



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 201920675 A

(43)公開日：中華民國 108 (2019) 年 06 月 01 日

(21)申請案號：107143762

(22)申請日：中華民國 106 (2017) 年 10 月 13 日

(51)Int. Cl.：

C12N15/13 (2006.01)

C12N15/85 (2006.01)

C12P21/08 (2006.01)

C07K16/28 (2006.01)

(30)優先權：2016/10/28

美國

62/414,258

(71)申請人：美國禮來大藥廠(美國) ELI LILLY AND COMPANY (US)

美國

(72)發明人：班夏普羅伯 詹 BENSCHOP,ROBERT JAN (US)；戴維斯朱利安 DAVIES,JULIAN (US)；歐克拉葛雷安吉拉 吉安奈 OKRAGLY,ANGELA JEANNINE (US)；佩托查坦庫瑪 奈法羅 PATEL,CHETANKUMAR NATVARLAL (US)；處樂 史蒂芬妮 馬利 TRUHLAR,STEPHANIE MARIE (US)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：有 申請專利範圍項數：10 項 圖式數：0 共 45 頁

(54)名稱

抗 IL-33 抗體及其用途

ANTI-IL-33 ANTIBODIES AND USES THEREOF

(57)摘要

本發明提供結合且中和人類 IL-33 之抗體及其使用方法，該等抗體適用作為用以治療與過敏性疾病相關之病症，包括治療異位性皮膚炎的藥劑。

Antibodies which bind and neutralize human IL-33, and methods of using same, are provided, said antibodies are useful as agents for treating conditions associated with allergic disease including treating atopic dermatitis.

【發明說明書】

【中文發明名稱】

抗IL-33抗體及其用途

【英文發明名稱】

ANTI-IL-33 ANTIBODIES AND USES THEREOF

【技術領域】

本發明屬於醫藥領域。更特定而言，本發明係關於對抗介白素-33 (interleukin-33 ; IL-33)之抗體及其醫藥組合物。預期本發明之抗體適用於治療異位性皮膚炎。

【先前技術】

異位性皮膚炎(亦稱為異位性濕疹)係慢性發炎性過敏性皮膚疾病，其特徵為復發性紅癢病變。觀察到異位性皮膚炎患者有兩個主要病理生理學異常：由於皮膚中不當免疫反應引起之皮膚發炎以及經改變的表皮結構及功能。發炎性浸潤係由細胞之混合物所構成，尤其是表現IL-4、IL-5及IL-13之免疫細胞。在包括哮喘及過敏性鼻炎之其他過敏性疾病中，此等細胞介素通常會升高。

異位性皮膚炎被描述成由皮膚疾病所引起之最主要非致命性健康負擔。雖然其最常開始於嬰兒期且影響十分之二的兒童，其在成年人中亦極為普遍。大多數患有慢性異位性皮膚炎之成年人幾乎終身患病。癢、睡眠剝奪及由於明顯的病變所引起的社交尷尬對患者及其親屬之社會心理健康造成實質性影響。在兒童中，異位性皮膚炎對健康相關之生活品質之影響類似於其他主要兒童病症(諸如哮喘及糖尿病)之影響。患有異位性皮膚炎的大多數人具有個人或家族過敏病史。

目前，異位性皮膚炎無法治癒，且疾病管理之目標係利用一種多步驟方法來控制或改善症狀以及達到長期疾病控制。主要原則係使用潤膚劑進行連續表皮障壁修復、避免個別觸發因素且使用局部皮質類固醇或鈣調神經磷酸酶抑制劑進行消炎治療。在受嚴重影響之病例中，需要給予光療法(phototherapy)或系統性免疫抑制劑。因此，需要其他有效療法用於患有異位性皮膚炎之患者。

IL-33係IL-1細胞介素超科之成員，且主要由角質細胞、上皮細胞及內皮細胞表現。IL-33活化若干類型的先天性及後天性免疫細胞，該等細胞會引起其他促炎性介質之產生，且其最常見特點為促進2型或輔助T細胞2 (Th2)免疫反應之上皮細胞介素。本技藝領域中存在許多已知之可結合至IL-33及中和IL-33之抗體。舉例而言，美國公開案第20160168242A1號及國際公開案第WO2015/106080A2號揭示某些結合人類IL-33之抗體。然而，需要以高親和力結合人類IL-33且在治療諸如異位性皮膚炎之過敏性疾病方面治療有效之替代抗體。經改善之親和力及優勢IC₅₀可能能夠實現給藥益處。

【發明內容】

本發明解決用於患有過敏性疾病(諸如異位性皮膚炎、食物過敏、過敏性鼻炎及哮喘)患者之替代抗體治療之需求。在一些實施例中，過敏性疾病係異位性皮膚炎。本發明亦解決用於患有持久性發炎性疾病(包括嗜酸性食道炎、硬皮病/系統性硬化症、潰瘍性結腸炎及慢性阻塞性肺病)患者之替代抗體治療之需求。本發明亦解決用於患有克隆氏症(Crohn's disease)患者之替代抗體治療之需要。

本發明提供結合人類IL-33之抗體。在一些實施例中，抗體包含輕鏈

可變區(light chain variable region, LCVR)及重鏈可變區(heavy chain variable region, HCVR)，其中LCVR包含互補決定區(complementarity determining region, CDR) LCDR1、LCDR2及LCDR3，且HCVR包含CDR HCDR1、HCDR2及HCDR3，且其中LCDR1之胺基酸序列係SEQ ID NO:16，LCDR2之胺基酸序列係SEQ ID NO:17，LCDR3之胺基酸序列係SEQ ID NO:18，HCDR1之胺基酸序列係SEQ ID NO:13，HCDR2之胺基酸序列係SEQ ID NO:14，且HCDR3之胺基酸序列係SEQ ID NO:15。在一些此類實施例中，SEQ ID NO:13之位置6處之Xaa係Ser，SEQ ID NO:15之位置2處之Xaa係Leu，SEQ ID NO:17之位置6處之Xaa係ala，且SEQ ID NO:18之位置6處之Xaa係Ser。在其他此類實施例中，SEQ ID NO:13之位置6處之Xaa係Phe，SEQ ID NO:15之位置2處之Xaa係Leu，SEQ ID NO:17之位置6處之Xaa係Leu，且SEQ ID NO:18之位置6處之Xaa係Pro。在其他此類實施例中，SEQ ID NO:13之位置6處之Xaa係Phe，SEQ ID NO:15之位置2處之Xaa係Ile，SEQ ID NO:17之位置6處之Xaa係Leu，且SEQ ID NO:18之位置6處之Xaa係Pro。

本發明亦提供一種結合人類IL-33之抗體，其中抗體包含LCVR及HCVR，且其中LCVR之胺基酸序列係SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:8或SEQ ID NO:12，且HCVR之胺基酸序列係SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:7或SEQ ID NO:11。在一特定實施例中，LCVR之胺基酸序列係SEQ ID NO:4，且HCVR之胺基酸序列係SEQ ID NO:3。在另一特定實施例中，LCVR之胺基酸序列係SEQ ID NO:8，且HCVR之胺基酸序列係SEQ ID NO:7。在另一特定實施例中，LCVR之胺基酸序列係SEQ ID NO:12，且HCVR之胺基酸序列係SEQ ID NO:11。

本發明亦提供一種結合人類IL-33之抗體，其中抗體包含輕鏈(light chain，LC)及重鏈(heavy chain，HC)，且其中LC之胺基酸序列係SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:6或SEQ ID NO:10，且HC之胺基酸序列係SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:5或SEQ ID NO:9。在一特定實施例中，LC之胺基酸序列係SEQ ID NO:2，且HC之胺基酸序列係SEQ ID NO:1。在另一特定實施例中，LC之胺基酸序列係SEQ ID NO:6，且HC之胺基酸序列係SEQ ID NO:5。在另一特定實施例中，LC之胺基酸序列係SEQ ID NO:10，且HC之胺基酸序列係SEQ ID NO:9。

本發明亦提供一種結合人類IL-33之抗體，其中抗體包含2個LC及2個HC，且其中各LC之胺基酸序列係SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:6或SEQ ID NO:10，且各HC之胺基酸序列係SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:5或SEQ ID NO:9。在一特定實施例中，各LC之胺基酸序列係SEQ ID NO:2，且各HC之胺基酸序列係SEQ ID NO:1。在一特定實施例中，各LC之胺基酸序列係SEQ ID NO:6，且各HC之胺基酸序列係SEQ ID NO:5。在另一特定實施例中，各LC之胺基酸序列係SEQ ID NO:10，且各HC之胺基酸序列係SEQ ID NO:9。

本發明亦提供一種醫藥組合物，其包含本發明之抗體及一或多種醫藥學上可接受之載劑、稀釋劑或賦形劑。在一些實施例中，本發明之醫藥組合物可用於過敏性疾病之治療，其中此類治療包含向有需要之患者投與有效量之本發明之醫藥組合物。在一些特定實施例中，過敏性疾病係異位性皮膚炎、哮喘、過敏性鼻炎或食物過敏。在一些實施例中，本發明之醫藥組合物可用於治療嗜酸性食道炎、硬皮病/系統性硬化症、潰瘍性結腸炎或慢性阻塞性肺病。在一些實施例中，本發明之醫藥組合物可用於治療

克隆氏症。

本發明亦提供一種治療過敏性疾病之方法，其包含向有需要之患者投與有效量之本發明之抗體。在一些此類實施例中，過敏性疾病係異位性皮膚炎。在其他此類實施例中，過敏性疾病係哮喘。在其他此類實施例中，過敏性疾病係食物過敏。在其他此類實施例中，過敏性疾病係過敏性鼻炎。本發明亦提供一種治療異位性皮膚炎之方法，其包含向有需要之患者投與有效量之本發明之抗體。在一些實施例中，本發明亦提供一種治療以下中之至少一者之方法：嗜酸性食道炎、硬皮病/系統性硬化症、潰瘍性結腸炎及慢性阻塞性肺病，其包含向有需要之患者投與有效量之本發明之抗體。在一些實施例中，本發明亦提供一種治療克隆氏症之方法。

本發明亦提供本發明之抗體或其醫藥組合物用於治療。在一些實施例中，本發明提供本發明之抗體或其醫藥組合物用於治療過敏性疾病，其中過敏性疾病係異位性皮膚炎、哮喘、過敏性鼻炎或食物過敏。在一特定實施例中，本發明提供本發明之抗體或其醫藥組合物用於治療異位性皮膚炎。在一些實施例中，本發明提供本發明之抗體或其醫藥組合物用於治療嗜酸性食道炎、硬皮病/系統性硬化症、潰瘍性結腸炎或慢性阻塞性肺病。在一些實施例中，本發明提供本發明之抗體或其醫藥組合物用於治療克隆氏症。

在一實施例中，本發明亦提供本發明之抗體或其醫藥組合物在用於製造供治療過敏性疾病之藥物之用途。在一些實施例中，本發明提供本發明之抗體或其醫藥組合物在用於製造供治療過敏性疾病之藥物之用途，其中過敏性疾病係異位性皮膚炎、哮喘、過敏性鼻炎或食物過敏。在一特定實施例中，本發明提供本發明之抗體在用於製造供治療異位性皮膚炎之藥

物之的用途。在一些實施例中，本發明提供本發明之抗體或其醫藥組合物在用於製造供治療嗜酸性食道炎、硬皮病/系統性硬化症、潰瘍性結腸炎或慢性阻塞性肺病之藥物之用途。在一些實施例中，本發明提供本發明之抗體或其醫藥組合物在用於製造供治療克隆氏症之藥物之用途。

本發明亦關於編碼本發明之抗體之核酸分子。在一實施例中，本發明提供一種DNA分子，其包含編碼HC之多核苷酸序列，其中HC之胺基酸序列係SEQ ID NO:9。根據一些此類實施例，DNA分子具有由SEQ ID NO:20給出之多核苷酸序列。

在一實施例中，本發明提供一種DNA分子，其包含編碼LC之多核苷酸序列，其中LC之胺基酸序列係SEQ ID NO:10。根據一些此類實施例，DNA分子具有由SEQ ID NO:21給出之多核苷酸序列。

在另一實施例中，本發明提供一種DNA分子，其包含編碼具有SEQ ID NO:9之胺基酸序列之HC的多核苷酸序列且包含編碼具有SEQ ID NO:10之胺基酸序列之LC的多核苷酸序列。在一特定實施例中，編碼具有SEQ ID NO:9之胺基酸序列之HC的多核苷酸序列係由SEQ ID NO:20給出，且編碼具有SEQ ID NO:10之胺基酸序列之LC的多核苷酸序列係由SEQ ID NO:21給出。

本發明亦提供一種經DNA分子轉型之哺乳動物細胞，該細胞能夠表現包含本發明之HC及LC之化合物，其中HC係由SEQ ID NO:9給出，且LC係由SEQ ID NO:10給出。另外，本發明提供一種用於產生包含HC及LC之化合物之方法，其包含在得以表現本發明之抗體之條件下培養哺乳動物細胞。本發明亦提供藉由該方法產生之抗體。

在另一實施例中，本發明提供一種在新穎抗原決定基上接觸人類IL-

33之抗體，其中抗原決定基具有SEQ ID NO:19之以下殘基：位置23處之Ser；位置24處之Pro；位置25處之Ile；位置26處之Thr；位置27處之Glu；位置28處之Tyr；位置29處之Leu；位置69處之Tyr；位置71處之Glu；位置83處之Val；位置84處之Asp；位置86處之Lys；位置88處之Leu；位置126處之Leu；位置128處之Asn；位置129處之Met；位置132處之Asn；位置133處之Cys；位置134處之Val；位置175處之Glu；及位置176處之Thr。在此實施例中，抗原決定基藉由X射線結晶測定，其中將距所結合Fab上之另一殘基4.5Å以內之IL-33上的任何殘基視為接觸位點。如本文所使用之術語「抗原決定基」因此指接觸抗體之可變區之抗原位點。

如本文所使用，「抗體」係包含由二硫鍵互連之2個HC及2個LC之免疫球蛋白分子。各LC及HC之胺基末端部分包括約100-120個胺基酸之可變區，該可變區主要負責經由其中所含有之CDR識別抗原。CDR與稱為構架區(「FR」)之較保守區域穿插。各LCVR及HCVR由3個CDR及4個FR構成，其按以下順序自胺基末端至羧基末端排列：FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。LC之3個CDR稱為「LCDR1、LCDR2及LCDR3」，且HC之3個CDR稱為「HCDR1、HCDR2及HCDR3」。CDR含有與抗原形成特異性相互作用的大部分殘基。亦即，CDR含有接觸(在4.5Å以內)抗原之殘基的大多數殘基。因此，抗體結合特定抗原之功能性能力很大程度上受在六個CDR內之胺基酸殘基影響。向本發明之抗體之LCVR區及HCVR區內之CDR域分配胺基酸係基於熟知的Kabat編號規約(Kabat等人，Ann. NY Acad. Sci. 190:382-93 (1971)；Kabat等人，Sequences of Proteins of Immunological Interest，第五版，美國衛生及

人類服務部(U.S. Department of Health and Human Services)，NIH公開案第91-3242號(1991))，North編號規約(North等人，A New Clustering of Antibody CDR Loop Conformations, Journal of Molecular Biology, 406:228-256 (2011))及Chothia (Chothia C, Lesk AM. Canonical structures for the hypervariable regions of immunoglobulins. J. Mol. Biol. 1987;196:901-17；Chothia C, Lesk AM, Tramontano A, Levitt M, Smith-Gill SJ, Air G, Sheriff S, Padlan EA, Davies D, Tulip WR等人，Conformations of immunoglobulin hypervariable regions. Nature. 1989;342:877-83)。本發明之抗體之CDR根據表1界定。

表1.用於界定本發明之抗體之CDR的CDR編號規約。

CDR	由以下界定之起始胺基酸殘基：	由以下界定之終止胺基酸殘基：
HCDR1	Chothia	Kabat/North
HCDR2	Kabat	Kabat
HCDR3	Chothia/Kabat	Chothia/Kabat
LCDR1	Chothia/Kabat/North	Chothia/Kabat/North
LCDR2	Chothia/Kabat	Chothia/Kabat/North
LCDR3	Chothia/Kabat/North	Chothia/Kabat/North

本發明之抗體可使用已知方法製備及純化。舉例而言，編碼HC (例如由SEQ ID NO:9給出之胺基酸序列)及LC (例如由SEQ ID NO:10給出之胺基酸序列)之cDNA序列可經選殖並工程改造至麩醯胺酸合成酶 (glutamine synthetase，GS)表現載體中。經工程改造的免疫球蛋白表現載體隨後穩定轉染至CHO細胞中。如熟習此項技術者應瞭解，抗體之哺乳動物表現會引起糖基化，通常在Fc區中之極保守的N-糖基化位點上。可檢驗穩定殖株用於表現特異性結合於IL-33之抗體的穩定殖株係經確效。可將陽性殖株在無血清培養基中擴增以便在生物反應器中產生抗體。

可藉由習知技術純化其中已分泌有抗體之培養基。舉例而言，將培養基方便地施加至已用相容性緩衝液(諸如磷酸鹽緩衝鹽水)平衡之蛋白A或G瓊脂糖凝膠FF管柱。洗滌管柱以移除非特異性結合組分。例如藉由pH梯度溶離經結合的抗體，且諸如藉由SDS-PAGE偵測抗體溶離份且隨後彙集。可使用常用技術將抗體濃縮及/或無菌過濾。可藉由常用技術，包括尺寸排阻層析、疏水相互作用層析、離子交換層析或羥磷灰石層析，有效移除可溶聚集物及多聚物。可將產物立即在例如-70℃下冷凍或可將其冷凍乾燥。

本發明之抗體可以併入至一種醫藥組合物中，該醫藥組合物可以藉由此項技術中熟知之方法製備且包含本發明之抗體及一或多種醫藥學上可接受之載劑、稀釋劑或賦形劑。

可以向處於如本文所描述之疾病或病症之風險下或展現如本文所描述之疾病或病症之患者藉由非經腸途徑(例如皮下、靜脈內、腹膜內、肌內或經皮)投與包含有效量之本發明之抗體的醫藥組合物。「有效量」指達成所需治療結果所必需之量(在一定劑量下，及對於一定時間段而言，及對於投與方法而言)。抗體之有效量可根據諸如個體之疾病病況、年齡、性別及體重以及抗體在個體中引發所需反應之能力的因素而變化。治療有效量亦係本發明之抗體的治療有利影響超過其任何毒性或不利影響的量。

本發明之抗體可用於治療患者。更特定而言，預期本發明之抗體治療過敏性疾病，諸如異位性皮膚炎、哮喘、過敏性鼻炎及食物過敏。過敏性疾病係一組涉及針對通常對於大多數人而言無害之物質之異常免疫反應的慢性病症。亦預期本發明之抗體治療嗜酸性食道炎、硬皮病/系統性硬化症、潰瘍性結腸炎及慢性阻塞性肺病。亦預期本發明之抗體治療克隆氏

症。

如在本文中互換地使用，「治療(treatment)」及/或「治療(treating)」及/或「治療(treat)」旨在指其中可減緩、阻斷、遏制、控制、終止或逆轉本文所描述之病症之進展的所有方法，但未必表示完全消除所有病症症狀。治療包括投與本發明之抗體用於治療將受益於IL-33活性之降低之人類的疾病或病況且包括：(a)抑制疾病進一步進展；及(b)緩解疾病，即，引起疾病或病症消退或緩解其症狀或併發症。

抗體工程改造

優化親本人類抗IL-33抗體用於結合於人類IL-33。為實現這一點，將經分離的VH及VL之CDR藉由誘變隨機化且使用ELISA篩檢所得抗體用於結合於人類IL-33。隨後合併親和力增強型突變，產生抗體23，隨後使用框架庫方法將其優化。用於框架庫，合成含有抗體23 CDR之十二個人類VH框架生殖系基因(1-24、1-46、1-69、2-5、3-15、3-23、3-53、3-72、4-04、4-39、5-51及6-01)及八個人類VL框架基因(A-19、A-26、A-27、B-2、B-3、L-2、L-12及O-2)且選殖入重鏈及輕鏈人類IgG4表現載體中。293 HEK短暫轉染所有96個重鏈及輕鏈組合之後，藉由ELISA分析上清液用於與直接塗佈至盤上之人類IL-33及用抗人類 κ 抗體自上清液捕獲人類IgG之後溶液中之生物素標記IL-33結合。選擇具有來源於抗體抗體23之CDR的人類抗體(其使用3-53重鏈人類框架及A27人類輕鏈框架)用於進一步發展(抗體75)。抗體75在暫態CHO中之表現相比於抗體23引起更高表現效價。此外，抗體75之純化引起比抗體23更高之純化產率。相比於抗體23，針對抗體75亦觀測到降低的對肝素之非特異性結合。總體而言，相比於抗體23，抗體75具有較佳特性。抗體75以14.5 pM之親和力結合於

人類IL-33且以12,400 pM之親和力結合於食蟹獼猴IL-33，代表物種交叉反應中之約850倍差異。

隨後優化抗體75用於結合於食蟹獼猴IL-33。為實現這一點，將抗體75之經分離的VH及VL之CDR藉由誘變隨機化且藉由ELISA篩檢所得抗體用於結合於人類IL-33及食蟹獼猴IL-33。隨後合併不顯著影響對人類IL-33之親和力之食蟹獼猴之親和力增強型突變，產生抗體54。抗體54以46 pM之親和力結合於人類IL-33且以217 pM之親和力結合於食蟹獼猴IL-33，代表物種交叉反應中之5倍差異。隨後將抗體54進一步工程改造以降低潛在免疫原性，產生抗體43。用於抗體43、54及75之胺基酸序列標識數字提供於下。

	HC	LC	HCVR	LCVR
Ab 75	SEQ ID NO:1	SEQ ID NO:2	SEQ ID NO:3	SEQ ID NO:4
Ab 54	SEQ ID NO:5	SEQ ID NO:6	SEQ ID NO:7	SEQ ID NO:8
Ab 43	SEQ ID NO:9	SEQ ID NO:10	SEQ ID NO:11	SEQ ID NO:12

【實施方式】

實例

實例1：例示性抗體之表現及純化

本發明之抗體可藉由熟知方法生物合成、純化及調配用於投藥。若使用兩個載體或編碼重鏈及輕鏈之單個載體系統，則使用預定HC:LC載體比率對適合宿主細胞(諸如HEK 293或CHO)暫時或穩定轉染用於分泌抗體之表現系統。適於自此等通常使用之宿主細胞表現及分泌抗體之載體為熟知的。

表現及分泌抗體之後，將培養基澄清以移除細胞且使用多種通常使用之技術中之任一者純化經澄清的培養基。舉例而言，可將培養基施加至已用緩衝液(諸如磷酸鹽緩衝鹽水(pH 7.4))平衡之蛋白A或G管柱。洗滌管

柱以移除非特異性結合組分。例如藉由pH梯度(諸如，0.1 M磷酸鈉緩衝液pH 6.8至0.1 M檸檬酸鈉緩衝液pH 2.5)溶離經結合的抗體。諸如藉由SDS-PAGE偵測抗體溶離份，隨後將其彙集。視情況選用進一步純化，其視預期用途而定。可使用常用技術將抗體濃縮及/或無菌過濾。可藉由常用技術，包括尺寸排阻層析、疏水相互作用層析、陽離子交換層析、陰離子交換層析、親和層析或羧磷灰石層析，有效減少或移除抗體以外之其他物質(諸如宿主細胞及生長培養基組分)及抗體之可溶聚集物與多聚物。此等層析步驟之後抗體純度通常大於95%。產物可於-70°C下冷凍或可冷凍乾燥。

例示性抗體43在分別併入SEQ ID NO:20及SEQ ID NO:21之DNA序列之獨立重鏈及輕鏈表現DNA載體的共轉染之後在CHO細胞中暫時表現，或在併入分別編碼重鏈及輕鏈之SEQ ID NO:20及SEQ ID NO:21二者之DNA序列之單個DNA載體的轉染之後在CHO細胞中穩定表現。將自7天暫態CHO培養或14天CHO大批培養物收集之培養基澄清且將所得粗上澄液藉由蛋白A層析純化。抗體43結合於蛋白A樹脂且使用低pH緩衝液溶離。針對由暫態CHO產生之物質，使用製備型尺寸排阻層析(size-exclusion chromatography, SEC)，或使用陽離子交換層析作為用於由穩定CHO產生之物質之精製步驟，將經溶離抗體進一步純化。藉由SDS-PAGE、分析型SEC-HPLC及LC/MS分析評估抗體43之最終純度。使用Endosafe-PTS分析顯示內毒素含量為< 1 EU/mg。將經純化抗體43在4°C下儲存在pH 7.2之磷酸緩衝鹽水(phosphate-buffered saline, PBS)中。

活體外結合親和力及動力學。

使用表面電漿共振分析，在經HBS-EP+ (GE Healthcare, 10 mM

Hepes pH7.4, 150 mM NaCl, 3 mM EDTA, 0.05% 界面活性劑P20)操作緩衝液預致敏且分析溫度設置為37°C之Biacore T100或T200儀器上測定抗體43對人類、食蟹獼猴、小鼠、大鼠及兔IL-33之結合動力學及親和力。使用含有在所有四個流槽上(flow cells, Fc)之固定蛋白A (使用標準NHS-EDC胺偶合產生)之CM4晶片以用於採集方法。製備在操作緩衝液中之10 µg/mL之抗體樣品。製備在操作緩衝液中之最終濃度為1000、500、250、125、63、31、16及0 nM之小鼠、大鼠及兔IL-33樣品。製備在操作緩衝液中之最終濃度為250、125、63、31、16、8、4、2、1及0 nM之人類及食蟹獼猴IL-33樣品。各分析循環涉及以下步驟：(1)採集獨立流槽(Fc2、Fc3或Fc4)上之抗體樣品；(2)以100 µL/min對所有流槽注射200 µL IL-33；(3)以100 µL/min返回至緩衝液流最小10 min以監控複合物分解；(4)使用7.5微升甘胺酸(pH1.5)之兩個依序注射來再生晶片表面；及(5)在重複循環之前平衡晶片表面5分鐘。各IL-33濃度按一式兩份注射。使用標準雙參考處理資料，且使用2.0.1版Biacore T100評估軟體擬合成1:1結合模型，用以測定結合速率(結合速率， k_{on} ，單位 $\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$)及解離速率(解離速率， k_{off} ，單位 s^{-1})。由關係使 $K_D = k_{\text{off}}/k_{\text{on}}$ 計算平衡解離常數(K_D)，且以莫耳為單位。針對抗體43與人類及食蟹獼猴IL-33之結合進行三個實驗複本(n)。

遵照基本上如上文所描述之步驟，抗體43對人類IL-33及對食蟹獼猴IL-33具有濃度依賴型結合反應。在注射之小鼠、大鼠及兔IL-33之最高濃度(1000 nM)下結合反應信號不達理論半最大反應信號。因此，估計抗體43對小鼠、大鼠及兔IL-33之 $K_D > 1000$ nM。使用如上文所描述之類似方法測定抗體75及抗體54之結合動力學及親和力。類似方法亦用於測定具

有APE4909之HCVR及LCVR序列之抗IL-33 IgG4抗體(不屬於本發明)之結合動力學及親和力(揭示於WO15106080中；在本文中稱作「抗體6」)。此等結果顯示於表2中。

表2：本發明之抗體及抗體6之IL-33結合動力學及親和力。

抗體	抗原	k_{on} (M ⁻¹ s ⁻¹) 平均值±SD	k_{off} (s ⁻¹) 平均值±SD	K _D (pM) 平均值±SD	N
抗體75*	人類IL-33	1.7±0.5 x 10 ⁶	2.6±0.1 x 10 ⁻⁵	14.5±1.5	3
抗體75*	食蟹獼猴IL-33	1.7±0.6 x 10 ⁶	1.9±0.1 x 10 ⁻²	12400±4000	3
抗體54*	人類IL-33	1.5±0.5 x 10 ⁶	6.8±1.3 x 10 ⁻⁵	46±9	3
抗體54*	食蟹獼猴IL-33	1.5±0.2 x 10 ⁶	3.4±0.5 x 10 ⁻⁴	217±50	3
抗體43	人類IL-33	1.5±0.1 x 10 ⁶	7.2±1.7 x 10 ⁻⁵	49±14	3
抗體43	食蟹獼猴IL-33	1.5±0.2 x 10 ⁶	51±2.0 x 10 ⁻⁵	338±45	3
抗體6*	人類IL-33	1.6±0.1 x 10 ⁶	4.0±0.9 x 10 ⁻⁴	252±73	2
抗體6*	食蟹獼猴IL-33	1.8±0.6 x 10 ⁶	1.3±0.1 x 10 ⁻³	804±377	2
抗體43	小鼠IL-33	K _D > 1000 nM			1
抗體43	大鼠IL-33	K _D > 1000 nM			1
抗體43	兔IL-33	K _D > 1000 nM			1

*在不同天測試。

活體外與人類IL-33及其他IL-1家庭成員之結合之特徵化。

使用BIAcore生物感測器2000展示抗體43對人類IL-33之結合特異性且顯示例示性抗體不與人類IL-1蛋白家族之其他成員結合。

使用N-乙基-N-(二甲胺基丙基)-碳化二亞胺(EDC)與N-羥基丁二醯亞胺(NHS)之混合物將蛋白A (Calbiochem)經由自由胺基偶合至位於CM5生物感測器晶片(GE Healthcare)之流槽1及2上之羧基上。為採集陽性對照抗體，將兔抗山羊IgG (Fc特異性)偶合於流槽3且將兔抗大鼠IgG (Fc特異性)偶合於流槽4 (皆來自Jackson ImmunoResearch)。使用含有0.01 M HEPES (pH 7.4)、150 mM NaCl、0.005%界面活性劑P20之緩衝液以每

分鐘30 μL之流速監控流槽。在流槽2上採集抗體43，產生總共300至800反應單位(response units，RU；結果反映流槽2減去流槽1)。在各循環之間在結合測試之後進行使用甘胺酸-HCl (pH 1.5)之再生步驟。流槽1用作監控被測試之分析物之非特異性結合之對照。使用500 nM濃度之所列出之人類IL-1蛋白家族之所有分析物測試例示性抗體。

遵照基本上如上文所描述之步驟之後，表3中之結果顯示抗體43僅與人類IL-33結合且不與IL-1家族之其他成員結合。

表3：抗體43特異性結合於IL-33。

配位體	例示性抗體結合	陽性對照結合
IL-33	是	
IL-1α	否	是
IL-1β	否	是
IL-1RA	否	是
IL-18	否	是
IL-36α	否	是
IL-36β	否	是
IL-36γ	否	是
IL-36RA	否	是
IL-37	否	是

在活體外GEC NFκB-螢光素酶報導子分析中IL-33之中和。

使用經NFκB-螢光素酶構築體穩定轉染之人類腎小球內皮細胞(glomerular endothelial cells，GEC)測定抗體43抑制IL-33誘導的NFκB活性之能力。GEC株天然表現ST2受體及其輔受體IL1RAP。對人類IL-33起反應，在GEC中NFκB路徑經活化。

在分析培養基(EGM BulletKit培養基(LONZA)加嘌呤黴素)中培養GEC-NFκB-luc細胞。在分析前一天，將GEC-NFκB-luc細胞以5,000細胞在50微升/孔之經膠原蛋白I處理之白色壁的盤(BD Biocoat)中塗覆，且將

盤培育隔夜。

次日，將細胞在IL-33存在下用抗體43處理。對於各測試，以0至133.3 nM每孔之劑量範圍向每孔添加25 µl例示性抗體。隨後以126 pM (根據MW=20kDa)之最終濃度向各孔添加25 µl人類IL-33。在分析中人類單體ST2 (IL1RL1)以0至142.9 nM之劑量範圍(最終濃度根據MW=35kDa)用作陽性對照，且在分析中同型對照抗體以0至133.3 nM之劑量範圍(最終濃度根據MW=75kDa)用作陰性對照。所有樣品均按一式三份進行。將96孔盤在37℃、95%相對濕度、5% CO₂下培育4小時，之後添加100微升/孔之One-Glo螢光素酶溶液以量測螢光素酶活性，且在光度計(Perkin Elmer Victor3)中讀取盤。結果如下展示於表4中。

表4：在活體外NFκB-GEC-螢光素酶活性分析中之例示性抗體IC₅₀ (pM，平均值 ± SD)。

抗體	人類IL-33 IC ₅₀	食蟹獼猴IL33 IC ₅₀
抗體43	330 ± 112	1918 ± 152
抗體54*	139 ± 98	851 ± 500
抗體75*	286 ± 67	N.D.
抗體6*	292 ± 158	1031
陽性對照	426 ± 115	175 ± 21

*在不同天測試。

遵照基本上如上文所描述之步驟，以劑量依賴型方式，抗體43抑制人類IL-33及食蟹獼猴IL-33誘導的NFκB活性，但不抑制小鼠、大鼠或兔IL-33誘導的NFκB活性。針對人類及食蟹獼猴中和作用之三個獨立實驗之平均IC₅₀概述在表4中。在GEC-NFκB-luc細胞中，以任何測試濃度之陰性對照抗體均不抑制NFκB活性。

IL-33誘導的人類肥大細胞之活體外GM-CSF分泌之中和。

測定人類肥大細胞使用抗體43處理後經IL-33誘導的GM-CSF釋放之抑制作用。將天然表現ST2 (IL1RL1)受體及其輔受體IL1RAP之人類肥大細胞使用StemSpan培養基(StemCell)及SCF/IL-6在來自人類帶血幹細胞之培養物中進行分化。在分析當天，將50,000個肥大細胞以50微升/孔的密度種植在96孔組織培養盤中的培養物培養基中。在存在或不存在抗體之情況下用IL-33處理細胞。對於各測試，以0至30 nM之劑量範圍向每孔添加25 μ l之4X例示性抗體。向各孔添加25 μ l之4X人類IL-33至最終濃度0.5 nM。單純的分析培養基係作未處理對照，且人類單體ST2以0至30 nM之劑量範圍係作為陽性對照。以30 nM測試之同型對照抗體作為陰性對照。一式三份進行測試。將96孔盤置放於組織培養恆溫箱(37°C，95%相對濕度，5% CO₂)中16小時。收集100微升/孔上澄液，藉由商用ELISA (R&D Systems)量測GM-CSF含量。

遵照基本上如上文所描述之步驟，抗體43以劑量依賴型方式完全抑制人類IL33誘導的人類肥大細胞之GM-CSF分泌，具有0.3 nM之IC₅₀，其大於陽性對照可溶受體7.6 nM之IC₅₀。在另一類似實驗中，抗體54以0.265 nM之IC₅₀抑制人類IL33誘導的人類肥大細胞之GM-CSF分泌，且抗體6以0.811 nM之IC₅₀抑制人類IL33誘導的人類肥大細胞之GM-CSF分泌。同型對照抗體不抑制IL-33誘導的GM-CSF分泌。結果代表兩個獨立實驗。

活體內IL-33誘導的IL-5生成之抑制。

為確認活體內IL-33之中和作用，確定抗體43是否能夠中和人類IL-33功能且抑制小鼠活體內IL-5之生成，對C57BL/6小鼠(n=5)腹膜內注射0.94 mg/kg、0.282 mg/kg或0.094 mg/kg之抗體或0.94 mg/kg之同型對照

抗體。注射一天後，經由腹膜內注射用0.025 mg/kg人類IL-33攻擊小鼠。人類IL-33攻擊之後六個小時，處死小鼠且收集血清。針對小鼠IL-5生成，根據製造商說明書使用商用ELISA (R&D Systems)分析血清。

結果表明，抗體43能夠以劑量依賴型方式完全抑制小鼠IL-5之生成。在注射有0.94 mg/kg、0.282 mg/kg或0.094 mg/kg之例示性抗體之小鼠之血清中IL-5的含量分別係 0.03 ± 0.004 ng/mL、 0.166 ± 0.036 ng/mL及 0.430 ± 0.095 ng/mL。陰性對照抗體不抑制人類IL-33誘導的小鼠IL-5之生成。此等資料顯示，藉由活體內中和人類IL-33，抗體43抑制小鼠IL-5之生成。

在呼吸道發炎模型中替代小鼠IL-33抗體之活體內功效

替代抗體經研發來中和小鼠IL-33 (mIL-33)，用於在臨床前疾病模型中使用。替代物係在活體外分析中中和mIL-33之鼠類IgG1單株抗體。活體內測定系統性投與抗mIL-33抗體使呼吸道針對交鏈孢屬(*Alternaria*)攻擊起發炎反應之能力。在第0天，對雌性BALB/c小鼠(每組n=5)皮下注射25 mg/kg抗mIL-33或同型對照抗體。在第1天及第2天，在投與交鏈孢屬之前30分鐘將小鼠ST2-Fc，即可以在活體外分析中中和mIL-33之IL-33之輔受體中之一者的一種可溶形式(陽性對照)，以12.5 mg/kg進行腹膜內注射。在第1天及第2天，向各小鼠經鼻內投與交鏈孢屬提取物(於20 μ L PBS中之50 μ g)。在第3天藉由CO₂吸入處死小鼠，且立即經由心臟穿孔收集血液用於製備血清。

藉由使用PBS注射液之10次洗滌(每一次洗滌500 μ L)灌洗肺來製備支氣管肺泡灌洗流體(Bronchial alveolar lavage, BAL)，且藉由在各小鼠之暴露的氣管中之插管抽取。將BAL流體以200g離心10分鐘，且將上澄液

移除且冷凍。將細胞在1 mL ACK緩衝液(Sigma)中再懸浮以溶解紅細胞，洗滌且在0.5 mL PBS中再懸浮用於計數。使用嗜酸性球稀釋流體及染色劑(ENG Scientific，Cat. ES-3101)計數嗜酸性球，且藉由錐蟲藍計數總細胞。使用商用小鼠IL-5及殼質酶3樣3/YM1 (Chi3L3/YM1)ELISA (R&D Systems)分析BAL流體且用於抗體暴露。結果如下展示於表5中。

表5：在BAL流體中IL-5及Chi3L3/YM1之含量及嗜酸性球數目及細胞總數。

細胞/細胞介素	未經攻擊	同型對照	抗mIL-33	陽性對照
嗜酸性球(#細胞)	32000 ± 13565	340000 ± 70711	120000 ± 51769	112000 ± 57480
IL-5 (pg/mL)	2 ± 0	69.6 ± 27.31	2 ± 0	9.2 ± 6.248
Chi3L3/YM1 (ng/mL)	17.4 ± 2.064	108.6 ± 28.7	27.4 ± 4.986	37.4 ± 6.313
總細胞(#細胞)	104000 ± 20396	408000 ± 95833	144000 ± 31241	152000 ± 44989

遵照基本上如上文所描述之步驟，交鏈孢屬攻擊增加了存在於BAL流體中之細胞之數目，主要係嗜酸性球。其亦誘導細胞介素之生成，諸如IL-5及Chi3L3/YM1。系統性投與抗mIL-33抗體顯著減少嗜酸性球及如藉由BAL細胞計數所量測之總細胞浸潤，且降低BAL流體中IL-5及Chi3L3/YM1含量。此等結果顯示，在此呼吸道發炎模型中mIL-33之抑制降低了多個發炎標記。

藉由X射線結晶之抗原決定基定位

X射線結晶

使用定製及可商購的篩網對hIL33:FAB複合物之10.6 mg/ml溶液篩檢用於結晶。蒸氣擴散實驗設置為22°C下在MRC2 (SWISSCI)沈滴式盤中呈400 nL + 400 nL (蛋白質+孔溶液) 具有50 μ L孔溶液(0.2 M硫酸銨及30% w/v聚乙二醇8,000)之結晶滴。將20 mM乙酸鎂添加至蛋白質中輔助結晶。將所得晶體在液氮中快速冷凍，隨後在含有作為產低溫劑添加之20% 乙二醇之孔溶液中快速浸漬。使用同步加速器輻射以LRL-CAT 31-ID (Advanced Photon Source, Argonne, IL)收集X射線繞射資料。在0.97931 Å之波長下在1°振盪下收集180訊框，且藉由CCP41程序包處理。

晶體屬於P21212空間群，具有單位單元尺寸 $a=70.1$ Å， $b=194.9$ Å， $c=46.5$ Å， $\alpha=\beta=\gamma=90^\circ$ 。藉由Phaser2使用來自PDB結構4KC3之輸入模型及藉由MOE3 (v2014.9)抗體建模工具產生之FAB模型獲得hIL33:FAB複合物之分子替換溶液。分子替換溶液含有在不對稱單元中之1個複合物。此溶液隨後使用Buster4及Coot5進行多回合優化及建模，產生具有在1.40 Å下之17.8%之Rwork及20.3%之Rfree的最終結構。

使用MOE3 (v2015.10)中之蛋白質接觸工具定位hIL33抗原決定基用於hIL33:FAB複合物之高解析度晶體結構。工具用於評估「距離」、「共價」、「芳烴」、「離子」及「氫鍵(hbond)」相互作用。在微軟(Microsoft) Excel中將鏈間相互作用之輸出縮減至殘基水準以鑑別hIL33抗原決定基殘基。最終列表含有在任何FAB殘基之4.5 Å以內之hIL33殘基。

遵照基本上如上文所描述之步驟，具有與抗體75相同之CDR之抗體在藉由SEQ ID NO:19之以下殘基給出的抗原決定基上接觸人類IL-33：位置23處之Ser；位置24處之Pro；位置25處之Ile；位置26處之Thr；位置27

處之Glu；位置28處之Tyr；位置29處之Leu；位置69處之Tyr；位置71處之Glu；位置83處之Val；位置84處之Asp；位置86處之Lys；位置88處之Leu；位置126處之Leu；位置128處之Asn；位置129處之Met；位置132處之Asn；位置133處之Cys；位置134處之Val；位置175處之Glu；及位置176處之Thr。抗體54及抗體43在人類IL-33上亦接觸基本上類似之抗原決定基。

序列

抗體75之HC (SEQ ID NO:1)

EVQLVETGGGLIQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSG
GSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARTLHGIRAAAYDA
FIIWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN
SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVKDKR
VESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEV
QFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN
KGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW
ESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNH
YTQKSLSLSLG

抗體75之LC (SEQ ID NO:2)

EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVGINLSWYQQKPGQAPRLLIYGASHRAT
GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCHQYSQSPPTFGGGTKVEIKRTVAA
PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD
SKDSTYSLSSLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

抗體75之HCVR (SEQ ID NO:3)

EVQLVETGGGLIQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSG
GSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARTLHGIRAAAYDA
FIIWGQGTLVTVSS

抗體75之LCVR (SEQ ID NO:4)

EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVGINLSWYQQKPGQAPRLLIYGASHRAT
GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCHQYSQSPPTFGGGTKVEIK

抗體54之HC (SEQ ID NO:5)

EVQLVETGGGLIQPGGSLRLSCAASGFTFSFYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSG
GSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARTLHGIRAAYDA
FIIWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN
SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKR
VESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEV
QFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN
KGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW
ESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRW
QEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG

抗體54之LC (SEQ ID NO:6)

EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVGINLSWYQQKPGQAPRLLIYGASHRLT
GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCHQYSQPPPTFGGGTKVEIKRTVAA
PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD
SKDSTYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

抗體54之HCVR (SEQ ID NO:7)

EVQLVETGGGLIQPGGSLRLSCAASGFTFSFYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSG
GSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARTLHGIRAAYDA
FIIWGQGTLVTVSS

抗體54之LCVR (SEQ ID NO:8)

EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVGINLSWYQQKPGQAPRLLIYGASHRLT
GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCHQYSQPPPTFGGGTKVEIK

抗體43之HC (SEQ ID NO:9)

EVQLVETGGGLIQPGGSLRLSCAASGFTFSFYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSG
GSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARTI HGIRAAYDA
FIIWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN
SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKR
VESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEV
QFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN
KGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW
ESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNH
YTQKSLSLSLG

抗體43之LC (SEQ ID NO:10)

EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCRASQSVGINLSWYQQKPGQAPRLLIYGASHRLT
GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCHQYSQPPPTFGGGTKVEIKRTVAA
PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD
SKDSTYSLSSLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

抗體43之HCVR (SEQ ID NO:11)

EVQLVETGGGLIQPGGSLRLSCAASGFTFSFYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSG
GSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARTIHGIRAAAYDA
FIHWGQGTLVTVSS

抗體43之LCVR (SEQ ID NO:12)

EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCRASQSVGINLSWYQQKPGQAPRLLIYGASHRLT
GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCHQYSQPPPTFGGGTKVEIK

HCDR1 (SEQ ID NO:13)

GFTFSXYAMS

其中位置6處之X係S或F。

HCDR2 (SEQ ID NO:14)

AISGSGGSTYYADSVKG

HCDR3 (SEQ ID NO:15)

TXHGIRAAAYDAFII

其中位置2處之X係L或I。

LCDR1 (SEQ ID NO:16)

RASQSVGINLS

LCDR2 (SEQ ID NO:17)

GASHRXT

其中位置6處之X係A或L。

LCDR3 (SEQ ID NO:18)

HQYSQXPPFT

其中位置6處之X係S或P。

人類IL-33胺基酸95-270 (SEQ ID NO:19)

AFGISGVQKYTRALHDSSITGISPITEYLASLSTYNDQSITFALEDESYEIYVEDLKK
DEKKDKVLLSYYESQHPSNESGDGVDGKMLMVTLSPTKDFWLHANNKEHSVEL
HKCEKPLPDQAFFVLHNMHSNCVSFECKTDPGVFIGVDNHLALIKVDSSENLCT
ENILFKLSET

編碼SEQ ID NO:9之HC之DNA (SEQ ID NO:20)

GAGGTGCAGCTGGTGGAGACTGGAGGAGGCTTGATCCAGCCTGGGGGGTCCC
TGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTTAGCTTTTATGCTATGAGCT
GGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCTATTAGTGG
TAGTGGTGGTAGCACATACTACGCAGATTCCGTGAAGGGCCGATTACCATCT
CCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTTCAAATGAACAGCCTGAGAGC
CGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAACGATCCACGGTATACGCGCA
GCCTATGATGCTTTTATTATCTGGGGCCAGGGCACCTGGTCACCGTCTCCTC
AGCTTCTACCAAGGGGCCATCGGTCTTCCCGCTAGCGCCCTGCTCCAGGAGCA
CCTCCGAGAGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGA
ACCGGTGACGGTGTCGTGGAAGTCAAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGACACC
TTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGAC
CGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACGAAGACCTACACCTGCAACGTAGATCAC
AAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGTCCAAATATGGTCCCC
CATGCCCACCCTGCCCAGCACCTGAGGCCGCCGGGGGACCATCAGTCTTCCTG
TTCCCCC AAAACCCAAGGACACTCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCAC
GTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCAGGAAGACCCCGAGGTCCAGTTCAACTGG
TACGTGGATGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAG
CAGTTCAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGA
CTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGGCCTCCCG
TCCTCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAGCCAC
AGGTGTACACCCTGCCCCCATCCAGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAG
CCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGG
GAAAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGG
ACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAGGCTAACCGTGGACAAGAGCAG
GTGGCAGGAGGGGAATGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCAC
AACCCTACACACAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCTGGGT

編碼SEQ ID NO:10之LC之DNA (SEQ ID NO:21)

GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAG
AGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTGGCATCAACTTGTCTGGT
ACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCCAT
AGGCTAACTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACT
TCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGT
CATCAATATAGTCAACCACCTCCCTTCACTTTCGGCGGAGGGACCAAGGTGG
AGATCAAACGGACCGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGAT
GAGCAGTTGAAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTA
TCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGT
AACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGC
CTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCT
ACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTT
CAACAGGGGAGAGTGC

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

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

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

Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys
210 215 220

Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly
225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

tectgtgcag cctctggatt caccittagc ttttatgcta tgagctgggt ccgccaggct	120
ccaggggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac	180
gcagatticcg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat	240
cttcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtgt attactgtgc gagaacgac	300
cacggtatac gcgcagccta tgatgctttt attatctggg gccagggcac cctggtcacc	360
gtctcctcag ctcttaccaa gggcccatcg gtcttcccgc tagcgccctg ctccaggagc	420
acctccgaga gcacagccgc cctgggctgc ctggtcaagg actacttccc cgaaccggtg	480
acggtgtcgt ggaactcagg cgccctgacc agcggcgtgc acaccttccc ggctgtccta	540
cagtctcag gactctactc cctcagcagc gtggtgaccg tgcctccag cagcttgggc	600
acgaagacct acacctgcaa cgtagatcac aagcccagca acaccaagggt ggacaagaga	660
gttgagtcca aatatggtcc cccatgccc cctgcccag cacctgaggc cgccggggga	720
ccatcagctt tctgttccc cccaaaacc aaggacactc tcatgatctc ccggaccct	780
gaggtcacgt gcgtgggtgt ggacgtgagc caggaagacc ccgaggtcca gttcaactgg	840
tacgtggatg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cgccgggagga gcagttcaac	900
agcacgtacc gtgtggtcag cgtcctcacc gtctgcacc aggactggct gaacggcaag	960
gagtacaagt gcaaggctct caacaaaggc ctcccgtcct ccatcgagaa aacctctcc	1020
aaagccaaag ggcagcccc agagccacag gtgtacaccc tgccccatc ccaggaggag	1080
atgaccaaga accaggctcag cctgacctgc ctggtcaaag gcttctaccc cagcgacatc	1140
gccgtggagt gggaaagcaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac gcctcccgtg	1200
ctggactccg acggtccctt ctctctctac agcaggctaa ccgtggacaa gagcagggtg	1260
caggagggga atgtctctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacaca	1320
cagaagagcc tctccctgtc tctgggt	1347

- <210> 21
- <211> 645
- <212> DNA
- <213> 人工序列
- <220>
- <223> 合成構築體

<400> 21	
gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc	60
ctctcttgca gggccagtc gagtgttggc atcaacttgt cctggtacca gcagaaacct	120
ggccaggctc ccaggctcct catctatggt gcattccata ggctaacttg catccagac	180
aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagac ttcactctca ccatcagcag actggagcct	240
gaagattttg cagtgtatta ctgcatcaa tatagtcaac cacctccctt cactttcggc	300
ggagggacca aggtggagat caaacggacc gtggctgcac catctgtctt catcttcccg	360
ccatctgatg agcagttgaa atctggaact gcctctgttg tgtgcctgct gaataacttc	420

His Gln Tyr Ser Gln Xaa Pro Pro Phe Thr
1 5 10

<210> 19
<211> 176
<212> PRT
<213> 智人

<400> 19

Ala Phe Gly Ile Ser Gly Val Gln Lys Tyr Thr Arg Ala Leu His Asp
1 5 10 15

Ser Ser Ile Thr Gly Ile Ser Pro Ile Thr Glu Tyr Leu Ala Ser Leu
20 25 30

Ser Thr Tyr Asn Asp Gln Ser Ile Thr Phe Ala Leu Glu Asp Glu Ser
35 40 45

Tyr Glu Ile Tyr Val Glu Asp Leu Lys Lys Asp Glu Lys Lys Asp Lys
50 55 60

Val Leu Leu Ser Tyr Tyr Glu Ser Gln His Pro Ser Asn Glu Ser Gly
65 70 75 80

Asp Gly Val Asp Gly Lys Met Leu Met Val Thr Leu Ser Pro Thr Lys
85 90 95

Asp Phe Trp Leu His Ala Asn Asn Lys Glu His Ser Val Glu Leu His
100 105 110

Lys Cys Glu Lys Pro Leu Pro Asp Gln Ala Phe Phe Val Leu His Asn
115 120 125

Met His Ser Asn Cys Val Ser Phe Glu Cys Lys Thr Asp Pro Gly Val
130 135 140

Phe Ile Gly Val Lys Asp Asn His Leu Ala Leu Ile Lys Val Asp Ser
145 150 155 160

Ser Glu Asn Leu Cys Thr Glu Asn Ile Leu Phe Lys Leu Ser Glu Thr
165 170 175

<210> 20
<211> 1347
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 20

gaggtgcagc tgggtggagac tggaggaggc ttgatccagc ctgggggggtc cctgagactc

60

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> 位置2處之Xaa係Leu或Ile

<400> 15
Thr Xaa His Gly Ile Arg Ala Ala Tyr Asp Ala Phe Ile Ile
1 5 10

<210> 16
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 16
Arg Ala Ser Gln Ser Val Gly Ile Asn Leu Ser
1 5 10

<210> 17
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (6)..(6)
<223> 位置6處之Xaa係Ala或Leu

<400> 17
Gly Ala Ser His Arg Xaa Thr
1 5

<210> 18
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (6)..(6)
<223> 位置6處之Xaa係Ser或Pro

<400> 18

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

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

Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys
210 215 220

Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly
225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu

1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

<210> 13
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (6)..(6)
<223> 位置6處之Xaa係Ser或Phe

<400> 13

Gly Phe Thr Phe Ser Xaa Tyr Ala Met Ser
1 5 10

<210> 14
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 14

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

Gly

<210> 15
<211> 14

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

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

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

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

Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys
210 215 220

Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly
225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

20

25

30

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

354045

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

505560

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

65707580

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

859095

Phe Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100105

<210> 9

<211> 449

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 9

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

151015

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

202530

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

354045

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

505560

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

65707580

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

859095

Ala Arg Thr Ile His Gly Ile Arg Ala Ala Tyr Asp Ala Phe Ile Ile

100105110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly

115120125

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

130135140

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 3
<211> 123
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 3

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Thr Leu His Gly Ile Arg Ala Ala Tyr Asp Ala Phe Ile Ile
100 105 110

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

<210> 4
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 4

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

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

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

35 40 45

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

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

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

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

<210> 5
<211> 449
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 5

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Thr Leu His Gly Ile Arg Ala Ala Tyr Asp Ala Phe Ile Ile
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
115 120 125

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

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

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

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 7
<211> 123
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 7

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Thr Leu His Gly Ile Arg Ala Ala Tyr Asp Ala Phe Ile Ile
100 105 110

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

<210> 8
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 8

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

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

tatcccagag	aggccaaagt	acagtggaag	gtggataacg	ccctccaatc	gggtaactcc	480
caggagagtg	tcacagagca	ggacagcaag	gacagcacct	acagcctcag	cagcacccctg	540
acgctgagca	aagcagacta	cgagaaacac	aaagtctacg	cctgcgaagt	cacccatcag	600
ggcctgagct	cgcccgtcac	aaagagcttc	aacaggggag	agtgc		645

	435		440		445
Gly					
<210>	2				
<211>	215				
<212>	PRT				
<213>	人工序列				
<220>					
<223>	合成構築體				
<400>	2				
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly					
1 5 10 15					
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Gly Ile Asn					
20 25 30					
Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile					
35 40 45					
Tyr Gly Ala Ser His Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly					
50 55 60					
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu Pro					
65 70 75 80					
Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys His Gln Tyr Ser Gln Ser Pro Pro					
85 90 95					
Phe Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala					
100 105 110					
Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser					
115 120 125					
Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu					
130 135 140					
Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser					
145 150 155 160					
Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu					
165 170 175					
Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val					
180 185 190					
Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys					
195 200 205					

405 410 415

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

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

Gly

<210> 10
<211> 215
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 10

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

			420					425						430		
Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Leu	
		435					440					445				
Gly																
<210> 6																
<211> 215																
<212> PRT																
<213> 人工序列																
<220>																
<223> 合成構築體																
<400> 6																
Glu	Ile	Val	Leu	Thr	Gln	Ser	Pro	Gly	Thr	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	
1				5					10					15		
Glu	Arg	Ala	Thr	Leu	Ser	Cys	Arg	Ala	Ser	Gln	Ser	Val	Gly	Ile	Asn	
			20					25					30			
Leu	Ser	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ala	Pro	Arg	Leu	Leu	Ile	
		35					40					45				
Tyr	Gly	Ala	Ser	His	Arg	Leu	Thr	Gly	Ile	Pro	Asp	Arg	Phe	Ser	Gly	
	50					55					60					
Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Arg	Leu	Glu	Pro	
65					70					75					80	
Glu	Asp	Phe	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	His	Gln	Tyr	Ser	Gln	Pro	Pro	Pro	
				85					90					95		
Phe	Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys	Arg	Thr	Val	Ala	
			100					105					110			
Ala	Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Asp	Glu	Gln	Leu	Lys	Ser	
		115					120					125				
Gly	Thr	Ala	Ser	Val	Val	Cys	Leu	Leu	Asn	Asn	Phe	Tyr	Pro	Arg	Glu	
	130					135					140					
Ala	Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp	Asn	Ala	Leu	Gln	Ser	Gly	Asn	Ser	
145					150					155					160	
Gln	Glu	Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp	Ser	Lys	Asp	Ser	Thr	Tyr	Ser	Leu	
				165					170					175		
Ser	Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr	Glu	Lys	His	Lys	Val	
			180					185					190			

【序列表】

<110> 美國禮來大藥廠
<120> 抗IL-33抗體及其用途

<150> US 62/414258
<151> 2016-10-28
<160> 21
<170> PatentIn version 3.5

<210> 1
<211> 449
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 1

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

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

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

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 11
<211> 123
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 11

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Thr Ile His Gly Ile Arg Ala Ala Tyr Asp Ala Phe Ile Ile
100 105 110

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

<210> 12
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 12

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



【發明摘要】

【中文發明名稱】

抗IL-33抗體及其用途

【英文發明名稱】

ANTI-IL-33 ANTIBODIES AND USES THEREOF

【中文】

本發明提供結合且中和人類IL-33之抗體及其使用方法，該等抗體適用作為用以治療與過敏性疾病相關之病症，包括治療異位性皮膚炎的藥劑。

【英文】

Antibodies which bind and neutralize human IL-33, and methods of using same, are provided, said antibodies are useful as agents for treating conditions associated with allergic disease including treating atopic dermatitis.

【指定代表圖】

無

【代表圖之符號簡單說明】

無

【發明申請專利範圍】

【第1項】

一種DNA分子，其包含編碼抗體重鏈(HC)之多核苷酸，其中該HC之胺基酸序列係SEQ ID NO:9。

【第2項】

如請求項1之DNA分子，其中編碼該抗體HC之多核苷酸之序列係如SEQ ID NO:20所示。

【第3項】

一種DNA分子，其包含編碼抗體輕鏈(LC)之多核苷酸，其中該LC之胺基酸序列係SEQ ID NO:10。

【第4項】

如請求項3之DNA分子，其中編碼該抗體LC之多核苷酸之序列係如SEQ ID NO:21所示。

【第5項】

一種DNA分子，其包含編碼具有SEQ ID NO:9之胺基酸序列的HC之多核苷酸序列，以及編碼具有SEQ ID NO:10之胺基酸序列的LC之多核苷酸序列。

【第6項】

如請求項5之DNA分子，其中編碼該具有SEQ ID NO:9之胺基酸序列的HC之多核苷酸序列係如SEQ ID NO:20所示，以及編碼該具有SEQ ID NO:10之胺基酸序列的LC之多核苷酸序列係如SEQ ID NO:21所示。

【第7項】

一種經如請求項1或2之DNA分子或如請求項3或4之DNA分子轉型之

哺乳動物細胞，該細胞能夠表現包含HC及LC之抗體，其中該HC係如SEQ ID NO:9所示，且該LC係如SEQ ID NO:10所示。

【第8項】

一種經如請求項5或6之DNA分子轉型之哺乳動物細胞，該細胞能夠表現包含HC及LC之抗體，其中該HC係如SEQ ID NO:9所示，且該LC係如SEQ ID NO:10所示。

【第9項】

一種用於產生抗體之方法，該抗體中各HC之胺基酸序列係如SEQ ID NO:9所示，且各LC之胺基酸序列係如SEQ ID NO:10所示，以及該方法包含：

- i. 在得以表現該抗體之條件下培養如請求項7或8之哺乳動物細胞，以及
- ii. 回收該經表現之抗體。

【第10項】

一種可藉由如請求項9之方法獲得之抗體。