發明專利說明書

200416227

（本說明書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫）

※申請案號：92124638

※申請日期：92.9.5　※IPC 分類：C07K 16/28
A61K 39/395
A61P 29/00

壹、發明名稱：（中文/英文）

治療性人類抗IL-1R1單株抗體

THERAPEUTIC HUMAN ANTI-IL-1R1 MONOCLONAL ANTIBODY

貳、申 請 人：（共 1 人）

姓名或名稱：（中文/英文）

美商安美基公司

AMGEN INC.

代表人：（中文/英文）

史都華 L. 瓦特

STUART L. WATT

住居所或營業所地址：（中文/英文）

美國加州千橡市安美基中心大道1號

ONE AMGEN CENTER DRIVE THOUSAND OAKS, CA 91320-1799, U.S.A.

國　籍：（中文/英文）

美國　U.S.A.

參、發明人：（共 7 人）

姓　名：（中文/英文）
1.伯力安 為那
BRIAN VARNUM
2.客力司 為及那
CHRIS VEZINA
3.愛力森 懷特
ALISON WITTE
4.苦命 曠
XUEMING QIAN
5.法蘭客 馬丁
FRANK MARTIN
6.海君 紅
HAICHUN HUANG
7.嘉力 愛力特
GARY ELLIOTT

住居所地址：（中文/英文）
1.美國加州聖塔盟妮卡市第十二街602號
602 12TH STREET, SANTA MONICA, CA 90402, U.S.A.
2.美國加州紐伯力市南葛林為路351號
351 SOUTH GREENWAY AVENUE, NEWBURY PARK, CA 91320, U.S.A.
3.美國加州加馬裡歐市八八拉路2242號
2242 BARBARA DRIVE, CAMARILLO, CA 93012, U.S.A.
4.美國加州橡園市米太爾路596號
596 MYRTLE COURT, OAK PARK, CA 91377, U.S.A.
5.美國加州紐伯力市費西爾路865號
865 FERNHILL COURT, NEWBURY PARK, CA 91320, U.S.A.
6.美國加州服模特市蘇諾路2425號
2425 SUENO WAY, FREMONT, CA 94539, U.S.A.
7.美國加州千橡市加瑟路2458號
2458 CHAUCER PLACE, THOUSAND OAKS, CA 91362, U.S.A.

國　籍：（中文/英文）
1.美國　U.S.A.
2.美國　U.S.A.
3.美國　U.S.A.
4.美國　U.S.A.
5.美國　U.S.A.
6.美國　U.S.A.
7.美國　U.S.A.

肆、聲明事項：

☐ 本案係符合專利法第二十條第一項☐第一款但書或☐第二款但書規定之期間，其日期為： 年 月 日。

☑ 本案申請前已向下列國家（地區）申請專利：

1.美國；2002年09月06日；60/408,719

2.

3.

4.

5.

☑ 主張國際優先權(專利法第二十四條)：

【格式請依：受理國家（地區）；申請日；申請案號數 順序註記】

1.美國；2002年09月06日；60/408,719

2.

3.

4.

5.

☐ 主張國內優先權(專利法第二十五條之一)：

【格式請依：申請日；申請案號數 順序註記】

1.

2.

☐ 主張專利法第二十六條微生物：

☐ 國內微生物 【格式請依：寄存機構；日期；號碼 順序註記】

☐ 國外微生物 【格式請依：寄存國名；機構；日期；號碼 順序註記】

☐ 熟習該項技術者易於獲得，不須寄存。

玖、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

本發明係關於與介白素-1受體第1型(IL-1R1)蛋白質結合的抗體。亦提供治療IL-1媒介之疾病，像是風濕性關節炎、骨關節炎和其他炎症性病況的組合物，特別是醫藥組合物和方法。

【先前技術】

抗體發展

炎症是身體對起因於機械損傷、感染或抗原刺激之傷害的反應。通常以病理學上的方式表現炎症反應。這類病況在炎症以誇張之方式表現、不適當地刺激，或在移除傷害物之後持續存在時升高。

炎症反應特別是由細胞激動素來媒介。已發現之最有潛力的炎症性細胞激動素之一是介白素-1 (IL-1)。在IL-1發送信號上的增加，引起與數種疾病有關的持續炎症，並認為IL-1在許多疾病和醫學病況中，是關鍵性的介體。該細胞激動素主要(雖然不是獨佔地)由巨噬細胞/單核細胞家族的細胞製造，並可以兩種形式產生：IL-1α和IL-1β。

IL-1藉著與包括兩個穿透膜蛋白質IL-1受體第1型(IL-1R1)和IL-1受體輔助蛋白質(IL-1RAcP)之異種二聚受體複合體產生交互作用，刺激細胞反應。IL-1先與IL-1R1結合；然後再招募IL-1RAcP至該複合體(Greenfeder等人，1995, J. Biol. Chem. 270：13757-13765；Yoon和Dinarello, 1998, J. Immunology 160：3170-3179；Cullinan等人，1998,

J. Immunology 161：5614-5620)，接著的信號轉導作用導致細胞反應的誘發。

以細胞為基礎的結合研究，暗示IL-1RAcP藉著減緩配體關閉-速率，使IL-1R發送信號的複合體穩定(Wesche等人，1998, FEBS Letters 429：303-306)。雖然已經完全定出IL-1與IL-1R之交互作用的特徵，但仍未完全定義IL-1RAcP與配體-結合受體的交互作用。因為IL-1RAcP對單獨的IL-1或IL-1R1沒有明顯的親和力，但對複合體有高度的親和力，推斷是藉著IL-1/IL-1R結合事件而創造出新穎的IL-1RAcP之結合位置，其甚至可能是來自IL-1殘基的貢獻(Ettorre等人，1997, Eur. Cytokine Netw. 8：161-171)。其他的分子，IL-1受體拮抗劑(IL-1ra)與IL-1α和IL-1β競爭受體結合，但無法招募IL-1RAcP，結果產生被佔據但未-發送信號的受體。IL-1活性可額外地被IL-1R第II型抵銷，一種引誘受體，其與配體結合但不參與發送信號，係歸因於截短的細胞內功能部位。IL-1ra和IL-1R第II型之作用為降低IL-1媒介之炎症事件的嚴重性和期間(Wesche等人，1998, FEBS Letters 429：303-306；Dripps等人，1991, J. Biol. Chem. 266：10331-10336；Dripps等人，1991, J. Biol. Chem. 266：20331-20335)。

可從任何能夠專一地阻礙細胞受體對IL-1之激活作用的蛋白質中，產製介白素-1抑制劑，其可起因於許多機制。這類機制包括向下-調節IL-1產製、結合自由的IL-1、干涉IL-1與IL-1R結合、干涉IL-1R-IL-1RAcP複合體的形成，或在與其受體結合之後，干涉IL-1發送信號的調整。IL-1抑制

劑的種類包括：

- 介白素-1受體拮抗劑，像是IL-1ra，如同下述；
- 抗-IL-1R單株抗體(例如，像是在已公告之歐洲專利申請案第EP 623674號中揭示的，將其揭示內容以引用的方式併入本文中)；
- IL-1結合蛋白質，像是可溶性IL-1受體(例如，像是在美國專利第5,492,888號；第5,488,032號；第5,464,937號；第5,319,071號和第5,180,812號中揭示的，將其揭示內容以引用的方式併入本文中)；
- 抗-IL-1單株抗體(例如，像是在國際專利申請案出版物第WO 9501997號、WO 9402627號、WO 9006371號、美國專利第4,935,343號、歐洲專利第364778號、歐洲專利第267611號和歐洲專利第220063號中揭示的，將其揭示內容以引用的方式併入本文中)；
- IL-1受體輔助蛋白質及其抗體(例如，像是在國際專利申請案出版物第WO 96/23067號和WO 99/37773號中揭示的，將其揭示內容以引用的方式併入本文中)；以及
- 介白素-1β轉變酶(ICE)或卡斯蛋白酶I的抑制劑(例如，像是在國際專利申請案出版物第WO 99/46248號、WO 99/47545號和WO 99/47154號中揭示的，將其揭示內容以引用的方式併入本文中)，其可用來抑制IL-1β的產製和分泌；
- 介白素-1β蛋白酶抑制劑；及
- 其他在活體外阻斷IL-1之合成或細胞外釋放的化合物

和蛋白質。

在下列的參考文獻中揭示代表性的IL-1抑制劑：美國專利第5,747,444號；第5,359,032號；第5,608,035號；第5,843,905號；第5,359,032號；第5,866,576號；第5,869,660號；第5,869,315號；第5,872,095號；第5,955,480號和第5,965,564號；國際專利申請案出版物第WO 98/21957號；第WO 96/09323號；第WO 91/17184號；第WO 96/40907號；第WO 98/32733號；第WO 98/42325號；第WO 98/44940號；第WO 98/47892號；第WO 98/56377號；第WO 99/03837號；第WO 99/06426號；第WO 99/06042號；第WO 91/17249號；第WO 98/32733號；第WO 98/17661號；第WO 97/08174號；第WO 95/34326號；第WO 99/36426號和第WO 99/36415號；歐洲專利申請案出版物第EP 534978號和EP 89479號；以及法國專利申請案第FR 2762514號。將所有前述之參考文獻的揭示內容以引用的方式併入本文中。

介白素-1受體拮抗劑(IL-1ra)是人類蛋白質，其作用為介白素-1的天然抑制劑，並為IL-1家族的成員，其包括IL-1α和IL-1β。較佳的受體拮抗劑(包括IL-1ra及其變體和衍生物)，以及製造和使用它們的方法，描述在美國專利申請案第5,075,222號；國際專利申請案出版物第WO 91/08285號；第WO 91/17184號；第WO 92/16221號；第WO 93/21946號；第WO 94/06457號；第WO 94/21275號；第WO 94/21235號；英國專利第4219626號，第WO 94/20517號；第WO 96/22793號；第WO 97/28828號和第WO 99/36541號；澳洲

專利申請案第AU 9173636號；和法國專利申請案第FR 2706772號；將其揭示內容以引用的方式併入本文中。蛋白質包括IL-1受體拮抗劑之糖基化和未-糖基化的形式。

特定而言，在美國專利第5,075,222號(" '222專利")中揭示並描述三種有用形式的IL-1ra及其變體。IL-1raα的SDS-PAGE特徵為22-23 kD的分子，具有大約4.8之等電點，從Mono Q FPLC管柱中，以在Tris緩衝溶液，pH 7.6中之大約52 mM NaCl洗脫出。IL-1raβ的特徵為22-23 kD蛋白質，從Mono Q管柱中以48 mM NaCl洗脫出。IL-1raα和IL-1raβ均為糖基化的。IL-1rax之特徵為20 kD蛋白質，從Mono Q管柱中以48 mM NaCl洗脫出，並為未-糖基化的。'222專利亦描述分離負責編碼抑制劑之基因，將該基因選殖到適當的載體和細胞類型中，以及表現該基因產製抑制劑的方法。IL-1ra雖然有效，但具有相對上較短的半衰期。在目前的應用上，每天一次投予IL-1ra。因此，該技藝將獲益於具有可察覺之較長半衰期的IL-1受體拮抗劑。

藉著抑制IL-1與IL-1受體結合來妨礙IL-1發送信號，是治療IL-1媒介之疾病的誘人治療方法。在此項技藝中，需要在臨床上有效的IL-1發送信號路徑之抑制劑，其可改善IL-1媒介之疾病的影響，並適合遞送至人類患者內。阻斷IL-1發送信號的人類抗體，特別有利地滿足該需求，並將提供比目前可利用之療法更長的半衰期。

【發明內容】

本發明提供與介白素-1受體第I型(IL-1R1)結合的單株抗

體。較佳的是，抗體藉著與IL-1β和IL-1α競爭對IL-1R1的結合，而抑制IL-1發送信號。本發明亦提供產生本發明之單株抗體，且最好是分泌至細胞培養基內的融合瘤細胞株。本發明之抗體成功地在人類細胞中阻斷了IL-1發送信號，並因此可用來治療患有IL-1媒介之疾病的患者。本發明進一步更提供融合蛋白質，包括抗體Fc區的序列，以及一或多個選自序列識別10號、序列識別12號、序列識別14號、序列識別16號、序列識別18號、序列識別20號、序列識別22號、序列識別24號、序列識別26號、序列識別28號、序列識別30號、序列識別32號、序列識別34號、序列識別36號、序列識別38號和序列識別40號所組成之群的序列。可使用在例如WO 00/24782中描述的方法，來製備這類分子，以引用的方式併入本文中。可在例如哺乳動物細胞(例如中國倉鼠卵巢細胞)或細菌細胞(例如大腸桿菌細胞)中表現這類分子。

在某些觀點中，本發明提供抗體，較佳的是單株抗體，最好是人類抗體，其包括重鏈和輕鏈，其中該重鏈包括在序列識別2號、序列識別6號或序列識別8號任一個中陳述的胺基酸序列，或其抗原-結合或具有免疫功能的免疫球蛋白片段。

本發明亦提供抗體，較佳的是單株抗體，最好是人類抗體，其包括重鏈和輕鏈，其中該輕鏈包括在序列識別4號中陳述的胺基酸序列，或其抗原-結合或具有免疫功能的免疫球蛋白片段。

在某些觀點中，本發明之抗體包括重鏈和輕鏈，其中該重鏈的可變區包括在序列識別10號、序列識別14號或序列識別16號任一個中陳述的胺基酸序列，或其抗原-結合或具有免疫功能的免疫球蛋白片段。在其他觀點中，輕鏈可變區包括在序列識別12號或序列識別18號任一個中陳述的胺基酸序列，或其抗原-結合或具有免疫功能的免疫球蛋白片段。在另外的觀點中，重鏈包括在序列識別20號、序列識別22號、序列識別24號、序列識別26號、序列識別28號、序列識別30號、序列識別32號、序列識別34號或序列識別36號任一個中陳述的胺基酸序列，或其抗原-結合或具有免疫功能的免疫球蛋白片段。在更進一步的觀點中，輕鏈包括在序列識別38號或序列識別40號任一個中陳述的胺基酸序列，或其抗原-結合或具有免疫功能的免疫球蛋白片段。這類抗體鏈可用來製備與IL-1R1專一結合的抗體，亦可用來製備雙重專一性的抗體，其中所得的分子與IL-1R1及/或其他標靶分子(例如TNF或TNF受體)結合。

本發明亦提供與IL-1R1專一結合的抗體，其中重鏈包括重鏈可變區，其包括如同在序列識別10號中陳述的胺基酸序列，或其抗原-結合或具有免疫功能的免疫球蛋白片段，而輕鏈包括輕鏈可變區，其包括如同在序列識別12號中陳述的胺基酸序列，或其抗原-結合或具有免疫功能的免疫球蛋白片段。

在某些觀點中，本發明亦提供包括重鏈和輕鏈的抗體，其中重鏈包括第一個可變區，且其中該第一個可變區包括

與在序列識別10號中陳述之胺基酸序列，有至少90%，較佳的是至少95%，而最佳的是大約99%同一性的序列，且其中輕鏈包括第二個可變區，且其中該第二個可變區包括與在序列識別12號中陳述之胺基酸序列，有至少90%，較佳的是至少95%，而最佳的是大約99%同一性的序列，其中該抗體與IL-1R1產生交互作用。

本發明進一步更提供與IL-1R1專一結合的抗體，其中重鏈包括重鏈可變區，其包括如同在序列識別14號中陳述的胺基酸序列，或其抗原-結合或具有免疫功能的免疫球蛋白片段，以及輕鏈，其包括輕鏈可變區，包括如同在序列識別12號中陳述的胺基酸序列，或其抗原-結合或具有免疫功能的免疫球蛋白片段。

在某些觀點中，本發明提供包括重鏈和輕鏈的抗體，其中重鏈包括第一個可變區，且其中該第一個可變區包括與在序列識別14號中陳述之胺基酸序列，有至少90%，較佳的是至少95%，而最佳的是大約99%同一性的序列，且其中輕鏈包括第二個可變區，且其中該第二個可變區包括與在序列識別12號中陳述之胺基酸序列，有至少90%，較佳的是至少95%，而最佳的是大約99%同一性的序列，其中該抗體與IL-1R1產生交互作用。

本發明亦提供與IL-1R1專一結合的抗體，其中重鏈包括重鏈可變區，其包括如同在序列識別16號中陳述的胺基酸序列，或其抗原-結合或具有免疫功能的免疫球蛋白片段，以及輕鏈，其包括輕鏈可變區，包括如同在序列識別18號

中陳述的胺基酸序列，或其抗原-結合或具有免疫功能的免疫球蛋白片段。

在某些觀點中，本發明提供包括重鏈和輕鏈的抗體，其中重鏈包括第一個可變區，且其中該第一個可變區包括與在序列識別16號中陳述之胺基酸序列，有至少90%，較佳的是至少95%，而最佳的是大約99%同一性的序列，且其中輕鏈包括第二個可變區，且其中該第二個可變區包括與在序列識別18號中陳述之胺基酸序列，有至少90%，較佳的是至少95%，而最佳的是大約99%同一性的序列，其中該抗體與IL-1R1產生交互作用。

本發明亦提供與IL-1R1專一結合的抗體，其中重鏈包括如同在序列識別20號、序列識別22號、序列識別24號、序列識別26號、序列識別28號或序列識別30號中陳述的胺基酸序列，或其抗原-結合或具有免疫功能的免疫球蛋白片段，以及輕鏈，其包括如同在序列識別38號中陳述的胺基酸序列，或其抗原-結合或具有免疫功能的免疫球蛋白片段。

本發明進一步更提供與IL-1R1專一結合的抗體，其中重鏈包括如同在序列識別32號、序列識別34號或序列識別36號任一個中陳述的胺基酸序列，或其抗原-結合或具有免疫功能的免疫球蛋白片段，以及輕鏈，其包括如同在序列識別40號中陳述的胺基酸序列，或其抗原-結合或具有免疫功能的免疫球蛋白片段。

本發明亦提供所有前述的具體實施例，其為單鏈抗體、單鏈Fv抗體、Fab抗體、Fab'抗體和$(Fab')_2$抗體。

在特定的觀點中，本發明提供包括如同在序列識別38號或序列識別40號任一個中陳述之胺基酸序列，或其抗原-結合或具有免疫功能的免疫球蛋白片段的輕鏈。

此外，本發明提供包括如同在序列識別20號、序列識別22號、序列識別24號、序列識別26號、序列識別28號、序列識別30號、序列識別32號、序列識別34號或序列識別36號任一個中陳述之胺基酸序列，或其抗原-結合或具有免疫功能的免疫球蛋白片段的重鏈。

本發明亦關於經過分離的人類抗體，其專一地結合IL-1R1，其中該抗體包括：(a)人類重鏈架構區、人類重鏈CDR1區、人類重鏈CDR2區和人類重鏈CDR3區；以及(b)人類輕鏈架構區、人類輕鏈CDR1區、人類輕鏈CDR2區和人類輕鏈CDR3區。在某些觀點中，人類重鏈CDR1區可以是在圖10中所示之26F5、27F2或154的重鏈CDR1區，且人類輕鏈CDR1區可以是在圖11中所示之26F5、27F2或15C4的輕鏈CDR1區。在其他觀點中，人類重鏈CDR2區可以是在圖10中所示之26F5、27F2或15C4的重鏈CDR2區，且人類輕鏈CDR2區可以是在圖11中所示之26F5、27F2或15C4的輕鏈CDR2區。在其他觀點中，人類重鏈CDR3區可以是在圖10中所示之26F5、27F2或15C4的重鏈CDR3區，且人類輕鏈CDR3區可以是在圖11中所示之26F5、27F2或15C4的輕鏈CDR3區。

在某些具體實施例中，本發明之抗體與IL-1R1的第三個功能部位結合。較佳的是，本發明之抗體的抗原決定位，

由胺基酸序列YSV組成，在本文中稱為抗原決定位4，並出示於圖24中。本發明進一步更關於融合蛋白質，及其他能夠與抗原決定位4結合的分子(連同前述的抗體，在本文中集體地稱為"專一結合夥伴")，可使用在例如WO 00/24782中描述的方法，來製備這類分子，以引用的方式併入本文中。可在例如哺乳動物細胞(例如中國倉鼠卵巢細胞)或細菌細胞(例如大腸桿菌細胞)中表現這類分子。

此外，本發明亦提供選出抗原之抗原決定位作圖的方法。在一項觀點中，該方法包括下列步驟：(a)產製一組融合蛋白質，其中每個融合蛋白質包括(i)抗生物素蛋白和(ii)抗原的片段；(b)針對與一或多個該抗原之專一結合夥伴的結合作用，篩選融合蛋白質組；(c)在包括生物素的培養基上分離融合蛋白質，憑藉著抗生物素蛋白與生物素結合；並(d)分析被專一結合夥伴或夥伴們結合的融合蛋白質，判定專一結合夥伴或夥伴們在該抗原上的結合位置。在特定的觀點中，該專一結合夥伴是抗體。

在其他的具體實施例中，本發明提供治療IL-1媒介之疾病、病況或病症的方法，包括對需要其之個體，投予在藥學上有效之含量的一或多個本發明之單株抗體，或其抗原-結合或具有免疫功能的免疫球蛋白片段的步驟。

本發明亦提供在生物試樣中檢測IL-1R1含量的方法，包括使該試樣與本發明之單株抗體，或其抗原-結合片段接觸的步驟。本發明之抗-IL-1R抗體，可用在任何已知的測定方法中，像是競爭性結合測定、直接或間接的三明治測定

、免疫沉澱測定和酵素-連結免疫吸附測定(ELISA)(參見Sola, 1987, Monoclonal Antibodies: A Manual of Techniques, 第147-158頁，CRC Press, Inc.)，來檢測和定量IL-1R。可與IL-1R結合的抗體，具有適合欲使用之測定方法的親和力。

從下列某些較佳的具體實施例和申請專利範圍之更詳細的說明中，本發明特佳的具體實施例將變得更為明顯。

【實施方式】

在本文中使用的段落開頭僅為了組織化的目的，並非企圖限制所描述的主題。所有在本申請案中提及的參考文獻，均特別以引用的方式併入本文中。

定義

若天然存在或以實驗誘導之疾病或醫學狀況，與在體液或組織中之IL-1的升高含量有關，或若取自身體之細胞或組織在培養時產生升高含量的IL-1，則認為該疾病或醫學狀況是"介白素-1 (IL-1)媒介之疾病"。升高含量的IL-1可包括例如超過正常在特定細胞或組織中發現的那些的含量，或可以是在正常不表現IL-1之細胞或組織中，任何可檢測到的IL-1含量。在許多案例中，亦可藉著下列兩個額外的條件，辨認IL-1媒介的疾病：(1)藉著投予IL-1或向上-調節IL-1的表現，在動物中以實驗之方式模仿與疾病或醫學狀況有關的病理學發現；以及(2)在可藉著以抑制IL-1作用的製劑處理，而抑制或廢止疾病或醫學狀況之實驗動物模式中，誘導病理學。在大多數IL-1媒介的疾病中，遭遇到三種條件中的至少兩種，而在許多IL-1媒介的疾病中，遇到

全部的三種條件。

急性和慢性IL-1媒介之疾病的非-獨佔性一覽表，包括但不限於下列的：急性胰臟炎；無脊髓的側索硬化(ALS)；早老性痴呆徵候群；惡病質/食慾減退，包括AIDS-引起的惡病質；氣喘和其他肺臟疾病；動脈粥樣硬化；自體免疫性血管炎；慢性疲勞徵候群；與梭狀芽胞桿菌(Clostridium)有關的疾病，包括與梭狀芽胞桿菌有關的下痢；冠狀動脈的病況和症狀，包括鬱血性心衰竭、冠狀動脈再狹窄、心肌梗塞、心肌功能障礙(例如與敗血症有關)，以及冠狀動脈繞道移植；癌症，像是多發性骨髓瘤和骨髓性的(例如AML或CML)以及其他白血病，還有腫瘤轉移；糖尿病(例如胰島素-依賴性糖尿病)；子宮內膜炎；發燒；纖維肌痛(fibromyalgia)；絲球體性腎炎；移植物對宿主的疾病/移植排斥；出血性休克；痛覺過敏；炎症性腸病；關節的炎症狀況，包括骨關節炎、牛皮癬性關節炎和風濕性關節炎；炎症性眼睛疾病，像是可能與例如角膜移植、缺血，包括腦缺血(例如起因於創傷、癲癇、出血或休克的傷害，其中每個都可能導致神經退化)有關的；川崎氏(Kawasaki's)症；學習損傷；肺臟疾病(例如ARDS)；多發性硬化症；肌病(例如肌肉蛋白質代謝，特別是在敗血症中)；神經毒性(例如由HIV引起的)；骨質疏鬆症；疼痛，包括與癌症有關的疼痛；帕金森氏症；牙周病；早產；牛皮癬；再灌注的傷害；敗血性休克；放射性治療的副作用；顳下頜關節病；睡眠失常；葡萄膜炎；或起因於運動過度、扭傷、軟骨損

傷、創傷、矯形外科手術、感染或其他疾病過程的炎症狀況。

可使用傳統的技術來製備重組DNA，進行寡核苷酸的合成，並實行組織培養和轉化作用(例如電穿透作用、轉移感染或脂染作用)。可根據製造者的說明書，或按照在此項技藝中普遍完成的，或按照在本文中描述的，來進行酵素反應或純化技術。通常，可根據此項技藝中已熟知的傳統方法來進行前述的技術和程序，並如同在本說明書中提及和討論的各種一般和較專門之參考文獻中描述的。參見，例如Sambrook等人，2001, Molecular Cloning：A Laboratory Manual，第3版，Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y.，為了任何目的，以引用的方式併入本文中。除非提供明確的定義，所使用之與在本文中描述的分析化學、合成有機化學和醫學與製藥化學有關的名詞，及其實驗室程序和技術，均為在此項技藝中已熟知並經常使用的那些。至於化學合成、化學分析、藥學製備、調配和遞送，以及患者的處理，可使用標準技術。

當根據本揭示內容使用時，除非另行指定，請了解下列的名詞具有下列的意義：

"經過分離之多核苷酸"一詞意指主題多核苷酸(1)不與全部或部分的(在自然界中與該主題多核苷酸結合之)其他多核苷酸(共價或非共價地)結合，(2)與在自然界中不與其結合的分子結合，或(3)在自然界中不與任何其他多核苷酸一起出現。這類經過分離的多核苷酸可以是基因組DNA、

cDNA、mRNA或其他合成來源的RNA，或其任何組合。

在本文中提及的"經過分離之蛋白質"一詞，意指主題蛋白質(1)至少不含一些正常與其一起發現的其他蛋白質，(2)基本上不含得自相同來源，例如得自相同物種的其他蛋白質，(3)由得自不同物種的細胞表現，(4)已經從在自然界中與其結合的至少大約50%多核苷酸、脂質、碳水化合物或其他物質中分離，(5)不與在自然界中與該"經過分離之蛋白質　畢X的部分蛋白質(共價或非共價地)結合，(6)以可操作之方式與在自然界中不與其結合的多肽(共價或非共價地)結合，或(7)未出現在自然界中。基因組DNA、cDNA、mRNA或其他合成來源的RNA，或其任何組合，可編碼這類經過分離的蛋白質。經過分離的蛋白質最好實質上不含蛋白質或多肽，或其他在其自然環境中發現的污染物，其將干擾該蛋白質的治療、診斷、預防、研究或其他用途。

"多肽"和"蛋白質"一詞特別包括抗-IL-1R1抗體，或從抗-IL-1R1抗體中刪除、添加及/或取代一或多個胺基酸的序列。"多肽片段"一詞意指具有胺基-終端刪除、羧基-終端刪除及/或內部刪除的多肽。在某些具體實施例中，片段的長度至少是5至大約500個胺基酸。應了解在某些具體實施例中，片段的長度至少是5、6、8、10、14、20、50、70、100、110、150、200、250、300、350、400或450個胺基酸。特別有用的多肽片段，包括有功能的功能部位，包括結合功能部位。在抗-IL-1R抗體的案例中，有用的片段包括但不限於CDR區、重或輕鏈的可變功能部位、部分的抗體鏈

，或正好是其包括兩個CDRs的可變區，及其類似物。

當在本文中使用"具有免疫功能的免疫球蛋白片段"一詞時，意指至少含有免疫球蛋白重和輕鏈之可變功能部位的多肽片段。本發明之具有免疫功能的免疫球蛋白片段，能夠與配體結合，妨礙配體與其受體結合，阻止起因於配體與受體結合之生物學反應，或其任何組合。本發明之具有免疫功能的免疫球蛋白片段，最好專一地與IL-1R1結合。

"天然存在的"和"天然的"一詞意指應用該詞的生物學物質(分子、序列、蛋白質複合體、細胞及其類似物)，可在自然界中找到，而不是由人製造的。例如，出現在生物(包括病毒)中，可從天然的來源中分離，且未曾被人故意修改的多肽或多核苷酸序列，是天然存在的。同樣的，"非天然存在的"或"非-天然的"一詞意指不是在自然界中發現的，或已經在結構上被人修改或合成的物質。

"以可操作之方式連接"一詞，意指應用該詞的組份，有容許其在適當的條件下進行其固有功能的關係。例如，控制序列"以可操作之方式連接"蛋白質密碼序列，是以在與控制序列之轉錄活性可相容的條件下，完成蛋白質密碼序列表現的方式與其連接。

"控制序列"一詞意指主題多核苷酸序列可有效表現並加工處理與其連接的密碼序列。這類控制序列的性質可視宿主生物而定。在特定的具體實施例中，真核生物的控制序列可包括啟動基因、核糖體結合位置和轉錄終止序列。在其他特殊的具體實施例中，真核生物的控制序列可包括啟

動基因，包括一或多個轉錄因子之認知位置，轉錄促進子序列和轉錄終止序列。在某些具體實施例中，"控制序列"可含有前導序列及/或融合夥伴序列。

"多核苷酸"一詞意指單股或雙股的核酸聚合物，長度至少10個鹼基。在某些具體實施例中，多核苷酸所包括的核苷酸，可以是核糖核苷酸或脫氧核糖核苷酸，或是任一型核苷酸的修改形式。這類修改作用包括鹼基修改，像是溴尿嘧啶核苷和肌苷衍生物，核糖修改，像是2',3'-二脫氧核糖，以及核苷酸間鍵結修改，像是硫代磷酸酯、二硫代磷酸酯、硒代磷酸酯、二硒代磷酸酯、硫代苯胺磷酸酯(phosphoroanilothioate)、醯苯胺磷酸酯(phoshoraniladate)和胺基磷酸酯。該詞包括單和雙股形式的DNA。

"寡核苷酸"一詞意指包括長度為200個鹼基或較少的多核苷酸。在較佳的具體實施例中，寡核苷酸的長度為10至60個鹼基。在更佳的具體實施例中，寡核苷酸的長度為12、13、14、15、16、17、18、19或20至40個鹼基。寡核苷酸可以是單股或雙股的，例如用來建構突變基因。本發明之寡核苷酸可以是有意義或反義寡核苷酸。

"天然存在的核苷酸"一詞，包括脫氧核糖核苷酸和核糖核苷酸。"經過修改的核苷酸"一詞，包括帶有經過修改或經取代之糖基團，或經過修改或經取代之鹼基的核苷酸。"寡核苷酸鍵結"一詞，包括諸如硫代磷酸酯、二硫代磷酸酯、硒代磷酸酯、二硒代磷酸酯、硫代苯胺磷酸酯、醯苯胺磷酸酯和胺基磷酸酯之類的鍵結，及其類似物。參見，

例如LaPlanche等人(1986), Nucl. Acids Res. 14：9081；Stec等人(1984), J. Am. Chem. Soc. 106：6077；Stein等人(1988), Nucl. Acids Res. 16：3209；Zon等人(1991), Anti-Cancer Drug Design 6：539；Zon等人(1991)，寡核苷酸及類似物：應用方法(Oligonucleotides and Analogues：A Practical Approach)，第87-108頁(F. Eckstein編輯)Oxford University Press, Oxford England；Stec等人，美國專利第5,151,510號；Uhlmann和Peyman (1990), Chemical Reviews 90：543，為了任何目的，將其揭示內容以引用的方式併入本文中。本發明的寡核苷酸可包括可供檢測測定使用的標記，包括放射性標記、螢光標記、半抗原或抗原標記。

"載體"一詞意指任何可用來將密碼資訊運送至宿主細胞的分子(例如核酸、質體或病毒)。

"表現載體"或"表現構築體"一詞，意指適合轉化宿主細胞，並含有指揮及/或控制(連同宿主細胞一起)與其以可操作之方式連接的一或多個異種密碼區表現之核酸序列的載體。表現構築體可包括，但不限於影響或控制轉錄、轉譯和RNA接合的序列，若出現插入序列，還包括與其以可操作之方式連接的密碼序列。

"宿主細胞"一詞意指已經以核酸序列轉化的細胞，或能夠被轉化的細胞，並藉此表現所選出的感興趣基因。該名詞包括親代細胞的子代，無論該子代在形態學上或在遺傳構造上，與原始親代細胞是否是相同的，只要出現所選出的基因即可。

"輔導作用"一詞意指將基因從一個細菌運送至另一個，通常是藉著噬菌體。"輔導作用"亦意指藉著逆轉錄病毒，獲得及運送真核生物的細胞序列。

"轉移感染"一詞意指由細胞攝入外來或外源的DNA，且當已經將外源DNA導入細胞膜內部時，就已經轉移感染了該細胞。許多轉移感染的技術是此項技藝中已熟知的，並在本文中揭示。參見，例如Graham等人，1973, Virology 52：456；Sambrook等人，2001, Molecular Cloning：A Laboratory Manual，在前；Davis等人，1986, Basic Methods in Molecular Biology, Elsevier；以及Chu等人，1981, Gene 13：197。可使用這類技術將一或多個外源DNA部分導入適當的宿主細胞內。

"轉化作"一詞意指在細胞遺傳特徵上的變化，且當已經修改細胞使其含有新的DNA時，就已經轉化了該細胞。例如，轉化一細胞，其中通常藉著轉移感染、轉導作用或其他技術修改其天然的狀態。在轉移感染或轉導作用之後，轉化的DNA可與藉著物理方式整合至細胞染色體內的細胞DNA重組，或可暫時以附加體元件之形式維持，不進行複製，或可以質體之形式獨立地複製。當轉化的DNA隨著細胞分裂而複製時，認為該細胞已經"被穩定地轉化了"。

"抗原"一詞意指能夠與選擇性結合劑結合的分子或部分分子，並能夠額外地使用在動物上，產生能夠與該抗原之抗原決定位結合的抗體。抗體可具有一或多個抗原決定位。

"抗原決定位"一詞包括任何的決定位，最好是多肽決定

位，能夠專一地結合免疫球蛋白或T-細胞受體。在某些具體實施例中，抗原決定位包括具有化學活性之表面基團的分子，像是胺基酸、糖側鏈、磷醯基或磺醯基，且在某些具體實施例中，可具有特定的三維結構特徵，及/或特定的電荷特徵。抗原決定位是在抗原中與抗體結合的地方。在某些具體實施例中，當抗體在蛋白質及/或大分子之複雜混合物中，優先認出其標靶抗原時，便說該抗體專一地與抗原結合，在較佳的具體實施例中，當抗體之解離常數低於或等於大約10 nM時，更佳的是解離常數低於或等於大約100 pM時，而最佳的是解離常數低於或等於大約10 pM時，便說該抗體專一地與抗原結合。

"同一性"一詞意指藉著比較其序列，而判定在二或多個多肽分子或二或多個核酸分子的序列之間的關係。在此項技藝中，"同一性"亦意指在核酸分子或多肽之間序列關係的程度，視情況而定，藉著在二或多個核苷酸或二或多個胺基酸序列之間的相配來判定。"同一性"測量在二或多個序列中帶有間隙排列(若有的話)的較短者之間相同配對的百分比，藉著特殊數學模式或電腦程式(即演算法)來尋找。

在此項技藝中使用的"類似性"一詞，係關於相關的概念；然而，相對於"同一性"，"類似性"意指測量包括相同配對和保留性置換配對兩者的關係。例如，若兩個多肽序列具有10/20相同的胺基酸，且剩下的都是非-保留性置換，此時同一性和類似性百分比兩者將都是50%。若在相同的實例中，有5個位置是保留性置換，則此時同一性百分比仍

為50%，但類似性百分比將是75% (15/20)。因此，在有保留性置換的案例中，在兩個多肽之間的類似性百分比將比在那兩個多肽之間的同一性百分比更高。

可藉著已知的方法，輕易地計算相關核酸和多肽的同一性和類似性。這類方法包括，但不限於在計算分子生物學(Computational Molecular Biology)，(Lesk, A.M.，編輯)，1988, Oxford University Press, New York；生物計算：訊息資訊學和基因組設計(Biocomputing：Informatics and Genome Projects)，(Smith, D.W.編輯)，1993, Academic Press, New York；序列資料的計算分析(Computer Analysis of Sequence Data)，第1篇，(Griffin, A.M.和Griffin, H.G.，編輯)，1994, Humana Press, New Jersey；von Heinje, G.，在分子生物學中的序列分析(Sequence Analysis in Molecular Biology)，1987, Academic Press；序列分析引子(Sequence Analysis Primer)，(Gribskov, M.和Devereux, J.編輯)，1991, M. Stockton Press, New York；Carillo等人，1988, SIAM J. Applied Math. 48：1073；以及Durbin等人，1998，生物序列分析(Biological Sequence Analysis), Cambridge University Press。

設計判定同一性的較佳方法，以便在兩個受試的序列之間提供最大的配對。在公開獲得的電腦程序中描述判定同一性的方法。在兩個序列之間判定同一性的較佳電腦程式方法，包括但不限於GCG套裝程式，包括GAP(Devereux等人，1984, Nucl. Acid. Res. 12：387；Genetics Computer

Group, University of Wisconsin, Madison, WI)、BLASTP、BLASTN和FASTA (Altschul等人，1990, J. Mol. Biol. 215：403-410)。BLASTX程式可公開獲自National Center for Biotechnology Information (NCBI)和其他來源(BLAST Manual, Altschul等人NCB/NLM/NIH Bethesda, MD 20894；Altschul等人，1990，在前)。亦可使用已熟知的Smith Waterman演算法來判定同一性。

某些將兩個胺基酸序列排成一直線的排列計劃，可能僅產生兩個序列之短區域配對的結果，而這個小排列區可能具有極高的序列同一性，即使在兩個全長序列之間沒有明顯的關係。因此，在某些具體實施例中，所選擇的排列方法(GAP程式)將產生跨越標靶多肽之至少50個相鄰核苷酸的排列。

例如，使用電腦演算法GAP (Genetics Computer Group, University of Wisconsin, Madison, WI)，針對其個別胺基酸的最佳配對，將兩個欲判定其序列同一性的多肽排成一直線(藉著演算法判定"配對跨幅")。在某些具體實施例中，連同演算法一起使用間隙開放罰點(按平均對角線的三倍來計算，其中"平均對角線"為所使用之比較矩陣的對角線平均值；"對角線"是由特定比較矩陣指派之每個完美胺基酸配對的分數或數目)和間隙延伸罰點(其通常是間隙開放罰點的十分之一)，以及諸如PAM 250或BLOSUM 62之類的比較矩陣。在某些具體實施例中，演算法亦使用標準比較矩陣(關於PAM 250比較矩陣，參見Dayhoff等人，1978, Atlas

of Protein Sequence and Structure 5：345-352，至於BLOSUM 62比較矩陣，參見Henikoff等人，1992, Proc. Natl. Acad. Sci USA 89：10915-10919)。

在某些具體實施例中，多肽序列比較的參數包括下列：

演算法：Needleman等人(1970), J. Mol. Biol. 48：443-453；

比較矩陣：BLOSUM 62，得自Henikoff等人(1992)，在前；

間隙罰點：12

間隙長度罰點：4

類似性閾值：0

利用上文的參數，GAP程式可能是有用的。在某些具體實施例中，前述的參數是使用GAP演算法之多肽比較的預設參數(連同末端間隙的無罰點)。

在提及胺基酸時使用"天然存在的"一詞，意指二十個傳統的胺基酸。參見免疫學-合成(Immunology--A Synthesis)，第2版(E.S. Golub和D.R. Gren，編輯)，Sinauer Associates：Sunderland, MA (1991)，以引用的方式併入本文中。

在製藥工業中經常使用肽類似物作為非-肽藥物，其具有類似模板肽的那些特性。將這些類型的非-肽化合物稱為"肽模仿物"或"肽模仿物"。參見Fauchere (1986), Adv. Drug Res. 15：29；Veber & Freidinger, 1985, TINS第392頁；以及Evans等人(1987)，J. Med. Chem. 30：1229，為了任何目的，以引用的方式併入本文中。通常發展這類化合物，有助於電腦化分子塑型。可使用在結構上類似在治療上有用之肽的肽模仿物，產生類似的治療或預防效果。一般而言

，肽模仿物在結構上類似典型的肽或多肽(即具有生化特性或藥理學活性的肽或多肽)，像是人類抗體，但有一或多個肽鍵結，可視需要藉著此項技藝中已熟知的方法，被選自：$-CH_2-NH-$、$-CH_2-S-$、$-CH_2-CH_2-$、$-CH=CH-$(順和反)、$-COCH_2-$、$-CH(OH)CH_2-$和$-CH_2SO-$的鍵結置換。在某些具體實施例中，可使用相同類型之D-胺基酸系統性地置換一致序列的一或多個胺基酸(例如以D-離胺酸代替L-離胺酸)，產生較穩定的肽。此外，亦可藉著此項技藝中已知的方法，產製包括一致序列或實質上相同之一致序列變體的不自然的肽(Rizo & Gierasch, 1992, Ann. Rev. Biochem. 61：387，為了任何目的，以引用的方式併入本文中)；例如藉著加入能夠形成分子內二硫橋的內部半胱胺酸殘基，其使肽形成環狀。

"抗體"或"抗體肽(們)意指完整的抗體或其結合片段，其與完整抗體競爭專一結合，並包括嵌合型、人類化、完全人類的和雙重專一性抗體。在某些具體實施例中，藉著重組DNA技術產生結合片段。在額外的具體實施例中，藉著完整抗體的酵素或化學切開作用，產生結合片段。結合片段包括但不限於Fab、Fab'、$F(ab')_2$、Fv和單鏈抗體。

"重鏈"一詞包括全長重鏈，及其具有足以賦予對IL-1R1之專一性的可變區序列的片段。全長的重鏈包括可變區功能部位、V_H和三個恆定區功能部位C_H1、C_H2和C_H3。V_H功能部位是在多肽的胺基終端，且C_H3功能部位是在羧基-終端。

"輕鏈"一詞包括全長輕鏈，及其具有足以賦予對IL-1R1之專一性的可變區序列的片段。全長的輕鏈包括可變區功能部位、V_L，和恆定區功能部位、類C_L重鏈，輕鏈的可變區功能部位是在多肽的胺基終端。

"Fab片段"包括一個輕鏈和C_H1和一個重鏈的可變區。Fab分子的重鏈不能與另一個重鏈分子形成二硫鍵。

"Fab'片段"含有一個輕鏈和一個重鏈，其在C_H1和C_H2功能部位之間含有多個恆定區，而得以在兩個重鏈之間形成鏈間的二硫鍵，形成$F(ab')_2$分子。

"$F(ab')_2$片段"含有兩個輕鏈和兩個重鏈，含有一部分在C_H1和C_H2功能部位之間的恆定區，而得以在兩個重鏈之間形成鏈間的二硫鍵。

"Fv區"包括得自重和輕鏈兩者的可變區，但缺少恆定區。

"單-鏈抗體"是Fv分子，其中已經藉著有彈性的交聯劑連接重和輕鏈可變區，形成單一的多肽鏈，其形成抗原-結合區。在國際專利申請案出版物第WO 88/01649號和美國專利第4,946,778號和5,260,203號中詳細討論了單鏈抗體，將其揭示內容以引用的方式併入本文中。

在某些具體實施例中，"二價抗體"與"多專一性的"或"多功能的"抗體不同，了解其包括具有相同抗原專一性的結合位置。

"雙重專一性的"或"雙重功能的"抗體是具有兩個不同重/輕鏈對和兩個不同結合位置的雜種抗體。可藉著各種方法產製雙重專一性的抗體，包括但不限於融合瘤的融合，或

Fab'片段的連接。參見，例如Songsivilai & Lachmann (1990), Clin. Exp. Immunol. 79：315-321；Kostelny等人(1992), J. Immunol. 148：1547-1553。

在根據本發明評估抗體結合和專一性時，當過量的抗體降低受體與相反受體結合的量至少大約20%、40%、60%、80%、85%或更多(藉著在活體外的競爭結合測定來測量)時，該抗體"實質上抑制了"配體與受體的黏附。

"製劑"一詞意指化學化合物、化學化合物的混合物、生物學大分子或從生物物質製造的萃取物。

"標記"或"標示"一詞意指可檢測標記的併入，例如藉著併入放射性標示的胺基酸，或使多肽附接生物素部分，其可藉著已經標記的抗生物素蛋白來檢測(例如鏈黴菌抗生物素蛋白，最好包括可檢測標記，像是螢光標記、化學發光標記或酵素活性，其可藉著適當的光學或比色法來檢測)。在某些具體實施例中，標記亦可以是治療性的。在此項技藝中已知各種標示多肽和糖蛋白的方法，並可有利地使用在本文中揭示的方法中。適合多肽之標記的實例，包括但不限於下列的：放射性同位素或放射性核素(例如^{3}H、^{14}C、^{15}N、^{35}S、^{90}Y、^{99m}Tc、^{111}In、^{125}I、^{131}I)、螢光標記(例如異硫氰酸螢光素(FITC)、若丹明或鑭系金屬磷光體(lanthanide phosphors))、酵素標記(例如辣根過氧化酶、β-半乳糖苷酶、蟲螢光素酶、鹼性磷酸酶)、化學發光標記、半抗原標記，像是生物素基化的基團，以及可被第二個受體認出之預定的多肽抗原決定位(例如亮胺酸拉鍊對序列

、二級抗體的結合位置、金屬結合功能部位、抗原決定位標籤)。在某些具體實施例中，藉著各種長度的間隔臂(像是$(CH_2)_n$，其中n<大約20)附接標記，減少可能的位阻。

"生物試物"一詞，包括但不限於任何含量之得自活物或以前是活物的物質。這類活物包括但不限於人類、老鼠、猴子、大鼠、兔子和其他動物。這類物質包括但不限於血液、血清、尿、細胞、器官、組織、骨骼、骨髓、淋巴、淋巴結、滑液膜組織、軟骨細胞、滑液膜巨噬細胞、內皮細胞、血管組織(特別是發炎的血管組織)和皮膚。"藥學製劑"和"藥物"一詞，意指當適當地投予患者時，能夠誘導想要之治療效果的化學化合物或組合物。

"實質上純的"和"實質上經過純化的"一詞意指為主要出現之物種的化合物或物種(即以莫耳為基礎，其在組合物中比任何其他個別物種更為豐富)。在某些具體實施例中，實質上經過純化的溶離份是組合物，其中該物種包括至少大約50%(以莫耳為基礎)的所有出現之大分子物種。在某些具體實施例中，實質上純的組合物將包括超過大約80%、85%、90%、95%或99%的所有出現在該組合物中之大分子物種。在某些具體實施例中，經過純化的物種基本上是均質的(藉著傳統的檢測方法，不能在組合物中檢測到污染物種)，其中該組合物基本上由單一的大分子物種所組成。

"患者者"一詞包括人類和動物個體。

除非前後文有不同的需要，單數名詞應包括複數，而複數名詞應包括單數的。

胺基酸

20個傳統的胺基酸及其縮寫，係依據傳統的用法。參見免疫學-合成(Immunology--A Synthesis，第2版，E.S. Golub和D.R. Gren編輯，Sinauer Associates：Sunderland, MA (1991)，為了任何目的，以引用的方式併入本文中。20個傳統胺基酸的立體異構物(例如D-胺基酸)，非天然的胺基酸，像是α-,α-二經取代之胺基酸、N-烷基胺基酸和其他非傳統的胺基酸，亦適合作為本發明之多肽的組份。非傳統胺基酸的實例包括：4-羥基脯胺酸、γ-羧基穀胺酸、ε-N,N,N-三甲基離胺酸、ε-N-乙醯基離胺酸、O-磷酸絲胺酸、N-乙醯基絲胺酸、N-甲醯基甲硫胺酸、3-甲基組胺酸、5-羥基離胺酸、σ-N-甲基精胺酸，及其他類似的胺基酸和亞胺基酸(例如4-羥基脯胺酸)。在本文中使用的多肽符號法中，左手方向為胺基終端的方向，而右手方向為羧基-終端的方向，係根據標準用法和習慣。

同樣的，除非另行指定，單股多核苷酸序列的左手端是5'端；並將雙股多核苷酸序列的左手端稱為5'方向。將5'至3'添加新生RNA轉錄本的方向稱為轉錄方向；將在具有與RNA轉錄本相同之序列的DNA股上，為5'至RNA轉錄本之5'端的序列區稱為"上游序列"；將在具有與RNA轉錄本相同之序列的DNA股上，為3'至RNA轉錄本之3'端的序列區稱為"下游序列"。

以共同的側鏈特性為基礎，可將天然存在的胺基酸殘基細分成數種：

1) 忌水性的：去甲亮胺酸(Nor或Nle)、Met、Ala、Val、Leu、Ile；

2) 中性親水性的：Cys、Ser、Thr、Asn、Gln；

3) 酸性的：Asp、Glu；

4) 鹼性的：His、Lys、Arg；

5) 殘基影響鏈方位的：Gly、Pro；以及

6) 芳香族的：Trp、Tyr、Phe。

保留性胺基酸置換可能涉及這些種類之一的成員與相同種類之其他成員的交換。保留性胺基酸置換可包括非-天然存在的胺基酸殘基，其通常是藉著化學肽合成作用，而非在生物系統中的合成作用併入。這些包括肽模仿物和胺基酸部分的其他顛倒或反轉形式。

非-保留性置換可能涉及這些種類之一的成員與得自其他種類之成員的交換。例如，可將這類經取代之殘基導入人類抗體中與非-人類抗體同種的區域內，或導入分子的非-同種區域內。

在進行這類改變時，根據某些具體實施例，可考量胺基酸的疏水指數。已經以其忌水性和電荷特徵為基礎，為每個胺基酸指派疏水指數。它們是：異亮胺酸(+4.5)；纈胺酸(+4.2)；亮胺酸(+3.8)；苯丙胺酸(+2.8)；半胱胺酸/胱胺酸(+2.5)；甲硫胺酸(+1.9)；丙胺酸(+1.8)；甘胺酸(-0.4)；蘇胺酸(-0.7)；絲胺酸(-0.8)；色胺酸(-0.9)；酪胺酸(-1.3)；脯胺酸(-1.6)；組胺酸(-3.2)；穀胺酸(-3.5)；穀胺醯胺(-3.5)；天冬胺酸(-3.5)；天冬醯胺(-3.5)；離胺酸(-3.9)和精胺酸

(-4.5)。

在此項技藝中，明瞭疏水胺基酸指數對於在蛋白質上賦予交互作用生物功能的重要性(參見，例如Kyte等人，1982, J. Mol. Biol. 157：105-131)。已知某些胺基酸可被其他具有類似疏水指數或分數的胺基酸取代，但仍保留類似的生物活性。在以疏水指數為基礎進行改變時，在某些具體實施例中，包括其疏水指數在±2內的胺基酸取代。在某些具體實施例中，包括在±1內的那些，而在某些具體實施例中，包括在±0.5內的那些。

在此項技藝中亦了解可以親水性為基礎，有效地進行類似胺基酸的取代，特別是在企圖藉此創造出具有生物功能的蛋白質或肽之處，以便用在本文中揭示之免疫學的具體實施例中。在某些具體實施例中，藉著其相鄰胺基酸支配的蛋白質之最大局部平均親水性，與其免疫原性和抗原性有關，即與該蛋白質的生物學特性有關。

已經對這些胺基酸殘基指派了下列的親水性值：精胺酸(+3.0)；離胺酸(+3.0)；天冬胺酸(+3.0±1)；穀胺酸(+3.0±1)；絲胺酸(+0.3)；天冬醯胺(+0.2)；穀胺醯胺(+0.2)；甘胺酸(0)；蘇胺酸(-0.4)；脯胺酸(-0.5±1)；丙胺酸(-0.5)；組胺酸(-0.5)；半胱胺酸(-1.0)；甲硫胺酸(-1.3)；纈胺酸(-1.5)；亮胺酸(-1.8)；異亮胺酸(-1.8)；酪胺酸(-2.3)；苯丙胺酸(-2.5)和色胺酸(-3.4)。在以類似之親水性質為基礎進行改變時，在某些具體實施例中，包括其親水性值在±2內的胺基酸取代，在某些具體實施例中，包括在±1內的那些，而

在某些具體實施例中，包括在±0.5內的那些。以親水性為基礎，亦可確認得自原始胺基酸序列的抗原決定位。這些區域亦稱為"抗原決定位核心區"。

在表1中列舉代表性的胺基酸取代。

表1

胺基酸取代

最初的殘基	代表性的取代作用	較佳的取代作用
Ala	Val，Leu，Ile	Val
Arg	Lys，Gln，Asn	Lys
Asn	Gln	Gln
Asp	Glu	Glu
Cys	Ser，Ala	Ser
Gln	Asn	Asn
Glu	Asp	Asp
Gly	Pro，Ala	Ala
His	Asn，Gln，Lys，Arg	Arg
Ile	Leu，Val，Met，Ala，Phe，去甲亮胺酸	Leu
Leu	去甲亮胺酸，Ile，Val，Met，Ala，Phe	Ile
Lys	Arg，1,4-二胺基-丁酸，Gln，Asn	Arg
Met	Leu，Phe，Ile	Leu
Phe	Leu，Val，Ile，Ala，Tyr	Leu
Pro	Ala	Gly
Ser	Thr，Ala，Cys	Thr
Thr	Ser	Ser
Trp	Tyr，Phe	Tyr
Tyr	Trp，Phe，Thr，Ser	Phe
Val	Ile，Met，Leu，Phe，Ala，去甲亮胺酸	Leu

熟諳此藝者將能夠使用已熟知的技術，判定在本文中陳述之多肽的適當變體。在某些具體實施例中，熟諳此藝者可藉著瞄準不相信對活性是很重要的區域，來確認分子中可改變，但不破壞活性的適當區域。在其他的具體實施例中，熟諳此藝者可確認在類似多肽中保留的殘基和部分。在更進一步的具體實施例中，即使該區域對生物活性或對結構可能是很重要的，亦可接受保留性胺基酸置換，而不破壞生物活性，或對多肽結構沒有不利的影響。

此外，熟諳此藝者可回顧結構-功能研究，確認在類似多肽中對於活性或結構很重要的殘基。在這類比較的回顧中，熟諳此藝者可預測在蛋白質中，與在類似蛋白質中對活性或結構很重要的胺基酸殘基一致之胺基酸殘基的重要性。熟諳此藝者可為這類預測很重要的胺基酸殘基，選擇在化學上類似的胺基酸取代。

熟諳此藝者亦可相對於在類似多肽中的結構，分析三維結構和胺基酸序列。在這類資訊的回顧中，熟諳此藝者可預測抗體的胺基酸殘基，對於其三維結構的排列。在某些具體實施例中，熟諳此藝者可選擇不造成預測是在蛋白質表面上之胺基酸殘基的徹底改變，因為這類殘基可能涉及與其他分子重要的交互作用。況且，熟諳此藝者可產製在每個想要的胺基酸殘基處，含有單一胺基酸取代的測試變體。然後可使用熟諳此藝者已知的活性測定，來篩選變體。可使用這類變體來收集有關於適當變體的資訊。例如，若發現改變特定的胺基酸殘基，結果產生受到破壞、不想

要地降低或不適當的活性，則可避免具有這類改變的變體。換句話說，以從這類例行實驗中收集到的資訊為基礎，熟諳此藝者可迅速地判定應避免單獨或與其他突變一起進一步取代的胺基酸。

許多科學出版物已經致力於二級結構的預測。參見Moult, 1996, Curr. Op. in Biotech. 7：422-427；Chou等人，1974, Biochemistry 13：222-245；Chou等人，1974, Biochemistry 113：211-222；Chou等人，1978, Adv. Enzymol. Relat. Areas Mol. Biol. 47：45-148；Chou等人，1979, Ann. Rev. Biochem. 47：251-276；以及Chou等人，1979, Biophys. J. 26：367-384。況且，目前可利用電腦程式協助預測二級結構。一種預測二級結構的方法是以同種性塑型為基礎。例如，兩個具有超過30%之序列同一性，或超過40%類似性的多肽或蛋白質，通常具有類似的結構拓樸學。蛋白質結構資料庫(PDB)最近的成長，已經提供二級結構增強的可預測性，包括在多肽或蛋白質之結構內可能的折疊次數。參見Holm等人，1999, Nucl. Acid. Res. 27：244-247。已經暗示(Brenner等人，1997, Curr. Op. Struct. Biol. 7：369-376)在約定的多肽或蛋白質中，有限制次數的折疊，且一旦已經決定結構的臨界數目，結構的預測將戲劇化地變得更精確。

預測二級結構的其他方法，包括"穿線(threading)"(Jones, 1997, Curr. Opin. Struct. Biol. 7：377-87；Sippl等人，1996, Structure 4：15-19)、"輪廓分析"(Bowie等人，1991, Science 253：164-170；Gribskov等人，1990, Meth. Enzym. 183：

146-159；Gribskov等人，1987, Proc. Nat. Acad. Sci. 84：4355-4358)，以及"進化連鎖"(evolutionary linkage)"(參見Holm, 1999，在前；以及Brenner, 1997，在前)。

在某些具體實施例中，抗體變體包括糖基化作用變體，其中與親代多肽的胺基酸序列相比較，已經改變了糖基化作用的數目及/或類型。在某些具體實施例中，蛋白質變體包括比天然蛋白質更多或更少數目的N-連接之糖基化作用位置。N-連接之糖基化作用位置的特徵在於序列：Asn-X-Ser或Asn-X-Thr，其中命名為X之胺基酸殘基，可以是脯胺酸以外的任何胺基酸殘基。創造該序列的胺基酸殘基之取代作用，提供了可能加入N-連接之碳水化合物鏈的新位置。或者，排除該序列的取代作用，將移除現存的N-連接之碳水化合物鏈。亦提供N-連接之碳水化合物鏈的重排，其中排除一或多個N-連接之糖基化作用位置(通常是天然存在的那些)，並創造一或多個新的N-連接位置。其他較佳的抗體變體包括半胱胺酸變體，其中與親代的胺基酸序列相比較，從中刪除一或多個半胱胺酸殘基，或以其他胺基酸(例如絲胺酸)取代。在必須將抗體再折疊成具有生物活性之構形時，像是在分離不可溶的包涵體之後，半胱胺酸變體可能是有用的。半胱胺酸變體通常具有比天然蛋白質更少的半胱胺酸殘基，且通常具有偶數，以便使起因於不成對半胱胺酸的交互作用減至最少。

根據某些具體實施例，胺基酸取代是下列的那些：(1)降低對蛋白水解作用的感受性，(2)降低對氧化作用的感受性

，(3)改變所形成之蛋白質複合體的結合親和力，(4)改變結合親和力，及/或(5)在這類多肽上賦予或修改其他的物化或功能特性。根據某些具體實施例，可在天然存在的序列中(在某些具體實施例中，在功能部位(們)之外的多肽部分，形成分子間的接觸)，進行單一或多數的胺基酸取代(在某些具體實施例中，保留性胺基酸置換)。在較佳的具體實施例中，保留性胺基酸置換通常不會實質上改變親代序列的結構特徵(例如，置換胺基酸應該沒有破壞出現在親代序列中之螺旋的傾向，或瓦解親代序列特有之其他類型的二級結構)。在蛋白質，結構和分子原理(Proteins, Structures and Molecular Principles)，(Creighton編輯)，1984, W.H. Freeman and Company, New York；蛋白質結構介紹(Introduction to Protein Structure)(C. Branden和J. Tooze，編輯)，1991, Garland Publishing, New York, N.Y.；以及Thornton等人(1991), Nature 354：105中描述了技藝-認可之多肽二級和三級結構的實例，分別以引用的方式併入本文中。

抗體的製備

天然存在的抗體結構單位通常包括四聚體。每個這類的四聚體通常由兩對相同的多肽鏈組成，每對具有一個全長的"輕"鏈(通常具有大約25 kDa之分子量)，和一個全長的"重"鏈(通常具有大約50-70 kDa之分子量)。每個鏈的胺基終端部分通常包括大約100至110或更多胺基酸的可變區，通常負責抗原的認知。通常每個鏈的羧基-終端部分限定負責效應物功能的恆定區。通常將人類輕鏈分類為κ和λ輕鏈。

通常將重鏈分類為μ、δ、γ、α或ε，並將抗體同型物分別定義為IgM、IgD、IgG、IgA和IgE。IgG有數個亞類，包括但不限於IgG1、IgG2、IgG3和IgG4。IgM亦有亞類，包括但不限於IgM1和IgM2。以類似方式將IgA細分成亞類，包括但不限於IgA1和IgA2。通常在全長的輕和重鏈中，具有大約12或更多個胺基酸的"J"區域與可變區和恆定區連接，而重鏈亦包括具有大約10個以上胺基酸的"D"區域。參見，例如Fundamental Immunology，第7章，第2版(Paul編輯)，1989, Raven Press, N.Y.(為了所有目的，全部以引用的方式併入本文中)。每對輕鏈/重鏈之可變區的組合，通常形成抗原-結合位置。

每個重鏈和輕鏈的可變區，通常顯露出相同的一般結構，包括四個相對上較保留的架構區(FR)，藉著三個高變區連接，亦稱為互補性決定區或CDRs。得自每一對兩個鏈的CDRs通常沿著架構區排列，該排列能夠與專一的抗原決定位結合。從N-終端至C-終端，輕和重鏈兩者的可變區通常包括功能部位FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3和FR4。每個功能部位的胺基酸分派，通常根據Kabat Sequences of Proteins of Immunological Interest (1987和1991, National Institutes of Health, Bethesda, Md.), Chothia & Lesk, 1987, J. Mol. Biol. 196: 901-917，或Chothia等人，1989, Nature 342：878-883)的定義。

單株抗體的發展，使抗體成為有用的，並為感興趣的藥學製劑。使用任何藉著培養連續的細胞株產製抗體分子的

方法，來產製單株抗體。適合用來製備單株抗體之方法的實例，包括Kohler等人的融合瘤方法(1975, Nature 256：495-497)和人類B-細胞融合瘤方法(Kozbor, 1984, J. Immunol. 133：3001；以及Brodeur等人，1987, Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications, (Marcel Dekker, Inc., New York)，第51-63頁)。

為了用來做為治療劑，可修改單株抗體。一個實例是"嵌合型"抗體，其中重鏈及/或輕鏈的部分，與衍生自特定物種中之抗體的相對應序列，或屬於特定抗體種類或亞類是相同的或同種的，而剩下的鏈(們)與衍生自其他物種之抗體的相對應序列，或屬於其他抗體種類或亞種是相同的或同種的。其他的實例是這類抗體的片段，只要它們顯示出想要的生物活性即可。參見，美國專利第4,816,567號；以及Morrison等人(1985)，Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81：6851-6855。相關的發展是"CDR-移植的"抗體，其中抗體包括一或多個得自特定物種，或屬於特定抗體種類或亞類的互補性決定區(CDRs)，而剩下的抗體鏈(們)與衍生自其他物種之抗體中相對應的序列，或屬於其他抗體種類或亞類是相同或同種的。

其他的發展是"人類化的"抗體。使非-人類抗體人類化的方法是此項技藝中已熟知的。(參見美國專利第5,585,089號和5,693,762號)。通常，人類化的抗體是由非-人類動物產生的，然後修改某些胺基酸序列，通常得自抗體之非-抗原認知部分，使其與在相對應同型物之人類抗體中的該殘

基是同種的。可使用例如在此項技藝中描述的方法(Jones等人，1986, Nature 321：522-525；Riechmann等人，1988, Nature 332：323-327；Verhoeyen等人，1988, Science 239：1534-1536)，藉著以人類抗體之相對應區域至少取代一部分的嚙齒類可變區，完成人類化作用。

最近，更有前途的是不必使抗原接觸人類，發展出的人類抗體("完全的人類抗體")。使用基因轉殖的動物(例如老鼠)，其能夠在缺乏內源的老鼠免疫球蛋白產製之下，產製人類抗體的節目，藉著以抗原(通常具有至少6個相鄰的胺基酸)免疫，產生這類抗體，可視需要與載體共軛。參見，例如Jakobovits等人，1993, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90：2551-2555；Jakobovits等人，1993, Nature 362：255-258；以及Bruggermann等人，1993, Year in Immunol. 7：33。在這些方法的一個實例中，其中藉著使內源的老鼠免疫球蛋白位點不能編碼老鼠重和輕免疫球蛋白鏈，並將編碼人類重和輕鏈蛋白質的位點插入其基因組內，來產製基因轉殖動物。使部分經過修改，具有少於所有互補修改的動物雜交，獲得具有所有想要之免疫系統修改的動物。當投予免疫原時，這些基因轉殖的動物產生對這些抗原為免疫專一性的抗體，其具有人類(而非老鼠)的胺基酸序列，包括可變區。參見PCT出版物第WO 96/33735號和WO 94/02602號，以引用的方式併入本文中。在美國專利第5,545,807號、PCT出版物第WO 91/10741號、WO 90/04036號和歐洲專利第546073B1和歐洲專利第546073A1號中描述了其他方

法，以引用的方式併入本文中。亦可藉著在宿主細胞中表現重組DNA，或藉著在本文中描述之融合瘤細胞中表現，來產製人類抗體。

亦可從噬菌體-展示庫中產製完整的人類抗體(如同在Hoogenboom等人，1991, J. Mol. Biol. 227：381；和Marks等人，1991, J. Mol. Biol. 222：581中揭示的)。這些製程經由在絲狀噬菌體表面上展示抗體節目，來模仿免疫選擇，接著藉其與所選出之抗原的結合，來選擇噬菌體。在PCT出版物第WO 99/10494號中描述了一個這類實例，以引用的方式併入本文中，其描述使用這類方法，分離對MPL-和msk-受體具有高親和力並為功能激動劑的抗體。

一旦已經判定編碼這類抗體的核苷酸序列，亦可藉著重組方法，產製嵌合型、CDR-移植、人類化和完整的人類抗體。將編碼抗體的核酸導入宿主細胞內，並使用此項技藝中普遍已知的材料和程序表現。

本發明提供一或多個對抗人類IL-1R1的完整人類單株抗體。該抗體最好與IL-1R1的第三個功能部位結合。在較佳的具體實施例中，本發明提供編碼重和輕鏈免疫球蛋白分子，特別是相當於其可變區之序列的核苷酸序列，以及包括其之胺基酸序列。在較佳的具體實施例中，提供與互補性決定區(CDR's)一致的序列，特別是從CDR1至CDR3。在其他較佳的具體實施例中，本發明提供表現這類免疫球蛋白分子的融合瘤細胞株，以及從其中產製的單株抗體，最佳的是對抗人類IL-1R1之經過純化的人類單株抗體。

在酵母菌人造染色體(YACs)中選殖和重建百萬鹼基-尺寸之人類位點，以及將其導入老鼠生殖種系內的能力，提供了闡明極大或天然作圖位點之功能組份的有利方法，並產生人類疾病的有用模式。此外，使用這類以其人類相等物取代老鼠位點的技術，提供了在發育期間人類基因產物的表現和調節，其與其他系統的通訊，以及其在疾病誘導和進行上之涉入的獨特洞察力。

這類策略一個重要的實際應用，是老鼠體液免疫系統的"人類化作用"。將人類免疫球蛋白(Ig)位點導入其中已經使內源Ig基因失活的老鼠中，提供研究隱藏在程式化表現和抗體組合之下的機制，以及其在B-細胞發育中之角色的機會。此外，這類策略提供產製完整人類單株抗體(MAbs)的來源，特別是用來作為治療劑。預期完整的人類抗體將老鼠固有的，或衍生自老鼠之Mabs的免疫原和過敏反應減至最少，並藉此在治療應用中，增加投予抗體的效力和安全性。可使用完整的人類抗體來治療慢性和再發的人類疾病，像是骨關節炎、風濕性關節炎，以及其他炎症性病況，該治療需要重複的抗體投予。

熟諳此藝者可設計在老鼠抗體產製上有缺陷，並帶有人類Ig位點之大片段的老鼠品系，使這類老鼠得以在缺乏老鼠抗體之下，產生人類抗體。大的人類Ig片段可保存大的可變基因歧異性，並適當地調節抗體產製和表現。藉著利用老鼠機器的抗體多樣化和選擇，以及缺乏對人類蛋白質的免疫耐受性，在這些老鼠品系中再現的人類抗體節目，

產生對抗任何感興趣之抗原，包括人類抗原的高親和力抗體。使用融合瘤技術，可產製並選擇具有想要專一性的抗原-專一性之人類MAbs。

在某些具體實施例中，熟諳此藝者可在這類老鼠中使用得自人類以外之物種的恆定區，連同人類的可變區(們)，產生嵌合型抗體。可藉著以全長IL-1R1、IL-1R1之可溶形式，或其片段免疫這類動物，產生本發明之抗體。(參見，例如國際專利申請案出版物WO 93/12227)。

可將本發明之抗-IL-1R1抗體的輕和重鏈可變區之CDRs移植到得自相同或其他物種的架構區(FRs)中。在某些具體實施例中，可將抗-IL-1R1抗體的輕和重鏈可變區之CDRs移植到一致的人類FRs中。欲創造一致的人類FRs，將得自數個人類重鏈或輕鏈胺基酸序列的FRs排成一直線，確認一致的胺基酸序列。可以得自不同重鏈或輕鏈的FRs置換抗-IL-1R1抗體重鏈或輕鏈的FRs。通常不置換在抗-IL-1R1抗體重和輕鏈之FRs中的罕見胺基酸，而可置換剩下的FR胺基酸。罕見胺基酸是獨特的胺基酸，其位在通常不會在FRs中找到它們的位置。得自本發明之抗-IL-1R1抗體的移植可變區，可與不同於抗-IL-1R1抗體之恆定區的恆定區一起使用。或者，移植的可變區是部份的單鏈Fv抗體。在例如美國專利第6,180,370號、5,693,762號、5,693,761號、5,585,089號和5,530,101號中描述了CDR移植，為了任何目的，以引用的方式併入本文中。

最好使用基因轉殖的老鼠，來製備本發明的抗體，其具

有插入老鼠產生抗體之細胞內的大部分人類抗體-產生位點，並可進一步將其設計成在產製內源之老鼠抗體上是有缺陷的。這類老鼠能夠產生人類免疫球蛋白分子和抗體，但不產生或產生實質上降低含量的老鼠免疫球蛋白分子和抗體。在本說明書中揭示的專利、申請案和參考文獻中，揭示了用以達到該結果的技術。在較佳的具體實施例中，熟練的工作者可使用在國際專利申請案出版物第WO 98/24893號中揭示的方法，為了任何目的，以引用的方式併入本文中。亦參見Mendez等人，1997, Nature Genetics 15：146-156，為了任何目的，以引用的方式併入本文中。

可藉著各種技術產製本發明之單株抗體(MAbs)，包括傳統的單株抗體方法學，例如Kohler和Milstein, 1975, Nature 256：495的標準體細胞融合技術。雖然原則上體細胞融合程序是較佳的，但亦可使用產製單株抗體的其他技術，例如B-淋巴細胞的病毒或致癌基因轉化作用。

在較佳的具體實施例中，可使用稱為"HuMab"老鼠，含有人類免疫球蛋白基因迷你位點的老鼠，其編碼未重排的人類重(μ和γ)和κ輕鏈免疫球蛋白序列，連同使內源之μ和κ鏈位點失活的瞄準突變一起，產製對抗IL-1R1之人類單株抗體。Lonberg等人，1994, Nature 368：856-859。因此，老鼠顯示出老鼠IgM或κ的降低表現，並對免疫作用產生反應，被導入的人類重和輕鏈轉殖基因經歷種類轉變和體細胞突變，產生高親和力的人類IgG κ單株抗體。Lonberg等人，在前；Lonberg和Huszar, 1995, Intern. Rev. Immunol. 13

：65-93；Harding和Lonberg, 1995, Ann. N.Y. Acad. Sci. 764：536-546。在Taylor等人，1992, Nucleic Acids Res. 20：6287-6295；Chen等人，1993, International Immunology 5：647-656；Tuaillon等人，1994, J. Immunol. 152：2912-2920；Lonberg等人，1994, Nature 368：856-859；Lonberg等人，1994, Handbook of Exp. Pharmacology 113：49-101；Taylor等人，1994, International Immunology 6：579-591；Lonberg & Huszar, 1995, Intern. Rev. Immunol. 13：65-93；Harding & Lonberg, 1995, Ann. N.Y. Acad. Sci 764：536-546；Fishwild等人，1996, Nature Biotechnology 14：845-851中詳細地描述了HuMab老鼠的製備，將所有內容全部以引用的方式併入本文中。進一步參見美國專利第5,545,806號；5,569,825號；5,625,126號；5,633,425號；5,789,650號；5,877,397號；5,661,016號；5,814,318號；5,874,299號和5,770,429號；均為Lonberg和Kay的，以及Surani等人的美國專利第5,545,807號；1993年6月24日發表的國際專利申請案出版物第WO 93/1227號；1992年12月23日發表的WO 92/22646號；以及1992年3月19號發表的WO 92/03918，將所有揭示內容全部以引用的方式併入本文中。或者，可使用在下文實例中描述的HCo7和HCo12基因轉殖老鼠品系，產生人類抗-IL-1R1抗體。

有利地如下產製對IL-1R1專一的完整人類單株抗體。以與IL-1R1有關的感興趣抗原，免疫含有人類免疫球蛋白基因的基因轉殖老鼠。從老鼠中獲得表現抗體的淋巴細胞(像

是B-細胞)。將這類回收的細胞與骨髓-類型的細胞株融合，製備永存不死的融合瘤細胞株，篩選和選擇這類融合瘤細胞株，確認產生對感興趣抗原專一之抗體的融合細胞株，在某些具體實施例中，提供產生對IL-1R1專一之抗體的融合瘤細胞株之產製。

在較佳的具體實施例中，藉著融合瘤細胞株產生本發明之抗體。在這些具體實施例中，本發明之抗體以在大約4 pM到100 pM之間的解離常數(K_d)與IL-1R1結合。在本發明的某些具體實施例中，抗體以低於大約20 pM的K_d與IL-1R1結合。在其他的具體實施例中，本發明之抗體與IL-1R1之第三個功能部位結合。在圖17中出示人類和大鼠IL-1R1之第三個功能部位的核苷酸和胺基酸序列。

在較佳的具體實施例中，本發明之抗體為IgG1、IgG2或IgG4同型物，最佳的是IgG2同型物。在本發明較佳的具體實施例中，抗體包括人類κ輕鏈和人類IgG1、IgG2或IgG4重鏈。在特定的具體實施例中，抗體的可變區與IgG1、IgG2或IgG4同型物之恆定區以外的恆定區連接。在某些具體實施例中，已經選殖本發明之抗體，在哺乳動物細胞中表現。

在某些具體實施例中，抗-IL-1R1抗體之重和輕鏈的保留性胺基酸置換(以及編碼核苷酸的相對應修改)，將產生具有與抗-IL-1R1抗體的那些類似之功能和化學特徵的抗-IL-1R1抗體。相反的，可藉著選擇在重和輕鏈之胺基酸序列中的取代作用，完成在抗-IL-1R1抗體之功能及/或化學特性上的實質修改，該修改對於其維持(a)在取代處之分子主

鏈的結構，例如薄片或螺旋構形，(b)在標靶位置的電荷或忌水性，或(c)大部分側鏈的效力，有明顯的差異。

例如，"保留性胺基酸置換"可能涉及以非天然之殘基取代天然的胺基酸殘基，而使得對在該位置之胺基酸殘基的極性或電荷有些微或沒有影響。此外，亦可利用丙胺酸取代在多肽中的任何天然殘基，如同先前已經就"丙胺酸掃描突變生成"說明的(Wells, 1991, Methods Enzymol. 202：390(編輯J.J. Langone), Academic Press, London)。

在想要這類取代時，可由熟諳此藝者判定想要的胺基酸取代(無論是保留性的或非-保留性的)。在某些具體實施例中，可使用胺基酸取代來判定抗-IL-1R1抗體的重要殘基，或增加或降低在本文中描述之抗-IL-1R1抗體的親和力。

在替代具體實施例中，可在融合瘤細胞株以外的細胞株中表現本發明之抗體。在這些具體實施例中，可使用編碼特定抗體的序列，轉化適當的哺乳動物宿主細胞。根據這些具體實施例，可使用任何將多核苷酸導入宿主細胞內的已知方法，完成轉化作用，包括例如在病毒內包裝多核苷酸(或在病毒載體內)，並以該病毒(或載體)轉導宿主細胞，或藉著此項技藝中已知的轉移感染程序。由美國專利第4,399,216號、4,912,040號、4,740,461號和4,959,455號舉例說明這類程序(為了任何目的，全部以引用的方式併入本文中)。通常所使用的轉化程序，可視欲轉化的宿主而定。將異種多核苷酸導入哺乳動物細胞內的方法，是此項技藝中已熟知的，並包括但不限於葡聚糖-媒介之轉移感染、磷酸

鈣沉澱作用、聚凝胺(polybrene)媒介之轉移感染、原生質體融合、電穿透作用、多核苷酸(們)包膠在微脂粒中，以及直接將DNA顯微注射到核內。

根據本發明方法的某些具體實施例，使用標準連接方法，將編碼本發明之IL-1R1抗體的重鏈恆定區、重鏈可變區、輕鏈恆定區或輕鏈可變區之胺基酸序列的核酸分子，插入適當的表現載體內。在較佳的具體實施例中，將IL-1R1重或輕鏈恆定區附加在適當可變區的C-終端，並連接到表現載體內。通常選擇在所使用之特定宿主細胞中具有功能的載體(即該載體是可與宿主細胞機器相容的，像是可發生基因的擴大作用及/或基因的表現)。關於表現載體的回顧，參見Goeddel(編輯)，1990, Meth. Enzymol.第185冊，Academic Press. N.Y.。

通常，在任何宿主細胞中使用的表現載體將含有質體維持，以及選殖和表現外源核苷酸序列的序列。將這類序列集體地稱為"側面序列"，在某些具體實施例中，通常將含有一或多個下列的核苷酸序列：啟動基因、一或多個促進子序列、複製起點、轉錄終止序列、含有捐贈者和接受者接合位置的完整插入序列、編碼多肽分泌之前導序列的序列、核糖體結合位置、聚腺苷酸化作用位置、插入編碼欲表現之多肽的核酸的多交聯劑區，以及可選擇標記元件。在下文中分別討論這些序列。

載體可視需要含有編碼"標籤"的序列，即位在IL-1R1多肽密碼序列之5'或3'端的寡核苷酸分子；編碼多His(像是六

His)的寡核苷酸序列，或其他"標籤"，像是FLAG、HA(血球凝集素流行性感冒病毒)或myc，對其有市售的抗體存在。通常將該標籤與多肽融合，當表現多肽時，便可用來進行親和力純化，或檢測來自宿主細胞的IL-1R1抗體。例如，可藉著管柱層析法，使用對抗該標籤的抗體作為親和力基質，完成親和力層析法。接著，可視需要藉著各種方法，像是使用某些肽酶切開，從經過純化的IL-1R1多肽中移除標籤。

側面序列可以是同種的(即得自與宿主細胞相同的物種及/或品系)、異種的(即得自與宿主細胞物種或品系不同的物種)、雜種的(即得自一種以上來源之側面序列的組合)、合成的或天然的。側面序列本身的來源，可以是任何原核或真核生物、任何脊椎動物或無脊椎動物，或任何植物，其限制條件為該側面序列在宿主細胞中是有功能的，並可被宿主細胞機器激活。

可藉著在任何此項技藝中已熟知的數種方法，獲得在本發明之載體中有用的側面序列。通常，先前已經藉著作圖及/或藉著核酸內切限制酶消化，確認在本文中有用的側面序列，並因此可使用適當的核酸內切限制酶，從適當的組織來源中分離。在一些案例中，側面序列的完整核苷酸序列可能是已知的。在此處，可使用在本文中針對核酸合成或選擇所描述的方法，合成側面序列。

在全部或僅有部分側面序列是已知的地方，可使用聚合酶連鎖反應(PCR)及/或藉著以適當的探針，像是得自相同

或其他物種之寡核苷酸及/或側面序列片段來篩選基因組庫而獲得。在不知道側面序列之處，可從較大的DNA中分離含有側面序列的DNA片段，其可能含有例如密碼序列，或甚至有其他的基因或基因們。可藉著核酸內切限制酶消化完成分離，產生適當的DNA片段，接著使用瓊脂糖凝膠純化、Qiagen®管柱層析法(Chatsworth, CA)，或其他熟諳此藝者已知的方法分離。熟諳此藝者將迅速地了解選擇適當的酵素，以便達成該目的。

複製起點通常是那些市售之原核生物表現載體的一部分，而該起點有助於載體在宿主細胞中的擴大作用。若所選用的載體不含複製起點位置，則可以已知的序列為基礎，以化學方式合成，並連接到載體內。例如，得自pBR322的複製起點(New England Biolabs, Beverly, MA)適合大多數的革蘭氏陰性細菌，而各種病毒起點(例如SV40、多瘤病毒、腺病毒、水疱性口炎病毒(VSV)或乳頭狀瘤病毒，像是HPV或BPV)則用來在哺乳動物細胞中選殖載體。一般而言，哺乳動物表現載體不需要複製起點組份(例如通常只使用SV40起點，因為其亦含有病毒早期啟動基因)。

轉錄終止序列通常位在3'至多肽密碼區的末端，並擔任終止轉錄之職務。在原核生物細胞中之轉錄終止序列通常是富含G-C的片段接著是聚-T序列。雖然該序列容易從庫中選殖，或甚至可以載體的一部分購買，但其亦可使用核酸合成的方法輕易地合成。

可選擇標記基因編碼生長在選擇性培養基中之宿主細胞

存活和生長所需的蛋白質。代表性的選擇標記基因編碼(a)賦予原核生物宿主細胞對抗生素或其他毒素，例如氨苄青黴素、四環素或康黴素之抵抗力；(b)補充細胞之營養缺陷；或(c)供應無法獲自複合物或限定培養基之重要營養的蛋白質。較佳的可選擇標記是康黴素抗藥性基因、氨苄青黴素抗藥性基因和四環素抗藥性基因。在原核生物和真核生物兩者的宿主細胞中，亦可使用新黴素抗藥性基因來選擇。

可使用其他的可選擇標記來擴大將要表現的基因。擴大是其中在重組細胞之連續世代的染色體內，通常重複地以縱列排列基因的過程，該基因是產製對生長或細胞存活很重要之蛋白質極為需要的。適合哺乳動物細胞之可選擇標記的實例包括二氫葉酸還原酶(DHFR)和無啟動基因之胸腺核苷激酶。將哺乳動物細胞轉化物放在選擇壓力之下，其中只有憑藉著出現在載體中之可選擇基因的轉化物適應而得以存活。藉著將經過轉化的細胞培養在某種條件下，其中連續增加在培養基中之選擇劑的濃度，強加上選擇壓力，藉此導致可選擇基因和編碼其他基因，像是載體所包括之IL-1R1多肽的DNA兩者的擴大。結果，從經過擴大之DNA中合成增加含量的多肽，像是IL-1R1多肽。

核糖體-結合位置經常是mRNA之轉譯開始所必須的，且其特徵在於Shine-Dalgarno序列(原核生物)或Kozak序列(真核生物)。該元件通常位在啟動基因的3'和欲表現之多肽密碼序列的5'。

在一些案例中，像是在真核生物宿主細胞表現系統中想

要糖基化作用之處，可操縱各種前(pre)-或初(pro)序列，來改善糖基化作用或產生。例如，可改變特定信號肽的肽酶切開位置，或加上初-序列，其亦可影響糖基化作用。最終的蛋白質產物可能在-1位置(相對於成熟蛋白質的第一個胺基酸)處，有一或多個額外胺基酸的附帶表現，其可能尚未完全移除。例如，最終的蛋白質產物可能有一或兩個在肽酶切開位置找到的胺基酸殘基，附接在胺基-終端。或者，使用某些酵素切開位置，若該酵素在成熟多肽的這類地方切開，則結果可能產生想要多肽稍微截短的形式。

本發明之表現和選殖載體通常將含有可被宿主生物認出的啟動基因，並以可操作之方式與編碼抗-IL-1R1抗體的分子連接。啟動基因是未經轉錄的序列，位在結構基因之起始密碼子的上游(即5'端)(通常在大約100到1000個鹼基對之內)，其控制結構基因的轉錄。在傳統上將啟動基因分成兩類：可誘導的啟動基因和組成的啟動基因。可誘導的啟動基因反應在培養條件中的某些改變，像是營養的存在或缺乏，或溫度的改變，開始在其控制之下增加從DNA中轉錄的程度。反過來說，組成的啟動基因開始連續的基因產物產製；即對基因表現有極少或沒有控制。可由各種可能的宿主細胞認出的大量啟動基因，是已為人所熟知的。藉著從來源DNA中，藉著限制酵素消化移出啟動基因，並將想要的啟動基因序列插入載體內，以可操作之方式將適當的啟動基因與編碼本發明之抗-IL-1R1抗體所包括之重鏈或輕鏈的DNA連接。

適用於酵母菌宿主的啟動基因亦為此項技藝中已熟知的。使酵母菌促進子有利地與酵母菌啟動基因一起使用。適合哺乳動物宿主細胞使用的啟動基因是已熟知的，並包括但不限於獲自病毒基因組的那些，像是多瘤病毒、禽痘病毒、腺病毒(像是腺病毒第2型)、牛乳頭狀瘤病毒、禽肉瘤病毒、細胞巨大病毒、逆轉錄病毒、B型肝炎病毒，而最佳的是猿病毒40 (SV40)。其他適當的哺乳動物啟動基因，包括異種的哺乳動物啟動基因，例如熱休克啟動基因和肌動蛋白啟動基因。

可能感興趣的其他啟動基因，包括但不限於：SV40早期啟動基因區(Bernoist和Chambon, 1981, Nature 290：304-10)；CMV啟動基因；在勞氏肉瘤病毒之3'長端重複段所含有的啟動基因(Yamamoto等人，1980, Cell 22：787-97)；疱疹胸腺核苷激酶啟動基因(Wagner等人，1981, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 78：1444-45)；金屬硫肽基因的調節序列(Brinster等人，1982, Nature 296：39-42)；原核生物的表現載體，像是β-內醯胺酶啟動基因(Villa-Kamaroff等人，1978, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 75：3727-31)；或tac啟動基因(DeBoer等人，1983, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 80：21-25)。亦感興趣的是下列動物的轉錄控制區，其顯示出組織專一性，並已經用在基因轉殖之動物中：彈性蛋白酶I基因控制區，其在胰臟腺泡細胞中是有活性的(Swift等人，1984, Cell 38：639-46；Ornitz等人，1986, Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 50：399-409 (1986)；MacDonald, 1987,

Hepatology 7：425-515)；胰島素基因控制區，其在胰臟β細胞中是有活性的(Hanahan, 1985, Nature 315：115-22)；免疫球蛋白基因控制區，其在淋巴細胞中是有活性的(Grosschedl等人，1984, Cell 38：647-58；Adames等人，1985, Nature 318：533-38；Alexander等人，1987, Mol. Cell. Biol. 7：1436-44)；老鼠乳房腫瘤病毒控制區，其在睪丸、乳房、淋巴和肥大細胞中是有活性的(Leder等人，1986, Cell 45：485-95)；白蛋白基因控制區，其在肝臟中是有活性的(Pinkert等人，1987, Genes and Devel. 1：268-76)；α-胎兒-蛋白質基因控制區，其在肝臟中是有活性的(Krumlauf等人，1985, Mol. Cell. Biol. 5：1639-48；Hammer等人，1987, Science 235：53-58)；α1-抗胰蛋白酶基因控制區，其在肝臟中是有活性的(Kelsey等人，1987, Genes and Devel. 1：161-71)；β-血球蛋白基因控制區，其在骨髓細胞中是有活性的(Mogram等人，1985, Nature 315：338-40；Kollias等人，1986, Cell 46：89-94)；骨髓磷脂鹼性蛋白質基因控制區，其在腦中之寡樹突膠質細胞中是有活性的(Readhead等人，1987, Cell 48：703-12)；肌球蛋白輕鏈-2基因控制區，其在骨骼肌中是有活性的(Sani, 1985, Nature 314：283-86)；以及親性腺釋放激素基因控制區，其在下視丘中是有活性的(Mason等人，1986, Science 234：1372-78)。

可將促進子序列插入載體中，增加藉由較高等真核生物轉錄編碼本發明之抗-IL-1R1抗體所包括之輕鏈或重鏈的DNA。促進子為DNA順-向作用的元件，通常長度為大約

10-300個鹼基對，其作用在啟動基因上增加轉錄。促進子在比較上是方位-和位置-獨立的。已經發現它們在轉錄單位的5'和3'。已知數個可獲自哺乳動物基因的促進子序列(例如血球蛋白、彈性蛋白酶、白蛋白、α-胎兒蛋白質和胰島素)。然而，通常使用得自病毒的促進子。在此項技藝中已知的SV40促進子、細胞巨大病毒早期啟動基因促進子、多瘤病毒促進子和腺病毒促進子是激活真核生物啟動基因的典型促進元件。雖然可在核酸分子之位置5'或3'處將促進子接合到載體內，但其通常位在啟動基因的位置5'處。

從起始載體，像是市售的載體來建構本發明的表現載體。這類載體可含有或可不含所有想要的側面序列。在其中一或多個本文中描述的側面序列並未出現在載體中之處，可分別獲得它們，並連接到載體內。用來獲得每一個側面序列的方法是熟諳此藝者已熟知的。

在已經建構載體，並已經將編碼抗-IL-1R1抗體所包括之輕鏈或重鏈或輕鏈和重鏈的核酸分子插入載體的適當位置內之後，便可將完整的載體插入適當的宿主細胞中，進行擴大及/或多肽表現。可藉著已熟知的方法，包括轉移感染、感染、磷酸鈣共同-沉澱、電穿透作用、顯微注射、脂染作用、DEAE-葡聚糖媒介之轉移感染，或其他已知的技術，完成使抗-IL-1R1抗體之表現載體轉化至所選出之宿主細胞內的作用。所選擇的方法一部分是所使用之宿主細胞類型的函數。這些方法及其他適當的方法為熟諳此藝者已熟知的，並在例如Sambrook等人中陳述。

宿主細胞，當在適當的條件下培養時，合成抗-IL-1R1抗體，接著可從培養基中收集(若宿主細胞將其分泌至培養基中)，或直接從宿主細胞中產生(若不分泌)。選擇適當的宿主細胞，將依據各種因素，像是想要的表現程度、想要的或對活性必要的多肽修改作用(像是糖基化作用或磷酸化作用)，以及折疊成具有生物活性之分子的容易度。

為了表現，可用來作為宿主的哺乳動物細胞株是此項技藝中已熟知的，並包括但不限於許多獲自美國典型培養物收集中心(American Type Culture Collection)(A.T.C.C.)的永存不死細胞株，包括但不限於中國倉鼠卵巢(CHO)細胞、HeLa細胞、幼倉鼠腎臟(BHK)細胞、猴子腎臟細胞(COS)、人類肝細胞癌細胞(例如Hep G2)和許多其他的細胞株。在某些具體實施例中，可藉著判定具有高表現程度，並產生帶有組成之IL-1R1結合特性之抗體的細胞株，來選擇細胞株。在其他的具體實施例中，可從不製造它自己的抗體，但有能力製造和分泌異種抗體的B細胞系統(例如老鼠骨髓瘤細胞株NS0和SP2/0)中選擇細胞株。

本發明之抗體可用來在生物試樣中檢測IL-1R1，並確認產生IL-1R1蛋白質的細胞或組織。該抗體與IL-1R1結合並阻斷與其他在調節IL-1媒介之疾病上有治療用途的結合化合物之交互作用。在較佳的具體實施例中，對抗IL-1R1的抗體可阻斷IL-1R1與IL-1β或IL-1α的結合，結果可能瓦解IL-1信號轉導階梯。

專一地與IL-1R1結合的本發明之抗體，可用來治療IL-1

媒介的疾病。可在結合測定中使用該抗體，檢測IL-1R1結合及其抑制IL-1R1與IL-1β和IL-1R輔助蛋白質(IL-1RAcP)或與IL-1α和IL-1RAcP形成複合體的能力。

在較佳的具體實施例中，本發明亦提供醫藥組合物，包括在治療上有效含量的一或多種本發明之抗體，連同在藥學上可接受的稀釋劑、載劑、促溶劑、乳化劑、防腐劑及/或佐劑。可接受的調配材料最好是在所使用之劑量和濃度下，對接受者無毒性的。在較佳的具體實施例中，提供包括在治療上有效含量之抗-IL-1R1抗體的醫藥組合物。

在某些具體實施例中，醫藥組合物可含有修改、維持或保護例如組合物之pH值、滲透性、黏性、澄清度、顏色、等張性、氣味、無菌性、穩定性、解離或釋放速率、吸收或穿透性的調配材料。在這類具體實施例中，適當的調配材料包括，但不限於胺基酸(像是甘胺酸、穀胺醯胺、天冬醯胺、精胺酸或離胺酸)；抗微生物製劑；抗氧化劑(像是抗壞血酸、亞硫酸鈉或亞硫酸氫鈉)；緩衝劑(像是硼酸鹽、碳酸氫鹽、Tris-HCl、檸檬酸鹽、磷酸鹽或其他有機酸類)；填充劑(像是甘露糖醇或甘胺酸)；螯合劑(像是乙二胺四乙酸(EDTA))；複合劑(像是咖啡因、聚乙烯吡咯烷酮、β-環糊精或羥丙基-β-環糊精)；填料；單醣類；雙醣類；以及其他碳水化合物(像是葡萄糖、甘露糖或糊精)；蛋白質(像是血清白蛋白；明膠或免疫球蛋白)；著色、調味和稀釋劑；乳化劑；親水性聚合物(像是聚乙烯吡咯烷酮)；低分子量的多肽；形成鹽的抗衡離子(像是鈉)；防腐劑(像是氯化

苯甲烴銨、苯甲酸、水楊酸、乙基汞硫代水楊酸鈉、苯乙醇、對羥基苯甲酸甲酯、對羥基苯甲酸丙酯、氯己定(chlorhexidine)、山梨酸或過氧化氫)；溶劑(像是甘油、丙二醇或聚乙二醇)；糖醇類(像是甘露糖醇或山梨糖醇)；懸浮劑；表面活性劑或濕潤劑(像是普魯尼克(pluronics)、PEG、山梨聚糖酯、多乙氧基醚，像是多乙氧基醚20、多乙氧基醚80、三通、三甲胺、卵磷脂、膽固醇、泰洛沙泊(tyloxapal))；提高穩定性的製劑(像是蔗糖或山梨糖醇)；提高張力之製劑(像是鹼金屬鹵化物，最好是氯化鈉或氯化鉀、甘露糖醇、山梨糖醇)；遞送媒劑；稀釋劑；賦形劑及/或藥學佐劑。參見Remington's Pharmaceutical Sciences，第18版，(A.R. Gennaro編輯)，1990, Mack Publishing Company。

在某些具體實施例中，將由熟諳此藝者依據例如想要的投藥途徑、遞送格式和想要之劑量，判定最佳的醫藥組合物。參見，例如Remington's Pharmaceutical Sciences，在前。在某些具體實施例中，這類組合物可影響本發明之抗體的物理狀態、穩定性、在活體內的釋放速率和在活體內的清除速率。

在某些具體實施例中，在醫藥組合物中主要的媒劑或載劑可以是含水或不含水的。例如，適當的媒劑或載劑可以是注射用水、生理鹽水溶液或人造的腦脊髓液，可能補充有其他在非經腸投藥之組合物中常用的材料。中性緩衝鹽水或與血清白蛋白混合的鹽水，是進一步代表性的媒劑。在較佳的具體實施例中，醫藥組合物包括大約pH 7.0-8.5

的Tris緩衝溶液，或大約pH 4.0-5.5的醋酸緩衝溶液，並可進一步包括山梨糖醇或適當的取代物。在本發明的某些具體實施例中，可藉著將所選用之具有想要純度的組合物與可選擇的調配劑(Remington's Pharmaceutical Sciences，在前)混合，以冷凍乾燥餅或含水溶液之形式，製備可供儲存的抗-IL-1R1抗體組合物。此外，在某些具體實施例中，可使用適當的賦形劑，像是蔗糖，將抗-IL-1R1抗體產物調配成冷凍乾燥物。

可選擇非經腸遞送的本發明之醫藥組合物。可選擇吸入或經消化道遞送，像是口服的組合物。這類在藥學上可接受之組合物的製備，均在此項技藝的技術範圍內。

調配物組份最好是以在投藥部位可接受的濃度存在。在某些具體實施例中，使用緩衝劑將組合物維持在生理學的pH值，或稍低的pH值下，通常是在從大約5到大約8的pH範圍內。

當企圖非經腸投藥時，可以不含熱原的形式提供在本發明中使用的治療組合物，該非經腸可接受的水溶液，包括在藥學上可接受之媒劑中想要的抗-IL-1R1抗體。特別適合非經腸注射的媒劑是無菌的蒸餾水，在其中將抗-IL-1R1抗體調配成無菌等張的溶液，並適當地保存。在某些具體實施例中，製備可能涉及將想要的分子與製劑一起調配，像是注射用的中心體、生物-可腐蝕的顆粒、聚合化合物(像是聚乳酸或聚甘醇酸)、小珠或微脂粒，其可提供經過控制或持續釋放的產物，而可經由儲積注射遞送。在某些具體

實施例中，亦可使用透明質酸，其具有在循環中促進維持期間的效果。在某些具體實施例中，亦可使用可植入之藥物遞送裝置，導入想要的抗體分子。

可調配吸入用的本發明之醫藥組合物。在這些具體實施例中，將抗-IL-1R1抗體調配成吸入用的乾粉。在較佳的具體實施例中，為了以氣溶膠遞送，亦可將抗-IL-1R1抗體吸入溶液與推進劑一起調配。在某些具體實施例中，可將溶液霧化。因此在國際專利出版物第WO 94/20069號中，進一步描述了肺臟投藥和調配方法，以引用的方式並入本文中，其描述以化學方式修改之蛋白質的肺臟遞送。

亦企圖口服投予調配物。以此方式投藥的抗-IL-1R1抗體，可與或不與在調配固體劑量形式，像是錠劑和膠囊時慣用的載劑一起調配。在某些具體實施例中，可將膠囊設計成在胃腸道中生物利用性最大，且前-系統性降解最小之時釋放調配物的活性部份。可納入其他有助於吸收抗-IL-1R1抗體的製劑。亦可使用稀釋劑、調味劑、低熔點的蠟、植物油、潤滑劑、懸浮劑、錠劑崩解劑和粘合劑。

最好提供在適合製造錠劑之無毒性賦形劑的混合物中，包括有效含量之一或多個抗-IL-1R1抗體的本發明之醫藥組合物。藉著將錠劑溶解於無菌的水，或其他適當的媒劑中，可製備單位劑量形式的溶液。適當的賦形劑包括，但不限於惰性稀釋劑，像是碳酸鈣、碳酸鈉或碳酸氫鈉，乳糖或磷酸鈣；或粘合劑，像是澱粉、明膠或阿拉伯樹膠；或潤滑劑，像是硬脂酸鎂、硬脂酸或滑石。

其他的醫藥組合物對熟諳此藝者而言將是明顯的，包括在持續-或控制-遞送的調配物中，涉及抗-IL-1R1的調配物。調配各種其他持續-或控制-遞送工具的技術，像是微脂粒載劑、生物-可腐蝕的微顆粒，或多孔小珠和儲積注射，亦為熟諳此藝者已知的。參見，例如國際專利出版物第WO 93/15722號，以引用的方式併入本文中，其描述用來遞送醫藥組合物之多孔聚合微顆粒的控制釋放。持續-釋放的製品，可包括半通透的聚合物基質，以具體物件之形式，例如薄膜或微膠囊。持續釋放的基質可包括聚酯、水凝膠、聚交酯(如同在美國專利第3,773,919號和歐洲專利申請案出版物第EP 058481號中描述的)、L-穀胺酸和γ乙基-L-穀胺酸酯的共聚物(Sidman等人，1983, Biopolymers 22：547-556)、聚(2-羥乙基-異丁烯酸酯)(Langer等人，1981, J. Biomed. Mater. Res. 15：167-277和Langer, 1982, Chem. Tech. 12：98-105)、乙烯乙酸乙酯(Langer等人，在前)，或聚-D(-)-3-羥基丁酸(歐洲專利申請案出版物第EP 133,988號)。持續釋放之組合物亦可包括微脂粒，其可藉著任何此項技藝中已知的數個方法來製備。參見，例如Eppstein等人，1985, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82：3688-3692；歐洲專利申請案出版物第EP 036,676號；EP 088,046號和EP 143,949號。

在活體內投藥所使用的醫藥組合物，通常提供無菌的製品。可藉著通過無菌的過濾膜過濾，完成滅菌作用。當將組合物冷凍乾燥時，可在冷凍乾燥和重建之前或之後，進行使用該方法的滅菌作用。可以冷凍乾燥形式，或以溶液

之形式，儲存非經腸投藥的組合物。通常將非經腸組合物放在有滅菌進入孔的容器中，例如靜脈內的溶液袋，或有可被皮下注射針頭刺穿之塞子的小瓶中。

一旦已經調配好醫藥組合物，便可以溶液、懸浮液、凝膠、乳劑、固體，或脫水或冷凍乾燥粉末之形式，將其儲存在無菌小瓶中。可以現成可用之形式，或在投藥前重建之形式(例如冷凍乾燥的)，儲存這類調配物。

本發明亦提供產生單一-劑量投藥單位的套組。本發明之套組可分別含有具有脫水蛋白質的第一個容器，和具有含水調配物的第二個容器。在本發明的某些具體實施例中，提供含有單一和多-隔間之預先-裝填的注射筒(例如液體注射筒和水合注射筒(lyosyringes))的套組。

欲在治療上使用之含有抗-IL-1R1抗體之醫藥組合物的有效含量，將依據例如治療情況和目標而定。熟諳此藝者將知曉適當的治療用之劑量含量，部份將依據遞送之分子、欲使用之抗-IL-1R1抗體的適應症、投藥途徑，以及患者的大小(體重、體表面積或器官尺寸)及/或狀況(年齡和一般健康)而定。在某些具體實施例中，臨床醫師可滴定劑量，並修改投藥途徑，獲得最佳的治療效果。代表性的劑量範圍可從大約0.1微克/公斤至高達大約100毫克/公斤或更多，將視上文提及的因素而定。在某些具體實施例中，劑量範圍可從0.1微克/公斤至高達大約100毫克/公斤；更佳的是從1微克/公斤至高達大約100毫克/公斤；或再更佳的是從5微克/公斤至高達大約100毫克/公斤。

投藥頻率將視在所使用之調配物中特殊抗-IL-1R1抗體的藥物動力學參數而定。通常，臨床醫師投予該組合物，直到達到獲得想要效果的劑量為止。因此，可在一段時間內以單一劑量，或以二或多個劑量(其可含或可不含相同含量之想要分子)，投予該組合物，或經由植入裝置或套管連續輸液。由熟諳此藝者例行地進行適當劑量進一步的推敲，並在可由其例行進行之工作的範圍內。經由使用適當的劑量-反應資料，可探知適當的劑量。

投予醫藥組合物的途徑，與已知的方法一致，例如口服、經由注射，藉著靜脈內、腹腔內、大腦內 (實質內)、腦室內、肌肉內、眼內、動脈內、門脈內或病變內的路徑；藉著持續釋放的系統或藉著植入裝置。在某些具體實施例中，可藉著團塊注射或連續輸液，或藉著植入裝置投予組合物。

亦可經由其上已經吸附或包膠有想要分子之膜、海綿或其他適當材料的植入，局部投予組合物。在某些具體實施例中，其中使用植入裝置，可將該裝置植入任何適當的組織或器官內，並可經由擴散、按時-釋放之團塊或連續投藥，遞送想要的分子。

亦可能想要在活體外使用根據本發明之抗-IL-1R1抗體醫藥組合物。在這類例子中，使已經從患者中移出的細胞、組織或器官暴露在抗-IL-1R1抗體醫藥組合物之下，隨後再將該細胞、組織及/或器官移植回患者內。

特定而言，可藉著將某些已經經過遺傳設計的細胞，使

用像是在本文中描述的那些方法，表現並分泌多肽，來遞送抗-IL-1R1抗體。在某些具體實施例中，這類細胞可以是動物或人類細胞，且可以是自體的、異種的或異種的。在某些具體實施例中，該細胞可以是永存不死的。在其他的具體實施例中，為了降低免疫反應的機會，可將細胞包膠，避免周圍組織的浸潤。在進一步的具體實施例中，包膠材料通常是生物可相容的、半-通透的聚合封入物或膜，其容許蛋白質產物(們)的釋放，但阻止細胞被患者的免疫系統破壞，或被其他來自周圍組織的有害因子破壞。

在其他的具體實施例中，可為了各種目的，建構包括一個本發明之IL-1R1抗體的胺基酸序列的抗生物素蛋白融合蛋白質。例如，可使用含有編碼重組雞抗生物素蛋白，與用來插入專一標靶基因融合夥伴之多重選殖位置相鄰的cDNA序列之哺乳動物表現載體，產製抗生物素蛋白融合蛋白質。載體可在其內源的信號序列中包含抗生物素蛋白序列，而能夠分泌不連續的融合基因夥伴，其並非天然地含有信號序列。藉著載體表現的融合蛋白質，在融合夥伴的N-終端部分具有抗生物素蛋白蛋白質標籤。如同在本文中描述的融合策略，有分泌正常在細胞內表現之蛋白質的能力，像是信號轉導基因或核荷爾蒙受體。

或者，亦可使用編碼抗生物素蛋白但沒有內源信號序列的載體，其將導致在融合蛋白質夥伴的C-終端附加標籤。C-終端抗生物素蛋白融合，亦以融合夥伴內源的信號序列為基礎，容許蛋白質的分泌。可應用這類策略，容許修正

蛋白質加工和折疊，或判定所推薦之信號序列的有效性。此外，載體亦可在抗生物素蛋白與融合夥伴序列之間，包括編碼胺基酸序列的短核苷酸序列，作為獨特的酵素-可切開受質。為了純化或蛋白質釋放的目的，這類酵素-可切開之序列容許將融合夥伴與抗生物素蛋白分開。

可在例如抗體篩選、定出功能特徵(判定抗體作為激動劑、中和劑等等的利用性)、抗原決定位作圖或免疫策略中，使用本發明之抗生物素蛋白融合蛋白質。抗生物素蛋白融合蛋白質亦可用在藥物動力學、效力或其他標準測定格式中，設計這些測定格式，針對出現在血液、尿或其他組織試樣中的治療抗體，來測試臨床前試樣或臨床患者試樣。可製備全長或截短序列的抗生物素蛋白融合蛋白質夥伴，特別是經過分離的結構功能部位，或是帶有得自不同物種之融合夥伴的其他同系物的嵌合型序列。

可使用任何將基因導入細胞內的標準方法，如同在本文中描述的或此項技藝中已知的，來表現抗生物素蛋白融合蛋白質。可在例如293或CHO細胞中，藉著在脂質的溶液中，像是脂染胺(Lipofectamine)(Invitrogen, Carlsbad, CA)，以抗生物素蛋白融合構築體轉移感染細胞，表現該蛋白質。

可收集得自表現融合蛋白質之細胞的經過調節之培養基及/或細胞之溶胞產物，並施用在測定受質上，像是塗覆-生物素的聚苯乙烯小珠，或塗覆-生物素的ELISA盤。可在容許融合蛋白質之最佳表現的時間點，進行經過調節之培養基及/或細胞之溶胞產物的收集。可由熟諳此藝者以實驗

判定時間點，但通常是在轉移感染後大約48小時。亦可在細胞膜上，或在細胞內，針對在結合已知配體、受體或抗體上的表現和官能度，來分析融合蛋白質。

可藉著任何已知，或先前利用生物素-抗生物素交互作用定出特徵的方法，分析本發明之抗生物素融合蛋白質。這類方法包括，但不限於流動細胞計數和螢光影像/顯微術。例如，可將在培養基或細胞之溶胞產物中表現的抗生物素蛋白融合施用在塗覆-生物素的小珠上，並以附加螢光標籤之抗-抗生物素蛋白抗體染色，指出表現程度。再者，可在多比色測定格式中，應用認出專一融合蛋白質夥伴的螢光抗體。此外，亦可在競爭測定中，與附加螢光標籤之抗體同時應用對融合蛋白質夥伴專一的未標示抗體。

實例

僅為了解釋之目的，提供下列的實例，包括所進行的實驗和所獲得的結果，並非企圖限制本發明。

實例1

產製對抗介白素-1受體第I型(IL-1R1)的人類單株抗體基因轉殖的HuMab老鼠

使用HCo7品系的基因轉殖老鼠，其表現人類抗體基因，製備對抗IL-1受體第I型(IL-1R1)的完整人類單株抗體。在這些老鼠品系中，均已經按照在Chen等人(1993, EMBO J. 12：811-820)的描述，以同種接合子之方式瓦解內源的老鼠κ輕鏈基因，並已經按照在國際專利申請案出版物第WO 01/09187號之實例1中的描述(以引用的方式併入本文中)，

以同種接合子之方式瓦解內源的老鼠重鏈基因。這些老鼠品系均帶有人類κ輕鏈轉殖基因KCo5，如同在Fishwild等人(1996, Nature Biotechnology 14：845-851)。HCo7品系帶有HCo7人類重鏈轉殖基因，如同在美國專利第5,545,806號；5,625,825號和5,545,807號中描述的(以引用的方式併入本文中)。在本文中將HCo7品系稱為HuMab老鼠。

HuMab免疫作用

欲產生對抗IL-1R1的完整人類單株抗體，以經過純化之衍生自昆蟲或哺乳動物細胞(例如CHO細胞)的重組IL-1R1作為抗原，免疫HuMab老鼠。在Lonberg等人(1994, Nature 368：856-859；Fishwild等人，在前；以及國際專利申請案出版物第WO 98/24884號，將每個教導內容以引用的方式併入本文中)中描述了HuMab老鼠的普通免疫計畫。在第一次抗原輸液時，老鼠為6-16週齡。使用IL-1R1抗原的經過純化之重組製品(25-50微克)(例如，從表現IL-1R1之轉移感染的昆蟲或哺乳動物細胞中純化)，以腹腔內(IP)或皮下(Sc)免疫HuMab老鼠。

使用在完全福瑞德(Freund's)佐劑中的抗原和兩次注射，在2-4週之後，以在不完全福瑞德佐劑中之抗原IP免疫(最多共11次免疫)，完成HuMab基因轉殖老鼠的免疫。每種抗原免疫數打老鼠。以IL-1R1免疫總共149隻HCo7品系的老鼠。藉著眼窩後採血監視免疫反應。

欲選出產生與IL-1R1結合之抗體的HuMab老鼠，按照由Fishwild等人，在前的描述，藉著ELISA測試得自經過免疫

之老鼠的血清。簡言之，以在PBS中之1-2微克/毫升，以及50微升/孔，以得自昆蟲或哺乳動物細胞的經過純化之重組IL-1R1塗覆微量滴定盤，在4℃下培養過夜，然後以200微升/孔，在PBS/吐溫中之5%雞血清(0.05%)阻斷。在各孔中加入得自IL-1R1-免疫老鼠之血漿的稀釋物，並在周圍溫度下培養1-2小時。以PBS/吐溫沖洗培養盤，然後在室溫下與與辣根過氧化酶(HRP)共軛的山羊-抗-人類IgG Fc-專一之多株試劑一起培養1小時。在沖洗之後，以ABTS受質(Sigma Chemical Co., St. Louis, MO，目錄第A-1888號，0.22毫克/毫升)展開培養盤，並在415-495的OD處以分光光度計分析。使用具有足夠力價之抗-IL-1R1人類免疫球蛋白的老鼠，按照下文的描述產生單株抗體。

產製對抗IL-1R1之人類單株抗體的融合瘤

藉著以抗原靜脈內補強，製備產生單株抗體的老鼠，在2天之後犧牲，並隨後移出脾臟。從HuMab老鼠中分離老鼠的脾臟細胞，並使用標準草案，利用PEG與老鼠骨髓瘤細胞株融合。通常，每個抗原進行20-30個融合。

簡言之，利用50% PEG (Sigma)，將得自免疫老鼠之脾臟淋巴細胞的單一細胞懸浮液與四分之一數目的P3X63-Ag8.653非分泌性老鼠骨髓瘤細胞(A.T.C.C.，登錄編號CRL 1580)或SP2/0非分泌性老鼠骨髓瘤細胞(A.T.C.C., CRL 1581)融合。以大約1×10^5/孔，將細胞平鋪在平底微量滴定盤中，接著在含有10%胎牛血清、10% P388D1- (A.T.C.C.，登錄編號CRL TIB-63)調節之培養基、3-5%在DMEM

(Mediatech，目錄編號CRL 10013，具有高葡萄糖、L-穀胺醯胺和丙酮酸鈉)中之origen (IGEN)，加上5 mM HEPES、0.055 mM 2-巯基乙醇、50毫克/毫升健大黴素和1 × HAT (Sigma，目錄編號CRL P-7185)的選擇性培養基中，培養兩週。在1-2週之後，在以HT置換HAT的培養基中培養細胞。

針對抗原-專一性抗體的產製，篩選所得的融合瘤。藉著(上述的)ELISA，針對人類抗-IL-1R1單株IgG抗體，篩選每個孔。一旦出現廣泛的融合瘤生長，通常在10-14天之後監視培養基。將分泌抗體的融合瘤平舖並再度篩選，若對人類IgG仍是陽性的，則藉著限制稀釋繼代選殖抗-IL-1R1單株抗體至少2次。然後在活體外培養穩定的繼代純種系，在組織培養基中產生少量的抗體，用來訂定特徵。

選擇與IL-1R1結合的人類單株抗體

使用上述的ELISA分析，篩選對IL-1R1免疫原顯示出陽性反應性的融合瘤。繼代選殖分泌以高抗體親抗原性與IL-1R1結合之單株抗體的融合瘤，並進一步定出其特徵。選出得自每個融合瘤，並保留對親代細胞之反應性(藉著ELISA判定)的一個純種系，製成5-10個小瓶的細胞銀行，儲存在液態氮中。

進行同型物-專一的ELISA，判定按照本文揭示所產生之單株抗體的同型物。在這些實驗中，以50微升/孔的1微克/毫升在PBS中之老鼠抗-人類κ輕鏈的溶液塗覆微量滴定盤的孔，並在4℃下培養過夜。在5%雞血清阻斷之後，使培養盤與得自每個受試之單株抗體和經過純化之同型物對照

組的上清液反應。在周圍溫度下培養該盤1-2小時。然後使各孔與人類IgG1、IgG2或IgG4-專一之辣根過氧化酶-共軛山羊抗-人類多株抗血清反應，展開培養盤，並按照下述分析。

從融合瘤上清液中純化出，並藉著ELISA檢測顯示其與IL-1R1有顯著結合的單株抗體，進一步使用在活體外的結合測定，以及以人類軟骨細胞和完整血球細胞為基礎的測定，測試其生物活性。將展現最佳活性的抗體稱為15C4、26F5、27F2、24E12和10H7。使抗體接受初步的抗原決定位分類實驗。以人類sIL-1R1 (1+2+3功能部位)、截短的人類sIL-1R1 (1+2功能部位)、大鼠sIL-1R1、人類sIL-1R第II型和卵清蛋白(陰性對照組)塗覆ELISA盤。利用與辣根過氧化酶共軛的抗-人類Fc抗體(Pierce Chemical Co., Rockford, IL)檢測抗體的結合。在表2中概述結果。在表2中的核對標記(√)代表正的結合結果；"X"代表負的結果。抗體15C4、26F5、27F2和24E12僅與具有全部三個細胞外功能部位的IL-1R1蛋白質結合，表示每個的抗原決定位均落在第三個功能部位內。抗體10H7與全長的細胞外功能部位IL-1R1，和僅有功能部位1和2的截短蛋白質兩者結合，證實該抗體的抗原決定位在功能部位1或2中。沒有任何受試的抗體與人類第II型受體或大鼠IL-1R1有交叉-反應性。

表 2

抗體	OA (陰性對照組)	Hu sIL-1R1 (1+2+3功能部位)	Hu sIL-1R1 (1+2功能部位)	Hu sIL-1RII (1+2+3功能部位)	大鼠sIL-1R1 (1+2+3功能部位)
15C4	X	√	X	X	X
26F5	X	√	X	X	X
27F2	X	√	X	X	X
24E12	X	√	X	X	X
10H7	X	√	√	X	X

實例 2

抗-IL-1R1抗體對IL-1受體第I型複合體形成的活體外抑制作用

在活體外，在其中IL-1與IL-1R結合結果形成高親和力之結合位置IL-1RAcP的測定中，利用重組蛋白質，評估抗體抑制IL-1發送信號所需之細胞外結合事件的能力。如下測量IL-1RAcP對與IL-1結合之IL-1R的結合作用。在結合測定中，在抗體的缺乏(對照組)或存在之下，在微量滴定盤中培養重組的蛋白質。IC_{50}值係衍生自對照組值與在濃度為10 fM至1 μM之間的抗體存在下獲得之值的比較。簡言之，如下進行測定。將生物素基化的IL-1R1和塗覆鏈黴菌抗生物素蛋白之小珠(Dynal, Dynabeads M-28)分配在微量滴定盤中。然後以涵蓋廣泛濃度的連續稀釋，將抗體加至適當的孔中。以1nM之濃度加入IL-1β或IL-1α，並以5 nM之終濃

度加入以釘標示的IL-1RAcP(根據IGEN草案，以NHS-標籤(IGEN)製備)。在室溫下培養1小時之後，利用ORIGEN™ 1.5或M8儀器(IGEN International Inc.)分析結合反應。藉著檢測與結合IL-1R1之小珠有關的電化學發光信號，來判定IL-1RAcP對與IL-1結合之IL-1R的結合作用。按最大結合(無競爭)之ECL信號的百分比，計算起因於IL-1或IL-1RAcP結合之抗體競爭的信號降低。

建立在這些結合測定中每個抗體的抑制反應曲線，並使用PRISM™軟體衍生IC_{50}s值。藉著在圖12中的圖表，敘述IL-1β誘導之結合事件的抑制結果。在下文的表3中出示抑制複合體形成的IC_{50}值。抗體15C4、26F5、27F2和24E12強烈地抑制複合體形成。這些抗體如同上述，均為IL-1R1第三個功能部位結合劑。抗體10H7屬於與缺乏第三個功能部位之IL-1R構築體結合的抗體種類。10H7是比第三個功能部位結合劑更無效的推動IL-1RAcP結合之IL-1抑制劑。比較藉本發明之抗體抑制複合體形成，與藉著IL-1ra的抑制作用。與IL-1ra相比較，證實第三個功能部位結合劑有類似或稍大的抑制複合體形成之能力。

圖13敘述抗體15C4抑制IL-1R1/IL-1α/RAcP複合體形成的能力。IL-1R1/IL-1α/RAcP複合體形成的IC_{50}為43pM。

表 3

	人類抗-IL-1R1					
	15C4	26F5	27F2	24E12	10H7	rIl-1ra
IC_{50}	96 pM	160 pM	333 pM	348 pM	5.3 nM	555 pM
95%信賴界限	71 pM至 129 pM	118 pM至 219 pM	214 pM至 517 pM	223 pM至 542 pM	3.6 nM至 7.5 nM	414 pM至 743 pM

實例 3

抗IL-1R1抗體抑制IL-1β和IL-1ra與受體的結合

在利用重組蛋白質的測定中，評估抗-IL-1R1抗體抑制IL-1β或IL-1ra與IL-1R1結合的能力。反應混合物含有0.1毫克/毫升Dynabeads M-280鏈黴菌抗生物素蛋白(Dynal)和1 nM生物素基化的IL-1R1。以從320 nM到0.3 nM的濃度加入抗體。加入附加釘標籤的IL-1β (5 nM)或IL-1ra (1 nM)發動結合作用，在室溫下進行1小時。按照上文測定反應混合物，使用ORIGEN™ 1.5或M8儀器(IGEN International Inc.)。按最大結合(無競爭)之ECL信號的百分比，計算競爭作用。抗體15C4、26F5和27F2，最有效的抗體，阻斷配體(IL-1β)與受體結合，但與IgG對照組相比較，不會明顯干擾IL-1ra的結合。相反的，抗體24E12結合受體，但不阻斷IL-1β或IL-1ra與受體結合。因此，抗體24E12代表一種獨特的第三個功能部位結合劑，與由15C4、26F5和27F2代表的種類不同。抗體10H7抑制IL-1β和IL-1ra兩者與受體結合。在圖14中概述該結果。

實例4

軟骨細胞和人類全血測定

以10,000個細胞/孔的密度，在含有1% FBS和1% Pen Strep (GIBCO)的DMEM培養基中，將原始人類軟骨細胞(Cell Applications Inc., San Diego, CA)播種在96-孔培養盤中。容許細胞過夜恢復，之後加入濃度範圍從10 nM至0.1 pM的抗-IL-1R1抗體20分鐘。以1 pM (約EC_{50})之濃度加入IL-1β，並在37℃下培養16小時之後收穫培養物上清液。使用ELISA (Pierce-Endogen, Rockfoed, IL，目錄第EH2IL-65)，根據製造者的指示，測量在上清液中的IL-6含量。建立在以細胞為基礎之測定中，本發明每個抗體的抑制反應曲線，並使用PRISM™軟體衍生出IC_{50}值。與IL-1ra相比較，抗體15C4、26F5和27F2是IL-1發送信號有效的抑制劑(圖15A)。抗體24E12和10H7明顯地比15C4和27F2更無效(圖15B)。在表4A和4B中出示抑制IL-1β誘導IL-6產生人類軟骨細胞的IC_{50}值(分別相當於圖15A和15B)。

在肝素鈉的真空採血瓶中，將抗-IL-1R1單株抗體15C4、26F5和27F2與收集自正常志願者之人類全血預先-培養40-60分鐘。如下執行測定：將100微升新近分離的血等分於96孔培養盤中。將50微升抗體加至含有10%人類AB血清的RPMI培養基中。以30 pM (EC_{50})之濃度加入IL-1β。在18小時之後收穫培養物上清液，並使用ELISA測量在上清液中的IL-6含量。作為對照組，將IL-1ra與全血預先-培養40-60分鐘，並按照上文測量IL-6產製。三個抗-IL-1R1抗體

阻斷IL-1活性的效力，可與IL-1ra相比擬(圖16)。在表5中出示在人類全血中IL-1-誘導IL-6產製之抑制作用的IC_{50}值。

表4A

	人類抗-IL-1R1抗體			
	15C4	27F2	26F5	rIL-1ra
IC_{50}	16 pM	32 pM	26 pM	32 pM
95%信賴界限	15 pM至18 pM	21 pM至49 pM	19 pM至36 pM	22 pM至46 pM

表4B

	人類抗-IL-1R1抗體				
	15C4	27F2	10H7	24E12	rIL-ra
IC_{50}	7 pM	28 pM	7.5 pM	NA	20 pM
95%信賴界限	5.8 pM至7.9 pM	22 pM至35 pM	5.6 nM至10 nM	NA	17 pM至23 pM

表5

捐贈者	分析參數	15C4	26F5	27F2	IL-1ra
1047	IC_{50}	126 pM	410 pM	249 pM	241 pM
	95%信賴界限	47 pM至339 pM	213 pM至790 pM	88 pM至703 pM	124 pM至471 pM
1319	IC_{50}	111 pM	174 pM	579 pM	381 pM
	95%信賴界限	59 pM至208 pM	60 pM至501 pM	249 pM至1.3 nM	167 pM至875 pM
綜合	IC_{50}	126 pM	372 pM	387 pM	264 pM
(集合資料)	95%信賴界限	62 pM至255 pM	187 pM至739 pM	202 pM至748 pM	134 pM至517 pM

實例5

突變生成作用和抗原決定位作圖

使用IL-1R1的指定位置之突變生成作用(Altered Sites® In Vitro Mutagenesis System, Promega, Madison WI)，製備突變種蛋白質(突變蛋白)的名單，其中以相對應的人類序列取代大鼠胺基酸殘基。建構15個不同的突變質體(參見圖17中有編號的柱子)。暫時將編碼這些經取代之蛋白質的質體和親代的IL-1R1轉移感染到CHO細胞內。產製模仿轉移感染物作為陰性對照組。使用Centriprep 10濃縮管柱(Amicon)，將得自這些細胞的經過調節培養基(CM)濃縮大約20倍。藉著SDS-PAGE和西方墨點法，評估突變蛋白的表現。以容許評估抗體結合的程度，表現13個突變蛋白質。將蛋白質裝入凝膠中，進行電泳並移至膜上。以1%在PBS中之牛乳、0.1%吐溫-20阻斷該膜，然後在室溫下，與0.5微克/毫升，在PBS，0.1%吐溫-20中的抗-IL-1R抗體15C4、27F2或24E12一起培養1小時。在沖洗之後，將該膜與山羊抗-人類IgG-Fc-HRP一起培養。使用化學發光(ECL)受質(Pierce Chemical Co., Rockford, IL)檢測信號。確認對抗體結合很重要的人類專一序列，是在以大鼠序列取代時降低或排除ECL信號的那些。當與24E12相比較時，減損了突變種1、2、4和10的15C4認知(圖18，上圖)。同樣地減損了27F2與突變種1、2和4的結合(圖18，中圖)。24E12對突變種12、13、14和15沒有顯著的結合(圖18，下圖)。

人類抗-IL-1R1抗體的分離和定出特徵，已經確認三種不

同的競爭性抗體(圖19)。藉著以細胞為基礎之生物測定證實，最強的IL-1生物活性抑制劑是與IL-1R1第三個功能部位結合，並防止IL-1β聯合的那些抗體。使用第三個功能部位突變種蛋白質之名單的抗原決定位作圖實驗，已經證實該類抗體，包括15C4、27F2和26F5，共享重複但不同構型的抗原決定位。圖20和21解釋在IL-1受體第三個功能部位上之15C4抗原決定位的位置，在IL-1ra與IL-1受體結合的帶狀圖表中(Schreuder等人，1997, Nature 386：194-200)。以灰色解釋最有效種類之抗體限定結合的IL-1受體殘基。已經證實這些抗體的優良效力，並因此這些抗原決定位限定優良種類之抗體的結合位置。15C4和27F2結合位置是重疊但不相同的，係藉著在上述IL-1R1內的15個不同位置之突變分析來判定。在圖17中以在蛋白質序列上方有編號的柱子來描述位置。交互作用的關鍵位置似乎是在位置1 (LSDIA；序列識別41號)、2 (VIDE；序列識別42號)、4 (YSV)和10 (TCFA；序列識別43號)處的突變內。15C4和27F2結合位置包括在位置1和2內，因為在任一位置處以大鼠殘基取代人類殘基，廢止了結合作用。27F2與15C4的差異在於位置4中的變化，完全廢止其結合作用，其中15C4的結合作用降低，但未完全消滅。突變10亦降低了15C4的結合，但27F2與該位置沒有明顯的交互作用。結晶結構的檢查，顯示這些殘基定義第三個功能部位的一面，其朝向被已結合配體佔據的空間(圖20和21)(Vigers等人，1997, Nature, 386：190-194)。

確認以10H7代表的第二類抗體，不需要第三個功能部位

來進行結合，且不像較佳的種類，抑制IL-1ra結合。該種類在生物測定中是有活性的，但比較佳種類更無效。

與利用較佳種類抗體之IL-1生物測定的強抑制作用成對比，24E12在生物測定中是無效的抑制劑。抗體24E12抑制了IL-1RAcP與IL-1-結合之IL-1R的結合作用。該類抗體的抗原決定位，藉著突變種12、13、14和15定義，靠近IL-1R1的穿透膜功能部位，並在不直接涉及IL-1或IL-1ra結合的區域中(圖22)。

實例6

選殖抗-IL-1R1抗體重和輕鏈

選殖抗-IL-1R1 15C4 MAb輕鏈

將三個表現αIL-1R1結合單株抗體15C4、27F2和26F5之融合瘤的輕鏈選殖到哺乳動物細胞表現載體pDSRα19內(參見國際專利申請案，出版物第WO 90/14363號，為了任何目的，以引用的方式併入本文中)。在本文中明確地描述編碼15C4 κ輕鏈之質體的建構；使用類似的程序，完成其他輕鏈物種的選殖。使用聚合酶連鎖反應(PCR)擴大方法，從使用TRIzol®試劑(Invitrogen)由αIL-1R1融合瘤15C4總RNA製備的第一股cDNA，獲得αIL-1R1 κ輕鏈可變區。使用GeneRacer™套組(Invitrogen)，進行使用帶有延伸接合體(5'-GGC CGG ATA GGC CTC CAN NNN NNT-3'；序列識別44號)和5' RACE (cDNA末端的快速擴大)之隨機引子，合成第一股cDNA。至於完整的輕鏈，前進引子為GeneRacer™巢式引子(5' GGA CAC TGA CAT GGA CTG AAG GAG

TA-3'；序列識別45號)，而逆向引子為5'-GGG GTC AGG CTG GAA CTG AGG-3'(序列識別46號)。將RACE產物選殖到pCR4-TOPO (Invitrogen)內，並判定DNA序列。使用15C4 κ鏈一致DNA序列來設計全長抗體鏈PCR擴大作用的引子。5' κ PCR引子編碼信號序列的胺基終端、XbaI限制酵素位置，以及最佳的Kozak序列(5'-CAG CAG AAG CTT CTA GAC CAC CAT GTC GCC ATC ACA ACT CAT TGG G-3'；序列識別47號)。3'引子編碼羧基終端和終止密碼子，以及SalI限制位置(5'-CTT GTC GAC TCA ACA CTC TCC CCT GTT GAA GCT C-3'；序列識別48號)。

5' αIL-1R1 15C4 κ引子(序列識別47號)：

5'-CAG CAG AAG CTT CTA GAC CAC CAT GTC GCC ATC ACA ACT

XbaI Kozak M S P S Q L

CAT TGG G-3'

I G(序列識別49號)

3' αIL-1R1 15C4 κ引子(序列識別48號)：

5'-CTT GTC GAC TCA ACA CTC TCC CCT GTT GAA GCT C-3'

SalI * C E G R N F S(序列識別50號)

使用pCR4獲得全長αIL-1R1 15C4 κ鏈純種系：藉著PCR擴大15C4 κ純種系，使用5'和3' αIL-1R1 15C4 κ引子。PCR反應產生733個鹼基對產物，編碼αIL-1R1 15C4 κ鏈的233個胺基酸殘基(包括19個胺基酸κ鏈信號序列)。使用QIAquick PCR純化套組(Qiagen目錄第28104號)，以XbaI和

SalI切開，使用QIAquick凝膠萃取套組(Qiagen目錄第28704號)進行凝膠分離和純化。然後將含有完整αIL-1R1 15C4 κ鏈的PCR片段，連接到哺乳動物表現載體pDSRα19內。對15C4 κ鏈表現純種系進行DNA定序，證實其編碼在15C4融合瘤中確認的相同的肽。最終的表現載體，pDSRα19：15C4 κ是5468個鹼基對，並含有在表6中描述的7個功能區。

表6

質體鹼基對編號：

2至881	得自牛腦下垂體糖蛋白荷爾蒙之α-次單元(α-FSH)的轉錄終止/聚腺苷酸化作用信號(Goodwin等人，1983, Nucleic Acids Res. 11：6873-82；Genbank登錄編號X00004)
882至2027	老鼠二氫葉酸還原酶(DHFR)迷你基因，含有內源的老鼠DHFR啟動基因、cDNA密碼序列和DHFR轉錄終止/聚腺苷酸化作用信號(Gasser等人，1982, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 79：6522-6；Nunberg等人，1980, Cell 19：355-64；Setzer等人，1982, J. Biol. Chem. 257：5143-7；McGrogan等人，1985, J. Biol. Chem. 260：2307-14)
2031至3947	pBR322序列，含有氨苄青黴素抗藥性標記基因和在大腸桿菌中之質體的複製起點(Genbank登錄編號J01749)
3949至4292	SV40早期啟動基因，促進子和複製起點(Takebe等人，1988, Mol. Cell. Biol. 8：466-72, Genbank登錄編號J02400)
4299至4565	得自HTLV-1 LTR功能部位的轉譯促進子元件(Seiki等人，1983, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 80：3618-22, Genbank登錄編號J02029)
4574至4730	得自SV40 16S、19S接合捐贈者/接受者信號的插入序列(Okayama等人，1983, Mol. Cell. Biol. 3：280-9, Genbank登錄編號J02400)
4755至5468	在Xba1和Sal1位置之間的15C4 κ輕鏈cDNA

pDSR19：hIgG1C_H的建構

由於XbaI和BsmBI限定之大鼠抗體可變區PCR產物、藉著SalI切開和得自直線質體pDSRα19：hIgG1 C_H (HindIII和BsmBI末端)之BsmBI和SalI片段之凝膠分離衍生的人類IgG1恆定區(C_{H1}、鉸鏈、C_{H2}和C_{H3}功能部位)，以及帶有XbaI和SalI末端的直線化pDSRa19(參見共同-擁有且同在申請中之2002年4月5日建檔的美國臨時專利申請案第60/370,407號，"人類抗-OPGL中和抗體作為選擇性OPGL路徑抑制劑(Human Anti-OPGL Neutralizing Antibodies As Selective OPGL Pathway Inhibitors)"，以引用的方式併入本文中)三片連接的結果，建構pDSRα19：大鼠可變區/人類恆定區IgG1 (rVh/hCh1) MAb表現質體。最終的表現載體，pDSRα19：大鼠可變區/人類恆定區IgG1 (rVh/hCh1)，是6158個鹼基對，並含有在表7中描述的7個功能區。

表7

質體鹼基對編號：

2至881	得自牛腦下垂體糖蛋白荷爾蒙之α-次單元(α-FSH)的轉錄終止/聚腺苷酸化作用信號(Goodwin等人，1983, Nucleic Acids Res. 11：6873-82；Genbank登錄編號X00004)
882至2027	老鼠二氫葉酸還原酶(DHFR)迷你基因，含有內源的老鼠DHFR啟動基因、cDNA密碼序列和DHFR轉錄終止/聚腺苷酸化作用信號(Gasser等人，1982, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 79：6522-6；Nunberg等人，1980, Cell 19：355-64；Setzer等人，1982, J. Biol. Chem. 257：5143-7；McGrogan等人，1985, J. Biol. Chem. 260：2307-14)

2031至3947	pBR322序列，含有氨苄青黴素抗藥性標記基因和在大腸桿菌中之質體的複製起點(Genbank登錄編號J01749)
3949至4292	SV40早期啟動基因，促進子和複製起點(Takebe等人，1988, Mol. Cell. Biol. 8：466-72, Genbank登錄編號J02400)
4299至4565	得自HTLV-1 LTR功能部位的轉譯促進子元件(Seiki等人，1983, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 80：3618-22, Genbank登錄編號J02029)
4574至4730	得自SV40 16S、19S接合捐贈者/接受者信號的插入序列(Okayama等人，1983, Mol. Cell. Biol. 3：280-9, Genbank登錄編號J02400)
4755至6158	在XbaI和SalI位置之間的rVh/hCh1重鏈cDNA。在下文中出示該重鏈片段的序列(序列識別51號)，具有加下標線之限制位置的序列： *Xba*I TCTAG ACCACCATGG ACATCAGGCT CAGCTTAGTT TTCCTTGTCC TTTTCATAAA AGGTGTCCAG TGTGAGGTAG AACTGGTGGA GTCTGGGGGC GGCTTAGTAC AACCTGGAAG GTCCATGACA CTCTCCTGTG CAGCCTCGGG ATTCACTTTC AGAACCTATG GCATGGCCTG GGTCCGCCAG GCCCCAACGA AGGGTCTGGA GTGGGTCTCA TCAATTACTG CTAGTGGTGG TACCACCTAC TATCGAGACT CCGTGAAGGG CCGCTTCACT ATTTTTAGGG ATAATGCAAA AAGTACCCTA TACCTGCAGA TGGACAGTCC GAGGTCTGAG GACACGGCCA CTTATTTCTG TACATCAATT *Bsm*B1 TCGGAATACT GGGGCCACGG AGTCATGGTC ACCGTCTCTA GTGCCTCCACCAAGGGCCCA TCGGTCTTCC CCCTGGCACC CTCCTCCAAG AGCACCTCTGGGGGCACAGC GGCCCTGGGC TGCCTGGTCA AGGACTACTT CCCCGAACCG GTGACGGTGT CGTGGAACTC AGGCGCCCTG ACCAGCGGCG TGCACACCTT CCCGGCTGTC CTACAGTCCT CAGGACTCTA CTCCCTCAGC AGCGTGGTGACCGTGCCCTC CAGCAGCTTG GGCACCCAGA CCTACATCTG CAACGTGAATCACAAGCCCA GCAACACCAA GGTGGACAAG AAAGTTGAGC CCAAATCTTG TGACAAAACT CACACATGCC CACCGTGCCC AGCACCTGAA CTCCTGGGGG GACCGTCAGT CTTCCTCTTC CCCCCAAAAC CCAAGGACAC CCTCATGATC TCCCGGACCC CTGAGGTCAC ATGCGTGGTG GTGGACGTGA GCCACGAAGACCCTGAGGTC AAGTTCAACT GGTACGTGGA CGGCGTGGAG GTGCATAATG CCAAGACAAA GCCGCGGGAG GAGCAGTACA ACAGCACGTA CCGTGTGGTC AGCGTCCTCA CCGTCCTGCA CCAGGACTGG CTGAATGGCA AGGAGTACAAGTGCAAGGTC TCCAACAAAG CCCTCCCAGC CCCCATCGAG AAAACCATCTCCAAAGCCAA AGGGCAGCCC CGAGAACCAC AGGTGTACAC CCTGCCCCCA TCCCGGGATG AGCTGACCAA GAACCAGGTC AGCCTGACCT GCCTGGTCAA AGGCTTCTAT CCCAGCGACA TCGCCGTGGA GTGGGAGAGC AATGGGCAGCCGGAGAACAA CTACAAGACC ACGCCTCCCG TGCTGGACTC CGACGGCTCC TTCTTCCTCT ATAGCAAGCT CACCGTGGAC AAGAGCAGGT GGCAGCAGGG GAACGTCTTC TCATGCTCCG TGATGCATGA GGCTCTGCAC AACCACTACA CGCAGAAGAG CCTCTCCCTG TCTCCGGGTA *Sal*I AATGATAAGT CGAC

藉著以限制酵素XbaI和BsmBI消化pDSR19：大鼠可變區/人類恆定區IgG1質體，移除老鼠可變區，並使用QIAquick凝膠萃取套組純化，製備直線質體pDSRα19：hIgG1C_H。使用含有1千個鹼基對之人類IgG1恆定區功能部位的直線質體pDSRα19：hIgG1C_H，接受衍生αIL-1R抗體可變區的融合瘤。

選殖抗-IL1-RI 15C4 MAb重鏈

將十個表現αIL1-RI結合單株抗體15C4、27F2和26F5之融合瘤的重鏈選殖到哺乳動物細胞表現載體pDSRα19內。明確地描述編碼15C4重鏈之質體的建構；使用類似的程序，完成其他重鏈物種的選殖。使用PCR擴大方法，從使用TRIzol®試劑製備之αIL-1R1融合瘤15C4總RNA製備的第一股cDNA，獲得αIL1-RI 15C4重鏈可變區。使用GeneRacer™套組，進行使用帶有延伸接合體(5'-GGC CGG ATA GGC CTC CAN NNN NNT-3'；序列識別44號)和5' RACE (cDNA末端的快速擴大)之隨機引子，合成第一股cDNA。至於部分長度的重鏈，前進引子是GeneRacer™巢式引子(5' GGA CAC TGA CAT GGA CTG AAG GAG TA-3'；序列識別45號)，而逆向引子是5'-TGA GGA CGC TGA CCA CAC G-3'(序列識別52號)。將RACE產物選殖到pCR4-TOPO內，並定出DNA序列。使用15C4重鏈可變區一致DNA序列來設計重鏈可變區PCR擴大作用的引子。5'重鏈PCR引子編碼信號序列的胺基終端、XbaI限制酵素位置，以及最佳的Kozak序列(5'-CAG CAG AAG CTT CTA GAC CAC CAT GGG GTC AAC

CGC CAT CCT CG-3'；序列識別53號)。3'引子編碼可變區的羧基終端，包括天然存在的有意義股BsmBI位置(5'-GTG GAG GCA CTA GAG ACG GTG ACC AGG GTT CC-3'；序列識別54號)。

5' αIL-1R1 15C4重鏈引子(序列識別53號)：

5'-CAG CAG AAG CTT CTA GAC CAC C ATG GGG TCA ACC GCC

XbaI Kozak M G S T A

ATC CTCG-3'

I L (序列識別55號)

3' αIL-1R1 15C4重鏈引子(序列識別54號)：

5'-GTG GAG GCA CTA GAG ACG GTG ACC AGG GTT CC-3'

T S A S S V T V L T G(序列識別56號)

抗-IL1-RI IgG1重鏈表現純種系的建構

從pCR4：15C4重鏈純種系，藉著PCR擴大作用，利用5'和3' αIL-1R1 15C4重鏈引子，獲得全長αIL-1R1 15C4重鏈純種系。PCR反應產生442個鹼基對產物，編碼αIL-1R1 15C4重鏈可變區的137個胺基酸殘基(包括19個胺基酸重鏈信號序列)。使用QIAquick PCR純化套組，然後以XbaI和BsmBI消化，使用QIAquick凝膠萃取套組進行凝膠分離和純化，純化PCR產物。然後將含有完整αIL-1R1 15C4重鏈可變區的片段，連接到哺乳動物表現載體pDSRα19：hIgG1C_H內。對15C4重鏈IgG1表現純種系進行DNA定序，證實其編碼在15C4融合瘤中確認的相同的重鏈可變區肽。最終的表現載

體，pDSRα19：15C4IgG1重鏈是6173個鹼基對，並含有在表8中描述的7個功能區。

表8

質體鹼基對編號：

2至881	得自牛腦下垂體糖蛋白荷爾蒙之α-次單元(α-FSH)的轉錄終止/聚腺苷酸化作用信號(Goodwin等人，1983, Nucleic Acids Res. 11：6873-82；Genbank登錄編號X00004)
882至2027	老鼠二氫葉酸還原酶(DHFR)迷你基因，含有內源的老鼠DHFR啟動基因、cDNA密碼序列和DHFR轉錄終止/聚腺苷酸化作用信號(Gasser等人，1982, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 79：6522-6；Nunberg等人，1980, Cell 19：355-64；Setzer等人，1982, J. Biol. Chem. 257：5143-7；McGrogan等人，1985, J. Biol. Chem. 260：2307-14)
2031至3947	pBR322序列，含有氨苄青黴素抗藥性標記基因和在大腸桿菌中之質體的複製起點(Genbank登錄編號J01749)
3949至4292	SV40早期啟動基因，促進子和複製起點(Takebe等人，1988, Mol. Cell. Biol. 8：466-72, Genbank登錄編號J02400)
4299至4565	得自HTLV-1 LTR功能部位的轉譯促進子元件(Seiki等人，1983, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 80：3618-22, Genbank登錄編號J02029)
4574至4730	得自SV40 16S、19S接合捐贈者/接受者信號的插入序列(Okayama等人，1983, Mol. Cell. Biol. 3：280-9, Genbank登錄編號J02400)
4755至6173	在Xba1和Sal1位置之間的15C4重鏈IgG1 cDNA

pDSR19：hIgG2C_H的建構

由於XabI和BsmBI限定之人類抗體可變區PCR產物、帶有BsmBI和SalI末端的人類IgG2恆定區(C_{H1}、鉸鏈、C_{H2}和C_{H3}

功能部位)PCR產物，以及帶有XbaI和SalI末端的直線化pDSRa19三片連接的結果，建構pDSRα19：人類可變區/人類恆定區IgG2 (hVh/hCh2) MAb表現質體。最終的表現載體，pDSRα19：人類可變區/人類恆定區IgG1 (hVh/hCh2) (參見共同-擁有且同在申請中之2002年4月5日建檔的美國臨時專利申請案第60/370,407號，"人類抗-OPGL中和抗體作為選擇性OPGL路徑抑制劑(Human Anti-OPGL Neutralizing Antibodies As Selective OPGL Pathway Inhibitors)")，是6164個鹼基對，並含有在表9中描述的7個功能區。

表9

質體鹼基對編號：

2至881	得自牛腦下垂體糖蛋白荷爾蒙之α-次單元(α-FSH)的轉錄終止/聚腺苷酸化作用信號(Goodwin等人，1983, Nucleic Acids Res. 11：6873-82；Genbank登錄編號X00004)
882至2027	老鼠二氫葉酸還原酶(DHFR)迷你基因，含有內源的老鼠DHFR啟動基因、cDNA密碼序列和DHFR轉錄終止/聚腺苷酸化作用信號(Gasser等人，1982, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 79：6522-6；Nunberg等人，1980, Cell 19：355-64；Setzer等人，1982, J. Biol. Chem. 257：5143-7；McGrogan等人，1985, J. Biol. Chem. 260：2307-14)
2031至3947	pBR322序列，含有氨苄青黴素抗藥性標記基因和在大腸桿菌中之質體的複製起點(Genbank登錄編號J01749)
3949至4292	SV40早期啟動基因，促進子和複製起點(Takebe等人，1988, Mol. Cell. Biol. 8：466-72, Genbank登錄編號J02400)
4299至4565	得自HTLV-1 LTR功能部位的轉譯促進子元件(Seiki等人，1983, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 80：3618-22, Genbank登錄編號J02029)

4574至4730	得自SV40 16S、19S接合捐贈者/接受者信號的插入序列(Okayama等人，1983, Mol. Cell. Biol. 3：280-9, Genbank登錄編號J02400)
4755至6164	在XbaI和SalI位置之間的hVh/hCh2重鏈cDNA。在下文中出示該重鏈片段的序列(序列識別57號)，具有加下標線的限制位置： *XbaI* TCTAGA CCACCATGGA CATGAGGGTC CCCGCTCAGC TCCTGGGGCT CCTGCTATTG TGGTTGAGAG GTGCCAGATG TGAGGTCCAG CTGGTGCAGTCTGGGGGAGG CTTGGTACAT CCTGGGGGGT CCCTGAGACT CTCCTGTGCAGGCTCTGGAT TCACCTTCAG TGGCCATGCT TTGCACTGGG TTCGCCAGGCTCCAGGAAAA GGTCTGGAGT GGGTATCAGG TATTGGTACT CATGGTGGGACATACTATGC AGACTCCGTG AAGGGCCGAT TCACCATCTC CAGAGACAATGCCAAGAACT CCTTGTTTCT TCAAATGAAC AGCCTGAGCG CCGAGGACATGGCTGTGTAT TACTGTACAA GAAGAAACTG *BsmB1* GGGACAATTT GACTACTGGGGCCAGGGAAC CCTGGTCACC GTCTCTAGTG CCTCCACCAA GGGCCCATCGGTCTTCCCCC TGGCGCCCTG CTCCAGGAGC ACCTCCGAGA GCACAGCGGCCCTGGGCTGC CTGGTCAAGG ACTACTTCCC CGAACCGGTG ACGGTGTCGTGGAACTCAGG CGCTCTGACC AGCGGCGTGC ACACCTTCCC AGCTGTCCTACAGTCCTCAG GACTCTACTC CCTCAGCAGC GTGGTGACCG TGCCCTCCAGCAACTTCGGC ACCCAGACCT ACACCTGCAA CGTAGATCAC AAGCCCAGCAACACCAAGGT GGACAAGACA GTTGAGCGCA AATGTTGTGT CGAGTGCCCACCGTGCCCAG CACCACCTGT GGCAGGACCG TCAGTCTTCC TCTTCCCCCCAAAACCCAAG GACACCCTCA TGATCTCCCG GACCCCTGAG GTCACGTGCGTGGTGGTGGA CGTGAGCCAC GAAGACCCCG AGGTCCAGTT CAACTGGTACGTGGACGGCG TGGAGGTGCA TAATGCCAAG ACAAAGCCAC GGGAGGAGCAGTTCAACAGC ACGTTCCGTG TGGTCAGCGT CCTCACCGTT GTGCACCAGGACTGGCTGAA CGGCAAGGAG TACAAGTGCA AGGTCTCCAA CAAAGGCCTCCCAGCCCCCA TCGAGAAAAC CATCTCCAAA ACCAAAGGGC AGCCCCGAGAACCACAGGTG TACACCCTGC CCCCATCCCG GGAGGAGATG ACCAAGAACCAGGTCAGCCT GACCTGCCTG GTCAAAGGCT TCTACCCCAG CGACATCGCCGTGGAGTGGG AGAGCAATGG GCAGCCGGAG AACAACTACA AGACCACACCTCCCATGCTG GACTCCGACG GCTCCTTCTT CCTCTACAGC AAGCTCACCGTGGACAAGAG CAGGTGGCAG CAGGGGAACG TCTTCTCATG CTCCGTGATGCATGAGGCTC TGCACAACCA CTACACGCAG *SalI* AAGAGCCTCT CCCTGTCTCCGGGTAAATGA TAAGTCGAC

藉著以限制酵素XbaI和BsmBI消化pDSR19：人類可變區/人類恆定區IgG2質體，移除人類可變區，並使用QIAquick凝膠萃取套組純化，製備直線質體pDSRα19：hIgG2C_H。使用含有1千個鹼基對之人類IgG2恆定區功能部位的直線質體pDSRα19：hIgG2C_H，接受衍生αIL-1R抗體可變區的融合

瘤。

抗-IL-1RI IgG2重鏈表現純種系的建構

將上述的αIL-1R1 15C4重鏈可變區片段，連接到哺乳動物表現載體pDSRα19：hIgG2C_H內。對15C4重鏈IgG2表現純種系進行DNA定序，證實其編碼與在15C4融合瘤中確認的相同的重鏈可變區肽。最終的表現載體，pDSRα19：15C4 IgG2重鏈是6161個鹼基對，並含有在表10中描述的7個功能區。

表10

質體鹼基對編號：

2至881	得自牛腦下垂體糖蛋白荷爾蒙之α-次單元(α-FSH)的轉錄終止/聚腺苷酸化作用信號(Goodwin等人，1983, Nucleic Acids Res. 11：6873-82；Genbank登錄編號X00004)
882至2027	老鼠二氫葉酸還原酶(DHFR)迷你基因，含有內源的老鼠DHFR啟動基因、cDNA密碼序列和DHFR轉錄終止/聚腺苷酸化作用信號(Gasser等人，1982, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 79：6522-6；Nunberg等人，1980, Cell 19：355-64；Setzer等人，1982, J. Biol. Chem. 257：5143-7；McGrogan等人，1985, J. Biol. Chem. 260：2307-14)
2031至3947	pBR322序列，含有氨苄青黴素抗藥性標記基因和在大腸桿菌中之質體的複製起點(Genbank登錄編號J01749)
3949至4292	SV40早期啟動基因，促進子和複製起點(Takebe等人，1988, Mol. Cell. Biol. 8：466-72, Genbank登錄編號J02400)
4299至4565	得自HTLV-1 LTR功能部位的轉譯促進子元件(Seiki等人，1983, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 80：3618-22, Genbank登錄編號J02029)
4574至4730	得自SV40 16S、19S接合捐贈者/接受者信號的插入序列(Okayama等人，1983, Mol. Cell. Biol. 3：280-9, Genbank登錄編號J02400)
4755至6161	在Xba1和Sal1位置之間的15C4重鏈IgG2 cDNA

pDSR19：hIgG4C_H的建構

由於XbaI和BsmBI限定之人類抗體可變區PCR產物、凝膠分離之BsmBI和SalI消化的人類IgG4恆定區(C_{H1}、鉸鏈、C_{H2}和C_{H3}功能部位)片段，以及帶有XbaI和SalI末端的直線化pDSRa19三片連接的結果，建構pDSRα19：人類可變區/人類恆定區IgG4 (hVh/hCh4) MAb表現質體。最終的表現載體，pDSRα19：人類可變區/人類恆定區IgG4 (hVh/hCh4)(參見共同-擁有且同在申請中之2002年4月5日建檔的美國臨時專利申請案第60/370,407號，"人類抗-OPGL中和抗體作為選擇性OPGL路徑抑制劑(Human Anti-OPGL Neutralizing Antibodies As Selective OPGL Pathway Inhibitors)")，是6167個鹼基對，並含有在表11中描述的7個功能區。

表11

質體鹼基對編號：

2至881	得自牛腦下垂體糖蛋白荷爾蒙之α-次單元(α-FSH)的轉錄終止/聚腺苷酸化作用信號(Goodwin等人，1983, Nucleic Acids Res. 11：6873-82；Genbank登錄編號X00004)
882至2027	老鼠二氫葉酸還原酶(DHFR)迷你基因，含有內源的老鼠DHFR啟動基因、cDNA密碼序列和DHFR轉錄終止/聚腺苷酸化作用信號(Gasser等人，1982, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 79：6522-6；Nunberg等人，1980, Cell 19：355-64；Setzer等人，1982, J. Biol. Chem. 257：5143-7；McGrogan等人，1985, J. Biol. Chem. 260：2307-14)
2031至3947	pBR322序列，含有氨苄青黴素抗藥性標記基因和在大腸桿菌中之質體的複製起點(Genbank登錄編號J01749)

3949至4292	SV40早期啟動基因，促進子和複製起點(Takebe等人，1988, Mol. Cell. Biol. 8：466-72, Genbank登錄編號J02400)
4299至4565	得自HTLV-1 LTR功能部位的轉譯促進子元件(Seiki等人，1983, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 80：3618-22, Genbank登錄編號J02029)
4574至4730	得自SV40 16S、19S接合捐贈者/接受者信號的插入序列(Okayama等人，1983, Mol. Cell. Biol. 3：280-9, Genbank登錄編號J02400)
4755至6167	在XbaI和SalI位置之間的hVh/hCh4重鏈cDNA。在下文中出示該重鏈片段的序列(序列識別58號)，具有加下標線的限制位置： *Xba*I TCT AGACCACCAT GGACATGAGG GTCCCCGCTC AGCTCCTGGG GCTCCTGCTA TTGTGGTTGA GAGGTGCCAG ATGTGAGGTC CAGCTGGTGCAGTCTGGGGG AGGCTTGGTA CATCCTGGGG GGTCCCTGAG ACTCTCCTGTGCAGGCTCTG GATTCACCTT CAGTGGCCAT GCTTTGCACT GGGTTCGCCAGGCTCCAGGA AAAGGTCTGG AGTGGGTATC AGGTATTGGT ACTCATGGTGGGACATACTA TGCAGACTCC GTGAAGGGCC GATTCACCAT CTCCAGAGACAATGCCAAGA ACTCCTTGTT TCTTCAAATG AACAGCCTGA GCGCCGAGGACATGGCTGTG TATTACTGTA CAAGAAGAAA CTGGGGACAA TTTGACTACTGGGGCCAGGG *Bsm*B1 AACCCTGGTC ACCGTCTCTA GTGCCAGCAC CAAGGGGCCATCCGTCTTCC CCCTGGCGCC CTGCTCCAGG AGCACCTCCG AGAGCACAGCCGCCCTGGGC TGCCTGGTCA AGGACTACTT CCCCGAACCG GTGACGGTGTCGTGGAACTC AGGCGCCCTG ACCAGCGGCG TGCACACCTT CCCGGCTGTCCTACAGTCCT CAGGACTCTA CTCCCTCAGC AGCGTGGTGA CCGTGCCCTCCAGCAGCTTG GGCACGAAGA CCTACACCTG CAACGTAGAT CACAAGCCCAGCAACACCAA GGTGGACAAG AGAGTTGAGT CCAAATATGG TCCCCCATGCCCATCATGCC CAGCACCTGA GTTCCTGGGG GGACCATCAG TCTTCCTGTTCCCCCCAAAA CCCAAGGACA CTCTCATGAT CTCCCGGACC CCTGAGGTCACGTGCGTGGT GGTGGACGTG AGCCAGGAAG ACCCCGAGGT CCAGTTCAACTGGTACGTGG ATGGCGTGGA GGTGCATAAT GCCAAGACAA AGCCGCGGGAGGAGCAGTTC AACAGCACGT ACCGTGTGGT CAGCGTCCTC ACCGTCCTGCACCAGGACTG GCTGAACGGC AAGGAGTACA AGTGCAAGGT CTCCAACAAAGGCCTCCCGT CCTCCATCGA GAAAACCATC TCCAAAGCCA AAGGGCAGCCCCGAGAGCCA CAGGTGTACA CCCTGCCCCC ATCCCAGGAG GAGATGACCAAGAACCAGGT CAGCCTGACC TGCCTGGTCA AAGGCTTCTA CCCCAGCGACATCGCCGTGG AGTGGGAGAG CAATGGGCAG CCGGAGAACA ACTACAAGACCACGCCTCCC GTGCTGGACT CCGACGGCTC CTTCTTCCTC TACAGCAGGCTAACCGTGGA CAAGAGCAGG TGGCAGGAGG GGAATGTCTT CTCATGCTCCGTGATGCATG AGGCTCTGCA CAACCACTAC *Sal*I ACACAGAAGA GCCTCTCCCTGTCTCTGGGT AAATGATAAG TCGAC

藉著以限制酵素XbaI和BsmBI消化pDSR19：人類可變區/人類恆定區IgG4質體，移除人類可變區，並使用QIAquick凝膠萃取套組純化，製備直線質體pDSRα19：hIgG4C_H。使用含有1千個鹼基對之人類IgG4恆定區功能部位的直線質體pDSRα19：hIgG4C_H，接受衍生αIL-1R抗體可變區的融合瘤。

抗-IL1-RI IgG4重鏈表現純種系的建構

將上述的αIL-1R1 15C4重鏈可變區片段，連接到哺乳動物表現載體pDSRα19：hIgG4C_H內。對15C4重鏈IgG4表現純種系進行DNA定序，證實其編碼與在15C4融合瘤中確認的相同的重鏈可變區肽。最終的表現載體，pDSRα19：15C4 IgG4重鏈是6164個鹼基對，並含有在表12中描述的7個功能區。

表12

質體鹼基對編號：

2至881	得自牛腦下垂體糖蛋白荷爾蒙之α-次單元(α-FSH)的轉錄終止/聚腺苷酸化作用信號(Goodwin等人，1983, Nucleic Acids Res. 11：6873-82；Genbank登錄編號X00004)
882至2027	老鼠二氫葉酸還原酶(DHFR)迷你基因，含有內源的老鼠DHFR啟動基因、cDNA密碼序列和DHFR轉錄終止/聚腺苷酸化作用信號(Gasser等人，1982, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 79：6522-6；Nunberg等人，1980, Cell 19：355-64；Setzer等人，1982, J. Biol. Chem. 257：5143-7；McGrogan等人，1985, J. Biol. Chem. 260：2307-14)
2031至3947	pBR322序列，含有氨苄青黴素抗藥性標記基因和在大腸桿菌中之質體的複製起點(Genbank登錄編號J01749)

3949至4292	SV40早期啟動基因，促進子和複製起點(Takebe等人，1988, Mol. Cell. Biol. 8：466-72, Genbank登錄編號J02400)
4299至4565	得自HTLV-1 LTR功能部位的轉譯促進子元件(Seiki等人，1983, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 80：3618-22, Genbank登錄編號J02029)
4574至4730	得自SV40 16S、19S接合捐贈者/接受者信號的插入序列(Okayama等人，1983, Mol. Cell. Biol. 3：280-9, Genbank登錄編號J02400)
4755至6164	在Xba1和Sal1位置之間的15C4重鏈IgG4 cDNA

實例7

在中國倉鼠卵巢(CHO)細胞中表現抗-IL-1R1抗體

按照在美國專利第6,210,924號中揭示的(以引用的方式併入本文中)，在中國倉鼠卵巢細胞，特別是CHO AM-1/D中產製重組的抗-IL-1R1抗體。簡言之，將編碼本發明每個抗-IL-1R1抗體之完整重或輕鏈的DNA序列，選殖到表現載體內。以能夠表現完整重鏈的表現載體和表現適當抗-IL-1R1抗體之完整輕鏈的表現載體，共同-轉移感染CHO AM-1/D細胞。例如，欲產製26F5抗體，以能夠表現包括在序列識別38號中陳述之胺基酸序列之完整輕鏈的載體，以及能夠表現包括在序列識別20號、序列識別22號或序列識別24號中陳述之胺基酸序列之完整重鏈的載體，共同-轉移感染細胞。欲產製27F2抗體，以能夠表現包括在序列識別38號中陳述之胺基酸序列之完整輕鏈的載體，以及能夠表現包括在序列識別26號、序列識別28號或序列識別30號中陳述之胺基酸序列之完整重鏈的載體，共同-轉移感染細胞

。欲產製15C4抗體，以能夠表現包括在序列識別40號中陳述之胺基酸序列之完整輕鏈的載體，以及能夠表現包括在序列識別32號、序列識別34號或序列識別36號中陳述之胺基酸序列之完整重鏈的載體，共同-轉移感染細胞。表13概述了各種IL-1R1抗體的完整重鏈和完整輕鏈。符號".../IgG_"描述特定抗體之恆定區的序列。

表13

抗體	重鏈可變區+重鏈恆定區	完整的重鏈
26F5/IgG1(核苷酸)	序列識別9號+序列識別1號	序列識別19號
26F5/IgG1(胺基酸)	序列識別10號+序列識別2號	序列識別20號
26F5/IgG2(核苷酸)	序列識別9號+序列識別5號	序列識別21號
26F5/IgG2(胺基酸)	序列識別10號+序列識別6號	序列識別22號
26F5/IgG4(核苷酸)	序列識別9號+序列識別7號	序列識別23號
26F5/IgG4(胺基酸)	序列識別10號+序列識別8號	序列識別24號
27F2/IgG1(核苷酸)	序列識別13號+序列識別1號	序列識別25號
27F2/IgG1(胺基酸)	序列識別14號+序列識別2號	序列識別26號
27F2/IgG2(核苷酸)	序列識別13號+序列識別5號	序列識別27號
27F2/IgG2(胺基酸)	序列識別14號+序列識別6號	序列識別28號
27F2/IgG4(核苷酸)	序列識別13號+序列識別7號	序列識別29號
27F2/IgG4(胺基酸)	序列識別14號+序列識別8號	序列識別30號
15C4/IgG1(核苷酸)	序列識別15號+序列識別1號	序列識別31號
15C4/IgG1(胺基酸)	序列識別16號+序列識別2號	序列識別32號
15C4/IgG2(核苷酸)	序列識別15號+序列識別5號	序列識別33號
15C4/IgG2(胺基酸)	序列識別16號+序列識別6號	序列識別34號
15C4/IgG4(核苷酸)	序列識別15號+序列識別7號	序列識別35號
15C4/IgG4(胺基酸)	序列識別16號+序列識別8號	序列識別36號
26F5/27F2(核苷酸)	序列識別11號+序列識別3號	序列識別37號
26F5/27F2(胺基酸)	序列識別12號+序列識別4號	序列識別38號
15C4(核苷酸)	序列識別17號+序列識別3號	序列識別39號
15C4(胺基酸)	序列識別18號+序列識別4號	序列識別40號

藉著以表現載體共同-轉移感染二氫葉酸還原酶缺陷

(DHFR$^-$) CHO AM-1/D細胞，達成抗-IL-1R1抗體的穩定表現。使用標準技術(磷酸鈣共同-沉澱)和DHFR選擇，進行轉移感染。分離經過轉移感染的菌落，並使其在24-孔培養盤上生長至匯合。針對適當的折疊和中和活性，檢查由經過轉移感染之細胞產生的抗體。選出過度產生IgG1、IgG2和IgG4同型物的適當折疊之抗-IL-1R1抗體的純種系，並按照下述純化抗體。

實例8

抗-IL-1R1抗體的產製

藉著在CHO細胞的純種系中表現，產生抗-IL-1R1抗體。關於每個產生行程，將得自單一試管的細胞融解於不含血清的細胞培養基中。細胞一開始生長在T-燒瓶中，並經由一連串的旋轉燒瓶連續擴大，直到已經產生足以播種20公升生物反應器的接種物為止。在生長5-10天之後，使用培養物接種300公升的生物反應器。在生長額外的5-10天之後，使用培養物接種2000公升的生物反應器。在2000公升生物反應器中，使用一批添加培養完成生產，其中加入含有濃縮培養基的營養飼料，以便維持細胞生長和培養物存活。生產持續大約兩週，在這段期間，由細胞在組成上產生抗-IL1-R1抗體，並分泌至細胞培養基內。

將生產反應器控制在設定的pH值、溫度和溶氧量之下：藉著加入二氧化碳氣體和碳酸鈉控制pH值；藉著空氣、氮氣和氧氣流控制溶氧。

在生產結束時，將細胞肉湯倒進盤堆式離心機中，並將

培養物上清液與細胞分開。經由深度濾紙接著是0.2微米之濾紙，進一步使濃縮物澄清。然後藉著切向流超離心，濃縮已經澄清之經過調節的培養基。將經過調節的培養基濃縮15-至30-倍。然後經由純化作用，處理所得的濃縮之經過調節的培養基，或冷凍，以便稍晚再進行純化。

實例9

使用抗生物素蛋白-融合蛋白質的抗原決定位作圖

欲產製抗生物素蛋白-融合蛋白質，cDNA將編碼雞抗生物素蛋白(帶有內源信號序列)與編碼在3'端與FALG-標籤序列融合之人類-或獼猴IL-1R1的成熟細胞外功能部位之cDNA的5'端連接。使用傳統的分子技術，在pALTERMAX載體內，組合附加FLAG-標籤的融合基因。在圖23中出示抗生物素蛋白-人類IL-1R1融合蛋白質的胺基酸序列(序列識別59號)。在圖24中出示抗生物素蛋白-獼猴IL-1R1融合蛋白質的胺基酸序列(序列識別60號)。使用改變位置II哺乳動物在活體內的突變生成系統(Promega Corp.)產製其中人類胺基酸被相對應的獼猴殘基取代之突變種抗生物素蛋白-cynoIL-1R1-FLAG蛋白質的名單。在圖24中解釋突變。

使用Cytofectine轉移感染試劑(Bio-Rad Laboratories, Inc.)，將編碼抗生物素蛋白-cynoIL-1R突變種和野外型蛋白質，以及抗生物素蛋白-huIL-1RI-FLAG的質體，暫時轉移感染到293T細胞中。使用模仿轉移感染物作為陰性對照組。藉著西方墨點法和以小珠為基礎的結合測定，使用獲自轉移感染細胞之經過調節的培養基(CM)，評估抗-huIL-

1RI單株抗體(MAb)與這些蛋白質的結合。

關於西方墨點分析，以未-還原的SDS試樣緩衝溶液將CM稀釋至1：3，煮沸5-10分鐘，並裝入10% Tris-甘胺酸凝膠。在SDS-PAGE和西方運送之後，以在PBS/0.1%吐溫-20(PBST)中之3% BSA/1%卵清蛋白阻斷該膜，並以抗-huIL-1RI MAbs染色。使用以PBST稀釋1：15,000的山羊-抗-人類IgG-Fc-HRP抗體進行二級檢測。使用抗-FLAG檢測使蛋白質負載標準化。使用FluorChem 800數位影像系統(Alpha Innotech Corp.)進行影像捕捉和光密度分析。針對抗-FLAG抗體之值，將抗-huIL-1RI MAbs的信號強度標準化，說明在蛋白質負載上的變化。按照抗生物素蛋白-人類IL-1R1-FLAG結合的百分比，來表示抗體結合。

在圖25A中出示西方墨點的結果。圖25B顯示一組兩份之西方墨點實驗的光密度分析。對抗體結合很重要的人類殘基，是當取代至cynoIL-1RI內時，恢復信號的那些。通常，單獨或組合的突變1和2(在圖24中解釋)，可恢復許多抗體(15C4/IgG2、5B8、1C2、24H2、16E9、26E4和20G1)的結合作用，但突變10.1和10.2則否。這些抗體中沒有任何一個與野外型cynoIL-1RI結合。兩個抗體(27F2和19C8)一致地與所有突變種蛋白質，以及野外型cynoIL-1RI結合。這暗示抗原決定位4(cynoIL-1RI的殘基Y279-V281)，在大鼠/人類同物種同源基因(paralog)蛋白質中確認，且在獼猴IL-1RI中未曾改變，是這些抗體主要的抗原決定位。在圖24中出示在胺基酸序列中，以粗斜體表示並加下標線的抗

原決定位4。

在多個以小珠為基礎的結合測定中，藉著將CM與塗覆生物素之螢光小珠一起培養，每個融合蛋白質一組小珠(Beadlyte Multi-Biotin 10plex小珠套組；Upstate Biotechnologies)，捕捉抗生物素蛋白融合蛋白質。沖洗小珠，並收集在PBST中，等分至96-孔濾紙底的培養盤中(Millipore Corp.)。以25微克/毫升加入抗體(抗-huIL-1RI MAbs或抗-FLAG MAb)，並培養1小時。再度沖洗小珠，並使用與藻紅蛋白共軛的抗-老鼠IgG抗體和抗-人類IgG (Fab')2檢測抗體的結合。在1小時的培養之後，沖洗小珠，並再懸浮於PBST中。使用Luminex 100 (Luminex Corp.)測量平均螢光強度(MFI)。使用抗-FLAG MAb結合的MFI值，將資料標準化，說明在蛋白質負載上的變化。按照抗生物素蛋白-huIL-1R1-FLAG結合的百分比，來表示抗體結合(圖26)。抗-IL-1R1抗體對帶有人類殘基之抗生物素蛋白-cynoIL1R1-FLAG蛋白質突變種，以及野外型獼猴和人類IL-1R1蛋白質的結合模式，與在圖25中出示的免疫墨點分析一致。

請了解前述的揭示內容，強調本發明某些特定的具體實施例，所有修改或其交替相等物均在本發明的精神和範圍內，如同在附錄之申請專利範圍中陳述的。

【圖式簡單說明】

圖1A-1B敘述編碼人類抗-IL-1R1抗體重鏈IgG1恆定區的cDNA序列(序列識別1號)(圖1A)，以及人類抗-IL-1R1抗體重鏈IgG1恆定區的胺基酸序列(序列識別2號)(圖1B)。

圖2A-2B敘述編碼人類抗-IL-1R1抗體κ鏈恆定區的cDNA序列(序列識別3號)(圖2A)，以及人類抗-IL-1R1抗體κ鏈恆定區的胺基酸序列(序列識別4號)(圖2B)。

圖3A-3B敘述編碼人類抗-IL-1R1抗體重鏈IgG2恆定區的cDNA序列(序列識別5號)(圖3A)，以及人類抗-IL-1R1抗體重鏈IgG2恆定區的胺基酸序列(序列識別6號)(圖3B)。

圖4A-4B敘述編碼人類抗-IL-1R1抗體重鏈IgG4恆定區的cDNA序列(序列識別7號)(圖4A)，以及人類抗-IL-1R1抗體重鏈IgG4恆定區的胺基酸序列(序列識別8號)(圖4B)。

圖5A-5B敘述編碼26F5抗-IL-1R1抗體重鏈可變區的cDNA序列(序列識別9號)(圖5A)，以及26F5抗-IL-1R1抗體重鏈可變區的胺基酸序列(序列識別10號)(圖5B)。

圖6A-6B敘述編碼26F5抗-IL-1R1抗體κ鏈可變區的cDNA序列(序列識別11號)(圖6A)，以及26F5抗-IL-1R1抗體κ鏈可變區的胺基酸序列(序列識別12號)(圖6B)。

圖7A-7B敘述編碼27F2抗-IL-1R1抗體重鏈可變區的cDNA序列(序列識別13號)(圖7A)，以及27F2抗-IL-1R1抗體重鏈可變區的胺基酸序列(序列識別14號)(圖7B)。

圖8A-8B敘述編碼15C4抗-IL-1R1抗體重鏈可變區的cDNA序列(序列識別15號)(圖8A)，以及15C4抗-IL-1R1抗體重鏈可變區的胺基酸序列(序列識別16號)(圖8B)。

圖9A-9B敘述編碼15C4抗-IL-1R1抗體κ鏈可變區的cDNA序列(序列識別17號)(圖9A)，以及15C4抗-IL-1R1抗體κ鏈可變區的胺基酸序列(序列識別18號)(圖9B)。

圖10顯示得自命名為15C4、27F2和26F5之抗-IL-1R1抗體之重鏈的胺基酸序列排列。將互補性決定區(CDRs)加下標線。

圖11顯示得自命名為15C4、27F2和26F5之抗-IL-R1-γ抗體之輕鏈的胺基酸序列排列。

圖12為解釋抗-IL-1R1抗體對IL-1R/IL-1β/IL-1RAcP複合體形成之抑制效果的圖表。

圖13為顯示在本文中描述並命名為15C4之抗-IL-1R1單株抗體，對IL-1R/IL-1α/IL-1RAcP複合體形成之抑制效果的圖表。

圖14為代表抗-IL-1R1抗體阻斷IL-1β結合，同時與IgG對照組相比較，不會明顯地干擾IL-1ra結合之能力的圖表。

圖15A為顯示在原始人類軟骨細胞中，與IL-1ra相比較，藉著在本文中確認並命名為15C4、26F5和27F2之抗-IL-1R1抗體抑制IL-6產製的圖表。

圖15B為顯示在原始人類軟骨細胞中，與以10H7和24E12代表之單株抗體類相比較，藉著IL-1ra和單株抗體15C4和27F2抑制IL-6產製的圖表。

圖16為顯示在人類全血中，與IL-1ra相比較，藉著命名為15C4、26F5和27F2之抗-IL-1R1單株抗體抑制IL-6產製的圖表。

圖17敘述人類和大鼠第三個功能部位IL-1R1核苷酸和胺基酸序列。上方有編號的柱子和人類序列代表15個不同的突變位置，建構15個不同的突變蛋白質。在大鼠核酸序列

的下方，列舉藉著突變導入的大鼠殘基。

圖18顯示西方墨點分析，證實抗-IL-1R1單株抗體認得IL-1R1突變種。

圖19是代表(I) IL-1發送信號路徑之激活作用，其始於IL-1β與IL-1R1的結合，招募IL-1RAcP，和第三類的抗-IL-1R1抗體：(II)第三個功能部位抗原決定位IL-1阻斷劑，(III)第三個功能部位抗原決定位RAcP阻斷劑和(IV)第一/第二個功能部位抗原決定位IL-1阻斷劑的圖。

圖20敘述按照在本文中的描述，帶有突變10之15C4和27F2的結晶結構。灰色殘基表示15C4和27F2抗原決定位。

圖21敘述在細胞外IL-1R1之第三個功能部位中的15C4抗原決定位。

圖22敘述在細胞外IL-1R1之第三個功能部位中的24E12抗原決定位。

圖23敘述本發明之抗生物素蛋白-人類IL-1R1-FLAG嵌合型蛋白質的胺基酸序列(序列識別59號)。藉著6個胺基酸交聯劑，將重組的雞抗生物素蛋白(以斜體字印刷)與人類IL-1R1的成熟細胞外功能部位(加下標線，粗體為C-終端FLAG標籤)連接。

圖24敘述抗生物素蛋白-獼猴IL-1R1-FLAG嵌合型蛋白質的胺基酸序列(序列識別60號)。藉著6個胺基酸交聯劑，將重組的雞抗生物素蛋白(以斜體字印刷)與獼猴IL-1R1的成熟細胞外功能部位(加下標線，粗體為C-終端FLAG標籤)連接。單獨導入得自人類IL-1R1的四個胺基酸，並與在獼猴

序列下為粗體之獼猴序列混合。抗原決定位4是以粗體、斜體印刷，並加下標線。

圖25A顯示抗-人類IL1-R1抗體(抗-huIL1-R1)與IL-1R1結合的西方墨點分析。*代表以5微克/毫升使用的抗體，但以1微克/毫升使用剩下的抗體。

圖25B顯示兩份一組之西方墨點實驗的光密度分析的摘要。

圖26顯示在以多數小珠為基礎的測定中，代表抗-huIL1R1抗體對抗生物素蛋白IL-1R1-FLAG蛋白質之結合作用的圖表。

序列表

<110> 美商安美基公司

<120> 治療性人類抗-IL-1R1單株抗體

<140> 092124638
<141> 2003-09-05

<150> 美國 60/408,719
<151> 2002-09-06

<160> 60

<170> PatentIn version 3.0

<210> 1
<211> 990
<212> DNA
<213> 人類

<400> 1
gcctccacca agggcccatc ggtcttcccc ctggcaccct cctccaagag cacctctggg 60

ggcacagcgg ccctgggctg cctggtcaag gactacttcc ccgaaccggt gacggtgtcg 120

tggaactcag gcgccctgac cagcggcgtg cacaccttcc cggctgtcct acagtcctca 180

ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgccctcca gcagcttggg cacccagacc 240

tacatctgca acgtgaatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagaa agttgagccc 300

aaatcttgtg acaaaactca cacatgccca ccgtgcccag cacctgaact cctgggggga 360

ccgtcagtct tcctcttccc cccaaaaccc aaggacaccc tcatgatctc ccggaccccct 420

gaggtcacat gcgtggtggt ggacgtgagc cacgaagacc ctgaggtcaa gttcaactgg 480

tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cgcgggagga gcagtacaac 540

agcacgtacc gtgtggtcag cgtcctcacc gtcctgcacc aggactggct gaatggcaag 600

gagtacaagt gcaaggtctc caacaaagcc ctcccagccc ccatcgagaa aaccatctcc 660

aaagccaaag ggcagccccg agaaccacag gtgtacaccc tgcccccatc ccgggatgag 720

ctgaccaaga accaggtcag cctgacctgc ctggtcaaag gcttctatcc cagcgacatc 780

gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac gcctcccgtg 840

ctggactccg acggctcctt cttcctctat agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg 900

cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacg 960

cagaagagcc tctccctgtc tccgggtaaa 990

<210> 2
<211> 330
<212> PRT

<213> 人類

<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 Asp Glu
225                 230                 235                 240

Leu 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> 321
<212> DNA
<213> 人類

<400> 3
cgaactgtgg ctgcaccatc tgtcttcatc ttcccgccat ctgatgagca gttgaaatct 60

ggaactgcct ctgttgtgtg cctgctgaat aacttctatc ccagagaggc caaagtacag 120

tggaaggtgg ataacgccct ccaatcgggt aactcccagg agagtgtcac agagcaggac 180

agcaaggaca gcacctacag cctcagcagc accctgacgc tgagcaaagc agactacgag 240

aaacacaaag tctacgcctg cgaagtcacc catcagggcc tgagctcgcc cgtcacaaag 300

agcttcaaca ggggagagtg t 321

<210> 4
<211> 107
<212> PRT
<213> 人類

<400> 4
Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
1 5 10 15

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
20 25 30

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
35 40 45

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
50 55 60

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
65 70 75 80

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
85 90 95

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 5
<211> 978
<212> DNA
<213> 人類

<400> 5
gcctccacca agggcccatc ggtcttcccc ctggcgccct gctccaggag cacctccgag 60

agcacagcgg ccctgggctg cctggtcaag gactacttcc ccgaaccggt gacggtgtcg 120

tggaactcag gcgctctgac cagcggcgtg cacaccttcc cagctgtcct acagtcctca 180

ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgccctcca gcaacttcgg cacccagacc 240

tacacctgca acgtagatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagac agttgagcgc 300

aaatgttgtg tcgagtgccc accgtgccca gcaccacctg tggcaggacc gtcagtcttc 360

ctcttccccc caaaacccaa ggacaccctc atgatctccc ggacccctga ggtcacgtgc 420

gtggtggtgg acgtgagcca cgaagacccc gaggtccagt tcaactggta cgtggacggc 480

gtggaggtgc ataatgccaa gacaaagcca cgggaggagc agttcaacag cacgttccgt 540

gtggtcagcg tcctcaccgt tgtgcaccag gactggctga acggcaagga gtacaagtgc 600

aaggtctcca acaaaggcct cccagccccc atcgagaaaa ccatctccaa aaccaaaggg 660

cagccccgag aaccacaggt gtacaccctg cccccatccc gggaggagat gaccaagaac 720

caggtcagcc tgacctgcct ggtcaaaggc ttctacccca gcgacatcgc cgtggagtgg 780

gagagcaatg ggcagccgga gaacaactac aagaccacac ctcccatgct ggactccgac 840

ggctccttct tcctctacag caagctcacc gtggacaaga gcaggtggca gcaggggaac 900

gtcttctcat gctccgtgat gcatgaggct ctgcacaacc actacacgca gaagagcctc 960

tccctgtctc cgggtaaa 978

<210> 6
<211> 326
<212> PRT
<213> 人類

<400> 6

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

Ser Thr Ser Glu Ser 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 Asn Phe Gly Thr Gln Thr
65                  70                  75                  80

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

Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
            100                 105                 110

Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
```

```
       115                 120                 125

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
    130                 135                 140

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
145                 150                 155                 160

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn
                165                 170                 175

Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp
            180                 185                 190

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro
        195                 200                 205

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu
    210                 215                 220

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
225                 230                 235                 240

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
                245                 250                 255

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
            260                 265                 270

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

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

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
305                 310                 315                 320

Ser Leu Ser Pro Gly Lys
                325
```

<210> 7
<211> 981
<212> DNA
<213> 人類

<400> 7

```
gccagcacca aggggccatc cgtcttcccc ctggcgccct gctccaggag cacctccgag     60

agcacagccg ccctgggctg cctggtcaag gactacttcc ccgaaccggt gacggtgtcg    120

tggaactcag gcgccctgac cagcggcgtg cacaccttcc cggctgtcct acagtcctca    180

ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgccctcca gcagcttggg cacgaagacc    240

tacacctgca acgtagatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagag agttgagtcc    300

aaatatggtc ccccatgccc atcatgccca gcacctgagt tcctgggggg accatcagtc    360

ttcctgttcc ccccaaaacc caaggacact ctcatgatct cccggacccc tgaggtcacg    420
```

tgcgtggtgg tggacgtgag ccaggaagac cccgaggtcc agttcaactg gtacgtggat 480

ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagttcaa cagcacgtac 540

cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaacggcaa ggagtacaag 600

tgcaaggtct ccaacaaagg cctcccgtcc tccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa 660

gggcagcccc gagagccaca ggtgtacacc ctgcccccat cccaggagga gatgaccaag 720

aaccaggtca gcctgacctg cctggtcaaa ggcttctacc ccagcgacat cgccgtggag 780

tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccgt gctggactcc 840

gacggctcct tcttcctcta cagcaggcta accgtgraca agagcaggtg gcaggagggg 900

aatgtcttct catgctccgt gakgcatgag gctctgcaca accactacac acagaagagc 960

ctctccctgt ctctgggtaa a 981

<210> 8
<211> 327
<212> PRT
<213> 人類

<400> 8

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

Ser Thr Ser Glu Ser 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 Lys Thr
65 70 75 80

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

Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro
100 105 110

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

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140

Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe
165 170 175

```
Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
          180                 185                 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
       195                 200                 205

Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
    210                 215                 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys
225                 230                 235                 240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
                245                 250                 255

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

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

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

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

Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
                325
```

<210> 9
<211> 417
<212> DNA
<213> 人類

<400> 9

```
atggagtttg ggctgagctg ggtcttcctc gttgctcttt taagaggtgt ccagtgtcag     60

gtgcagctgg tggagtctgg gggaggcgtg gtccagcctg ggaggtccct gagactctcc    120

tgtgcagcgt ctggattcac cttcagcaac tatggcatgc actgggtccg ccaggctcca    180

ggcaaggggc tggagtgggt ggcaggcatt tggaatgatg gaattaataa ataccatgca    240

cactccgtga ggggccgatt caccatctcc agagacaatt ccaagaacac gctgtatctg    300

caaatgaaca gcccgagagc cgaggacacg gctgtgtatt actgtgcgag agcacggtct    360

ttcgactggc tattatttga gttctggggc cagggaaccc tggtcaccgt ctctagt      417
```

<210> 10
<211> 139
<212> PRT
<213> 人類

<400> 10

```
Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Leu Leu Arg Gly
1               5                  10                  15
```

```
Val Gln Cys Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln
          20                  25                  30

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

Ser Asn Tyr Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
   50                  55                  60

Glu Trp Val Ala Gly Ile Trp Asn Asp Gly Ile Asn Lys Tyr His Ala
65                  70                  75                  80

His Ser Val Arg Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn
                85                  90                  95

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

Tyr Tyr Cys Ala Arg Ala Arg Ser Phe Asp Trp Leu Leu Phe Glu Phe
       115                 120                 125

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
   130                 135
```

<210> 11
<211> 384
<212> DNA
<213> 人類

<400> 11

```
atggaagccc cagctcagct tctcttcctc ctgctactct ggctcccaga taccaccgga     60

gaaattgtgt tgacacagtc tccagccacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc    120

ctctcctgca gggccagtca gagtgttagc agctacttag cctggtacca acagaaacct    180

ggccaggctc ccaggctcct catctatgat gcatccaaca gggccactgg catcccagcc    240

aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagac ttcactctca ccatcagcag cctagagcct    300

gaagattttg cagtttatta ctgtcagcag cgtagcaact ggcctccgct cactttcggc    360

ggagggacca aggtggagat caaa                                           384
```

<210> 12
<211> 128
<212> PRT
<213> 人類

<400> 12

```
Met Glu Ala Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Leu Trp Leu Pro
1               5                  10                  15

Asp Thr Thr Gly Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser
          20                  25                  30

Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser
       35                  40                  45
```

```
Val Ser Ser Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro
    50                  55                  60

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

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
                85                  90                  95

Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser
            100                 105                 110

Asn Trp Pro Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
        115                 120                 125
```

<210> 13
<211> 417
<212> DNA
<213> 人類

<400> 13

```
atggagtttg ggctgagctg ggttttcctc gttgctcttt taagaggtgt ccagtgtcag    60

gtgcagctgg tggagtctgg gggaggcgtg gtccagcctg ggaggtccct gagactctcc   120

tgtgcagtgt ctggattcac cttcagtaac tatggcatgc actgggtccg ccaggctcca   180

ggcaaggggc tggagtgggt ggcagctata tggaatgatg gagaaaataa acaccatgca   240

ggctccgtga ggggccgatt caccatctcc agagacaatt ccaagaacac gctgtatctg   300

caaatgaaca gcctgagagc cgaggacacg gctgtgtatt actgtgcgag aggacgatat   360

tttgactggt tattatttga gtattggggc cagggaaccc tggtcaccgt ctctagt      417
```

<210> 14
<211> 139
<212> PRT
<213> 人類

<400> 14

```
Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Leu Leu Arg Gly
1               5                  10                  15

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

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

Ser Asn Tyr Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
    50                  55                  60

Glu Trp Val Ala Ala Ile Trp Asn Asp Gly Glu Asn Lys His His Ala
65                  70                  75                  80

Gly Ser Val Arg Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn
                85                  90                  95
```

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

Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Arg Tyr Phe Asp Trp Leu Leu Phe Glu Tyr
       115                 120                 125

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
   130                 135
```

<210> 15
<211> 411
<212> DNA
<213> 人類

<400> 15

```
atggggtcaa ccgccatcct cgccctcctc ctggctgttc tccaaggagt ctgtgccgag     60

gtgcagctga tgcagtctgg agcagaggtg aaaaagcccg gggagtctct gaagatctcc    120

tgtaagggtt ctggatacag cttttccttc cactggatcg cctgggtgcg ccagatgccc    180

gggaaaggcc tggagtggat ggggatcatc catcctggtg cctctgatac cagatacagc    240

ccgtccttcc aaggccaggt caccatctca gccgacaact ccaacagcgc cacctacctg    300

cagtggagca gcctgaaggc ctcggacacc gccatgtatt tctgtgcgag acaaagggaa    360

ctcgactact ttgactactg gggccaggga accctggtca ccgtctctag t             411
```

<210> 16
<211> 137
<212> PRT
<213> 人類

<400> 16

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

Val Cys Ala Glu Val Gln Leu Met Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
          20                  25                  30

Pro Gly Glu Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe
       35                  40                  45

Ser Phe His Trp Ile Ala Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu
   50                  55                  60

Glu Trp Met Gly Ile Ile His Pro Gly Ala Ser Asp Thr Arg Tyr Ser
65                  70                  75                  80

Pro Ser Phe Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Asn Ser Asn Ser
                85                  90                  95

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

Tyr Phe Cys Ala Arg Gln Arg Glu Leu Asp Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly
       115                 120                 125
```

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
130 135

<210> 17
<211> 378
<212> DNA
<213> 人類

<400> 17
atgtcgccat cacaactcat tgggtttctg ctgctctggg ttccagcctc caggggtgaa 60

attgtgctga ctcagtctcc agactttcag tctgtgactc caaaggagaa agtcaccatc 120

acctgccggg ccagtcagag cattggtagt agcttacact ggtaccagca gaaaccagat 180

cagtctccaa agctcctcat caagtatgct tcccagtcct tctcaggggt cccctcgagg 240

ttcagtggca gtggatctgg gacagatttc accctcacca tcaatagcct ggaagctgaa 300

gatgctgcag cgtattactg tcatcagagt agtagtttac ctctcacttt cggcggaggg 360

accaaggtgg agatcaaa 378

<210> 18
<211> 126
<212> PRT
<213> 人類

<400> 18
Met Ser Pro Ser Gln Leu Ile Gly Phe Leu Leu Leu Trp Val Pro Ala
1 5 10 15

Ser Arg Gly Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Phe Gln Ser Val
20 25 30

Thr Pro Lys Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile
35 40 45

Gly Ser Ser Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ser Pro Lys
50 55 60

Leu Leu Ile Lys Tyr Ala Ser Gln Ser Phe Ser Gly Val Pro Ser Arg
65 70 75 80

Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser
85 90 95

Leu Glu Ala Glu Asp Ala Ala Ala Tyr Tyr Cys His Gln Ser Ser Ser
100 105 110

Leu Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
115 120 125

<210> 19
<211> 1407
<212> DNA
<213> 人類

<400> 19
atggagtttg ggctgagctg ggtcttcctc gttgctcttt taagaggtgt ccagtgtcag 60

gtgcagctgg tggagtctgg gggaggcgtg gtccagcctg ggaggtccct gagactctcc 120

tgtgcagcgt ctggattcac cttcagcaac tatggcatgc actgggtccg ccaggctcca 180

ggcaaggggc tggagtgggt ggcaggcatt tggaatgatg gaattaataa ataccatgca 240

cactccgtga ggggccgatt caccatctcc agagacaatt ccaagaacac gctgtatctg 300

caaatgaaca gcccgagagc cgaggacacg gctgtgtatt actgtgcgag agcacggtct 360

ttcgactggc tattatttga gttctggggc cagggaaccc tggtcaccgt ctctagtgcc 420

tccaccaagg gcccatcggt cttccccctg gcaccctcct ccaagagcac ctctgggggc 480

acagcggccc tgggctgcct ggtcaaggac tacttccccg aaccggtgac ggtgtcgtgg 540

aactcaggcg ccctgaccag cggcgtgcac accttcccgg ctgtcctaca gtcctcagga 600

ctctactccc tcagcagcgt ggtgaccgtg ccctccagca gcttgggcac ccagacctac 660

atctgcaacg tgaatcacaa gcccagcaac accaaggtgg acaagaaagt tgagcccaaa 720

tcttgtgaca aaactcacac atgcccaccg tgcccagcac ctgaactcct gggggggaccg 780

tcagtcttcc tcttcccccc aaaacccaag gacaccctca tgatctcccg gacccctgag 840

gtcacatgcg tggtggtgga cgtgagccac gaagaccctg aggtcaagtt caactggtac 900

gtggacggcg tggaggtgca taatgccaag acaaagccgc gggaggagca gtacaacagc 960

acgtaccgtg tggtcagcgt cctcaccgtc ctgcaccagg actggctgaa tggcaaggag 1020

tacaagtgca aggtctccaa caaagccctc ccagccccca tcgagaaaac catctccaaa 1080

gccaaagggc agccccgaga accacaggtg tacaccctgc ccccatcccg ggatgagctg 1140

accaagaacc aggtcagcct gacctgcctg gtcaaaggct tctatcccag cgacatcgcc 1200

gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag aacaactaca agaccacgcc tcccgtgctg 1260

gactccgacg gctccttctt cctctatagc aagctcaccg tggacaagag caggtggcag 1320

caggggaacg tcttctcatg ctccgtgatg catgaggctc tgcacaacca ctacacgcag 1380

aagagcctct ccctgtctcc gggtaaa 1407

<210> 20
<211> 469
<212> PRT
<213> 人類

<400> 20
Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Leu Leu Arg Gly
1 5 10 15

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

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

Ser Asn Tyr Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
    50                  55                  60

Glu Trp Val Ala Gly Ile Trp Asn Asp Gly Ile Asn Lys Tyr His Ala
65                  70                  75                  80

His Ser Val Arg Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn
                85                  90                  95

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

Tyr Tyr Cys Ala Arg Ala Arg Ser Phe Asp Trp Leu Leu Phe Glu Phe
       115                 120                 125

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
    130                 135                 140

Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly
145                 150                 155                 160

Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val
                165                 170                 175

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
           180                 185                 190

Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
       195                 200                 205

Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val
    210                 215                 220

Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys
225                 230                 235                 240

Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu
                245                 250                 255

Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
           260                 265                 270

Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
       275                 280                 285

Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
    290                 295                 300

Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser
305                 310                 315                 320

Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
                325                 330                 335

Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala
           340                 345                 350
```

Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
355 360 365

Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln
370 375 380

Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
385 390 395 400

Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
405 410 415

Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu
420 425 430

Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
435 440 445

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

Leu Ser Pro Gly Lys
465

<210> 21
<211> 1395
<212> DNA
<213> 人類

<400> 21
atggagtttg ggctgagctg ggtcttcctc gttgctcttt taagaggtgt ccagtgtcag 60

gtgcagctgg tggagtctgg gggaggcgtg gtccagcctg ggaggtccct gagactctcc 120

tgtgcagcgt ctggattcac cttcagcaac tatggcatgc actgggtccg ccaggctcca 180

ggcaaggggc tggagtgggt ggcaggcatt tggaatgatg gaattaataa ataccatgca 240

cactccgtga ggggccgatt caccatctcc agagacaatt ccaagaacac gctgtatctg 300

caaatgaaca gcccgagagc cgaggacacg gctgtgtatt actgtgcgag agcacggtct 360

ttcgactggc tattatttga gttctggggc cagggaaccc tggtcaccgt ctctagtgcc 420

tccaccaagg gcccatcggt cttccccctg gcgccctgct ccaggagcac ctccgagagc 480

acagcggccc tgggctgcct ggtcaaggac tacttccccg aaccggtgac ggtgtcgtgg 540

aactcaggcg ctctgaccag cggcgtgcac accttcccag ctgtcctaca gtcctcagga 600

ctctactccc tcagcagcgt ggtgaccgtg ccctccagca acttcggcac ccagacctac 660

acctgcaacg tagatcacaa gcccagcaac accaaggtgg acaagacagt tgagcgcaaa 720

tgttgtgtcg agtgcccacc gtgcccagca ccacctgtgg caggaccgtc agtcttcctc 780

ttccccccaa aacccaagga caccctcatg atctcccgga cccctgaggt cacgtgcgtg 840

gtggtggacg tgagccacga agaccccgag gtccagttca actggtacgt ggacggcgtg 900

gaggtgcata atgccaagac aaagccacgg gaggagcagt tcaacagcac gttccgtgtg 960

gtcagcgtcc tcaccgttgt gcaccaggac tggctgaacg gcaaggagta caagtgcaag 1020

gtctccaaca aaggcctccc agcccccatc gagaaaacca tctccaaaac caaagggcag 1080

ccccgagaac cacaggtgta caccctgccc ccatcccggg aggagatgac caagaaccag 1140

gtcagcctga cctgcctggt caaaggcttc taccccagcg acatcgccgt ggagtgggag 1200

agcaatgggc agccggagaa caactacaag accacacctc ccatgctgga ctccgacggc 1260

tccttcttcc tctacagcaa gctcaccgtg gacaagagca ggtggcagca ggggaacgtc 1320

ttctcatgct ccgtgatgca tgaggctctg cacaaccact acacgcagaa gagcctctcc 1380

ctgtctccgg gtaaa 1395

<210> 22
<211> 465
<212> PRT
<213> 人類

<400> 22

```
Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Leu Leu Arg Gly
1               5                  10                  15

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

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

Ser Asn Tyr Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
    50                  55                  60

Glu Trp Val Ala Gly Ile Trp Asn Asp Gly Ile Asn Lys Tyr His Ala
65                  70                  75                  80

His Ser Val Arg Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn
                85                  90                  95

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

Tyr Tyr Cys Ala Arg Ala Arg Ser Phe Asp Trp Leu Leu Phe Glu Phe
        115                 120                 125

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
    130                 135                 140

Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser
145                 150                 155                 160

Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val
                165                 170                 175

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
            180                 185                 190
```

```
Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
       195                 200                 205

Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val
    210                 215                 220

Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys
225                 230                 235                 240

Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro
                245                 250                 255

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
            260                 265                 270

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
        275                 280                 285

Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
    290                 295                 300

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val
305                 310                 315                 320

Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
                325                 330                 335

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
            340                 345                 350

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

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
    370                 375                 380

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
385                 390                 395                 400

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu
                405                 410                 415

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
            420                 425                 430

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
        435                 440                 445

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
    450                 455                 460

Lys
465
```

<210> 23
<211> 1398
<212> DNA
<213> 人類

<400> 23

atggagtttg ggctgagctg ggtcttcctc gttgctcttt taagaggtgt ccagtgtcag 60

gtgcagctgg tggagtctgg gggaggcgtg gtccagcctg ggaggtccct gagactctcc 120

tgtgcagcgt ctggattcac cttcagcaac tatggcatgc actgggtccg ccaggctcca 180

ggcaaggggc tggagtgggt ggcaggcatt tggaatgatg gaattaataa ataccatgca 240

cactccgtga ggggccgatt caccatctcc agagacaatt ccaagaacac gctgtatctg 300

caaatgaaca gcccgagagc cgaggacacg gctgtgtatt actgtgcgag agcacggtct 360

ttcgactggc tattatttga gttctggggc cagggaaccc tggtcaccgt ctctagtgcc 420

agcaccaagg ggccatccgt cttccccctg gcgccctgct ccaggagcac ctccgagagc 480

acagccgccc tgggctgcct ggtcaaggac tacttccccg aaccggtgac ggtgtcgtgg 540

aactcaggcg ccctgaccag cggcgtgcac accttcccgg ctgtcctaca gtcctcagga 600

ctctactccc tcagcagcgt ggtgaccgtg ccctccagca gcttgggcac gaagacctac 660

acctgcaacg tagatcacaa gcccagcaac accaaggtgg acaagagagt tgagtccaaa 720

tatggtcccc catgcccatc atgcccagca cctgagttcc tgggggggacc atcagtcttc 780

ctgttccccc caaaacccaa ggacactctc atgatctccc ggacccctga ggtcacgtgc 840

gtggtggtgg acgtgagcca ggaagacccc gaggtccagt tcaactggta cgtggatggc 900

gtggaggtgc ataatgccaa gacaaagccg cgggaggagc agttcaacag cacgtaccgt 960

gtggtcagcg tcctcaccgt cctgcaccag gactggctga acggcaagga gtacaagtgc 1020

aaggtctcca acaaaggcct cccgtcctcc atcgagaaaa ccatctccaa agccaaaggg 1080

cagccccgag agccacaggt gtacaccctg cccccatccc aggaggagat gaccaagaac 1140

caggtcagcc tgacctgcct ggtcaaaggc ttctacccca gcgacatcgc cgtggagtgg 1200

gagagcaatg ggcagccgga gaacaactac aagaccacgc ctcccgtgct ggactccgac 1260

ggctccttct tcctctacag caggctaacc gtgracaaga gcaggtggca ggaggggaat 1320

gtcttctcat gctccgtgak gcatgaggct ctgcacaacc actacacaca gaagagcctc 1380

tccctgtctc tgggtaaa 1398

<210> 24
<211> 466
<212> PRT
<213> 人類

<400> 24

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

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

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

Ser Asn Tyr Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
    50                  55                  60

Glu Trp Val Ala Gly Ile Trp Asn Asp Gly Ile Asn Lys Tyr His Ala
65                  70                  75                  80

His Ser Val Arg Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn
                85                  90                  95

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

Tyr Tyr Cys Ala Arg Ala Arg Ser Phe Asp Trp Leu Leu Phe Glu Phe
       115                 120                 125

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
    130                 135                 140

Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser
145                 150                 155                 160

Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val
                165                 170                 175

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
           180                 185                 190

Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
       195                 200                 205

Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val
    210                 215                 220

Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys
225                 230                 235                 240

Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro Glu Phe Glu Gly Gly
                245                 250                 255

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
           260                 265                 270

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu
       275                 280                 285

Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
    290                 295                 300

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg
305                 310                 315                 320

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
                325                 330                 335

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu
           340                 345                 350

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
```

355 360 365

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

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
385 390 395 400

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

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp
420 425 430

Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
435 440 445

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu
450 455 460

Gly Lys
465

<210> 25
<211> 1407
<212> DNA
<213> 人類

<400> 25
atggagtttg ggctgagctg ggttttcctc gttgctcttt taagaggtgt ccagtgtcag 60

gtgcagctgg tggagtctgg gggaggcgtg gtccagcctg ggaggtccct gagactctcc 120

tgtgcagtgt ctggattcac cttcagtaac tatggcatgc actgggtccg ccaggctcca 180

ggcaaggggc tggagtgggt ggcagctata tggaatgatg gagaaaataa acaccatgca 240

ggctccgtga ggggccgatt caccatctcc agagacaatt ccaagaacac gctgtatctg 300

caaatgaaca gcctgagagc cgaggacacg gctgtgtatt actgtgcgag aggacgatat 360

tttgactggt tattatttga gtattggggc cagggaaccc tggtcaccgt ctctagtgcc 420

tccaccaagg gcccatcggt cttccccctg gcaccctcct ccaagagcac ctctgggggc 480

acagcggccc tgggctgcct ggtcaaggac tacttccccg aaccggtgac ggtgtcgtgg 540

aactcaggcg ccctgaccag cggcgtgcac accttcccgg ctgtcctaca gtcctcagga 600

ctctactccc tcagcagcgt ggtgaccgtg ccctccagca gcttgggcac ccagacctac 660

atctgcaacg tgaatcacaa gcccagcaac accaaggtgg acaagaaagt tgagcccaaa 720

tcttgtgaca aaactcacac atgcccaccg tgcccagcac ctgaactcct gggggggaccg 780

tcagtcttcc tcttcccccc aaaacccaag gacaccctca tgatctcccg gacccctgag 840

gtcacatgcg tggtggtgga cgtgagccac gaagaccctg aggtcaagtt caactggtac 900

gtggacggcg tggaggtgca taatgccaag acaaagccgc gggaggagca gtacaacagc 960

acgtaccgtg tggtcagcgt cctcaccgtc ctgcaccagg actggctgaa tggcaaggag 1020

tacaagtgca aggtctccaa caaagccctc ccagccccca tcgagaaaac catctccaaa 1080

gccaaagggc agccccgaga accacaggtg tacaccctgc ccccatcccg ggatgagctg 1140

accaagaacc aggtcagcct gacctgcctg gtcaaaggct tctatcccag cgacatcgcc 1200

gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag aacaactaca agaccacgcc tcccgtgctg 1260

gactccgacg gctccttctt cctctatagc aagctcaccg tggacaagag caggtggcag 1320

caggggaacg tcttctcatg ctccgtgatg catgaggctc tgcacaacca ctacacgcag 1380

aagagcctct ccctgtctcc gggtaaa 1407

<210> 26
<211> 469
<212> PRT
<213> 人類

<400> 26

```
Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Leu Leu Arg Gly
1               5                  10                  15

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

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

Ser Asn Tyr Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
    50                  55                  60

Glu Trp Val Ala Ala Ile Trp Asn Asp Gly Glu Asn Lys His His Ala
65                  70                  75                  80

Gly Ser Val Arg Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn
                85                  90                  95

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

Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Arg Tyr Phe Asp Trp Leu Leu Phe Glu Tyr
        115                 120                 125

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
    130                 135                 140

Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly
145                 150                 155                 160

Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val
                165                 170                 175

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
            180                 185                 190

Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
```

```
       195                 200                 205

Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val
    210                 215                 220

Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys
225                 230                 235                 240

Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu
                245                 250                 255

Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
            260                 265                 270

Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
        275                 280                 285

Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
    290                 295                 300

Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser
305                 310                 315                 320

Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
                325                 330                 335

Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala
            340                 345                 350

Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
        355                 360                 365

Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln
    370                 375                 380

Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
385                 390                 395                 400

Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
                405                 410                 415

Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu
            420                 425                 430

Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
        435                 440                 445

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

Leu Ser Pro Gly Lys
465
```

<210> 27
<211> 1395
<212> DNA
<213> 人類

<400> 27
atggagtttg ggctgagctg ggttttcctc gttgctcttt taagaggtgt ccagtgtcag 60

gtgcagctgg tggagtctgg gggaggcgtg gtccagcctg ggaggtccct gagactctcc 120

tgtgcagtgt ctggattcac cttcagtaac tatggcatgc actgggtccg ccaggctcca 180

ggcaaggggc tggagtgggt ggcagctata tggaatgatg gagaaaataa acaccatgca 240

ggctccgtga ggggccgatt caccatctcc agagacaatt ccaagaacac gctgtatctg 300

caaatgaaca gcctgagagc cgaggacacg gctgtgtatt actgtgcgag aggacgatat 360

tttgactggt tattatttga gtattggggc cagggaaccc tggtcaccgt ctctagtgcc 420

tccaccaagg gcccatcggt cttccccctg gcgccctgct ccaggagcac ctccgagagc 480

acagcggccc tgggctgcct ggtcaaggac tacttccccg aaccggtgac ggtgtcgtgg 540

aactcaggcg ctctgaccag cggcgtgcac accttcccag ctgtcctaca gtcctcagga 600

ctctactccc tcagcagcgt ggtgaccgtg ccctccagca acttcggcac ccagacctac 660

acctgcaacg tagatcacaa gcccagcaac accaaggtgg acaagacagt tgagcgcaaa 720

tgttgtgtcg agtgcccacc gtgcccagca ccacctgtgg caggaccgtc agtcttcctc 780

ttccccccaa aacccaagga caccctcatg atctcccgga cccctgaggt cacgtgcgtg 840

gtggtggacg tgagccacga agaccccgag gtccagttca actggtacgt ggacggcgtg 900

gaggtgcata atgccaagac aaagccacgg gaggagcagt tcaacagcac gttccgtgtg 960

gtcagcgtcc tcaccgttgt gcaccaggac tggctgaacg gcaaggagta caagtgcaag 1020

gtctccaaca aaggcctccc agcccccatc gagaaaacca tctccaaaac caaagggcag 1080

ccccgagaac cacaggtgta caccctgccc ccatcccggg aggagatgac caagaaccag 1140

gtcagcctga cctgcctggt caaaggcttc taccccagcg acatcgccgt ggagtgggag 1200

agcaatgggc agccggagaa caactacaag accacacctc ccatgctgga ctccgacggc 1260

tccttcttcc tctacagcaa gctcaccgtg gacaagagca ggtggcagca ggggaacgtc 1320

ttctcatgct ccgtgatgca tgaggctctg cacaaccact acacgcagaa gagcctctcc 1380

ctgtctccgg gtaaa 1395

<210> 28
<211> 465
<212> PRT
<213> 人類

<400> 28

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

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

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

```
       35                  40                  45

Ser Asn Tyr Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
    50                  55                  60

Glu Trp Val Ala Ala Ile Trp Asn Asp Gly Glu Asn Lys His His Ala
65                  70                  75                  80

Gly Ser Val Arg Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn
                85                  90                  95

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

Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Arg Tyr Phe Asp Trp Leu Leu Phe Glu Tyr
       115                 120                 125

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
    130                 135                 140

Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser
145                 150                 155                 160

Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val
                165                 170                 175

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
           180                 185                 190

Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
       195                 200                 205

Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val
    210                 215                 220

Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys
225                 230                 235                 240

Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro
                245                 250                 255

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
           260                 265                 270

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
       275                 280                 285

Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
    290                 295                 300

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val
305                 310                 315                 320

Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
                325                 330                 335

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
           340                 345                 350

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

```
Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
    370                 375                 380

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
385                 390                 395                 400

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu
                405                 410                 415

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
            420                 425                 430

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
        435                 440                 445

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
    450                 455                 460

Lys
465
```

<210> 29
<211> 1398
<212> DNA
<213> 人類

<400> 29

```
atggagtttg ggctgagctg ggttttcctc gttgctcttt taagaggtgt ccagtgtcag     60

gtgcagctgg tggagtctgg gggaggcgtg gtccagcctg ggaggtccct gagactctcc    120

tgtgcagtgt ctggattcac cttcagtaac tatggcatgc actgggtccg ccaggctcca    180

ggcaaggggc tggagtgggt ggcagctata tggaatgatg gagaaaataa acaccatgca    240

ggctccgtga ggggccgatt caccatctcc agagacaatt ccaagaacac gctgtatctg    300

caaatgaaca gcctgagagc cgaggacacg gctgtgtatt actgtgcgag aggacgatat    360

tttgactggt tattatttga gtattggggc cagggaaccc tggtcaccgt ctctagtgcc    420

agcaccaagg ggccatccgt cttccccctg gcgccctgct ccaggagcac ctccgagagc    480

acagccgccc tgggctgcct ggtcaaggac tacttccccg aaccggtgac ggtgtcgtgg    540

aactcaggcg ccctgaccag cggcgtgcac accttcccgg ctgtcctaca gtcctcagga    600

ctctactccc tcagcagcgt ggtgaccgtg ccctccagca gcttgggcac gaagacctac    660

acctgcaacg tagatcacaa gcccagcaac accaaggtgg acaagagagt tgagtccaaa    720

tatggtcccc catgcccatc atgcccagca cctgagttcc tgggggggacc atcagtcttc    780

ctgttccccc caaaacccaa ggacactctc atgatctccc ggacccctga ggtcacgtgc    840

gtggtggtgg acgtgagcca ggaagacccc gaggtccagt tcaactggta cgtggatggc    900

gtggaggtgc ataatgccaa gacaaagccg cgggaggagc agttcaacag cacgtaccgt    960
```

gtggtcagcg tcctcaccgt cctgcaccag gactggctga acggcaagga gtacaagtgc 1020

aaggtctcca acaaaggcct cccgtcctcc atcgagaaaa ccatctccaa agccaaaggg 1080

cagccccgag agccacaggt gtacaccctg cccccatccc aggaggagat gaccaagaac 1140

caggtcagcc tgacctgcct ggtcaaaggc ttctacccca gcgacatcgc cgtggagtgg 1200

gagagcaatg ggcagccgga gaacaactac aagaccacgc ctcccgtgct ggactccgac 1260

ggctccttct tcctctacag caggctaacc gtgracaaga gcaggtggca ggaggggaat 1320

gtcttctcat gctccgtgak gcatgaggct ctgcacaacc actacacaca gaagagcctc 1380

tccctgtctc tgggtaaa 1398

<210> 30
<211> 466
<212> PRT
<213> 人類

<400> 30

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

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

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

Ser Asn Tyr Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Val Ala Ala Ile Trp Asn Asp Gly Glu Asn Lys His His Ala
65 70 75 80

Gly Ser Val Arg Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn
85 90 95

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

Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Arg Tyr Phe Asp Trp Leu Leu Phe Glu Tyr
115 120 125

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
130 135 140

Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser
145 150 155 160

Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val
165 170 175

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
180 185 190

Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
195 200 205

```
Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val
    210                 215                 220

Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys
225                 230                 235                 240

Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro Glu Phe Glu Gly Gly
                245                 250                 255

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
            260                 265                 270

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu
        275                 280                 285

Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
    290                 295                 300

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg
305                 310                 315                 320

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
                325                 330                 335

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu
            340                 345                 350

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

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

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
385                 390                 395                 400

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

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp
            420                 425                 430

Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
        435                 440                 445

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu
    450                 455                 460

Gly Lys
465
```

<210> 31
<211> 1401
<212> DNA
<213> 人類

<400> 31
atggggtcaa ccgccatcct cgccctcctc ctggctgttc tccaaggagt ctgtgccgag 60

gtgcagctga tgcagtctgg agcagaggtg aaaaagcccg gggagtctct gaagatctcc 120

tgtaagggtt ctggatacag cttttccttc cactggatcg cctgggtgcg ccagatgccc 180

gggaaaggcc tggagtggat ggggatcatc catcctggtg cctctgatac cagatacagc 240

ccgtccttcc aaggccaggt caccatctca gccgacaact ccaacagcgc cacctacctg 300

cagtggagca gcctgaaggc ctcggacacc gccatgtatt tctgtgcgag acaaagggaa 360

ctcgactact ttgactactg gggccaggga accctggtca ccgtctctag tgcctccacc 420

aagggcccat cggtcttccc cctggcaccc tcctccaaga gcacctctgg gggcacagcg 480

gccctgggct gcctggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacggtgtc gtggaactca 540

ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggctgtcc tacagtcctc aggactctac 600

tccctcagca gcgtggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcacccagac ctacatctgc 660

aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga aagttgagcc caaatcttgt 720

gacaaaactc acacatgccc accgtgccca gcacctgaac tcctgggggg accgtcagtc 780

ttcctcttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca 840

tgcgtggtgg tggacgtgag ccacgaagac cctgaggtca agttcaactg gtacgtggac 900

ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagtacaa cagcacgtac 960

cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag 1020

tgcaaggtct ccaacaaagc cctcccagcc cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa 1080

gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc ctgccccccat cccgggatga gctgaccaag 1140

aaccaggtca gcctgacctg cctggtcaaa ggcttctatc ccagcgacat cgccgtggag 1200

tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccgt gctggactcc 1260

gacggctcct tcttcctcta tagcaagctc accgtggaca agagcaggtg gcagcagggg 1320

aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc 1380

ctctccctgt ctccgggtaa a 1401

<210> 32
<211> 467
<212> PRT
<213> 人類

<400> 32

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

Val Cys Ala Glu Val Gln Leu Met Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
20 25 30

Pro Gly Glu Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe
35 40 45

```
Ser Phe His Trp Ile Ala Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu
   50              55              60

Glu Trp Met Gly Ile Ile His Pro Gly Ala Ser Asp Thr Arg Tyr Ser
65              70              75              80

Pro Ser Phe Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Asn Ser Asn Ser
            85              90              95

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

Tyr Phe Cys Ala Arg Gln Arg Glu Leu Asp Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly
    115             120             125

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

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
145             150             155             160

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
            165             170             175

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
        180             185             190

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
    195             200             205

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
210             215             220

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
225             230             235             240

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
            245             250             255

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
        260             265             270

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
    275             280             285

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
290             295             300

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
305             310             315             320

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
            325             330             335

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
        340             345             350

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
    355             360             365
```

```
Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
    370                 375                 380

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
385                 390                 395                 400

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
                405                 410                 415

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
            420                 425                 430

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
        435                 440                 445

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
    450                 455                 460

Pro Gly Lys
465
```

<210> 33
<211> 1389
<212> DNA
<213> 人類

<400> 33

```
atggggtcaa ccgccatcct cgccctcctc ctggctgttc tccaaggagt ctgtgccgag     60

gtgcagctga tgcagtctgg agcagaggtg aaaaagcccg gggagtctct gaagatctcc    120

tgtaagggtt ctggatacag cttttccttc cactggatcg cctgggtgcg ccagatgccc    180

gggaaaggcc tggagtggat ggggatcatc catcctggtg cctctgatac cagatacagc    240

ccgtccttcc aaggccaggt caccatctca gccgacaact ccaacagcgc cacctacctg    300

cagtggagca gcctgaaggc ctcggacacc gccatgtatt tctgtgcgag acaaagggaa    360

ctcgactact ttgactactg gggccaggga accctggtca ccgtctctag tgcctccacc    420

aagggcccat cggtcttccc cctggcgccc tgctccagga gcacctccga gagcacagcg    480

gccctgggct gcctggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacggtgtc gtggaactca    540

ggcgctctga ccagcggcgt gcacaccttc ccagctgtcc tacagtcctc aggactctac    600

tccctcagca gcgtggtgac cgtgccctcc agcaacttcg gcacccagac ctacacctgc    660

aacgtagatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga cagttgagcg caaatgttgt    720

gtcgagtgcc caccgtgccc agcaccacct gtggcaggac cgtcagtctt cctcttcccc    780

ccaaaaccca aggacaccct catgatctcc cggacccctg aggtcacgtg cgtggtggtg    840

gacgtgagcc acgaagaccc cgaggtccag ttcaactggt acgtggacgg cgtggaggtg    900

cataatgcca agacaaagcc acgggaggag cagttcaaca gcacgttccg tgtggtcagc    960

gtcctcaccg ttgtgcacca ggactggctg aacggcaagg agtacaagtg caaggtctcc   1020
```

aacaaaggcc tcccagcccc catcgagaaa accatctcca aaaccaaagg gcagccccga 1080

gaaccacagg tgtacaccct gcccccatcc cgggaggaga tgaccaagaa ccaggtcagc 1140

ctgacctgcc tggtcaaagg cttctacccc agcgacatcg ccgtggagtg ggagagcaat 1200

gggcagccgg agaacaacta caagaccaca cctcccatgc tggactccga cggctccttc 1260

ttcctctaca gcaagctcac cgtggacaag agcaggtggc agcaggggaa cgtcttctca 1320

tgctccgtga tgcatgaggc tctgcacaac cactacacgc agaagagcct ctccctgtct 1380

ccgggtaaa 1389

<210> 34
<211> 463
<212> PRT
<213> 人類

<400> 34

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

Val Cys Ala Glu Val Gln Leu Met Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
20 25 30

Pro Gly Glu Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe
35 40 45

Ser Phe His Trp Ile Ala Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Met Gly Ile Ile His Pro Gly Ala Ser Asp Thr Arg Tyr Ser
65 70 75 80

Pro Ser Phe Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Asn Ser Asn Ser
85 90 95

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

Tyr Phe Cys Ala Arg Gln Arg Glu Leu Asp Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly
115 120 125

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

Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala
145 150 155 160

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
165 170 175

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
180 185 190

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
195 200 205

```
Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His
   210              215              220

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys
225              230              235              240

Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val
             245              250              255

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
          260              265              270

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
       275              280              285

Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
   290              295              300

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser
305              310              315              320

Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
             325              330              335

Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
          340              345              350

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

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

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
385              390              395              400

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

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
          420              425              430

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

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
   450              455              460
```

<210> 35
<211> 1392
<212> DNA
<213> 人類

<400> 35
atggggtcaa ccgccatcct cgccctcctc ctggctgttc tccaaggagt ctgtgccgag 60

gtgcagctga tgcagtctgg agcagaggtg aaaaagcccg gggagtctct gaagatctcc 120

tgtaagggtt ctggatacag cttttccttc cactggatcg cctgggtgcg ccagatgccc 180

gggaaaggcc tggagtggat ggggatcatc catcctggtg cctctgatac cagatacagc 240

ccgtccttcc aaggccaggt caccatctca gccgacaact ccaacagcgc cacctacctg 300

cagtggagca gcctgaaggc ctcggacacc gccatgtatt tctgtgcgag acaaagggaa 360

ctcgactact ttgactactg gggccaggga accctggtca ccgtctctag tgccagcacc 420

aaggggccat ccgtcttccc cctggcgccc tgctccagga gcacctccga gagcacagcc 480

gccctgggct gcctggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacggtgtc gtggaactca 540

ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggctgtcc tacagtcctc aggactctac 600

tccctcagca gcgtggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcacgaagac ctacacctgc 660

aacgtagatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga gagttgagtc caaatatggt 720

cccccatgcc catcatgccc agcacctgag ttcctggggg gaccatcagt cttcctgttc 780

cccccaaaac ccaaggacac tctcatgatc tcccggaccc ctgaggtcac gtgcgtggtg 840

gtggacgtga gccaggaaga ccccgaggtc cagttcaact ggtacgtgga tggcgtggag 900

gtgcataatg ccaagacaaa gccgcgggag gagcagttca acagcacgta ccgtgtggtc 960

agcgtcctca ccgtcctgca ccaggactgg ctgaacggca aggagtacaa gtgcaaggtc 1020

tccaacaaag gcctcccgtc ctccatcgag aaaaccatct ccaaagccaa agggcagccc 1080

cgagagccac aggtgtacac cctgccccca tcccaggagg agatgaccaa gaaccaggtc 1140

agcctgacct gcctggtcaa aggcttctac cccagcgaca tcgccgtgga gtgggagagc 1200

aatgggcagc cggagaacaa ctacaagacc acgcctcccg tgctggactc cgacggctcc 1260

ttcttcctct acagcaggct aaccgtgrac aagagcaggt ggcaggaggg gaatgtcttc 1320

tcatgctccg tgakgcatga ggctctgcac aaccactaca cacagaagag cctctccctg 1380

tctctgggta aa 1392

<210> 36
<211> 464
<212> PRT
<213> 人類

<400> 36

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

Val Cys Ala Glu Val Gln Leu Met Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
20 25 30

Pro Gly Glu Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe
35 40 45

Ser Phe His Trp Ile Ala Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu
50 55 60

```
Glu Trp Met Gly Ile Ile His Pro Gly Ala Ser Asp Thr Arg Tyr Ser
65                  70                  75                  80

Pro Ser Phe Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Asn Ser Asn Ser
                85                  90                  95

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

Tyr Phe Cys Ala Arg Gln Arg Glu Leu Asp Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly
        115                 120                 125

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

Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala
145                 150                 155                 160

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
                165                 170                 175

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
            180                 185                 190

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
        195                 200                 205

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His
    210                 215                 220

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly
225                 230                 235                 240

Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro Glu Phe Glu Gly Gly Pro Ser
                245                 250                 255

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
            260                 265                 270

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro
        275                 280                 285

Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
    290                 295                 300

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
305                 310                 315                 320

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
                325                 330                 335

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr
            340                 345                 350

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

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

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
```

385 390 395 400

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

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser
420 425 430

Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
435 440 445

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
450 455 460

<210> 37
<211> 705
<212> DNA
<213> 人類

<400> 37
atggaagccc cagctcagct tctcttcctc ctgctactct ggctcccaga taccaccgga 60

gaaattgtgt tgacacagtc tccagccacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 120

ctctcctgca gggccagtca gagtgttagc agctacttag cctggtacca acagaaacct 180

ggccaggctc ccaggctcct catctatgat gcatccaaca gggccactgg catcccagcc 240

aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagac ttcactctca ccatcagcag cctagagcct 300

gaagattttg cagtttatta ctgtcagcag cgtagcaact ggcctccgct cactttcggc 360

ggagggacca aggtggagat caaacgaact gtggctgcac catctgtctt catcttcccg 420

ccatctgatg agcagttgaa atctggaact gcctctgttg tgtgcctgct gaataacttc 480

tatcccagag aggccaaagt acagtggaag gtggataacg ccctccaatc gggtaactcc 540

caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcaccctg 600

acgctgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctacg cctgcgaagt cacccatcag 660

ggcctgagct cgcccgtcac aaagagcttc aacaggggag agtgt 705

<210> 38
<211> 235
<212> PRT
<213> 人類

<400> 38
Met Glu Ala Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Leu Trp Leu Pro
1 5 10 15

Asp Thr Thr Gly Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser
20 25 30

Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser
35 40 45

```
Val Ser Ser Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro
   50                  55                  60

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

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
                85                  90                  95

Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser
           100                 105                 110

Asn Trp Pro Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
       115                 120                 125

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
   130                 135                 140

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
145                 150                 155                 160

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
                165                 170                 175

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

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

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

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

<210> 39
<211> 699
<212> DNA
<213> 人類

<400> 39

```
atgtcgccat cacaactcat tgggtttctg ctgctctggg ttccagcctc caggggtgaa    60

attgtgctga ctcagtctcc agactttcag tctgtgactc caaaggagaa agtcaccatc   120

acctgccggg ccagtcagag cattggtagt agcttacact ggtaccagca gaaaccagat   180

cagtctccaa agctcctcat caagtatgct tcccagtcct tctcaggggt cccctcgagg   240

ttcagtggca gtggatctgg gacagatttc accctcacca tcaatagcct ggaagctgaa   300

gatgctgcag cgtattactg tcatcagagt agtagtttac ctctcacttt cggcggaggg   360

accaaggtgg agatcaaacg aactgtggct gcaccatctg tcttcatctt cccgccatct   420

gatgagcagt tgaaatctgg aactgcctct gttgtgtgcc tgctgaataa cttctatccc   480

agagaggcca aagtacagtg gaaggtggat aacgccctcc aatcgggtaa ctcccaggag   540
```

agtgtcacag agcaggacag caaggacagc acctacagcc tcagcagcac cctgacgctg 600

agcaaagcag actacgagaa acacaaagtc tacgcctgcg aagtcaccca tcagggcctg 660

agctcgcccg tcacaaagag cttcaacagg ggagagtgt 699

<210> 40
<211> 233
<212> PRT
<213> 人類

<400> 40

```
Met Ser Pro Ser Gln Leu Ile Gly Phe Leu Leu Leu Trp Val Pro Ala
1               5                  10                  15

Ser Arg Gly Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Phe Gln Ser Val
            20                  25                  30

Thr Pro Lys Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile
        35                  40                  45

Gly Ser Ser Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ser Pro Lys
    50                  55                  60

Leu Leu Ile Lys Tyr Ala Ser Gln Ser Phe Ser Gly Val Pro Ser Arg
65                  70                  75                  80

Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser
                85                  90                  95

Leu Glu Ala Glu Asp Ala Ala Ala Tyr Tyr Cys His Gln Ser Ser Ser
            100                 105                 110

Leu Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
        115                 120                 125

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu
    130                 135                 140

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro
145                 150                 155                 160

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly
                165                 170                 175

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

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

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

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
225                 230
```

<210> 41
<211> 5

<212> PRT
<213> 人類

<400> 41
Leu Ser Asp Ile Ala
1 5

<210> 42
<211> 4
<212> PRT
<213> 人類

<400> 42
Val Ile Asp Glu
1

<210> 43
<211> 4
<212> PRT
<213> 人類

<400> 43
Thr Cys Phe Ala
1

<210> 44
<211> 24
<212> DNA
<213> 人造的

<220>
<223> PCR的寡核苷酸引子

<220>
<221> misc_feature
<222> (18)..(23)
<223> n為a、c、t或g

<400> 44
ggccggatag gcctccannn nnnt 24

<210> 45
<211> 26
<212> DNA
<213> 人造的

<220>
<223> PCR的寡核苷酸引子

<400> 45
ggacactgac atggactgaa ggagta 26

<210> 46
<211> 26
<212> DNA

<213> 人造的

<220>
<223> PCR的寡核苷酸引子

<400> 46
ggacactgac atggactgaa ggagta 26

<210> 47
<211> 46
<212> DNA
<213> 人造的

<220>
<223> PCR的寡核苷酸引子

<400> 47
cagcagaagc ttctagacca ccatgtcgcc atcacaactc attggg 46

<210> 48
<211> 34
<212> DNA
<213> 人造的

<220>
<223> PCR的寡核苷酸引子

<400> 48
cttgtcgact caacactctc ccctgttgaa gctc 34

<210> 49
<211> 8
<212> PRT
<213> 人造的

<220>
<223> 由5'抗-IL-1R1 15C4 κ引子編碼的胺基酸序列

<400> 49
Met Ser Pro Ser Gln Leu Ile Gly
1 5

<210> 50
<211> 7
<212> PRT
<213> 人造的

<220>
<223> 由3'抗-IL-1R1 15C4 κ引子編碼的胺基酸序列

<400> 50
Cys Glu Gly Arg Asn Phe Ser
1 5

<210> 51

<211> 1409
<212> DNA
<213> 人類

<400> 51
tctagaccac catggacatc aggctcagct tagttttcct tgtccttttc ataaaaggtg 60

tccagtgtga ggtagaactg gtggagtctg ggggcggctt agtacaacct ggaaggtcca 120

tgacactctc ctgtgcagcc tcgggattca ctttcagaac ctatggcatg gcctgggtcc 180

gccaggcccc aacgaagggt ctggagtggg tctcatcaat tactgctagt ggtggtacca 240

cctactatcg agactccgtg aagggccgct tcactatttt tagggataat gcaaaaagta 300

ccctatacct gcagatggac agtccgaggt ctgaggacac ggccacttat ttctgtacat 360

caatttcgga atactggggc cacggagtca tggtcaccgt ctctagtgcc tccaccaagg 420

gcccatcggt cttccccctg gcaccctcct ccaagagcac ctctgggggc acagcggccc 480

tgggctgcct ggtcaaggac tacttccccg aaccggtgac ggtgtcgtgg aactcaggcg 540

ccctgaccag cggcgtgcac accttcccgg ctgtcctaca gtcctcagga ctctactccc 600

tcagcagcgt ggtgaccgtg ccctccagca gcttgggcac ccagacctac atctgcaacg 660

tgaatcacaa gcccagcaac accaaggtgg acaagaaagt tgagcccaaa tcttgtgaca 720

aaactcacac atgcccaccg tgcccagcac ctgaactcct gggggggaccg tcagtcttcc 780

tcttcccccc aaaacccaag gacaccctca tgatctcccg gacccctgag gtcacatgcg 840

tggtggtgga cgtgagccac gaagaccctg aggtcaagtt caactggtac gtggacggcg 900

tggaggtgca taatgccaag acaaagccgc gggaggagca gtacaacagc acgtaccgtg 960

tggtcagcgt cctcaccgtc ctgcaccagg actggctgaa tggcaaggag tacaagtgca 1020

aggtctccaa caaagccctc ccagccccca tcgagaaaac catctccaaa gccaaagggc 1080

agccccgaga accacaggtg tacaccctgc ccccatcccg ggatgagctg accaagaacc 1140

aggtcagcct gacctgcctg gtcaaaggct tctatcccag cgacatcgcc gtggagtggg 1200

agagcaatgg gcagccggag aacaactaca agaccacgcc tcccgtgctg gactccgacg 1260

gctccttctt cctctatagc aagctcaccg tggacaagag caggtggcag caggggaacg 1320

tcttctcatg ctccgtgatg catgaggctc tgcacaacca ctacacgcag aagagcctct 1380

ccctgtctcc gggtaaatga taagtcgac 1409

<210> 52
<211> 19
<212> DNA
<213> 人造的

<220>
<223> PCR的寡核苷酸引子

<400> 52
tgaggacgct gaccacacg 19

<210> 53
<211> 44
<212> DNA
<213> 人造的

<220>
<223> PCR的寡核苷酸引子

<400> 53
cagcagaagc ttctagacca ccatggggtc aaccgccatc ctcg 44

<210> 54
<211> 32
<212> DNA
<213> 人造的

<220>
<223> PCR的寡核苷酸引子

<400> 54
gtggaggcac tagagacggt gaccagggtt cc 32

<210> 55
<211> 7
<212> PRT
<213> 人造的

<220>
<223> 由5'抗-IL-1R1 15C4重鏈引子編碼的胺基酸序列

<400> 55
Met Gly Ser Thr Ala Ile Leu
1 5

<210> 56
<211> 11
<212> PRT
<213> 人造的

<220>
<223> 由3'抗-IL-1R1 15C4重鏈引子編碼的胺基酸序列

<400> 56
Thr Ser Ala Ser Ser Val Thr Val Leu Thr Gly
1 5 10

<210> 57
<211> 1415
<212> DNA
<213> 人類

<400> 57
tctagaccac catggacatg agggtccccg ctcagctcct ggggctcctg ctattgtggt 60

tgagaggtgc cagatgtgag gtccagctgg tgcagtctgg gggaggcttg gtacatcctg 120

gggggtccct gagactctcc tgtgcaggct ctggattcac cttcagtggc catgctttgc 180

actgggttcg ccaggctcca ggaaaaggtc tggagtgggt atcaggtatt ggtactcatg 240

gtgggacata ctatgcagac tccgtgaagg gccgattcac catctccaga gacaatgcca 300

agaactcctt gtttcttcaa atgaacagcc tgagcgccga ggacatggct gtgtattact 360

gtacaagaag aaactgggga caatttgact actggggcca gggaaccctg gtcaccgtct 420

ctagtgcctc caccaagggc ccatcggtct tccccctggc gccctgctcc aggagcacct 480

ccgagagcac agcggccctg ggctgcctgg tcaaggacta cttccccgaa ccggtgacgg 540

tgtcgtggaa ctcaggcgct ctgaccagcg gcgtgcacac cttcccagct gtcctacagt 600

cctcaggact ctactccctc agcagcgtgg tgaccgtgcc ctccagcaac ttcggcaccc 660

agacctacac ctgcaacgta gatcacaagc ccagcaacac caaggtggac aagacagttg 720

agcgcaaatg ttgtgtcgag tgcccaccgt gcccagcacc acctgtggca ggaccgtcag 780

tcttcctctt ccccccaaaa cccaaggaca ccctcatgat ctcccggacc cctgaggtca 840

cgtgcgtggt ggtggacgtg agccacgaag accccgaggt ccagttcaac tggtacgtgg 900

acggcgtgga ggtgcataat gccaagacaa agccacggga ggagcagttc aacagcacgt 960

tccgtgtggt cagcgtcctc accgttgtgc accaggactg gctgaacggc aaggagtaca 1020

agtgcaaggt ctccaacaaa ggcctcccag ccccatcga gaaaaccatc tccaaaacca 1080

aagggcagcc ccgagaacca caggtgtaca ccctgccccc atcccgggag gagatgacca 1140

agaaccaggt cagcctgacc tgcctggtca aaggcttcta ccccagcgac atcgccgtgg 1200

agtgggagag caatgggcag ccggagaaca actacaagac cacacctccc atgctggact 1260

ccgacggctc cttcttcctc tacagcaagc tcaccgtgga caagagcagg tggcagcagg 1320

ggaacgtctt ctcatgctcc gtgatgcatg aggctctgca caaccactac acgcagaaga 1380

gcctctccct gtctccgggt aaatgataag tcgac 1415

<210> 58
<211> 1418
<212> DNA
<213> 人類

<400> 58
tctagaccac catggacatg agggtccccg ctcagctcct ggggctcctg ctattgtggt 60

tgagaggtgc cagatgtgag gtccagctgg tgcagtctgg gggaggcttg gtacatcctg 120

gggggtccct gagactctcc tgtgcaggct ctggattcac cttcagtggc catgctttgc 180

actgggttcg ccaggctcca ggaaaaggtc tggagtgggt atcaggtatt ggtactcatg 240

gtgggacata ctatgcagac tccgtgaagg gccgattcac catctccaga gacaatgcca 300

agaactcctt gtttcttcaa atgaacagcc tgagcgccga ggacatggct gtgtattact 360

gtacaagaag aaactgggga caatttgact actggggcca gggaaccctg gtcaccgtct 420

ctagtgccag caccaagggg ccatccgtct tccccctggc gccctgctcc aggagcacct 480

ccgagagcac agccgccctg ggctgcctgg tcaaggacta cttccccgaa ccggtgacgg 540

tgtcgtggaa ctcaggcgcc ctgaccagcg gcgtgcacac cttcccggct gtcctacagt 600

cctcaggact ctactccctc agcagcgtgg tgaccgtgcc ctccagcagc ttgggcacga 660

agacctacac ctgcaacgta gatcacaagc ccagcaacac caaggtggac aagagagttg 720

agtccaaata tggtccccca tgcccatcat gcccagcacc tgagttcctg gggggaccat 780

cagtcttcct gttcccccca aaacccaagg acactctcat gatctcccgg acccctgagg 840

tcacgtgcgt ggtggtggac gtgagccagg aagaccccga ggtccagttc aactggtacg 900

tggatggcgt ggaggtgcat aatgccaaga caaagccgcg ggaggagcag ttcaacagca 960

cgtaccgtgt ggtcagcgtc ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaac ggcaaggagt 1020

acaagtgcaa ggtctccaac aaaggcctcc cgtcctccat cgagaaaacc atctccaaag 1080

ccaaagggca gccccgagag ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccag gaggagatga 1140

ccaagaacca ggtcagcctg acctgcctgg tcaaaggctt ctaccccagc gacatcgccg 1200

tggagtggga gagcaatggg cagccggaga acaactacaa gaccacgcct cccgtgctgg 1260

actccgacgg ctccttcttc ctctacagca ggctaaccgt ggacaagagc aggtggcagg 1320

aggggaatgt cttctcatgc tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac tacacacaga 1380

agagcctctc cctgtctctg ggtaaatgat aagtcgac 1418

<210> 59
<211> 336
<212> PRT
<213> 人造的

<220>
<223> 抗生物素蛋白-人類IL-1R1-FLAG嵌合型蛋白質

<400> 59
Met Lys Val Leu Leu Arg Leu Ile Cys Phe Ile Ala Leu Leu Ile Ser
1 5 10 15

Phe Leu Glu Ala Asp Lys Cys Asn Glu Arg Glu Glu Lys Ile Ile Leu
20 25 30

Val Ser Ser Ala Asn Glu Ile Asp Val Arg Pro Cys Pro Leu Asn Pro
35 40 45

```
Asn Glu Tyr Lys Gly Thr Ile Thr Trp Tyr Lys Asn Asp Ser Lys Thr
    50                  55                  60

Pro Ile Ser Thr Glu Gln Ala Ser Arg Ile His Gln His Lys Lys Lys
65                  70                  75                  80

Leu Trp Phe Val Pro Ala Lys Val Glu Asp Ser Gly His Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Val Val Arg Asn Ser Ser Tyr Cys Leu Arg Ile Lys Ile Thr Ala Lys
            100                 105                 110

Phe Val Glu Asn Glu Pro Asn Leu Cys Tyr Asn Ala Glu Ala Ile Phe
        115                 120                 125

Lys Gln Arg Leu Pro Val Ala Gly Asp Gly Gly Leu Val Cys Pro Tyr
    130                 135                 140

Met Glu Phe Phe Lys Asp Glu Asn Asn Glu Leu Pro Lys Leu Leu Trp
145                 150                 155                 160

Tyr Lys Asp Cys Lys Pro Leu Leu Leu Asp Asn Ile His Phe Ser Gly
                165                 170                 175

Val Lys Asp Arg Leu Ile Val Met Asn Val Ala Glu Lys His Arg Gly
            180                 185                 190

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

Ile Thr Arg Val Ile Glu Phe Ile Thr Leu Glu Glu Asn Lys Pro Thr
    210                 215                 220

Arg Pro Val Ile Val Ser Pro Ala Asn Glu Thr Ile Glu Val Asp Leu
225                 230                 235                 240

Gly Ser Gln Ile Gln Leu Ile Cys Asn Val Thr Gly Gln Leu Ser Asp
                245                 250                 255

Thr Ala Tyr Trp Lys Trp Asn Gly Ser Phe Ile Asp Glu Asp Asp Pro
            260                 265                 270

Val Leu Gly Glu Asp Tyr Tyr Ser Val Glu Asn Pro Ala Asn Lys Arg
        275                 280                 285

Arg Ser Thr Leu Ile Thr Val Leu Asn Ile Ser Glu Thr Glu Ser Arg
    290                 295                 300

Phe Tyr Lys His Pro Phe Thr Cys Leu Ala Arg Asn Thr His Gly Met
305                 310                 315                 320

Asp Ala Ala Tyr Val Gln Leu Ile Tyr Pro Val Thr Lys Phe Gln Lys
                325                 330                 335
```

<210> 60
<211> 485
<212> PRT
<213> 人造的

<220>
<223> 抗生物素蛋白-彌猴IL-1R1-FLAG嵌合型蛋白質

<400> 60
Met Val His Ala Thr Ser Pro Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu Ser Leu
1 5 10 15

Ala Leu Val Ala Pro Gly Leu Ser Ala Arg Lys Cys Ser Leu Thr Gly
20 25 30

Lys Trp Thr Asn Asp Leu Gly Ser Asn Met Thr Ile Gly Ala Val Asn
35 40 45

Ser Lys Gly Glu Phe Thr Gly Thr Tyr Thr Thr Ala Val Thr Ala Thr
50 55 60

Ser Asn Glu Ile Lys Glu Ser Pro Leu His Gly Thr Gln Asn Thr Ile
65 70 75 80

Asn Lys Arg Thr Gln Pro Thr Phe Gly Phe Thr Val Asn Trp Lys Phe
85 90 95

Ser Glu Ser Thr Thr Val Phe Thr Gly Gln Cys Phe Ile Asp Arg Asn
100 105 110

Gly Lys Glu Val Leu Lys Thr Met Trp Leu Leu Arg Ser Ser Val Asn
115 120 125

Asp Ile Gly Asp Asp Trp Lys Ala Thr Arg Val Gly Ile Asn Ile Phe
130 135 140

Thr Arg Leu Arg Thr Gln Lys Glu Gln Leu Leu Ala Ser Leu Leu Glu
145 150 155 160

Ala Asp Lys Cys Asn Glu Arg Glu Glu Lys Ile Ile Leu Val Ser Ser
165 170 175

Ala Asn Glu Ile Asp Val Arg Pro Cys Pro Leu Asn Pro Asn Glu Tyr
180 185 190

Lys Gly Thr Ile Thr Trp Tyr Lys Asn Asp Ser Lys Thr Pro Ile Ser
195 200 205

Thr Glu Gln Ala Ser Arg Ile His Gln His Lys Lys Lys Leu Trp Phe
210 215 220

Val Pro Ala Lys Val Glu Asp Ser Gly His Tyr Tyr Cys Val Val Arg
225 230 235 240

Asn Ser Ser Tyr Cys Leu Arg Ile Lys Ile Thr Ala Lys Phe Val Glu
245 250 255

Asn Glu Pro Asn Leu Cys Tyr Asn Ala Glu Ala Ile Phe Lys Gln Arg
260 265 270

Leu Pro Val Ala Gly Asp Gly Gly Leu Val Cys Pro Tyr Met Glu Phe
275 280 285

Phe Lys Asp Glu Asn Asn Glu Leu Pro Lys Leu Leu Trp Tyr Lys Asp
290 295 300

```
Cys Lys Pro Leu Leu Leu Asp Asn Ile His Phe Ser Gly Val Lys Asp
305              310              315              320

Arg Leu Ile Val Met Asn Val Ala Glu Lys His Arg Gly Asn Tyr Thr
             325              330              335

Cys His Ala Ser Tyr Thr Tyr Leu Gly Lys Gln Tyr Pro Ile Thr Arg
          340              345              350

Val Ile Glu Phe Ile Thr Leu Glu Glu Asn Lys Pro Thr Arg Pro Val
       355              360              365

Ile Val Ser Pro Ala Asn Glu Thr Ile Glu Val Asp Leu Gly Ser Gln
    370              375              380

Ile Gln Leu Ile Cys Asn Val Thr Gly Gln Leu Ser Asp Thr Ala Tyr
385              390              395              400

Trp Lys Trp Asn Gly Ser Phe Ile Asp Glu Asp Asp Pro Val Leu Gly
             405              410              415

Glu Asp Tyr Tyr Ser Val Glu Asn Pro Ala Asn Lys Arg Arg Ser Thr
          420              425              430

Leu Ile Thr Val Leu Asn Ile Ser Glu Thr Glu Ser Arg Phe Tyr Lys
       435              440              445

His Pro Phe Thr Cys Leu Ala Arg Asn Thr His Gly Met Asp Ala Ala
    450              455              460

Tyr Val Gln Leu Ile Tyr Pro Val Thr Lys Phe Gln Lys Asp Tyr Lys
465              470              475              480

Asp Asp Asp Asp Lys
             485
```

伍、中文發明摘要：

本案描述與介白素-1受體第1型(IL-1R1)產生交互作用的抗體，亦描述藉著投予在藥學上有效含量之對抗IL-1R1的抗體來治療IL-1媒介之疾病的方法，亦描述在試樣中使用對抗IL-1R1之抗體來檢測IL-1R1含量的方法。

陸、英文發明摘要：

Antibodies that interact with interleukin-1 receptor type 1 (IL-1R1) are described. Methods of treating IL-1 mediated diseases by administering a pharmaceutically effective amount of antibodies to IL-1R1 are described. Methods of detecting the amount of IL-1R1 in a sample using antibodies to IL-1R1 are described.

拾、申請專利範圍：

1. 一種經過分離的人類抗體，其專一地與介白素-1受體第1型(IL-1R1)結合，包括重鏈和輕鏈，其中該重鏈包括重鏈可變區，包括在序列識別10號、序列識別14號或序列識別16號任一者中陳述的胺基酸序列，或其抗原-結合或具有免疫功能的免疫球蛋白片段。

2. 一種經過分離的人類抗體，其專一地與介白素-1受體第1型(IL-1R1)結合，包括重鏈和輕鏈，其中該輕鏈包括輕鏈可變區，包括在序列識別12號或序列識別18號任一者中陳述的胺基酸序列，或其抗原-結合或具有免疫功能的免疫球蛋白片段。

3. 一種經過分離的人類抗體，其專一地與介白素-1受體第1型(IL-1R1)結合，包括重鏈和輕鏈，其中該重鏈包括在序列識別20號、序列識別22號、序列識別24號、序列識別26號、序列識別28號、序列識別30號、序列識別32號、序列識別34號或序列識別36號任一者中陳述的胺基酸序列，或其抗原-結合或具有免疫功能的免疫球蛋白片段。

4. 一種經過分離的人類抗體，其專一地與介白素-1受體第1型(IL-1R1)結合，包括重鏈和輕鏈，其中該輕鏈包括在序列識別38號或序列識別40號任一者中陳述的胺基酸序列，或其抗原-結合或具有免疫功能的免疫球蛋白片段。

5. 一種經過分離的人類抗體，其專一地與介白素-1受體第

1型(IL-1R1)結合，其中該抗體包括：

a. 具有包括在序列識別10號中陳述之胺基酸序列、其抗原結合片段或其具有免疫功能的免疫球蛋白片段之重鏈可變區的重鏈，以及具有包括在序列識別12號中陳述之胺基酸序列、其抗原-結合片段或其具有免疫功能的免疫球蛋白片段之輕鏈可變區的輕鏈；

b. 具有包括在序列識別14號中陳述之胺基酸序列、其抗原結合片段或其具有免疫功能的免疫球蛋白片段之重鏈可變區的重鏈，以及具有包括在序列識別12號中陳述之胺基酸序列、其抗原-結合片段或其具有免疫功能的免疫球蛋白片段之輕鏈可變區的輕鏈；或

c. 具有包括在序列識別16號中陳述之胺基酸序列、其抗原結合片段或其具有免疫功能的免疫球蛋白片段之重鏈可變區的重鏈，以及具有包括在序列識別18號中陳述之胺基酸序列、其抗原-結合片段或其具有免疫功能的免疫球蛋白片段之輕鏈可變區的輕鏈。

6. 根據申請專利範圍第5項之抗體，其中該重鏈包括具有在序列識別10號中陳述之胺基酸序列、其抗原結合片段或其具有免疫功能之免疫球蛋白片段的重鏈可變區，且該輕鏈包括具有在序列識別12號中陳述之胺基酸序列、其抗原-結合片段或其具有免疫功能之免疫球蛋白片段的輕鏈可變區。

7. 根據申請專利範圍第6項之抗體，其中該重鏈可變區包

括與在序列識別10號中陳述之胺基酸序列有至少90%序列同一性的胺基酸序列，且其中該輕鏈可變區包括與在序列識別12號中陳述之胺基酸序列有至少90%序列同一性的胺基酸序列，且其中該抗體專一地與介白素-1受體第1型(IL-1R1)結合。

8. 根據申請專利範圍第5項之抗體，其中該重鏈包括具有在序列識別14號中陳述之胺基酸序列、其抗原-結合片段或其具有免疫功能之免疫球蛋白片段的重鏈可變區，且該輕鏈包括具有在序列識別12號中陳述之胺基酸序列、其抗原-結合片段或其具有免疫功能之免疫球蛋白片段的輕鏈可變區。

9. 根據申請專利範圍第8項之抗體，其中該重鏈可變區包括與在序列識別14號中陳述之胺基酸序列有至少90%序列同一性的胺基酸序列，且其中該輕鏈可變區包括與在序列識別12號中陳述之胺基酸序列有至少90%序列同一性的胺基酸序列，且其中該抗體專一地與介白素-1受體第1型(IL-1R1)結合。

10. 根據申請專利範圍第5項之抗體，其中該重鏈包括具有在序列識別16號中陳述之胺基酸序列、其抗原-結合片段或其具有免疫功能之免疫球蛋白片段的重鏈可變區，且該輕鏈包括具有在序列識別18號中陳述之胺基酸序列、其抗原-結合片段或其具有免疫功能之免疫球蛋白片段的輕鏈可變區。

11. 根據申請專利範圍第10項之抗體，其中該重鏈可變區包

括與在序列識別16號中陳述之胺基酸序列有至少90%序列同一性的胺基酸序列，且其中該輕鏈可變區包括與在序列識別18號中陳述之胺基酸序列有至少90%序列同一性的胺基酸序列，且其中該抗體專一地與介白素-1受體第1型(IL-1R1)結合。

12. 一種經過分離的人類抗體，其專一地與介白素-1受體第1型(IL-1R1)結合，其中該抗體包括：

a. 包括在序列識別38號中陳述之胺基酸序列、其抗原-結合片段，或其具有免疫功能之免疫球蛋白片段的輕鏈；以及

b. 包括在序列識別20號、序列識別22號、序列識別24號、序列識別26號、序列識別28號或序列識別30號中陳述之胺基酸序列、其抗原-結合片段，或其具有免疫功能之免疫球蛋白片段的重鏈。

13. 根據申請專利範圍第12項之抗體，其中該重鏈包括具有在序列識別20號中陳述之胺基酸序列、其抗原-結合片段或其具有免疫功能之免疫球蛋白片段的重鏈可變區，且該輕鏈包括具有在序列識別38號中陳述之胺基酸序列、其抗原-結合片段或其具有免疫功能之免疫球蛋白片段的輕鏈可變區。

14. 根據申請專利範圍第13項之抗體，其中該重鏈可變區包括與在序列識別20號中陳述之胺基酸序列有至少90%序列同一性的胺基酸序列，且其中該輕鏈可變區包括與在序列識別38號中陳述之胺基酸序列有至少90%序列

同一性的胺基酸序列，且其中該抗體專一地與介白素-1受體第1型(IL-1R1)結合。

15. 根據申請專利範圍第12項之抗體，其中該重鏈包括具有在序列識別22號中陳述之胺基酸序列其抗原-結合片段或其具有免疫功能之免疫球蛋白片段的重鏈可變區，且該輕鏈包括具有在序列識別38號中陳述之胺基酸序列、其抗原-結合片段或其具有免疫功能之免疫球蛋白片段的輕鏈可變區。

16. 根據申請專利範圍第15項之抗體，其中該重鏈可變區包括與在序列識別22號中陳述之胺基酸序列有至少90%序列同一性的胺基酸序列，且其中該輕鏈可變區包括與在序列識別38號中陳述之胺基酸序列有至少90%序列同一性的胺基酸序列，且其中該抗體專一地與介白素-1受體第1型(IL-1R1)結合。

17. 根據申請專利範圍第12項之抗體，其中該重鏈包括具有在序列識別24號中陳述之胺基酸序列、其抗原-結合片段或其具有免疫功能之免疫球蛋白片段的重鏈可變區，且該輕鏈包括具有在序列識別38號中陳述之胺基酸序列、其抗原-結合片段或其具有免疫功能之免疫球蛋白片段的輕鏈可變區。

18. 根據申請專利範圍第17項之抗體，其中該重鏈可變區包括與在序列識別24號中陳述之胺基酸序列有至少90%序列同一性的胺基酸序列，且其中該輕鏈可變區包括與在序列識別38號中陳述之胺基酸序列有至少90%序列

同一性的胺基酸序列，且其中該抗體專一地與介白素-1受體第1型(IL-1R1)結合。

19. 根據申請專利範圍第12項之抗體，其中該重鏈包括具有在序列識別26號中陳述之胺基酸序列、其抗原-結合片段或其具有免疫功能之免疫球蛋白片段的重鏈可變區，且該輕鏈包括具有在序列識別38號中陳述之胺基酸序列、其抗原-結合片段或其具有免疫功能之免疫球蛋白片段的輕鏈可變區。

20. 根據申請專利範圍第19項之抗體，其中該重鏈可變區包括與在序列識別26號中陳述之胺基酸序列有至少90%序列同一性的胺基酸序列，且其中該輕鏈可變區包括與在序列識別38號中陳述之胺基酸序列有至少90%序列同一性的胺基酸序列，且其中該抗體專一地與介白素-1受體第1型(IL-1R1)結合。

21. 根據申請專利範圍第12項之抗體，其中該重鏈包括具有在序列識別28號中陳述之胺基酸序列、其抗原-結合片段或其具有免疫功能之免疫球蛋白片段的重鏈可變區，且該輕鏈包括具有在序列識別38號中陳述之胺基酸序列、其抗原-結合片段或其具有免疫功能之免疫球蛋白片段的輕鏈可變區。

22. 根據申請專利範圍第21項之抗體，其中該重鏈可變區包括與在序列識別28號中陳述之胺基酸序列有至少90%序列同一性的胺基酸序列，且其中該輕鏈可變區包括與在序列識別38號中陳述之胺基酸序列有至少90%序列

同一性的胺基酸序列，且其中該抗體專一地與介白素-1受體第1型(IL-1R1)結合。

23. 根據申請專利範圍第12項之抗體，其中該重鏈包括具有在序列識別30號中陳述之胺基酸序列、其抗原-結合片段或其具有免疫功能之免疫球蛋白片段的重鏈可變區，且該輕鏈包括具有在序列識別38號中陳述之胺基酸序列、其抗原-結合片段或其具有免疫功能之免疫球蛋白片段的輕鏈可變區。

24. 根據申請專利範圍第23項之抗體，其中該重鏈可變區包括與在序列識別30號中陳述之胺基酸序列有至少90%序列同一性的胺基酸序列，且其中該輕鏈可變區包括與在序列識別38號中陳述之胺基酸序列有至少90%序列同一性的胺基酸序列，且其中該抗體專一地與介白素-1受體第1型(IL-1R1)結合。

25. 一種經過分離的人類抗體，其專一地與介白素-1受體第1型(IL-1R1)結合，其中該抗體包括：

a. 包括在序列識別40號中陳述之胺基酸序列、其抗原-結合片段或其具有免疫功能之免疫球蛋白片段的輕鏈；以及

b. 包括在序列識別32號、序列識別34號或序列識別36號中陳述之胺基酸序列、其抗原-結合片段或其具有免疫功能之免疫球蛋白片段的重鏈。

26. 根據申請專利範圍第25項之抗體，其中該重鏈包括具有在序列識別32號中陳述之胺基酸序列、其抗原-結合片

段或其具有免疫功能之免疫球蛋白片段的重鏈可變區，且該輕鏈包括具有在序列識別40號中陳述之胺基酸序列、其抗原-結合片段或其具有免疫功能之免疫球蛋白片段的輕鏈可變區。

27. 根據申請專利範圍第26項之抗體，其中該重鏈可變區包括與在序列識別32號中陳述之胺基酸序列有至少90%序列同一性的胺基酸序列，且其中該輕鏈可變區包括與在序列識別40號中陳述之胺基酸序列有至少90%序列同一性的胺基酸序列，且其中該抗體專一地與介白素-1受體第1型(IL-1R1)結合。

28. 根據申請專利範圍第25項之抗體，其中該重鏈包括具有在序列識別34號中陳述之胺基酸序列、其抗原-結合片段或其具有免疫功能之免疫球蛋白片段的重鏈可變區，且該輕鏈包括具有在序列識別40號中陳述之胺基酸序列、其抗原-結合片段或其具有免疫功能之免疫球蛋白片段的輕鏈可變區。

29. 根據申請專利範圍第28項之抗體，其中該重鏈可變區包括與在序列識別34號中陳述之胺基酸序列有至少90%序列同一性的胺基酸序列，且其中該輕鏈可變區包括與在序列識別40號中陳述之胺基酸序列有至少90%序列同一性的胺基酸序列，且其中該抗體專一地與介白素-1受體第1型(IL-1R1)結合。

30. 根據申請專利範圍第25項之抗體，其中該重鏈包括具有在序列識別36號中陳述之胺基酸序列、其抗原-結合片

段或其具有免疫功能之免疫球蛋白片段的重鏈可變區，且該輕鏈包括具有在序列識別40號中陳述之胺基酸序列、其抗原-結合片段或其具有免疫功能之免疫球蛋白片段的輕鏈可變區。

31. 根據申請專利範圍第30項之抗體，其中該重鏈可變區包括與在序列識別36號中陳述之胺基酸序列有至少90%序列同一性的胺基酸序列，且其中該輕鏈可變區包括與在序列識別40號中陳述之胺基酸序列有至少90%序列同一性的胺基酸序列，且其中該抗體專一地與介白素-1受體第1型(IL-1R1)結合。

32. 根據申請專利範圍第1、2、3、4、5、12或25項之抗體，其中該重鏈和輕鏈藉著有彈性的交聯劑彼此連接，形成單-鏈抗體。

33. 根據申請專利範圍第32項之抗體，其為單鏈Fv抗體。

34. 根據申請專利範圍第1、2、3、4、5、12或25項之抗體，其為Fab抗體片段。

35. 根據申請專利範圍第1、2、3、4、5、12或25項之抗體，其為Fab'抗體片段。

36. 根據申請專利範圍第1、2、3、4、5、12或25項之抗體，其為$(Fab')_2$抗體片段。

37. 根據申請專利範圍第1、2、3、4、5、12或25項之抗體，其中該抗體為完整的人類抗體。

38. 根據申請專利範圍第1、2、3、4、5、12或25項之抗體，其中該抗體抑制IL-1與其受體的結合。

39. 根據申請專利範圍第38項之抗體，用於在患者中治療IL-1媒介之疾病。

40. 一種醫藥組合物，包括在藥學上可接受的載劑和治療上有效量的根據申請專利範圍第38項之抗體。

41. 根據申請專利範圍第40項之醫藥組合物，用於在患者中治療IL-1媒介之疾病。

42. 一種重鏈，包括可變區和恆定區，其中該可變區包括在序列識別10號、序列識別14號或序列識別16號任一者中陳述之胺基酸序列，或其抗原結合或具有免疫功能的免疫球蛋白片段。

43. 一種重鏈，其包括在序列識別20號、序列識別22號、序列識別24號、序列識別26號、序列識別28號、序列識別30號、序列識別32號、序列識別34號或序列識別36號任一者中陳述之胺基酸序列，或其抗原結合或具有免疫功能的免疫球蛋白片段。

44. 一種輕鏈，包括可變區和恆定區，其中該可變區包括在序列識別12號或序列識別18號任一者中陳述之胺基酸序列，或其抗原結合或具有免疫功能的免疫球蛋白片段。

45. 一種輕鏈，其包括在序列識別38號或序列識別40號任一者中陳述之胺基酸序列，或其抗原結合或具有免疫功能的免疫球蛋白片段。

46. 一種經過分離的人類抗體，包括：

a. 人類重鏈架構區、人類重鏈CDR1區、人類重鏈CDR2

區和人類重鏈CDR3區，其中該人類重鏈CDR3區是圖10所示之26F5、27F2或15C4的重鏈CDR3區；及

b. 人類輕鏈架構區、人類輕鏈CDR1區、人類輕鏈CDR2區和人類輕鏈CDR3區，其中該人類輕鏈CDR3區是圖11所示之26F5、27F2或15C4的輕鏈CDR3區；

其中該抗體專一地與間白素-1受體第1型(IL-1R1)結合。

47. 根據申請專利範圍第46項之經過分離的人類抗體，其中該人類重鏈CDR2區是圖10所示之26F5、27F2或15C4的重鏈CDR2區，且該人類輕鏈CDR2區是圖11所示之26F5、27F2或15C4的輕鏈CDR2區。

48. 根據申請專利範圍第46項之經過分離的人類抗體，其中該人類重鏈CDR1區是圖10所示之26F5、27F2或15C4的重鏈CDR1區，且該人類輕鏈CDR1區是圖11所示之26F5、27F2或15C4的輕鏈CDR1區。

49. 根據申請專利範圍第5、12或25項之抗體，其為IgG2抗體。

50. 根據申請專利範圍第5、12或25項之抗體，其專一地與IL-1R1之第三個功能部位結合。

51. 根據申請專利範圍第5、12或25項之抗體，其專一地與IL-1R1之抗原決定位4結合。

52. 一種選出抗原之抗原決定位作圖的方法，包括：

(a) 產製一組融合蛋白質，其中各融合蛋白質包括(i)抗生物素蛋白和(ii)該抗原之片段；

(b) 針對與該抗原之一或多個專一結合夥伴的結合，來

篩選這組融合蛋白；

(c) 藉著抗生物素蛋白與生物素結合，在包括生物素的培養基上分離該等融合蛋白質；以及

(d) 分析該等融合蛋白質與專一結合夥伴或夥伴們的結合，判定該抗原與專一結合夥伴或夥伴們的結合位置。

53. 根據申請專利範圍第52項之方法，其中該專一結合夥伴是抗體。

拾壹、圖式：

重鏈IgG1恆定區

```
gcctccacca agggcccatc ggtcttcccc ctggcaccct cctccaagag cacctctggg    60
ggcacagcgg ccctgggctg cctggtcaag gactacttcc ccgaaccggt gacggtgtcg   120
tggaactcag gcgccctgac cagcggcgtg cacaccttcc cggctgtcct acagtcctca   180
ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgccctcca gcagcttggg cacccagacc   240
tacatctgca acgtgaatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagaa agttgagccc   300
aaatcttgtg acaaaactca cacatgccca ccgtgcccag cacctgaact cctgggggga   360
ccgtcagtct tcctcttccc cccaaaaccc aaggacaccc tcatgatctc ccggacccct   420
gaggtcacat gcgtggtggt ggacgtgagc cacgaagacc ctgaggtcaa gttcaactgg   480
tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cgcgggagga gcagtacaac   540
agcacgtacc gtgtggtcag cgtcctcacc gtcctgcacc aggactggct gaatggcaag   600
gagtacaagt gcaaggtctc caacaaagcc ctcccagccc ccatcgagaa aaccatctcc   660
aaagccaaag ggcagccccg agaaccacag gtgtacaccc tgccccatc ccgggatgag    720
ctgaccaaga accaggtcag cctgacctgc ctggtcaaag gcttctatcc cagcgacatc   780
gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac gcctcccgtg   840
ctggactccg acggctcctt cttcctctat agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg   900
cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacg   960
cagaagagcc tctccctgtc tccgggtaaa                                    990
```

圖 1A

```
ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS    60
GLYSLSSVVT VPSSSLGTQT YICNVNHKPS NTKVDKKVEP KSCDKTHTCP PCPAPELLGG   120
PSVFLFPPKP KDTLMISRTP EVTCVVVDVS HEDPEVKFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQYN   180
STYRVVSVLT VLHQDWLNGK EYKCKVSNKA LPAPIEKTIS KAKGQPREPQ VYTLPPSRDE   240
LTKNQVSLTC LVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYKTTPPV LDSDGSFFLY SKLTVDKSRW   300
QQGNVFSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSPGK                                    330
```

圖 1B

κ鏈恆定區

```
cgaactgtgg ctgcaccatc tgtcttcatc ttcccgccat ctgatgagca gttgaaatct    60
ggaactgcct ctgttgtgtg cctgctgaat aacttctatc ccagagaggc caaagtacag   120
tggaaggtgg ataacgccct ccaatcgggt aactcccagg agagtgtcac agagcaggac   180
agcaaggaca gcacctacag cctcagcagc accctgacgc tgagcaaagc agactacgag   240
aaacacaaag tctacgcctg cgaagtcacc catcagggcc tgagctcgcc cgtcacaaag   300
agcttcaaca ggggagagtg t                                             321
```

圖 2A

```
RTVAAPSVFI FPPSDEQLKS GTASVVCLLN NFYPREAKVQ WKVDNALQSG NSQESVTEQD    60
SKDSTYSLSS TLTLSKADYE KHKVYACEVT HQGLSSPVTK SFNRGEC                 107
```

圖 2B

重鏈IgG2恆定區

```
gcctccacca agggcccatc ggtcttcccc ctggcgccct gctccaggag cacctccgag     60
agcacagcgg ccctgggctg cctggtcaag gactacttcc ccgaaccggt gacggtgtcg    120
tggaactcag gcgctctgac cagcggcgtg cacaccttcc cagctgtcct acagtcctca    180
ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgccctcca gcaacttcgg cacccagacc    240
tacacctgca acgtagatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagac agttgagcgc    300
aaatgttgtg tcgagtgccc accgtgccca gcaccacctg tggcaggacc gtcagtcttc    360
ctcttccccc caaaacccaa ggacaccctc atgatctccc ggacccctga ggtcacgtgc    420
gtggtggtgg acgtgagcca cgaagacccc gaggtccagt tcaactggta cgtggacggc    480
gtggaggtgc ataatgccaa gacaaagcca cgggaggagc agttcaacag cacgttccgt    540
gtggtcagcg tcctcaccgt tgtgcaccag gactggctga acggcaagga gtacaagtgc    600
aaggtctcca acaaaggcct cccagccccc atcgagaaaa ccatctccaa aaccaaaggg    660
cagccccgag aaccacaggt gtacaccctg cccccatccc gggaggagat gaccaagaac    720
caggtcagcc tgacctgcct ggtcaaaggc ttctacccca gcgacatcgc cgtggagtgg    780
gagagcaatg ggcagccgga gaacaactac aagaccacac ctcccatgct ggactccgac    840
ggctccttct tcctctacag caagctcacc gtggacaaga gcaggtggca gcaggggaac    900
gtcttctcat gctccgtgat gcatgaggct ctgcacaacc actacacgca gaagagcctc    960
tccctgtctc cgggtaaa                                                  978
```

圖 3A

```
ASTKGPSVFP LAPCSRSTSE STAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS     60
GLYSLSSVVT VPSSNFGTQT YTCNVDHKPS NTKVDKTVER KCCVECPPCP APPVAGPSVF    120
LFPPKPKDTL MISRTPEVTC VVVDVSHEDP EVQFNWYVDG VEVHNAKTKP REEQFNSTFR    180
VVSVLTVVHQ DWLNGKEYKC KVSNKGLPAP IEKTISKTKG QPREPQVYTL PPSREEMTKN    240
QVSLTCLVKG FYPSDIAVEW ESNGQPENNY KTTPPMLDSD GSFFLYSKLT VDKSRWQQGN    300
VFSCSVMHEA LHNHYTQKSL SLSPGK                                         326
```

圖 3B

重鏈IgG4恆定區

```
gccagcacca aggggccatc cgtcttcccc ctggcgccct gctccaggag cacctccgag     60
agcacagccg ccctgggctg cctggtcaag gactacttcc ccgaaccggt gacggtgtcg    120
tggaactcag gcgccctgac cagcggcgtg cacaccttcc cggctgtcct acagtcctca    180
ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgccctcca gcagcttggg cacgaagacc    240
tacacctgca acgtagatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagag agttgagtcc    300
aaatatggtc ccccatgccc atcatgccca gcacctgagt tcctgggggg accatcagtc    360
ttcctgttcc ccccaaaacc caaggacact ctcatgatct cccggacccc tgaggtcacg    420
tgcgtggtgg tggacgtgag ccaggaagac cccgaggtcc agttcaactg gtacgtggat    480
ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagttcaa cagcacgtac    540
cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaacggcaa ggagtacaag    600
tgcaaggtct ccaacaaagg cctcccgtcc tccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa    660
gggcagcccc gagagccaca ggtgtacacc ctgcccccat cccaggagga gatgaccaag    720
aaccaggtca gcctgacctg cctggtcaaa ggcttctacc ccagcgacat cgccgtggag    780
tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccgt gctggactcc    840
gacggctcct tcttcctcta cagcaggcta accgtgraca agagcaggtg gcaggagggg    900
aatgtcttct catgctccgt gakgcatgag gctctgcaca accactacac acagaagagc    960
ctctccctgt ctctgggtaa a                                              981
```

圖 4A

```
ASTKGPSVFP LAPCSRSTSE STAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS     60
GLYSLSSVVT VPSSSLGTKT YTCNVDHKPS NTKVDKRVES KYGPPCPSCP APEFEGGPSV    120
FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSQED PEVQFNWYVD GVEVHNAKTK PREEQFNSTY    180
RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKGLPS SIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSQEEMTK    240
NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE WESNGQPENN YKTTPPVLDS DGSFFLYSRL TVDKSRWQEG    300
NVFSCSVMHE ALHNHYTQKS LSLSLGK                                        327
```

圖 4B

26F5重鏈

```
atggagtttg ggctgagctg ggtcttcctc gttgctcttt taagaggtgt ccagtgtcag    60
gtgcagctgg tggagtctgg gggaggcgtg gtccagcctg ggaggtccct gagactctcc   120
tgtgcagcgt ctggattcac cttcagcaac tatggcatgc actgggtccg ccaggctcca   180
ggcaaggggc tggagtgggt ggcaggcatt tggaatgatg gaattaataa ataccatgca   240
cactccgtga ggggccgatt caccatctcc agagacaatt ccaagaacac gctgtatctg   300
caaatgaaca gcccgagagc cgaggacacg gctgtgtatt actgtgcgag agcacggtct   360
ttcgactggc tattatttga gttctggggc cagggaaccc tggtcaccgt ctctagt      417
```

圖 5A

```
MEFGLSWVFL VALLRGVQCQ VQLVESGGGV VQPGRSLRLS CAASGFTFSN YGMHWVRQAP    60
GKGLEWVAGI WNDGINKYHA HSVRGRFTIS RDNSKNTLYL QMNSPRAEDT AVYYCARARS   120
FDWLLFEFWG QGTLVTVSS                                                139
```

圖 5B

26F5κ鏈

```
atggaagccc cagctcagct tctcttcctc ctgctactct ggctcccaga taccaccgga    60
gaaattgtgt tgacacagtc tccagccacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc   120
ctctcctgca gggccagtca gagtgttagc agctacttag cctggtacca acagaaacct   180
ggccaggctc ccaggctcct catctatgat gcatccaaca gggccactgg catcccagcc   240
aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagac ttcactctca ccatcagcag cctagagcct   300
gaagattttg cagtttatta ctgtcagcag cgtagcaact ggcctccgct cactttcggc   360
ggagggacca aggtggagat caaa                                          384
```

圖 6A

```
MEAPAQLLFL LLLWLPDTTG EIVLTQSPAT LSLSPGERAT LSCRASQSVS SYLAWYQQKP    60
GQAPRLLIYD ASNRATGIPA RFSGSGSGTD FTLTISSLEP EDFAVYYCQQ RSNWPPLTFG   120
GGTKVEIK                                                            128
```

圖 6B

27F2重鏈

```
atggagtttg ggctgagctg ggttttcctc gttgctcttt taagaggtgt ccagtgtcag    60
gtgcagctgg tggagtctgg gggaggcgtg gtccagcctg ggaggtccct gagactctcc   120
tgtgcagtgt ctggattcac cttcagtaac tatggcatgc actgggtccg ccaggctcca   180
ggcaaggggc tggagtgggt ggcagctata tggaatgatg gagaaaataa acaccatgca   240
ggctccgtga ggggccgatt caccatctcc agagacaatt ccaagaacac gctgtatctg   300
caaatgaaca gcctgagagc cgaggacacg gctgtgtatt actgtgcgag aggacgatat   360
tttgactggt tattatttga gtattggggc cagggaaccc tggtcaccgt ctctagt      417
```

圖 7A

```
MEFGLSWVFL VALLRGVQCQ VQLVESGGGV VQPGRSLRLS CAVSGFTFSN YGMHWVRQAP    60
GKGLEWVAAI WNDGENKHHA GSVRGRFTIS RDNSKNTLYL QMNSLRAEDT AVYYCARGRY   120
FDWLLFEYWG QGTLVTVSS                                                139
```

圖 7B

15C4重鏈

```
atggggtcaa ccgccatcct cgccctcctc ctggctgttc tccaaggagt ctgtgccgag    60
gtgcagctga tgcagtctgg agcagaggtg aaaaagcccg gggagtctct gaagatctcc   120
tgtaagggtt ctggatacag cttttccttc cactggatcg cctgggtgcg ccagatgccc   180
gggaaaggcc tggagtggat ggggatcatc catcctggtg cctctgatac cagatacagc   240
ccgtccttcc aaggccaggt caccatctca gccgacaact ccaacagcgc cacctacctg   300
cagtggagca gcctgaaggc ctcggacacc gccatgtatt tctgtgcgag acaaagggaa   360
ctcgactact ttgactactg gggccaggga accctggtca ccgtctctag t            411
```

圖 8A

```
MGSTAILALL LAVLQGVCAE VQLMQSGAEV KKPGESLKIS CKGSGYSFSF HWIAWVRQMP    60
GKGLEWMGII HPGASDTRYS PSFQGQVTIS ADNSNSATYL QWSSLKASDT AMYFCARQRE   120
LDYFDYWGQG TLVTVSS                                                  137
```

圖 8B

15C4κ鏈

```
atgtcgccat cacaactcat tgggtttctg ctgctctggg ttccagcctc caggggtgaa   60
attgtgctga ctcagtctcc agactttcag tctgtgactc caaaggagaa agtcaccatc  120
acctgccggg ccagtcagag cattggtagt agcttacact ggtaccagca gaaaccagat  180
cagtctccaa agctcctcat caagtatgct tcccagtcct tctcaggggt cccctcgagg  240
ttcagtggca gtggatctgg gacagatttc accctcacca tcaatagcct ggaagctgaa  300
gatgctgcag cgtattactg tcatcagagt agtagtttac ctctcacttt cggcggaggg  360
accaaggtgg agatcaaa                                               378
```

圖 9A

```
MSPSQLIGFL LLWVPASRGE IVLTQSPDFQ SVTPKEKVTI TCRASQSIGS SLHWYQQKPD   60
QSPKLLIKYA SQSFSGVPSR FSGSGSGTDF TLTINSLEAE DAAAYYCHQS SSLPLTFGGG  120
TKVEIK                                                              126
```

圖 9B

```
                                                CDR1                                CDR2
26F5  QVQLVESGGG VVQPGRSLRL SCAASGFTFS NYGMHWVRQA PGKGLEWVAG IWNDGINKYH
27F2  QVQLVESGGG VVQPGRSLRL SCAVSGFTFS NYGMHWVRQA PGKGLEWVAA IWNDGENKHH
15C4  EVQLMQSGAE VKKPGESLKI SCKGSGYSFS FHWIAWVRQM PGKGLEWMGI IHPGASDTRY

                                                          CDR3
26F5  AHSVRGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSPRAED TAVYYCARAR SFDWLLFEFW GQGTLVTVSS
27F2  AGSVRGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCARGR YFDWLLFEYW GQGTLVTVSS
15C4  SPSFQGQVTI SADNSNSATY LQWSSLKASD TAMYFCARQR ELDYFDYWGQ GTLVTVSS
```

圖 10

```
                                          CDR1
26F5/27F2   EIVLTQSPAT LSLSPGERAT LSCRASQSVS SYLAWYQQKP GQAPRLLIYD
15C4        EIVLTQSPDF QSVTPKEKVT ITCRASQSIG SSLHWYQQKP DQSPKLLIKY

            CDR2                                          CDR3
26F5/27F2   ASNRATGIPA RFSGSGSGTD FTLTISSLEP EDFAVYYCQQ RSNWPPLTFG
15C4        ASQSFSGVPS RFSGSGSGTD FTLTINSLEA EDAAAYYCHQ SSSLPLTFGG

26F5/27F2   GGTKVEIK
15C4        GTKVEIK
```

圖 11

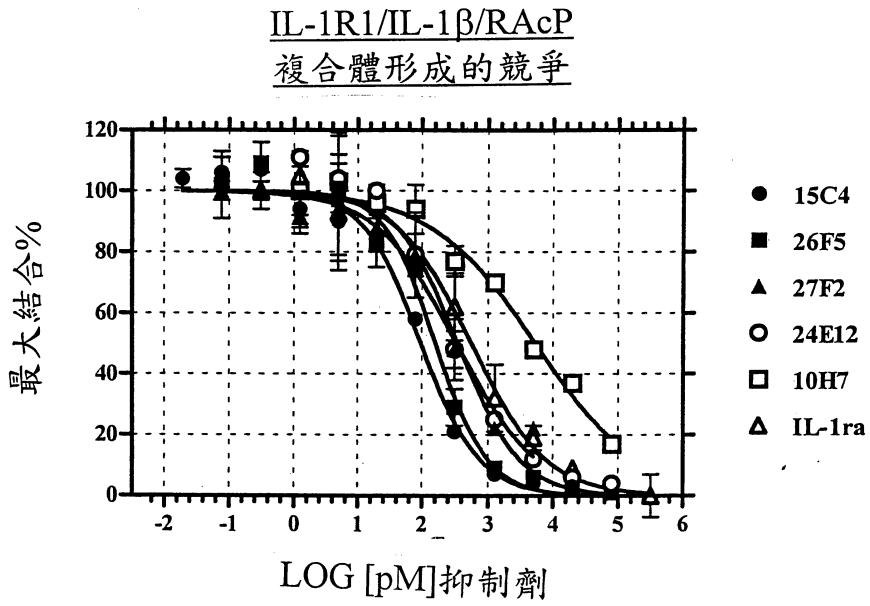
IL-1R1/IL-1β/RAcP
複合體形成的競爭
最大結合%
120
100
80
60
40
20
0
-2
-1
0
1
2
3
4
5
6
LOG [pM]抑制劑
15C4
26F5
27F2
24E12
10H7
IL-1ra

圖 12

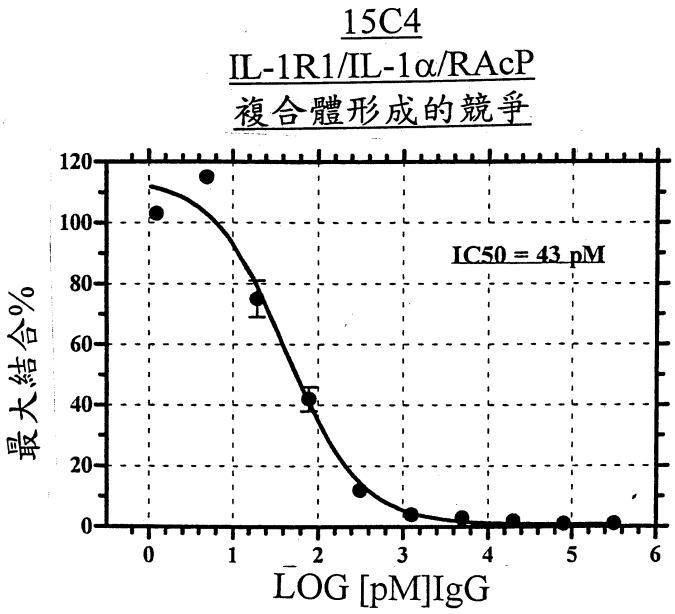
15C4
IL-1R1/IL-1α/RAcP
複合體形成的競爭
IC50 = 43 pM
最大結合%
LOG [pM]IgG
120
100
80
60
40
20
0
0
1
2
3
4
5
6

圖 13

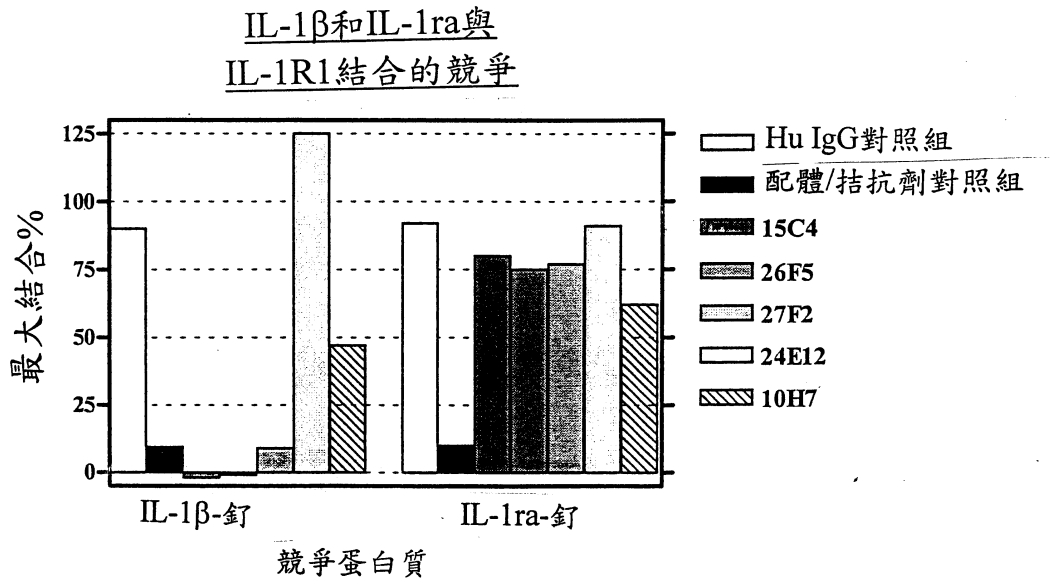
IL-1β和IL-1ra與
IL-1R1結合的競爭
最大結合%
125
100
75
50
25
0
IL-1β-釘
IL-1ra-釘
競爭蛋白質
Hu IgG對照組
配體/拮抗劑對照組
15C4
26F5
27F2
24E12
10H7

圖 14

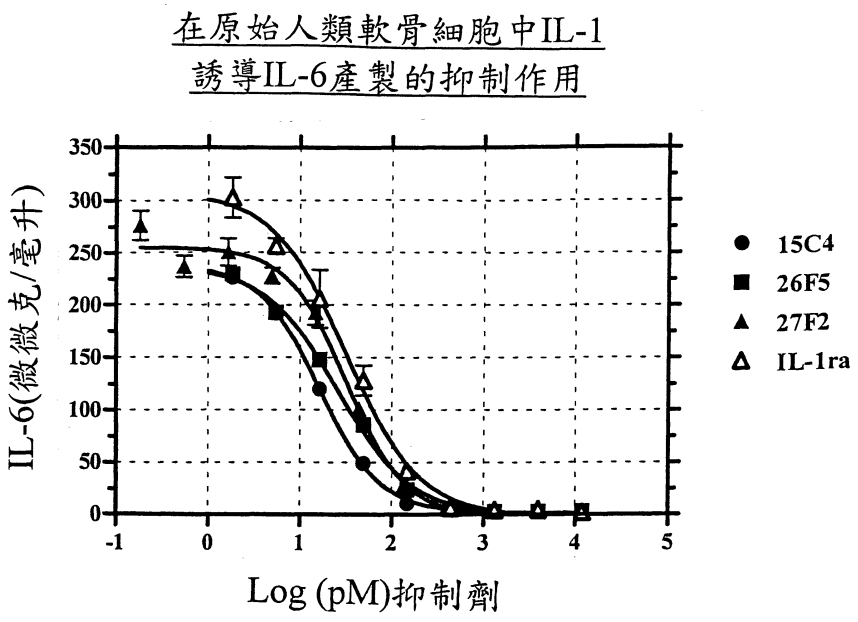
在原始人類軟骨細胞中IL-1
誘導IL-6產製的抑制作用
IL-6(微微克/毫升)
350
300
250
200
150
100
50
0
-1
0
1
2
3
4
5
Log (pM)抑制劑
15C4
26F5
27F2
IL-1ra

圖 15A

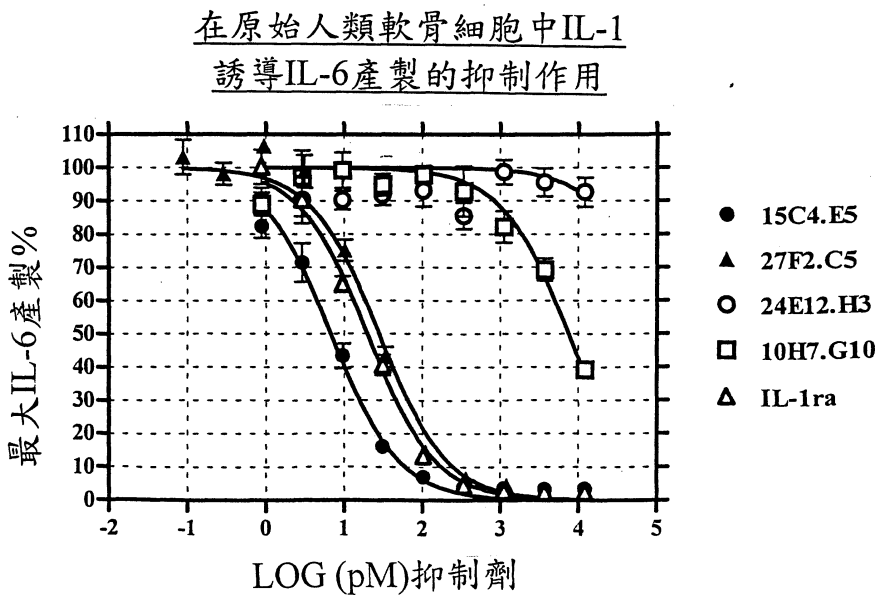
在原始人類軟骨細胞中IL-1
誘導IL-6產製的抑制作用
最大IL-6產製%
110
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
-2
-1
0
1
2
3
4
5
LOG (pM)抑制劑
15C4.E5
27F2.C5
24E12.H3
10H7.G10
IL-1ra

圖 15B

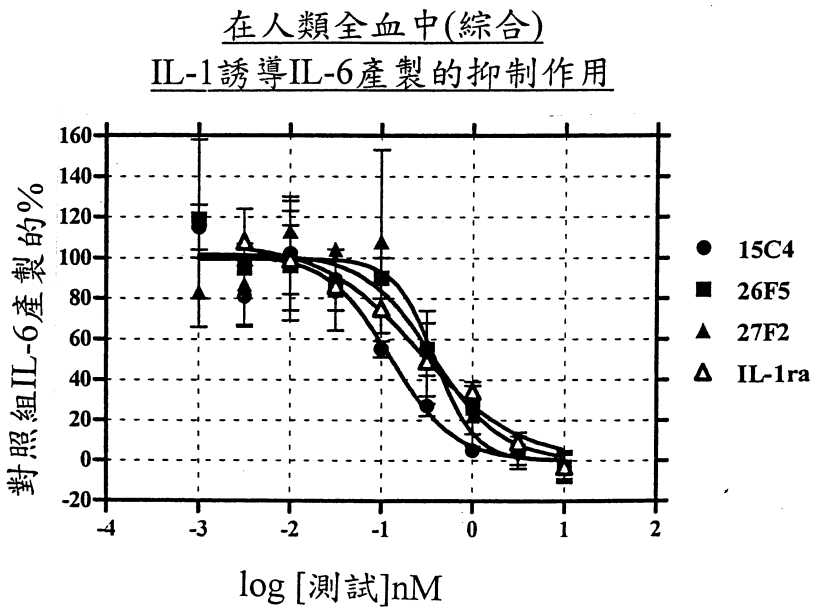
在人類全血中(綜合)
IL-1誘導IL-6產製的抑制作用
對照組IL-6產製的%
160
140
120
100
80
60
40
20
0
-20
-4
-3
-2
-1
0
1
2
log [測試]nM
15C4
26F5
27F2
IL-1ra

圖 16

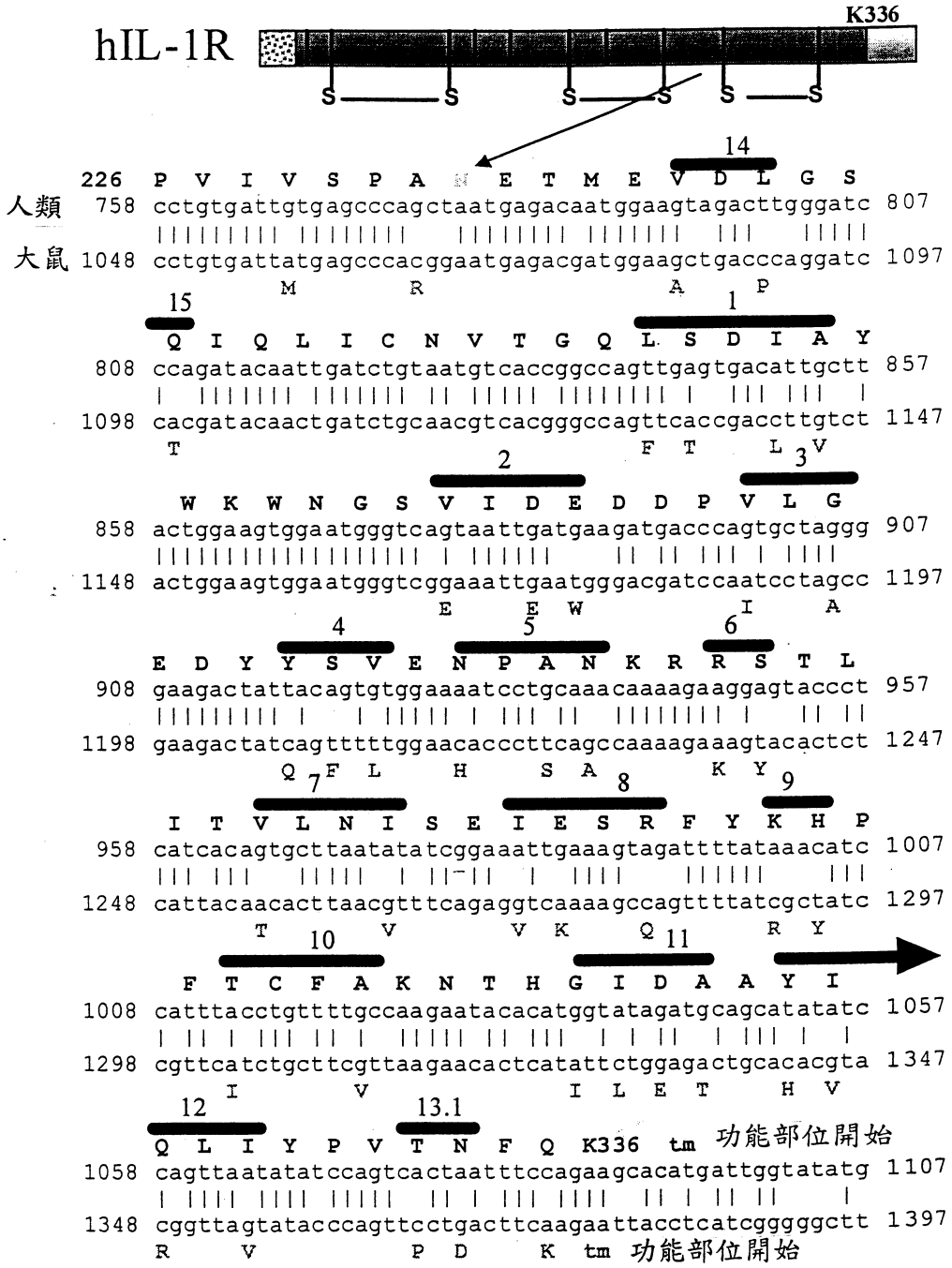
hIL-1R
K336
S S S S S S
14
226 P V I V S P A E T M E V D L G S
人類 758 cctgtgattgtgagcccagctaatgagacaatggaagtagacttgggatc 807
大鼠 1048 cctgtgattatgagcccacggaatgagacgatggaagctgacccaggatc 1097
M R A P
15
1
Q I Q L I C N V T G Q L S D I A Y
808 ccagatacaattgatctgtaatgtcaccggccagttgagtgacattgctt 857
1098 cacgatacaactgatctgcaacgtcacgggccagttcaccgaccttgtct 1147
T F T L V
2
3
W K W N G S V I D E D D P V L G
858 actggaagtggaatgggtcagtaattgatgaagatgacccagtgctaggg 907
1148 actggaagtggaatgggtcggaaattgaatgggacgatccaatcctagcc 1197
E E W I A
4
5
6
E D Y Y S V E N P A N K R R S T L
908 gaagactattacagtgtggaaaatcctgcaaacaaaagaaggagtaccct 957
1198 gaagactatcagtttttggaacacccttcagccaaaagaaagtacactct 1247
Q F L H S A K Y
7
8
9
I T V L N I S E I E S R F Y K H P
958 catcacagtgcttaatatatcggaaattgaaagtagattttataaacatc 1007
1248 cattacaacacttaacgtttcagaggtcaaaagccagttttatcgctatc 1297
T V V K Q R Y
10
11
F T C F A K N T H G I D A A Y I
1008 catttacctgttttgccaagaatacacatggtatagatgcagcatatatc 1057
1298 cgttcatctgcttcgttaagaacactcatattctggagactgcacacgta 1347
I V I L E T H V
12
13.1
Q L I Y P V T N F Q K336 tm 功能部位開始
1058 cagttaatatatccagtcactaatttccagaagcacatgattggtatatg 1107
1348 cggttagtatacccagttcctgacttcaagaattacctcatcgggggctt 1397
R V P D K tm 功能部位開始

圖 17

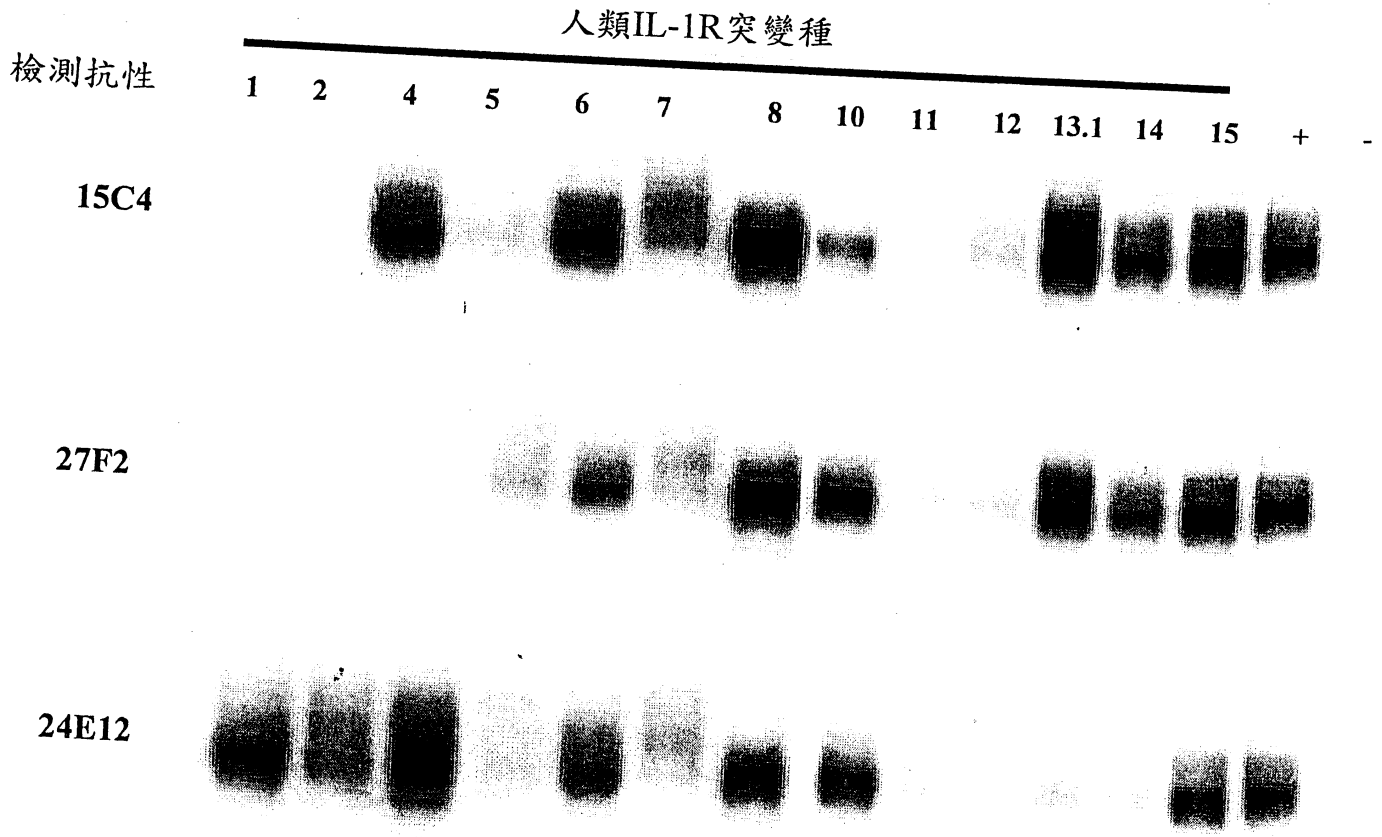

圖 18

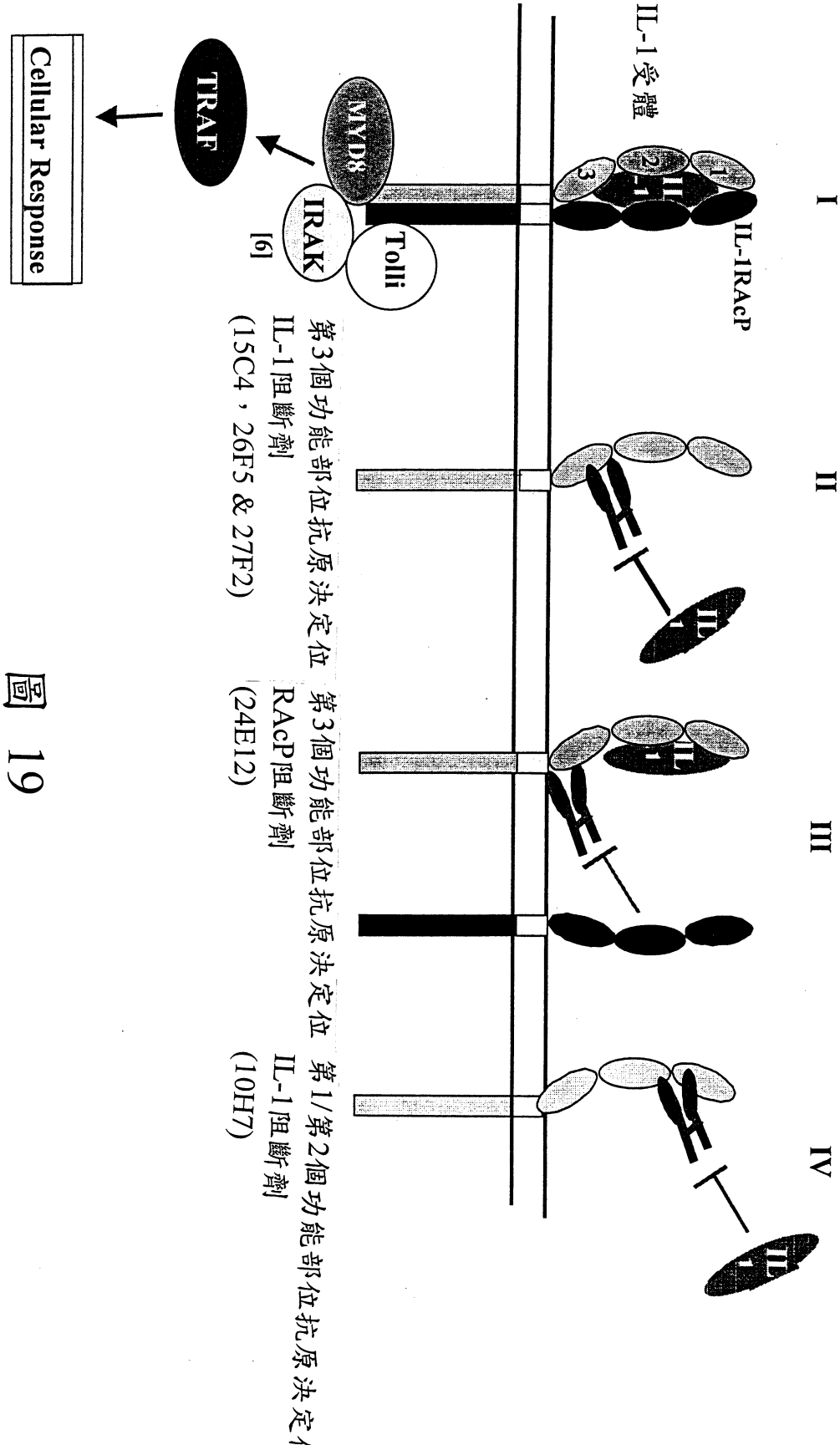
I
II
III
IV
IL-1受體
IL-1RAcP
MYD8
IRAK
Tolli
TRAF
Cellular Response
[6]
第3個功能部位抗原決定位
IL-1阻斷劑
(15C4，26F5 & 27F2)
第3個功能部位抗原決定位
RAcP阻斷劑
(24E12)
第1/第2個功能部位抗原決定位
IL-1阻斷劑
(10H7)

圖 19

圖 20

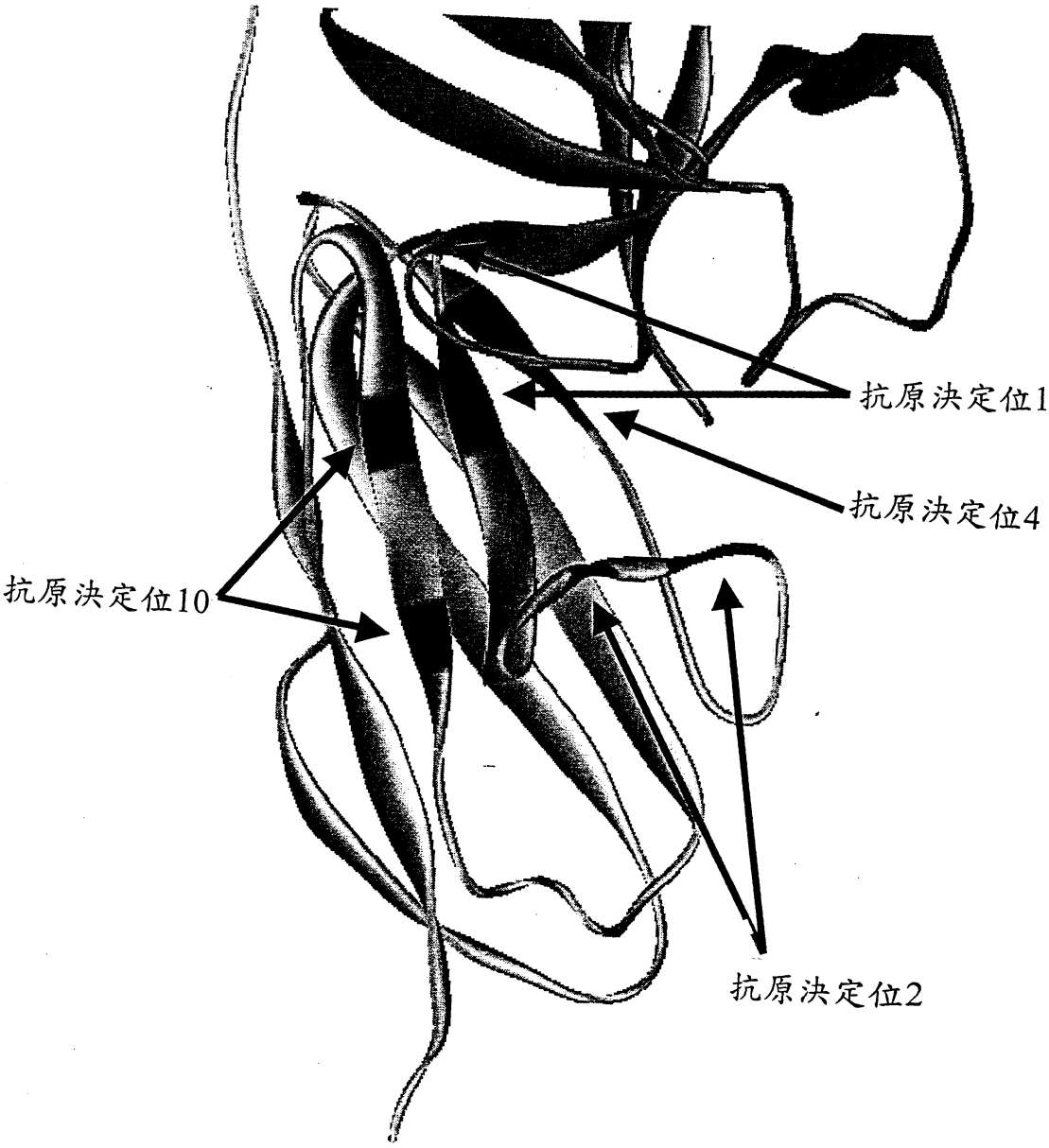

圖 21

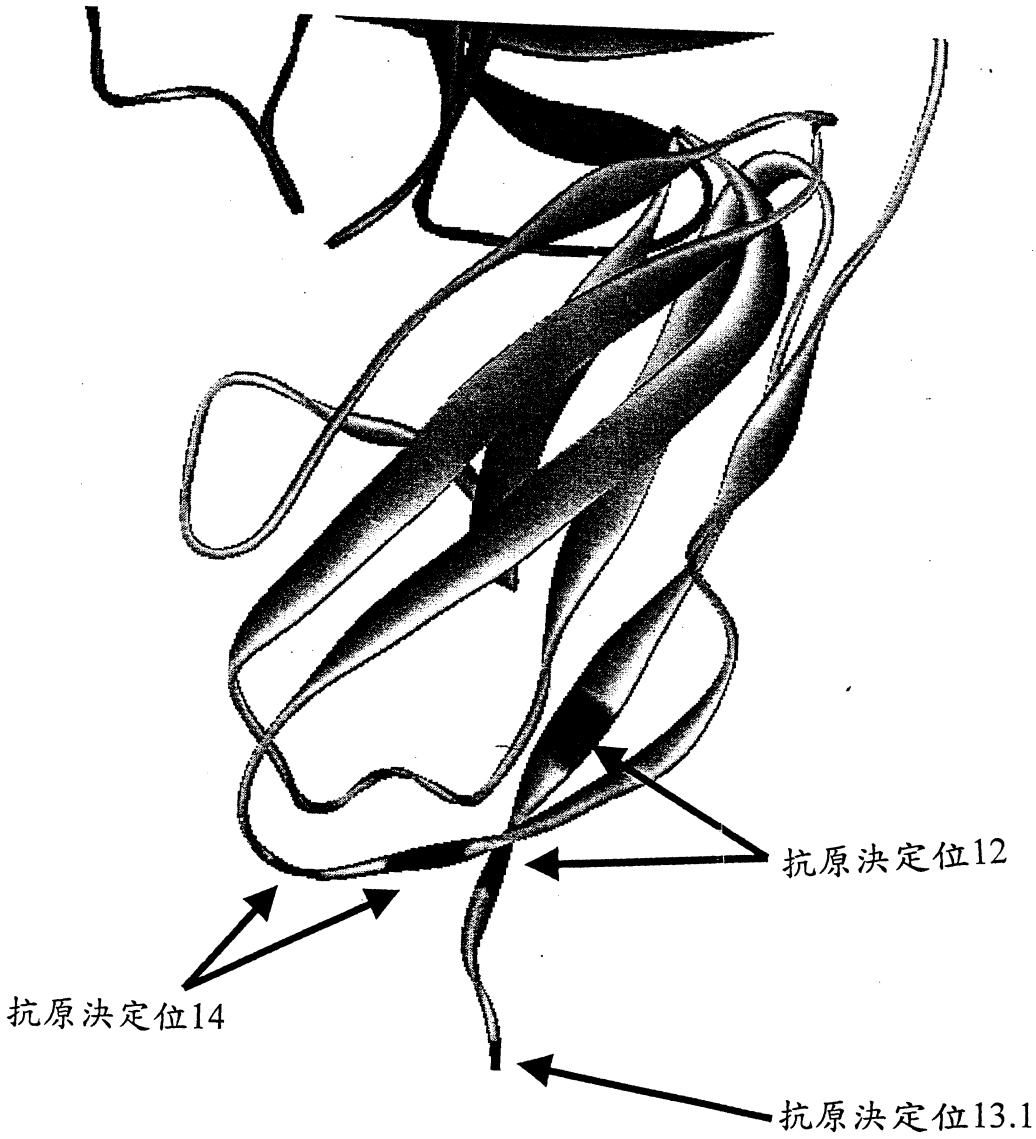

圖 22

```
MVHATSPLLL LLLLSLALVA PGLSARKCSL TGKWTNDLGS NMTIGAVNSK GEFTGTYTTA      60
VTATSNEIKE SPLHGTQNTI NKRTQPTFGF TVNWKFSEST TVFTGQCFID RNGKEVLKTM     120
WLLRSSVNDI GDDWKATRVG INIFTRLRTQ KEQLLASLLE ADKCKEREEK IILVSSANEI     180
DVRPCPLNPN EHKGTITWYK DDSKTPVSTE QASRIHQHKE KLWFVPAMVE DSGHYYCVVR     240
NSSYCLRIKI SAKFVENEPN LCYNAQAIFK QKLPVAGDGG LVCPYMEFFK NENNELPKLQ     300
WYKDCKPLLL DNIHFSGVKD RLIVMNVAEK HRGNYTCHAS YTYLGKQYPI TRVIEFITLE     360
ENKPTRPVIV SPANETMEVD LGSQIQLICN VTGQLSDIAY WKWNGSVIDE DDPVLGEDYY     420
SVENPANKRR STLITVLNIS EIESRFYKHP FTCFAKNTHG IDAAYIQLIY PVTNFQKDYK     480
DDDDK                                                                 485
```

圖 23

1 *MVHATSPLLL LLLLSLALVA PGLSARKCSL TGKWTNDLGS NMTIGAVNSK GEFTGTYTTA*

61 *VTATSNEIKE SPLHGTQNTI NKRTQPTFGF TVNWKFSEST TVFTGQCFID RNGKEVLKTM*

121 *WLLRSSVNDI GDDWKATRVG INIFTRLRTQ KEQ*LLASLLE ADKCNEREEK IILVSSANEI

181 DVRPCPLNPN EYKGTITWYK NDSKTPISTE QASRIHQHKK KLWFVPAKVE DSGHYYCVVR

241 NSSYCLRIKI TAKFVENEPN LCYNAEAIFK QRLPVAGDGG LVCPYMEFFK DENNELPKLL

301 WYKDCKPLLL DNIHFSGVKD RLIVMNVAEK HRGNYTCHAS YTYLGKQYPI TRVIEFITLE

突變1 突變2

361 ENKPTRPVIV SPANETIEVD LGSQIQLICN VTGQLSDTAY WKWNGSFIDE DDPVLGEDY***Y***

I ***V***

人類

突變10.1 突變10.2

421 ***SV***ENPANKRR STLITVLNIS ETESRFYKHP FTCLARNTHG MDAAYVQLIY PVTKFQK**DYK**

F K

人類

481 **DDDDK**

圖 24

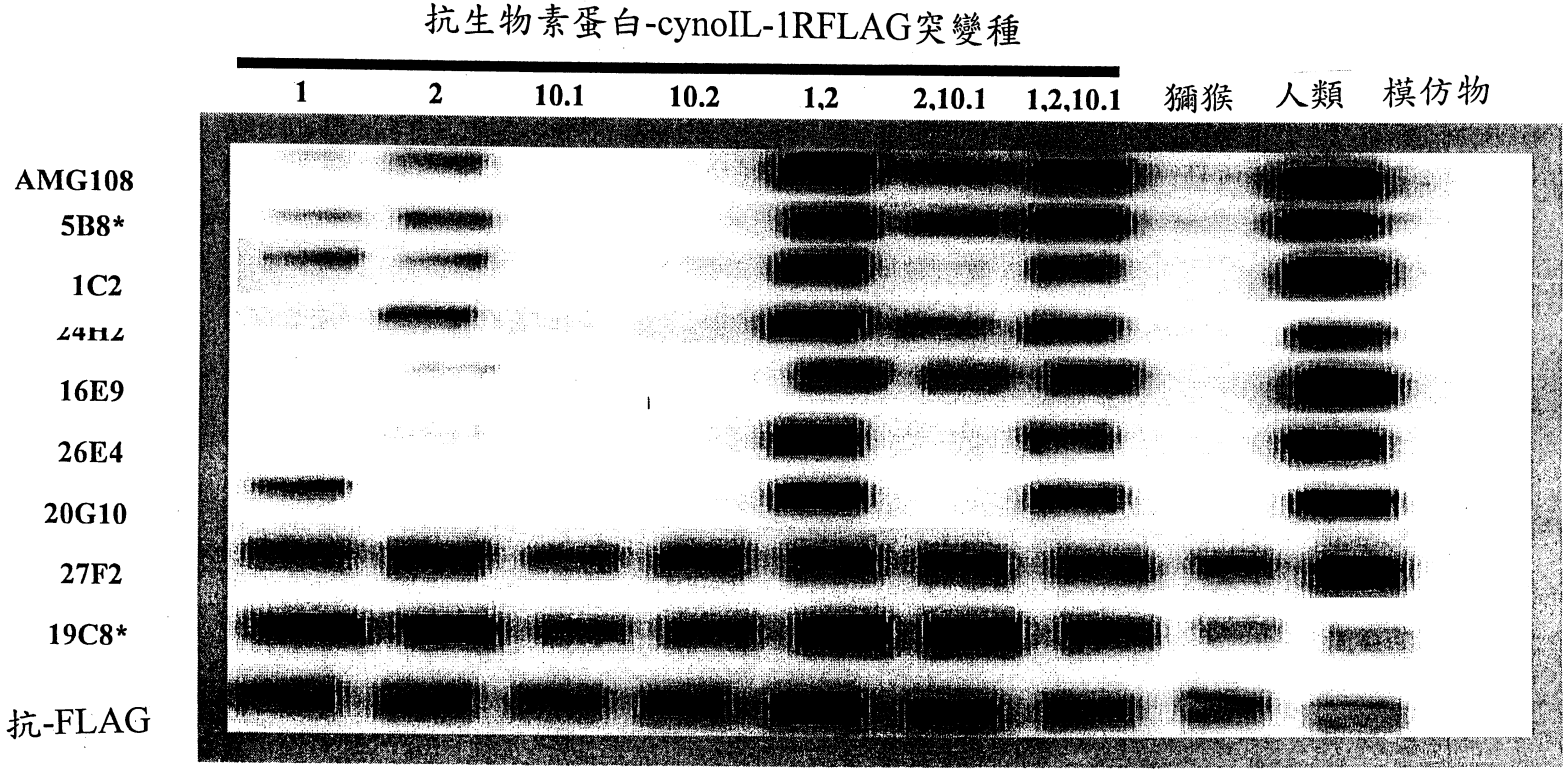
抗生物素蛋白-cynoIL-1RFLAG突變種
1
2
10.1
10.2
1,2
2,10.1
1,2,10.1
獼猴
人類
模仿物
AMG108
5B8*
1C2
16E9
26E4
20G10
27F2
19C8*
抗-FLAG

圖 25A

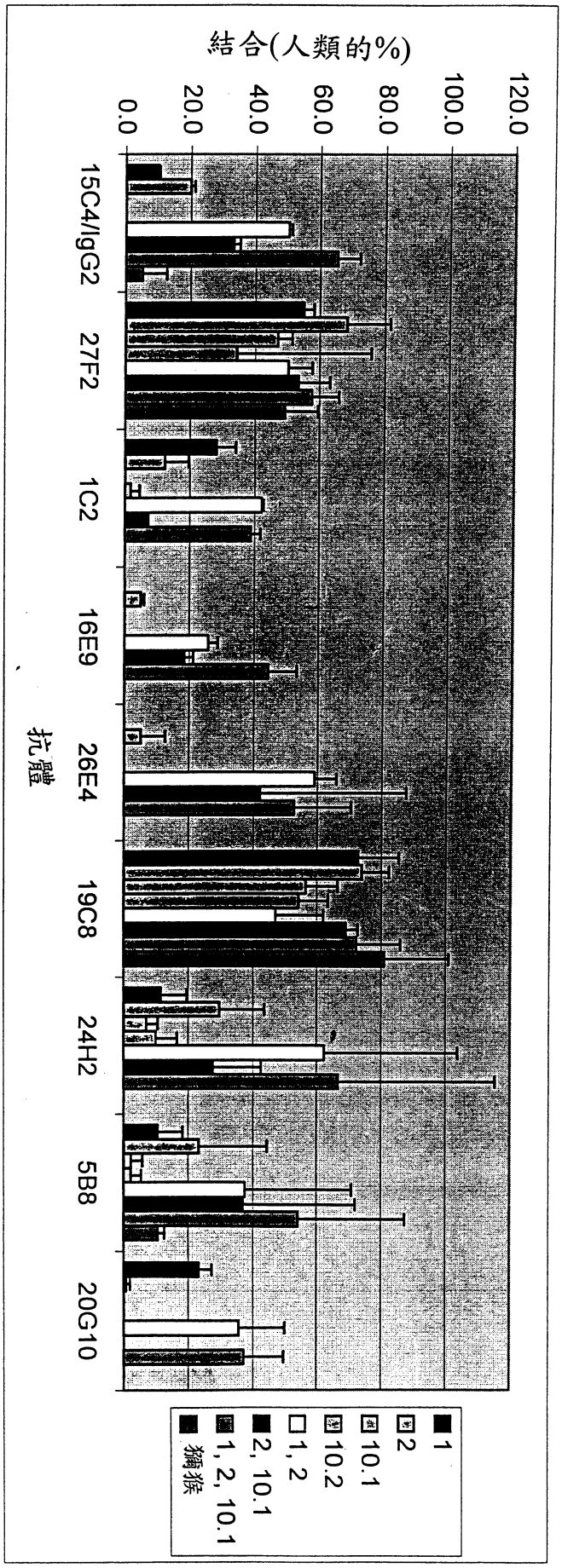
結合(人類的%)
120.0
100.0
80.0
60.0
40.0
20.0
0.0
15C4/IgG2
27F2
1C2
16E9
26E4
19C8
24H2
5B8
20G10
抗體
1
2
10.1
10.2
1, 2
2, 10.1
1, 2, 10.1
獼猴

圖 25B

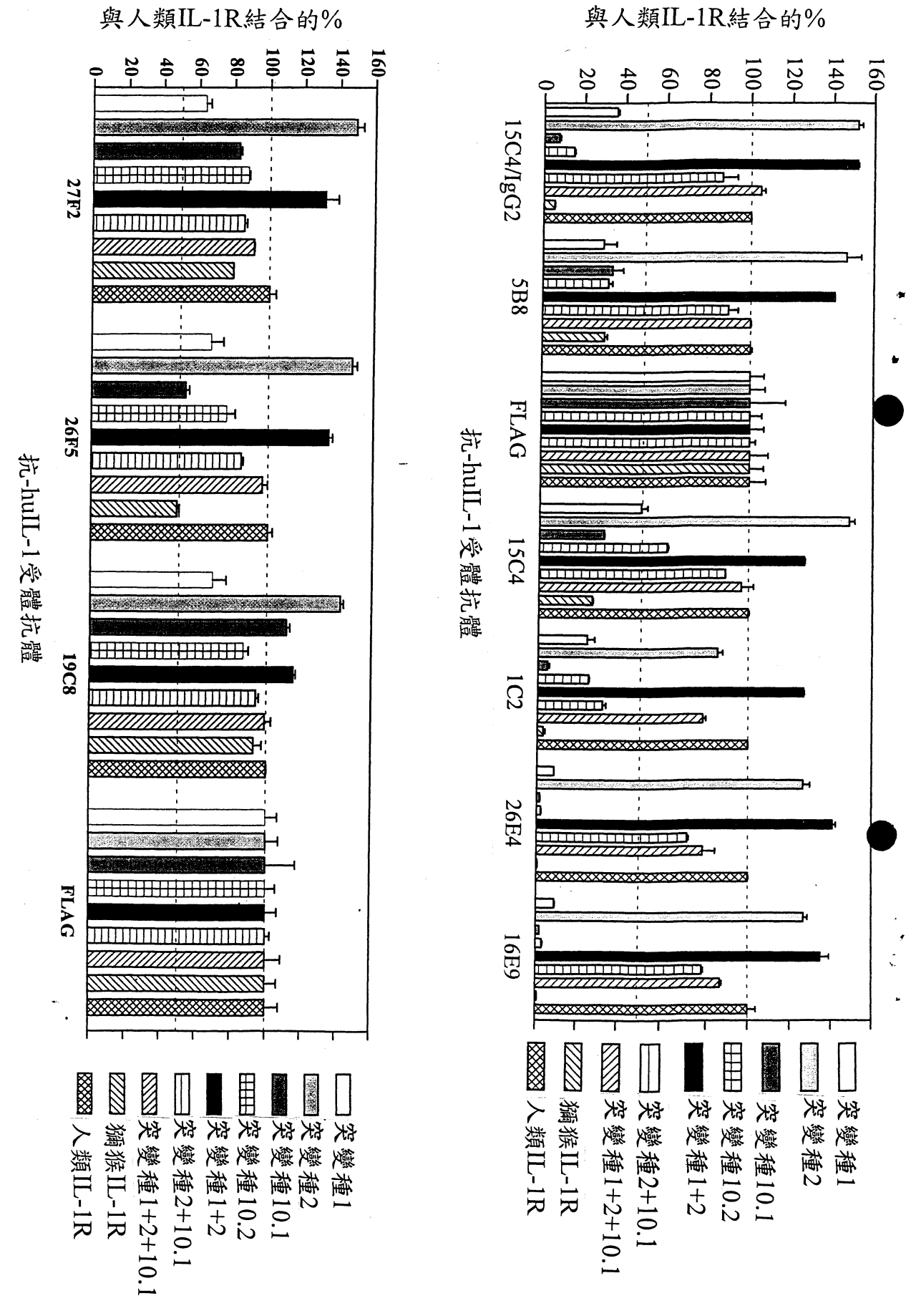
與人類IL-1R結合的%
0
20
40
60
80
100
120
140
160
15C4/IgG2
5B8
FLAG
15C4
1C2
26E4
16E9
抗-huIL-1受體抗體
突變種1
突變種2
突變種10.1
突變種10.2
突變種1+2
突變種2+10.1
突變種1+2+10.1
獼猴IL-1R
人類IL-1R
與人類IL-1R結合的%
0
20
40
60
80
100
120
140
160
27F2
26F5
19C8
FLAG
抗-huIL-1受體抗體
突變種1
突變種2
突變種10.1
突變種10.2
突變種1+2
突變種2+10.1
突變種1+2+10.1
獼猴IL-1R
人類IL-1R

圖 26

柒、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：第（ 19 ）圖。

(二)本代表圖之元件代表符號簡單說明：

（無元件代表符號）

捌、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

（無）