명의 투약 단위 형태에 대한 세부사항은 (a) 활성 화합물의 독특한 특징 및 수득하고자 하는 특정 치료 또는 예방학적 효과, 및 (b) 개체의 민감도 치료에 있어서 상기 활성 화합물을 배합하는 기술 고유의 제한에 따라 결정되고 직접 좌우된다.

[0278] 본 발명의 항체 또는 항체 일부의 치료학적 또는 예방학적 유효량에 대한 비제한의 예시적 범위는 0.1 내지 20mg/kg, 더 바람직하게는 1 내지 10mg/kg 이다. 또한, 투약량 값은 개체의 필요 및 조성물 투약을 관리하거나 감독하는 자의 전문가적 판단에 따라 경시적으로 조정되어야 하며, 본 명세서에 제시된 투약량 범위는 예시적일 뿐이며 청구된 조성물의 범위 또는 실시를 제한하고자 하는 것이 아님을 명심해야 한다.

[0279] II. IL-18 반응성 유전자

[0280] IL-18은 마크로파아지, 수지상 세포, 쿽퍼 세포, 미세아교 세포, 상피 세포, 각질세포, 장상피 세포, 연골세포, 윤활 섬유아세포 및 골모세포에서 발현될 뿐만 아니라 부신피질과 뇌하수체에서도 발현된다. 사람 단핵구 및 수지상 세포와 같은 일부 세포에서는 발현이 항상성인 반면, 다른 세포에서는 새로 유도되어야 한다. 인터페론 감마 발현외에는 IL-18 단독으로 또는 다른 사이토킨과 협동하여 유도하는 다른 유전자에 대해 알려진 바가 거의 없다.

[0281] 본 발명의 일 양태는 IL-18 또는 IL-18 조절인자를 준비하는 단계; 및 당해 유전자가 하기 표에 제시된 유전자들로 이루어진 그룹 중에서 선택되는 세포와 상기 IL-18 또는 조절인자를 접촉시키는 단계를 포함하여, 당해 유전자의 유전자 발현을 조절하는 방법을 제공한다.

[0282] [표 3a]

IL-18 반응 유전자

진뱅크 ID	유전자명	고유 유전자에 대한 해설
NM_000389	p21	사이클린 -의존성 키나제 억제제 1A (p21, Cip1)
NM_002198	IRF1	인터페론 조절 인자 1
NM_002163	ICSBP1	인터페론 보존성 서열 결합 단백질 1
NM_006144	GZMA	그랜자임 A
NM_006515	SETMAR	SET 도메인 및 매리너 트랜스포사제 융합 유전자
NM_007185	TNRC4	트리뉴클레오타이드 반복체 함유 4
NM_002288	LAIR2	백혈구 연합 Ig 형 수용체 2
NM_003661	APOL1	아포지단백질 L, 1
NM_021958	HLX1	H2.0 형 호메오 박스 1 (드로소필라(Drosophila))
NM_001335	CTSW	카텝신 W (림포파인)
Hs.382006	FCGR1B	FcRI b 형태 (AA 1-344)
NM_020125	BLAME	류신 아미노펩티다제 3
NM_007210	GALNT6	UDP-N-아세틸 -알파 -D-갈락토사민
NM_021798	IL21R	인터류킨 21 수용체
NM_013324	CISH	사이토킨 유도성 SH2-함유 단백질
M11313	A2M	알파 -2-마크로글로불린
D88152	ACATN	아세틸 -조효소 A 수송체
NM_001103	ACTN2	액티닌, 알파 2
U37519	ALDH8	알데하이드 데하이드로게나제 8
NM_000697	ALOX12	아라키도네이트 12-리폭시게나제
J03600	ALOX5	아라키도네이트 5-리폭시게나제
NM_014578	ARHD	ras 동족체 유전자 패밀리, 구성원
S66793	ARR3	어레스틴 3, 망막 (X-어레스틴)
U47054	ART3	ADP-리보실트랜스퍼라제 3
L19871	ATF3	활성화 전사 인자 3
M81181	ATP1B2	ATPase, Na+/K+ 수송
NM_001188	BAK1	BCL2-길항제 /킬러 1
U15460	BATF	염기성 류신 지퍼 전사 인자, ATF 형
NM_014417	BBC3	Bcl-2 결합 성분 3
Z23115	BCL2L1	BCL2 형 1
NM_001713	BHMT	메타인 -호모시스테인 메틸트랜스퍼라제
U45878	BIRC3	바쿨로바이러스 IAP 반복체 함유 3
U37546	BIRC3	바쿨로바이러스 IAP 반복체 함유 3
U72649	BTG2	BTG 패밀리, 구성원 2
U49187	C6ORF32	염색체 6 개방 관독 프레임 32
J03507	C7	보체 성분 7
U50360	CAMK2G	CaM 키나제 II 감마
XM_071866	CAT56	CAT56 단백질

[0283]

[0284] [표 3b]

NM_005623	CCL8	
Z32765	CD36	CD36 항원 (콜라겐 I 형/ TSP 수용체)
HG2981- HT3127	CD44	CD44 항원
Z11697	CD83	CD83 항원
XM_071866	CDR2	소뇌 퇴행 관련 단백질 (62kD)
U51096	CDX2	꼬리형 호메오 박스 전사 인자 2
M83667	CEBPD	CCAAT/인헨서 결합 단백질 (C/EBP), 델타
D87469	CELSR2	카드헤린, EGF LAG 7 회 통과 G 형 수용체 2
L07765	CES1	카복실에스테라제 1
U66468	CGR11	EF-핸드 도메인을 사용한 세포 성장 조절
X14830	CHRNB1	콜린성 수용체, 니코틴성, 베타 폴리펩타이드 1
L29217	CLK3	CDC 형 키나제 3
X15880	COL6A1	콜라겐, VI 형, 알파 1
NM_001851	COL9A1	콜라겐, IX 형, 알파 1
M27691	CREB1	cAMP 반응 요소 결합 단백질 1
M37435	CSF1	콜로니 자극 인자 1 (마크로파아지)
HG3548- HT3749	CUTL1	cut (CCAAT 이동 단백질)
X13589	CYP19	시토크롬 P450, 서브패밀리 XIX
X16866	CYP2D7AP	시토크롬 P450, 서브패밀리 IID
X59131	D13S106E	고전하 단백질
NM_004393	DAG1	디스트로글리칸 1
U73328	DLX4	말단부 소수 호메오 박스 4
L19267	DMWD	근긴장성 이영양증, WD 반복체 모티프
U53445	DOC1	난소암 1 에서 하향조절됨
X68277	DUSP1	이원 특이성 포스파타제 1
U48807	DUSP4	이원 특이성 포스파타제 4
NM_001950	E2F4	E2F 전사 인자 4, p107/p130-결합
U87269	E4F1	E4F 전사 인자 1
M57730	EFNA1	에프린 -A1
X52541	EGR1	초기 성장 반응 1
J04076	EGR2	초기 성장 반응 2 (Krox-20 동족체)
X63741	EGR3	초기 성장 반응 3
L07077	EHHADH	에노일-조효소 A
M62831	ETR101	이메디에이트 어얼리 단백질(이메디에이트 어얼리 단백질)
M60830	EVI2B	동종숙주역(ecotropic) 바이러스 통합 부위 2B
U53786	EVPL	엔보플라킨
NM_001988	EVPL	엔보플라킨
NM_000141	FCGBP	IgG 결합 단백질의 Fc 단편
M23668	FDX1	페레독신 1
U60062	FEZ1	근섬유속 연속 및 연장 단백질 제타 1 (지긴(zygin) I)
NM_000141	FGFR2	섬유아세포 성장 인자 수용체 2

[0285]

[0286] [표 3c]

U49973	FLJ10803	추정 단백질 FLJ10803
U89995	FOXE1	포크헤드 박스 E1 (감상선 전사 인자 2)
U27326	FUT3	푸코실트랜스퍼라제 3
A28102	GABRA3	감마-아미노부티르산 (GABA) 수용체
M25667	GAP43	성장 관련 단백질 43
L34357	GATA4	GATA-결합 단백질 4
U19523	GCH1	GTP 사이클로하이드롤라제 1
L01406	GHRHR	성장 호르몬 방출 호르몬 수용체
U03486	GJA5	gap 접합 단백질, 알파 5, 40kD (코넥신 40)
X68285	GK	글리세롤 키나제
Z18859	GNAT2	구아닌 뉴클레오타이드 결합 단백질 (G 단백질)
HG870-HT870	GOLGA3	골지체 자가항원, 골긴 서브패밀리 a, 3
D49958	GPM6A	당단백질 M6A
D43772	GRB7	성장 인자 수용체-결합 단백질 7
AC000099	GRM8	글루타메이트 수용체, 메타보트로픽 8
M57731	GRO2	GRO2 발암유전자
X53800	GRO3	GRO3 발암유전자
M91036	HBG2	헤모글로빈, 감마 G
D16583	HDC	히스티딘 데카복실라제
X64877	HFL3	H 인자 (보체)형 3
X58431	HOXB6	호메오 박스 B6
M16937	HOXB7	호메오 박스 B7
NM_014468	HPX42B	조혈 선조제 호메오박스
X92814	HREV107	랙트 HREV107 와 유사함
L19314	HRY	털이 많은 (드로소필라)-동족체
M26665	HTN3	히스타틴 3
D10995	HTR1B	5-하이드록시트립타민(세로토닌) 수용체 1B
L41147	HTR6	5-하이드록시트립타민 (세로토닌) 수용체 6
M24283	ICAM1	세포간 접착 분자 1 (CD54)
S81914	IER3	이메디에이트 어얼리 반응 3
J03171	IFNAR1	인터페론 (알파, 베타 및 오메가) 수용체 1
J00219	IFNG	인터페론, 감마
NM_000619	IFNG	인터페론, 감마
NM_000585	IL15	인터류킨 15
U31628	IL15RA	인터류킨 15 수용체, 알파
X04500	IL1B	인터류킨 1, 베타
M27492	IL1R1	인터류킨 1 수용체, I 형
X01057	IL2RA	인터류킨 2 수용체, 알파
M26062	IL2RB	인터류킨 2 수용체, 베타
Y00081	IL6	인터류킨 6 (인터페론, 베타 2)
Y00787	IL8	인터류킨 8
Z31695	INPP5A	이노시톨 폴리포스페이트 -5-포스파타제, 40kD
X06256	ITGA5	인테그린, 알파 5

[0287]

[0288] [표 3d]

X57206	ITPKB	이노시톨 1,4,5-트리스포스페이트 3-키나제 B
U20734	JUNB	jun B 원발성 -발암유전자
NM_014879	KIAA0001	UDP- 글루코스에 대한 추정 G 단백질 커플링된 수용체
D31762	KIAA0057	TRAM 형 단백질
D42038	KIAA0087	KIAA0087 유전자 생성물
NM_005551	KIAA0133	KIAA0133 유전자 생성물
NM_014846	KIAA0196	KIAA0196 유전자 생성물
X06182	KIT	v-kit 발암유전자 동족체
NM_005551	KLK2	칼리크레인 2, 전립선
X07730	KLK3	칼리크레인 3, (전립선 특이적 항원)
M13955	KRT7	케라틴 7
M57710	LGALS3	렉틴, 갈락토사이드 결합, 가용성, 3 (갈렉틴 3)
S83362	LIFR	백혈병 억제 인자 수용체
NM_002314	LIMK1	LIM 도메인 키나제 1
NM_005569	LIMK2	LIM 도메인 키나제 2
U49957	LPP	LIM 도메인 -함유
U89922	LTB	림프독소 베타 (TNF 슈퍼패밀리, 구성원 3)
X14008	LYZ	라이소자임 (신장 아밀로이드증)
U59914	MADH6	MAD) 동족체 6
D14497	MAP3K8	미토겐 -활성화 단백질 키나제 8
X59727	MAPK4	미토겐활성화 단백질 키나제 4
NM_000429	MAT1A	메티오닌 아데노실트랜스퍼라제 I, 알파
HG1877- HT1917	MBP	미엘린 염기성 단백질
HG3115- HT3291	MBP	미엘린 염기성 단백질
U43944	ME1	말릭 효소 1, NADP(+)-의존성, 세포질성
X72755	MIG	감마 인터페론에 의해 유도된 모노킨
NM_021230	MLL3	골수/림프절 또는 혼성 가계 백혈병 3
NM_005951	MT1H	메탈로티오네인 1H
X78710	MTF1	금속-조절 전사 인자 1
X70991	NAB2	NGFI-A 결합 단백질 2 (ERG1 bp 2)
M32011	NCF2	호중구 세포질 인자 2
S77763	NFE2	핵 인자 (적혈구 유래 2), 45kD
M58603	NFKB1	핵 인자 카파 B (p105)
S76638	NFKB2	핵 인자 카파 B
M69043	NFKBIA	핵 인자 카파 B
U91616	NFKBIE	핵 인자 카파 B
D86425	NID2	니도젠 2
L13740	NR4A1	핵 수용체 서브패밀리 4, 그룹 A, 구성원 1
U44848	NRF1	핵 호흡 인자 1
U79251	OPCML	아편-결합 단백질 /세포 접착 분자형

[0289]

[0290] [표 3e]

HG4115-HT4385	ORIE3P	후각 수용체
M27288	OSM	온코스타틴 M
AF000234	P2RX4	퓨린성 수용체 P2X
D50640	PDE3B	포스포디에스테라제 3B, cGMP-억제됨
L20971	PDE4B	포스포디에스테라제 4B, cAMP-특이적
L10343	PI3	프로테아제 억제제 3, 피부 유래 (SKALP)
U77735	PIM2	pim-2 발암유전자
NM_003579	PIP5K2A	포스포티딜이노시톨 -4-포스페이트 5-키나제
U17034	PLA2R1	포스포리파제 A2 수용체 1, 180kD
AB000584	PLAB	전립선 분화 인자
X63131	PML	급성전골수구성 백혈병
D11428	PMP22	말초 미엘린 단백질 22
NM_032940	POLR2C	폴리머라제 (RNA) II 폴리펩타이드
NM_005035	POLRMT	폴리머라제 (RNA) 미토콘드리아 (DNA 지시됨)
NM_003579	POU2F2	POU 도메인, 클래스 2, 전사 인자 2
M18255	PRKCB1	단백질 키나제 C, 베타 1
L01087	PRKCQ	단백질 키나제 C, 세타
D38128	PTGIR	프로스타글란딘 I2 (프로스타사이클린) 수용체 (IP)
Y10375	PTPNS1	타이로신 포스파타제, 비수용체 기질 1
D15049	PTPRH	단백질 타이로신 포스파타제, 수용체형, H
M31166	PTX3	펜탁신 관련 유전자,
U59877	RAB31	RAB31, 구성원 RAS 발암유전자 패밀리
NM_003579	RAD54L	RAD54 (에스. 세레비지에)형
U64675	RANBP2L1	RAN 결합 단백질 2 형 1
S57153	RBBP1	망막아중 결합 단백질 1
NM_002903	RCV1	레코베린
NG_000013	RDBP	RD RNA-결합 단백질
X75042	REL	v-rel
M83221	RELB	v-rel
NM_000537	REN	레닌
U22314	REST	RE1-사일런싱 전사 인자
S59049	RGS1	G-단백질 시그널 전달 1 의 조절인자
U70426	RGS16	G-단백질 시그널 전달 6 의 조절인자
U22377	RLF	재배열된 L-myc 융합 서열
U38480	RXRG	레티노이드 X 수용체, 감마
L10338	SCN1B	나트륨 채널 폴리펩타이드
M23178	SCYA3	유도성 소형 사이토킨 A3
M69203	SCYA4	유도성 소형 사이토킨 A4
NM_005409	SCYB11	유도성 소형 사이토킨 서브패밀리 B: CXC11
D79206	SDC4	신데칸 4 (암피글리칸, 류도칸)
NM_005065	SEL1L	sel-1 (olin-12 의 서브레서, 씨. 엘레강스)형
NM_004186	SEMA3F	세마포린 3F

[0291]

[0292] [표 3f]

J03764	SERPINE1	넥신, 플라스미노겐 활성화인자 억제제 형 1
NM_006802	SF3A3	스플라이싱 인자 3a, 서브유닛 3, 60kD
HG3925-HT4195	SFTPA2	계면활성제, 폐 관련 단백질 A2
D89077	SLA	Src 형 -어댑터
NM_003037	SLAM	시그널 전달 림프성 활성화 분자
M91463	SLC2A4	용질 캐리어 패밀리 2 글루코스 수송체
D82326	SLC3A1	용질 캐리어 패밀리 3
L05568	SLC6A4	용질 캐리어 패밀리 6 (세로토닌),
U96094	SLN	사르코리핀
X83301	SMA3	SMA3
D21267	SNAP25	시냅스 관련 단백질, 25kD
L31529	SNTB1	신트로핀, 디스트로핀 관련 단백질 A1,
HG961-HT961	SOS1	7 개 결실 (드로소필라) 동족체 1 의 son
M62800	SSA1	(52kD, 리보핵단백질 자가항원 SS-A/Ro)
NM_021014	SSX3	활액 육종, X 브레이크포인트 3
Z35093	SURF1	서프웨이트 1
NM_005816	TACTILE	T 세포 활성화, 증가된 후기 발현
L25444	TAF2E	TATA 박스 결합 단백질 (TBP) 관련 인자
M95787	TAGLN	트랜스글린
NM_005421	TAL2	T-세포 급성 림프성 백혈병 2
L47345	TCEB3	전사 연장 인자 B (110kD, 엘론긴 A)
M57732	TCF1	간 핵 인자 (HNF1)
NM_003205	TCF12	헬릭스 루프 헬릭스 전사 인자 4
M96956	TDGF1	테라토암종 유래 성장 인자 1
U19878	TMEFF1	EGF 및 폴리스타틴과 같은 막관통
M92357	TNFAIP2	중양 피사 인자, 알파-유도된 단백질 2
M59465	TNFAIP3	중양 피사 인자, 알파-유도된 단백질 3
X83490	TNFRSF6	중양 피사 인자 수용체 구성원 6
U37518	TNFSF10	중양 피사 인자 구성원 10
NM_003294	TPSB1	트립타제 베타 1
U19261	TRAF1	TNF 수용체 관련 인자 1
U78798	TRAF6	TNF 수용체 관련 인자 6
S69790	WASF3	WAS 단백질 패밀리, 구성원 3
U53476	WNT7A	wing 부재형 MMTV 통합 부위 패밀리
L15309	ZNF141	아연 핑거 단백질 141 (클론 pHZ-44)
U78722	ZNF165	아연 핑거 단백질 165
HG4333-HT4603	ZNF79	아연 핑거 단백질 79 (pT7)
X57809		람다경쇄 가변 영역
HG3111-HT3287		공지되지 않은 호모 사피엔스 클론 HH409
U79249		사람 클론 23839 서열
AB000464		클론:RES4-24A

[0293]

[0294] [표 3g]

HG4593-HT4998		전압 매개 나트륨 채널 (SCN1A)
X77744		FLJ00032 단백질, 일부에 대한 호모 사피엔스
U79248		사람 클론 23826 서열
AI420129		ESTs

[0295]

[0296] IL-18에 의해 조절되는 유전자의 동정 방법은 실시예 3에 개시했다. 이 연구에서는 IL-18이 선의의 염증 촉진 사이토카인이고 다른 염증 촉진 매개인자를 암호화하는 여러 유전자의 발현을 직접 조절할 수 있음을 입증했다. 사람 혈액 시료를 이용한 연구에서는 IL-18에 대한 다수의 반응이 사람 집단에서 다양하게 나타나는 바, IL-18 및 이에 따라 항-IL-18 기능의 생물학적 마커로서 유용성이 있음을 입증했다.

[0297] IL-18의 조절인자는 효능제 및 길항제일 수 있다. 조절인자는 결합 단백질 또는 중화성 결합 단백질인 것이 바람직하다.

- [0298] IL-18 억제제의 예에는 IL-18에 결합하는 항체 및 이의 단편; IL-18R에 결합하는 항체; IL-18RAcP에 결합하는 항체; IL-18bp; IL-18R 단편 (예컨대, IL-18 수용체의 가용화된 세포외 도메인); IL-18에 결합하고 IL-18R과의 상호작용을 감소시키거나 또는 차단하는 펩타이드; IL-18R에 결합하고 IL-18 또는 IL-18RAcP와의 상호작용을 감소시키거나 또는 차단하는 펩타이드; IL-18RAcP에 결합하고 IL-18R과의 상호작용을 감소시키거나 또는 차단하는 펩타이드; IL-18 생산이나 임의의 IL-18, IL-18R 및 IL-18RAcP 사이의 상호작용을 감소시키거나 또는 차단하는 소분자가 있으나, 이에 국한되는 것은 아니다.
- [0299] 특정 IL-18 억제제는 1994년 7월 14일에 특허 허여된 미국 특허 5,912,324; 1999년 12월 8일에 공개된 EP 0 962 531; 1994년 11월 15일에 공개된 EP 712 931; 1994년 7월 14일에 특허 허여된 미국 특허 5,914,253; 1997년 7월 10일에 공개된 WO 97/24441; 2000년 5월 9일에 특허 허여된 미국 특허 6,060,283; 1996년 12월 26일에 공개된 EP 850 952; 1998년 9월 16일에 공개된 EP 864 585; 1998년 9월 24일에 공개된 WO 98/41232; 2000년 4월 25일에 특허 허여된 미국 특허 6,054,487; 1997년 8월 14일에 공개된 WO 99/09063; 1997년 11월 3일에 공개된 WO 99/22760; 1998년 1월 23일에 공개된 WO 99/37772; 1998년 3월 20일에 공개된 WO 99/37773; 2000년 1월 26일에 공개된 EP 0974 600; 2000년 3월 9일에 공개된 WO 00112555; 1997년 10월 31일에 공개된 일본특허출원 JP 11,399194; 1998년 2월 8일에 공개된 이스라엘 특허출원 IL121554A0 (모두 본원에 참고인용되었다) 등에 설명되어 있다.
- [0300] 본 명세서에 기술된 방법의 다른 적당한 변형 및 수정은 자명한 것으로서, 본 명세서에 개시된 양태 또는 본 발명의 범위 안에서 적당한 등가물을 사용하여 제조할 수 있음을 당업자라면 잘 알고 있을 것이다. 이상 본 발명을 상세히 설명했지만, 더 명료한 이해를 위해 다음 실시예를 참조로 다시 설명할 것이며, 이 역시 예시적인 일뿐이며 본 발명을 제한하는 것으로 간주되어서는 안 된다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0301] **실시예 1: 재조합 IL-18의 생산 및 특성규명**
- [0302] **실시예 1.1: IL-18의 생물학적 활성을 측정하는 분석법**
- [0303] 실시예 1과 2에서 IL-18의 생물학적 활성을 측정하는 데에는 다른 표시가 없는 한 다음과 같은 분석법을 사용했다.
- [0304] **실시예 1.1.A: KG-1 생물분석법**
- [0305] KG-1 (ATCC #CCL-246)은 소량의 기능성 IL-18 수용체를 항상성으로 발현하는 사람 골수단핵구 세포주이다. 이 세포에 대한 TNF 처리는 기능성 IL-18 수용체의 IL-18R α 및 β 서브유니트를 상승조절한다. KG-1 생물분석법은 상기 TNF 처리된 KG-1 세포를 재조합 사람 IL-18 (rhu-IL-18)과 항온처리한 뒤, IL-18에 의해 유도된 사람 IFN γ 생산 농도를 ELISA로 측정하여 실시했다 (Konishi, K., et al. (1997) J.Immunol.Methods 209: 187-191). KG-1 생물분석법은 IL-18 길항제의 중화 효능을 측정하는데 사용했다. 예를 들어, 항-IL-18 항체를 여러 농도의 rhu-IL-18과 항온처리한 뒤, 96웰 평판에서 TNF 처리된 KG-1 세포와 함께 37°C하에 16 내지 18시간 동안 항온처리했다. 상청액을 수거하여 ELISA로 사람 IFN γ 농도를 평가했다. 이 분석법은 IL-18 길항제의 IC₅₀ 값을 4×10^{-11} 내지 6×10^{-11} M 이하까지 측정할 수 있다.
- [0306] **실시예 1.1.B: 사람 전혈액 분석법**
- [0307] 간략히 설명하면, 사람 전혈액 분석법 (WBA)은 생리학적 측면에서 천연 IL-18에 대한 IL-18 길항제의 중화 효능을 측정한다. 이 분석법에서, 결과는 내인성 IL-18 의존적 사람 IFN γ 생산의 억제능이다. 전혈액을 37°C에서 IL-18 길항제의 존재 또는 부재 하에 LPS (1 μ g/ml) + IL-12 (50pg/ml)로 자극했다. 사람 IFN γ 농도는 LPS + IL-12 자극 후 18 내지 24시간 후에 ELISA로 측정했다.
- [0308] **실시예 1.1.C: 수용체 결합 분석법**
- [0309] 간략히 설명하면, 수용체 결합 분석법 (RBA)에서 IL-18 수용체에 대한 IL-18의 결합은 ¹²⁵I 표지된 rhu-IL-18을 사용했다. ¹²⁵I-rhu-IL-18은 TNF 처리된 KG-1 세포 상의 IL-18R α β 에 특이적으로 결합한다 (약 7,000부위/세포). ¹²⁵I-rhu-IL-18은 미표지된 IL-18과 동일한 비활성을 갖고 있어서 미표지된 IL-18와 경쟁할 수 있다.

[0310] 2가지 억제 방식, A 및 B가 확인되었다. 중화 방식 A에서, 고친화성 IL-18 수용체 (IL-18R $\alpha\beta$)에 대한 IL-18의 결합은 영향을 받지 않았으나, IL-18 매개의 시그널 전달 (즉, IFN γ 생산)은 차단되었다. 중화 방식 B에서 IL-18R $\alpha\beta$ 에 대한 IL-18의 결합은 차단되었고, 이에 따라 후속 수용체 매개 시그널 전달도 일어나지 않았다.

[0311] **실시예 1.2: 재조합 IL-18의 생산**

[0312] **실시예 1.2.A: 사람 IL-18 전구체의 플라스미드 작제, 발현 및 정제**

[0313] 재조합 사람 IL-18은 SF-9 곤충 세포에서 IL-18의 전구체 형태를 발현시켜 제조했다. 전장의 사람 프로 IL-18 cDNA는 당업계에 공지된 표준 분자생물학법으로 공개된 서열에 기초한 특정 PCR 프라이머를 사용하여 제조하고 (Ushio, S., et al. (1996) J.Immunol. 156:4274-4279), 이어서 바콜로바이러스 (BV) 전이 벡터 pVL1393에 클로닝했다 (BD Biosciences, San Jose, CA; Cat# 51-21201P). 전장 사람 프로 IL-18 cDNA를 생산하는데 사용된 5' PCR 프라이머는 6-히스티딘 영역을 암호화하는 서열을 포함하여, IL-18 전구체의 N-말단에는 6-HIS-태그가 존재했다. SF9 곤충 세포를 IL-18 cDNA를 포함하는 pVL1393 벡터가 수용되어 있는 바콜로바이러스로 감염시켰다. 감염된 SF9 세포를 용해시키고, 이러한 용해물을 니켈 컬럼을 통해 통과시켜 재조합 HIS 태그화된 IL-18 전구체 (rhu pro IL-18)를 정제했다. (BD Biosciences, Sna Jose, CA; Cat# 554802). 재조합 HIS 태그화된 IL-18 전구체를 사람 카스파제-1 분해로 추가 처리하여 생물학적 활성의 IL-18 (성숙 IL-18)을 수득했다 (Ghayur T., (1997) Nature 386:619-623).

[0314] **실시예 1.2.B: IL-18의 NEM 처리**

[0315] 하야시바라 바이오케미컬 레보레이토리즈 (일본)에서 입수한 재조합 사람 IL-18은 배취마다 비활성 및 IL-18 결합 친화성의 변화를 나타냈다. IL-18은 성숙 IL-18에 존재하는 4개 시스테인들의 각 쌍마다 이황화 결합을 포함했다. 이들은 배취마다 구조적, 기능적 이중성 및 다양성을 일으켰다. IL-1b 좌표를 이용한 사람 IL-18의 상동성 모델링에서는 성숙 사람 IL-18의 위치 38 및 68에 존재하는 시스테인 잔기가 노출되어 반응성임을 입증했다.

[0316] 실시예 1.2.A로부터 수득한 재조합 사람 IL-18은 산화로부터 시스테인을 보호하기 위하여 N-에틸 말레이아미드로 처리했다. NEM-IL-18은 항-huIL-18 중화 항체가 NEM-IL-18에 결합하고 이를 중화하는 바, 중화성 에피토프를 보유하고 있었다. IL-18의 NEM 처리에도 불구하고, NEM-IL-18 상의 중화성 에피토프는, 사람 WBA에 존재하는 천연 사람 IL-18과 NME-IL-18의 생물학적 활성을 모두 중화하는 항-IL-18 항체의 성질을 통해 측정되는 바와 같이 보존되었다. 따라서, NEM-IL-18은 분석 최적화 및 완전 사람의 항사람-IL-18 mAb의 선별 및 1차 특성규명에 사용했다.

[0317] **실시예 1.2.C: IL-18의 4C/A 돌연변이체의 제조 및 특성규명**

[0318] IL-18의 4C/A 돌연변이체는 성숙 IL-18의 4개의 시스테인 잔기를 알라닌으로 변이시켜 제조했다 ("4C/A-huIL-18"). 하기 표 4에 정리된 NEM-huIL-18과 IL-18의 4C/A 돌연변이체의 비교에서 두 단백질의 생물학적 성질 및 생화학적 성질에 차이가 없음을 확인했다. IL-18의 4C/A 돌연변이체 및 NEM-huIL-18은 모두 동적 광산란법 (DLS) 및 크기 배제 크로마토그래피 (SEC) 분석에서 단량체였고, 원편광 이색성 분광분석법에서 형태 및 물리적 안정성이 유사했다. IL-18의 4C/A 돌연변이와 NEM-huIL-18의 생물학적 활성도 KG-1 분석법에서 동일했고, IL-18BP 및 항-IL-18 항체에 결합된 IL-18의 두 형태도 친화성이 유사했다. 4C/A-huIL-18은 산화적 불안정성을 나타내지 않았고, 이. 콜리에서 고농도로 쉽게 발현되었다.

[0319] [표 4]

NEM-IL-18 및 4C/A-huIL-18의 비교는 이들이 형태 및 올리고머
순도, 물리적 안정성 및 항체 또는 세포 결합 수용체에 대한 결합
측정에서 균등함을 보여준다

성질	측정	NEM-huIL-18	(4C/A)-huIL-18
올리고머 상태	SEC	단량체	단량체
	DLS	단량체	단량체
형태	CD (파장 스캔)	210nm 에서 CD 최소	210nm 에서 CD 최소
안정성	CD (온도 스캔)	40° C 까지 안정함	40° C 까지 안정함
생활성	2 ng/mL IL-18 에 의한 IFN γ 생산	8 ng/mL IFN γ	8 ng/mL IFN γ
에피토프	표준 결합제에 의한 IFN γ 생산의 증화	IL-18BP-Fc, 125-2H 및 IL-18R α 에 의한 증화	IL-18BP-Fc, 125-2H 및 IL-18R α 에 의해 증화됨
	바이아코어 (K _D)	IL-18BP-Fc: 0.098 nM 125-2H: 0.2 nM 2.5(E)mg1: 0.3 nM	IL-18BP-Fc: 0.135 nM 125-2H: 0.2 nM 2.5(E)mg1: 0.2 nM

[0320]

[0321] **실시예 1.2.D: 비오틴화된 rhuIL-18 (biot-IL-18)의 제조 및 특성규명**

[0322] 실시예 1.2.B에서 수득한 NEM-IL-18의 비오틴화는 당업계에 공지된 표준 기술을 사용하여 리신 잔기에 실시했다 (설폰-NHS-LC-비오틴, Pierce, Rockford, IL; Cat#21335). 수득되는 비오틴화된 rhu-IL-18 (biot-IL-18)은 huIL-18당 1개, 2개, 3개 또는 4개의 비오틴을 가진 종을 포함하는 불균질 혼합물이었다. 또한, rhuIL-18 당 비오틴 2개 또는 3개를 가진 종은 biot-IL-18의 주요 종이였다. biot-IL-18은 ELISA로 측정 시 생물학적 활성의 결합된 항-IL-18 항체이며, 시험된 모든 중화성 항-huIL-18 항체에 의해 중화되었다. 항-비오틴 항체 (Sigma-Aldrich, St Louis, MO; cat# B 3640)를 이용한 FACS 분석에서는, 표면에 높은 친화성의 IL-18R α β 를 발현하는 biot-IL-18 결합된 KG-1 세포 및 KG-1 세포 표면 상의 biot-IL-18은 항-비오틴 항체 (Sigma-Aldrich, St.Louis, MO; cat#B 3640)를 이용한 FACS 분석에서 검출되었다. 즉, 비오틴화는 수용체 결합을 방해하거나 rhuIL-18의 중화성 에피토프를 은폐하지 않았다.

[0323] **실시예 1.2.E: ¹²⁵I 표지된 rhuIL-18의 제조 및 특성규명**

[0324] 실시예 1.2.B에서 수득한 NEM-IL-18 상의 리신 잔기를 아머샴 (Piscataway, NJ; Cat # IM5861)에서 정한 조건을 사용하여 ¹²⁵I로 표지화했다. 비활성을 보유한 ¹²⁵I 표지된 IL-18은 미변형 IL-18과 경쟁했고, KG-1 세포 상의 IL-18R에 특이적으로 결합했다. IL-18 수용체에 대한 ¹²⁵I 표지된 IL-18의 결합은 중화성 항-huIL-18 모노클로날 항체에 의해 차단되었다. 따라서, 요오드화는 IL-18의 수용체 결합에 영향을 미치지 않았고, IL-18 상의 중화성 에피토프를 은폐시키지 않았다. ¹²⁵I 표지된 IL-18은 수용체 결합 분석에서 항-IL-18 항체의 효능과 중화 방식을 측정하는데 사용했다.

[0325] **실시예 2: 항 IL-18 항체의 제조 및 분리**

[0326] **실시예 2.1: 항-IL-18 항체를 동정하는 분석법**

[0327] 실시예 3 전반에서 다른 표시가 없는 한 항-IL-18 항체의 동정 및 특성 규명을 위해 다음과 같은 분석법을 사용했다.

[0328] **실시예 2.1.A: ELISA**

[0329] 사람 IL-18에 결합하는 항체 선별을 위한 ELISA를 실시했다. 이 ELISA에서 비오틴화된 NEM-huIL-18 (실시예 1.2.B 참조)은 염소 항비오틴화된 IgG에 의해 포획되거나 스트렙타비딘 코팅 평판 상에 포획되었다. 하이브리도마 또는 B 세포 상청액을 적용하고, 당업계에 공지된 표준 ELISA 프로토콜에 따라 HRP 접합된 항사람 IgG를 사용하여 IL-18 결합된 항체를 검출했다.

[0330] **실시예 2.1.B: BIACORE 기술을 이용한 친화성 측정**

[0331] BIACORE 분석 (Biacore, Inc., Piscataway, NJ)은 항체의 친화성을 동역학적 측정값인 결합물, 해리율 상수로서 측정한다. 항체를 공유 결합성 제2 항체 (예, 염소 항사람 IgG 또는 항마우스 IgG)를 이용하여 바이오센서 칩 위에 부착시키고, 다양한 농도의 재조합 IL-18을 적용한다. 시간의 함수로서 결합을 기록하고, 동역학적 속도 상수를 계산했다. 이 분석법은 $10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 정도의 빠른 결합물 및 10^{-6} s^{-1} 정도의 느린 해리율을 측정할 수 있다.

[0332] **실시예 2.1.C: 에피토프 지도작성**

[0333] BIACORE 기술은 항-IL-18 항체와 같은 IL-18 길항제에 의해 인식되는 에피토프를 지도작성하는데 사용했다. 간략히 설명하면, 하나의 IL-18 길항제를 Biacore 칩 위에 부착시키고, rhuIL-18을 고정된 시약에 결합시켰다. 그 다음, 이 복합체에 대한 다른 항-IL-18 길항제의 결합을 시험했다. 두 시약의 동시 결합은 두 시약이 상이한 에피토프를 인식한다는 것을 증명한다.

[0334] **실시예 2.2: XENOMOUSE를 이용한 항-IL-18 HuMAb의 제조**

[0335] XENOMOUSE 유전자 전이 마우스 기술 (Abgenix Inc., 캘리포니아 프리몬트 소재)을 이용하여 완전한 사람의 항사람 IL-18 모노클로날 항체 (HuMAb)를 수득했다. 이 기술은 VH, DH 및 JH, Cmu, Cdelta를 갖는 사람 가변 중쇄와 및 단일 사람 IgG 불변 중쇄와 및 경쇄 유전자좌를 수반하는 유전자 전이 마우스로 구성된다. 당해 항원으로 면역화 시, 이러한 마우스는 상기 항원에 대해 완전한 사람 항체를 생산한다.

[0336] **실시예 2.2.A: IL-18 항원을 이용한 XENOMOUSE의 면역화**

[0337] XENOMOUSE 동물은 모두 발바닥 경로인 주사를 통해 면역화했다. 각 주사의 총 부피는 발바닥당 $25 \mu\text{l}$ 씩 마우스당 $50 \mu\text{l}$ 였다. 1차 면역 주사는 TiterMax Gold가 1:1 v/v로 혼합된 무발열원 DPBS에 사람 IL-18 (NEM-rhuIL-18)을 마우스당 $40 \mu\text{g}$ 씩 포함했다. 후속 접종은 Adju-Phos (알루미늄 포스페이트 겔) $25 \mu\text{g}$ 이 혼합된 무발열원 DPBS 중의 사람 IL-18 $40 \mu\text{g}$ 을 마우스 당 6회 실시한 후, 마지막으로 보강제 없이 무발열원 DPBS 중의 사람 IL-18을 마우스 당 $40 \mu\text{g}$ 투여했다. 이 프로토콜에서 동물은 0일, 4일, 8일, 11일, 17일, 21일, 25일 및 35일째 면역화했다. 융합은 39일째 실시했다. 전술한 면역화 섭생 후, 마우스를 안락사시킨 다음, 서혜부 및 허리 림프절을 회수했다.

[0338] **실시예 2.2.B: 하이브리도마의 제조**

[0339] 실시예 2.2.A에서 수득한 서혜부 및 허리 림프절을 조직 마쇄기를 이용하여 기계적 붕괴시켜 림프구를 방출시키고 CD90 음성 선별을 통해 T 세포를 고갈시켰다. 세척 및 농축된 B 세포와 ATCC에서 구입한 비분비성 골수종 P3X63Ag8.653 세포 (cat.#CRL 1580) (Kearney et al., J.Immunol. 123, 1979, 1548-1550)를 1:1의 비율로 혼합하여 하이브리도마 융합을 실시했다. 이 세포 혼합물을 800g에서 원심분리하여 부드럽게 펠릿화했다. 상청액을 완전히 제거한 후, 세포를 Pronase 용액 (CalBiochem, 캘리포니아 산디에고 소재; cat.#53702; PBS 중에 0.5 mg/ml) 2 내지 4 ml 로 2분 이하 동안 처리했다. 효소 활성 정지를 위해 FBS 3 내지 5 ml 를 첨가하고, 전기 세포 융합 용액, ECFS (0.3 M 슈크로스, Sigma-Aldrich, 미주리주 세인트루이스; Cat# S7903, 0.1 mM 마그네슘 아세테이트, Sigma, Cat# M2545, 0.1 mM 칼슘 아세테이트, Sigma-Aldrich, 미주리주 세인트루이스; Cat# C4705)를 사용하여 현탁액을 총 40 ml 부피로 조정했다. 원심분리 후 상청액을 제거하고, 세포를 ECFS 40 ml 에 재현탁시켰다. 이 세척 단계를 반복하고, 다시 세포를 ECFS에 2×10^6 세포/ ml 의 농도로 재현탁시켰다. 전기 세포 융합을 융합 발생기, 모델 ECM2001 (Genetronics, Inc., 캘리포니아 산디에고 소재)을 사용하여 실시했다. 다음과 같은 기구 세팅을 사용한 융합 챔버 크기는 2.0 ml 였다: 정렬 조건: 전압: 50 v , 시간: 50 s ; 막 붕괴: 전압: 3000 v , 시간: $30 \mu\text{s}$; 융합후 유지 시간: 3 s .

[0340] 융합 후, 세포를 하이브리도마 융합 배지[DMEM (JRH Biosciences), 15% FBS (Hyclone), 0.5XHA (Sigma-Aldrich, 미주리주 세인트루이스; cat.#A9666) 포함, L-글루타민, pen/strep, OPI (옥살로아세테이트, 피루베이트, 소 인슐린 (모두 Sigma) 및 IL-6 (Boehringer Mannheim, 인디애나 인디애나폴리스) 보강됨]에 재현탁시

켜 10% CO₂ 포함 공기 중에서 37°C하에 배양했다. 이러한 세포를 편평 바닥의 96웰 조직 배양판에 웰당 4x10⁴ 세포 농도로 평판배양했다. 배양물을 하이브리도마 배지[DMEM (JRH Biosciences, Lenexa, KS), 15% FBS (Hyclone, Logan, Utah), L-글루타민, pen/strep, OPI (옥살로아세트레이트, 피루베이트, 소 인슐린 (모두 Sigma) 및 IL-6 (Boehringer Mannheim, 인디애나 인디애나폴리스) 보강됨]로 옮기기 전에 2주 동안 하이브리도마 융합 배지에서 유지시켰다. 하이브리도마는 0.5XHA 하이브리도마 융합 배지에서의 생존성으로 선별하고, 이러한 하이브리도마를 포함하는 웰 유래의 상청액을 ELISA로 항원 반응성에 대해 선별했다. ELISA법은 상청액을 항원 코팅된 평판 (사람 IL-18 코팅된 평판) 상에서 항온처리하는 단계 및 양고추냉이 퍼옥시다제 (HRP) 표지된 마우스 항사람 IgG를 사용하여 사람 항 사람 IL-18 결합 항체를 검출하는 단계를 수반하며, 이와 함께 상청액을 항원 코팅된 평판 (사람 IL-18 코팅된 평판)에서 항온처리하는 단계 및 양고추냉이 퍼옥시다제 (HRP) 표지된 마우스 항사람 감마 및 카파쇄를 이용하여 사람 항-사람 IL-18 결합 항체를 검출하는 단계를 수반하는 ELISA 두 세트를 통해 모든 양성 시료를 확인했다.

[0341] 클로닝은 선별된 항원 양성 웰에서 한계 희석 평판법을 통해 수행했다. 평판을 단일 콜로니 증식의 존재에 대해 육안으로 조사하고, 단일 콜로니 웰 유래의 상청액을 그 다음 전술한 바와 같은 항원 특이적 ELISA로 선별했다. 복합 ELISA에 의한 사람 감마 및 카파쇄의 순도를 입증하기 위하여 Luminex 기구를 이용하여 고도 반응성 클론을 분석해냈다.

[0342] **실시예 2.2.C: XENOMAX 기술**

[0343] 대안적으로, 실시예 2.2.B에서 수득한 림프구를 XENOMAX 항체 선별 기술 (Abgenix, Inc., 캘리포니아 프리몬트 소재)을 나타내는 선택적 림프구 항체 생산법 (Selective Lymphocyte Antibody-generation Method; SLAM)으로 처리했다. 단일 B 세포를 96웰 평판에 평판배양하고, 원하는 항원 (사람 IL-18)에 대한 사람 모노클로날 항체를 생산하는 B 세포를 플라크 형성 세포 분석법 (Babcock, J.S., Leslie, K.B., Olsen, O.A., Salmon, R.A., and Schrader, J.W. Isolation of functional antibody genes from single lymphocytes of defined antigen-specificity. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA*, 93:7843-7848, 1996)으로 확인했다. 분리한 B 세포를 VH 및 Vk 리더 서열에 대한 5' 프라이머와 사람 C감마 및 C카파에 특이적인 3' 프라이머를 이용한 단세포 RT-PCR로 IgG 유전자를 클로닝했다. 수득되는 재조합 IgG 유전자를 실시예 2.2.E 및 2.2.G에 기술된 바와 같이 포유동물 세포에서 발현시켰다.

[0344] **실시예 2.2.D: 항-IL-18 항체의 동정**

[0345] 실시예 2.2.B 및 2.2.c에 따라 제조된 IL-18에 결합하는 하이브리도마 및 B-세포 생산 항체는 비오티닐화된 IL-18 ELISA (실시예 2.1.A 참조)로 확인했다. IL-18이 결합된 항체를 포함하는 하이브리도마 및 B-세포 상청액을 그 다음 실시예 1.1.A에 따라 실시되는 KG-1 생물분석법으로 IL-18 중화 효능에 대해 시험했다. 중화성 항-IL-18 항체 (하이브리도마 및 SLAM 접근법)를 포유동물 발현 벡터에 서브클로닝하고, COS 세포에서 발현시키고, 정제하여 KG-1 생물분석법에서 재시험했다 (표 5 참조).

[0346] [표 5]

KG-1 생분석에서 Anti-IL-18 HuMAb 의 중화 효능

HuMAb#	KG-1 분석 (IC ₅₀ ,M)
	NEM-rhIL-18
하이브리도마	
2.5.1	3E-10; 4E-10
2.13.1	2E-10; 1E-10; 7E-11
2.3.3	1E-9; 2E-10; 7E-10
제노맥스	
215	1E-10; 3E-10; 1E-10;
444	1E-10; 2E-10; 2E-10
478	7E-10; 2E-9; 3E-10
435	8E-10; 7E-10; 4E-10;
413	1E-9; 7E-10; 7E-10
581	7E-10; 3E-10; 3E-9
231	1E-10; 3E-11; 2E-9
521	6E-10; 3E-10; 2E-9
336	7E-10
351	2E-10
490	5E-10
550	TBD
268	7E-9

[0347]

[0348] 표 5에 기술된 항체의 가변 영역은 표 1에 설명된 것이다.

[0349] 실시예 2.2.E: 포유동물 발현 벡터로 중화성 항-IL-18 HuMAb의 서브클로닝

[0350] 항체의 중쇄 및 경쇄에 대한 유전자를 pCDNA (Invitrogen, 캘리포니아 칼스배드 소재)에 제조자의 지침에 따라 CMV 프로모터의 조절 하에 클로닝했다. 이러한 사람 게놈의 감마-2 및 카파 서열을 갖는 플라스미드를 당업계에 공지된 표준 조건을 이용하여 각 클론에 상응하는 중쇄 및 경쇄의 전기천공으로 COS 세포를 공동형질감염시켰다.

[0351] 세포를 회수하여 글루타민이 보강된 무혈청 DMEM에서 72시간 동안 증식시키고 항체 분비시켰다. 그 다음, 배양 상청액을 수거하고, 원심분리 및 여과로 정화시킨 뒤, Protein-A 수지 위에 적재했다. 컬럼은 PBS로 세척하고, 항체는 낮은 pH 완충액으로 용출시키고, 1M Tris 용액으로 신속하게 중화시켰다. 항체 제조물을 Amicon-30 스핀 필터 상에서 PBS와 완충액 교환시켰다. 항체의 농도와 순도는 IL-18 중화 효능에 대해 시험하기 전에 OD280에서의 분광분석 및 SDS-PAGE로 분석했다.

[0352] COS 세포에서 사람 항체를 높은 발현율로 수득하기 위하여 일부 항체의 중쇄 및 경쇄를 벡터 pEF-BOS (Mizushima, S. 및 Nagata, S. (1990) Nucleic acids Research Vol 18, No.17)에 신장 인자 프로모터의 조절 하에 서브클로닝했다.

[0353] 간략히 설명하면, 중쇄 가변 영역의 PCR 프라이머는 IgG 시그널 펩타이드와 사람 IgG1 불변 영역의 서열[야생형 (서열 번호 2) 또는 불활성 돌연변이체 (서열 번호 3)]을 포함하는 카세트 pEF-BOS 플라스미드에 삽입될 수 있도록 설계했다. 시그널 펩타이드의 뉴클레오타이드 서열에서와 같이 순방향 V_H PCR 프라이머는 제한 부위 NruI를 포함했다. 역방향 V_H PCR 프라이머는 감마-1 Fc 서열의 5' 말단에도 유전자조작된 SalI 제한 부위를 포함했다. V_H PCR 단편은 NruI/SalI으로 절단하고 pEF-BOS 사람 IgG1 야생형 또는 pEF-BOS 사람 IgG1 돌연변이체 작제물에 클로닝했다. 전체 경쇄 유전자는 pEF-BOS 벡터에, HindIII 제한 분해로 pCDNA 벡터에서 유래하는 기존 카파 위치에 이동시키고, T4 폴리머라제에 오버행을 증진시킨 다음, NotI 분해시켰다. 이와 같이 NotI으로 평활말단화된 경쇄 단편을 그 다음 SrfI/NotI 분해된 pEF-BOS 벡터에 클로닝했다.

[0354] 항체의 V_H 및 V_L 영역은 기본 하이브리도마주로부터 클로닝했다. 항체 생산 세포의 RNA를 준비하고, 전술한 바와

같이 설계한 프라이머 (즉, V_H 에 대해서는 NruI/SalI 프라이머, V_L 에 대해서는 NruI/BsiWI 프라이머)를 사용하여 RT-PCR을 수행했다. 전장의 IgG1 및 카파쇄를 카세트 벡터에 조합시켰다.

[0355] 항체 선별 후 추가 변형시켰다. 자연 발생의 항체는 중쇄 및/경쇄 NH₂-말단으로서 글루타민 (Q) 또는 글루타메이트 (E)를 보유한다. NH₂ 말단으로서 Q를 보유한 항체의 생산은 글루타민 잔기의 글루타메이트로의 고리화로 인하여 NH₂ 말단의 불균질성을 나타냈다. 따라서, 일부 항체의 NH₂ 말단에 존재하는 글루타민 잔기는 글루타메이트로 변이되었다. 또한, Fc 부위의 힌지 영역에 존재하는 두 잔기, 류신 234 및 류신 235를 항체의 작용인자 기능을 차단하기 위하여 변이시켰다. 간략히 설명하면, 류신 234 및 류신 235를 표준 분자생물학 기술을 사용하여 각각 알라닌 잔기로 치환시켰다 (Lund, J. et al., J.Immunology (1991) 147: 2657-2662; Winter, et al. 미국 특허 5,648,260; 5,624,821; 5,624,821). 이러한 Fc 변이된 항체를 mg1로 명명했다. 이러한 돌연변이체의 추가 특성 규명은 이하 실시예 2.2.J 6에서 실시했다.

[0356] **실시예 2.2.F: 선별된 중화성 항-IL-18 항체의 특성규명**

[0357] 상이한 생식계열 서열을 갖는 몇가지 재조합 항사람 IL-18 항체를 포유동물 세포에서 생산하여, 정제한 뒤, 다양한 분석법으로 기능적 특성을 규명했다 (표 6 참조).

[0358] [표 6]

몇몇 항-IL-18 항체의 시험관내 항원 결합, 세포 분석 및 골격 서열 특징

항체	기술 ^a	바이아코어 ^b (K _D , nM)	RBA (IC ₅₀ , nM)	KG-1 ^b (IC ₅₀ , nM)	WBA (IC ₅₀ , nM)	유전자 패밀리 ^c 서열 다양성	
2.5(E)mg1	하이브리도마	0.31	2.38	0.20	3	VL-L2	VH5-51
2.5(E)wtg1	하이브리도마	0.40	2.38	0.30	3	VL-L2	VH5-51
215(E)mg1 ^d	제노맥스	0.23	1.17	0.17	3	VL-A27	VH4-31
444(Q)mg1 ^d	제노맥스	1.61	2.49	0.13	1	VL-A27(7)	VH4-31(1)
581(E)mg1 ^d	제노맥스	2.00	1.28	1.3	3	VL-A2	VH3-30
2.3.1(E)wtg1	하이브리도마	0.23	0.20	0.63	2	VL-02	VH4-59
2.13.1(E)wtg1	하이브리도마	0.20	0.20	0.12	2	VL-A27(8)	VH4-31(18)

[0359]

[0360] NEM-cys 보호된 rhuIL-18을 사용했다.

[0361] 팔호안의 숫자는 생식계열 서열과 가장 비슷한 클론 유래의 아미노산의 차이를 나타낸다.

[0362] **실시예 2.2.G: 2.5(E)mg1을 생산하는 CHO 세포주의 제조**

[0363] 2.5(E)mg1 항체를 발현하는 안정된 CHO 세포주는 이하에 개략된 절차에 따라 제조했다.

[0364] **실시예 2.2.G1: 발현 벡터의 작제**

[0365] 포유동물 세포주에서 항체의 높은 발현율을 달성하기 위하여 플라스미드 pA510을 작제했다. 이러한 pUC19 유래의 플라스미드는 이. 콜리 ColE1 복제 오리진과 앰피실린 내성의 베타-락타메이스 유전자를 포함한다.

[0366] 간략히 설명하면, 2.5(E)mg1 항체의 VH 및 VL 영역에 상응하는 cDNA를 표준 분자생물학법을 이용하여 클로닝하고, 각각 돌연변이된 사람 감마-1 및 카파 불변 영역 유전자에 융합시켜, 천연의 완전 사람 IgG1/카파 항체를 암호화하는 DNA를 제조했다. 이러한 DNA를 발현 작제물 pA510에 도입시켰다. 수득되는 플라스미드는 다음과 같은 유전자 또는 조절 인자에 대한 서열 (pUC19는 제외)을 다음과 같은 순서로 포함했다: 5'-CMV 인핸서, 아데노바이러스 주요 후기 프로모터, 사람 면역글로불린 시그널 펩타이드, 2.5(E)mg1 중쇄 면역글로불린 가변 영역,

사람 감마-1 면역글로불린 불변 영역, SV40 폴리아데닐화 서열, 사람 가스트린 전사 종결 서열, SV40 복제 오리진 (SV40 프로모터/인핸서), 쥐의 디하이드로폴레이트 리덕타제 서열, 단순 헤르페스 바이러스 유래의 티미딘 키나제 폴리아데닐화 서열, CMV 인핸서, 아데노바이러스 주요 후기 프로모터, 사람 면역글로불린 시그널 펩타이드, 2.5(E)mg1 경쇄 면역글로불린 가변 영역, 사람 면역글로불린 카파 불변 영역 및 SV40 폴리아데닐화 서열-3'. 암호 영역은 항체 유전자 전사를 유도하는 강한 바이러스 프로모터의 하류에 삽입했다. 또한, 이 벡터는 마우스 DHFR 유전자의 발현을 암호하여, 뉴클레오사이드 부재 하에 배양물에서 성장하는 성질을 통해 형질전환된 세포를 선별할 수 있었다.

[0367] **실시예 2.2.G2: 모세포주로 발현 벡터의 형질감염**

[0368] 디하이드로폴레이트 리덕타제 (DHFR) 유전자 발현이 결손성인 세포주 CHO DUX B11 (Urlaub, G. and Chasin L.A. Proc Natl Acad Sci USA 77: 4216-4220 (1980))을 실시예 2.2.G1에 기술된 발현 벡터의 형질감염에 사용했다. CHO DUX B11 세포를 당업계에 공지된 인산칼슘 침전법 (Current Protocols in Molecular Biology; Ausubel, F.V., Brent, R., Moore, D.M., Kingston, R.E., Seidman, J.G., Smith, J.A., and K. Struhl eds; Wiley Interscience, N.Y., N.Y. (1990))을 사용하여 상기 벡터로 형질감염시키되, 다음과 같은 변형을 통해 실시했다. 평판을 통기시키고, 각 평판에 F12 배지 9ml을 첨가했다. 평판을 37°C에서 2시간 동안 항온배양했다. DNA 150μg을 50ml 원뿔형 튜브에 담긴 2.7ml 물에 용해시켰다. 2.5M CaCl₂ 300μl를 첨가하고, 이 DNA 혼합물을 50ml 원뿔형 튜브 안에 담긴 2x 헤페스 완충 식염수 (HeBS) 3ml에 한번에 1방울씩 첨가했다.

[0369] 수득되는 혼합물을 5초 동안 볼텍싱하고 실온에서 20분 동안 항온처리했다. 1ml을 각 평판 (F12)에 균일하게 도말하고, 평판을 37°C에서 4시간 동안 항온배양했다. 항온배양 후, 평판에 공기를 공급하고, F12 중의 10% DMSO 2ml을 각 평판에 첨가했다. DMSO 쇼크를 1분간 지속하고, 그 다음 각 평판에 인산염 완충 식염수 (PBS) 5ml을 첨가하여 DMSO를 희석했다. 이 평판에 공기를 공급하고, PBS로 2회 이상 세척했다. 뉴클레오사이드를 보유한 Gibco 알파 MEM 배지 10ml을 첨가하고, 이 평판을 37°C에서 하룻밤동안 항온배양했다. 다음 날, 배지를 5% 투석된 태내송아지 혈청 (FBS)을 보유하고 뉴클레오사이드가 없는 Gibco 알파 MEM 배지로 교체하고, 6시간 후 세포를 다음과 같은 96웰 평판에 접종했다. 10cm 평판의 세포를 트립신 분해를 이용하여 수거하고, 5% 혈청을 포함하고 뉴클레오사이드가 없는 Gibco 알파 MEM 배지 총 300ml에 재현탁시켰다. 20개의 96웰 평판에 웰당 100μl씩, 10ml/평판씩 접종했다. 동일한 배지 100ml를 남은 100ml의 세포에 첨가하고, 추가 20개의 96웰 평판에 전술한 바와 같이 접종했다 (이것은 제2 희석물이다). 1주 후 96웰 평판의 배지를 교체하고, 다시 1주 후에 한번 더 교체했다. 뉴클레오사이드가 없는 알파 MEM 배지를 DHFR 발현 세포 및 이에 따른 발현 벡터의 선별에 사용했다.

[0370] **실시예 2.2.G3: 2.5(E)mg1 생산 세포의 선별**

[0371] 형질감염된 CHO 세포 유래의 배양 상청액을 사람 IgG에 특이적인 ELISA를 사용하여 분리된 항체 2.5(E)mg1의 존재에 대해 시험했다. CHO 형질감염체 일 군을 사람 항체의 발현에 대해 선별한 즉시, CHO 계능에 통합된 발현 벡터의 다수의 카피를 증폭시킨 세포를 분리하기 위해 추가 선별을 실시했다. 증폭된 세포주의 선별에는 약물 메토타렉세이트 (MTX)를 사용했다. MTX의 존재에서 증식된 배양물을 면역글로불린 생산능에 대해 시험했다. MTX 감수성 조상보다 더 많은 항체를 발현하는 MTX 내성주를 선별하여 더 높은 농도의 MTX에서 추가 선별 시험을 실시하고 면역글로불린 생산에 대해 시험했다. 2.5(E)mg1 발현형 CHO 세포는 1리터 또는 15리터의 생물반응기에서 배양하고, 항체 수율은 2주 실험에서 약 1.0g/L인 것으로 측정되었다.

[0372] **실시예 2.2.H: CHO 세포 유래의 2.5(E)mg1의 물리화학적 특성규명**

[0373] CHO 유래의 2.5(E)mg1의 예비 물리 화학적 특성규명을 실시했다. 2.5(E)mg1의 실험적으로 측정된 분자량은 약 149kDa으로서, 계산된 분자량과 잘 일치했다. 펩타이드 지도작성 기술 (K Biemann Annu.Rev.Biochem. 1992 61 977-1010; D A. Lewis Accelerated Articles, Anal. Chem. 1994, 66, 585-595)을 사용하여 2.5(E)mg1이 경쇄 및 중쇄 모두에 정확한 N-말단을 보유하고 있음을 확인했다. 중쇄 C 말단의 변동성은 거의 없었고, 2.5(E)mg1 분자의 99%가 중쇄 카르복시 말단에 리신이 없었다. 각 2.5(E)mg1 중쇄는 올리고만노스로의 단일 N-결합된 글리코실화 부위 및 말단 갈락토스 잔기 0, 1 또는 2개를 보유한 복합 푸코실화된 쌍생 구조를 갖고 있었다.

[0374] **실시예 2.2.I: CHO 세포 유래의 2.5(E)mg1의 용해성 및 안정성**

[0375] 정제된 2.5(E)mg1은 적어도 62mg/ml까지 pH 5, 6 및 7의 완충액에서 최소 4주 동안 용해성이었다. 이러한 완충액에서 37°C 하에 2.5(E)mg1의 가속 안정성 시험을 실시하여 안정성 표시 분석법 및 최적의 장기간 저장 pH를 확인했다. 시료를 주마다 채취하여 응집 및 단편화 검사를 위한 크기 배제 HPLC 및 SDS-PAGE, S-S 결합 검출을 위한 LC-MS/MS 펩타이드 지도작성, 항원-ELISA 및/또는 활성 측정을 위한 세포 기반 생물분석법, 전하 불균질성

측정을 위한 양이온 교환 HPLC 및 이소-Asp 정량 분석을 실시했다. SEC (크기 배제 크로마토그래피), SDS-PAGE 및 양이온 교환 크로마토그래피에 의한 시료의 예비 분석은 이 3 분석법이 모두 안정성을 나타내는 바, 2.5(E)mg1이 약 pH 6에서 더 안정성임을 입증했다.

실시예 2.2.J: CHO 세포 유래의 항-IL-18 HuMAb, 2.5(E)mg1의 특성규명

실시예 2.2.J 1: IL-18 중 특이성

사람, 필리핀 원숭이, 마우스, 래트 및 개 유래의 IL-18에 결합하고 (하거나) 중화하는 2.5(E)mg1의 성질을 평가했다. 제조자의 지침에 따른 BIACORE 분석을 이용하여 (실시예 2.1.B 참조), 2.5(E)mg1이 성숙 사람 IL-18에는 결합하지만 마우스 IL-18에는 결합하지 않음을 확인했다. 또한, 면역침전 데이터는 2.5(E)mg1이 필리핀 원숭이 IL-18에는 결합 (cyno IL-18에 대한 IC50 = $9.1E \times 10^{-11}$)하지만, 개 또는 래트 IL-18에는 결합하지 않음을 나타냈다. 2.5(E)mg1은 사람 및 필리핀 원숭이 IL-18 생체활성을 유사한 방식으로 기능적으로 중화시켰지만, 개, 래트 또는 마우스의 IL-18은 억제하지 않는 것으로 관찰되었다.

실시예 2.2.J2: 사람 사이토킨 특이성

IL-18에 대한 2.5(E)mg1의 특이성은 제조자의 지침에 따른 BIACORE 분석을 사용하여 평가했다 (실시예 2.1.B 참조). 2.5(E)mg1 항체를 바이오센서 칩 위에 부착하고, 용액에서 공지된 사람 사이토킨 패널에 결합하는 성질을 측정했다. 표 7에 제시된 바와 같이, 2.5(E)mg1은 재조합 사람 성숙 IL-18 및 프로-IL-18에 결합했다. 이에 반해, 2.5(E)mg1은 IL-1 계열의 성분인 IL-1 α 및 IL-1 β 를 비롯하여 시험된 다른 23개 사람 사이토킨에는 전혀 결합하지 않았다.

[표 7]

2.5(E)mg1에 의한 사이토킨 결합의 바이아코어 분석

가용성 rec. 사람 사이토킨 (1 μ M)	포집된 2.5(E)mg1 (25 mg/mL)
	2.5(E)mg1 결합
IFN γ	-
IL-1 α	-
IL-1 β	-
기타 사이토킨 a	-
IL-18 ^b	+
Pro-IL-18	+

^a 결합에 대해 시험된 추가 사이토킨에는 IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-11, IL-12, IL-13, IL-15, IL-16, IL-17, IL-21, TNF, LT, LT α 1 β 2 및 LT α 2 β 1이 있다. 2.5(E)mg1은 이러한 사이토킨들 모두에 전혀 결합하지 않았다.

시스테인>알라닌 돌연변이체 BV는 재조합 사람 IL-18에서 유도되었다.

실시예 2.2.J3: 친화성 측정

표 8은 제조자의 지침에 따라 BIACORE 분석법을 사용하여 측정한 2.5(E)mg1의 시험관내 IL-18 결합 성질을 나타낸 것이다. 2.5(E)mg1 항체는 총 친화성 0.196nM 하에 빠른 결합물과 느린 해리율을 나타냈다. 두 참조물질 IL-18 길항제 (125-2H 및 IL-18 결합 단백질)의 동역학적 속도 변수는 비교용으로 제시했다.

[0387] [표 8]

2.5(E)mg1 및 표준 시약의 IL-18 결합 성질

시약	바이아코어 계수		
	결합율 ($\times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$)	해리율 ($\times 10^{-6} \text{ s}^{-1}$)	K_D (nM)
2.5(E)mg1 ^a	268	52.4	0.196
쥐 항-사람 IL-18 (125-2H) ^b	190	110	0.550
IL-18BP-Fc ^c	140	26	0.190

[0388]

[0389] (4C/A)-HuIL-18은 BIACORE로 시험했다.

[0390] ^b -125-2H, 중화성 마우스 항사람 IL-18 IgG1 mAb

[0391] ^c -IL-18BP-Fc, 천연 IL-18 길항제의 Fc 융합체

실시예 2.2.J4: 시험관내 IL-18 중화 효능

[0393] 2.5(E)mg1의 시험관내 중화 효능은 KG-1 생물분석법, 수용체 결합 분석법 (RBA) 및 사람 WBA (실시예 1.1.A-1.1.C 참조)로 측정했다. 표 8a에 제시한 바와 같이, 2.5(E)mg1 항체는 재조합 IL-18 (KG-1 및 RBA) 및 천연 IL-18 (WBA) 모두를 중화시켰고 (IC_{50} 이 KG-1에서 $<0.5 \text{ nM}$, RBA에서 $<2 \text{ nM}$ 및 WBA에서 $<5 \text{ nM}$), IL-18 결합 친화성과 일치했다.

[0394] [표 8a]

2.5(E)mg1 및 표준 시약의 중화 효능

시약	시험관내 중화 효능 (IC_{50} , nM)		
	KG-1 ^a	RBA ^b	WBA ^c
2.5(E)mg1	0.2	2.4	3.0
쥐 항-사람 IL-18 mAb (125-2H)	0.2	$>300^d$	3.0
IL-18BP-Fc	0.03	1.0	5.7
Anti-IL-18R mAb (M-840)	1.5	1.7	2.7

[0395]

[0396] ^b KG-1 생물분석법, 평균값

[0397] ^c 이 분석에는 (4C/A)-huIL-18을 사용했다.

[0398] ^d 수용체 결합 분석법

[0399] 사람 전혈액 분석에는 4 내지 6명의 각 공급자의 시료를 사용했고, 평균값을 제시했다.

[0400] 125-2H는 수용체 결합을 억제하지 못하지만 IL-18 생체활성을 중화시켰다.

실시예 2.2.J5: 2.5(E)mg1의 생체내 중화 효능

[0402] 생체내 염증성 환경에서 천연 사람 IL-18 유도성 IFN γ 를 중화하는 2.5(E)mg1의 성질을 평가하기 위하여, 중증 복합면역결핍 (SCID) 마우스 모델을 사용한 반면, 사람 IL-18을 생산하기 위하여 사람 PBMC를 마우스에 주사하여 세포를 생체내 자극했다 (HuPBMC-SCID 모델). 그 결과 (표 9)는 2.5(E)mg1이 어떤 투여 경로에 의해서든 분명한 용량 반응으로 사람 IL-18 의존적 사람 IFN γ 생산을 생체내에서 억제하는 것을 입증했다. 2.5(E)mg1의

ED₅₀은 ip 또는 iv 투여 시, 각각 약 1 μ g 또는 0.1 μ g/마우스 (=0.05mg/kg 또는 0.005mg/kg) 였다.

[표 9A]

HuPBMC-SCID 마우스 모델에서 복강내 투여된 **2.5(E)mg1** 의 생체내 효능

그룹	huIFN γ (pg/ml)	% 억제
2.5(E)mg1 0.025 μ g/마우스	70 \pm 17	61
2.5(E)mg1 0.25 μ g/마우스	112 \pm 29	36
2.5(E)mg1 2.5 μ g/마우스	36 \pm 10	80
2.5(E)mg1 25 μ g/마우스	10 \pm 8	94
2.5(E)mg1 250 μ g/마우스	3 \pm 2	98
무처리	193 \pm 59	
HuIgG 대조군 250 μ g/마우스	177 \pm 33	

[표 9B]

HuPBMC-SCID 마우스 모델에서 정맥내 투여된 **2.5(E)mg1** 의 생체내 효능

그룹	HuIFN γ (pg/ml)	% 억제
2.5(E)mg1 0.025 μ g/마우스	156 \pm 45	36
2.5(E)mg1 0.25 μ g/마우스	27 \pm 9	89
2.5(E)mg1 2.5 μ g/마우스	36 \pm 8	85
2.5(E)mg1 25 μ g/마우스	11 \pm 6	96
2.5(E)mg1 250 μ g/마우스	4 \pm 2	98
무처리	279 \pm 26	
HuIgG 대조군 250 μ g/마우스	245 \pm 22	

실시예 2.2.J6: 작용인자 기능

항체의 Fc 부위는 여러 가지 중요한 작용인자 기능, 예컨대 사이토킨 유도, 항체 의존적 세포 매개 세포독성 (ADCC), 식세포작용, 보체 의존적 세포독성 (CDC) 및 항체 및 항원-항체 복합체의 반감기/제거율을 매개한다. 몇몇 경우에, 이러한 작용인자의 기능들은 치료학적 항체에 바람직하지만, 다른 경우에는 치료 대상에 따라 불필요하거나 유해할 수도 있다. 특정 사람 IgG 이소타입, 구체적으로 IgG1 및 IgG3은 Fc γ R 및 보체 C1q에 대한 결합을 통해 각각 ADCC 및 CDC를 매개한다. 신생 Fc 수용체 (FcRn)는 혈액중의 항체 반감기를 측정하는데 중요한 성분이다.

2.5(E)mg1 중의 L234A 및 L235A 돌연변이는 2.5(E)wtg1과 비교했을 때 2.5(E)mg1 HuMAb의 중화 효능 또는 총 친화성에 영향을 미치지 않았다 (표 10). 하지만, 예상한 바와 같이, 이러한 돌연변이는 Fc γ R 및 C1q에 대한 결합성을 잃었다.

[0410] [표 10]

잔기 L234 및 L235의 알라닌으로의 돌연변이는 2.5(E)mg1의 친화성 또는 중화 효능에 영향을 미치지 않는다

Ab	역학율 계수			KG-1 생분석
	결합율 (10 ³ M ⁻¹ s ⁻¹)	해리율 (x 10 ⁻⁶ s ⁻¹)	K _D (nM)	IC ₅₀ (nM)
2.5(E)wtg1	281	47.8	0.170	0.4
2.5(E)mg1	268	52.4	0.196	0.2

[0411]

[0412] 실시예 2.2.J 6.1: FcγRI 결합성

[0413] 사람 FcγRI (CD64)은 IgG1 면역 복합체에 대해 비교적 높은 친화성을 나타낸다 (K_D 1E-8~1E-9M). 이러한 FcγRI는 단핵구 및 마크로파지와 다수의 골수 세포주, 예컨대 U937에서 발현된다. U937 세포에 대한 2.5(E)wtg1 및 2.5(E)mg1의 결합성은 형광표지세포 분리법 (FACS) (CURRENT PROTOCOLS IN IMMUNOLOGY, Vol(1) 5.3.1, Edited by J.E. Coligan et al., Published by John Wiley & Sons, Inc., 2002)으로 측정했다. 수득된 데이터 (표 11 참조)는 2.5(E)wtg1이 U937 세포에 결합하지만 예상된 바와 같이 2.5(E)mg1은 결합하지 않는 것으로 확인되었다. 이러한 결합이 FcγRI를 통해 매개되었는지를 확인하기 위하여 마우스 항-hFcγRI 차단 항체 (10.1)를 가지고 경쟁 실험을 실시했다. 그 결과, 항체 10.1이 이하에 시험된 농도에서 용량 의존적 방식으로 U937 세포에 대한 2.5(E)wtg1의 결합을 차단하였고, 따라서 2.5(E)wtg1은 U937 세포 상의 FcγRI에 결합함을 확인했다.

[0414] [표 11]

2.5(E)wtg1과는 반대로, 2.5(E)mg1의 U937 세포상의 FcγRI으로의 결합 실패에 대한 입증 (데이터는 MFI±SD로서 나타냄)

항체 농도 (μM)	1.00E-09	1.00E-08	1.00E-07	1.00E-06	1.00E-05	1.00E-04	1.00E-03	1.00E-02	1.00E-01
2.5(E)wtg1	0.50±0.00	0.50±0.00	0.63±0.12	0.57±0.05	0.60±0.00	1.10±0.00	5.80±0.05	29.60±0.05	38.76±5.19
2.5(E)mg1	0.67±0.09	0.67±0.09	0.60±0.00	0.80±0.14	0.63±0.05	0.67±0.05	0.53±0.05	0.60±0.05	0.63±0.08

[0415]

[0416] 실시예 2.2.J 6.2: FcγRII 결합성

[0417] 사람 FcγRII (CD32)는 IgG1 면역 복합체에 대해 비교적 낮은 결합 친화성을 나타낸다 (K_D 1E-5~1E-7M). 생리적 조건 하에서, 활성화에는 다가 면역복합체의 형성을 필요로 한다. FcγRI, II 또는 III에 특이적인 플루오레세인 이소티오시아네이트 (FITC) 표지된 항체 및 유동 세포측정에 의해 검출을 이용하여 K562 세포 상에서 FcγRII가 발현됨을 확인하고 이 세포주를 FcγRII 결합 분석에 사용했다. 단량체 2.5(E)wtg1의 K562 세포에 대한 결합성은 매우 약했다. 따라서, 항카파쇄 항체를 사용하여 IgG1 분자를 예비가교시켜 유사 다가 면역복합체를 제조하고, K562 세포 상의 FcγRII에 대한 결합성을 시험했다. 가교결합 후, 2.5(E)wtg1은 K562 세포에 결합한 반면, 가교결합 후에도 2.5(E)mg1은 존재한다면 최소의 결합성을 나타냈다 (표 12). 항-FcγRII 항체, 클론 IV3은 2.5(E)wtg1의 결합을 차단했고, 따라서 K562에 대한 2.5(E)wtg1의 결합성은 FcγRII 매개성이었다.

[0418] [표 12]

가교 결합 후 2.5(E)wtg1 및 2.5(E)mg1의 세포상의 FcγR II으로의 결합
(데이터는 MFI+/-SD로서 나타냄)

항체 농도 (μM)	1.00E-08	1.00E-07	1.00E-06	1.00E-05	1.00E-04	1.00E-03	1.00E-02	1.00E-01	1.00E+00
2.5(E)wtg1	0.37±0.05	0.37±0.05	0.40±0.00	0.43±0.05	0.80±0.08	3.43±0.21	19.7±0.70	93.33±4.90	134.37±12.93
2.5(E)mg1	0.30±0.00	0.40±0.00	0.40±0.00	0.37±0.05	0.37±0.05	0.40±0.00	0.50±0.00	1.60±0.08	5.37±0.38

[0419]

[0420] 실시예 2.2.J 6.3: C1q 결합성

[0421] 전형적 경로를 통한 세포의 보체 활성화 및 용해는 IgG 분자의 Fc 부분에 대한 C1q의 결합을 통해 활성화된다. 2.5(E)wtg1 및 2.5(E)mg1에 대한 C1q의 결합성을 당업계에 공지된 표준 ELISA 기술로 측정했다 (Hezareh, M., et al., (2001) J.Virology, 75(24):12161-12168). 2.5(E)wtg1 및 2.5(E)mg1 HuMAb를 플라스틱 평판 위에 코팅한 다음 사람 C1q와 항온배양했다. 결합된 C1q 분자를 염소-항사람 C1q 및 토끼 항염소 IgG 알칼리성 포스페이트 접합체의 혼합물로 검출했다. 결과는 2.5(E)wtg1은 C1q에 결합하지만, 2.5(E)mg1은 결합하지 않는 것으로 나타났다 (표 13).

[0422] [표 13]

2.5(E)wtg1과는 반대로, ELISA에 의한 2.5(E)mg1의 C1q로의 결합 실패에 대한 입증
(데이터는 OD₄₀₅+/-SD로서 나타냄)

C1q 농도 (μg/ml)	0	20	40	60	80	100	120
2.5(E)wtg1	0.09±0.00	0.78±0.00	0.98±0.00	1.06±0.07	1.14±0.06	1.32±0.13	1.24±0.06
2.5(E)mg1	0.10±0.01	0.12±0.00	0.16±0.00	0.18±0.00	0.21±0.01	0.21±0.01	0.22±0.00

[0423]

[0424] 실시예 2.2.J6.4: 신생 Fc 수용체 (FcRn) 결합성

[0425] 내피 세포에서 신생 Fc 수용체 (브람블 (Bramble) 수용체라고도 불림)와 IgG의 상호작용은 IgG 켈리티 조절 시스템 및 IgG의 긴 반감기의 주요 결정인자인 것으로 제안된 바 있다[Ghetie, V., et al (1997) Nat.Biotechnol. 15:637-640]. IgG 분자는 세포흡수작용에 의해 흡수되고 세포내 공포에서 FcRn에 성공적으로 결합하여 혈행으로 복귀한다. FcRn에 결합하지 않는 IgG 분자는 분해된다.

[0426] FcRn 결합에 대한 사람 IgG의 주요 잔기는 CH2-CH3 도메인의 접합점에서 지도작성되었다 (Kim J.K., et al (1999) Eur.J.Immunol. 29:2819-2825). 중요한 것은, 이러한 FcRn 결합 잔기가 사람 및 마우스 면역글로불린 사이에서 보존적이며, 사람 면역글로불린이 마우스 FcRn에 결합하여 마우스에서 구조활성 관계의 연구를 가능하게 한다.

[0427] FcRn 결합에 미치는 L234A 및 L235A 돌연변이의 효과를 시험하기 위하여, 야생형 2.5(E)wtg1 및 돌연변이 2.5(E)mg1의 시험관내 FcRn에 대한 결합성을 FcRn을 발현하는 CHO 세포주에서 측정했다. 2.5(E)wtg1 및 2.5(E)mg1을 pH 6.5에서 FcRn을 발현하는 CHO 세포와 항온배양한 다음, FITC 접합된 항사람 IgG(2° Ab)와 항온배양했다. 세포를 세척하고 FACS로 분석했다.

[0428] 500nM 농도의 2.5(E)mg1 및 2.5(E)wtg1은 세포만을 포함한 배경과 유사한 0.5nM 농도일 때와 비교했을 때 FcRn에 대해 유의적인 결합성을 나타냈다.

[0429] 실시예 2.2.K: 마우스에서의 약동학

[0430] 2.5(E)mg1의 약동학 (PK)은 FcγR 및 C1q에 대한 2.5(E)mg1의 결합을 차단하기 위해 도입시킨 Fc 돌연변이 (L234A, L235A)가 혈청 PK 프로파일에 악영향을 미치는지를 측정하기 위해 선별 마우스 시험에서 평가했다. 마우스 FcRn은 마우스와 사람 IgG에 동등하게 결합하여, 마우스에서 구조활성 관계 연구에 대한 관련 종류의 실험이 가능했다 (Ober, R.J., et al. (2001) Int. Immunol. 13:1551-1559). 마우스에서, 2.5(E)mg1의 종말 반감

기는 12일로 추정되었다. 유사 연구에서, 다른 사람 모노클로날 항체의 반감기는 10 내지 14일이었다.

[0431] 2.5(E)mg1의 약동학은 0.2mg (평균 10mg/kg에 해당)의 정맥내 용량 1회 투여 후 암컷 마우스 (Jackson Labs, C57BL/6n)에서 평가했다. 총 24마리의 마우스에게 투여했고, 각 마우스당 3개의 시료를 채취했다. 시료채취 계획은 7일 동안 실시했다. 2.5(E)mg1은 분포 단계 후 제거 단계를 나타냈다. 분포 및 제거 반감기 추정값은 2개의 구획 개방 모델에서 약 1.6시간 및 12일이었다 (표 14).

[0432] [표 14]

마우스에서 1 회 정맥내 투여로부터 유래하는 2.5(E)mg1 의 주요
약리역학적 계수 요약

t _{1/2α} (hr)	t _{1/2β} (days)	C _{max} (g/mL)	CL (mL/hr)	V _{ss} (mL)	V ₁ (mL)	V ₂ (mL)	MRT (days)	AUC (hr*μg/mL)
1.58	12.2	63.2	0.0162	6.82	3.15	3.67	17.5	12250

[0433]

[0434] **질병 모델**

[0435] **실시에 2.2.L: 질병 모델에서 항-IL-18 항체의 효과**

[0436] **실시에 2.2.L.1: 항-μIL-18mAb에 의한 LPS 유도 IFNγ 생산의 억제**

[0437] LPS 유도된 IFN_γ 생산은 IL-18 발현에 의존적이다 (Ghayur, T., et al. 1997, Nature 386: 619-623). LPAS 유도된 IFN_γ 생산 분석법은 IL-18 의존적 LPS 유도된 IFN_γ 생산을 생체내에서 억제하는 93-10C의 효능을 측정하는데 사용했다. 마우스에게 93-10C (50μg)의 1회 iv 용량을 투여했다. 30분 후 마우스에게 LPS (20mg/kg)를 투여하고 4시간 후 채혈했다. 혈청 IFN_γ 역가는 ELISA로 측정했다. 표 15에 제시한 바와 같이 93-10C는 LPS 유도된 IFN_γ 생산을 약 70% 억제했다.

[0438] [표 15]

93-10C는 생체내 LPS-유도된 IFNγ 생산을 억제한다

그룹	μIFNγ (pg/ml)	% 억제
Rat IgG 250 μg/마우스	7239 ± 365	N/A
MBT 93-10C 250 μg/마우스	2395 ± 711	67

[0439]

[0440] **실시에 2.2.L.2: 카라게난 유도된 발 부종의 억제**

[0441] IL-18은 염증 부위로 호중구의 동원에 관여한다. 카라게난에 의해 유도된 발바닥 부종은 단핵구 및 호중구 의존적인 염증 모델이다. 이러한 모델에서의 부종은 IL-18의 생물학적 활성을 중화시킴으로써 유의적으로 억제될 수 있다 (Leung, B.P., et al (2001), J.Immunol. 167: 2879-2886). 마우스에게 1C5 (400μg (Hyashibara Laboratories, Japan) 또는 93-10C (100μg) (Medical and Biological Laboratories (MBL) Co. Watertown MA.) 또는 대조 항체를 투여 (ip)하고, 그 다음 뒷발 바닥에 카라게난 (sc)을 주사했다. 카라게난에 의해 유도된 부종을 24h에서 96h까지 매일 측정했다. 1C5 및 93-10C는 카라게난 유도된 부종을 항원공격 후 24시간에서부터 96시간까지 유의적으로 억제했다 (약 50% 억제) (표 16). 호중구 침윤을 차단하는 것 외에도 93-10C는 이 모델의 염증 부위에서 TNF 발현을 차단한다 (Leung, B.P., et al (2001) J.Immunol. 167:2879-2886).

[0442] [표 16]

카라게난 유도된 발 부종의 생체내 억제

카라게난	발 붓기의 변화 (mm)			
시간 (hr)	24	48	72	96
125-2H @ 400	0.357	0.557	0.543	0.414
1C5 @ 400 ug	0.214	0.300	0.286	0.200
래트 IgG @ 100 ug	0.300	0.500	0.550	0.450
93-10C @ 100 ug	0.157	0.271	0.243	0.157
P<0.05 대 대조군 IgG				

[0443]

[0444] **실시예 2.2.L.3: 콜라겐 유도된 관절염**

[0445] 류마티스성 관절염 (RA)은 관절의 만성 염증 및 뼈와 관절 연골의 상실을 특징으로 한다. RA는 자가면역병인 것으로 생각되지만, 수반된 자가항원은 규명된 바 없고 이 질환의 정확한 병인도 알려지지 않았다. 콜라겐 유도된 관절염 (CIA)은 RA의 널리 사용되는 모델로서 사람 질병과 유사한 조직병리학적 특징을 갖고 있다 (Bendele, A., et al (1999) Toxicol Pathol. 27:134-142; Trentham, D.E. et al. (1997) J.Exp.Med. 146:857-868). 이 모델에서, 유전자적으로 민감한 마우스 또는 래트를 완전 프로인트 보강제 중의 II형 콜라겐 (CII)으로 면역화시켰다. 수득되는 다발관절염은 연골 파괴, 골 재흡수, 윤활막염 및 관절주위 염증을 특징으로 한다 (Bendele, A., et al (1999) Toxicol Pathol. 27:134-142). DBA/1 배경에서의 IL-18 KO 마우스는 야생형 마우스 (Wei,X.Q., et al (2000) J.Immunol. 166:517-521)와 비교했을 때 CIA 빈도 및 병도의 감소를 나타냈다.

[0446] CIA 병인발생에서 내인성 IL-18의 역할을 해명하기 위하여 마우스를 마우스 IL-18을 중화시키는 토끼 폴리클로날 IgG (BA77)로 처리했다. 초회감작 후부터 14일동안 투여했을 때 BA77은 질병 개시를 지연시키고 질병 병도를 유의적으로 감소시켰다. BA77은 또한 IgG2a 항콜라겐 항체의 생산을 유의적으로 억제했다. 이러한 결과는 IL-18 KO 마우스에서 보고된 것과 유사한 바, IL-18이 초기 CIA에서 중요한 염증 촉진 사이토킨으로서 역할을 한다는 것을 확인했다.

[0447] IL-18 KO 마우스 및 항-IL-18 IgG 처리된 야생형 마우스에서 수득된 데이터는 IL-18이 CII 유도된 1차 T 세포 활성화 동안 중요한 염증 촉진 역할을 한다는 것을 시사한다. CIA 개시 동안의 IL-18의 역할을 대한 더 상세한 이해를 돕기 위해, 마우스를 CII로 면역화하고, 약 14일쯤에 나타나는 질병 개시 직전에 래트 IgG 또는 93-10C 처리를 개시했다. 93-10C 처리는 대조군 래트 IgG와 비교했을 때 질병 개시를 유의적으로 지연시키고 병도를 감소시켰다 (표 17). 이러한 데이터는 IL-18이 T 세포 초회감작에 관여할 뿐만 아니라 CII 특이적 T 세포의 활성화 후 관절발생 반응의 촉진에도 관여하는 유의적인 인자임을 입증했다.

[0448] [표 17]

항 -IL-18 mAb 93-10C 은 CIA 의 발병을 지연시키고 이의 중증도를 경감시킨다

처리	관절염 평균 스코어							
일수	11	12	13	14	15	16	17	18
래트 IgG @200 µg	0.00	0.13	0.13	0.13	0.27	0.53	1.20	1.20
93-10C @ 200 µg	0.00	0.00	0.00	0.00	0.07	0.00	0.20	0.47
텍사메타손 -21-P @1mpk	0.00	0.00	0.27	0.27	0.13	0.13	0.13	0.13
처리 기간								
P<0.05 대 래트 IgG								

처리	관절염 평균 스코어							
일수	19	20	21	22	23	25	26	27
래트 IgG @200 µg	1.53	1.73	1.93	2.27	2.53	4.20	4.27	4.53
93-10C @ 200 µg	0.47	0.80	1.00	1.00	1.13	2.20	2.27	2.87
텍사메타손 -21-P @1mpk	0.07	0.07	0.07	0.00	0.00	0.00	0.07	0.20
처리 기간								
P<0.05 대 래트 IgG								

[0449]

[0450] **실시예 2.2.L.4: 패혈성 관절염**

[0451] IL-18은 패혈성 관절염의 마우스 모델 중 발병에 중요한 인자이다. 이 모델은 일반적으로 RA 모델로 생각되지는 않지만, RA와 관련 있는 몇몇 염증 성분과 병리 상태를 공유한다. 이 모델에서 질병은 무릎 관절에 그룹 B 스트렙토코커스 (GBS) 생균주를 주사하여 유도된다. 결과적으로 생성된 관절염의 병도는 TNF가 아닌 IL-1β 및 IL-6의 전신 및 국소 농도와 상관성이 있다 (Tissi L., et al (1999) Infect.Immunol. 67:4545-50). 관절에 유의적인 IL-18 농도는 혈청형 IV (GBS) 주사 후 12시간 정도부터 검출되었고, 최고 IL-18 생산은 5일 후에 검출되었다 (1C5 처리군에서는 약 550pg/ml 인 반면 IgG 대조군에서는 약 30pg/ml이었다). 높은 IL-18 농도는 주사 후 5일동안 혈청에서 검출되었다 (1C5 처리군에서는 약 180pg/ml인 반면 IgG 대조군에서 약 20pg/ml).

[0452] GBS 투여 1시간 전에 1C5를 주사한 경우에는 2일부터 10일까지 관절 손상의 빈도가 현저하게 억제되었다 (관절염 지수: 1C5 처리군에서는 1.0인데 반해 IgG 대조군에서 2.5였다). 또한, 1C5 처리는 관절에서 IL-6 및 IL-1β를 포함하는 사이토킨의 수준을 유의적으로 감소시켰다 (데이터는 제시하지 않았다).

[0453] **실시예 2.2.L.5: SLE**

[0454] 가장 많이 연구된 루푸스 모델로는 심한 사구체신염, 자가항체 생산 (항-DNA, 항 RNP 등), 비장비대, 림프절병증 및 다소의 관절염 및 혈관염과 함께 루푸스 유사 증후군을 자발적으로 발생시키는 마우스 균주가 있다 (MRL/lpr 및 NZB/NZW F1). 3 내지 5개월령에서는 보통 신장 발병이 관찰되고, 급속하게 진행되어 6 내지 10개월이 되면 치명적이 된다. 상기 두 마우스 균주는 임상 질병의 이해를 구하기 위해 광범위하게 연구되었다.

[0455] NZB/NZW F1 (B/W) 마우스 모델 (The Jackson Laboratory, Maine, USA)은 루푸스 유사 질병의 진행에 미치는 외인성 IL-18의 효과를 평가하기 위한 가장 관련 있는 모델로서 선별했다. B/W 마우스에서 질병 진행의 개시는 보통 7 내지 9개월령에 관찰되고, 12 내지 14개월에 이르면 신장 부전의 결과로서 치명적이었다. 루푸스 발병에서 IL-18의 역할을 조사하기 위하여 B/W 마우스를 7개월령때부터 r-muIL-18 또는 매개체 대조군으로 매일 처리했다. 신장 기능은 단백뇨의 정도를 측정하여 평가했다. IL-18 50 μ g/kg으로의 B/W 마우스의 매일 처리는 PBS 매개체 처리된 그룹과 비교했을 때 심한 단백뇨의 개시를 촉진시켰다. IL-18 처리된 B/W 마우스는 또한 조기 사망을 나타냈다. 이러한 관찰은 MRL/lpr 마우스에 대해 전술한 것과 일치했고, 자가면역 질병에서 IL-18의 염증 촉진 역할을 분명하게 나타냈다.

[0456] SLE 마우스 모델에서 IL-18 차단 of 치료학적 효과를 조사하기 위하여 루푸스 신염의 임상 치료법을 반복하는 B/W 마우스에서의 유도-유지 치료 프로토콜을 구축했다. 이 연구에서, 심한 신염 B/W 마우스는 사이토카인의 주단위 용량을 5회 투여받은 다음 (유도 단계), 만성 IC5 또는 마우스 IgG1 대조군 (125-2H)으로 처리되었다 (유지 단계).

[0457] 결과는 후속된 130일간의 유지 처리에서 IC5는 대조군 IgG1 125-2H에 비해 BW 마우스의 생존력을 유의적으로 연장시켰다. 125-2H는 muIL-18을 인식하지 못하는 마우스 IgG1 mAb이다 ($P < 0.05$). 생존력 연장외에도, 심한 단백뇨의 개시가 지연되었고, IC5 처리된 BW 마우스에서 IgG2a 및 IgG1 항-dsDNA의 감소가 나타났다. IC5 처리에 의한 항-dsDNA의 감소는 일시적으로 통계적 유의값은 아니었다. IC5에 대한 항체 (마우스 항마우스 항체[MAMA])가 검출되었고, 130일 후 효능 상실보다 먼저 나타났다. 이러한 효능 상실은 급격한 생존력 저하와 항-dsDNA 역가 및 단백뇨 저하 효과의 상실로 확인되었다. 결론적으로, IC5에 대한 항체 반응의 존재에도 불구하고, IC5에 의한 IL-18 차단은 생존력을 연장시키고, 심한 단백뇨의 개시를 지연시키며 B/W 마우스 중의 항-dsDNA 역가를 저하시켰다. 이러한 데이터는 염증 반응 촉진에 있어서의 IL-18의 역할을 입증하는 것으로서, 결과적으로 신장 기능 상실과 종국에는 사망에 이르게 한다.

[0458] **실시예 2.2.L.6: 다발성 경화증**

[0459] 실험적 알레르기 뇌척수염 (EAE; MS의 쥐의 모델)의 발병에 미치는 IL-18의 효과를 조사했다. 재발-관해 EAE는 유사한 질병 과정, 임상 징후 및 CNS 병리상태로 인해 사람 질병과 관련 있는 모델로 생각된다. 본 연구에서는 이 질병의 유도를 IL-18 KO 마우스 및 WT C57/B16 마우스에 대해 실시했다. IL-18 KO 마우스는 WT 마우스에 비해 질병 증후군 개시의 약간의 지연을 나타내면서 후반기에 훨씬 심하지 않은 질병을 발생시켰다 (표 18). 0일째부터 면역화후 14일째까지 WT 마우스의 BA77 (항 마우스 IL-18 IgG (250mg, 2X/wk)로 처리는 질병 증후군 개시를 지연시켰고, 후반기에 질병 병도를 현저하게 억제했다 (표 18). 항-IL-18 IgG의 차단 효과는 처리 중지 후에도 후반기에 관찰할 수 있었다.

[0460] [표 18]

항-IL-18 Ab 처리된 마우스 및 IL-18 녹아웃 마우스는 덜 심각한 EAE 질환을 나타낸다

	평균 임상 스코어 면역화 후 14 일째
IgG(BA77) SJL/J 마우스에서 PLP 유도된 EAE 항 -IL-18 ab	4 2.7
	평균 임상 스코어 18 일째
WT IL-18 KO 및 WT 마우스에서 MOG 유도된 EAE KO	3.6 2.1

[0461]

[0462] **실시예 2.2.L.7: 간 손상**

[0463] 콘카나발린 A (ConA) 유도된 간 염증/손상은 T-세포 매개 간 질병의 동물 모델이다. ConA에 의한 간내 T-세포의 활성화는 염증 매개인자 (예, IFN γ 및 Fas 리간드)의 국소 생산을 유도한다. Fas-Fas 리간드 상호작용은 IL-18을 생산시키고, 이는 나아가 IFN γ , Fas 리간드 및 TNF 생산을 유도한다. 이에 따라, 간 손상과 죽어가는 세포로부터 ALT 및 AST와 같은 간 효소의 과도한 생산을 초래하는 양성 피드백 루프가 구축되었다. ConA 150 μ g을 iv 투여하기 1시간 전에 1C5 또는 93-10C mAb를 주사했다 (ip). ConA 주사후 24시간째에 마우스의 혈액을 채취하여 간효소 (ALT 및 AST)의 혈청 역가를 측정했다. 1C5 및 93-10C는 모두 LPS에 의해 유도된 간 효소의 상승을 차단시켰고, 특히 93-10C는 낮은 용량에서도 효과적이었다 (표 19).

[0464] [표 19]

93-10C에 의한 ConA-유도된 간 염증의 생체내 억제

처리	AST	Stdv	ALT	Stdv
PBS	57	16	30	2
ConA 단독	1138	416	1294	481
ConA+93-10C (50ug)	183	70	153	88
ConA+93-10C (12.5ug)	635	427	443	256
ConA+rat IgG1(50ug)	3924	1062	3455	753

[0465]

[0466] **실시예 2.2.L.8: 폐혈증**

[0467] IL-18은 내독소 쇼크의 중요한 매개인자로 판명되었다. IL-18은 내독소 유도된 폐, 간 및 다기관 손상의 중요한 매개인자일 수 있다 (Neeta, M.G., et al (2000) J.Immunol. 164: 2644-2649). 이러한 IL-18의 효과는 세포독성 매개인자의 생산을 조절하는 성질 뿐만 아니라 선천 면역반응을 활성화시키고 국조 염증 부위로 호중구를 집증시키는 성질에 좌우될 수 있다. 또한, LPS 항원투여는 IFN γ , TNF 및 IL-1의 혈청 농도를 상승시키며, 이러한 사이토킨들이 LPS 유도된 치사율에 기여할 수 있다. LPS 항원투여된 IL-18 녹아웃 마우스는 LPS 유도된 IFN γ 결손성이며, WT 마우스보다 훨씬 적은 TNF 및 IL-1을 생산한다 (Takeda, K., et al (1998) Immunity 8:383-390).

[0468] LPS 유도된 치사율 실험은 다음과 같이 실시했다. 0일째 동물의 체중을 재고, 투여할 적당한 투약량을 측정했다. T=-1시간째, 동물에게 0.9% 식염 500 μ l 중의 항-IL-18 항체 또는 대조군 항체를 복강내 (IP) 주사로 투여했다. T=0시간째, 동물에게 0.9% 식염수 100 μ l 중의 리포폴리사카라이드 (LPS) (이. 콜리 혈청형 0111: B4 Sigma Cat #L-4130 lot #71K4110) 20mg/kg을 정맥내 (IV) 주사로 투여했다. 4시간 후 심장 천자를 통해 동물의 혈액을 채취했다. 혈청 muIFN γ 역가를 muIFN γ ELISA (R&D Systems)로 측정했다.

[0469] 항-muIL-18 mAb, 1C5 또는 93-10C로 처리된 WT 마우스는 LPS 유도된 치사율로부터 보호되었다 (1C5와 동일한 불활성 아이소타입을 갖지만 muIL-18에는 결합하지 않는 125-2H를 대조군으로 사용했다). 또한, 항-IL-18 IgG 처리된 마우스는 LPS 항원투여후 폐 및 간 손상이 저하되는 것으로 보고되었고, 이는 호중구 축적 감소와도 상호 관련되었다 (Neeta, M.G., et al (2000) J.Immunol. 164:2644-2649).

[0470] [표 20]

1C5 및 93-10C mAb는 고용량의 LPS 치사율을 예방한다

치사율		생존 %							
시간 (hr)	0	8	24	32	48	56	72	120	144
식염수	100	100	100	50	10	10	10	10	10
125-2H @ 400	100	100	80	70	10	10	10	10	10
1C5 @ 400 μ g	100	100	100	90	80	80	80	80	80

치사율		생존 %							
Time (hrs)	0	8	24	32	48	56	72	120	144
식염수	100	100	90	40	10	10	10	10	10
Rat IgG @ 100 μ g	100	100	100	100	70	40	40	40	40
93-10C @ 100 μ g	100	100	100	100	100	100	100	100	100

[0471]

[0472] **실시예 2.2.M: 2.5(E) Fab 단편의 결정화**

[0473] 본 발명의 항체가 결정화될 수 있고, 이에 따라 결정화된 항체를 포함하는 배합물 및 조성물이 제조될 수 있음을 증명하기 위하여 다음과 같은 실험을 수행했다.

[0474] **실시예 2.2.M.1: 2.5(E) 항체 Fab 단편의 제조 및 정제**

[0475] 2.5(E) 사람 IgG는 SR-286 배지 중의 CHO 세포에서 발현되었다. 용해 후의 상청액을 0.5 마이크론 필터를 통해 여과하고 Protein A 완충액 A (1XPBS)로 예비평형화된 Protein A 컬럼 위에 적재했다. 그 다음, Protein A 완충액 B (0.1M Na 아세테이트 pH 3.5, 150mM NaCl)로 IgG를 용출시켰다. 수집된 IgG를 20mg/ml로 농축하고, 50% 과파인 겔 슬러리와 혼합한 뒤, 강력한 진탕하에 37℃에서 24시간 동안 항온배양했다. 그 다음, 항체/슬러리 혼합물을 50mM Tris 완충액 pH 7.0에 대하여 4℃에서 하룻밤 동안 투석하여 완충액으로부터 시스테인을 제거했다. 25ml Protein A 세파로스 4 급속 유동 친화성 컬럼 (Amersham Pharmacia)은 완충액 A (50mM Tris pH 7.0) 100ml로 세척하여 제조했다. 투석한 상청액을 친화성 컬럼 (2ml/min 유속)에 적용했다. 2.5(E)Fab 분획 (280nm에서 UV 흡광도에 의해 모니터링됨)을 플로 스루 (flow-thru)에 수집했다. 2.5(E)Fab 농도가 0.3mg/ml보다 높은 분획 (280nm에서 UV 흡광도로 측정됨)을 모아서, Ultrafree-15 Biomax 10kDa 분자량 컷오프 (MWCO) 원심분리 필터 장치 (Millipore)를 이용하여 약 20mg/ml로 농축하고, -80℃에서 동결시켰다. 이와 같이 농축된 시료를 이하에 기술되는 결정학적 실험에 사용했다. 시료 순도는 SDS-PAGE로 평가했다.

[0476] **실시예 2.2.M.2: 2.5(E)Fab 단편의 결정화**

[0477] 동결한 2.5(E)Fab 스톱 용액 (약 20mg/ml)을 얼음상에서 해동시켰다. Fab(2μl)를 25 내지 30% 폴리에틸렌글리콜 (PEG) 400, 100mM CAPS pH 10.5로 이루어진 보관 용액 2μl와 혼합하고, 실리콘처리된 유리 커버 슬립의 밑면에 있는 저장소 상에서 약 4℃에서 현탁시켰다. 1일 이내에 막대형 결정이 나타났다. 막대형 결정은 2.5(E)Fab 단편 결정인 것으로 확인되었다 (데이터는 제시하지 않았다).

[0478] **실시예 3: IL-18 반응성 유전자**

[0479] **실시예 3.1: 재료 및 방법**

[0480] 실시예 4 전반에 걸쳐, 다른 표시가 없는 한 다음과 같은 재료 및 방법을 사용했다.

[0481] **실시예 3.1.A: 세포 처리 및 RNA 제조**

[0482] **실시예 3.1.A.1: KG-1 세포**

[0483] 각 실험 조건에서 4개의 처리 그룹 마다 약 3.0×10^7 KG1 세포 (ATCC #CCL-246)를 사용했다. 제1 그룹에서는, 10mg/ml 시클로헥시미드를 이용한 30분간의 예비항온처리의 유무하에 세포를 50ng/ml 재조합 IL-18로 처리했다. 30분 또는 2시간 후, 세포를 RNA 제조를 위해 수거했다. 제2 그룹에서는, 10mg/ml 시클로헥시미드를 이용한 30분간의 예비항온처리의 유무하에 세포를 0, 0.5, 2.0, 10 또는 50ng/ml의 재조합 IL-18로 처리했다. 2시간 후, 세포를 RNA 제조를 위해 수거했다. 제3 그룹에서는, 세포를 TNF 0 또는 10ng/ml로 처리했다. 하룻밤 동안 항온 배양한 후, 그 다음 10mg/ml 시클로헥시미드를 이용한 30분간의 예비항온처리의 유무하에 세포를 0, 0.5, 2.0, 10 또는 50ng/ml 재조합 IL-18로 처리했다. 2시간 후, 세포를 RNA 제조를 위해 수거했다. 제4 그룹에서는, 10mg/ml 시클로헥시미드를 이용한 30분간의 예비항온처리의 유무하에 세포를 0 또는 10ng/ml의 TNF와 0 또는 2.0ng/ml의 재조합 IL-18로 동시에 처리했다. 2시간 후, 세포를 RNA 제조를 위해 수거했다.

[0484] 총 RNA는 TRIzol 시약 (Life Technologies, Rockville, MD)을 사용하여 제조했다. 1차 분리는 제조자의 프로토콜에 따라 실시하고, 그 다음 추가 추출에는 페놀:클로로포름:이소아밀 알콜 (25:24:1, Life Technologies, Rockville, MD) 1/2 부피를 이용하여 실시했다. RNA 침전 및 세척은 제조자의 TRIzol 프로토콜 지침에 따라 실시했다. 약 3μg RNA를 1.0% 아가로스/포름알데하이드 변성 겔에서 전기영동하여 순도를 확인했다.

[0485] TNF 예비항온처리를 필요로 하는 실험에서는 KG-1 세포를 2, 10 또는 40ng/ml의 IL-18로 자극하기 전에 2ng/ml의 TNF와 12시간 동안 항온배양했다. RNA는 전술한 바와 같이 제조했다.

[0486] **실시예 3.1.A.2: 사람 전혈액 분석법**

[0487] 2.5ml 사람 전혈액을 15ml 원뿔형 튜브에 나누고, IL18, IL12, IL18+IL12, IL18+IL12+항-IL-18 또는 IL18+IL12, IL18+IL12+대조군 항체로 처리했다. 최종 농도는 다음과 같다: IL12-500pg/ml, IL18 (YK27-1)-50ng/ml, mIgG-5μg/ml, 항-IL-18 1252H-5μg/ml, 및 항-IL18 2.5-4μg/ml. 혼합물을 간헐적으로 부드럽게 역전시

키면서 37℃에서 4시간 동안 항온배양했다. 항온배양 후, 1X 용해 완충액 (Depc에 1:10으로 희석된 PharM Lyse 암모늄 클로라이드 용해 시약) 5ml를 첨가하여 염화암모늄으로 적혈구 세포를 제거했다. 5분 후, 얼음상에서 혼합물을 1200rpm 하에 5분 동안 원심분리했다. 이 절차를 1회 반복하여 백혈구의 백색 펠릿을 수득했다. 그 다음, RNA를 전술한 Trizol 절차를 사용하여 분리했다. 마이크로배열 분석을 위해 모든 시료 용량은 4배율씩 증가시켰다.

[0488] **실시예 3.1.B: 프로브 제조 및 표적 하이브리드화**

[0489] 총 RNA 10μg과 cDNA 합성용 SuperScript Choice System (Gibco BRL, Gaithersburg, MD)을 사용하여 이분쇄 cDNA를 합성했다. 합성은 키트와 함께 제공되는 랜덤 프라이머 또는 올리고 (dT)₂₄ 올리고머 프라이머 (GENSET)와 온도 조정 및 제1 가닥 합성 단계 동안 42℃에서 항온배양을 필요로 하는 Affymetrix (Santa Clara, CA) 프로토콜에 따라 실시했다. 수득되는 cDNA를 Phase Lock Gel Light 2ml 튜브 (Eppendorf AG, Hamburg, DE)로 세정하고, 펠릿을 DEPC-H₂O 12μl에 현탁시켰다. cDNA 5μl를 BioArray High Yield RNA Transcript Labeling Kit (Enzo, Farmingdale, NY)와 함께 사용하여 T7 RNA 폴리머라제 프로모터로부터 시험관 내 전사 (IVT)를 통해 비오틴 표지된 cRNA 표적을 수득했다. 상기 IVT 반응액으로부터 RNeasy Mini 컬럼 (Qiagen, Hilden, DE)을 이용하여 유리 뉴클레오타이드를 제거했다. 비오틴 표지된 cRNA 15μg을 그 다음 아피메트릭스 프로토콜에 따라 단편화했다. 단편화된 전체 시료를 대조군 올리고뉴클레오타이드 B2 (Affymetrix) 5μl, 20X 진핵생물 하이브리드화 대조군 (Affymetrix) 15μl, 초음파처리된 연어 정자 DNA (10mg/ml, Stratagene, La Jolla, CA) 3μl, 아세틸화된 BSA (50mg/ml, Gibco BRL) 3μl, 2X MES 하이브리드화 완충액 150μl 및 최종 부피 300μl를 맞추기 위한 물과 혼합했다. 아피메트릭스 프로토콜 후, Genechip HuGeneFL Arrays (Affymetrix)를 1X MES로 예비습윤화시켰다. 그 다음, 하이브리드화 혼합물을 가열하고 원심분리한 뒤, 200μl를 칩 위에 적재했다. 이 칩을 45℃ 로티세리 오븐에서 16시간 동안 회전시켰다.

[0490] **실시예 3.1.C: 프로브 배열의 세척, 염색 및 스캐닝**

[0491] 하이브리드화 혼합물을 칩에서 제거하고 비염중 세척 완충액을 주입했다. 칩을 GeneChip Fluidics Station 400에서 제조자의 지침 (Affymetrix)에 따라 EukGE-WS2 프로토콜을 이용하여 세척하고 염색했다 (즉, 칩을 스트렙타비딘 피코에리트린 (SAPE) 염색 용액 및 항체 용액으로 함께 염색하는 프로토콜). 필요한 모든 세척 완충액 및 염색액은 아피메트릭스 프로토콜에 따라 제조했다. 염색된 배열을 스캐닝하기 위하여 GeneChip 소프트웨어와 함께 GeneArray Scanner (Agilent, Palo Alto, CA)를 사용했다.

[0492] **실시예 3.1.D: 데이터 분석**

[0493] Genechip 데이터를 Affymetrix MAS4로부터 마이크로소프트 엑셀로 옮긴 후, Spotfire Decisionsite 7.0에 업로드시켰다.

[0494] **실시예 3.2: 유전자 발현이 IL-18에 의해 조절된다.**

[0495] **실시예 3.2.1: IL-18은 단독으로 KG1 세포에 존재하는 일군의 유전자를 직접 조절한다.**

[0496] IL18에 의해 직접 조절되는 전사체를 측정하기 위하여 단백질 합성 억제제인 사이클로헥시미드의 존재 및 부재 하에 KG1 세포를 사이토킨 적정 실험을 실시했다. 표 1에는 사이클로헥시미드의 존재 및 부재 중의 적어도 하나의 조건 하에서 p값이 0.05 미만 (스튜던트 검정 사용시)이고 2배 이상 조절된 것으로 밝혀진 상이한 67개 프로브 세트 (칩 상의 여분으로 인해)로 대표되는 62개 전사체 목록이다. 이 유전자들은 전사인자, 키나제 및 분비된 단백질을 비롯한 다양한 기능적 부류로 구성되어진다. 이 유전자들은 새로운 단백질 합성 없이 조절되기 때문에 이 유전자들은 IL18 유도된 시그널 전달에 직접 반응한다. 12개 유전자는 분비된 단백질을 암호화하고, 13개는 표면 분자를 암호화한다 (이들은 적당한 항체 표적이 된다). 나머지 유전자들은 핵 및 세포질 단백질을 암호화한다 (표 21 참조).

[0497] [표 21a]

IL18에 의해 유도된 유전자.

진행크 ID	위치 /기능	유전자명	고유 유전자 해설	0.5 ng/ml	2 ng/ml	10 ng/ml	50 ng/ml
L29217	키나제	CLK3	CDC형 키나제 3	9.1	7.4	8.1	15.0
D14497	키나제	MAP3K8	미토겐-활성화된 단백질 키나제 8	6.6	2.9	5.8	3.9
L19871	돌다 아님	ATF3	활성화 전사 인자 3	1.0	1.1	3.3	2.6
U15460	돌다 아님	BATF	염기성 류신 지퍼 전사 인자, ATF형	1.5	1.7	2.4	2.8
U45878	돌다 아님	BIRC3	바콜로바이러스 IAP 반복체 함유 3	7.0	6.2	10.2	10.0
U37546	돌다 아님	BIRC3	바콜로바이러스 IAP 반복체 함유 3	29.4	26.9	76.6	63.6
U72649	돌다 아님	BTG2	BTG 패밀러, 구성원 2	3.1	4.7	6.6	5.9
L07765	돌다 아님	CES1	카복실에스테라제 1	1.0	1.3	2.1	2.1
M27691	돌다 아님	CREB1	cAMP 반응 요소 결합 단백질 1	0.9	2.4	4.9	3.1
HG3548-HT3749	돌다 아님	CUTL1	cut (CCAAT 전이 단백질)	2.5	2.1	1.3	0.7
X59131	돌다 아님	D13S106E	고전화 단백질	2.1	0.5	1.5	2.3
U53445	돌다 아님	DOC1	난소암 1에서 하향조절됨	2.0	3.3	3.0	3.8
X68277	돌다 아님	DUSP1	이원 특이성 포스파타제 1	2.5	3.1	4.1	3.3
U48807	돌다 아님	DUSP4	이원 특이성 포스파타제 4	2.0	2.3	2.9	2.0
X52541	돌다 아님	EGR1	조기 성장 반응 1	15.5	12.7	32.4	20.3
X63741	돌다 아님	EGR3	조기 성장 반응 3	5.9	7.3	15.1	9.0
L07077	돌다 아님	EHHAADH	에노일-조효소 A	3.4	2.3	1.8	2.5
M62831	돌다 아님	ETR101	이메다에이트 어일리 단백질	3.4	5.8	6.3	6.8
L19314	돌다 아님	HRV	털많은 (드로소필라)-동족체	2.3	2.5	2.3	2.0
S81914	돌다 아님	IER3	이메다에이트 어일리 반응 3	17.0	18.6	32.9	29.6
X51345	돌다 아님	JUNB	jun B 발발성-발암유전자	7.2	6.1	10.7	9.6
U20734	돌다 아님	JUNB	jun B 발발성-발암유전자	10.2	21.8	25.0	25.4
U49957	돌다 아님	LPP	LIM 도메인 함유	2.2	1.1	2.0	1.9
M58603	돌다 아님	NFKB1	핵 인자 카파 B (p105)	1.6	2.0	2.9	2.3
S76638	돌다 아님	NFKB2	핵 인자 카파 B	1.7	2.2	3.5	4.3
M69043	돌다 아님	NFKBIA	핵 인자 카파 B	9.6	10.4	15.5	15.8
U91616	돌다 아님	NFKBIE	핵 인자 카파 B	11.6	14.8	20.7	21.0
L13740	돌다 아님	NR4A1	핵 수용체 서브패밀리 4, 그룹 A, 구성원 1	2.0	2.7	2.4	2.5
HG4115-HT4385	돌다 아님	ORIE3P	후각 수용체	4.5	12.0	4.2	4.1
L20971	돌다 아님	PDE4B	포스포디에스테라제 4B, cAMP-특이적	2.4	2.8	4.2	3.5
U64675	돌다 아님	RANBP2L1	RAN 결합 단백질 2형 1	1.1	1.8	2.2	2.2
S57153	돌다 아님	RBBP1	말막아중 결합 단백질 1	2.5	3.4	5.0	4.1
X75042	돌다 아님	REL	v-rel	1.6	2.5	3.9	3.7
M83221	돌다 아님	RELB	v-rel	2.3	2.8	2.8	2.6
S59049	돌다 아님	RGS1	G-단백질 시그널 전달 1의 조절인자	10.9	12.7	22.4	17.8
U70426	돌다 아님	RGS16	G-단백질 시그널 전달 16의 조절인자	3.9	4.7	7.5	6.7
U22377	돌다 아님	RLF	재배열된 L-myc 융합 서열	2.5	2.0	2.5	2.6
M95787	돌다 아님	TAGLN	트랜스글린	6.6	4.7	1.0	1.6
L47345	돌다 아님	TCEB3	전사 연장 인자 B (110kD, 엘론긴 A)	3.6	5.3	2.3	4.2
M59465	돌다 아님	TNFAIP3	종양 괴사 인자, 알파 유도된 단백질 3	9.9	12.4	25.4	20.6
U19261	돌다 아님	TRAF1	TNF 수용체 연합 인자 1	2.8	2.8	4.9	4.1
U78798	돌다 아님	TRAF6	TNF 수용체 연합 인자 6	1.2	2.0	2.1	2.2
M37435	분비됨	CSF1	콜로니 자극 인자 1 (마르로파아지)	2.9	2.9	2.1	2.6
M57731	분비됨	GRO2	GRO2 발암유전자	15.2	20.9	26.3	27.0
X53800	분비됨	GRO3	GRO3 발암유전자	4.1	5.5	14.8	9.9
X04500	분비됨	IL1B	인터류킨 1, 베타	2.2	3.4	5.7	4.7
M28130	분비됨	IL8	인터류킨 8	6.2	10.0	13.4	14.5
Y00787	분비됨	IL8	인터류킨 8	5.8	7.4	8.3	8.5
U89922	분비됨	LTB	림프독소 베타 (TNF 슈퍼패밀리, 구성원 3)	5.0	5.7	11.0	12.8

[0498]

[0499] [표 21b]

진행크 ID	위치 /기능	유전자명	고유 유전자 해설	0.5 ng/ml	2 ng/ml	10 ng/ml	50 ng/ml
M31166	분비됨	PTX3	펜탁신 관련 유전자, 베타에 의해 신속하게 유도됨	3.1	5.2	10.3	6.4
M23178	분비됨	SCYA3	유도성 소형 사이토킨 A3	1.8	2.0	5.0	3.8
M69203	분비됨	SCYA4	유도성 소형 사이토킨 A4	0.9	1.9	7.0	5.6
J04130	분비됨	SCYA4	유도성 소형 사이토킨 A4	1.0	2.6	5.9	4.5
M92357	분비됨	TNFAIP2	종양 괴사 인자, 알파-유도된 단백질 2	4.2	6.4	20.3	19.3
Z32765	표면	CD36	CD36 항원 (콜라겐형 I/TSP 수용체)	1.6	2.0	1.4	1.2
Z11697	표면	CD83	CD83 항원	4.7	8.2	19.6	16.7
M57730	표면	EFNA1	에프린-A1	9.8	6.0	9.5	15.2
A28102	표면	GABRA3	감마-아미노부티르산 (GABA) 수용체	3.0	2.5	1.6	2.7
M24283	표면	ICAM1	세포간 접착 분자 1 (CD54)	7.5	11.5	14.5	13.9
M55024	표면	ICAM1	세포간 접착 분자 1 (CD54)	2.5	3.4	3.2	3.7
J03171	표면	IFNARI	인터페론 (알파, 베타 및 오메가) 수용체 1	3.2	2.5	2.8	2.6
X01057	표면	IL2RA	인터류킨 2 수용체, 알파	0.7	0.4	3.9	3.6
L10338	표면	SCN1B	나트륨 채널 폴리펩타이드	1.8	2.3	1.5	1.5
D79206	표면	SDC4	신데칸 4 (엠퍼글리칸, 류도칸)	4.0	4.2	7.2	6.1
HG961-HT961	표면	SOS1	7개 결절 (드로소필라) 동족체 1의 son	6.3	6.2	9.1	9.9
X83490	표면	TNFRSF6	종양 괴사 인자 수용체 구성원 6	1.1	1.3	3.8	3.3
U19523	돌다 아님	GCHI	GTP 사이클로하이드롤라제 1		2.1		
U37518	표면	TNFSF10	종양 괴사 인자 구성원 10	1.4	1.4	2.3	1.6

[0500]

[0501] 3.2.2: 사이토킨 노출 이력은 IL-18에 대한 KG-1 세포 반응을 작동시킨다.

[0502] 사이토킨은 일반적으로 면역 반응 동안 순차적으로 나타나기 때문에, IL-18로 처리하기에 앞서 TNF와 KG-1 세포를 예비배양하는 경우의 효과를 시험했다. 이 실험은 또한 세포의 사이토킨 노출 이력이 후속 사이토킨 노출 반응에 영향을 미칠 수 있다는 가설에 대한 시험이기도 하다. 따라서, 세포를 IL18 첨가 12시간 전에 TNF 2ng으로 처리한 후 4시간 후에 수거했다.

[0503] 이러한 조건 하에서 IL18은 약 125개 유전자의 발현을 조절했다 (표 2). 이러한 유전자 군을 수득하는데 사용된 선별 기준은 TNF에 의한 변화가 50% 미만이고 10ng/ml 및 40ng/ml의 IL18에 의한 변화가 2개 이상인 경우였다. 이러한 유전자들은 전사 인자, 키나제 및 분비된 단백질을 비롯하여 각종 기능 부류에 속하는 것이었다 (표 22). 여기서 시험된 다른 조건들과 달리, 인터페론 감마 mRNA 및 단백질은 TNF에 노출 후 IL18에 의해 유도되는 것을 발견했다.

[0504] [표 22a]

TNF 처리 후 IL-18에 의해 조절되는 유전자.

전행크 ID	유전자명	고유 유전자 해설	배수 10 ng	배수 40 ng
J00219	IFNG	인터페론, 감마	26.3	31.8
U17034	PLA2R1	포스포리파제 A2 수용체 1, 180kD	29.6	28.7
M57710	LGALS3	렉틴, 갈락토사이드-결합, 가용성, 3 (갈렉틴 3)	27.5	25.4
X97748	PTX3	펜탁신 관련 유전자, IL-1 유도됨	15.2	13.6
M27288	OSM	온코스타틴 M	23.1	12.0
X57809		람다 경쇄 가변 영역	10.9	10.0
Y00081	IL6	인터류킨 6 (인터페론, 베타 2)	9.2	9.4
D16583	HDC	히스티딘 데카복실라제	8.0	9.4
X07730	KLK3	칼리크레인 3, (전립선 특이적 항원)	5.6	8.8
HG3111-HT3287		미공지의 호소 사피엔스 클론 HH409	9.5	7.5
M57732	TCF1	간 핵 인자 (HNF1)	2.0	7.2
U77735	PIM2	pim-2 발암유전자	7.1	7.1
U96094	SLN	사르콜리핀	12.2	6.1
D50640	PDE3B	포스포디에스테라제 3B, cGMP-억제됨	4.0	5.4
X14008	LYZ	리소자임 (신장 아밀로이드증)	3.0	5.4
M91036	HBG2	헤모글로빈, 감마 G	3.4	5.4
X72755	MIG	감마 인터페론에 의해 유도된 모노킨	5.2	5.2
AC000099	GRM8	글루타메이트 수용체, 메타보트로픽 8	2.3	4.3
D11428	PMP22	말초 미엘린 단백질 22	5.0	4.0
M83667	CEBPD	CCAAT/인핸서 결합 단백질 (C/EBP), 델타	4.3	4.0
L19267	DMWD	근긴장성 이영양증, WD 반복체 모티프	3.0	3.8
M81181	ATP1B2	ATPase, Na+/K+ 수송	3.5	3.8
U79249		사람 클론 23839 시열	3.1	3.7
U49973	FLJ10803	추정 단백질 FLJ10803	3.2	3.6
HG870-HT870	GOLGA3	골지체 자가 항원, 골지 서브 패밀리 a, 3	3.5	3.6
X13589	CYP19	시토크롬 P450, 서브 패밀리 XIX	3.0	3.5
AB000464		클론:RES4-24A	2.9	3.5
M96956	TDGF1	테라토 암종 유래 성장 인자 1	2.6	3.5
U31628	IL15RA	인터류킨 15 수용체, 알파	6.4	3.3
D38128	PTGIR	프로스타글란딘 I2 (프로스타사이클린) 수용체 (IP)	8.8	3.3
J03507	C7	보체 성분 7	2.3	3.1
M32011	NCF2	호중구 세포질 인자 2	3.5	3.0
X63131	PML	급성전골수구성 백혈병	4.7	3.0
D82326	SLC3A1	용질 캐리어 패밀리 3	4.0	3.0
L10343	PI3	프로테아제 억제제 3, 피부 유래 (SKALP)	2.1	3.0
U89995	FOXO1	포크헤드 박스 E1 (감상선 전사 인자 2)	2.6	2.9
M62800	SSA1	(52kD, 리보핵산 단백질 자가항원 SS-A/Ro)	3.1	2.9
AB000584	PLAB	전립선 분화 인자	2.4	2.8
U37519	ALDH8	알데하이드 탈하이드로게나제 8	2.2	2.7
D21267	SNAP25	시냅스 관련 단백질, 25kD	2.2	2.7
M25667	GAP43	성장 관련 단백질 43	2.5	2.7
L34357	GATA4	GATA-결합 단백질 4	2.3	2.7
U43944	ME1	말릭 효소 1, NADP(+)-의존성, 세포질	3.0	2.7
M16937	HOXB7	호메오 박스 B7	2.9	2.6
U27326	FUT3	푸코실트랜스퍼라제 3	2.6	2.6

[0505]

[0506] [표 22b]

진행크 ID	유전자명	고유 유전자 해설	배수 10 ng	배수 40 ng
Z23115	BCL2L1	BCL2 형 1	2.2	2.6
HG1877-HT1917	MBP	미엘린 염기성 단백질	2.4	2.6
D10995	HTR1B	5-하이드록시트립타민 (세로토닌) 수용체 1B	2.5	2.6
M91463	SLC2A4	용질 캐리어 패밀리 2 글루코스 수송체	3.1	2.5
U19878	TMEFF1	EGF 및 폴리스타틴과 같은 막관통	2.9	2.4
U66468	CGR11	EF-렌드 도메인을 사용한 세포 성장 조절	2.2	2.4
U44848	NRF1	핵 호흡 인자 1	3.5	2.4
U73328	DLX4	말단 소실 호메오박스 4	3.2	2.4
HG4593-HT4998		전압 매개 나트륨 채널 (SCN1A)	2.3	2.4
X78710	MTF1	금속 조절 전사 인자 1	2.7	2.4
X59727	MAPK4	미토겐-활성화된 단백질 키나제 4	2.3	2.4
J03600	ALOX5	아라키도네이트 5-리폭시게나제	2.2	2.3
U87269	E4F1	E4F 전사 인자 1	3.4	2.3
Y10375	PTPNS1	타이로신 포스파타제, 비-수용체 기질 1	4.5	2.2
D49958	GPM6A	당 단백질 M6A	3.3	2.2
U60062	FEZ1	근섬유속 연속 및 연장 단백질 제타 1 (지긴 I)	3.3	2.2
X14830	CHRNBI	콜린성 수용체, 니코틴, 베타 폴리펩타이드 1	2.4	2.1
J04076	EGR2	초기 성장 반응 2 (Krox-20 동족체)	3.0	2.1
HG2981-HT3127	CD44	CD44 항원	2.2	2.1
U49187	C6ORF32	염색체 6 개방 관독 프레임 32	3.8	2.1
X77744		FLJ00032 단백질, 이의 일부에 대한 호모 사파렌스	2.3	2.1
X68285	GK	글리세롤 키나제	2.4	2.0
HG3925-HT4195	SFTPA2	계면활성제, 폐 관련 단백질 A2	3.9	2.0
M26062	IL2RB	인터루킨 2 수용체, 베타	0.2	0.5
X06182	KIT	v-kit 발암유전자 동족체	0.4	0.5
U79251	OPCML	아편 결합 단백질/세포 접착 분자형	0.5	0.5
J03764	SERPINE1	넥신, 플라스미노겐 활성화인자 억제제 1 형	0.5	0.5
X92814	HREV107	랙트 HREV107와 유사함	0.3	0.5
L01087	PRKCQ	단백질 키나제 C, 세타	0.2	0.5
D43772	GRB7	성장 인자 수용체-결합 단백질 7	0.2	0.5
X15880	COL6A1	콜라겐, VI 형, 알파 1	0.5	0.5
HG3115-HT3291	MBP	미엘린 염기성 단백질	0.4	0.5
X83301	SMA3	SMA3	0.5	0.5
D87469	CELSR2	카드헤린, EGF LAG 7 회 통과 G 형 수용체 2	0.4	0.5
M11313	A2M	알파-2-마크로글로불린	0.4	0.4
X64877	HFL3	H 인자 (보체)형 3	0.4	0.4
Z18859	GNAT2	구아닌 뉴클레오타이드 결합 단백질 (G 단백질)	0.4	0.4
D89077	SLA	Sre 형-어댑터	0.4	0.4
L25444	TAF2E	TATA 박스 결합 단백질 (TBP)-관련 인자	0.2	0.4
M26665	HTN3	히스타틴 3	0.4	0.4
S69790	WASF3	WAS 단백질 패밀리, 구성원 3	0.4	0.4
U79248		사람 클론 23826 서열	0.4	0.4
L15309	ZNF141	아연 핑거 단백질 141 (클론 pHZ-44)	0.3	0.4
L41147	HTR6	5-하이드록시트립타민 (세로토닌) 수용체 6	0.4	0.4
X58431	HOXB6	호메오 박스 B6	0.4	0.4
U50360	CAMK2G	CaM 키나제 II 감마	0.2	0.4
D88152	ACATN	아세틸-조효소 A 수송체	0.4	0.4
U38480	RXRG	레티노이드 X 수용체, 감마	0.3	0.4
X16866	CYP2D7AP	시토크롬 P450, 서브패밀리 IID	0.4	0.4
X70991	NAB2	NGF-A 결합 단백질 2 (ERG1 bp 2)	0.2	0.4

[0507]

[0508] [표 22c]

진행크 ID	유전자명	고유 유전자 해설	배수 10 ng	배수 40 ng
M60830	EVI2B	동종숙주역 바이러스 통합 부위 2B	0.4	0.4
M27492	IL1R1	인터류킨 1 수용체, I형	0.4	0.4
Z35093	SURF1	수르페이트 1	0.4	0.4
D86425	NID2	니도겐 2	0.3	0.3
U59914	MADH6	MAD) 동족체 6	0.4	0.3
M18255	PRKCB1	단백질 키나제 C, 베타 1	0.4	0.3
AF000234	P2RX4	퓨린 수용체 P2X	0.3	0.3
S77763	NFE2	핵 인자 (에리트로이드 유래 2), 45kD	0.4	0.3
U78722	ZNF165	아연 핑거 단백질 165	0.3	0.3
L05568	SLC6A4	용질 캐리어 패밀리 6 (세로토닌),	0.3	0.3
L31529	SNTB1	신트로핀, 디스트로핀 관련 단백질 A1,	0.3	0.3
U47054	ART3	ADP-리보실트랜스퍼라제 3	0.4	0.3
M13955	KRT7	케라틴 7	0.4	0.3
D15049	PTPRH	단백질 타이로신 포스파타제, 수용체 형, H	0.4	0.3
U03486	GJA5	갭 연결 단백질, 알파 5, 40kD (코넥신 40)	0.5	0.3
X06256	ITGA5	인테그린, 알파 5	0.4	0.3
U22314	REST	RE1-사일런스 전사 인자	0.3	0.3
U51096	CDX2	꼬리형 호메오 박스 전사 인자 2	0.2	0.2
D31762	KIAA0057	TRAM 형 단백질	0.4	0.2
M23668	FDX1	페레독신 1	0.2	0.2
U53476	WNT7A	날개 부계형 MMTV 통합 부위 패밀리	0.2	0.2
X57206	ITPKB	이노시톨 1,4,5-트리스페이트 3-키나제 B	0.2	0.2
Z31695	INPP5A	이노시톨 폴리포스페이트 -5-포스파타제, 40kD	0.4	0.2
S66793	ARR3	어레스틴 3, 램막 (X-어레스틴)	0.2	0.2
U59877	RAB31	RAB31, 구성원 RAS 발암유전자 패밀리	0.2	0.2
U53786	EVPL	엘보플라진	0.2	0.2
S83362	LIFR	백혈병 억제 인자 수용체	0.3	0.2
D42038	KIAA0087	KIAA0087 유전자 생성물	0.3	0.2
HG4333-HT4603	ZNF79	아연 핑거 단백질 79 (pT7)	0.1	0.1
L01406	GHRHR	성장 호르몬 방출 호르몬 수용체	0.4	0.1

[0509]

[0510] **실시예 3.2.3: IL18에 대한 사람 백혈구 반응**

[0511] IL18에만 또는 IL12에도 함께 반응하는 사람 백혈구의 반응 (분리된 류코포레시스)을 시험했다. 또한, 전사 반응을 억제하는 항-IL-18 모노클로날 항체의 성질도 시험했다. 세포는 실시예 4.1에 기술된 바와 같이 처리했다. RNA를 분리하고 아피메트릭스 유전자칩 (Affymetrix Genechip; Hugen, FL)의 탐침 (probe)에 사용했다. 그 결과를 표 23에 제시했다. 이 표는 IL18+IL12에 의해 유도되고 항-IL18 항체에 의해 복원되는 49개 전사체 목록이다. 몇몇 유전자는 면역계와 관련이 있었다. 이러한 유전자들은 대부분 KG-1 세포 중의 IL18에 의해서도 유도되었다.

[0512] [표 23a]

기타 잠재적인 **IL18/IL12** 마커는 어퍼메트릭스 유전자칩을 사용하여 결정되는 바와 같이 사람 백혈구 샘플에서 **IL18+IL12**에 의해 4 배 이상 상향조절되고 **1252H**에 의해 역전되는 전사체로부터 선택된다.

유전자 명	고유 유전자 해설	고유 유전자
KIAA0001	UDP 글루코스에 대한 추정 G 단백질 커플링된 수용체	Hs.2465
LIMK2	LIM 도메인 키나제 2	Hs.278027
KIAA0196	KIAA0196 유전자 생성물	Hs.8294
IFNG	인터페론, 감마	Hs.856
POLR2C	폴리머라제 (RNA) II 폴리캡타이드	Hs.79402
DAG1	디스트로글리칸 1	Hs.76111
TPSB1	트립타제 배타 1	Hs.250700
CDR2	소뇌 퇴행 관련 단백질 (62kD)	Hs.75124
TCF12	헬릭스-루프-헬릭스 전사 인자 4	Hs.21704
TACTILE	T 세포 활성화, 증가된 후기 발현	Hs.142023
PIP5K2A	포스파티딜이노시톨-4-포스페이트 5-키나제	Hs.108966
SF3A3	스플라이싱 인자 3a, 서브유닛 3, 60kD	Hs.77897
SEL1L	sel-1 (in-12 의 서프레스, 썬. 엘레강스)형	Hs.181300
IL15	인터류킨 15	Hs.168132
BAK1	BCL2-길항제/킬러 1	Hs.93213
SLAM	시그널 전달 림프 활성화 분자	Hs.32970
SCYB11	유도성 소형 사이토킨 서브 패밀리 B (Cys-X-Cys), 구성원 11	Hs.103982
LIMK1	LIM 도메인 키나제 1	Hs.36566
CAT56	CAT56 단백질	Hs.118354
POLRMT	폴리머라제 (RNA) 미토콘드리아 (DNA 지시됨)	Hs.153880
SCYA4	유도성 소형 사이토킨 A4/Mip-1b	Hs.75703
MIG	감마 인터페론에 의해 유도된 모노킨	Hs.77367
SSX3	활액 육종, X 브레이크포인트 3	Hs.178749
TNFRSF6	종양 괴사 인자 수용체 슈퍼 패밀리, 구성원 6	Hs.82359
MAT1A	메티오닌 아데노실트랜스퍼라제 I, 알파	Hs.323715
KIAA0133	KIAA0133 유전자 생성물	Hs.57730
FCGBP	Fc fragment of IgG 결합 단백질의 Fc 단편	Hs.111732
ARHD	ras 동족체 유전자 패밀리, 구성원	Hs.15114
FGFR2	섬유아세포 성장 인자 수용체 2	Hs.278581
COL9A1	콜라겐, IX 형, 알파 1	Hs.154850
HPX42B	조혈 선조제 호메오박스	Hs.125231
TAL2	T-세포 급성 림프구 백혈병 2	Hs.247978
	EST	Hs.196244

[0513]

[0514] [표 23b]

유전자 명	고유 유전자 해설	고유 유전자
REN	레닌	Hs.3210
POU2F2	POU 도메인, 클래스 2, 전사 인자 2	Hs.1101
ALOX12	아라키도네이트 12-리폭시게나제	Hs.1200
ACTN2	액티닌, 알파 2	Hs.83672
KLK2	칼리크레인 2, 전립선	Hs.181350
RCV1	레코베린	Hs.80539
E2F4	E2F 전사 인자 4, p107/p130-결합	Hs.108371
SEMA3F	면역글로불린 도메인 (Ig), 짧은 염기성 도메인, 분비됨, (세마포린) 3F	Hs.32981
BHMT	베타인 -호모시스테인 메틸트랜스퍼라제	Hs.80756
EVPL	엘보플라진	Hs.25482
BBC3	Bcl-2 결합 보체 3	Hs.87246
SLN	사르콜리핀	Hs.15219
RDBP	RD RNA-결합 단백질	Hs.106061
MT1H	메탈로티오네인 1H	Hs.2667
RAD54L	RAD54 (एस. 세레비제)형	Hs.66718
MLL3	골수 /림프구 또는 혼합 가계 백혈병 3	Hs.288971

[0515]

[0516] **실시예 3.2.4: IL18에 대한 사람 전혈액 반응**

[0517] IL18에만 또는 IL12에도 함께 반응하는 사람 전혈액의 반응을 시험했다. 또한, 전사 반응을 억제하는 항-IL18 모노클로날 항체의 성질도 시험했다. 따라서, 정상적인 공급체의 혈액 시료를 실시예 4.1에 기술된 바와 같이 처리했다. RNA를 분리하여 아피메트릭스 유전자칩 (HugeneFL)의 탐침에 사용했다. 그 결과를 표 24에 제시했다. 이 표에는 2명의 건강한 공급자에게서 분리한 전혈액 시료에서 IL18+IL12에 의해 유의적으로 조절되고 항-IL18 항체에 의해 복원되는 16개 전사체를 제시했다. 몇몇 유전자는 면역계와 관련이 있는 것이었다. 또한, 10명의 정상 공급자 패널에 존재하는 상기 유전자들의 3가지 반응을 정량적 PCR로 시험했다. 이러한 사람간 변동성 연구의 결과를 표 25 (인터페론 감마), 표 26 (CXCL9) 및 표 27 (CCL8)에 제시했다. 변동성 연구의 결과는 사람 혈액에서 상기 전사체들의 IL18에 의한 조절이 사람 중에서 공통적일 가능성이 있음을 시사했다.

[0518] [표 24]

기타 잠재적인 IL18/IL12 마커는 2 명의 공여자로부터 분리되고 이어서 IL18+IL12 로 처리된 전혈에서 상향조절되는 전사체로부터 선택된다

프로브 세트 ID	표제	고유 유전자
202284_s_at	사이클린 -의존성 키나제 억제제 1A (p21, Cip1)	Hs.179665
202531_at	인터페론 조절 인자 1	Hs.80645
204057_at	인터페론 보존성 서열 결합 단백질 1	Hs.14453
205488_at	그랜자임 A (그랜자임 1, 세포독성 T-림프구 -관련 세린 에스테라제 3)	Hs.90708
206554_x_at	SET 도메인 및 매리너 트랜스포사제 융합 유전자	Hs.265855
206817_x_at	트리뉴클레오타이드 반복체 함유 4	Hs.26047
207509_s_at	백혈구 관련 Ig 형 수용체 2	Hs.43803
209546_s_at	아포지단백질 L, 1	Hs.114309
214438_at	H2.0 형 호메오 박스 1 (트로소필라)	Hs.74870
214450_at	카렙신 W (림포파인)	Hs.87450
216950_s_at	FcRI b 형태 (AA 1-344) [호모 사피엔스], mRNA 서열	Hs.382006
217933_s_at	류신 아미노펩티다제 3	Hs.182579
219386_s_at	발현된 B 림프구 활성화인자 마크로파아지	Hs.20450
219956_at	UDP-N-아세틸 -알파-D-갈락토사민:폴리펩타이드 N-아세틸갈락토사미닐트랜스퍼라제 6	Hs.151678
219971_at	인터류킨 21 수용체	Hs.210546
221223_x_at	사이토킨 유도성 SH2 함유 단백질	Hs.8257

[0519]

[0520] [표 25]

10 명의 사람 샘플에서 인터페론 γ 수행능. 항체에 의한 억제에 대해 $p<0.05$

IFN	비자극	자극	항-IL18 2.5	항-IL18 125-2H
공여자 3n	0.001	0.187	0.014	0.026
공여자 5n	0.003	0.012	0.006	0.006
공여자 9n	0.001	1.250	0.037	0.000
공여자 10n	0.002	0.361	0.024	0.002
공여자 1n	0.002	0.339	0.022	0.070
공여자 2n	0.001	0.032	0.003	0.003
공여자 4n	0.001	0.082	0.011	0.027
공여자 6n	0.002	0.076	0.006	0.010
공여자 7n	0.002	0.049	0.009	0.012
공여자 8n	0.002	0.049	0.009	0.012

[0521]

[0522] [표 26]

10 명의 사람 혈액 샘플에서 MIG/CXCL9 수행능. 항체에 의한 억제에 대해 $p<0.05$

CXCL9	비자극	자극	항-IL18 2.5	항-IL18 125-2H
공여자 1	0.000	0.170	0.082	0.010
공여자 10	0.000	0.015	0.000	0.000
공여자 2	0.001	0.006	0.001	0.001
공여자 3	0.000	0.067	0.010	0.006
공여자 4	0.000	0.023	0.012	0.003
공여자 5	0.000	0.004	0.000	0.000
공여자 6	0.000	0.070	0.001	0.001
공여자 7	0.001	0.034	0.001	0.000
공여자 8	0.001	0.034	0.001	0.000
공여자 9	0.000	0.035	0.000	0.001

[0523]

[0524] [표 27]

10 명의 사람 혈액 샘플에서 MCP2/CCL8 수행능. 항체에 의한 억제에 대해 $p<0.05$

CCL8	비자극	자극	항-IL18 2.5	항-IL18 125-2H
공여자 1	0.036	8.941	4.054	1.051
공여자 10	0.004	0.987	0.009	0.025
공여자 2	0.036	1.225	0.105	0.057
공여자 3	0.012	3.923	0.648	0.663
공여자 4	0.021	2.227	0.994	0.630
공여자 5	0.001	0.005	0.001	0.001
공여자 6	0.000	0.023	0.002	0.001
공여자 7	0.001	0.009	0.001	0.001
공여자 8	0.001	0.009	0.001	0.001
공여자 9	0.001	2.438	0.003	0.059

[0525]

[0526] 실시예 4: 항-IL-18 HuMAb, 2.13(E)mg1의 특성규명

[0527] 실시예 4.1: 사람 사이토킨 특이성

[0528] 사람 IL-18에 대한 2.13(E)mg1의 특이성은 제조자의 지침에 따른 BIACORE 분석법 (실시예 2.1.B 참조)을 사용하여 평가했다. 2.13(E)mg1을 바이오센서 칩 위에 부착시키고, 용액 중에서 공지의 사람 사이토킨 패널에 결합하는 성질을 측정했다. 표 28에 제시된 바와 같이, 2.13(E)mg1은 제조함 성숙 사람 IL-18에 결합했다. 하지만, 2.13(E)mg1은 사람 IL-18 전구체에는 결합하지 않았고, 또한 IL-1 계열의 성분 IL-1 α 및 IL-1 β 를 포함한, 시험된 다른 23명의 사람 사이토킨에도 모두 결합하지 않았다.

[0529] [표 28]

2.13(E)mg1 및 2.5(E)mg1 에 의한 사이토킨 결합의 바이아코어 분석

가용성 rec. 사람 사이토킨, (1μM)	포집된 2.13(E)mg1 (25 mg/mL)	포집된 2.5(E)mg1 (25 mg/mL)
	2.13(E)mg1 결합	2.5(E)MG1 결합
IFN γ	-	-
IL-1 α	-	-
IL-1 β	-	-
기타 사이토킨*	-	-
IL-18 ^b	+	+
Pro-IL-18	-	+

[0530]

[0531] ^e 결합성 시험된 추가 사이토킨은 IL-2, IL-3, IL4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-11, IL-12, IL-13, IL-15, IL-16, IL-17, IL-21, TNF, LT, LT α 1 β 2 및 LT α 2 β 1이다. 2.13(E)mg1은 이러한 사이토킨 중 어떠한 것에도 결합하지 않았다.

[0532] 시스테인>알라닌 돌연변이체 BV는 재조합 사람 IL-18에서 유도되었다.

[0533] **실시예 4.2: 사람 IL-18에 결합하는 다른 항체와의 경쟁**

[0534] 사람 IL-18에 대한 결합 시 2.13(E)mg1과 경쟁하는 몇몇 항-IL-18 항체의 성질을 제조자의 지침에 따른 BIACORE 분석법 (실시예 2.1.B 참조)을 사용하여 평가했다. 간략히 설명하면, 폴리클론 항사람 또는 항마우스 항체를 바이오센서 칩 위에 부착시켰다. 그 다음, 항-IL-18 항체를 첨가하여, 전술한 바이오센서 칩 위에 고정된 폴리클론 항사람 또는 항마우스 (125-2H에 대해서만) 항체들에 부착시켰다. 그 다음, 재조합 사람 IL-18을 첨가하여 고정된 1차 항체에 부착시켰다. 마지막으로, 2차 용해성 항-IL-18 항체를 첨가했다. 이 분석법은 재조합 IL-18에 결합하기 위해 1차 항체와 경쟁하는 2차 용해성 항-IL-18의 성질을 측정했다. 2.13(E)mg1은 2.5(E)mg1 또는 IL-18BP 중 어느 것보다도 경쟁하지 않았다. 위의 항-huIL-18 모노클로날 항체 125-2H는 사람 IL-18에 결합하기 위해 2.13(E)mg1과 경쟁했다.

[0535] [표 29]

사람 IL-18 에 결합하는 것에 대한 항체 경쟁의 바이아코어 분석

2 ^o 가용성 Ab	1 ^o 면역화된 Ab								
	125-2H	2.5(E)mg1	215	444	581	435	2.13(E)mg1	2.3	IL-18BP
125-2H	-	+	-	-	+	+	-	-	+
2.5(E)mg1	+	-	+	+	-	-	+	+	+
215	-	+	-	-	+	+	-	-	+
444	-	+	-	-	+	+	-	-	+
581	+	-	+	+	-	-	+	+	+
435	+	-	+	+	-	-	+	+	+
2.13(E)mg1	-	+	-	-	+	+	-	-	+
2.3	-	+	-	-	+	+	-	-	+
IL-18BP	+	+	+	+	+	+	+	+	-

[0536]

[0537] +는 1차 항체 및 2차 항체가 동시에 결합한 것을 나타낸다.

[0538] -는 부착된 IL-18에 2차 항체가 결합할 수 없음을 나타낸다.

[0539] 본 발명은 분자생물학 분야에 공지된 기술을 전체적으로 참고인용한다. 이러한 기술에는 다음과 같은 간행물들에 설명된 기술이 있으나, 이에 국한되지 않는다: Ausubel, F.M. et al. eds., Short Protocols In Molecular Biology (4th Ed. 1999) John Wiley & Sons, NY. (ISBN 0-471-32938-X).

[0540] Lu and Weiner eds., Cloning and Expression Vectors for Gene Function Analysis (2001) BioTechniques Press. Westborough, MA. 298 pp. (ISBN 1-881299-21-X).

- [0541] Kontermann and Dubel eds., Antibody Engineering (2001) Springer-Verlag. New York. 790 pp. (ISBN 3-540-41354-5).
- [0542] Old, R.W. & S.B. Primrose, Principles of Gene Manipulation: An Introduction To Genetic Engineering (3d Ed. 1985) Blackwell Scientific Publications, Boston. Studies in Microbiology; V.2:409 pp. (ISBN 0-632-01318-4).
- [0543] Sambrook, J. et al. eds., Molecular Cloning: A Laboratory Manual (2d Ed. 1989) Cold Spring Harbor Laboratory Press, NY. Vols. 1-3. (ISBN 0-87969-309-6).
- [0544] Winnacker, E.L. From Genes To Clones: Introduction To Gene Technology (1987) VCH Publishers, NY (translated by Horst Ibelgauf). 634 pp. (ISBN 0-89573-614-4).

참조문헌

미국 특허

5,545,806	5,545,807	5,591,669	5,612,205	5,625,126	5,625,825	5,627,052
5,633,425	5,643,763	5,661,016	5,721,367	5,770,429	5,789,215	5,789,650
5,814,318	5,912,324	5,916,771	5,939,598	5,985,615	5,994,619	5,998,209
6,054,487	6,060,283	6,075,181	6,091,001	6,114,598	6,130,364	

US 특허원 공개번호 20030186374
U.S. 출원 번호 09/428,082

외국 특허 문헌

EP 712 931	EP 850 952	EP 864 585	EP 0 962 531	EP 0 974 600	JP 111,399194
IL 121554 A0	WO 91/10741	WO 91/17271	WO 92/01047	WO 92/02551	WO 92/09690
WO 92/15679	WO 92/18619	WO 92/20791	WO 93/01288	WO 94/02602	WO 96/33735
WO 96/34096	WO 97/24441	WO 97/29131	WO 98/16654	WO 98/24893	WO 98/41232
WO 98/50433	WO 99/09063	WO 99/22760	WO 99/25044	WO 99/37772	WO 99/37773
WO 99/45031	WO 99/53049	WO 00/37504	WO 00/09560	WO 00/12555	WO 00/37504
WO 00/56772	WO 01/58956	WO 01/83525	WO 02/72636		

기타 참조문헌

Adachi O., et al. (1998) *Immunity* 9:143-150

Akita, K. et al., (1997) *J. Biol. Chem.* 272, 26595-26603

Azzazy H., and Highsmith W.E., (2002) *Clin. Biochem.* 35:425-445

Babcock, J.S. et al. (1996) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93:7843-7848

Barbas et al. (1991) *PNAS* 88:7978-7982

Bendele, A., et al (1999) *Toxicol Pathol.* 27:134-142

Bird et al. (1988) *Science* 242:423-426

Clackson et al. (1991) *Nature* 352:624-628

Dinarello, C. et al. (1998) *J. Leukoc. Biol.* 63:658-654

Dinarello, C.A. (1999) *Methods* 19:121-132

Dinarello, C.A. (1999) *J. Allergy Clin. Immunol.* 103:11-24;

Durocher et al., *Nucleic Acids Research* 2002, Vol 30, No.2

Fuchs et al. (1991) *BioTechnology* 9:1370-1372

Garrad et al. (1991) *BioTechnology* 9:1373-1377

Gavilondo J.V., and Larrick J.W. (2002) *BioTechniques* 29:128-145

Giege, R. and Ducruix, A. Barrett, *Crystallization of Nucleic Acids and Proteins, a Practical Approach*, 2nd ea., pp. 20 1-16, Oxford University Press, New York, New York, (1999).

¹ Ghayur, T. et al., (1997) *Nature* 386:619-623

¹ Ghetie, V., et al (1997) *Nat. Biotechnol.* 15:637-640

[0545]

- Gracie J. A., et al., (2003) *Journal of Leukocyte Biology* 73, 213-224
- Gram *et al.* (1992) *PNAS* 89:3576-3580
- Green et al. *Nature Genetics* 7:13-21 (1994)
- Green and Jakobovits *J. Exp. Med.* 188:483-495 (1998)
- Griffiths *et al.* (1993) *EMBO J* 12:725-734
- Gu, Y. et al., (1997) *Science* 275:206-209
- Hay *et al.* (1992) *Hum Antibod Hybridomas* 3:81-85
- Harlow and Lane, Antibodies: A Laboratory Manual, New York: Cold Spring Harbor Press, 1990.
- Hawkins *et al.* (1992) *J Mol Biol* 226:889-896
- Hezareh, M., et. al., (2001) *J. Virology*, 75 (24):12161-12168
- Holliger, P., *et al.* (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:6444-6448
- Hoogenboom *et al.* (1991) *Nuc Acid Res* 19:4133-4137
- Hoogenboom H.R., (1997) *TIB Tech.* 15:62-70
- Hoogenboom H., and Chames P. (2000) *Immunology Today* 21:371-378
- Huston *et al.* (1988) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:5879-5883
- Hoshino K., et al (1999) *J. Immunol.* 162:5041-5044
- Huse *et al.* (1989) *Science* 246:1275-1281
- Johnson, B., *et al.* (1991) *Anal. Biochem.* 198:268-277.
- Johnsson, B., *et al.* (1995) *J. Mol. Recognit.* 8:125-131
- Jönsson, U., *et al.* (1991) *Biotechniques* 11:620-627
- Jönsson, U., *et al.* (1993) *Ann. Biol. Clin.* 51:19-26
- Kanakaraj P., (1999) *J. Exp. Med.* 189:1129-1138
- Kaufman, R.J. and Sharp, P.A., (1982) *Mol. Biol.* 159:601-621
- Kearney et al, *J. Immunol.* 123, 1979, 1548-1550
- Kellermann S. A. and Green L.L. (2002) *Current Opinion in Biotechnology* 13:593-597
- Kim J.K., et al (1999) *Eur. J. Immunol.* 29:2819-2825
- Konishi, K., et al (1997) *J. Immunol. Methods* 209:187-191
- Kipriyanov, S.M., *et al.* (1994) *Mol. Immunol.* 31:1047-1058
- Kipriyanov, S.M., *et al.* (1995) *Human Antibodies and Hybridomas* 6:93-101
- Leung, B.P., et al (2001) *J. Immunol.* 167:2879-2886
- Little M. et al (2000) *Immunology Today* 21:364-370
- BioTechniques Press. Westborough, MA. 298 pp. (ISBN 1-881299-21-X).
- Lund, J. et al., *J. Immunology* (1991) 147: 2657-2662

[0546]

- McCafferty *et al.*, *Nature* (1990) 348:552-554
- McInnes, I.B. *et al.* (2000) *Immunology Today* 21:312-315;
- Mendez *et al.*, *Nature Genetics* 15:146-156 (1997)
- Mizushima, S. and Nagata, S., (1990) *Nucleic acids Research* Vol 18, No. 17
- Nakanishi, K. *et al* (2001) *Ann. Rev. Immunol* 19:423-474.
- Nakanishi K., *et al* (2001) *Cytokine and Growth Factor Rev.* 12:53-72
- Neeta, M.G., *et al* (2000) *J. Immunol.* 164:2644-2649
- Ober, R.J., *et al* (2001) *Int. Immunol.* 13:1551-1559
- Poljak, R.J., *et al.* (1994) *Structure* 2:1121-1123
- Seidman, J.G., Smith, J.A., and K. Struhl eds; Wiley Interscience, N.Y., N.Y. (1990)
- Sims, J.E., (2002) *Current Opin Immunol.* 14:117-122
- Sugawara, S. *et al.*, (2001) *J. Immunol.*, 167, 6568-6575
- Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems*, J.R. Robinson, ed., Marcel Dekker, Inc., New York, 1978.
- Takeda, K., *et al.* (1998) *Immunity* 8:383-390
- Taylor, L. D., *et al.* (1992) *Nucl. Acids Res.* 20:6287-6295
- Tissi L., *et al* (1999) *Infect. Immunol.* 67:4545-50
- Trentham, D.E. *et al* (1977) *J. Exp. Med.* 146:857-868
- Tsutsui, H. *et al.*, (1999) *Immunity* 11:359-67
- Urlaub and Chasin, (1980) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77:4216-4220
- Ushio, S., *et al.* (1996) *J. Immunol.* 156:4274-4279
- Ward *et al.*, (1989) *Nature* 341:544-546
- Wei, X.Q., *et al* (2000) *J. Immunol.* 166:517-521
- Winnacker, E.L. From Genes To Clones: Introduction To Gene Technology (1987) VCH Publishers, NY (translated by Horst Ibelgauf). 634 pp. (ISBN 0-89573-614-4).

[0547]

[0548]

이상 다양한 양태 및 특징에 대해 설명하였지만, 기술된 양태 및 특징의 변형 및 수정이 본 명세서 또는 후속 청구의 범위에 정의된 바와 같은 본 발명의 범위 안에서 이루어질 수 있음은 당업자라면 잘 알고 있을 것이다. 본 명세서에 인용된 각 공개 문헌들은 참고인용되었다.

서열 목록

<110> ABBOTT LABORATORIES

<120> IL-18 Binding Proteins

<130> BBC-085US

<150> US 10/706,689

<151> 2003-11-12

<160> 47

<170> KopatentIn 1.71

<210> 1

<211> 193

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

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

<210> 2

<211> 330

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 2

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

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

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 3

<211> 330

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 3

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

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

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

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

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

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

130 135 140
 Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
 145 150 155 160
 Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
 165 170 175
 Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
 180 185 190
 His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
 195 200 205

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

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

 <210> 4
 <211> 106
 <212> PRT

 <213> Homo sapiens
 <400> 4
 Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln

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

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

<210> 5

<211> 105

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 5

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

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

His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu
 85 90 95
 Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
 100 105

<210> 6

<211> 121

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 6

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Phe Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Glu Thr Arg Tyr Ser Pro Thr Phe

50 55 60

Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Phe Asn Thr Ala Phe

65 70 75 80

Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys

85 90 95

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

100 105 110

Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 7

<211> 109

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 7

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

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

<210> 8

<211> 121

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 8

Glx Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Thr Pro Ser Gln
1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Gly
20 25 30
Gly His Tyr Trp Thr Trp Ile Arg Gln His Pro Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45

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

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 9

<211> 109

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 9

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu

65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr His Gly Ser Pro

85 90 95

Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg

100 105

<210>

10

<211> 118

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 10

Glx 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 Arg Asn Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Gly Tyr Ile Tyr Ser 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 Asp Arg Gly Gly Ala Ser Phe Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110
 Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 11

<211> 108

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 11

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Ile Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ile Ile Gly Gly Tyr
 20 25 30
 Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Lys Ala Pro Lys Phe Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Ser Thr Ser Ile 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 Ile Thr Pro Pro
 85 90 95
 Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys Arg
 100 105

<210> 12

<211> 119

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 12

Glx Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
 1 5 10 15
 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Asn Ser Gly

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

 65 70 75 80
 Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Cys
 85 90 95
 Cys Ala Arg Asp Arg Gly Gly Gly Phe Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly
 100 105 110
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115
 <210> 13
 <211> 109
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 13
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly

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

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

<210> 14

<211> 122

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 14

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

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

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

Ser Tyr Phe Ser Ser Ser Gly Gly Ile Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Arg Asp Asp Ser Ser Gly Tyr Tyr Pro Tyr Phe Phe Asp Tyr Trp
100 105 110

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

<210> 15

<211> 114

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 15

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 Thr Val Leu Tyr Arg
20 25 30

Ser Asn Asn Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Ser 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 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 Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile
100 105 110

Lys Arg

<210> 16

<211> 120

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 16

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Arg

20 25 30

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

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

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

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

85 90 95

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

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 17

<211> 109

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 17

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

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser His Ile Leu Ser Arg Asn

20 25 30

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

35 40 45

Met Tyr Gly Ile Ser Ile Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser

50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Ala Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Arg Leu Glu

65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Asp Asn Ser Leu

85 90 95

Cys Ser Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Val Lys Arg

100 105

<210> 18

<211> 119

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 18

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg Glu Ser Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

<210> 19

<211> 108

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 19

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

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

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

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

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

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Asn Trp Thr Trp

85 90 95

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

<210> 20

<211> 119

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 20

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

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

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

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 21

<211> 109

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 21

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

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

Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Arg Val Glu Ile Asn Arg

100

105

<210>

22

<211> 127

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 22

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Arg Asn Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val

50

55

60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Glu Lys Gly Gly Ser Gly Trp Pro Pro Phe Tyr Tyr Tyr Tyr

100 105 110

Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115

120

125

<210> 23

<211> 113

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 23

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

1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Asn Leu Leu Tyr Ser

20 25 30

Asp Gly Glu Thr Tyr Leu Cys Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Pro
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Glu Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

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

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

Arg

<210> 24

<211> 120

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 24

Glx Thr 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 Arg
20 25 30

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

Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Ser Pro Ser

50 55 60

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

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

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

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

120

<210> 25

<211> 109

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 25

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Ala Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Arg Leu Glu

65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Asp Asn Ser Leu

85 90 95

Cys Ser Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Val Lys Arg

100 105

<210> 26

<211> 120

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 26

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

[illegible]

<400> 27

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

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

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

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

[illegible]

<400> 28

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

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

<210> 29

<211> 109

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 29

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

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

65 70 75 80
 Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Tyr Ser Pro
 85 90 95

Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Arg Val Glu Ile Asn Arg
 100 105

<210> 30

<211> 120

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 30

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

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

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

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

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

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

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

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 31

<211> 109

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 31

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

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Gly

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Val Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Phe Ser Pro

85 90 95

Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg

100 105

<210> 32

<211> 120

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 32

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

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Arg Ser

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Cys Ala Arg Glu Tyr Ser Thr Thr Trp Ser Ile Asp Tyr Trp Gly Gln

100 105 110
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120
 <210> 33
 <211> 109
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 33
 Glu Asn Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Arg Asn Asn
 20 25 30
 Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
 35 40 45
 Ile His Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Gly
 50 55 60
 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
 65 70 75 80
 Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Gly Asn Ser Ile
 85 90 95
 Ile Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Val Asn Arg
 100 105
 <210> 34
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 34
 Glx Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
 1 5 10 15
 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Asn Ser Gly
 20 25 30
 Gly Tyr Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln His Pro Gly Lys Gly Leu Glu

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

Cys Ala Arg Asp Arg Gly Gly Gly Phe Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly
 100 105 110
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 35

<211> 109

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 35

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

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

Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Arg Val Glu Ile Asn Arg
 100 105

<210> 36

<211> 127

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 36

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Lys Asp His Gly Gly Ser Gly Ser Pro Pro Phe Tyr Tyr Tyr Tyr

100 105 110

Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 37

<211> 113

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 37

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

1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Gly

20 25 30

Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Tyr Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Pro

35 40 45

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

50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ser
 85 90 95

Leu Gln Leu Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Gln Ile Lys
 100 105 110

Arg

<210> 38

<211> 119

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 38

Glx Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Tyr Tyr
 20 25 30
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

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

100 105 110
 Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 39

<211> 109

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 39

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

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asn Val Ser Ser Ser

20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Asn Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu

35 40 45

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

50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu

65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Glu Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Gly Ser Ser Leu

85 90 95

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

100 105

<210> 40

<211> 120

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 40

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

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Arg Ser Gly

20 25 30

Asp His Tyr Trp Thr Trp Ile Arg Gln His Pro Gly Lys Gly Leu Glu

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95
Cys Ala Arg Asp Tyr Gly Gly Asn Gly Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 41

<211> 114

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 41

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

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

Lys Arg

<210> 42

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Anti-IL-18 antibody CDR sequence

<220><221> misc_feature

<222> (1)
 <223> Xaa is Ser, Asn, His, Arg, or Tyr
 <220><221> misc_feature
 <222> (2)
 <223> Xaa is Tyr, Gly, Arg, Ser, or Cys
 <220><221> misc_feature
 <222> (3)
 <223> Xaa is Trp, Gly, Tyr, Asp, Ser, Val, or Ile
 <220><221> misc_feature
 <222> (4)
 <223> Xaa is Ile, His, Trp, Tyr, Met, Leu, or Asp
 <220><221> misc_feature
 <222> (5)

 <223> Xaa is Gly, Tyr, Ser, Asn, or His
 <220><221> misc_feature
 <222> (6)
 <223> Xaa is Trp, or is not present
 <220><221> misc_feature
 <222> (7)
 <223> Xaa is Thr, Ser, Gly, or is not present
 <400> 42
 Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 1 5
 <210> 43
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220><223> Anti-IL-18 antibody CDR sequence
 <220><221> misc_feature
 <222> (1)
 <223> Xaa is Phe, Tyr, His, Ser, or Val
 <220><221> misc_feature
 <222> (2)
 <223>

> Xaa is Ile, or Phe
 <220><221> misc_feature
 <222> (3)
 <223> Xaa is Tyr, Ser, or Trp
 <220><221> misc_feature
 <222> (4)
 <223> Xaa is Pro, Tyr, or Ser
 <220><221> misc_feature
 <222> (5)
 <223> Xaa is Gly, Ser, Arg, or Asp
 <220><221> misc_feature
 <222> (6)
 <223> Xaa is Asp, or Gly
 <220><221> misc_feature
 <222> (7)
 <223> Xaa is Ser, Thr, Gly, or Arg
 <220><221> misc_feature
 <222> (8)
 <223> Xaa is Glu, Thr, Ile, or Asn
 <220><221> misc_feature
 <222> (9)
 <
 223> Xaa is Thr, Tyr, Asn, Ile, Lys, or His
 <220><221> misc_feature
 <222> (10)
 <223> Xaa is Arg , Tyr , or Ser
 <220><221> misc_feature
 <222> (11)
 <223> Xaa is Tyr, Asn, or Ser
 <220><221> misc_feature
 <222> (12)
 <223> Xaa is Ser, Pro, Ala, or Val
 <220><221> misc_feature
 <222> (13)
 <223> Xaa is Pro, Ser, or Asp

<220><221> misc_feature

<222> (14)

<223> Xaa is Thr, Leu, or Ser

<220><221> misc_feature

<222> (15)

<223> Xaa is Phe, Lys, or Val

<220><221> misc_feature

<222> (16)

<223> Xaa is Gln, Ser, or Lys

<220><221> misc_feature

<222> (17)

<223> Xaa is Gly, or is not present

<400> 43

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

1 5 10 15

Xaa

<210> 44

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Anti-IL-18 antibody CDR sequence

<220><221> misc_feature

<222> (1)

<223> Xaa is Val, Asp, Glu, Ser, or Cys

<220><221> misc_feature

<222> (2)

<

223> Xaa is Gly, Arg, Asp, Ser, Lys, Leu, Tyr, or Ala

<220><221> misc_feature

<222> (3)

<223> Xaa is Ser, Gly, Tyr, or Arg

<220><221> misc_feature

<222> (4)

<223> Xaa is Gly, Ser, Tyr, Asn, Thr, or Asp
 <220><221> misc_feature
 <222> (5)
 <223> Xaa is Trp, Ser, Ala, Gly, Tyr, or Thr
 <220><221> misc_feature
 <222> (6)
 <223> Xaa is Tyr, Gly, Ser, Phe, Trp, or Asn
 <220><221> misc_feature
 <222> (7)
 <223> Xaa is Pro, Ser, Phe, Tyr, Val, Gly, Trp, or Val
 <220><221> misc_feature

 <222> (8)
 <223> Xaa is Tyr, Phe, Asp, Pro, Met, Ile, or Asn
 <220><221> misc_feature
 <222> (9)
 <223> Xaa is Thr, Trp, Asp, Leu, Tyr, Glu, Pro, Phe, or Gly
 <220><221> misc_feature
 <222> (10)
 <223> Xaa is Phe, Asp, Tyr, His, Val, Tyr, or is not present
 <220><221> misc_feature
 <222> (11)
 <223> Xaa is Asp, Tyr, Phe, Leu, or is not present
 <220><221> misc_feature
 <222> (12)
 <223> Xaa is Ile, Asp, Tyr, or is not present
 <220><221> misc_feature
 <222> (13)
 <223> Xaa is Tyr, or is not present

 <220><221> misc_feature
 <222> (14)
 <223> Xaa is Tyr, or is not present
 <220><221> misc_feature
 <222> (15)

<223> Xaa is Gly, or is not present

<220><221> misc_feature

<222> (16)

<223> Xaa is Met, or is not present

<220><221> misc_feature

<222> (17)

<223> Xaa is Asp, or is not present

<220><221> misc_feature

<222> (18)

<223> Xaa is Val, or is not present

<400> 44

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

1 5 10 15

Xaa Xaa

<210> 45

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Anti-IL-18 antibody CDR sequence

<220><221> misc_feature

<222> (1)

<223> Xaa is Arg, or Lys

<220><221> misc_feature

<222> (2)

<223> Xaa is Ala, Gly, or Ser

<220><221> misc_feature

<222> (3)

<223> Xaa is Ser

<220><221> misc_feature

<222> (4)

<223> Xaa is Glu, Arg, Gln, or His

<220><221> misc_feature

<222> (5)

<223> Xaa is Ser, Ile, Thr, or Asn
 <220><221> misc_feature
 <222>
 > (6)
 <223> Xaa is Ile, Val, Leu, or Phe
 <220><221> misc_feature
 <222> (7)
 <223> Xaa is Ser, Gly, Leu, Asn, or Arg
 <220><221> misc_feature
 <222> (8)
 <223> Xaa is Ser, Gly, Tyr, Arg, Asn, His, or Asp
 <220><221> misc_feature
 <222> (9)
 <223> Xaa is Asn, Gly, Tyr, Arg, or Ser
 <220><221> misc_feature
 <222> (10)
 <223> Xaa is Leu, Tyr, Ser, or Asp
 <220><221> misc_feature
 <222> (11)
 <223> Xaa is Ala, Leu, Asn, Val, Gly, or Asp
 <220><221> misc_feature
 <222> (12)

 <223> Xaa is Ala, Asn, Glu, Lys, Gly, or is not present
 <220><221> misc_feature
 <222> (13)
 <223> Xaa is Lys, Thr, Asn, or is not present
 <220><221> misc_feature
 <222> (14)
 <223> Xaa is Asn, Tyr, Thr, or is not present
 <220><221> misc_feature
 <222> (15)
 <223> Xaa is Tyr, Leu, or is not present
 <220><221> misc_feature
 <222> (16)

<223> Xaa is Leu, Cys, Tyr, or is not present

<220><221> misc_feature

<222> (17)

<223> Xaa is Ala, Asp, or is not present

<400> 45

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

1	5	10	15
Xaa			

<210> 46

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Anti-IL-18 antibody CDR sequence

<220><221> misc_feature

<222> (1)

<223> Xaa is Thr, Gly, Ser, Trp, or Glu

<220><221> misc_feature

<222> (2)

<223> Xaa is Ala, Val, Thr, Ile, or Leu

<220><221> misc_feature

<222> (3)

<223> Xaa is Ser, or Phe

<220><221> misc_feature

<222> (4)

<223> Xaa is Thr, Ile, Asn, Ser, Arg, or Tyr

<220><221>

> misc_feature

<222> (5)

<223> Xaa is Arg, or Leu

<220><221> misc_feature

<222> (6)

<223> Xaa is Ala, Gln, Glu, or Phe

<220><221> misc_feature

<222> (7)

<223> Xaa is Thr, or Ser

<400> 46

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

1 5

<210> 47

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Anti-IL-18 antibody CDR sequence

<220><221> misc_feature

<222> (1)

<223> Xaa is Gln, or Met

<220><221> misc_feature

<222> (2)

<223> Xaa is Gln, His, or Tyr

<220><221> misc_feature

<222> (3)

<223> Xaa is Tyr, Asn, Gly, Ser, or Arg

<220><221> misc_feature

<222> (4)

<223> Xaa is Asn, His, Tyr, Asp, Gly, Val, Leu, or Ile

<220><221> misc_feature

<222> (5)

<223> Xaa is Asn, Gly, Ile, Tyr, Ser, Gln, Phe, or Glu

<220><221> misc_feature

<222> (6)

<223> Xaa is Trp, Ser, Thr, Leu, Ile, or Phe

<220><221> misc_feature

<222> (7)

<223> Xaa is Pro, Leu, Thr, Asp, or Ile

<220><221> misc_feature

<222> (8)

<223> Xaa is Ser, Leu, Pro, Cys, Trp, Ile, or Phe

<220><221> misc_feature

<222> (9)

<223> Xaa is Ile, Thr, Ser, or is not present

<220><221> misc_feature

<222> (10)

<223> Xaa is Thr, or is not present

<400> 47

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

1 5 10