



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2020년08월25일

(11) 등록번호 10-2147140

(24) 등록일자 2020년08월18일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
**C07K 16/28** (2006.01) **A61K 39/395** (2006.01)  
**C07K 16/24** (2006.01)
- (52) CPC특허분류  
**C07K 16/28** (2013.01)  
**A61K 39/395** (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2020-7009560(분할)
- (22) 출원일자(국제) 2013년04월29일  
 심사청구일자 2020년04월06일
- (85) 번역문제출일자 2020년04월01일
- (65) 공개번호 10-2020-0037886
- (43) 공개일자 2020년04월09일
- (62) 원출원 특허 10-2014-7033310  
 원출원일자(국제) 2013년04월29일  
 심사청구일자 2018년04월17일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2013/038637
- (87) 국제공개번호 WO 2013/165894  
 국제공개일자 2013년11월07일
- (30) 우선권주장  
 61/640,238 2012년04월30일 미국(US)  
 (뒷면에 계속)
- (56) 선행기술조사문헌  
 WO2001021641 A1\*  
 WO1999034217 A1  
 US20100247442 A1  
 US20030124624 A1  
 \*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

- (73) 특허권자  
 얀센 바이오테크 인코포레이티드  
 미국, 펜실베이니아주 19044, 호삼, 러트뷰 드라이브 800
- (72) 발명자  
 더피 카렌  
 미국 19477 펜실베이니아주 스프링 하우스 매킨 로드 1400  
 힐리 캐서린  
 미국 19477 펜실베이니아주 스프링 하우스 매킨 로드 1400  
 (뒷면에 계속)
- (74) 대리인  
 특허법인한성

전체 청구항 수 : 총 22 항

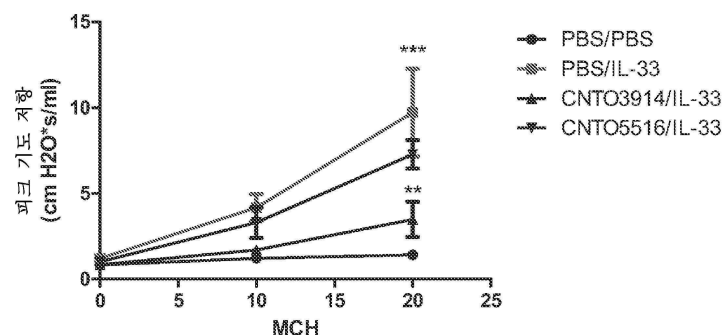
심사관 : 이수정

(54) 발명의 명칭 ST2L 길항제 및 사용 방법

## (57) 요약

본 발명은 ST2L 길항제, 길항제를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드 또는 그의 단편, 및 진술한 것의 제조 방법 및 사용 방법에 관한 것이다.

## 대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

**C07K 16/24** (2013.01)

**Y10S 530/809** (2013.01)

(72) 발명자

**랩 로버트**

미국 19477 펜실베이니아주 스프링 하우스 매킨 로드 1400

**마라비아 라비**

미국 19477 펜실베이니아주 스프링 하우스 매킨 로드 1400

**프라타 미카엘**

미국 19477 펜실베이니아주 스프링 하우스 매킨 로드 1400

**피소브 나탈리**

미국 19477 펜실베이니아주 스프링 하우스 매킨 로드 1400

**루오 진쿠앙**

미국 19477 펜실베이니아주 스프링 하우스 매킨 로드 1400

**나소 미카엘**

미국 19477 펜실베이니아주 스프링 하우스 매킨 로드 1400

**토어네타 마크**

미국 19477 펜실베이니아주 스프링 하우스 매킨 로드 1400

**휠러 존**

미국 19477 펜실베이니아주 스프링 하우스 매킨 로드 1400

**우 생-지운**

미국 19477 펜실베이니아주 스프링 하우스 매킨 로드 1400

**홀 리로이**

미국 08869 뉴저지주 라리탄 루트 202에스 1000

(30) 우선권주장

61/640,407 2012년04월30일 미국(US)

13/798,204 2013년03월13일 미국(US)

13/798,226 2013년03월13일 미국(US)



## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

- a) 각각 서열 번호 78, 81, 84, 87, 90 및 92;
- b) 각각 서열 번호 78, 81, 84, 130, 90 및 131;
- c) 각각 서열 번호 78, 81, 84, 130, 90 및 132;
- d) 각각 서열 번호 78, 81, 84, 130, 90 및 133;
- e) 각각 서열 번호 78, 81, 84, 130, 90 및 134;
- f) 각각 서열 번호 95, 109, 84, 130, 90 및 131;
- g) 각각 서열 번호 96, 110, 84, 130, 90 및 131;
- h) 각각 서열 번호 97, 111, 84, 130, 90 및 131;
- i) 각각 서열 번호 96, 110, 84, 130, 90 및 134;
- j) 각각 서열 번호 97, 111, 84, 130, 90 및 134;
- k) 각각 서열 번호 97, 112, 84, 130, 90 및 134;
- l) 각각 서열 번호 98, 113, 84, 130, 90 및 134;
- m) 각각 서열 번호 97, 114, 84, 130, 90 및 134;
- n) 각각 서열 번호 97, 115, 84, 130, 90 및 134;
- o) 각각 서열 번호 99, 116, 84, 130, 90 및 133;
- p) 각각 서열 번호 100, 117, 84, 130, 90 및 133;
- q) 각각 서열 번호 101, 118, 84, 130, 90 및 133;
- r) 각각 서열 번호 102, 120, 84, 130, 90 및 132;
- s) 각각 서열 번호 103, 121, 84, 130, 90 및 132;
- t) 각각 서열 번호 103, 122, 84, 130, 90 및 131;
- u) 각각 서열 번호 103, 123, 84, 130, 90 및 131;
- v) 각각 서열 번호 104, 124, 84, 130, 90 및 131;
- w) 각각 서열 번호 105, 125, 84, 130, 90 및 131;
- x) 각각 서열 번호 106, 126, 84, 130, 90 및 131;
- y) 각각 서열 번호 95, 127, 84, 130, 90 및 131;
- z) 각각 서열 번호 107, 128, 84, 130, 90 및 131;
- aa) 각각 서열 번호 108, 129, 84, 130, 90 및 131;
- bb) 각각 서열 번호 97, 114, 165, 130, 90 및 134;
- cc) 각각 서열 번호 97, 114, 166, 130, 90 및 134;
- dd) 각각 서열 번호 97, 114, 167, 130, 90 및 134;
- ee) 각각 서열 번호 97, 114, 168, 130, 90 및 134;

- ff) 각각 서열 번호 97, 114, 169, 130, 90 및 134;
- gg) 각각 서열 번호 97, 114, 170, 130, 90 및 134;
- hh) 각각 서열 번호 97, 114, 171, 130, 90 및 134;
- ii) 각각 서열 번호 97, 114, 172, 130, 90 및 134;
- jj) 각각 서열 번호 97, 114, 173, 130, 90 및 134;
- kk) 각각 서열 번호 97, 114, 174, 130, 90 및 134;
- ll) 각각 서열 번호 97, 114, 175, 130, 90 및 134;
- mm) 각각 서열 번호 97, 114, 176, 130, 90 및 134;
- nn) 각각 서열 번호 97, 114, 177, 130, 90 및 134;
- oo) 각각 서열 번호 97, 114, 178, 130, 90 및 134;
- pp) 각각 서열 번호 97, 114, 179, 130, 90 및 134;
- qq) 각각 서열 번호 97, 114, 180, 130, 90 및 134;
- rr) 각각 서열 번호 97, 114, 181, 130, 90 및 134;
- ss) 각각 서열 번호 97, 114, 182, 130, 90 및 134;
- tt) 각각 서열 번호 97, 114, 183, 130, 90 및 134;
- uu) 각각 서열 번호 97, 114, 184, 130, 90 및 134; 또는
- vv) 각각 서열 번호 97, 114, 185, 130, 90 및 134의 중쇄 상보성 결정 영역(HCDR) 1(HCDR1), HCDR 2(HCDR2), HCDR 3(HCDR3), 경쇄 상보성 결정 영역(LCDR) 1, LCDR 2(LCDR2), LCDR 3(LCDR3)을 포함하는, 인간 ST2L의 도메인 I(서열 번호 9)에 특이적으로 결합하는 단리된 인간 또는 인간-적응화(human-adapted) 항체 길항제 또는 그의 단편.

## 청구항 2

제1항에 있어서, 중쇄 가변 영역(VH) 및 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하고, 여기서

- a) VH는 인간 IGHV3-23 (서열 번호 158), IGHV1-24\*01 (서열 번호 148), 또는 IGHV1-f\*01 (서열 번호 149) 프레임워크 서열로부터 유래된 VH 프레임워크를 포함하고,
- b) VL은 인간 IGKV3-11 (L6) (서열 번호 159), IGKV3-15\*01 (L2) (서열 번호 150), IGKV1-9\*01 (L8) (서열 번호 151), IGKV1-5\*01 (L12) (서열 번호 152), IGKV1-12\*01 (L5) (서열 번호 153), IGKV1-39\*01 (O12) (서열 번호 154), IGKV1-27\*01 (A20) (서열 번호 155), 또는 IGKV1-33\*01 (O18) (서열 번호 156) 프레임워크 서열로부터 유래된 VL 프레임워크를 포함하는, 단리된 항체.

## 청구항 3

제2항에 있어서,

- a) VH 프레임워크는 인간 IGHV3-23 (서열 번호 158) 프레임워크 서열 유래이고;
- b) VL 프레임워크는 인간 IGKV3-11 (L6) (서열 번호 159) 프레임워크 서열 유래인, 단리된 항체.

## 청구항 4

제2항에 있어서, VH 및 VL은

- a) 각각 서열 번호 186 및 서열 번호 206;

- b) 각각 서열 번호 187 및 서열 번호 206;
- c) 각각 서열 번호 197 및 서열 번호 206;
- d) 각각 서열 번호 198 및 서열 번호 206;
- e) 각각 서열 번호 199 및 서열 번호 206;
- f) 각각 서열 번호 200 및 서열 번호 206;
- g) 각각 서열 번호 201 및 서열 번호 206;
- h) 각각 서열 번호 202 및 서열 번호 206;
- i) 각각 서열 번호 203 및 서열 번호 206;
- j) 각각 서열 번호 204 및 서열 번호 206;
- k) 각각 서열 번호 205 및 서열 번호 206;
- l) 각각 서열 번호 195 및 서열 번호 207;
- m) 각각 서열 번호 196 및 서열 번호 207;
- n) 각각 서열 번호 188 및 서열 번호 208;
- o) 각각 서열 번호 189 및 서열 번호 208;
- p) 각각 서열 번호 190 및 서열 번호 208;
- q) 각각 서열 번호 187 및 서열 번호 209;
- r) 각각 서열 번호 191 및 서열 번호 209;
- s) 각각 서열 번호 192 및 서열 번호 209;
- t) 각각 서열 번호 193 및 서열 번호 209; 또는
- u) 각각 서열 번호 194 및 서열 번호 209;

를 포함하는 단리된 항체.

#### 청구항 5

제1항에 있어서, IgG1, IgG2, IgG3, 또는 IgG4 동형인, 단리된 항체.

#### 청구항 6

제5항에 있어서, 항체의 Fc 영역이 치환을 포함하는, 단리된 항체.

#### 청구항 7

제6항에 있어서, 치환이 M252Y/S254T/T256E, V234A/G237A/P238S/H268A/V309L/A330S/P331S, 또는 S228P/L234A/L235A를 포함하고, 여기서 잔기 번호화는 EU 번호화를 따르는, 단리된 항체.

#### 청구항 8

제1항에 있어서, 인터류킨-33 (IL-33)/ST2L 상호작용을 차단하는, 단리된 항체.

#### 청구항 9

제1항에 있어서, 인간 ST2L에 대한 해리 상수( $K_D$ )가  $5 \times 10^{-12}$  M 내지  $7 \times 10^{-10}$  M, 인간 ST2L에 대한 결합 속도 상수(on rate constant)( $K_{on}$ )가  $2 \times 10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$  내지  $1 \times 10^8 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ , 또는 인간 ST2L에 대한 해리 속도 상수(off rate constant)( $K_{off}$ )가  $1 \times 10^{-6} \text{ s}^{-1}$  내지  $1 \times 10^{-2} \text{ s}^{-1}$ 인, 단리된 항체.

#### 청구항 10

제1항에 있어서, *Macaca fascicularis* (cyno) ST2L (서열 번호 2)에 대한 해리 상수( $K_D$ )가  $3 \times 10^{-12}$  M 내지  $2 \times 10^{-9}$  M, cyno ST2L에 대한 결합 속도 상수(on rate constant)( $K_{on}$ )가  $4 \times 10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$  내지  $1 \times 10^8 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ , 또는 cyno ST2L에 대한 해리 속도 상수(off rate constant)( $K_{off}$ )가  $7 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$  내지  $1 \times 10^{-1} \text{ s}^{-1}$ 인, 단리된 항체.

#### 청구항 11

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항의 단리된 항체를 암호화하는 단리된 폴리뉴클레오티드.

#### 청구항 12

제11항의 단리된 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터.

#### 청구항 13

제12항의 벡터를 포함하는 단리된 숙주 세포.

#### 청구항 14

제13항의 숙주 세포를 배양하는 단계, 및 세포로부터 항체를 회수하는 단계를 포함하는, 항체의 제조 방법.

#### 청구항 15

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항의 단리된 항체 및 약제학적으로 허용되는 담체를 포함하는 ST2L-매개 병태의 치료 또는 예방용 약제학적 조성물로서, 상기 ST2L-매개 병태는 천식, 기도 과민 반응, 유육종증, 만성 폐쇄성 폐 질환(COPD: chronic obstructive pulmonary disease), 특발성 폐 섬유증(IPF: idiopathic pulmonary fibrosis), 낭포성 섬유증, 염증성 장 질환(IBD: inflammatory bowel disease), 호산구성 식도염, 피부경화증, 아토피성 피부염, 알러지성 비염, 수포성 유사천포창, 만성 두드러기, 당뇨병성 신증, 류머티스 관절염, 간질성 방광염, 또는 이식편 대 숙주 질환(GVHD: Graft Versus Host Disease)인, 약제학적 조성물.

#### 청구항 16

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항의 단리된 항체를 포함하는 ST2L-매개 병태의 치료 또는 예방용 약제로서, 상기 ST2L-매개 병태는 천식, 기도 과민 반응, 유육종증, 만성 폐쇄성 폐 질환(COPD: chronic obstructive pulmonary disease), 특발성 폐 섬유증(IPF: idiopathic pulmonary fibrosis), 낭포성 섬유증, 염증성 장 질환(IBD: inflammatory bowel disease), 호산구성 식도염, 피부경화증, 아토피성 피부염, 알러지성 비염, 수포성 유사천포창, 만성 두드러기, 당뇨병성 신증, 류머티스 관절염, 간질성 방광염, 또는 이식편 대 숙주 질환(GVHD: Graft Versus Host Disease)인, 약제.

#### 청구항 17

제16항에 있어서, 환자에서 비만 세포 반응을 저해하는 약제.

#### 청구항 18

제15항에 있어서, 환자에서 비만 세포 반응을 저해하는 약제학적 조성물.

#### 청구항 19

제17항에 있어서, 비만 세포 반응의 저해가 환자의 인간 제대혈-유래 비만 세포에 의해 방출되는 GM-CSF, IL-5, IL-8, IL-10 또는 IL-13의 수준을 저해하는 것인 약제.

#### 청구항 20

제18항에 있어서, 비만 세포 반응의 저해가 환자의 인간 제대혈-유래 비만 세포에 의해 방출되는 GM-CSF, IL-5, IL-8, IL-10 또는 IL-13의 수준을 저해하는 것인 약제학적 조성물.

## 청구항 21

제16항에 있어서, 대상에서 IL-33와 ST2L의 상호작용을 저해하는 약제.

## 청구항 22

제15항에 있어서, 대상에서 IL-33와 ST2L의 상호작용을 저해하는 약제학적 조성물.

## 발명의 설명

### 기술 분야

[0001] 관련 출원과의 상호 참조

[0002] 본 출원은 2013년 3월 13일자로 출원된 미국 출원 제13/798,204호, 2013년 3월 13일자로 출원된 미국 출원 제13/798,226호, 2012년 4월 30일자로 출원된 미국 가출원 제61/640,407호, 및 2012년 4월 30일자로 출원된 미국 가출원 제61/640,238호의 이익을 주장하며, 이들의 전체 내용은 본 명세서에 참고로 포함된다.

[0003] 기술분야

[0004] 본 발명은 ST2L 길항제, 길항제를 암호화하는 폴리뉴클레오티드 또는 그의 단편, 및 전술한 것의 제조 방법 및 사용 방법에 관한 것이다.

### 배경 기술

[0005] ST2L(IL-1RL1 또는 IL-33R $\alpha$ )은 T 세포, NK/NKT 세포, 호염기구, 호산구, 비만 세포, 및 최근에 기재된 비-B/비-T 선천성 림프구 유형 2 세포, 뉴오사이트(nuocyte), 및 자연 조력 세포(natural helper cell)를 포함하는 매우 다양한 면역 세포의 세포 표면 상에 발현되는 Toll/IL-1 수용체 패밀리의 구성원이다. ST2L 발현은 또한 수지상 세포(DC: dendritic cell), 대식세포, 및 호중구 상에서 유도가능하다. ST2L은 Toll-유사 수용체 TLR2, TLR4, 및 TLR9의 감응성(responsiveness)의 하향조절이 가능할 뿐 아니라, 그의 리간드 IL-33에 의한 활성화 및 보조 단백질(accessory protein) IL-1RAcP와의 회합을 통해 유형 2 사이토카인 방출 또한 유도한다. IL-33은 '알라민(alarmin)'이라고 기재되어 왔으며, 이는 그의 전체-길이 형태가 항상성(homeostasis) 중에는 상피 및 내피 세포의 핵 내에 체류하지만, 괴사 중에는 분해되어 방출될 수 있기 때문이다.

[0006] ST2L 신호전달은 사전형성된 ST2L/IL-33 복합체에 대한 보조 단백질 IL-1RAcP의 회합을 필요로 한다. 보조 단백질 IL-1RAcP는 IL-1 $\alpha$ / $\beta$  신호전달 복합체와 공유된다. ST2L, IL-33, 및 IL-1RAcP 상호작용의 모델이 IL-1R1과 IL-1RAcP 사이의 상호작용과 더불어 제시되어 있다(문헌[Lingel et al., Cell 17:1398-1410, 2009; Wang et al., Nat Immunol 11:905-11, 2010]). 최근에, ST2L/IL-33/IL-1RAcP는 줄기 세포 인자(SCF: stem cell factor)를 위한 수용체인 비만 세포 상의 c-Kit와 신호전달 복합체를 형성하는 것으로 나타났다. IL-33은 초대 비만 세포 내에서 SCF-의존적 방식으로 사이토카인 생성을 유도했다(문헌[Drube et al., Blood 115:3899-906, 2010]).

[0007] ST2L의 활성화는 과도한 유형 2 사이토카인 반응(특히 IL-5 및 IL-13), 비만 세포 및 호산구 활성화, 및 기도 과민 반응(airway hyper-reactivity)을 유발하며, 또한 NKT 세포로부터의 IFN $\gamma$ , 및 비만 세포로부터의 IL-1 $\beta$  및 IL-6의 유도를 통해 Th1 및 Th17 반응을 증폭시키는 것으로 보고되어 있다. ST2L/IL-33 경로의 조절 곤란은, 천식, 류마티스 관절염, 염증성 장 질환, 아토피성 피부염, 알러지성 비염, 비강 폴립증(nasal polyposis), 및 전신 경화증을 포함하는 다양한 면역-매개 질환에 연루된 것으로 시사되어 왔다(문헌[Palmer and Gabay, Nat Rev Rheumatol 7:321-9, 2011] 및 문헌[Lloyd, Curr Opin Immunol 22:800-6, 2010]; 문헌[Shimizu et al., Hum Molec Gen 14:2919-27, 2005], 문헌[Kamekura et al., Clin Exp Allergy 42:218-28, 2012]; 문헌[Manetti et al., Ann Rheum Dis 69:598-605, 2010]에 개관됨).

[0008] 따라서, ST2L 매개 질환 및 장애의 치료에 사용하기에 적합한 ST2L 길항제에 대한 필요성이 존재한다.

### 발명의 내용

[0009] 본 발명은 인간 ST2L의 도메인 I(서열 번호 9)에 특이적으로 결합하는 단리된 인간 또는 인간-적응화(human-adapted) 항체 길항제 또는 그의 단편을 제공한다.

- [0010] 본 발명은 또한, 소정의 경쇄 및 중쇄 가변 영역 서열, 또는 소정의 중쇄 및 경쇄 상보성 결정 서열을 갖는 인간 ST2L에 특이적으로 결합하는 인간-적응화 항체 길항제를 제공한다.
- [0011] 본 발명은 또한, 정의된 에피토프 영역에서 인간 ST2L에 특이적으로 결합하고/하거나 본 명세서에 기재된 바와 같은 소정의 특징을 갖는 인간 또는 인간-적응화 항체 길항제를 제공한다.
- [0012] 본 발명은 또한, 본 발명의 중쇄 가변 영역(VH) 또는 경쇄 가변 영역(VL)을 암호화하는 단리된 폴리뉴클레오티드를 제공한다.
- [0013] 본 발명은 또한, 본 발명의 단리된 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터를 제공한다.
- [0014] 본 발명은 또한, 본 발명의 벡터를 포함하는 숙주 세포를 제공한다.
- [0015] 본 발명은 또한, 본 발명의 숙주 세포를 배양하는 단계, 및 세포로부터 항체를 회수하는 단계를 포함하는, 본 발명의 항체의 제조 방법을 제공한다.
- [0016] 본 발명은 또한, 본 발명의 단리된 항체 및 약제학적으로 허용되는 담체를 포함하는 약제학적 조성물을 제공한다.
- [0017] 본 발명은 또한, ST2L-매개 병태를 치료하거나 예방하기에 충분한 시간 동안 치료적 유효량의 본 발명의 단리된 항체를 그를 필요로 하는 환자에게 투여하는 단계를 포함하는, ST2L-매개 병태의 치료 방법 또는 예방 방법을 제공한다.
- [0018] 본 발명은 또한, 비만 세포 반응을 저해하기에 충분한 시간 동안 치료적 유효량의 본 발명의 단리된 항체를 그를 필요로 하는 환자에게 투여하는 단계를 포함하는, 환자에서 비만 세포 반응을 저해하는 방법을 제공한다.
- [0019] 본 발명은 또한, ST2L의 도메인 I에 특이적으로 결합하는 항체를 IL-33 및 ST2L의 상호작용을 저해하기에 충분한 양으로 대상에게 투여하는 단계를 포함하는, 대상에서 IL-33 및 ST2L의 상호작용을 저해하는 방법을 제공한다.

## 도면의 간단한 설명

- [0020] <도 1>
- 도 1은, 비강내 투여된 IL-33에 의해 유도된 폐 염증의 모델에서 ST2L 도메인 I 결합 mAb CNT03914에 의한 기도 과민성(airway hyper-responsiveness)의 저해를 나타낸다(동형 대조군 CNT05516에 비교할 경우). 증가된 용량(mg/ml)으로 메타콜린(MCH: methacholine) 투여시에 피크 기도 저항을 측정하였다.  $^{**}p<0.05$ (CNT03914/IL-33 대 CNT05516/IL-33의 경우); 및  $^{***}p<0.001$ (CNT03914/IL-33 대 IL-33을 가진 PBS 처리군의 경우).
- <도 2>
- 도 2는, 비강내 투여된 IL-33에 의해 유도된 폐 염증의 모델에서 ST2L 도메인 I 결합 mAb CNT03914에 의한 기관지 폐포 세척(BAL: Bronchoalveolar Lavage) 세포 동원(cell recruitment)의 저해를 나타낸다(동형 대조군 CNT05516에 비교할 경우).  $^{***}p<0.001$ .
- <도 3>
- 도 3은, 비강내 투여된 IL-33에 의해 유도된 폐 염증의 모델의 무세포 BAL 유체에서 ST2L 도메인 I 결합 mAb CNT03914에 의한 마우스 비만 세포 프로테아제 1(MMCP-1)의 방출의 용량-의존적 저해를 나타낸다. IL-33 처리를 동반하는 CNT05516(동형 대조군)에 대해,  $^{**}p<0.01$ ,  $^{***}p<0.001$ .
- <도 4>
- 도 4는, 시험관내에서 ST2L 도메인 I 결합 mAb CNT03914에 의한, 마우스 골수-유래 비만 세포에 의한 IL-33-유도 GM-CSF(도 4a), IL-5(도 4b), 및 TNF  $\alpha$ (도 4c) 방출의 저해를 나타낸다. 사용된 CNT03914 농도는  $\mu\text{g/ml}$ 로 나타내고 IL-33 농도는 괄호 안에 ng/ml로 나타낸다.
- <도 5>
- 도 5는, 표시된 IL-33 및 C2494 농도에서 ST2L 도메인 I 결합 mAb C2494(STLM62)에 의한, 인간 제대혈-유래 비만 세포에 의한 IL-33-유도 프로스타글란딘 D2(PGD<sub>2</sub>) 방출의 저해를 나타낸다. MOX-PDG<sub>2</sub>: 메톡실사민

(methoxylsamine)-PGD<sub>2</sub>.

<도 6>

도 6은, 스템프로(StemPro)-34 배지 + 100 ng/ml SCF(줄기 세포 인자) 중의 1 ng/ml IL-33의 존재 하에 인간 제대혈 유래 비만 세포(hCBMC)에서 표시된 농도( $\mu\text{g/ml}$ )의 ST2L 도메인 I 결합 mAb C2244 및 C2494에 의한 GM-CSF(도 6a), IL-8(도 6b), IL-5(도 6c), IL-13(도 6d), 및 IL-10(도 6e) 방출의 저해를 나타낸다.

<도 7>

도 7은, 스템프로-34 배지 + 100 ng/ml SCF 중의 1 ng/ml IL-33의 존재 하에 인간 제대혈-유래 비만 세포에서 표시된 농도( $\mu\text{g/ml}$ )의 ST2L 도메인 III 결합 mAb C2519 또는 C2521에 의한 GM-CSF(도 7a), IL-8(도 7b), IL-5(도 7c), IL-13(도 7d), 및 IL-10(도 7e) 방출에 대한 효과를 나타낸다.

<도 8>

도 8은, RPMI/10%FCS 배지 + 100 ng/ml SCF 중의 3 ng/ml IL-33의 존재 하에 인간 제대혈-유래 비만 세포(hCBMC)에서 ST2L 도메인 I 결합 mAb C2494 및 ST2L 도메인 III 결합 mAb ST2M48(M48), ST2M49(M49), ST2M50(M50), 및 ST2M51(M51)에 의한 GM-CSF (도 8a); IL-8 (도 8b); IL-5 (도 8c); IL-13 (도 8d), 및 IL-10 (도 8e) 방출에 대한 효과를 나타낸다.

<도 9>

도 9는, IL-33 및 SCF 유도시에 인간 제대혈-유래 비만 세포에 의한 GM-CSF, IL-5, IL-8, IL-10, 및 IL-13 방출에 대한 ST2L의 도메인 I(D1) 또는 도메인 III(D3)에 결합하는 항-ST2L 항체의 평균 퍼센트(%) 저해를 나타낸다(표시된 바와 같이 50  $\mu\text{g/ml}$  또는 2  $\mu\text{g/ml}$ 의 각각의 시험 항체를 사용함). 음의 값은 % 활성화를 표시한다.

<도 10>

도 10은, 파아지 디스플레이 라이브러리로부터 유래되고, 후속의 친화력-성숙 캠페인 후의 항-ST2L 항체의 중쇄 가변 영역(VH: heavy chain variable region) 및 중쇄 CDR 서열을 나타낸다.

<도 11>

도 11은, 파아지 디스플레이 라이브러리로부터 유래되고, 후속의 친화력-성숙 캠페인 후의 항-ST2L 항체의 경쇄 가변 영역(VL: light chain variable region) 및 경쇄 CDR 서열을 나타낸다.

<도 12>

도 12는, 항-ST2L 항체 STLM208 VH ST2H257 HCDR3 변이체의 VH 및 VL 영역 및 중쇄 CDR의 서열을 나타낸다.

<도 13>

도 13은, 파아지 디스플레이 라이브러리로부터 유래되고, 후속의 친화력-성숙 캠페인 후의 항-ST2L 항체의 VH (도 13a) 및 VL (도 13b) 서열을 나타낸다.

<도 14>

도 14는, 인간 프레임워크로 이전된 C2494 VH 및 VL 항원 결합 부위의 도해를 나타낸다(HFA, "인간 프레임워크 적응화(human framework adaptation)"로 표시되어 이전됨). 카바트(Kabat) CDR은 밑줄로 표시하고 초티아(Chothia) HV는 표시된 이전된 HFA 영역 위에 점선으로 표시한다. VH 및 VL 잔기의 번호화는 초티아에 따른다. VH에서 회색으로 강조된 잔기는 일부 HFA 변이체에서 이전되지 않았다. C2494 VH: 서열 번호 48; C2494 VH: 서열 번호 52.

<도 15>

도 15는, C2494로부터 유래된 인간 프레임워크 적응화(HFA) 항체의 CDR 서열을 나타낸다.

<도 16>

도 16은, 항-ST2L 항체 CNT03914의 혈청 수준 (도 16a), 기관지 폐포 세척(BAL) 세포 동원의 저해 (도 16b), IL-33으로 자극한 전혈 세포에 의한 IL-6 분비의 저해 (도 16c), 비강내 투여된 IL-33에 의해 유도된 폐 염증의 6 시간 모델에서 투여 후 24 시간에 CNT03914에 의한, IL-33으로 자극한 전혈 세포에 의한 MCP1 분비의 저해

(도 16d)이다. \*p<0.05, \*\*p<0.01, \*\*\*p<0.001; NQ = 검출 한계 미만; @ = 1개의 데이터 점이 검출 한계 미만임.

<도 17>

도 17은, 다양한 항-ST2L 항체 사이의 경쟁이다. 마이크로웰 상에 코팅된 ST2L-ECD에 대한 결합에 대해 30 nM 표지된 C2244 Fab가 표시된 항체와 경쟁하였다. C2244는 C2494와 경쟁하였으나 C2539와는 경쟁하지 않았다(도 17a). 마이크로웰 상에 코팅된 ST2L-ECD에 대한 결합에 대해 10 nM 표지된 C2494가 표시된 항체와 경쟁하였다. C2494는 STLM208 및 STLM213과 경쟁하였으나 C2539와는 경쟁하지 않았다(도 17b).

<도 18>

도 18은, C2244 Fab와 복합체를 형성한 인간 ST2-ECD(서열 번호 119)의 단순화된 H/D 교환 맵을 나타낸다. 항체에 의해 보호된 영역을 표시된 바와 같이 상이한 회색 스케일로 나타냈다. 잔기 18 내지 31(점선 상자로 표시)(서열 번호 1의 전체 길이 ST2L의 잔기 35 내지 48에 상응함)을 포함하는 세그먼트가 Fab에 의해 보호되었다. 잔기 71 내지 100(실선 상자로 표시)(서열 번호 1의 잔기 88 내지 117에 상응함)을 포함하는 영역은 심하게 글리코실화되었으며, 펩티드에 의해 커버되지 않았다.

<도 19>

도 19는, 도면에 표시된 바와 같이 ST2L 변이체의 경우에 ST2L 도메인 I 결합 항체에 대한 동역학 상수 및 친화력 상수를 나타낸다.

<도 20>

도 20은, 항-ST2L 항체 STLM208에 의한, 초대 인간 폐 비만 세포로부터의 GM-CSF(도 20a); IL-5(도 20b); IL-8(도 20c); IL-13(도 20d) 분비의 저해를 나타낸다.

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0021] 본 명세서에 인용된, 특허 및 특허 출원을 포함하지만 이에 한정되지 않는 모든 간행물은 마치 완전히 개시되는 것처럼 본 명세서에 참고로 포함된다.
- [0022] 본 명세서에 사용되는 용어는 단지 특정 실시 형태들을 설명하기 위한 것이며, 한정하는 것으로 의도되지 않음을 이해해야 한다. 달리 정의되지 않으면, 본 명세서에 사용되는 모든 기술 및 과학 용어는 본 발명이 속하는 기술 분야의 통상의 숙련자가 일반적으로 이해하는 것과 동일한 의미를 갖는다.
- [0023] 본 명세서에 기재된 것과 유사하거나 또는 동등한 임의의 방법 및 재료가 본 발명의 시험 실시예에 사용될 수 있지만, 예시적인 방법 및 재료가 본 명세서에 기재되어 있다. 본 발명을 개시하고 청구함에 있어서, 하기 용어가 사용될 것이다.
- [0024] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "길항제"는 임의의 기전에 의해 ST2L 생물 활성을 부분적으로 저해하거나 완전히 저해하는 분자를 의미한다. 예시적인 길항제는 항체, 융합 단백질, 펩티드, 펩티드 유사체(peptidomimetic), 핵산, 올리고뉴클레오타이드, 및 소분자이다. 하기의 ST2L 생물 활성에 대한 어세이를 사용하여 길항제를 동정할 수 있다. ST2L 길항제는 측정된 ST2L 생물 활성을 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 만큼 저해할 수 있다.
- [0025] 용어 "ST2L" 또는 "huST2L" 또는 "인간 ST2L"은 젠뱅크(GenBank) 등록 번호 NP\_057316에 나타난 아미노산 서열을 갖는 인간 ST2L 폴리펩티드를 지칭한다. 서열 번호 1은 전체 길이 인간 ST2L의 아미노산 서열을 나타낸다. 본 명세서에 사용되는 바와 같이, "ST2L 세포외 도메인", "ST2L-ECD", 또는 "huST2L-ECD"는 서열 번호 1의 아미노산 19 내지 328을 갖는 폴리펩티드를 의미한다. huST2L-ECD는 서열 번호 1의 잔기 19 내지 122(도메인 I, 서열 번호 9), 잔기 123 내지 202(도메인 II, 서열 번호 10), 및 잔기 209 내지 324(도메인 III, 서열 번호 11)를 포괄하는 3개의 Ig-유사 C2-유형 도메인을 갖는다. "도메인 I" 또는 "ST2L 도메인 I" 또는 "huST2L 도메인 I" 또는 "D1"은 서열 번호 9에 나타난 서열을 갖는 인간 ST2L 상의 제1 면역글로불린-유사 도메인을 지칭한다. "도메인 III" 또는 "ST2L 도메인 III"은 서열 번호 11에 나타난 서열을 갖는 인간 ST2L 상의 제3 면역글로불린-유사 도메인을 지칭한다.
- [0026] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "IL-33"은 전체 길이 IL-33(젠뱅크 등록 번호 NP\_254274 서열 번호 3), 그의 변이체 및 활성 형태를 포함한다. IL-33 변이체는 젠뱅크 등록 번호 NP\_001186569 및 젠뱅크 등록 번호



NP\_001186570에 나타난 아미노산 서열을 갖는 단백질을 포함한다. IL-33 활성 형태는 서열 번호 3의 잔기 112 내지 270을 갖는 "성숙한 IL-33"을 포함한다. 부가적인 활성 형태는, 서열 번호 3의 잔기 11 내지 270, 115 내지 270, 95 내지 270, 99 내지 270, 또는 109 내지 270을 갖는 IL-33 단편(문헌[LeFrancais et al., Proc Natl Acad Sci (USA) 109:1673-8, 2012]), 또는 IL-33을 내재적으로 발현시키는 세포로부터 단리된 형태의 조합 또는 임의의 형태를 포함한다. "IL-33 활성 형태"는 ST2L 생물 활성을 유도하는 서열 번호 3의 IL-33의 단편 또는 변이체이다.

[0027] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "항체"는 넓은 의미에서 2개 이상의 온전한 항체 또는 항체 단편, 이량체성, 사량체성(tetrameric), 또는 다량체성(multimeric) 항체, 및 단쇄 항체로부터 형성된 쥐과, 인간, 인간-적응화, 인간화, 및 키메라 단클론 항체, 항체 단편, 이중특이적 또는 다중특이적 항체를 포함하는 다클론 항체, 단클론 항체를 포함하는 면역글로불린 분자를 의미하며, 이를 포함한다.

[0028] 면역글로불린은 중쇄 불변 도메인 아미노산 서열에 따라, 5개의 주요 분류, 즉 IgA, IgD, IgE, IgG 및 IgM으로 정해질 수 있다. IgA 및 IgG는 동형 IgA<sub>1</sub>, IgA<sub>2</sub>, IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2</sub>, IgG<sub>3</sub> 및 IgG<sub>4</sub>로 추가로 하위-분류된다. 임의의 척추동물 종의 항체 경쇄는 그들의 불변 도메인의 아미노산 서열에 기초하여, 명확하게 별개인 2개의 유형, 즉 카파( $\kappa$ ) 및 람다( $\lambda$ ) 중 하나로 정해질 수 있다.

[0029] 용어 "항체 단편"은 중쇄 및/또는 경쇄 항원 결합 부위, 예를 들어 중쇄 상보성 결정 영역(HCDR) 1, 2, 및 3, 경쇄 상보성 결정 영역(LCDR) 1, 2, 및 3, 중쇄 가변 영역(VH), 또는 경쇄 가변 영역(VL)을 보유하는 면역글로불린 분자의 부분을 지칭한다. 항체 단편은 주지의 Fab, F(ab')<sub>2</sub>, Fd, 및 Fv 단편과 더불어 1개의 VH 도메인으로 이루어진 도메인 항체(dAb)를 포함한다. VH 및 VL 도메인은 합성 링커를 통해 함께 연결되어 다양한 유형의 단쇄 항체 설계를 형성할 수 있으며, 여기서 VH/VL 도메인은 VH 및 VL 도메인이 별도의 단쇄 항체 작제물에 의해 발현되는 경우에 분자내에서, 또는 분자간에 쌍을 이루어 1가 항원 결합 부위, 예를 들어 단쇄 Fv(scFv) 또는 이중항체(diabody)를 형성한다(예를 들어 국제 특허 공개 제W098/44001호, 국제 특허 공개 제W088/01649호; 국제 특허 공개 제W094/13804호; 국제 특허 공개 제W092/01047호에 기재됨).

[0030] 항체 가변 영역은 3개의 "항원 결합 부위"가 개재된 "프레임워크" 영역으로 구성된다. 항원 결합 부위는 다양한 용어를 사용하여 정의된다: (i) 상보성 결정 영역(CDR)(VH 내의 3개(HCDR1, HCDR2, HCDR3), 및 VL 내의 3개(LCDR1, LCDR2, LCDR3))은 서열 가변성을 기반으로 한다(문헌[Wu and Kabat, J Exp Med 132:211-50, 1970]; 문헌[Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md., 1991]). (ii) "초가변 영역", "HVR", 또는 "HV"(VH 내의 3개(H1, H2, H3) 및 VL 내의 3개(L1, L2, L3))는, 초티아 및 레스크(Lesk)에 의해 정의된 바와 같이(문헌[Chothia and Lesk, Mol Biol 196:901-17, 1987]) 구조가 초가변성인 항체 가변 도메인의 영역을 지칭한다. 다른 용어는 "IMGT-CDR"(문헌[Lefranc et al., Dev Comparat Immunol 27:55-77, 2003]) 및 "특이성 결정 잔기 용법"(SDRU: Specificity Determining Residue Usage)(문헌[Almagro, Mol Recognit 17:132-43, 2004])을 포함한다. 인터내셔널 이뮤노제네틱스(IMGT: International ImmunoGeneTics) 데이터베이스(<http://www.imgt.org>)는 항원-결합 부위의 표준화된 번호화 및 정의를 제공한다. CDR, HV, 및 IMGT 도해 사이의 관련성은 문헌[Lefranc et al., Dev Comparat Immunol 27:55-77, 2003]에 기재되어 있다.

[0031] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, "초티아 잔기"는 알-라지카니(Al-Lazikani)에 따라(문헌[Al-Lazikani et al., J Mol Biol 273:927-48, 1997]) 번호화된 항체 VL 및 VH 잔기이다.

[0032] "프레임워크" 또는 "프레임워크 서열"은 항원 결합 부위인 것으로 정의된 것 이외의 가변 영역의 나머지 서열이다. 항원 결합 부위가 상기와 같이 다양한 용어에 의해 정의될 수 있기 때문에, 프레임워크의 정확한 아미노산 서열은 항원-결합 부위가 어떻게 정의되는지에 따라 달라진다.

[0033] "인간 항체" 또는 "완전 인간 항체"는 인간 면역글로불린 서열로부터 유래된 가변 영역 및 불변 영역 서열을 함유하는 항체를 지칭한다. 본 발명의 인간 항체는 치환을 포함할 수 있으므로, 그들은 발현된 인간 면역글로불린 또는 생식세포 유전자 서열의 정확한 카피가 아닐 수 있다. 그러나, 항원 결합 부위가 비-인간 종으로부터 유래된 항체는 "인간 항체"의 정의에 포함되지 않는다.

[0034] "인간-적응화" 항체 또는 "인간 프레임워크 적응화(HFA)" 항체는 미국 특허 공개 제US2009/0118127호에 기재된 방법에 따라 적응화된 항체를 지칭하며, 또한 비-인간 종으로부터 유래된 항원-결합 부위 서열이 인간 프레임워크 상에 이식되는 항체를 지칭한다.

[0035] "인간화 항체"는 항원 결합 부위가 비-인간 종으로부터 유래되고 가변 영역 프레임워크가 인간 면역글로불린 서

열로부터 유래되는 항체를 지칭한다. 인간화 항체는 프레임워크 영역 내에 치환을 포함할 수 있으므로, 프레임워크는 발현된 인간 면역글로불린 또는 생식세포 유전자 서열의 정확한 카피가 아닐 수 있다.

[0036] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "실질적으로 동일한"은 비교하는 2개의 항체 가변 영역 아미노산 서열이 동일하거나 "미미한(insubstantial) 차이"를 갖는 것을 의미한다. 미미한 차이는, 항체 특성에 불리한 영향을 주지 않는, 항체 또는 항체 가변 영역 서열 내의 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 또는 11개 아미노산의 치환이다. 본 명세서에 개시된 가변 영역 서열과 실질적으로 동일한 아미노산 서열은 본 출원의 범주 이내에 있다. 일부 실시 형태에서, 서열 동일성은 약 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상일 수 있다. 퍼센트 동일성은, 예를 들어 벡터(Vector) NTI v.9.0.0의 얼라인엑스 모듈(AlignX module)(캘리포니아주 칼스배드 소재의 인비트로젠(Invitrogen))의 기본 설정(default setting)을 사용하여 페어와이즈 정렬(pairwise alignment)에 의해 결정될 수 있다. 본 발명의 단백질 서열을 질의 서열(query sequence)로 사용하여, 예를 들어 관련 서열을 동정하기 위해 공공 데이터베이스 또는 특허 데이터베이스에 대한 검색을 수행할 수 있다. 이러한 검색을 수행하기 위해 사용되는 예시적인 프로그램은, 기본 설정을 사용하는 XBLAST 또는 BLASTP 프로그램(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>), 또는 게놈퀘스트(GenomeQuest)(상표)(메사추세츠주 웨스트보로우 소재의 게놈퀘스트) 스위트이다.

[0037] 본 명세서에 사용되는 용어 "에피토프"는 항체가 특이적으로 결합하는 항원의 부분을 의미한다. 에피토프는 통상 아미노산 또는 다당류 측쇄와 같은 부분의 화학적으로 활성(예를 들어, 극성, 비극성 또는 소수성)인 표면 그룹화(grouping)로 이루어지며, 특이적인 3차원 구조 특징뿐만 아니라 특이적인 전하 특징을 가질 수 있다. 에피토프는 입체배좌 공간 단위(conformational spatial unit)를 형성하는 인접 및/또는 비인접 아미노산으로 구성될 수 있다. 비인접 에피토프의 경우, 항원의 선형 서열의 상이한 부분으로부터의 아미노산이 단백질 분자의 폴딩으로 통해 3-차원 공간에서 아주 근접한다. 예시적인 에피토프는 서열 번호 9에 나타난 huST2L의 도메인 I이다.

[0038] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "파라토프"는 항원이 특이적으로 결합하는 항체의 부분을 의미한다. 파라토프는 천연에서 선형이거나, 선형의 일련의 아미노산보다는 항체의 비-연속 아미노산 사이의 공간 관계에 의해 형성되는 불연속일 수 있다. "경쇄 파라토프" 및 "중쇄 파라토프" 또는 "경쇄 파라토프 아미노산 잔기" 및 "중쇄 파라토프 아미노산 잔기"는 각각 항원과 접촉되는 항체 경쇄 및 중쇄 잔기를 지칭한다.

[0039] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "특이적인 결합" 또는 "특이적으로 결합하다"는 다른 항원 또는 단백질에 대한 친화력보다 더 큰 친화력을 가진, 소정의 항원에 대한 항체 결합을 지칭한다. 전형적으로, 항체는  $1 \times 10^{-7}$  M 이하, 예를 들어  $1 \times 10^{-8}$  M 이하,  $1 \times 10^{-9}$  M 이하,  $1 \times 10^{-10}$  M 이하,  $1 \times 10^{-11}$  M 이하, 또는  $1 \times 10^{-12}$  M 이하의 해리 상수( $K_D$ ), 전형적으로는 비-특이적 항원(예를 들어, BSA, 카세인, 또는 임의의 다른 특정 폴리펩티드)에 대한 결합에 있어서의 그의  $K_D$ 보다 10배 이상 더 작은  $K_D$ 로 소정의 항원에 결합한다. 해리 상수는 표준 절차를 사용하여 측정될 수 있다. 그러나, 소정의 항원에 특이적으로 결합하는 항체는 다른 관련 항원에 대해, 예를 들어, 인간 또는 원숭이(예를 들어 마카카 파시쿨라리스(Macaca fascicularis)(시노몰구스(cynomolgus)))와 같은 다른 종으로부터의 동일한 소정의 항원(상동체)에 대해 교차-반응성을 가질 수 있다.

[0040] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, "이중특이적"은 2개의 별개의 항원 또는 항원 내의 2개의 별개의 에피토프에 결합하는 항체를 지칭한다.

[0041] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, "단일특이적"은 하나의 항원 또는 하나의 에피토프에 결합하는 항체를 지칭한다.

[0042] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "~와 조합하여"는 기재된 제제가 혼합물 중에 함께, 단일 제제로서 동시에, 또는 단일 제제로서 임의의 순서로 순차적으로, 동물에게 투여될 수 있음을 의미한다.

[0043] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, "염증성 병태"는, 병원체, 손상된 세포, 물리적 손상, 또는 자극물과 같은 유해 자극에 대한 급성 또는 만성 국소 또는 전신 반응을 지칭하며, 이는 사이토카인, 케모카인, 또는 염증성 세포(예를 들어, 호중구, 단핵구, 림프구, 대식세포)의 활성화에 의해 부분적으로 매개되고 대부분의 경우에 통증, 발적, 팽윤, 및 조직 작용의 장애를 특징으로 한다.

[0044] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "ST2L-매개 염증성 병태"는, 적어도 부분적으로 ST2L 신호전달 경로의 부적절한 활성화로부터 유발되는 염증성 병태를 지칭한다. 예시적인 ST2L-매개 염증성 병태는 천식 및 알레르기이다.

- [0045] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "ST2L-매개 병태"는, 질환 또는 병태의 야기, 전개, 진행, 지속, 또는 병리를 포함하여, 질환 또는 의학적 병태에서 ST2L이 직접적이든 간접적이든 역할을 하는 모든 질환 및 의학적 병태를 포함한다.
- [0046] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "ST2L 생물 활성"은 ST2L에 대한 ST2L 리간드 IL-33 결합의 결과로서 발생하는 임의의 활성을 지칭한다. 예시적인 ST2L 생물 활성은 IL-33에 반응하여 NF- $\kappa$ B의 활성화를 유발한다. IL-33을 이용하는 ST2L의 유도시에 리포터-유전자 어세이를 사용하여 NF- $\kappa$ B 활성화를 어세이할 수 있다(문헌 [Fursov et al., Hybridoma 30: 153-62, 2011]). 다른 예시적인 ST2L 생물 활성은 Th2 세포의 증식, 또는 전-염증성 사이토카인 및 케모카인(예를 들어 IL-5, GM-CSF, IL-8, IL-10, 또는 IL-13)의 분비를 유발한다. 세포, 조직 또는 순환 중으로부터의 사이토카인 및 케모카인의 방출은 잘 알려져 있는 면역분석법, 예를 들어 ELISA 면역분석법을 사용하여 측정될 수 있다.
- [0047] 용어 "백터"는 생물 시스템 내에서 복제될 수 있거나 이러한 시스템들 사이에서 이동할 수 있는 폴리뉴클레오티드를 의미한다. 전형적으로 백터 폴리뉴클레오티드는 생물 시스템에서 이들 폴리뉴클레오티드의 복제 또는 유지를 돕는 기능을 하는 복제 기점, 폴리아데닐화 신호 또는 선발 마커와 같은 요소들을 포함한다. 그러한 생물 시스템의 예는 백터를 복제할 수 있는 생물 구성요소들을 이용하는 세포 시스템, 바이러스 시스템, 동물 시스템, 식물 시스템 및 재구성된 생물 시스템을 포함할 수 있다. 백터를 포함하는 폴리뉴클레오티드는 DNA 또는 RNA 분자 또는 이들의 혼성체일 수 있다.
- [0048] 용어 "발현 백터"는 발현 백터에 존재하는 폴리뉴클레오티드 서열에 의해 암호화되는 폴리펩티드의 번역을 유도하기 위하여 생물 시스템 또는 재구성된 생물 시스템에서 이용될 수 있는 백터를 의미한다.
- [0049] 용어 "폴리뉴클레오티드는" 당-포스페이트 골격 또는 다른 등가의 공유 결합적 화학적 특성에 의해 공유 결합된 뉴클레오티드의 쇄를 포함하는 분자를 의미한다. 이중 가닥 및 단일 가닥 DNA 및 RNA가 폴리뉴클레오티드의 전형적인 예이다.
- [0050] 용어 "폴리펩티드" 또는 "단백질"은 폴리펩티드를 형성하도록 펩티드 결합에 의해 연결된 2개 이상의 아미노산 잔기를 포함하는 분자를 의미한다. 50개 미만의 아미노산의 작은 폴리펩티드는 "펩티드"로 지칭될 수 있다.
- [0051] 후술되는 바와 같은 통상적인 1-문자 및 3-문자 아미노산 코드를 본 명세서에 사용한다:

아미노산	3-문자 코드	1-문자 코드
알라닌	ala	A
아르기닌	arg	R
아스파라긴	asn	N
아스파르트레이트	asp	D
시스테인	cys	C
글루타메이트	glu	E
글루타민	gln	Q
글리신	gly	G
히스티딘	his	H
아이스류신	ile	I
류신	leu	L
라이신	lys	K
메티오닌	met	M
페닐알라닌	phe	F
프롤린	pro	P
세린	ser	S
트레오닌	thr	T
트립토판	trp	W
타이로신	tyr	Y
발린	val	V

[0052]

#### [0053] 대상 조성물

[0054] 본 발명은 ST2L에 특이적으로 결합하고 ST2L 생물 활성을 저해하는 항체, 및 이러한 항체의 용도를 제공한다. 본 발명자들은 인간 ST2L의 도메인 I(서열 번호 9)에 결합하는 항체가 IL-33/ST2L 상호작용을 차단하고 IL-33-유도 비만 세포 반응을 포함하는 여러 가지 ST2L 생물 활성을 저해하는 반면에, 인간 ST2L의 도메인 III(서열 번호 11)에 결합하는 항체는 그들이 여러 가지 ST2L 생물 활성을 저해함에도 불구하고 IL-33/ST2L 상호작용을 차단하지 않는다는 의외의 발견을 했다. 그러나 도메인 III 결합 항체는 IL-33-유도 비만 세포 반응에 대한 저해 효과가 감소되거나 없거나, 일부 경우에는 IL-33-유도 비만 세포 반응을 자극한다.

[0055] 본 명세서에 기재된 일부 실시 형태에서, IL-33/ST2L 상호작용을 차단하고 IL-33-유도 비만 세포 반응을 포함하

는 여러 가지 ST2L 생물 활성을 저해하는 항체는 인간 ST2L 도메인 I 내부의 에피토프, (RCPRQGKPSYTVDW; 서열 번호 210), 및 임의로 ST2L 아미노산 잔기 T93 및 F94(서열 번호 1에 따른 잔기 번호화)에 결합한다.

[0056] 용어 "비만 세포 반응" 또는 "비만 세포 활성화"은, 비만 세포로부터의 GM-CSF, IL-8, IL-5, IL-13, 및 IL-10과 같은 사이토카인, 및 프로스타글란딘 D<sub>2</sub>와 같은 알러지 매개체의 IL-33-유도 방출을 지칭한다.

[0057] 본 명세서에 기재된 바와 같이, 본 발명은 인간 ST2L의 도메인 I에 결합하는 신규의 항원-결합 부위를 제공한다. 항원-결합 부위를 보유하기 위한 구조는 전형적으로 항체 VH 또는 VL이다.

[0058] 본 명세서에 기재된 바와 같이, 본 발명의 항체는 인간 ST2L의 도메인 I(서열 번호 9)에 특이적으로 결합하는 단리된 인간 또는 인간-적응화 항체 길항제 또는 그의 단편일 수 있다. 인간 ST2L의 도메인 I(서열 번호 9)에 결합하는 예시적인 항체는, 각각 서열 번호 23, 27, 및 31의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열 번호 35, 39, 및 43의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열을 포함하는 항체 STLM15(C2244), 또는 각각 서열 번호 24, 28, 및 32의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열 번호 36, 40, 및 44의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열을 포함하는 항체 C2494(STLM62)이다(표 3). 인간 ST2L의 도메인 I에 결합하는 부가적인 예시적인 항체는 표 16 및 도 13에 나타난 항체, 예를 들어 항체 STLM103, STLM107, STLM108, STLM123, STLM124, STLM208, STLM209, STLM210, STLM211, STLM212, 및 STLM213이다. 예시적인 인간 항체 길항제는 도 12 및 도 13에 나타난다. 예시적인 인간-적응화 길항제는 표 14에 나타난다.

[0059] 본 명세서에 기재된 일부 실시 형태에서, 인간 ST2L의 도메인 I(서열 번호 9)에 특이적으로 결합하는 단리된 인간 또는 인간-적응화 항체 길항제 또는 그의 단편은 IL-33/ST2L 상호작용을 차단한다.

[0060] IL-33/ST2L 상호작용을 차단하는 항체의 능력에 대해, 표준 ELISA에 의해 항체를 시험할 수 있다. 예를 들어, 인간 ST2L(huST2L-ECD)의 세포의 도메인으로 플레이트를 코팅하고 항체와 함께 인큐베이션한 후, 플레이트 상에 바이오틴화 IL-33의 결합을 측정한다. "IL-33/ST2L 상호작용을 차단"하거나 "IL-33/ST2L 상호작용을 저해"하는 항체는, 50 µg/ml의 항체 농도에서 huST2L-ECD 코팅된 플레이트를 사용하는 ELISA 어세이에서 플레이트에 결합된 바이오틴화 IL-33으로부터 유래된 신호를, 항체의 부재 하에서의 IL-33의 결합에 비교할 때, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 이상만큼 감소시키는 항체이다.

[0061] 표준 방법 및 하기 예시된 방법을 사용하여, 예를 들어, 인간 체대혈-유래 비만 세포 또는 초대 인간 폐 비만 세포에 의한 GM-CSF, IL-5, IL-10, 또는 IL-13 방출에 대한 항체의 저해 활성을 평가함으로써, 항체의 비만 세포 반응 저해에 대해 항체를 시험할 수 있다. "비만 세포 반응을 저해"하거나 "비만 세포 활성을 저해"하는 본 명세서에 기재된 바와 같은 항체는, 10 µg/ml의 농도에서, 1 내지 3 ng/ml IL-33-유도 GM-CSF, IL-5, IL-13, 또는 IL-10 분비를, 항체에 의해 처리되지 않은 비만 세포에 비교할 때, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 이상만큼 감소시키는 항체이다. 주지의 방법에 의해, 그리고 하기 예시된 바와 같이, 비만 세포는 전형적으로 인간 체대혈 또는 폐 실질 및 소기도 CD34<sup>+</sup> 전구세포로부터 유래될 수 있다. 비만 세포 배양 조건은 항체에 대한 %저해의 측정값에 영향을 줄 수 있으므로, 예를 들어 스태프로-34 배지를 사용하여 6 내지 10 주 길이의 분화 절차 전체에 걸쳐 배양 및 시험 조건을 표준으로 유지할 수 있다. 사이토카인 방출 어세이 4 일 전에 10 ng/ml IL-4, 10 ng/ml IL-6, 및 100 ng/ml SCF로 비만 세포를 매일 자극한다. 사이토카인 방출 어세이를 위해, 항생제 없이 10% FCS를 함유하는 새로 만든 스태프로-34 배지 또는 RPMI에 비만 세포를 100 ng/ml SCF와 함께 재현탁시킬 수 있다. 어세이를 위해 적합한 플레이트링 밀도는 65,000 내지 75,000 세포/0.16 ml/웰이다. 본 명세서에 기재된 바와 같이, 비만 세포 반응을 저해하는 본 발명의 예시적인 항체는 항체 STLM15, STLM62, 및 STLM208이다. 항체 CNT03914는 인간 ST2L에 대한 교차-반응성 없이 마우스 ST2L 도메인 I에 결합하고 마우스 세포에서 비만 세포 반응을 저해한다.

[0062] 비만 세포 반응은 또한 IL-1 및 IL-32, 및 CCL1, CCL4, CCL5, CCL18, 및 CCL23과 같은 케모카인과 더불어 시스템인일 류코트라이엔, 히스타민과 같은 알러지 매개체와 더불어, 트립타아제, 카이마제, 카르복시펩티다제, 및 카텝신 G를 포함하는 다양한 비만 세포 프로테아제의 방출을 포함한다는 것을, 당업자는 인식할 것이다. 본 명세서에 기재된 바와 같이 본 발명의 항체를, 이들 부가적인 비만 세포 반응을 저해하는 그들의 능력에 대해 표준 방법을 사용하여 시험할 수 있다. 본 명세서에 기재된 바와 같이 ST2L의 도메인 I에 결합하고 IL-33/ST2L 상호작용을 차단하는 본 발명의 항체는, 이들 조건 하에 10 µg/ml의 최소 농도에서 시험할 때 이들 부가적인 비만 세포 반응을 40%, 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상 저해할 것으로 예상할 수 있다.



- [0063] 본 명세서에 기재된 바와 같이, 본 발명의 항체는 약  $5 \times 10^{-12}$  M 내지 약  $7 \times 10^{-10}$  M의 해리 상수( $K_D$ ), 인간 ST2L에 대한 약  $2 \times 10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$  내지 약  $1 \times 10^8 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 의 결합 속도 상수(on rate constant)( $K_{on}$ ), 또는 인간 ST2L에 대한 약  $1 \times 10^{-6} \text{ s}^{-1}$  내지 약  $1 \times 10^{-2} \text{ s}^{-1}$ 의 해리 속도 상수(off rate constant)( $K_{off}$ )로 인간 ST2L에 결합한다. 예를 들어, 본 명세서에 기재된 바와 같이, 본 발명의 항체는 약  $7 \times 10^{-10}$  M 미만, 약  $1 \times 10^{-10}$  M 미만, 약  $5 \times 10^{-11}$  M 미만, 약  $1 \times 10^{-11}$  M 미만, 또는 약  $5 \times 10^{-12}$  M 미만의  $K_D$ 로 인간 ST2L에 결합한다.
- [0064] 본 명세서에 기재된 바와 같이, 본 발명의 항체는 마카카 파시쿨라리스(시노(cyno)) ST2L(서열 번호 2)과 교차-반응하고 약  $3 \times 10^{-12}$  M 내지 약  $2 \times 10^{-9}$  M의 해리 상수( $K_D$ ), 시노 ST2L에 대한 약  $4 \times 10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$  내지 약  $1 \times 10^8 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 의 결합 속도 상수( $K_{on}$ ), 또는 시노 ST2L에 대한 약  $7 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$  내지 약  $1 \times 10^{-1} \text{ s}^{-1}$ 의 해리 속도 상수( $K_{off}$ )로 시노 ST2L에 결합할 수 있다. 예를 들어, 본 명세서에 기재된 바와 같이, 본 발명의 항체는 약  $2 \times 10^{-9}$  M 미만, 약  $1 \times 10^{-9}$  M 미만, 약  $1 \times 10^{-10}$  M 미만, 약  $1 \times 10^{-11}$  M 미만, 또는 약  $3 \times 10^{-12}$  M 미만의  $K_D$ 로 시노 ST2L에 결합한다.
- [0065] ST2L에 대한 항체의 친화력은 임의의 적합한 방법을 사용하여 실험적으로 결정할 수 있다. 이러한 방법은 당업자에게 공지된 프로테온(ProteOn) XPR36, 바이아코어(Biacore) 3000, 또는 키넥스A(KinExA) 기기 장치, ELISA, 또는 경쟁적 결합 어세이를 이용할 수 있다. 상이한 조건(예를 들어, 삼투성, pH) 하에 측정할 경우, 특정 항체/ST2L 상호작용의 측정된 친화력은 변동될 수 있다. 따라서, 바람직하게는 표준화된 조건 및 표준화된 완충액, 예를 들어 본 명세서에 기재된 완충액을 이용하여 친화력 및 다른 결합 파라미터(예를 들어,  $K_D$ ,  $K_{on}$ ,  $K_{off}$ )의 측정을 실행한다. 예를 들어 바이아코어 3000 또는 프로테온을 사용하는 친화력 측정에 대한 내부 오차(표준 편차, SD로서 측정됨)는, 전형적인 검출 한계 이내의 측정의 경우에 전형적으로 5 내지 33% 이내일 수 있음을, 당업자는 인식할 것이다. 그러므로, 용어 "약"은 어세이에서의 전형적인 표준 편차를 반영한다. 예를 들어,  $1 \times 10^{-9}$  M의  $K_D$ 에 대한 전형적인 SD는 최대  $\pm 0.33 \times 10^{-9}$  M이다.
- [0066] 인간 ST2L에 목적하는 친화력으로 결합하고 임의로 시노 ST2L과 교차-반응하는 항체는 변이체 또는 단편의 라이브리로부터 인간 및/또는 시노 ST2L로 패닝(panning)함으로써, 그리고 임의로 추가의 항체 친화력 성숙에 의해 선택될 수 있다. 임의의 적합한 방법을 사용하여 항체의 ST2L 생물 활성의 억제를 기반으로 항체를 동정할 수 있다. 이들 방법은 리포터-유전자 분석, 또는 잘 알려져 있는 방법을 사용하는, 그리고 본 출원서에 기재된 바와 같은, 사이토카인 생성을 측정하는 분석을 사용할 수 있다.
- [0067] 본 발명의 일 실시 형태는,
- [0068] 서열 번호 160( $X_1X_2X_3MX_4$ )의 중쇄 상보성 결정 영역(HCDR) 1(HCDR1)
- [0069] (여기서,  $X_1$ 은 S, F, D, I, G, 또는 V이고;
- [0070]  $X_2$ 는 Y 또는 D이며;
- [0071]  $X_3$ 은 A, D, 또는 S이고;
- [0072]  $X_4$ 는 S, F, 또는 I임);
- [0073] 서열 번호 161( $X_5IX_6GX_7GGX_8TX_9YADSVKG$ )의 HCDR 2(HCDR2)
- [0074] (여기서,  $X_5$ 는 A, S, T, Y, 또는 D이고;
- [0075]  $X_6$ 은 S, R, E, K, G, 또는 A이며;
- [0076]  $X_7$ 은 S, E, 또는 N이고;
- [0077]  $X_8$ 은 S, R, E, G, T, D, 또는 A이며;

- [0078]  $X_9$ 는 Y, D, N, A, 또는 S임); 및
- [0079] 서열 번호 162( $X_{10}X_{11}$ WSTEGSFFVLDY)의 HCDR 3(HCDR3)
- [0080] (여기서,  $X_{10}$ 은 D, A, R, N, Q, P, E, I, H, S, T, 또는 Y이고;
- [0081]  $X_{11}$ 은 P, A, H, Y, E, Q, L, S, N, T, V, 또는 I임)을 포함하는, 인간 ST2L에 특이적으로 결합하는 단리된 항체 길항제이다.
- [0082] 본 발명의 다른 실시 형태는,
- [0083] 서열 번호 163(RASQSVDDX $_{12}$ LA)의 경쇄 상보성 결정 영역(LCDR) 1(LCDR1)
- [0084] (여기서,  $X_{12}$ 는 A 또는 D임);
- [0085] 서열 번호 90(DASNRAT)의 LCDR 2(LCDR2); 및
- [0086] 서열 번호 164(QQX $_{13}$ X $_{14}$ X $_{15}$ X $_{16}$ X $_{17}$ X $_{18}$ T)의 LCDR 3(LCDR3)
- [0087] (여기서,  $X_{13}$ 은 F 또는 Y이고;
- [0088]  $X_{14}$ 는 Y, I, 또는 N이며;
- [0089]  $X_{15}$ 는 N, G, D, 또는 T이고;
- [0090]  $X_{16}$ 은 W 또는 A이며;
- [0091]  $X_{17}$ 은 P이거나 결실되고;
- [0092]  $X_{18}$ 은 L 또는 I임)을 포함하는 인간 ST2L에 특이적으로 결합하는 단리된 항체 길항제이다.
- [0093] 각각 서열 번호 160, 161, 162, 163, 90, 및 164의 HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열을 포함하는 본 발명의 항체는, 예를 들어, 각각 서열 번호 78, 81, 84, 87, 90, 및 92의 HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열을 주형으로 사용하는 주지의 돌연변이유발 방법에 의해 제조될 수 있다. 각각 서열 번호 160, 161, 162, 163, 90, 및 164의 중쇄 CDR 및 경쇄 CDR은, 하기의 프레임워크와 같은 인간 프레임워크에 이식될 수 있다. 본 명세서에 기재된 방법을 사용하여, ST2L에 대한 결합 및 IL-33/ST2L 상호작용을 차단하는 항체의 능력 및 다른 특징들, 예를 들어 인간 ST2L 및/또는 시노 ST2L에 대한 친화력, 및 비만 세포 반응의 저해에 대해 항체를 어세이할 수 있다.
- [0094] 일 실시 형태에서, 본 명세서에 기재된 바와 같이 인간 ST2L에 특이적으로 결합하는 단리된 항체 길항제는,
- [0095] 서열 번호 78 또는 95 내지 108의 HCDR1;
- [0096] 서열 번호 81, 109 내지 118, 또는 120 내지 129의 HCDR2;
- [0097] 서열 번호 84 또는 165 내지 185의 HCDR3;
- [0098] 서열 번호 87 또는 130의 LCDR1;
- [0099] 서열 번호 90의 LCDR2; 및
- [0100] 서열 번호 92 또는 131 내지 134의 LCDR3을 포함한다.
- [0101] 다른 실시 형태에서, 인간 ST2L에 특이적으로 결합하는 단리된 항체 길항제는 도 10, 도 11, 및 도 12에 나타내고 본 명세서에 기재된 바와 같이 HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열을 포함한다.
- [0102] 다른 실시 형태에서, 본 명세서에 기재된 바와 같이 인간 ST2L에 특이적으로 결합하는 단리된 항체 길항제는,
- [0103] 서열 번호 23 또는 24의 HCDR1;
- [0104] 서열 번호 27 또는 28의 HCDR2;

- [0105] 서열 번호 31 또는 32의 HCDR3;
- [0106] 서열 번호 35 또는 36의 LCDR1;
- [0107] 서열 번호 39 또는 40의 LCDR2; 및
- [0108] 서열 번호 43 또는 44의 LCDR3을 포함한다.
- [0109] 다른 실시 형태에서, 본 명세서에 기재된 바와 같이 인간 ST2L에 특이적으로 결합하는 단리된 항체 길항제는, HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열:
- [0110] 각각 서열 번호 23, 27, 31, 35, 39, 및 43;
- [0111] 각각 서열 번호 24, 28, 32, 36, 40, 및 44; (HFA CDR);
- [0112] 각각 서열 번호 24, 28, 146, 36, 40, 및 147; 또는
- [0113] 각각 서열 번호 24, 28, 146, 36, 40, 및 44를 포함한다.
- [0114] 본 발명의 다른 실시 형태는, 인간 IGHV3-23(서열 번호 158), IGHV1 -24\*01(서열 번호 148), 또는 IGHV1-f\*01(서열 번호 149) 프레임워크 서열로부터 유래된 VH 프레임워크를 포함하는 중쇄 가변 영역(VH), 및 인간 IGKV3-11(L6)(서열 번호 159), IGKV3-15\*01(L2)(서열 번호 150), IGKV1-9\*01(L8)(서열 번호 151), IGKV1-5\*01(L12)(서열 번호 152), IGKV1-12\*01(L5)(서열 번호 153), IGKV1-39\*01(O12)(서열 번호 154), IGKV1-27\*01(A20)(서열 번호 155) 또는 IGKV1-33\*01(O18)(서열 번호 156) 프레임워크 서열로부터 유래된 VL 프레임워크를 포함하는 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하는, 본 명세서에 기재된 바와 같이 인간 ST2L에 특이적으로 결합하는 단리된 인간 또는 인간-적응화 항체 길항제 또는 그의 단편(서열 번호 1)이다.
- [0115] 다른 실시 형태에서, 본 명세서에 기재된 바와 같이 인간 ST2L의 도메인 I에 특이적으로 결합하는 단리된 항체는, 인간 VH 3-23 프레임워크 서열(서열 번호 158)로부터 유래된 VH 프레임워크를 포함하는 VH; 및 인간 Vk L6 프레임워크 서열(서열 번호 159)로부터 유래된 VL 프레임워크를 포함하는 경쇄 가변 영역(VL)을 포함한다. 인간 프레임워크 서열은 주지되어 있으며, 전형적으로 연결(J) 서열에 연결된 인간 면역글로불린 생식세포 가변 영역 서열을 포함한다. 서열 번호 158에 나타난 인간 VH 3-23 프레임워크 아미노산 서열은 IGHJ4에 연결된 인간 생식세포 VH 3-23 서열을 포함하고, 서열 번호 159에 나타난 인간 Vk L6 프레임워크 아미노산 서열은 IGKJ1에 연결된 인간 Vk L6 생식세포 서열을 포함한다(문헌[Shi et al., J Mol Biol 397:385-96, 2010]; 국제 특허 공개 제WO2009/085462호; 및 미국 특허 공개 제US2010/0021477호에 기재된 바와 같음). 인간 VH 3-23으로부터 유래된 VH 서열 및 인간 Vk L6으로부터 유래된 VL 서열을 갖는 예시적인 항체는 도 12 및 도 13에 나타난 것들이다.
- [0116] 특정 프레임워크 또는 생식세포 서열 "로부터 유래된" 중쇄 또는 경쇄 가변 영역을 포함하는 인간 또는 인간-적응화 항체는, 인간 생식세포 면역글로불린 유전자를 사용하는 시스템으로부터, 예를 들어 하기 논의된 바와 같이 형질전환 마우스로부터, 또는 파아지 디스플레이 라이브러리로부터 얻어진 항체를 지칭한다. 특정 프레임워크 또는 생식세포 서열 "로부터 유래된" 항체는, 예를 들어 자연적으로 발생하는 체세포 돌연변이 또는 의도적인 치환으로 인해, 그것이 유래된 서열에 비교하여 아미노산 차이를 함유할 수 있다.
- [0117] 다른 실시 형태에서, 본 명세서에 기재된 바와 같이 인간 ST2L의 도메인 I(서열 번호 9)에 특이적으로 결합하는 단리된 인간 또는 인간-적응화 항체 길항제 또는 그의 단편은 인간 ST2L(서열 번호 1)에 대한 결합에 대해 서열 번호 47의 중쇄 가변 영역(VH) 및 서열 번호 51의 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하는 단리된 항체(항체 C2244)와 경쟁한다.
- [0118] 다른 실시 형태에서, 본 명세서에 기재된 바와 같이 본 발명의 단리된 항체는 서열 번호 1의 아미노산 잔기 35 내지 48(RCPRQGKPSYTDW; 서열 번호 210)에서 인간 ST2L에 결합한다. 본 명세서에 기재된 바와 같은 항체는 서열 번호 1의 아미노산 잔기 T93 및 F94에서 인간 ST2L에 추가로 결합할 수 있다.
- [0119] 본 명세서에 기재된 바와 같이 소정의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 아미노산 서열을 포함하거나 소정의 VH 및 VL 서열을 포함하는 본 발명의 항체와 인간 ST2L에 대한 특이적 결합 사이의 경쟁은 주지의 방법을 사용하여 시험관내에서 어세이할 수 있다. 예를 들어, 표지되지 않은 항체의 존재 하에 MSD 선포-태그(Sulfo-Tag)(상표) NHS-에스테르-표지된 항체의 인간 ST2L에 대한 결합을 ELISA에 의해 평가할 수 있거나, 바이아코어 분석 또는 유세포 분석을 사용하여 본 발명의 항체와의 경쟁을 입증할 수 있다. 시험 항체가 인간 ST2L에 대한 C2244의 결합을 저해하는 능력은 시험 항체가 인간 ST2L에 대한 결합에 대해 이들 항체와 경

쟁할 수 있다는 것을 입증한다. 이러한 예시적인 항체는 표 3 및 도 13에 나타난 C2494, STLM208, 및 STLM213이다.

[0120] 본 명세서에 기재된 바와 같이 ST2L의 도메인 I에 대한 결합에 대해 C2244와 경쟁하는 항체는 IL-33/ST2L 상호작용을 차단하고 IL-33-유도 비만 세포 반응을 포함하는 여러 가지 ST2L 생물 활성을 저해한다. 비-중화(즉, 비-저해) 에피토프 또한 ST2L 도메인 I 상에 제2 항체 경쟁 기(second antibody competition group)로서 존재한다(ST2L의 도메인 I에 결합하고, C2244와 경쟁하지 않으며, ST2L 신호전달을 저해하지 않는 항체 C2240에 의해 대표됨).

[0121] 본 발명에 기재된 바와 같이 특이적 ST2L 도메인 또는 에피토프에 결합하는 본 발명의 항체는 인간 면역글로불린 좌위를 발현시키는 마우스(문헌[Lonberg et al., Nature 368:856-9, 1994]; 문헌[Fishwild et al., Nature Biotechnology 14:845-51, 1996]; 문헌[Mendez et al., Nature Genetics 15:146-56, 1997], 미국 특허 제 5,770,429호, 제7,041,870호, 및 제5,939,598호) 또는 에피토프를 암호화하는 펩티드, 예를 들어 인간 ST2L의 도메인 I의 아미노산 서열: KFSKQSWGLENEALIVRCPRQGKPSYTVDWYYSQTNKS IPTQERNRVFASGQLLKFLPAAVADSGIYTCIVRSPTFNRTGYANVTIYKKQSDCNVPDYLMTV (서열 번호 9)를 갖는 펩티드, 또는 RCPRQGKPSYTVDW(서열 번호 210)의 아미노산 서열을 갖는 펩티드를 가진 Balb/c 마우스를 면역화하고, 문헌[Kohler et al., Nature 256:495-97, 1975]의 하이브리도마 방법을 사용함으로써 제조할 수 있다. 표준 방법을 사용하여, 생성되는 항체를 에피토프에 대한 그들의 결합에 대해 시험한다. 예를 들어, 개별 성분 둘 모두의 구조가 알려져 있는 경우에, 컴퓨터 모의실험(in silico) 단백질-단백질 도킹(docking)을 수행하여, 양립할 수 있는 상호작용의 부위를 동정할 수 있다. 항원 및 항체 복합체를 사용하여 수소-중수소(H/D) 교환을 수행하여, 항체에 의해 결합될 수 있는 항원 상의 영역을 맵핑(map)할 수 있다. 항원의 세그먼트 및 점 돌연변이생성을 사용하여, 항체 결합에 중요한 아미노산의 위치를 찾을 수 있다. 문헌[Queen et al., Proc Natl Acad Sci (USA) 86:10029-32, 1989] 및 문헌[Hodgson et al., Bio/Technology 9:421, 1991]에 개시된 것들과 같은 기술에 의해, 결합 친화력을 보존하도록 변경된 프레임워크 지지 잔기를 혼입시킴으로써, 동정된 mAb를 추가로 변형시킬 수 있다.

[0122] 본 명세서에 기재된 바와 같이, 본 발명의 항체는 인간 또는 인간-적응화 항체일 수 있다. 본 명세서에 기재된 바와 같이, 본 발명의 항체는 IgA, IgD, IgE, IgG, 또는 IgM 유형의 것일 수 있다.

[0123] 항원-결합 부위 아미노산 서열이 도 10, 도 11, 도 12, 도 13, 도 15, 표 3, 표 9, 및 표 12에 나타난 것들과 실질적으로 동일한 항체는 본 발명의 범주 내에 포함된다. 전형적으로, 이는 유사한 전하 또는 소수성 또는 입체화학적 특징을 갖는 아미노산을 이용하며, 항체 특성, 예를 들어 안정성 또는 친화력을 개선하기 위해 실행되는 하나 이상의 아미노산 치환을 포함한다. 예를 들어, 보존적 치환은 그 위치에서 아미노산 잔기의 극성 또는 전하 상의 효과가 없거나 거의 없도록 천연 아미노산 잔기를 비천연 잔기로 치환하는 것을 포함할 수 있다. 추가로, 폴리펩티드 내의 임의의 천연 잔기는 또한, 알라닌 스캐닝(alanine scanning) 돌연변이유발에 대해 이전에 기재된 바와 같이 알라닌으로 치환될 수 있다(문헌[MacLennan et al., Acta Physiol Scand Suppl 643:55-67, 1998]; 문헌[Sasaki et al., Adv Biophys 35:1-24, 1998]). 요망되는 아미노산 치환(보존적이든지 비-보존적이든지 간에)은 이러한 치환을 원하는 때에, 당업자에 의해 결정될 수 있다. 예를 들어, 아미노산 치환을 사용하여 항체의 작용에 중요한 잔기, 예를 들어 친화력에 영향을 주는 잔기, 또는 응집과 같이 바람직하지 않은 특성을 부여하는 잔기를 동정할 수 있다. 예시적인 아미노산 치환은 도 12 및 도 13에 나타난다.

[0124] 항원 결합 부위와는 대조적으로, 항체의 특성에 불리한 영향을 주지 않는 한, 프레임워크 영역 내의 치환 또한 실행될 수 있다. 예를 들어 베르니에 구역(Vernier Zone) 잔기(미국 특허 제6,649,055호)에서 프레임워크 치환을 실행하여 항체 친화력 또는 안정성을 개선할 수 있다. 또한, 상동 인간 생식세포 유전자 서열에 비교할 때 서열이 상이한 항체 내의 프레임워크 위치에서 치환을 실행하여 가능한 면역원성을 감소시킬 수 있다. 예를 들어, pIX 라이브러리와 같은 신생(de novo) 항체 라이브러리로부터 유래된 항체에 이들 변형을 실행할 수 있다.

[0125] 또한, 보존적 아미노산 치환은 생물학적 시스템 내에서의 합성에 의한 것보다는 전형적으로 화학적 펩티드 합성에 의해 혼입되는 비-자연 발생 아미노산 잔기를 포함한다. 아미노산 치환은, 예를 들어 PCR 돌연변이유발에 의해 실행될 수 있다(미국 특허 제 4,683,195호). 예를 들어 무작위(NNK) 또는 비-무작위 코돈, 예를 들어 11개 아미노산(ACDEGKNRSYW)을 암호화하는 DVK 코돈을 사용하고, 목적하는 특성을 가진 라이브러리 또는 변이체를 스크리닝하는 주지의 방법을 사용하여, 변이체의 라이브러리를 생성시킬 수 있다.

[0126] 실시예에 예시된 실시 형태는 가변 영역의 쌍, 전체 길이 항체 쌍의 쌍, 또는 CDR1, CDR2, 및 CDR3 영역의 쌍(중쇄로부터 하나 및 경쇄로부터 하나)을 포함하지만, 대안적인 실시 형태는 단일 중쇄 가변 영역 또는 단일 경



쇄 가변 영역, 단일 전체 길이 항체 쇄, 또는 중쇄 또는 경쇄의 하나의 항체 쇄로부터의 CDR1, CDR2, 및 CDR3 영역을 포함할 수 있음을, 당업자는 인식할 것이다. 단일 가변 영역, 전체 길이 항체 쇄, 또는 하나의 쇄의 CDR1, CDR2, 및 CDR3 영역을 사용하여 다른 쇄에서 상응하는 도메인에 대해 스크리닝할 수 있으며, 그 2개의 쇄는 ST2L에 특이적으로 결합하는 항체를 형성할 수 있다. 예를 들어, PCT 공개 제W01992/01047호에 개시된 계층적 이중 조합 접근법(hierarchical dual combinatorial approach)을 사용하는 파아지 디스플레이 스크리닝 방법에 의해 스크리닝을 수행할 수 있다. 이러한 접근법에서, H 또는 L 사슬 클론 중 하나를 함유하는 개별 콜로니를 사용하여, 다른 사슬(L 또는 H)을 코딩하는 클론의 완전한 라이브러리를 감염시키고, 생성되는 2-사슬 특이적 항원-결합 도메인을 기재된 바와 같은 파지 디스플레이 기술에 따라 선택한다.

- [0127] 본 명세서에 기재된 바와 같이, 본 발명은 본 발명의 항체의 단리된 VH 및 VL 도메인, 및 소정의 VH 및 VL 도메인을 포함하는 항체를 제공한다. 본 명세서에 기재된 바와 같이 본 발명의 소정의 항체에 대한 VH 및 VL 가변 영역은 도 13 및 표 12에 나타낸다.
- [0128] 본 발명의 일 실시 형태는, 서열 번호 191의 VH와 90% 이상 동일한 VH를 포함하는 인간 ST2L의 도메인 I(서열 번호 9)에 특이적으로 결합하는 단리된 인간 또는 인간-적응화 항체 길항제 또는 그의 단편이다.
- [0129] 본 발명의 다른 실시 형태는, 서열 번호 209의 VL과 94% 이상 동일한 VL을 포함하는 인간 ST2L의 도메인 I(서열 번호 9)에 특이적으로 결합하는 단리된 인간 또는 인간-적응화 항체 길항제 또는 그의 단편이다.
- [0130] 본 명세서에 기재된 일부 실시 형태에서, 본 발명은 서열 번호 143, 144, 145, 186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197, 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204, 또는 205의 VH를 포함하는 항체를 제공한다.
- [0131] 본 명세서에 기재된 일부 실시 형태에서, 본 발명은 서열 번호 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 206, 207, 208, 또는 209의 VL을 포함하는 항체를 제공한다.
- [0132] 본 명세서에 기재된 일부 실시 형태에서, 본 발명은
- [0133] 서열 번호 186, 187, 197, 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204, 또는 205의 VH 및 서열 번호 206의 VL;
- [0134] 서열 번호 195 또는 196의 VH 및 서열 번호 207의 VL;
- [0135] 서열 번호 188, 189, 또는 190의 VH 및 서열 번호 208의 VL; 또는
- [0136] 서열 번호 187, 191, 192, 193, 또는 194의 VH 및 서열 번호 209의 VL을 포함하는 항체를 제공한다.
- [0137] 본 발명의 다른 실시 형태는,
- [0138] 서열 번호 97의 HCDR1;
- [0139] 서열 번호 114의 HCDR2;
- [0140] 서열 번호 84의 HCDR3;
- [0141] 서열 번호 130의 LCDR1;
- [0142] 서열 번호 90의 LCDR2;
- [0143] 서열 번호 134의 LCDR3; 또는
- [0144] 서열 번호 191의 VH 및 서열 번호 209의 VL을 포함하는, 인간 ST2L의 도메인 I(서열 번호 9)에 특이적으로 결합하는 단리된 인간 또는 인간-적응화 항체 길항제 또는 그의 단편이다.
- [0145] 임의의 비-인간 서열이 결합된 인간 mAb는, 예를 들어, 문헌[Knappik et al., J Mol Biol 296:57-86, 2000]; 및 문헌[Krebs et al., J Immunol Meth 254:67-84 2001]에 언급된 기술에 의해 파아지 디스플레이 라이브러리로부터 제조되고 최적화될 수 있다. 예시적인 방법에서, 본 발명의 항체는 항체 중쇄 및 경쇄 가변 영역을 박테리오파지 pIX 코트 단백질과의 융합 단백질로서 발현시키는 라이브러리로부터 단리된다. 항체 라이브러리를 인간 ST2L-ECD에 대한 결합에 대해 스크리닝하고, 얻어진 양성 클론을 추가로 특성화하고, 클론 용해물로부터 Fab를 단리하고, 전체 길이 IgG로서 발현시킨다. 예시적인 항체 라이브러리 및 스크리닝 방법은 문헌[Shi et al., J Mol Biol 397:385-96, 2010]; 국제 특허 공개 제W02009/085462호, 및 미국 출원 제12/546850호; 미국 특허 제5,223,409호, 제5,969,108호, 및 제5,885,793호에 기재되어 있다.

- [0146] 생성되는 mAb를 그들의 프레임워크 영역 내에서 추가로 변형시켜 소정의 프레임워크 잔기를 일치하는 인간 생식 세포에 존재하는 것들로 변경할 수 있다.
- [0147] 당업자에게 공지된 기술에 의한 Fc 변형을 통해 본 발명의 항체의 면역 효과 특성을 증진하거나 억제할 수 있다. 이들 활성을 담당하는 Fc 내의 잔기를 변형시킴으로써, 예를 들어, C1q 결합, 보체 의존성 세포독성(CDC: complement dependent cytotoxicity), 항체-의존성 세포-매개 세포독성(ADCC: antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity), 식작용, 세포 표면 수용체의 하향 조절(예를 들어, B 세포 수용체(BCR: B cell receptor)) 등과 같은 Fc 효과 작용을 제공하고/하거나 제어할 수 있다. 항체 반감기를 연장하는 Fc 도메인 내의 잔기를 돌연변이시킴으로써 약물 동태학적 특성 또한 증진될 수 있을 것이다(문헌[Strohl Curr Opin Biotechnol 20:685-91, 2009]). 예시적인 Fc 변형은 IgG4 S228P/L234A/L235A, IgG2 M252Y/S254T/T256E(문헌[Dall'Acqua et al., J Biol Chem 281:23514-24, 2006]); 또는 IgG2 V234A/G237A/P238S, V234A/G237A/H268Q, H268A/V309L/A330S/P331, 또는 IgG2 상의 V234A/G237A/P238S/H268A/V309L/A330S/P331S(국제 특허 출원 제 W02011/066501호)(EU 번호화에 따른 번호화)이다.
- [0148] 부가적으로, 본 명세서에 기재된 바와 같이 본 발명의 항체는 글리코실화, 이성체화, 탈글리코실화(deglycosylation), 또는 비-자연 발생 공유적 변형, 예를 들어, 폴리에틸렌 글리콜 부분의 첨가(페길화(pegylation)) 및 지질화와 같은 과정에 의해 변역-후 변형될 수 있다. 이들 변형은 생체 내에서 또는 시험관 내에서 발생할 수 있다. 예를 들어, 본 명세서에 기재된 바와 같이 본 발명의 항체는 폴리에틸렌 글리콜에 접합되어(페길화됨), 이들의 약물 동태학적 프로파일을 개선할 수 있다. 접합은 당업자에게 알려져 있는 기술에 의해 수행될 수 있다. 치료 항체와 PEG의 접합은 작용을 방해하지 않으면서 약물 동태학 특성을 증진하는 것으로 나타났다(문헌[Knigh et al., Platelets 15:409-18, 2004]; 문헌[Leong et al., Cytokine 16:106-19, 2001]; 문헌[Yang et al., Protein Eng 16:761-70, 2003]).
- [0149] 본 명세서에 기재된 바와 같이, 안정성, 선택성, 교차-반응성, 친화력, 면역원성, 또는 다른 바람직한 생물학적 특성 또는 생물물리학적 특성을 개선하기 위해 변형된 본 발명의 항체 또는 그의 단편은 본 발명의 범주 내에 있다. 항체의 안정성은 (1) 그들의 고유 안정성에 영향을 주는 개별 도메인의 코어 패킹(core packing), (2) HC 및 LC 페어링에 영향을 갖는 단백질/단백질 계면 상호작용, (3) 극성 및 하전된 잔기의 매립(burial), (4) 극성 및 하전된 잔기에 대한 H-결합 네트워크; 및 (5) 다른 분자-내 및 분자-간 힘 중 특히 표면 전하 및 극성 잔기 분포를 포함하는 다수의 인자에 의해 영향을 받는다(문헌[Worn et al., J Mol Biol 305:989-1010, 2001]). 유력한 구조 불안정화 잔기는 항체의 결정 구조에 기초하여 또는 특정 경우에 분자 모델링에 의하여 동정할 수 있으며, 동정된 잔기 내에 돌연변이를 갖는 변이체를 생성하고 평가함으로써, 항체 안정성 상의 잔기의 영향을 시험할 수 있다. 항체 안정성을 증가시키는 방법 중 하나는 시차 주사 열량계(DSC)에 의해 측정되는 열 전이 중간점(Tm)을 상승시키는 것이다. 일반적으로, 단백질 Tm은 그의 안정성과 비례하며, 용액 내에서의 언폴딩(unfolding) 및 변성, 및 단백질이 언폴딩되는 경향에 따라 달라지는 분해 과정에 대한 그의 감수성과 반 비례한다(문헌[Remmele et al., Biopharm 13:36-46, 2000]). 수많은 연구에서 DSC에 의해 열 안정성으로 측정된 제형의 물리적 안정성의 순위와 다른 방법에 의해 측정된 물리적 안정성 간의 상관관계를 찾아내었다(문헌[Gupta et al., AAPS PharmSci 5E8, 2003]; 문헌[Zhang et al., J Pharm Sci 93:3076-89, 2004]; 문헌[Maa et al., Int J Pharm 140:155-68, 1996]; 문헌[Bedu-Addo et al., Pharm Res 21:1353-61, 2004]; 문헌[Remmele et al., Pharm Res 15:200-8, 1997]). 제형 연구는 Fab Tm이 상응하는 mAb의 장기 물리적 안정성에 대한 영향을 갖는다는 것을 제안한다. 프레임워크 또는 CDR 내의 아미노산의 차이는 Fab 도메인의 열 안정성 상에 유의적인 효과를 가질 수 있다(문헌[Yasui et al., FEBS Lett 353:143-6, 1994]).
- [0150] 본 명세서에 기재된 바와 같이, 인간 ST2L의 도메인 I에 특이적으로 결합하는 본 발명의 항체는 이중특이적 항체로 조작될 수 있으며, 이 또한 본 발명의 범주 내에 포함된다. 공개된 방법을 사용하여 본 발명의 항체의 VL 및/또는 VH 영역을 탠드Ab(TandAb)(등록상표) 설계와 같은 구조로서 단쇄 이중특이적 항체로 조작하거나(국제 특허 공개 제W01999/571506호; 미국 특허 공개 제US2011/0206672호), 미국 특허 제US5869620호; 국제 특허 공개 제W01995/15388A호, 국제 특허 공개 제W01997/14719호, 또는 국제 특허 공개 제W02011/036460호에 개시된 것들과 같은 구조로서 이중특이적 scFV로 조작할 수 있다.
- [0151] 본 명세서에 기재된 바와 같이, 본 발명의 항체의 VL 및/또는 VH 영역은 이중특이적 전체 길이 항체로 조작될 수 있으며, 여기서 각각의 항체 팔은 별개의 항원 또는 에피토프에 결합된다. 이러한 이중특이적 항체는 전형적으로, 미국 특허 제US7695936호; 국제 특허 공개 제W004/111233호; 미국 특허 공개 제US2010/0015133호; 미국 특허 공개 제US2007/0287170호; 국제 특허 공개 제W02008/119353호; 미국 특허 공개 제US2009/0182127호; 미국 특허 공개 제US2010/0286374호; 미국 특허 공개 제US2011/0123532호; 국제 특허 공개 제W02011/131746호;

국제 특허 공개 제W02011/143545호; 또는 미국 특허 공개 제US2012/0149876호에 기재된 것들과 같은 기술을 사용하여 이중특이적 항체를 형성하도록 2개의 항체 중쇄 사이의 CH3 상호작용을 조절함으로써 제조된다. 본 발명의 항체의 VL 및/또는 VH 영역이 혼입될 수 있는 부가적인 이중특이적 구조는, 예를 들어 이중 가변 도메인 면역글로불린(국제 특허 공개 제W02009/134776호), 또는 상이한 특이성을 가진 2개의 항체 팔을 연결하기 위한 다양한 이량체화 도메인, 예를 들어 류신 지퍼 또는 콜라겐 이량체화 도메인(국제 특허 공개 제W02012/022811호, 미국 특허 제US5932448호; 미국 특허 제US6833441호)을 포함하는 구조이다.

[0152] 본 발명의 다른 태양은, 본 발명의 항체 중쇄 가변 영역 또는 항체 경쇄 가변 영역 또는 그의 단편 또는 그의 보체 중 임의의 것을 암호화하는 단리된 폴리뉴클레오티드이다. 소정의 예시적인 폴리뉴클레오티드가 본 명세서에 개시되나, 주어진 발현 시스템 내에서 유전자 코드의 축퇴성 또는 코돈 선호도를 고려하여, 본 발명의 항체 길항제를 암호화하는 다른 폴리뉴클레오티드 또한 본 발명의 범주 내에 있다. 본 발명의 예시적인 폴리뉴클레오티드는 서열 번호 211, 212, 213, 및 214에 나타난 것들이다.

[0153] 본 발명의 다른 실시 형태는 본 발명의 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터이다. 이들 벡터는 플라스미드 벡터, 바이러스 벡터, 배칼로바이러스(baculovirus) 발현용 벡터, 트랜스포존(transposon) 기반의 벡터, 또는 임의의 수단에 의한 본 발명의 폴리뉴클레오티드의 주어진 유기체 또는 유전자 백그라운드(genetic background)로의 도입에 적절한 임의의 다른 벡터일 수 있다.

[0154] 본 발명의 다른 실시 형태는 본 발명의 폴리뉴클레오티드를 포함하는 숙주 세포이다. 이들 숙주 세포는 진핵 세포, 박테리아 세포, 식물 세포 또는 고세균(archeal) 세포일 수 있다. 예시적인 진핵 세포는 포유동물, 곤충, 조류 또는 다른 동물 기원의 것일 수 있다. 포유동물 진핵 세포는 불멸화 세포주, 예를 들어 하이브리도마 또는 골수종 세포주, 예를 들어 SP2/0(버지니아주 머내서스 소재의 미국 미생물 보존 센터(ATCC: American Type Culture Collection), CRL-1581), NS0(영국 윌트셔 셀리스버리 소재의 유럽 세포주 은행(ECACC: European Collection of Cell Cultures), ECACC No. 85110503), FO(ATCC CRL-1646), 및 Ag653(ATCC CRL-1580) 쥐과 세포주를 포함한다. 예시적인 인간 골수종 세포주는 U266(ATCC CRL-TIB-196)이다. 다른 유용한 세포주는 중국 햄스터 난소(CHO) 세포, 예를 들어 CHO-K1SV(Lonza Biologics, Walkersville, MD), CHO-K1(ATCC CRL-61) 또는 DG44로부터 유래된 것을 포함한다.

[0155] 본 발명의 다른 실시 형태는, 본 발명의 숙주 세포를 배양하는 단계 및 숙주 세포에 의해 생성된 항체를 회수하는 단계를 포함하는, ST2L의 도메인 I에 특이적으로 결합하는 항체의 제조 방법이다. 항체의 제조방법 및 이들의 정제방법은 해당 분야에 잘 알려져 있다.

[0156] 대상 내에서 IL-33과 ST2L의 상호작용을 저해하는 방법의 본 발명의 다른 실시 형태는 ST2L의 도메인 I에 특이적으로 결합하는 항체를 ST2L과 IL-33의 상호작용을 저해하기에 충분한 양으로 대상에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0157] 치료 방법

[0158] 본 명세서에 기재된 바와 같이 본 발명의 ST2L 길항제, 예를 들어 IL-33/ST2L 상호작용을 차단하고 ST2L의 도메인 I에 결합하는 ST2L 항체 길항제, 인간 ST2L(서열 번호 1)에 대한 결합에 대해 서열 번호 47의 중쇄 가변 영역 및 서열 번호 51의 경쇄 가변 영역을 포함하는 단리된 항체와 경쟁하는 항체, 또는 서열 번호 1의 아미노산 잔기 35 내지 48(RCPKQKPSYTVDW; 서열 번호 210)에서 인간 ST2L에 결합하는 항체를 이용하여 면역 시스템을 조절할 수 있다. 본 발명의 항체는 IL-33-유도 비만 세포 반응을 더 효율적으로 감소시킬 수 있으므로, 본 명세서에 기재된 바와 같이, ST2L 상의 다른 도메인 및/또는 영역에 결합하는 항체에 비교할 때, 본 발명의 항체는 ST2L 생물 활성을 길항함에 있어서 더 효율적일 수 있다. 본 발명의 임의의 항체를 본 발명의 방법에 사용할 수 있다. 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 예시적인 항체는 항체 STLM62, STLM15, STLM103, STLM107, STLM108, STLM123, STLM124, STLM206, STLM207, STLM208, STLM209, STLM210, STLM211, STLM212, STLM213이다. 임의의 이론에 구애되고자 하는 것은 아니나, 도메인 I에 결합하고 IL-33/ST2L 상호작용을 차단하는 항체 길항제는 IL-1RAcP/IL-33/ST2L/cKit 복합체의 형성 또는 비만 세포 상의 다운스트림 신호전달을 저해할 수 있는 반면에, 도메인 III 결합 항체는 IL-1RAcP의 ST2L/IL-33 복합체로의 동원을 저해할 수 있지만, 비만 세포 상에서 특이적으로 확인된 더 큰 IL-1RAcP/IL-33/ST2L/cKit 복합체의 형성을 방해하지 못할 수 있다는 것이 제안된다. 항-ST2L 도메인 I 결합 항체는 IL-33에 의해 유도된 대부분의 비만 세포 신호전달 경로를 억제했고, 항-ST2L 도메인 III 결합 항체는 이들 신호전달 경로 중 작은 서브세트를 저해할 수 있을 뿐이었음이 입증되었으므로, 수행된 마이크로어레이 분석은 그 제안을 지지한다. 보조 단백질 IL-1RAcP의 회합 전에 IL-33이 ST2L에 결합하므로, ST2L에 대한 IL-33 결합이 도메인 I-결합 항체에 의해 차단되면 cKit 또는 아직 동정되지 않은 공동-수용체

를 포함하는 임의의 다른 보조 단백질의 회합을 방지할 수 있는 개연성이 있다. ST2L에 대한 IL-33 결합을 방해하지 않는 도메인 III-결합 항체는, 이론적으로 IL-1RAcP 회합을 차단할 수 있을 것이나, 아직 동정되지 않은 공동-수용체를 포함하는 다른 공동-수용체의 회합은 차단하지 못할 것이다. IL-1RAcP가 어떻게 IL-1/IL-1R 또는 ST2L/IL-33 복합체와 상호작용하는지에 관해 다중 모델이 제시되었다(문헌[Lingel et al., Structure 17: 1398-1410, 2009]; 및 문헌[Thomas et al., Nat Struct & Molec Biol 19: 455-457, 2012]에 개관됨). 이들 모델은 IL-1RAcP가 복합체의 한 측면에 결합할 수 있을 것임을 시사하나, 어느 측면인지는 확정적으로 나타나 있지 않다. 그러므로 복합체의 '다른 측면' 또는 '자유 측면'이 대체 공동-수용체와의 회합에 대해 이용가능한 개연성이 있으며, 그것은 도메인 III 항체에 의해 차단되지 않을 것이고, 증가된 신호전달을 유발하는 다른 공동-수용체의 증가된 동원과 같은 부정확한 효과(off-target effect)가 가능하다.

[0159] 본 발명의 방법에서, 인간 ST2L의 도메인 I에 특이적으로 결합하는 임의의 항체 길항제, IL-33/ST2L 상호작용을 차단하고 인간 ST2L의 도메인 I에 결합하는 항체 길항제, 인간 ST2L(서열 번호 1)에 대한 결합에 대해 서열 번호 47의 중쇄 가변 영역 및 서열 번호 51의 경쇄 가변 영역을 포함하는 단리된 항체와 경쟁하는 항체, 또는 서열 번호 1의 아미노산 잔기 35 내지 48(RCPKQKPSYTVDW; 서열 번호 210)에서 인간 ST2L에 결합하는 항체를 사용할 수 있다. 이러한 항체의 부가적인 특징은 IL-33/ST2L 상호작용을 차단하고 인간 비만 세포 반응을 저해하는 항체의 능력을 포함한다.

[0160] 그러므로, 본 발명의 항체는 여러 가지 ST2L-매개 병태, ST2L-매개 염증성 병태, 및 비만 세포 반응의 저해를 목적으로 하는 병태의 치료에 적합하다.

[0161] 본 발명의 방법은 임의의 분류에 속하는 동물 환자를 치료하기 위해 사용할 수 있다. 이들 동물의 예에는 포유 동물, 예를 들어 인간, 설치류, 개, 고양이 및 가축이 포함된다. 예를 들어, 본 발명의 항체는 ST2L-매개 병태, 예를 들어 천식, 기도 과민 반응, 유육종증, 만성 폐쇄성 폐 질환(COPD: chronic obstructive pulmonary disease), 특발성 폐 섬유증(IPF: idiopathic pulmonary fibrosis), 낭포성 섬유증, 염증성 장 질환(IBD: inflammatory bowel disease), 류머티스 관절염, 호산구성 식도염, 피부경화증, 아토피성 피부염, 알러지성 비염, 수포성 유사천포창, 만성 두드러기, 당뇨병성 신증, 간질성 방광염, 또는 이식편 대 숙주 질환(GVHD: Graft Versus Host Disease)을 포함하는 염증성 질환의 예방 및 치료에 유용하다. 본 발명의 항체는 적어도 부분적으로 비만 세포에 의해 매개되는 면역 질환, 예를 들어 천식, 습진, 소양증, 알러지성 비염, 알러지성 결막염과 더불어, 자가면역 질환, 예를 들어 류머티스 관절염, 수포성 유사천포창, 및 다발성 경화증의 예방 및 치료에 유용하다.

[0162] 본 발명의 항체는 또한 이러한 치료를 위한 의약품의 제조에 유용하며, 여기서 의약품은 본 명세서에 정의된 투여량으로 투여하기 위해 제조된다.

[0163] 비만 세포는 그들의 다양한 매개체의 방출을 통해 알러지성 염증 및 천식에서 중심 역할을 한다(문헌[Amin, Respir Med 106:9-14, 2012]에 개관됨). ST2L은 비만 세포 상에 고도로 발현되며, 그의 활성화는 다수의 전염 증성 사이토카인 및 다른 매개체의 발현을 유발한다. ST2L 활성화의 저해는 비만 세포 매개 염증성 세포 동원을 방해하고 만성 염증을 조절하는 것으로 제시된다.

[0164] 비만 세포는 알러지원, 차가운 공기, 병원체를 포함하는 자극에 대한 신속한 반응자(responder)이며; 이들 자극에 의한 상피의 손상은 IL-33의 방출을 유발할 수 있다(문헌[Zhao and Hu, Cell & Molec Immunol 7: 260-2, 2012]에 개관됨). 비만 세포는 류코트라이엔, 히스타민, 프로스타글란딘, 및 사이토카인을 방출하여 혈관 투과성 및 기관지수축을 증가시키고, 호중구, 호산구, 및 T 림프구와 같은 다른 면역 세포를 현장에 동원한다(문헌[Henderson et al., JEM 184:1483-94, 1996]; 문헌[White et al., JACI 86:599-605, 1990]). 부가적으로, 그들은 내피 세포 상에 접착 분자 상호 조절을 유도하여 면역 세포 이동을 증가시킴으로써 면역 반응을 증진한다(문헌[Meng et al., J Cell Physiol 165:40-53, 1995]). 비만 세포는 기도 개형(airway remodeling)에서 중요한 역할을 하며; 천식 환자에서는, 증가된 수의 비만 세포가 기도 평활근(ASM: airway smooth muscle) 세포 층 내부에서 발견되고, ASM 증식을 촉진하는 매개체를 분비한다(문헌[Okayama et al., Curr Opin Immunol 19:687-93, 2007]에 개관됨).

[0165] 염증성 폐 병태는 염증성 병태의 예이다. 예시적인 염증성 폐 병태는 바이러스, 박테리아, 진균류, 기생충 또는 프리온(prion) 감염과 관련된 것을 비롯한 감염-유도성 폐 병태; 알러지원-유도성 폐 병태; 석면증(asbestosis), 규폐증(silicosis), 또는 벨릴루증(berylliosis)과 같은 오염물질-유도성 폐 병태; 위 흡인-유도 폐 병태, 면역 조절 곤란, 낭포성 섬유증과 같은 유전적 소인이 있는 염증성 병태, 및 호흡기 손상(ventilator injury)과 같은 물리적 외상-유도 폐 병태를 포함한다. 이들 염증성 증상은 또한 천식, 폐기종,



기관지염, 만성폐쇄폐질환(COPD), 사코이드증, 조직구증, 림프관근증증, 급성 폐 손상, 급성 호흡 곤란 증후군, 만성 폐 질환, 기관지폐형성이상, 지역사회-획득 폐렴, 병원내 폐렴, 호흡기-관련 폐렴, 폐혈증, 바이러스성 폐렴, 인플루엔자 감염, 파라인플루엔자 감염, 로타바이러스 감염, 인간 메타뉴모바이러스(metapneumovirus), 호흡기 세포융합 바이러스 감염 및 아스파르길루스 또는 다른 진균류 감염을 포함한다. 예시적인 감염-관련 염증성 질환은 중증 폐렴, 낭성섬유증, 기관지염, 기도 결절(airway exacerbations), 및 급성 호흡 곤란 증후군(ARDS)를 비롯한 바이러스 또는 박테리아 폐렴을 포함할 수 있다. 그러한 감염-관련 증상은 일차 바이러스 감염 및 이차 박테리아 감염과 같은, 다중 감염을 포함할 수 있다. 조절 곤란 ST2L 신호전달은 천식 및 만성 폐쇄성 폐 질환(COPD)과 같은 폐 질환의 병리에서 역할을 담당할 수 있다(문헌[Alcorn et al., Annu Rev Physiol 72:495-516, 2010]에 개관됨). 통상적으로 사용되는 천식 및 기도 염증에 대한 동물 모델은 오브알부민 켈린지 모델, 메타콜린 감작 모델, 및 아스페르길루스 푸미가투스(*Aspergillus fumigatus*)를 이용하는 감작을 포함한다(문헌[Hessel et al., Eur J Pharmacol 293:401-12, 1995]). 또한, 배양된 인간 기관지 상피 세포, 기관지 섬유모세포 또는 기도 평활근 세포로부터의 사이토카인 및 케모카인 생성의 억제제는 시험관 내 모델로 사용될 수 있다. 이들 모델 중 임의의 것에 본 발명의 길항제의 투여를 사용하여, 천식, 기도 염증, COPD 등의 경로를 변경하고 증상을 개선하기 위한 이들 길항제의 용도를 평가할 수 있다.

[0166] 천식은 기도 과민성("AHR"), 기관지수축, 천명, 호산구 또는 호중구 염증, 점액 과다분비, 상피하 섬유증, 및 상승된 IgE 수준을 특징으로 하는 폐의 염증성 질환이다. 천식 환자는 가장 통상적으로 호흡기의 미생물 감염(예를 들어, 리노바이러스, 인플루엔자 바이러스, 헤모필루스 인플루엔자 등)에 기인하여, 증상이 나타나는 "악화"를 경험한다. 천식 발작은 환경 인자(예를 들어, 회충, 곤충, 동물(예를 들어, 고양이, 개, 토끼, 마우스, 랫트, 햄스터, 기니아 피그 및 새), 진균류, 공기 오염물질(예를 들어, 담배 연기), 자극성 가스, 폼(fume), 증기, 에어로졸, 화학물질, 화분, 운동 또는 찬 공기)에 의해 촉발될 수 있다. 천식과 별개로, 폐에 영향을 미치는 몇몇 만성 염증성 질환, 예를 들어, 만성 폐쇄성 폐 질환(COPD), 세균성 폐렴, 및 낭포성 섬유증은 기도로의 호중구 침윤을 특징으로 하며(문헌[Linden et al., Eur Respir J 15:973-7, 2000]; 문헌[Rahman et al., Clin Immunol 115:268-76, 2005]), COPD, 알러지성 비염, 및 낭포성 섬유증과 같은 질환은 기도 과민성을 특징으로 한다(문헌[Fahy and O'Byrne, Am J Respir Crit Care Med 163:822-3, 2001]). 통상적으로 사용되는 천식 및 기도 염증에 대한 동물 모델은 오브알부민 감작 및 켈린지 후의 메타콜린 켈린지 모델을 포함한다(문헌[Hessel et al., Eur J Pharmacol 293:401-12, 1995]). 또한, 배양된 인간 기관지 상피 세포, 기관지 섬유모세포 또는 기도 평활근 세포로부터의 사이토카인 및 케모카인 생성의 억제는 시험관 내 모델로 사용될 수 있다. 이들 모델 중 임의의 것에 본 발명의 항체 길항제의 투여를 사용하여, 천식, 기도 염증, COPD 등의 경로를 변경하고 증상을 개선하기 위한 이들 길항제의 용도를 평가할 수 있다.

[0167] TH2 세포, 호염기구, 비만 세포, 및 새로 기재된 선천성 림프구 유형 2 세포 상의 ST2L 수용체를 통한 IL-33 신호전달은 IL-5 및 IL-13(유형 2 사이토카인) 분비를 유발한다(문헌[Spits et al., Nature Reviews Immunology 13:145-149, 2013]에 의해 ILC가 개관됨). 천식에서 IL-5 또는 IL-13을 표적으로 하는 치료제의 유익한 효과는 이들 경로의 타당성을 확증한다. IL-5는 호산구를 활성화시키며, 객담 호산구 증가증을 동반하는 중증 천식 환자의 하위군을 IL-5를 중화시키는 단클론 항체로 치료하면 더 적은 결절이 유발되었다(문헌[Nair et al., N Engl J Med. 2009; 360(10):985-93]). IL-13은 IgE 합성, 점액 분비, 및 섬유증에 기여하는 것으로 보고되어 있다. 중증 천식 환자를 항-IL-13 단클론 항체로 치료하는 것은 폐 작용에 개선을 유발했다(하위군이 더 큰 개선을 입증함(문헌[Corren et al., N. Engl. J. Med., 365:1088-1098, 2011])). 차별적인 면역학적 경로의 다른 매개체 또한 천식 발병 기전에 관련되며, ST2L에 부가하여 이들 매개체를 차단하는 것은 부가적인 치료적 이익을 제공할 수 있다. 다중 유형 2 사이토카인, 또는 유형 2 사이토카인 생성의 업스트림의 경로를 표적으로 하는 요법이 중증 질환에 유익할 수 있다.

[0168] 본 발명의 ST2L 항체의 VH 및 VL 도메인을 본 명세서에 기재된 이중특이적 항체 및 분자 내로 혼입시킬 수 있으며, 여기서 이중특이적 항체는 ST2L의 도메인 I 및 제2 항원, 예를 들어 TSLP(흉선 스트로마 림포포이에틴(thymic stromal lymphopoietin)), IL-25, IL-17RB, 또는 TSLPR에 특이적으로 결합한다.

[0169] IL-25 및 TSLP는, IL-33과 같이, 별개의 신호전달 복합체를 통해 유형 2 사이토카인 방출을 촉발한다: IL-25(IL-17E)는 IL-17 패밀리의 구성원이고 IL-17RA/IL-17RB를 통해 신호를 전달하며, TSLP는 IL-7 패밀리의 구성원이고 TSLPR/IL-7Ra 이중이량체를 통해 신호를 전달한다(문헌[Koyasu et al., Immunol 132:475-481, 2011]에 개관됨). IL-33, ST2L, IL-25, IL-17RB, TSLP, 또는 TSLPR이 결핍된 동물은 다수의 상이한 유형의 천식 마우스 모델 중 하나 이상에서 덜 중증인 기도 염증을 나타내지만; 이들 동물 모델 중 대부분에는 기도 염증으로부터의 보호의 결여가 존재할 수 있으며, 이는 다양한 알러지원 또는 병원체에 대한 상피의 노출이, IL-33, IL-

25, 및 TSLP의 방출을 동시에 촉발할 수 있다는 가능성을 높인다. 함매드(Hammad) 등은 집먼지 진드기 추출물을 마우스에 투여했을 때 기도 내로의 IL-25, TSLP, 및 IL-33(IL-33의 다운스트림의 IL-5 및 IL-13과 더불어)의 방출이 유발되었음을 보고하였다(문헌[Hammad et al., Nat Med 15:210-216, 2009]). 이는 ST2L 및 TSLP 및/또는 IL-25를 차단하는 것이, 특히 중증 기도 질환에서 유익한 효과를 가질 수 있음을 제안한다.

[0170] 본 발명의 다른 실시 형태에서는, 인간 ST2L의 도메인 I에 특이적으로 결합하는 항체 길항제를 사용하여 ST2L 및 TSLP, ST2L 및 IL-25, ST2L 및 TSLPR, ST2L 및 IL-17RA, 또는 ST2L 및 IL-17RB에 결합하는 이중특이적 분자를 생성시킬 수 있다.

[0171] 본 발명의 다른 실시 형태에서, 인간 ST2L의 도메인 I에 특이적으로 결합하는 항체 길항제는 이중특이적 항체이며, 여기서 항체는 TSLP, IL-25, TSLPR, IL-17RA, 또는 IL-17RB에 추가로 결합한다.

[0172] 인간 면역글로불린 좌위를 발현시키는 마우스(문헌[Lonberg et al., Nature 368:856-9, 1994]; 문헌[Fishwild et al., Nature Biotechnology 14:845-51, 1996]; 문헌[Mendez et al., Nature Genetics 15:146-56, 1997], 미국 특허 제5,770,429호, 제7,041,870호, 및 제5,939,598호) 또는 상응하는 단백질 또는 단백질의 세포외 도메인을 가진 Balb/c 마우스를 면역화하는 단계와 같은 본 명세서에 기재된 방법을 사용하여, 또는 본 명세서에 기재된 파아지 디스플레이 라이브러리를 사용하여, TSLP, IL-25, TSLPR, IL-17RA, 및 IL-17RB 결합 항체를 생성시킬 수 있다. 대안적으로, TSLP, IL-25, TSLPR, IL-17RA, 및 IL-17RB에 대한 기존의 항체를 사용하여 이중특이적 분자를 생성시킬 수 있다. 사용할 수 있는 예시적인 IL-25 항체는, 예를 들어 국제 특허 공개 제 WO2011/123507호에 기재된 것들이다.

[0173] 골관절염, 류마티스 관절염, 손상의 결과로서 관절염이 있는 관절 등을 포함하는 관절염은 본 발명의 길항제와 같은 항염증성 단백질의 치료적 사용으로부터 이익을 얻을 통상적인 염증성 병태이다. ST2L 신호전달의 활성화는 염증을 영구화시키고, 염증이 생긴 관절에서 추가의 조직 손상을 영구화시킬 수 있다. 류마티스 관절염에 대한 몇몇 동물 모델이 공지되어 있다. 예를 들어, 콜라겐-유도성 관절염(CIA) 모델에서, 마우스에는 인간 류마티스성 관절염과 매우 유사한 만성 염증성 관절염이 생긴다. 이 모델에서 ST2L-결핍(ST2KO) 마우스는 발병이 약화되었고, 이 모델에서 병리는 비만 세포에 의한 ST2L 발현에 의존적이었다(문헌[Xu et al., PNAS 105:10913-8, 2008]). 이 모델에서는 ST2KO 마우스의 관절 내의 활막 과형성 및 단핵 세포 및 다형핵 세포의 침윤이 감소되었다. 콜라겐으로 배양한 ST2KO 마우스(CII)의 배출 LN(drainage LN)은 유의적으로 감소된 IL-17, IFN $\gamma$ , 및 TNF $\alpha$  생성을 나타냈다. CIA를 유도하기 전에 야생형(WT) 골수-유래 비만 세포(BMMC)가 입양 전달된(adoptively transferred) ST2L-결핍 마우스는, ST2KO BMMC를 이식한 것들보다 더 중증인 CIA가 발병했다. 그러므로 인간 류마티스성 관절염과 유사한 마우스 모델에서 비만 세포에 의한 ST2L 신호전달은 관절염의 발병에 결정적이었다. CIA 모델 마우스에 비만 세포 반응을 저해하는 본 발명의 ST2L 항체의 투여를 사용하여 질환의 경로를 변경하고 증상을 개선하는 이들 길항제의 용도를 평가할 수 있다.

[0174] 예시적인 위장 염증성 병태는 염증성 장 질환(IBD), 궤양성 대장염(UC) 및 크론 병(CD), 환경 자극에 의해 유도되는 대장염(예를 들어, 치료 요법, 예를 들어 화학 요법, 방사선 요법 등의 시행에 의해 유발되거나 이와 연계된(예를 들어, 부작용) 위장염증(예를 들어, 대장염)), 감염성 대장염, 허혈성 대장염, 교원성 또는 림프구성 대장염, 괴사성 장염, 만성 육아종 질환 또는 셀리악 병(celiac disease)과 같은 병태의 대장염, 음식물 알러지, 위염, 감염성 위염 또는 장염(예를 들어, 헬리코박터 파일로리(Helicobacter pylori)-감염된 만성 활성 위염), 및 감염성 물질에 의해 유발되는 다른 형태의 위장 염증이다. 위장 염증성 병태에 대한 몇몇 동물 모델이 존재한다. 가장 널리 사용되는 모델의 일부는 2,4,6-트라이니트로벤질선폰산/에탄올(TNBS)-유도 대장염 모델 또는 옥사자론 모델이며, 이들은 결장에서 만성 염증 및 궤양을 유도한다(문헌[Neurath et al., Intern. Rev Immunol 19:51-62, 2000]). 또 다른 모델은 텍스트란 셀페이트 소듐(DSS)을 사용하며, 이는 피가 섞인 설사, 체중 감소, 결장의 단축 및 호중구 침윤이 있는 점막 궤양으로 나타나는 급성 대장염을 유도한다. 또 다른 모델은 RAG 또는 SCID 마우스로의 나이브(naïve) CD45RB<sup>hi</sup> CD4 T 세포의 입양 전달(adoptive transfer)을 포함한다. 이 모델에서는, 공여자 나이브 T 세포가 수용자 장을 공격하여 만성 장 염증 및 인간 염증성 장 질환과 유사한 증상을 유발한다(문헌[Read and Powrie, Curr Protoc Immunol Chapter 15 unit 15.13, 2001]). 이들 모델 중 임의의 것에서 본 발명의 길항제의 투여를 사용하여, 증후를 개선하고, 장의 염증, 예를 들어 염증성 장 질환과 관련된 질환의 경과를 변경시키기 위한 이들 길항제의 잠재적인 효능을 평가할 수 있다.

[0175] 신장 섬유증은 이식편 허혈/재관류와 같은 급성 자극(문헌[Freese et al., Nephrol Dial Transplant 16:2401-6, 2001]) 또는 당뇨병과 같은 만성 병태(문헌[Ritz et al., Nephrol Dial Transplant 11 Suppl 9:38-44, 1996])로부터 발병할 수 있다. 전형적으로 발병 기전은 초기 염증성 반응 후에 이어지는 사구체 여과 장치 및

요세관 간질의 지속적인 섬유화(문헌[Liu, Kidney Int 69:213-7, 2006])를 특징으로 한다. 요세관간질 섬유증은 신장 손상의 말기 신부전으로의 발병 기전에서 결정적인 역할을 하는 것으로 나타났으며, 근위 세뇨관 세포가 중심 매개체로 밝혀졌다(문헌[Phillips and Steadman, Histol Histopathol 17:247-52, 2002]; 문헌[Phillips, Chang Gung Med J 30:2-6, 2007]). 요세관간질 구획 내의 섬유화는 부분적으로 체류 섬유모세포(resident fibroblast)의 활성화에 의해 매개되며, 이는 국소적 염증성 매개체 및 섬유화 매개체를 분비하도록 근위 세뇨관 상피를 자극하는 전-염증성 사이토카인을 분비한다. 부가적으로, 화학주성 사이토카인(chemotactic cytokine)이 섬유모세포 및 상피 세포에 의해 분비되고 단핵구/대식세포 및 T-세포의 요세관간질 내로의 침윤을 인도하는 방향성 구배를 제공한다. 염증성 침윤은 부가적인 섬유화 사이토카인 및 염증성 사이토카인을 생성시키며, 이는 섬유모세포 및 상피 사이토카인 방출을 추가로 활성화시키는 한편, 또한 상피를 자극하여 표현형 이행(phenotypic transition)을 겪도록 하며, 여기서 세포는 과량의 세포외 기질 구성요소를 침착시킨다.(문헌[Simonson, Kidney Int 71:846-54, 2007]).

[0176] 다른 예시적인 섬유성 병태는, 간 섬유증(알코올성 간경변, 바이러스성 간경변, 자가면역성 간염을 포함하나 이로 제한되지 않음); 폐 섬유증(피부경화증, 특발성 폐 섬유증을 포함하나 이로 제한되지 않음); 신장 섬유증(피부 경화증, 당뇨병성 신장염, 사구체신염, 루푸스 신장염을 포함하나 이로 제한되지 않음); 피부 섬유증(피부 경화증, 비후성 및 켈로이드 흉터 형성, 화상을 포함하나 이로 제한되지 않음); 골수 섬유증; 신경 섬유증증; 섬유증; 장 섬유증; 및 외과적 치료로부터 야기된 섬유성 유착을 포함할 수 있다. 섬유증은 기관 특이적 섬유증 또는 전신 섬유증일 수 있다. 기관 특이적 섬유증은 폐 섬유증, 간 섬유증, 신장 섬유증, 심장 섬유증, 혈관 섬유증, 피부 섬유증, 안구 섬유증, 또는 골수 섬유증과 연계될 수 있다. 폐 섬유증은 특발성 폐 섬유증, 약물 유도 폐 섬유증, 천식, 유육종증, 또는 만성 폐쇄성 폐 질환과 연계될 수 있다. 간 섬유증은 간경변, 주혈흡충증, 또는 담관염과 연계될 수 있다. 간경변은 알코올성 간경변, C형 간염-후 간경변, 원발성 담즙성 간경변으로부터 선택될 수 있다. 담관염은 경화 담관염일 수 있다. 신장 섬유증은 당뇨병성 신병증 또는 루푸스 사구체 경화증과 관련될 수 있다. 심장 섬유증은 심근경색과 관련될 수 있다. 혈관 섬유증은 혈관화장술 후 동맥 재협착 또는 죽상동맥경화증과 관련될 수 있다. 피부 섬유증은 화상 흉터형성, 비대 흉터형성, 켈로이드 또는 신장기원 섬유화 피부병과 관련될 수 있다. 안구 섬유증은 안와-후(Retro-orbital) 섬유증, 백내장 수술 후 안구 섬유증 또는 증식유리체망막병과 관련될 수 있다. 골수 섬유증은 특발성 골수섬유증 또는 약물 유도성 골수섬유증과 관련될 수 있다. 전신 섬유증은 전신 경화증 또는 이식편 대 숙주 질환일 수 있다.

[0177] 본 발명의 방법으로 예방하거나 치료할 수 있는 다른 염증성 증상 및 신경병증은 자가면역 질환에 의해 야기되는 것이다. 이들 병태 및 신경병증은 다발성 경화증, 전신홍반루푸스, 및 알츠하이머 질환, 파킨슨 질환, 헌팅턴 질환, 양극성 장애와 근위축성 측삭경화증(ALS)을 포함하는 신경변성 및 중추신경계(CNS) 장애, 원발 담즙성 간경변, 원발 경화성 담관염, 비-알코올성 지방간 질환/지방간염(steatohepatitis), 섬유증, C형 간염 바이러스(HCV)와 B형 간염 바이러스(HBV)를 포함하는 간 질환, 당뇨병 및 인슐린 내성, 죽상동맥경화증, 뇌출혈, 뇌졸중 및 심근경색을 포함하는 심혈관 장애, 관절염, 류마티스 관절염, 건선성 관절염 및 소아 류마티스 관절염(JRA), 골다공증, 골관절염, 췌장염, 섬유증, 뇌염, 건선, 거세포동맥염, 강직성척추염, 자가면역 간염, 인간 면역결핍 바이러스(HIV), 염증성 피부 병태, 이식, 암, 알러지, 내분비 질환, 상처 회복, 다른 자가면역 장애, 기도 과민성 및 세포, 바이러스, 또는 프리온-매개 감염 또는 장애를 포함한다.

[0178] 본 발명의 일 실시 형태는, 인간 ST2L의 도메인 I(서열 번호 9)에 특이적으로 결합하고, IL-33/ST2L 상호작용을 차단하며, 인간 ST2L(서열 번호 1)에 대한 결합에 대해 서열 번호 47의 중쇄 가변 영역(VH) 및 서열 번호 51의 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하는 단리된 항체와 경쟁하고/하거나, 서열 번호 1의 아미노산 잔기 35 내지 48(RCPRQGKPSYTDW; 서열 번호 210)에서 인간 ST2L에 결합하는 치료적 유효량의 단리된 인간 또는 인간-적응화 항체 길항제를, 그를 필요로 하는 환자에게 ST2L-매개 병태를 치료하거나 예방하기에 충분한 시간 동안 투여하는 단계를 포함하는, ST2L-매개 병태의 치료 방법 또는 예방 방법이다.

[0179] 본 발명의 다른 실시 형태는, 인간 ST2L의 도메인 I(서열 번호 9)에 특이적으로 결합하고, IL-33/ST2L 상호작용을 차단하며, 인간 ST2L(서열 번호 1)에 대한 결합에 대해 서열 번호 47의 중쇄 가변 영역(VH) 및 서열 번호 51의 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하는 단리된 항체와 경쟁하고/하거나, 서열 번호 1의 아미노산 잔기 35 내지 48(RCPRQGKPSYTDW; 서열 번호 210)에서 인간 ST2L에 결합하는 치료적 유효량의 단리된 인간 또는 인간-적응화 항체 길항제를, 그를 필요로 하는 환자에게 비만 세포 반응을 저해하기에 충분한 시간 동안 투여하는 단계를 포함하는, 환자에서 비만 세포 반응을 저해하는 방법이다.

[0180] 본 발명의 다른 실시 형태는, 인간 ST2L의 도메인 I(서열 번호 9)에 특이적으로 결합하고, IL-33/ST2L 상호작용을 차단하며, 인간 ST2L(서열 번호 1)에 대한 결합에 대해 서열 번호 47의 중쇄 가변 영역(VH) 및 서열 번호 51



의 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하는 단리된 항체와 경쟁하고/하거나 서열 번호 1의 아미노산 잔기 35 내지 48(RCPKQGKPSYTVDW; 서열 번호 210)에서 인간 ST2L에 결합하는 단리된 인간 또는 인간-적응화 항체 길항제를, IL-33 및 ST2L의 상호작용을 저해하기에 충분한 양으로 대상에게 투여하는 단계를 포함하는, 대상에서 IL-33 및 ST2L의 상호작용을 저해하는 방법이다.

[0181] 다른 실시 형태에서, ST2L-매개 병태는 천식, 기도 과민 반응, 유육종증, 만성 폐쇄성 폐 질환(COPD), 특발성 폐 섬유증(IPF), 낭포성 섬유증, 염증성 장 질환, (IBD), 호산구성 식도염, 피부경화증, 아토피성 피부염, 알러지성 비염, 수포성 유사천포창, 만성 두드러기, 당뇨병성 신증, 류머티스 관절염, 간질성 방광염, 또는 이식편 대 숙주 질환(GVHD)이다.

[0182] 다른 실시 형태에서, ST2L-매개 병태는 폐에서의 염증성 세포 동원, 배상 세포 과형성, 또는 증가된 점액 분비와 연계된다.

[0183] 다른 실시 형태에서, ST2L-매개 병태는 비만 세포 반응과 연계된다.

[0184] 다른 실시 형태에서, 비만 세포 반응을 저해하는 단계는 인간 제대혈-유래 비만 세포에 의해 방출되는 GM-CSF, IL-5, IL-8, IL-10, 또는 IL-13의 수준을 50  $\mu$ g/ml 항체로 50% 이상 만큼 저해하는 단계를 포함한다.

[0185] 다른 실시 형태에서, 그를 필요로 하는 환자에게 투여되는 항체 길항제는 인간 ST2L의 도메인 I(서열 번호 9)에 특이적으로 결합하고, IL-33/ST2L 상호작용을 차단하며, 인간 ST2L(서열 번호 1)에 대한 결합에 대해 서열 번호 47의 중쇄 가변 영역(VH) 및 서열 번호 51의 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하는 단리된 항체와 경쟁하고/하거나 서열 번호 1의 아미노산 잔기 35 내지 48(RCPKQGKPSYTVDW; 서열 번호 210)에서 인간 ST2L에 결합하고, TSLP, IL-25, TSLPR, IL-17RA, 또는 IL-17RB에 추가로 결합하는 이중특이적 항체이다.

[0186] 투여/약제학적 조성물

[0187] ST2L 생물 활성의 조절이 바람직한 병태의 치료에 효과적인 항-ST2L 항체의 "치료적 유효량"은 표준 연구 기술에 의해 결정될 수 있다. 예를 들어, 천식 또는 류머티스 관절염과 같은 염증성 병태의 치료에 효과적일 항-ST2L 항체의 투여량은, 본 명세서에 기재된 모델과 같은 적절한 동물 모델에 항-ST2L 항체를 투여함으로써 결정할 수 있다.

[0188] 또한, 시험관 내 분석을 임의로 사용하여, 최적의 투여량 범위를 동정하는 것을 도울 수 있다. 유효한 특정 투여량의 선택은 몇몇 인자의 고려사항에 기초하여, 당업자에 의해 결정될 수 있다.(예를 들어, 임상 시험을 통해). 이러한 인자는 치료 또는 예방되는 질환, 수반 증후, 환자의 체중, 환자의 면역 상태 및 당업자가 알고 있는 다른 인자를 포함한다. 제형에 사용되는 정확한 용량은 또한 투여 경로, 및 질환의 중증도에 좌우될 것이며, 전문의의 판단 및 각 환자의 상황에 따라 결정되어야 한다. 유효 용량은 시험관내 또는 동물 모델 검사 시스템으로부터 유래하는 용량-반응 곡선으로부터 추정될 수 있다.

[0189] 본 발명의 항체의 치료적 용도를 위한 투여 방식은 제제를 숙주에게 전달하는 임의의 적합한 경로일 수 있다. 이들 항체의 약제학적 조성물은 비경구 투여, 예를 들어 피부내, 근육내, 복강내, 정맥내, 피하, 또는 비강내 투여에 특히 유용하다.

[0190] 본 발명의 항체는 약제학적으로 허용가능한 담체 중에 활성 성분으로서 제제의 유효량을 함유하는 약제학적 조성물로서 제조될 수 있다. 용어 "담체"는 활성 화합물과 함께 투여되는 희석제, 보조제, 부형제, 또는 비히클을 지칭한다. 이러한 약제학적 비히클은 이들로 한정되는 것은 아니지만, 석유, 동물, 식물 또는 합성 기원의 것들, 예를 들어 피넛유, 대두유, 광물유, 참기름 등을 포함하는 물 및 오일과 같은 액체일 수 있다. 예를 들어, 0.4% 염수 및 0.3% 글리신을 사용할 수 있다. 이들 용액은 무균성이고 일반적으로 입자상 물질이 없다. 이들은 통상적인 잘 알려져 있는 멸균 기술에 의해 멸균될 수 있다(예를 들어, 여과). 조성물은 pH 조절제 및 완충제, 안정화제, 농후제, 유희제, 및 착색제 등과 같이 생리적 조건에 근접시키기 위하여 필요한, 약제학적으로 허용가능한 보조 물질을 함유할 수 있다. 이러한 약제학적 제형에서 본 발명의 항체의 농도는 광범위하게, 즉, 약 0.5 중량% 미만, 통상적으로 약 1 중량%, 또는 약 1 중량% 이상 내지 15 또는 20 중량% 정도로 변동될 수 있고, 선택된 특정 투여 방식에 따라, 주로 필요한 용량, 유체 부피, 점성 등을 기반으로 선택될 것이다.

[0191] 따라서, 근육내 주사를 위한 본 발명의 약제학적 조성물은 1 ml의 멸균 완충수 및 약 1 ng 내지 약 100 mg, 예를 들어 약 50 ng 내지 약 30 mg, 또는 더욱 바람직하게는 약 5 mg 내지 약 25 mg의 본 발명의 항-ST2L 항체를 함유하도록 제조될 수 있다. 유사하게, 정맥내 주입을 위한 본 발명의 약제학적 조성물은 약 250 ml의 멸균 링거 용액 및 약 1 mg 내지 약 30 mg, 바람직하게는 5 mg 내지 약 25 mg의 본 발명의 길항제를 함유하도록 제조할



수 있다. 비경구적으로 투여할 수 있는 조성물을 제조하기 위한 실제의 방법은 잘 알려져 있으며, 예를 들어 문헌["Remington's Pharmaceutical Science", 15th ed., Mack Publishing Company, Easton, PA]에 더욱 상세히 기재되어 있다.

[0192] 본 발명의 항체는 보관을 위해 동결건조되고, 사용 전에 적합한 담체 중에 재구성될 수 있다. 이 기술은 통상의 면역글로불린 및 단백질 제제에 유효한 것으로 보이며, 해당 업계에 공지된 동결건조 및 재구성 기술을 사용할 수 있다.

[0193] 이제 본 발명을 하기의 구체적인 비제한적 실시예를 참고로 하여 설명할 것이다.

[0194] 재료 및 방법(일반)

[0195] 인간 및 시노물구스(마카카 파시쿨라리스, 시노) 수용체-리간드 결합 저해 어세이(RLB 어세이)

[0196] 바이카르보네이트 완충액 중의 50  $\mu$ l의 4  $\mu$ g/ml 인간 ST2L-ECD(서열 번호 1의 아미노산 19 내지 328) 또는 C-말단 His<sub>6</sub> 태그를 갖는 2  $\mu$ g/ml의 시노 ST2L-ECD(서열 번호 2의 아미노산 19 내지 321)로 4°C에서 16 hr 동안 96-웰 플레이트를 코팅하였다. 모든 후속 단계는 실온에서 수행하였다. 200  $\mu$ l의 차단 완충액으로 플레이트를 차단하고, PBS+0.05% 트윈을 함유하는 300  $\mu$ l의 세척 완충액으로 3회 세척하였다. 항-ST2L mAb의 다양한 희석액 30  $\mu$ l를 웰에 첨가하고 1 시간 동안 인큐베이션하였다. 인간 수용체-리간드 결합 어세이의 경우에는 20  $\mu$ l의 바이오틴화 인간 IL-33(서열 번호 3의 잔기 112 내지 270)을 100 ng/ml의 최종 농도로 첨가하고 30 분 동안 인큐베이션하였다. 시노 수용체-리간드 결합 어세이의 경우에는 20  $\mu$ l의 바이오틴화 시노 IL-33(서열 번호 4의 잔기 112 내지 269)을 200 ng/ml의 최종 농도로 첨가하고 30 분 동안 인큐베이션하였다. 플레이트를 300  $\mu$ l의 세척 완충액으로 3회 세척하였다. 50  $\mu$ l의 0.2  $\mu$ g/ml 스트렙타비딘-HRP(잭슨 이뮤노리서치(Jackson ImmunoResearch))를 첨가하고 30 min 동안 인큐베이션하였다. 플레이트를 PBS+0.05% 트윈을 함유하는 300  $\mu$ l의 세척 완충액으로 3회 세척하였다. 각각의 웰에 50  $\mu$ l의 TMB 기질(EMD 바이오사이언시즈(EMD Biosciences))를 첨가하였다. 100  $\mu$ l의 0.2N 황산을 첨가하여 반응을 중지시켰다. 인비전(Envision) 플레이트 판독기(퍼킨 엘머(Perkin Elmer))를 사용하여 OD450을 측정하였다.

[0197] 키메라 ST2L 작제물의 생성

[0198] 표준 분자생물학 기술을 사용하여 인간 및 마우스 ST2L 도메인 I, II, 및 III 스왑(swap)을 특징으로 하는 다양한 작제물을 설계하고 생성시켰다. 작제물은 표 1에 열거되어 있다. 아미노산 번호화는 인간 ST2L(hST2L)(서열 번호 1; NP\_057316) 및 마우스 ST2L(mST2L)(서열 번호 5; NP\_001020773) 단백질에 상응한다.

[0199] [표 1]

작제물 명칭	키메라 작제물 내의 각각의 도메인을 위한 아미노산 잔기의 기원		
	도메인 I	도메인 II	도메인 III
HHM-ST2L	hST2L aa. 19-122	hST2L aa. 123-202	mST2L aa. 209-324
MMH-ST2L	mST2L aa. 28-128	hST2L aa. 123-202	mST2L aa. 209-324
HMH-ST2L	hST2L aa. 19-122	mST2L aa. 129-208	hST2L aa. 203-323
HH-ST2L	hST2L aa.19-122	hST2L aa. 123-205	N/A

hST2L: 인간 ST2L 서열 번호 1

mST2L: 마우스 ST2L 서열 번호 5

[0200]

[0201] 도메인 결합 결정 어세이.

[0202] 전기화학발광 검출 포맷(메조-스케일 디스커버리(MSD: Meso-Scale Discovery) 기술)을 사용하는 표준 포획 ELISA 어세이를 사용하여 ST2L 도메인 I, II, 및 III에 대한 항체 결합을 결정하였다. 실온에서 2 hr 동안 MSD 하이바인드(HighBind) 플레이트의 각각의 웰 상에 10  $\mu$ g/mL의 각각의 항체를(5  $\mu$ l/웰) 코팅하였다. 플레이트를 150  $\mu$ l의 5% MSD 차단 완충액으로 실온에서 2 hr 동안 차단하고, HEPES 세척 완충액으로 3회 세척한 후에, 25  $\mu$ l의 설폰 태그 표지된 huST2L-ECD 또는 마우스 ST2L-ECD(서열 번호 5의 아미노산 28 내지 326) 또는 HHM-ST2L(서열 번호6) 또는 HMH-ST2L(서열 번호 8) 키메라 또는 HH-ST2L(서열 번호 1의 잔기 19 내지 205)을 5 nM 내지 40 nM의 증가하는 농도로 플레이트에 첨가하였다. 플레이트를 알루미늄 포일로 덮고 온화하게 진탕하면서 실온에서 1 hr 동안 인큐베이션하였다. 이어서, 플레이트를 HEPES 세척 완충액으로 3회 세척하였다. MSD 판독 완충액(150  $\mu$ l)을 각각의 웰에 첨가한 후, MSD 섹터 이미저(MSD Sector Imager) 6000을 사용하여 플레이트를 판독하였다.

- [0203] 인간 ST2L-ECD, HHM-ST2L, 및 HHM-ST2L에 의해서는 결합되나, 마우스 ST2L-ECD에 의해서는 결합되지 않는 항체는 인간 ST2L-ECD의 도메인 I을 인식한다. 인간 ST2L-ECD 및 HHM-ST2L에 의해서는 결합되나, HHM-ST2L 및 마우스 ST2L-ECD에 의해서는 결합되지 않는 항체는 인간 ST2L-ECD의 도메인 III을 인식한다. 인간 및 마우스 ST2L-ECD에 의해서는 결합되나, HH-ST2L에 의해서는 결합되지 않는 항체는 인간 및 마우스 ST2L-ECD의 도메인 III을 인식한다.
- [0204] 항-ST2L mAb의 친화력 측정.
- [0205] 표준 방법을 사용하여 항-ST2L mAb, huST2L-ECD, 및 시노ST2L-ECD를 발현시켰다. 염소 항-인간 IgG Fcg 단편-특이적 Ab(cat# 109-005-098)는 잭슨 이뮤노리서치 래보러토리즈(Jackson ImmunoResearch laboratories)(펜실베이니아주 웨스트 그로브 소재)로부터 입수하였다. GLC 센서 칩(바이오-라드(Bio-Rad) cat# 176-5011), CM-5 센서 칩(GE 헬스케어(GE Healthcare) cat# BR100014), 및 포획 표면의 제조를 위한 시약은 바이아코어(뉴저지주 피스카타웨이 소재의 GE 헬스케어) 또는 바이오-라드 라이프 사이언시스(캘리포니아주 허큘리스 소재의 바이오-라드)로부터 입수하였다.
- [0206] 항-ST2L 항체와 His<sub>6</sub>-태깅된 인간 ST2L-ECD 및 His<sub>6</sub>-태깅된 시노 ST2L-ECD의 상호작용을 25℃에서 프로테온 XPR36을 사용하는 프로테온에 의해 연구하였다. 아민-커플링 화학에 대한 제조자 지침을 사용하여 염소 항-인간 IgG Fcg 단편 특이적 항체(Ab)를 GLC 센서 칩의 표면에 커플링함으로써 바이오센서 표면을 제조하였다. 커플링 완충액은 10 mM 소듐 아세테이트(pH 4.5)였다. 염소 항-인간 IgG Fcg(약 4500 반응 단위)를 수평 배향으로 고정시켰다. 항-ST2L 항체는 정제되어 제공되거나 비정제 상등액으로 제공되었다. 어느 경우이든 이들 항체를 PRB(PBS pH 7.4, 3 mM EDTA 및 0.005% 트윈 20으로 보충됨) 중에 약 0.5 µg/mL의 농도로 희석하였다. 항-인간 Fcg δ 항체-변형된 GLC 칩 상에 수직 배향으로 항체를 포획하였다(60 내지 130 RU). 항-ST2L mAb의 포획 후에 용액 중의 huST2L ECD(5-배 희석에서 0.024 내지 15 nM) 또는 용액 중의 시노ST2L ECD(4-배 희석에서 0.020 내지 5 nM)를 수평 배향으로 주입하였다. 모든 실험에서 4 분 동안 회합을 모니터링하였다(50 µl/min으로 200 µl를 주입함). 해리는 30 분 동안 모니터링하였다. 10 mM 글리신 pH 1.5의 15 sec 펄스 3회를 이용하여 센서 표면의 재생을 얻었다. 프로테온 소프트웨어를 사용하고 물질 전달(mass transfer)을 동반하는 1:1 결합 모델을 사용하여 데이터를 적합시켰다.
- [0207] 바이아코어 2000 또는 바이아코어 3000 광학 바이오센서(바이아코어 AB)를 사용하여 바이아코어 실험을 수행하였다. 0.1% BSA의 존재 또는 부재 하에 25℃에서 BRB(PBS pH 7.4, 3 mM EDTA 및 0.005% 트윈 20으로 보충됨) 중에 모든 실험을 실행하였다.
- [0208] 아민-커플링 화학에 대한 제조자 지침을 사용하여 염소 항-인간 IgG Fcg 단편 특이적 Ab를 CM-5 칩의 카르복시 메틸화 텍스트란 표면에 커플링함으로써 바이아코어 바이오센서 표면을 제조하였다. 커플링 완충액은 10 mM 소듐 아세테이트(pH 4.5)였다. 4개의 플로우 셀(flow cell) 각각에 평균 6000 반응 단위(RU)의 Ab가 고정되었다. 항-인간 Fcg 항체-변형된 센서 칩 표면 상에 항-ST2L mAb를 포획하였다(약 33 RU). 항-ST2L mAb의 포획 후에 용액 중의 huST2L ECD(3-배 희석에서 0.2 내지 15 nM) 또는 용액 중의 시노ST2L ECD(3-배 희석에서 0.2 내지 15 nM 또는 0.020 내지 5 nM)를 주입하였다. 4 분 또는 8 분 동안 회합을 모니터링하였다(C2521 및 C2519의 경우에 50 µl/min 또는 20 µl/min으로 200 µl를 주입함). 해리는 10 분, 또는 최대 2.5 시간 동안 모니터링하였다. 50 mM NaOH의 주입 및/또는 100 mM H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>의 주입을 이용하여 센서 표면의 재생을 얻었다.
- [0209] 데이터를 스크러버 소프트웨어(Scrubber software), 버전 1.1g(바이올로지 소프트웨어(BioLogic Software))을 사용하여 처리하였다. 완충액 주입에 의해 생성된 곡선을 분석물 주입에 대한 기준-감산된 곡선으로부터 감산함으로써 데이터의 이중 참조 감산(Double reference subtraction)을 수행하여 신호에 대한 완충액 기여 및 기기 잡음을 보정하였다(문헌[Myszka, Journal of Mol Recogn 12:279-84, 1999]).
- [0210] 데이터 처리 후에, 동역학 및 친화력 결정을 위해 생성된 데이터를 스크러버 소프트웨어 또는 바이아이벨류에이션(BIAevaluation) 소프트웨어, 버전 4.0.1(바이아코어, AB)을 사용하여 분석하였다. 물질 전달에 대한 항을 포함하는 단순한 1:1 결합 모델을 사용하여 동역학 데이터를 분석하였다.
- [0211] 쥐과 ST2L ECD에 대한 항-마우스 ST2L mAb(C1999/CNT03914)의 친화력 측정.
- [0212] 표준 방법을 사용하여 항-ST2L mAb(C1999/CNT03914) 및 쥐과 ST2L 세포의 도메인(muST2L-ECD)을 발현시키고 정제하였다. 항-쥐과 IgG Fcg 단편-특이적 Ab는 잭슨 이뮤노리서치 래보러토리즈(펜실베이니아주 웨스트 그로브 소재)로부터 입수하였다. 포획 표면의 제조를 위한 시약 및 센서 칩은 바이아코어(뉴저지주 피스카타웨이 소재의

GE 헬스케어)로부터 입수하였다. 실험용 바이아코어 실행 완충액(BRB: Biacore running buffer)은 0.005% 트윈 20 및 0.1 mg/mL BSA와 함께 PBS pH 7.4를 함유하였으며, 데이터는 25℃에서 수집하였다.

[0213] 바이아코어2000 상에서 항-ST2L 항체와 muST2L-ECD의 상호작용을 25℃에서 연구하였다. 아민-커플링 화학에 대한 제조사 지침을 사용하여 항-마우스-Fc 특이적 항체를 CM4 센서 칩의 표면에 커플링함으로써 바이오센서 표면을 제조하였다. C1999/CNT03914 및 muST2L-ECD를 BRB에 희석하였다. 항-마우스 Fcγ 항체를 사용하여 C1999를 포획하였다(약 85 RU). 포획 후에 용액 중의 muST2L ECD(서열 번호 5의 잔기 28 내지 326)를 주입하였다(15 nM에서 시작하여 3-배 연속 희석으로 5개 농도). 8분 동안 회합을 모니터링하였다. 해리는 최대 6000 초 동안 모니터링하였다. 인산의 1/100 희석액을 사용하여 재생을 수행하였다. 1:1 결합 모델을 사용하여 데이터를 적합시켰다.

[0214] 인간 호염기구 세포주 어세이 (호염기구 사이토카인 방출 어세이)

[0215] KU812 세포(인간 호염기구 세포주; ATCC, CRL-2099)를 10% FBS 및 페니실린/ 스트렙토마이신으로 보충된 총 40 μl의 RPMI 1640 성장 배지(인비트로젠) 중에 25,000 또는 50,000 세포/웰로 멸균 96-웰 U-바닥 조직 배양 플레이트에 플레이팅하였다. 항-인간 ST2L mAb 및 대조군을 다양한 농도(50 μl/웰)로 첨가하고 37℃에서 인큐베이션하였다. 1 시간의 인큐베이션 후에, 재조합 "성숙한" IL-33(서열 번호 3의 아미노산 111 내지 270)을 10 μl의 RPMI 성장 배지 중에 10 ng/ml의 최종 농도로 첨가하였다. 이어서, 세포를 37℃에서 18 내지 24 시간 동안 인큐베이션하여 IL-5 및 IL-6의 IL-33-매개 유도를 가능하게 하였다. 인큐베이션 후에 세포를 수확하고, 이후에 ELISA(R&D 시스템즈(R&D systems)) 또는 비드-기반 멀티플렉스 분석(밀리포어(Millipore))을 사용하여 IL-33-유도 IL-5 및 IL-6을 검출하기 위해 세포 상등액을 수집하였다.

[0216] 인간 비만 세포 사이토카인 방출 어세이 및 PGD<sub>2</sub> 방출 어세이

[0217] 비만 세포는 CD34<sup>+</sup> 인간 제대혈 세포(론자(Lonza))로부터 유래되었다. 냉동 바이알(>1.0 × 10<sup>6</sup> CD34<sup>+</sup> 제대혈 세포)을 신속하게 해동시켜 50 ml 원추형 튜브에 이전하였다. 가온되거나 실온의 스템-프로(Stem-Pro) 34 배지 + 보충제(총 25 ml; 인비트로젠)의 방울을 세포에 천천히 첨가하였다. 세포를 1,000 rpm에서 15 분 동안 원심분리하고 배지(하기의 보충제를 가진 10 ml의 스템프로-34: 30 ng/ml IL-3, 100 ng/ml IL-6, 및 100 ng/ml SCF)에 재현탁하였다. 6-웰 플레이트의 2개 웰에 세포를 플레이팅하고, 1 주 동안 배양하였다. 제4일에, 세포를 보충된 스템 프로-34 배지에 1:3 확장하였다. 제7일에, 비-부착 세포를 제거하고 10 ng/ml IL-6 및 100 ng/ml SCF를 함유하는 스템프로-34 배지에 0.5 × 10<sup>6</sup>/ml로 플레이팅하였다. 세포를 매주 확장하여 6 내지 10 주에 비만 세포가 성숙할 때까지(FcεR1, cKit, 및 트립타아제의 발현에 의해 평가) 세포 밀도를 0.5 × 10<sup>6</sup>/ml로 유지하였다.

[0218] 성숙한 비만 세포를 스템프로-34 내에서 0.5 × 10<sup>6</sup>/ml로 배양하고 4 일 동안 매일 IL-4(10 ng/ml; 페프로테크(Peprotech)), IL-6(10 ng/ml; R&D 시스템즈), 및 SCF(100 ng/ml; 인비트로젠) 중에 자극하였다. 어세이 전에, 세포를 수확하고, 1,000 RPM에서 10 min 동안 원심분리하고, 항생제 없이 10% FCS를 함유하는 새로 만든 스템프로-34 배지 또는 RPMI에 100 ng/ml의 인간 재조합 SCF와 함께 재현탁하였다. 평바닥의 조직 배양-처리된 96-웰 플레이트에 65,000 내지 75,000 세포/ 0.16 ml/웰의 밀도로 세포를 플레이팅하였다. IL-33의 첨가 전에 30 분 동안 항-ST2L mAb를 50, 10, 2, 0.4, 0.08, 0.016, 0.0032 μg/ml의 최종 농도로 플레이트에 첨가하였다. 재조합 인간 "성숙한" IL-33(서열 번호 3의 잔기 111 내지 270) 또한 배지 + 100 ng/ml SCF 중에 10X(10 또는 30 ng/ml)로 제조하였다. 20 μl의 10X IL-33을 1(도 6 및 7a 내지 7e) 또는 3 ng/ml(도 8a 내지 8e)의 최종 농도로 웰에 첨가하고, 플레이트를 37℃, 5% CO<sub>2</sub>에서 밤새 인큐베이션하였다. 자극 후 18 내지 24 시간에 배양 상등액을 수확하였다. 플레이트를 1,000 RPM에서 10 분 동안 원심분리하였다. 상등액을 제거하고 U 바닥 96 웰 플레이트에 넣어 어세이 전에 -20℃에서 저장하였다. 루미넥스(상표) 기술을 사용하여 사이토카인 수준을 분석하기 위하여 밀리포어로부터의 인간 사이토카인 키트를 사용하였다. 케이맨 케미칼 컴퍼니(Cayman Chemical Company)로부터의 프로스타글란딘 D2-MOX EIA 키트를 사용하여 제조사의 지침에 따라 PGD<sub>2</sub>의 수준을 측정하였다. ELISA의 감도를 증진하기 위하여, 비만 세포 배양 상등액 중의 PGD<sub>2</sub>를 메톡실사민 하이드로클로라이드(MOX-HCl)로 처리함으로써 비-분해성 MOX-PGD<sub>2</sub>(메톡실사민-PGD<sub>2</sub>)로 변환하였다.

[0219] 마우스 수용체-리간드 결합 저해 어세이(마우스 RLB 어세이)

[0220] 96-웰 투명 플레이트(VWR)를 50 μl의 2 μg/ml 염소 항-인간 IgG, Fcγ 단편-특이적(잭슨 이뮤노리서치) 항체로

4℃에서 대략 16 시간 동안 코팅하였다. 나머지 단계들은 실온에서 완료하였다. 차단 완충액과 함께 웰을 인큐베이션하고, 세척하여 인간 Fc에 융합된 마우스 ST2L-ECD(2  $\mu\text{g/ml}$ ) 50  $\mu\text{l}$ 를 1 시간 동안 첨가하였다. 플레이트를 세척하고 항-mST2L 항체가 있거나 없는 1  $\mu\text{g/ml}$ 의 바이오틴화 mIL-33을 첨가하였다. 플레이트를 세척하고 제조자의 지침에 따라 스트렙타비딘-HRP(잭슨 이뮤넨 리서치(Jackson Immune Research))로 검출을 실행하고, TMB 기질(피츠제럴드 인더스트리즈(Fitzgerald Industries)의 RDI 사업부)로 신호를 발생시켰다.

[0221] 마우스 및 인간 리포터 유전자 어세이(인간 또는 마우스 RGA 어세이)

[0222] 백색 투명 바닥의 조직 배양-처리된 96-웰 플레이트(넉(NUNC))에 HEK293 세포를 DMEM(10% FBS) 중에 50,000 세포/웰로 플레이트팅하고, 가습 인큐베이터 내에 37℃, 5% CO<sub>2</sub>에서 24 시간 동안 인큐베이션하였다. 표준 프로토콜을 사용하는 옵티-MEM(Opti-MEM) 배지(인비트로젠) 중의 리포펙타민(Lipofectamine)(상표) 2000을 사용하여 인간 또는 마우스 ST2L-ECD cDNA를 암호화하는 벡터, NF- $\kappa$ B-루시페라아제 벡터(스트라타젠(Stratagene)), 애질런트 테크놀로지스(Agilent Technologies), 캘리포니아주 산타 클라라 소재)로 세포를 공동-형질감염시켰다. 37℃, 5% CO<sub>2</sub>에서 24 시간 인큐베이션 후에, 형질감염된 세포를 항-ST2L 항체의 존재 또는 부재 하에 16 시간 동안 37℃, 5% CO<sub>2</sub>에서 마우스(R&D 시스템즈, 서열 번호 5의 잔기 109 내지 266) 또는 인간 IL-33(서열 번호 3의 잔기 112 내지 270)으로 처리하였다. 스테디-글로(Steady-Glo)(등록상표) 시약(프로메가(Promega))를 사용하여 제조자의 지침에 따라 루시페라아제 활성을 측정하였다.

[0223] 마우스 T-세포 증식 어세이

[0224] 마우스 Th2 세포(D10.G4.1, ATCC)를 하기의 완전 성장 배지에서 배양하였다: 1.5 g/L 소듐 바이카르보네이트, 4.5 g/L 글루코스, 10 mM HEPES, 및 1.0 mM 소듐 피루베이트를 함유하도록 조정되고, 0.05 mM 2-머캅토에탄올, 10 pg/ml IL-1 $\alpha$  & (R&D 시스템즈), 10% 우태아 혈청, Con A(벡톤 디킨슨(Becton Dickinson))으로부터 입수가 가능한 랫트 IL-2 배양 보충제)를 가진 10% 랫트 T-STIM 인자로 보충된, 2 mM L-글루타민을 가진 RPMI 1640 배지. 세포를 어세이 배지(RPMI, 10% FBS, IL-1 없음, T-STIM 없음)로 2회 세척하고, 1.25 $\times 10^5$  세포/ml로 재현탁하고, 백색 투명 바닥의 조직 배양 처리된 96-웰 플레이트(뉴욕주 로체스터 소재의 넉)에 80  $\mu\text{l}$ 의 배지 중에 플레이트팅하였다. 100  $\mu\text{l}$ 의 최종 어세이 부피를 위해 다양한 양의 마우스 IL-33(서열 번호 5의 잔기 109 내지 266)을 세포에 첨가하였다. 항체 중화를 시험하는 경우, 대조군 항체(소진된 하이브리도마 배지에 스파이킹함) 또는 하이브리도마 상등액을 세포에 첨가하고 1 시간 동안 인큐베이션한 후에 20 pg/ml의 mIL-33을 첨가하였다. 가습 인큐베이터 내에 37 C, 5% CO<sub>2</sub>에서 24 시간 동안 플레이트를 배양하였다. 셀타이터-글로(CellTiter-Glo)(등록상표) 시약(위스콘신주 매디슨 소재의 프로메가)으로 생존 세포의 정량화를 달성하였으며; 제조자의 지침에 따라 프로토콜을 수행하였다.

[0225] 마우스 골수 유래 비만 세포 어세이

[0226] 마우스 비만 세포는 Balb/c 마우스(6 주)의 골수로부터 유래되었다. RPMI 배지(무 내독소), 10% FBS, 10% WEHI 세포주-조건화 배지, 10 ng/ml IL-3(페프로테크), 0.1 mM 필수 아미노산, 1% 페니실린/스트렙토마이신(인비트로젠) 중에 300,000 세포/웰로 세포를 플레이트팅하였다. 제조함 마우스 "성숙한" IL-33(서열 번호 215의 잔기 109 내지 266 (10 ng/ml; R&D 시스템즈))을 첨가하기 전에 항-ST2L mAb(100, 10, 1, 0.1, 또는 0.01  $\mu\text{g/ml}$ )를 세포와 함께 1 시간 동안 인큐베이션하였다. 대략 24 h 후에 상등액을 수확하고 제조자의 지침에 따라 루미넥스(상표)를 위한 밀리포어 마우스 22-플렉스 키트(Millipore Mouse 22-plex kit)를 사용하여 분석할 때까지 냉동하였다.

[0227] 시노 내피 세포 어세이

[0228] EGM(등록상표)-2 내피 세포 성장 배지-2(론자)에서 배양한 시노물구스 대동맥 내피 세포를 96-웰 조직 배양 플레이트에 10,000 또는 20,000 세포/웰로 플레이트팅하였다. 100  $\mu\text{g/ml}$ 에서 시작하여 후속의 4- 또는 5-배 희석으로 50  $\mu\text{l}$ 의 항-ST2L 항체를 세포에 첨가하고 37℃에서 1 시간 동안 인큐베이션한 후에 제조함 시노 '성숙한' IL-33(서열 번호 4)을 첨가하였다. 이어서, 50 마이크로리터의 20 ng/ml 시노물구스 IL-33을 세포에 첨가하고 37℃에서 24 시간 동안 인큐베이션하였다. IL-33-유도 사이토카인 반응을 평가하기 위하여, 상등액을 수확하고 제조자의 지침에 따라 루미넥스(상표)를 위한 비-인간 영장류 IL-8 키트(밀리포어)에 의해 사이토카인 수준을 평가하였다.

[0229] 마우스 복막 세척 어세이



[0230] 6 마리의 Balb/c 마우스의 복막을 총 3 ml의 PBS로 세척하여 복막 세포를 수집하였다. B220 및 F4/80 발현 (FACS 분석)에 의해 결정된 바와 같이, 이들 세포의 대다수는 림프구 및 대식세포인 것으로 확인되었다. 대략 1%는 cKit<sup>+</sup>(CD117<sup>+</sup>) 미만 세포였다. 세포를 원심분리하고 펠렛을 알파 MEM 배지 + 10% FBS + 100 U/ml 페니실린 + 100 µg/ml 스트렙토마이신(인비트로젠) 중에  $1 \times 10^6$  세포/ml로 재현탁하였다. 세포를 96-웰 플레이트에 200 µl/웰로 플레이트하고 37°C에서 2 h 동안 그대로 두었다. 10 ng/ml 마우스 "성숙한" IL-33(R&D 시스템즈; 서열 번호 215의 잔기 109 내지 266)을 첨가하기 전에 항-ST2L mAb를 세포에 30 분 동안 첨가하였다. IL-33 첨가 후 24 h에 상등액을 수집하고, 분석할 때까지 -20°C에서 저장하고, 제조자의 지침에 따라 루미넥스(상표)를 위한 밀리포어 마우스 22-플렉스 키트를 사용하여 분석하였다.

[0231] 실시예 1. 랫트 항-마우스 ST2L 항체의 생성

[0232] 랫트를 마우스 ST2-Fc(R&D 시스템즈(서열 번호 5의 Ser27 내지 Ser342)로 복강내 면역화하고 특이적 IgG 타이터에 대해 평가하였다. 일단 충분한 타이터가 얻어지면, 비장 세포를 단리하고 FO 세포와 융합시켰다. 생성되는 하이브리도마를 96 웰 플레이트 또는 메틸셀룰로오스에 플레이트하고 10 일 동안 배양하였다. 표준 포획 ELISA에 의해 항원 특이적 클론을 mST2-Fc에 대한 결합에 대해 동정하고 Fc 단백질 단독에 대해 교차 스크리닝(cross screening)하였다. 쥐와 ST2-특이적 하이브리도마를, ELISA에서 ST2에 대한 IL-33 결합의 저해에 대해, 그리고 IL-33-유도 D10.G4.1 마우스 Th2 세포 증식의 저해에 대해 추가로 시험하였다. 수용체-리간드 결합 및 세포-기반 증식 어세이 양자 모두에서 중화를 나타내는 하이브리도마를 한계 희석에 의해 클론 선택하였다. 하이브리도마 V-영역을 서열 분석하고 마우스 IgG1 배경에 클로닝하였다. 다양한 인간-마우스 도메인-스왑 작제물을 사용하는 전기화학발광 검출을 동반하는 표준 면역흡착 어세이에 의해 ST2L-ECD 도메인 특이성을 고찰하였다.

[0233] 하이브리도마 C1999에 의해 분비된 항체를 마우스 IgG1 배경에 클로닝하고 CNT03914라고 명명하였다. CNT03914 가변 영역 및 CDR의 서열을 표 2에 나타낸다. CNT03914는 인간 ST2L과 교차-반응하지 않으며 마우스 ST2L-ECD의 도메인 I에 결합한다.

[0234] [표 2]

mAb 명칭	HCDR1		HCDR2		HCDR3	
	서열	서열 번호:	서열	서열 번호:	서열	서열 번호:
C1999/ CNT03914	HYGMA	13	SIITDGTSTYYRDSVKG	14	QSDDYFDY	15

mAb 명칭	LCDR1		LCDR2		LCDR3	
	서열	서열 번호:	서열	서열 번호:	서열	서열 번호:
C1999/ CNT03914	KSSQSLEYSDGDSYLE	16	GVSNRFS	17	FQATHDPFT	18

mAb 명칭	VH 서열	서열 번호:
	EVQLVESGGGLQPGKSLKISCTASGFHSHYGMWVRQAPTKGLEWV SSITDGTSTYYRDSVKGRFTISRDNKNTQYLMDSLRSEDTATYYCAR QSDDYFDYWGGQGMVTVSS	19
C1999/ CNT03914	VL 서열	서열 번호:
	DVVLITQTPVSLSVTLGDAQSISCKSSQSLEYSDGDSYLEWYLPKPGQSP QLLIYGVSNRFSGVPRDFIGSGSDFTLTKISRVEPEDLGYYCFQATHDP FTFGSGTKLEIK	20

[0235]

[0236] 실시예 2. 마우스 항-인간 ST2L 항체의 생성

[0237] 마우스 항-인간 ST2 mAb의 생성을 위해 2가지의 상이한 면역화를 수행하였다.

[0238] 가용성 ST2-Fc(R&D 시스템즈, 서열 번호 157)로 BALB/c를 복강내 면역화하고 특이적 IgG 타이터에 대해 평가하였다. 일단 충분한 타이터가 얻어지면, 비장 세포를 단리하고 FO 세포와 융합시켰다. 생성되는 하이브리도마를 96 웰 플레이트에 플레이트하고 10 일 동안 배양하였다. 표준 포획 ELISA에 의해 C-말단 His<sub>6</sub>-태깅된 huST2L-ECD에 대한 결합 및 His<sub>6</sub>-태깅된 시노 ST2L-ECD에 대한 교차-반응성에 대해 항원 특이적 클론을 동정하였다. 시노 ST2L과 교차 반응하는 인간 ST2L-특이적 하이브리도마를, ELISA 어세이에서 huST2L에 대한 IL-33 결합의 저해에 대해, 그리고 리포터 유전자 어세이에서 NF-κB 활성화의 저해에 대해 추가로 시험하였다. 리포

터 유전자 어세이에서 저해하는 클론, 또는 ELISA 및 리포터 유전자 어세이 양자 모두에서 저해하는 클론을 추가의 연구를 위해 선택하였다.

[0239] 하이브리도마 C2494, C2519A, 및 C2521A로부터의 항체를 추가의 분석을 위해 선택하였다. C2519A 및 C2521A는 도메인 III에서 인간 ST2L에 결합하고, C2494는 도메인 I에서 인간 ST2L에 결합한다. 항체 C2494를 인간 IgG2 배경에 클로닝하고, 전체 길이 항체를 STLM62라고 명명하였다.

[0240] 항-인간 ST2L mAb는 게노백 GmbH(Genovac GmbH)에서 전체 길이 ST2L 작제물을 사용하고 인간 ST2L-ECD를 발현 시키도록 형질감염된 세포로 부스팅하는 전매 DNA 번역화 기술에 의해 생성되었다. 인간 ST2L-ECD에 대한 결합에 대해 유세포 분석으로 하이브리도마를 스크리닝하였다. 이 어세이에서 결합을 나타낸 클론들은 hST2L-ECD에 결합하는 것으로 입증되었으며, 표준 포획 ELISA에 의해 시노 ST2L-ECD에 대한 결합에 대해 추가로 특성화되었다. 선택된 클론을 수용체-리간드 결합 저해 ELISA 및 리포터 유전자 어세이에서 특성화하였다. 리포터 유전자 어세이에서 저해하는 클론, 또는 ELISA 및 리포터 유전자 어세이 양자 모두에서 저해하는 클론을 추가의 연구를 위해 선택하였다.

[0241] 추가의 분석을 위해 게노백 하이브리도마 C2244로부터의 항체를 선택하고 인간 IgG2 배경에 클로닝하였다. 전체 길이 항체를 STLM15라고 명명하였다. STLM15는 도메인 I에서 인간 ST2L에 결합한다.

[0242] 마우스 항-인간 항체의 VH, VL, 및 CDR 도메인의 서열을 표 3에 나타낸다.

[0243] [표 3]

mAb 명칭	HCDR1		HCDR2		HCDR3	
	서열	서열 번호:	서열	서열 번호:	서열	서열 번호:
C2519A	DYNMN	21	NINPYGSTTYNQKFKG	25	EGDTYLAWFAY	29
C2521A	TYWMN	22	QIFPASGSTYNNMFKD	26	SENYYINFYQYFAY	30
C2244/ STLM15	SDYAWN	23	FISYSGDTSFNPCLKS	27	YDGYSFY	31
C2494/ STLM62	DDYMH	24	RIDPAIGNTEYAPKFQD	28	GDFYAMDY	32

mAb 명칭	LCDR1		LCDR2		LCDR3	
	서열	서열 번호:	서열	서열 번호:	서열	서열 번호:
C2519A	RSSQSIVYNGNTYLE	33	KVSNRFS	37	FQGSHPPT	41
C2521A	RASQNIQTRMH	34	YASESIS	38	QQSNTWPFT	42
C2244/ STLM15	RASKSVTSGSYYMF	35	LASNLES	39	QHSREIPYT	43
C2494/ STLM62	ITNTDIDDVH	36	EGNTLRP	40	LQSDNMLT	44

mAb	VH 서열	서열 번호:
C2519A	EFQLQQSGPELVKPGASVKISCKA5GYSFTDYNMNVVKQSHGKSLWIGNINPYGSTTYNQKFKGKATLVDSNTAYMHNLSTSDSAVYYCARREGDTYLAWFAYWGQGLTLTVSA	45
C2521A	QIQLQQSGPELVKPGTSVKISCKASGYTFITYWMNVVKQRPQGGLWIGQIFPASGSTYNNMFKDQKATLVDTSSSTAYMQLSLSLSEDTAVYFCARSENYYINFYQYFAYWGQGLTLTVSS	46
C2244/ STLM15	EVQLQESGPELVKPSQSLTCTVTFGSITSDYAWNVRQFPGSKLEWMGFISYSGDTSFNPCLKSRISVTRDTSKNQFFLQLNSVTEDATATYCASDGYSDYWGQGLTLTVSS	47
C2494/ STLM62	EVQLQQSVAELVRPGASVKLSCTASAFNKKDDYMHNVVKQRPEQGLWIGRIDPAIGNTEYAPKFQDKATMTADTSSNTAYLQSSLSLSEDTAVYYCARLGDYAMDYWGQGLTSTVSS	48

mAb	VL 서열	서열 번호:
C2519A	DVLMITQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSIVYNGNTYLEWYLQKPGQSPKLLIYKYSNRFSGVPRFSGSGSGDFTFLKISRVEAEDLGYYVCQGSHPVPTFGGGTKLEIK	49
C2521A	ILLTQSPAILSVSPGERVSFSCRASQNIQTRMHWWYQRTNGSPRLIKYASESISGIPSRFSGSGSGDFTFLTISSVESEDIADYYCQQSNTWPFTFGSGTKLEIK	50
C2244/ STLM15	DIVLTQSPASLAISLGRATISCRASKSVTSGSYMFVYQKPGQPPKLLIYLASNLESQVPRFSGSGSGDFTFLIHVPVEEDAAAYCYQHSREIPYTFGGGKLEIK	51
C2494/ STLM62	ETITVQSPASLSVATGEKVTIRCTNTDIDDVHWWYQKPGEPKLLISEGNTLRPGVPSRFSSSGYGTDFVFTIENTLSEDAVDYVCLQSDNMLTFGAGTKLEIK	52

[0244]

[0245] 실시예 3. 완전 인간 ST2L 항체의 생성

[0246] 문헌[Shi et al., J Mol Biol 397:385-96, 2010]; 국제 특허 공개 제W02009/085462호; 미국 특허 공개 제US2010/0021477호에 기재된 바와 같이 신생 pIX 파아지 디스플레이 라이브러리로부터 인간 ST2L-결합 Fab를 선택하였다. 약술하면, 생식세포 VH 유전자 IGHV1-69\*01, IGHV3-23\*01, 및 IGHV5-51\*01이 H3 루프를 통해 인간 IGHJ-4 미니 유전자와 재조합되고, 인간 생식세포 VL카파 유전자 012(IGKV1-39\*01), L6(IGKV3-11\*01), A27(IGKV3-20\*01), 및 B3(IGKV4-1\*01)이 IGKJ-1 미니 유전자와 재조합되어 완전한 VH 및 VL 도메인으로 조립된

인간 스캐폴드를 다양화함으로써 라이브러리를 생성시켰다. 단백질 및 펩티드 항원과 빈번하게 접촉되는 것으로 동정된 위치에 상응하는 H1, H2, L1, L2, 및 L3 루프 주변의 중쇄 및 경쇄 가변 영역 내의 위치를 다양화를 위해 선택하였다. 선택된 위치에서의 서열 다양성은 각각의 IGHV 또는 IGLV 유전자의 IGHV 또는 IGLV 생식세포 유전자 패밀리에 내의 각각의 위치에 나타나는 잔기로 제한되었다. 길이가 7 내지 14개 아미노산인 짧은 크기 내지 중간 크기의 합성 루프를 이용함으로써 H3 루프에서의 다양성을 생성시켰다. H3에서의 아미노산 분포는 인간 항체 내의 아미노산의 관찰된 변이를 모방하도록 설계되었다. 라이브러리 설계는 문헌[Shi et al., J Mol Biol 397:385-96, 2010]에 상술되어 있다. 라이브러리를 생성시키기 위해 이용된 스캐폴드는 그들의 인간 VH 및 VL 생식세포 유전자 기원에 따라 명명하였다. 3개의 중쇄 라이브러리를 4개의 생식세포 경쇄 또는 생식세포 경쇄 라이브러리와 조합하여 스크리닝을 위한 24개의 고유한 VH:VL 조합을 생성시켰다. 24개의 VH:VL 라이브러리 조합 모두를 huST2L-ECD-Fc에 대한 파아지 패닝 실험에 이용하였다.

[0247] huST2L-ECD(서열 번호 1의 잔기 19 내지 328)의 Fc 융합체를 사용하여 라이브러리를 패닝하였다. 2가지의 상이한 포맷(용액 중의 항원(Ag) 및 디스플레이된 Ag)으로 패닝을 실행하였다. 용액 중의 Ag의 경우에는 스트렙타비딘-코팅된 자기 비드를 PBS 중에 3% 탈지 분유로 차단하였다. 바이오틴화(Bt) 항원 huST2L-ECD 인간 Fc 융합체(Bt-huST2L-ECD-Fc)(10x 더 높은 농도의 인간 Fc 단백질을 경쟁자로서 가짐)를 Fab-pIX 파아지 라이브러리와 혼합하였다. Bt-huST2L-ECD-Fc에 결합된 Fab-pIX 파아지를 차단된 스트렙타비딘(SA)-코팅된 자기 비드 상에 포획하였다. huST2L-ECD-Fc 농도가 라운드 1로부터 라운드 3까지 각각 100 nM로부터, 10 nM, 10 nM로 변동되는 3개의 라운드 동안 파아지 선택을 수행하였다. Ag 디스플레이의 경우에는 Bt-huST2L-ECD-Fc를 SA 코팅된 자기 비드 상에 코팅하였다. Bt-huST2L-ECD-Fc가 디스플레이된 SA- 자기 비드에 Fab-pIX 파아지 라이브러리 + 10x 과량의 인간 Fc 단백질을 동시에 첨가하였다. 사용된 Bt-Ag 농도는 라운드 1 내지 3에 대해 각각 100nM, 10nM, 10nM이었다. huST2L-ECD-Fc 단백질에 대한 Fab 결합에 대한 ELISA에 의해 양자 모두의 패닝 포맷에 대해 스크리닝을 실행하였다. 이들 선택으로부터 huST2L-Fc에 결합된 총 79개의 Fab가 단리되었다. 순위화 ELISA에 의해 Fab HuT2SU-39가 전체적으로 최상의 결합 활성을 갖는 것으로 결정되었다.

[0248] 79개의 Fab에 ELISA 기반의 IL-33 결합 저해 어세이를 수행하였다. 총 32개의 Fab가 huST2L-ECD-Fc에 대한 IL-33 결합의 저해를 나타냈다. pIX 신생 캠페인으로부터 46개의 Fab가 친화력 성숙을 위해 선택되었다.

[0249] 실시예 4. 완전 인간 ST2L 항체의 친화력-성숙

[0250] 문헌[Shi et al., J Mol Biol 397:385-96, 2010] 및 제W009085462A1호에 기재된 "인-라인" 성숙 과정을 사용하여, 선택된 항체를 친화력-성숙시켰다. 이 기술에서는, 최초 선택에서 얻어진 Fab 클론의 VH 영역을 상응하는 VL 스캐폴드의 라이브러리와 조합하였다. 실시예 3에서 동정된 46개 Fab로부터의 모든 VH 유전자를 그들의 원래의 VL 유전자 패밀리에 따른 풀(pool)로서 적절한 VL 성숙 라이브러리에 클로닝하였다. 사용된 VL 스캐폴드 라이브러리 및 그들의 다양화 스킴을 표 4에 나타낸다. 인간 VL 스캐폴드는, IGKV1-39\*01(O12), IGKV3-11(L6), IGKV3-20(A27), IGKV4-1\*01(B3)이며, 예를 들어 미국 특허 공개 제US2012/0108795호에 기재되어 있다. 친화력 성숙 패닝을 위하여, 파아지 라이브러리를 먼저 Bt-huST2-ECD-Fc에 첨가하였다. 인큐베이션 후에 성숙 라이브러리 파아지/Bt-huST2L-ECD-Fc 복합체를 SA-코팅된 자기 비드에 첨가하였다. Bt-huST2-Fc 농도를 각각 R1로부터 R3까지 10 nM, 1 nM, 및 0.1 nM로 변동시켰다. 10 nM의 표지되지 않은 huST2L-ECD-Fc의 존재 하에 실온에서 밤새 라운드 3의 최종 세척을 수행하여 친화력 개선을 추가로 추진하였다.

[0251] [표 4]

루프	위치 (카바트)	상이한 스캐폴드를 위한 VL 라이브러리 다양화 스킴			
		A27	B3	L6	O12
L1	30	SRNTD	RNDGHSY	SRNAD	SRNAD
	30a	SNR	RNDGHWY	-	
	30e		RNDGHSY	-	
	31	SNRADH	RNDGHWY	NSKD	SNKDG
	32	YFHQSEK	YNWR	YWDFHSAN	YHNDWFSAV
L2	50	ADGS	YWNK	ADKGYFTN	FYTNKADG
L3	91	YSHA	SYWH	RYSGF	SAYHPD
	92	YNDSHIFKG	SYGN	RHNSL	FIYHNDKGRE
	93	SNTDGHR	STER	NDKR	STHNDRG
	94	TYLVFAS	WYSH	WA	TYLVFSRGPI
	96	WYFLIR	YRWH	WYFLIR	LWRFYIN

[0252]

[0253] 성숙 패닝으로부터 총 161개 서열의 고유한 Fab가 얻어졌다. 추가의 특성화를 위하여, huST2L-ECD에 대한 최고

[0254] 추가의 특성화를 위해 Mab ST2M48, ST2M49, ST2M50, 및 ST2M51을 선택하였으며, 그들의 VH, VL, 및 CDR 서열은 표 5에 나타난다. Mab ST2M48, ST2M49, ST2M50, 및 ST2M51은 도메인 III에서 인간 ST2L에 결합하며, 마우스 ST2L과 교차-반응한다.

[0255] [표 5]

mAb ID	HC ID	HCDR1		HCDR2		HCDR3	
		서열	서열 번호:	서열	서열 번호:	서열	서열 번호:
ST2M48	STLH125	TSYWG	53	GHYPGDSYTRYSPSFQGG	55	LSGRFDY	57
ST2M49	STLH149	TSYWG	53	GHYPGDSYTRYSPSFQGG	55	HGGMFQY	58
ST2M50	STLH125	TSYWG	53	GHYPGDSYTRYSPSFQGG	55	LSGRFDY	57
ST2M51	STLH130	SSYAI	54	GHIFIFTANYAQKFGG	56	DTPQLDY	59

mAb ID	LC ID	LCDR1		LCDR2		LCDR3	
		서열	서열 번호:	서열	서열 번호:	서열	서열 번호:
ST2M48	STLL232	RASQSVRDALA	60	FASNRAT	64	QQFNTPWT	67
ST2M49	STLL216	RASQSVANALA	61	KASNRAT	65	QQYGGWPT	68
ST2M50	STLL228	RASQSVNALA	62	FASNRAT	64	QQFFNWPT	69
ST2M51	TCIL3	RASQSSSYLN	63	YASSLOS	66	QQSYSTPLT	70

mAb 명칭	VH 서열	서열 번호:
ST2M48	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSTSYWGWVRQMPGKGLWWM GHYPGDSYTRYSPSFQGGVTSADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARLS GMFDYWGQGLTVTVSS	71
ST2M49	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSTSYWGWVRQMPGKGLWWM GHYPGDSYTRYSPSFQGGVTSADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARIG GMFDYWGQGLTVTVSS	72
ST2M50	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGDTFSSYAIWVRQAPGQGLEW MGGHIFIFTANYAQKFGGRVTITADESTAYMELSLRSEDTAVYYCAR YNFFFDYWGQGLTVTVSS	71
ST2M51	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGDTFSSYAIWVRQAPGQGLEW MGGHIFIFTANYAQKFGGRVTITADESTAYMELSLRSEDTAVYYCAR DTPQLDYWGQGLTVTVSS	73

mAb Name	VL Sequence	SEQ ID NO:
ST2M48	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVRDALAWYQKPGQAPRLIYFA SNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTSSLEPEDFAVYYCQQFNTPWTFGQGT KVEIK	74
ST2M49	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVANALAWYQKPGQAPRLIYKA SNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTSSLEPEDFAVYYCQYGGWPTFGQGT KVEIK	75
ST2M50	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVDDALAWYQKPGQAPRLIYK ASNRTGIPARFSGSGSGTDFTLTSSLEPEDFAVYYCQYNRPAPWTFGQ GTKVEIK	76
ST2M51	DIQMTQSPSSLSASVGDIVTITCRASQSSSYLNWYQKPGKAPKLLIYYA SSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTSSLPQEDFAVYYCQSYSTPLTFGQGTK VEIK	77

[0256]

[0257] 실시예 5. 항-ST2L 항체의 특성화.

[0258] 상기와 같이 다양한 캠페인으로부터 유래된 항체를, IL-33/ST2L 상호작용을 차단하는 그들의 능력에 대해, NF-kB 리포터 유전자 어세이에 의해 측정되는 그들의 IL-33-유도 신호전달의 저해에 대해, 비만 세포 반응을 저해하는 항체의 능력에 대해, 인간 및 시노 ST2L에 대한 그들의 친화력에 대해, 그리고 마우스 ST2L과의 교차-반응성에 대해 추가로 특성화하였다. 재료 및 방법에 기재된 바와 같이 인간/마우스 ST2L 도메인 스왑 키메라 작제물을 사용하여 에피토프 맵핑을 실행하였다. 실험 결과는 표 6, 7, 및 8에 나타난다. 표 7 및 8에서, "+"는 항체가 IL-33/ST2L 상호작용을 차단함을 표시하고, "-"는 그것이 IL-33/ST2L 상호작용을 차단하지 않음을 표시한다. 인간에 대한 교차-반응성의 결여로 인해 마우스 세포 및 시약을 사용하여 CNT03914를 이용한 실험을 실행하였다. 다른 모든 항체에 대한 어세이에서는 인간 세포 및 인간 시약을 사용하였다.

[0259] 특성화된 항체를 IL-33/ST2L 상호작용을 차단하는 것들(mAb STLM15, STLM62, 및 CNT03914), 및 IL-33/ST2L 상호작용을 차단하지 않는 것들(mAb C2519, C2521, ST2M48, ST2M49, ST2M50, 및 ST2M51)로 분류하였다. IL-33/ST2L 상호작용을 차단하는 항체는 ST2L 도메인 I에 결합하는 반면에, 비-차단 항체는 ST2L 도메인 III에 결합한다. NF-kB 리포터 유전자 어세이 및 KU812 인간 호염기구 세포주에 의한 IL-33-유도 사이토카인 방출에 의해 평가된 바와 같이, 또는 CNT03914의 경우에 마우스 Th2 세포 증식에 의해 평가된 바와 같이, 시험 항체는 ST2L 다운스트림 신호전달을 저해하였다. 사이토카인 및 케모카인 분비에 의해 평가된 바와 같이, ST2L 도메인 I에 결합하는 항체는, ST2L 도메인 III에 결합하는 항-ST2L 항체에 비교할 때, 더 높은 수준에서 인간 비만 세포 반응을 저해하였다. 마우스 ST2L 도메인 I에 결합하고 인간과 교차-반응하지 않는 CNT03914 또한 IL-33-유도 마우스 비만 세포 반응을 저해할 수 있었다.



[0260] [표 6]

mAb	상용하는 하이브리도마	인간 ST2L에 대한 친화력			시노 ST2L에 대한 친화력		
		$k_{on}$ ( $M^{-1}s^{-1}$ )	$k_{off}$ ( $s^{-1}$ )	$K_D$ ( $\mu M$ )	$k_{on}$ ( $M^{-1}s^{-1}$ )	$k_{off}$ ( $s^{-1}$ )	$K_D$ ( $\mu M$ )
STLM15	C2244	1.02E+06	4.25E-05	42	4.81E+06	5.30E-05	11
STLM62	C2494	4.26E+06	1.19E-04	28	4.51E+07	5.39E-04	12
na	C2519	4.83E+05	8.70E-05	180	7.14E+04	3.20E-03	44800
na	C2521	6.18E+05	4.90E-05	79	4.47E+05	1.66E-03	3710
ST2M48	na	1.32E+06	7.33E-05	56	1.03E+07	2.65E-03	257
ST2M49	na	1.59E+06	1.61E-04	101	4.66E+07	1.24E-02	266
ST2M50	na	1.15E+06	5.10E-05	45	2.01E+07	2.49E-03	124
ST2M51	na	1.29E+06	4.87E-05	38	4.42E+07	3.36E-03	76

[0261]

[0262] [표 7]

mAb	상용하는 하이브리도마	RLB*	RGA <sup>#</sup>	호염기구 사이토카인 방출	비만 세포 사이토카인 방출	ST2L 에피토프
STLM15	C2244	+	+	+	+	hD1
STLM62	C2494	+	+	+	+	hD1
	C2519	-	+	+	-	hD3
	C2521	-	+	+	-	hD3
ST2M48	NA	-	+	nt	-	h/mD3
ST2M49	NA	-	+	nt	-	h/mD3
ST2M50	NA	-	+	nt	-	h/mD3
ST2M51	NA	-	+	nt	-	h/mD3

\* 수용체-리간드 결합 저해  
# 리포터 유전자 어셈블리  
hD1 = 인간 ST2L D1 도메인  
mD1 = 마우스 ST2L D1 도메인  
hD3 = 인간 ST2L D3 도메인  
h/mD3 = 인간 및 마우스 ST2L D1 및 D3 도메인  
nt = 시험하지 않음

[0263]

[0264] [표 8]

mAb	상용하는 하이브리도마	RLB*	RGA <sup>#</sup>	T-세포 증식	복막 세포 세척	비만 세포 사이토카인 방출**	ST2L 에피토프
CNT03914	C1999	+	+	+	+	+	mD1

\* 수용체 - 리간드 결합 저해  
# 리포터 유전자 어셈블리  
\*\* 골수 유래

[0265]

[0266] 실시예 7. ST2L 도메인 I 결합 항체 CNT03914는 비강내 IL-33-유도 기도 과민성(AHR), 기도 염증, 및 마우스 비만 세포 반응을 저해한다.

[0267] 2  $\mu g$ /마우스 "성숙한" IL-33(R&D 시스템즈)(서열 번호 215의 잔기 109 내지 266)의 연이은 4회 일일 비강내 용량을 자성 BALB/c 마우스에 투여하였다. 최초 IL-33 비강내 투여 24 h 전에 예방적으로 항-마우스 ST2L 항체 CNT03914를 20 mg/kg(또는 2 mg/kg 또는 0.2 mg/kg)으로 피하 투여하였다. 대조군 마우스는 최초 IL-33 비강내 투여 24 h 전에 동형 대조군 CNT05516 또는 PBS를 투여 받았다. 플렉시벤트(Flexivent) 시스템(캐나다 퀘벡주 몬트리올 소재의 사이레크(Scireq))으로 강제 조작(forced maneuver)을 사용하여 증가하는 용량의 메타콜린에 대한 기도 과민성(AHR)을 측정하였다. 기도 과민성(AHR)의 측정을 위하여, 100 mg/kg의 펜토바르비탈 및 13 mg/kg의 페니토인으로 마우스를 마취시키고 기관을 절개한 후 플렉시벤트에 연결하였다. 기준선 판독을 위하여 마우스를 식염수로 분무한 후에 2개 용량(10 및 20 mg/mL)의 메타콜린으로 분무하였다. 식염수 및 각각의 용량의 메타콜린에 대해, "스냅샷" 섭동을 사용하여 대략 2 분 동안 저항(R) 값을 수집하였다. 0.9 초과의 COD(결정 계수(coefficient of determination))를 가진 값들만 사용하여 피크 저항을 계산하였다.

- [0268] 별도의 군의 마우스를 치료하고 폐에서의 세포 반응에 대해 분석하였다. 최종 mIL-33 동형 또는 PBS 투여 후 24 시간에 슬립어웨이(Sleepaway)(등록상표) I.P.의 과잉 투여에 의해 마우스를 희생시켰다. 0.1% BSA를 가진 0.7 ml의 차가운 PBS로 마우스의 폐를 세척하였다. 생성되는 세기관지 폐포(BAL) 유체를 1200 rpm에서 10 분 동안 원심분리하고 사이토카인/케모카인을 분석할 때까지 세포가 없는 상등액을 -80℃에 보관하였다. 혈구 계수기를 사용하는 총 계수에 BAL 샘플을 사용하였다. 차별적인 BAL 계수의 경우, 광학 현미경 하에서 라이트-김사(wright giemsa)로 염색한 후 사이토스핀 스미어(cytospin smear)로부터 약 200개의 세포를 계수하였다.
- [0269] 세포가 없는 상등액을 수집하고 루미넥스 단백질 분석에 사용할 때까지 -80℃에 저장하였다. 폐 조직을 제거한 후, 충분히 관류될 때까지 5 ml의 차가운 멸균 PBS를 사용하여 우심실을 통해 관류하였다. 이어서, 1 ml의 PBS + 프로테아제 저해제를 함유하는 패스트 프랩(Fast Prep)(등록상표) 튜브에 폐엽을 넣고 사이토카인/케모카인 프로파일링을 위해 -80℃에서 냉동시켜 저장하였다. 쥐과 밀리포어 22-플렉스에 대한 제조자의 프로토콜에 따라 사이토카인/케모카인 멀티플렉스 어세이를 수행하였다. BAL 유체 내의 마우스 비만 세포 프로테아제-1(mMCP-1)을 ELISA(모어던 사이언티픽(Moredun Scientific))에 의해 분석하였다.
- [0270] 기도 과민성
- [0271] 비강내 투여된 IL-33에 의해 유도된 폐 염증의 모델에서 CNT03914는 기도 과민성을 유의적으로 저해하였다(도 1). CNT03914는, 2 µg/마우스 mIL-33의 연이은 4회 일일 비강내 투여 전 24 hr에 피하 투여하였다. 플렉시벤트에 의해 결정된 피크 기도 저항을 20 mg/kg의 CNT03914 용량으로 유의적으로 감소시켰다. 각각의 막대는 3 마리(CNT05516, 동형 대조군 항체) 내지 6 마리 마우스/군의 평균 ± SEM을 나타낸다. 결과는 2회의 별도의 연구에서 반복되었다. 본페로니 사후 검정(Bonferroni post test)을 동반하는 2-원 ANOVA를 사용하여 유의성을 결정하였으며, CNT03914/IL-33 \*\*p<0.05(CNT05516/IL-33에 대해); 및 \*\*\*p<0.001(IL-33을 가진 PBS 처리군에 대해)이었다.
- [0272] 기도 염증
- [0273] 사용된 모델에서 CNT03914는 기관지 폐포 세척(BAL) 세포 동원을 유의적으로 저해하였다(도 2). CNT03914는, 2 mg/마우스 mIL-33의 연이은 4회 일일 비강내 투여 전 24 hr에 피하 투여하였다. BAL 백혈구는 IL-33 투여에 따라 유의적으로 증가하였으며 20 mg/kg의 CNT03914에 의해 유의적으로 저해되었다. 각각의 막대는 3 마리(CNT05516, 동형 대조군 항체) 내지 6 마리 마우스/군의 평균 ± SEM을 나타낸다. 결과는 2회의 별도의 연구에서 반복되었다. 본페로니 사후 검정을 동반하는 2-원 ANOVA를 사용하여 유의성을 결정하였으며, \*\*\*p<0.001이었다.
- [0274] 생체내 비만 세포 반응
- [0275] 비만 세포는 트립타아제 및 카이마제를 포함하는 프로테아제를 그들의 과립 내에 저장하며, 이는 비만 세포 활성화시에 신속하게 방출된다. 마우스 비만 세포 프로테아제 1(mMCP-1)는 활성화된 비만 세포에 의해 방출되는 b 카이마제이며 기생충 감염의 구제에 중요한 것으로 공지되어 있다(문헌[Knight et al., J Exp Med 192:1849-56, 2000]; 문헌[Huntley et al., Parasite Immunol 12:85-95, 1990]). mMCP-1의 측정을 비만 세포 활성화의 표지자로 사용할 수 있으며, 기도 염증: 집먼지 진드기의 비만 세포-의존성 모델에서 유도되는 것으로 나타났다(문헌[Yu and Chen, J Immunol 171:3808-15, 2003]). ELISA(모어던 사이언티픽)에 의해 결정된 mMCP-1은 IL-33 투여 마우스로부터의 BAL 유체에서 유의적으로 증가하였으며, CNT03914에 의해 용량-의존적으로 저해되었다(도 3). 터키 사후 검정을 동반하는 1-원 ANOVA를 사용하여 유의성을 결정하였으며, IL-33 처리에 대해 \*\*p<0.01, \*\*\*p<0.001이었다.
- [0276] 실시예 8. 항-ST2L 도메인 I 결합 항체는 시험관내에서 비만 세포 반응을 저해한다
- [0277] 마우스 및 인간 비만 세포에 의한 케모카인 및 사이토카인의 방출과 더불어, 인간 비만 세포에서의 프로스타글란딘 D<sub>2</sub>의 방출에 의해 비만 세포 반응을 평가하였다.
- [0278] 항-ST2L 도메인 I 결합 항체 CNT03914는 마우스 골수-유래 비만 세포에 의한 GM-CSF(도 4a), IL-5(도 4b), 및 TNF α(도 4c)를 포함하는 IL-33-유도 사이토카인 방출을 저해하였다.
- [0279] 항-인간 ST2L 도메인 I 결합 mAb C2494(STLM62)는, 항체 농도 2, 10, 및 50 µg/ml에서 3 ng/ml IL-33에 의해 유도된 인간 제대혈-유래 비만 세포에 의한 IL-33-유도 PGD<sub>2</sub> 방출을 저해하였다(도 5).
- [0280] 항-ST2L 도메인 I 결합 항체 C2494 및 C2244는, 항체 농도 50 µg/ml, 10 µg/ml, 및 2 µg/ml에서 인간 제대혈-

유래 비만 세포에 의한 IL-33-유도 GM-CSF, IL-5, IL-8, IL-13, 및 IL-10 방출을 저해하였다(도 6 및 8a 내지 8e). 저해의 정도는 측정된 사이토카인/케모카인, 시험한 항체 및 항체 농도, 및 사용된 배지에 따라 달라졌다. 계산된 평균 퍼센트(%) 저해는 항체 농도 2  $\mu\text{g/ml}$ 에서 수행된 모든 어세이에서 50.6 내지 100%였고, 50  $\mu\text{g/ml}$ 의 항체 농도에서는 62 내지 100%였다(도 9).

[0281] 항-ST2L 도메인 III-결합 항체 C2521, C2519, ST2M48, ST2M49, ST2M50, 및 ST2M51은, 항체 농도 50  $\mu\text{g/ml}$  및 10  $\mu\text{g/ml}$ 에서 비만 세포에 의한 IL-33-유도 사이토카인 방출에 대한 저해를 나타내지 않거나, 보통의 저해를 나타내거나, 이를 자극하였다(도 7a 내지 7e 및 8a 내지 8e). 저해의 정도는 측정된 사이토카인/케모카인, 시험한 항체, 및 사용된 배지에 따라 달라졌다. 계산된 평균 퍼센트(%) 저해는 항체 농도 2  $\mu\text{g/ml}$ 에서 수행된 모든 어세이에서 -594.4 내지 31.9%였고, 50  $\mu\text{g/ml}$ 의 항체 농도에서는 -481.5 내지 36%였다(도 9). 일부 어세이에서, 항체 ST2M50은 항체 농도 10  $\mu\text{g/ml}$ 에서 GM-CSF, IL-5, IL-10, 및 IL-13 분비를 저해하였다(도 8a 내지 8e).

[0282] 하기의 수학적식을 사용하여 평균 %저해를 계산하였다:  $(1 - (\text{mAb의 존재 하에 방출된 사이토카인의 농도}) / (\text{mAb의 부재 하에 IL-33에 반응하여 방출된 동일한 사이토카인의 농도})) \times 100$ . 사이토카인 농도는 pg/ml의 단위이다. 일부 경우에는, %저해가 음의 값이며, 이는 mAb의 존재 하의 사이토카인 방출이 mAb의 부재 하에 방출된 것보다 사실상 더 높았음을 표시한다. 비만 세포에서 사이토카인 방출을 유도하기 위해 사용된 IL-33 농도에 따라 mAb의 효능에 경미한 차이가 발생할 수 있다. 마찬가지로, 사용된 어세이 배지(스텝프로-34 대 RPMI / 10% FCS)에 따라 mAb의 활성에 경미한 차이가 존재할 수 있다. 모든 시험 ST2L 도메인 I 결합 항체가 모든 측정된 사이토카인 및 케모카인 방출을 2  $\mu\text{g/ml}$ , 10  $\mu\text{g/ml}$ , 또는 50  $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 평균 %저해에 의해 측정할 때 50% 이상만큼 저해하였다.

[0283] 실시예 9. ST2L 도메인 I 결합 항체는 비강내 IL-33-유도 기도 개형을 저해한다.

[0284] C57BL/6 마우스에 1  $\mu\text{g}$ /마우스 "성숙한" IL-33(또는 PBS)(서열 번호 215의 잔기 109 내지 266)을 제1일, 제3일, 제5일, 제7일, 및 제9일에 비강내 투여하고, 제10일 또는 제20일에 폐를 분석하였다. 최초 IL-33 비강내 투여 전 6 h에 항-마우스 ST2L 항체 CNT03914 또는 동형 대조군(CNT05516)을 2 mg/kg으로 피하 투여하였다. 대조군 마우스는 최초 IL-33 비강내 투여 6 h 전에 동형 대조군 CNT05516 또는 PBS를 투여 받았다. 조직학적 분석을 위해 팽창시킨 폐를 10% 완충 포르말린에 고정시켰으며; 분석에 사용된 염색은 H&E, 매슨 트라이크롬(Masson Trichrome), 및 PAS를 포함하였다.

[0285] IL-33 처리는, 주로 호산구와 혼합된 세기관지 주위 침윤 및 배상 세포 과형성을 동반하는 보통 내지 현저한 세기관지 상피 비대 및 과형성을 유도했다. CNT03914를 투여 받은 동물에서는 세기관지 상피 비대 및 과형성이 뚜렷하지 않았다. 매슨 트라이크롬 염색은 존재하는 콜라겐의 양을 결정하기 위한 것이었으며; 이 염색은 IL-33 처리 동물에서 배상 세포 비대를 규명했다. CNT03914로 처리한 동물에는 폐포 및 세기관지 주위 영역에 침윤이 없었다.

[0286] 실시예 10. 완전 인간 ST2L-항체의 생성

[0287] 스트렙타비딘-코팅된 자기 비드 상에 포획된 바이오틴화 항원과 함께 키메라 HHM-ST2L 작제물(서열 번호 6, 표 1)을 사용하여 라이브러리리를 패닝한 점을 제외하고는, 본질적으로 실시예 3에 기재된 바와 같이 신생 pIX 파아지 디스플레이 라이브러리로부터 부가적인 인간 ST2L-결합 Fab를 선택하였다. 파아지 라이브러리리를 3% 탈지 분유를 가진 PBS-T 중에 차단하였다. 경쟁자 단백질, HHM-ST2L 키메라(서열 번호 7, 표 1)를 차단 용액에 첨가하여 인간 ST2L 도메인 I 아미노산 서열에 특이적으로 결합할 Fab에 대한 파아지 선택을 추진하였다. 3개의 라운드 동안 파아지 선택을 수행한 후에 hST2L-Fc 단백질에 대한 Fab 결합에 대해 ELISA에 의한 스크리닝을 수행하였다.

[0288] 이들 선택으로부터 hST2L-Fc에 결합된 19개의 Fab가 단리되었으며, 키메라 ST2L 작제물에 대한 결합(표 1)과 더불어 마우스ST2L 및 인간ST2L 단백질에 대한 결합에 대해 추가로 스크리닝하여 특이성의 도메인을 맵핑하고, IL-33/hST2L 상호작용을 차단하는 그들의 능력에 대해 특성화하였다. Fab ST2F1, ST2F4, 및 ST2F6는 hIL-33/ST2L 상호작용을 차단하였고, ST2L의 도메인 I에 결합하였으며, 친화력 성숙으로 진행되었다.

[0289] [표 9]

Fab 식별 번호	VH 식별 번호	프레임워크	HCDR1		HCDR2		HCDR3	
			서열	서열 번호	서열	서열 번호	서열	서열 번호
ST2F6	ST2H41	VH3-23	SYAMS	78	AISGSGGTYADSVKG	81	DPWSTEGSFFVLDY	84
ST2F4	ST2H39	VH3-23	SYWMH	79	GISGSGGTYADSVKG	82	DGWGTVVFPFDY	85
ST2F1	ST2H35	VH5-51	SYWIG	80	IYPGSDTRYSPSQG	83	DTADFRRWDFDY	86

Fab 식별 번호	VL 식별 번호	프레임워크	LCDR1		LCDR2		LCDR3	
			서열	서열 번호	서열	서열 번호	서열	서열 번호
ST2F6	ST2L24	Vk-L6	RASQSVDDALA	87	DASNRAI	90	QQFYNNWPLT	92
ST2F4	ST2L23	Vk-L6	RASQSVRDOLA	88	DASNRAI	90	QQYHAPLI	93
ST2F1	ST2L20	Vk-B3	KSSQSVLYSSNNKNYLA	89	WASTRES	91	QQSNTYPT	94

[0290]

[0291] 실시예 11. 인간 ST2L 결합 Fab의 친화력-성숙

[0292] 문헌[Shi et al., j Mol Biol 397:385-396, 2010] 및 국제 특허 공개 제W02009/085462호 및 실시예 4에 기재된 "인-라인" 성숙 과정을 사용하여 ST2F1, ST2F4, 및 ST2F6을 친화력-성숙시켰다. 각각 상응하는 경쇄 라이브러리, B3, L6, 및 L6을 다양화하고, 라이브러리를 Fab VH 영역과 조합함으로써, ST2F1, ST2F4, 및 ST2F6에 대해 친화력 성숙 라이브러리를 제조하였다. L6 및 B3 친화력 성숙 라이브러리를 위한 경쇄 잔기에 대한 다양화 스킴을 표 10에 나타낸다. 위치 번호화는 카바트에 따른다. 친화력 성숙 패닝을 위하여, 라운드 1에서는 10 nM, 라운드 2에서는 1 nM, 라운드 3에서는 0.1 nM의 농도에서 바이오틴화 huST2-ECD-Fc를 스트렙타비딘(SA)-코팅된 자기 비드 상에 포획하였다. 10 nM의 표지되지 않은 huST2L-ECD-Fc의 존재 하에 실온에서 밤새 라운드 3의 최종 세척을 수행하였다.

[0293] [표 10]

루프	위치	스캐폴드	
		L6	B3
L1	30	SRNAD	RNDGHSY
	30a	-	RNDGHWY
	30e	-	RNDGHSY
	31	NSKD	RNDGHWY
	32	YWDFHSAN	YNWR
L2	50	ADKGYFTN	YWNK
L3	91	RYSGF	SYWH
	92	RHNSL	SYGN
	93	NDKR	STER
	94	WA	WYSH
	96	WYFLIR	YRWH

[0294]

[0295] ST2F6 경쇄 성숙 라이브러리 선택은 개선된 결합체(binder)(ST2F14, ST2F17, ST2F31, 및 ST2F41)를 산출하였다 (도 10 및 도 11). 프로테온을 사용하여 이들을 Fab로서 검사하였으며, 2 nM 내지 400 pM의 보통의 친화력 개선을 나타냈다.

[0296] ST2F14, ST2F17, ST2F31, 및 ST2F41의 친화력을 추가로 개선하기 위하여, 표 11에 나타난 다양화 스킴을 사용하여 HCDR1 및 HCDR2 카바트 위치 31, 32, 33, 35, 50, 52, 53, 56, 및 58에서 ST2F14, ST2F17, ST2F31, 및 ST2F41 내의 통상적인 중쇄 ST2H41을 무작위화하였다. 생성되는 중쇄 라이브러리를 4개의 친화력 개선 경쇄 ST2L32, ST2L35, ST2L49, 및 ST2L59와 쌍을 이루게 하고, 경쇄 성숙 라이브러리에 대해 기재된 바와 같이 이 라이브러리를 패닝하고 스크리닝하였다. 추가의 특성화를 위해, ST2F14에 대해 개선된 결합을 가진 Fab를 단리하고 IgG로 변환하였다. 생성되는 항체(STLM103, STLM107, STLM108, STLM123, STLM124, STLM206, STLM207, STLM208, STLM209, STLM210, STLM211, STLM212, STLM213, STLM214, STLM215, STLM216, STLM217, STLM218, STLM219, STLM220, STLM221, STLM222)(도 10 및 도 11)는 VH3-23 또는 Vk-L6으로부터 유래된 프레임워크를 갖는다. 모든 항체가 ST2L 도메인 I에 결합하고 IL-33/ST2L 상호작용을 차단한다.



[0297] [표 11]

위치	아미노산
31	SDNTAY
32	SDAY
33	SDAY
35	SN
50	SDNTAY
52	SANTKDEGR
53	SAHEY
56	SANTKDEGR
58	SDNTAY

[0298]

[0299] HCDR3의 개시부(beginning)에서 DP 모티프를 대체하기 위해 STLM208 VH ST2L257에 대한 부가적인 변이체를 설계하고 발현시켰다. 변이체의 서열을 도 12에 나타낸다.

[0300] 실시예 11. C2494의 인간 프레임워크 적응화(HFA)

[0301] 본질적으로 미국 특허 공개 제US2009/0118127호 및 문헌[Fransson et al., J Mol Biol 398:214-231, 2010]에 기재된 바와 같이 프레임워크 적응화 과정을 실행하였다. 약술하면, IMGT 데이터베이스(문헌[Kaas, et al., Nucl. Acids. Res. 32, D208-D210, 2004]; 문헌[Lefranc et al., Nucl. Acid Res., 33, D593-D597, 2005])에 대한 블라스트 검색을 사용하여 중쇄 및 경쇄 서열을 인간 생식세포 서열(2007년 10월 1일의 것과 같은 "01" 대립유전자만)과 비교하였다. 인간 생식세포 유전자의 이러한 세트로부터, 중복 유전자(아미노산 수준에서 100% 동일함) 및 쌍을 이루지 않은 시스테인 잔기를 가진 것들을 제거하였다. 프레임워크 및 CDR 영역 양자 모두에서 가장 근접하게 일치하는 나머지 인간 생식세포 유전자를 수용자 인간 프레임워크로서 선택하였다. 전체적인 서열 상동성 및 CDR 길이와 더불어 CDR 유사성을 기반으로 총 9개의 VL 및 7개의 VH 생식세포 인간 프레임워크를 선택하였다. IGHJ/IGJK 생식세포 유전자, VL 쇠에 대해서는 JK2, 그리고 VH 쇠에 대해서는 JH1의 C2494 서열과의 서열 유사성을 기반으로 FR-4를 선택하였다(문헌[Kaas, et al., Nucl. Acid Res. 32, D208-D210, 2004]; 문헌[Lefranc M.-P et al., Nucl. Acid Res., 33, D593-D597, 2005]). 이어서, V<sub>H</sub>의 CDR-H1에 상응하는 영역은 제외하고, C2494의 CDR(도 14에 밑줄로 표시)을 선택된 수용자 인간 프레임워크에 이전하여 HFA 변이체를 생성시켰다. 이 영역의 경우, CDR과 HV의 조합, 또는 더 짧은 HCDR2(카바트-7이라고 지칭함, 미국 특허 공개 제US2009/0118127호 참조)를 비-인간 항체로부터 인간 FR로 이전하였으며, 이는 도 14에 회색으로 강조된 HCDR2 잔기가 공지 구조의 항원-항체 복합체에서 접촉되는 것으로 확인되지 않았기 때문이다(문헌[Almagro, J Mol Recognit. 17, 132, 2004]).

[0302] C2494의 성숙한 단백질 서열(VL: 서열 번호 52; VH: 서열 번호 48)을 도 14에 나타낸다. 도면에서, CDR 잔기(카바트)는 밑줄로 표시하고, 초티아 HV 루프는 CDR 아래에 표시하며, 선택된 인간 프레임워크에 이전된 잔기는 HV 밑에 표시한다(HFA). 회색으로 강조된 HCDR2 잔기를 모든 변이체에 이전하지는 않았다.

[0303] MOE의 항체 모델링 모듈(몬트리올 소재의 CCG)을 사용하여 C2494의 Fv 단편에 대한 3D 상동성 모델을 작성하였다. 노출된 메티오닌 및 트립토판 잔기, 잠재적 N-글리코실화 및 탈아미드화 모티프와 같은 개발가능성 부담(developability liability)의 평가를 위해 모델을 이용하였다. LCDR3에는, Fv 구조적 모델을 기반으로 하는, 잠재적으로 노출된 Met(M94) 잔기가 존재한다. 그것을 제거하기 위하여, M94L 돌연변이를 가진 변이체(STLL280, 012b)를 생성시켜 특성화하였다. 중쇄의 경우에는, HCDR3 직전의 CAR 모티프 내의 R 잔기(초티아 잔기 92 내지 94, 도 14)가 음으로 하전된 잔기(초티아 잔기 D31, D32, D96, 및 D101a, 도 14)의 클러스터에 부정적인 영향을 줄 수 있으며, 이는 결합에 있어서 중요할 수 있다. 초티아 잔기 94(CAR →CAL)에서 류신이 알지닌으로 치환된 VH를 생성시켜 특성화하였다.

[0304] C2494 모체와 함께, 설계된 중쇄 및 경쇄를 조합한 mAb를 발현시키고 인간 ST2L에 대한 결합에 대해 어세이하였다. 생성된 HFA mAb 중에서, IGHV1-24\*01(서열 번호 148) 및 IGHV1-f\*01(서열 번호 149) 중쇄 프레임워크(STLH195 및 STLH194)를 갖는 VH 쇠를 가진 mAb가 항체를 잘 발현시켰으며, IGKV3-15\*01(L2)(서열 번호 150), IGKV1-9\*01(L8)(서열 번호 151), IGKV1-5\*01(L12)(서열 번호 152), IGKV1-12\*01(L5)(서열 번호 153), IGKV1-39\*01(012)(서열 번호 154), IGKV1-27\*01(A20)(서열 번호 155) 또는 IGKV1-33\*01(018)(서열 번호 156) 프레임워크(STLL280, STLL278, STLL277, STLL276, STLL275, STLL274, STLL273, STLL272)를 갖는 다양한 HFA 경쇄와 조합할 때 ST2L에 결합하였다.

[0305] HFA VH 및 VL 변이체의 서열을 표 12에 나타낸다. 이전된 잔기는 밑줄로 표시하고, 상기의 부가적인 치환은 회색으로 강조한다. 표 13은 각각의 HFA VH 및 VL에 대해 서열 번호와 더불어 고유한 pDR(플라스미드) 및 CBIS

ID를 나타낸다. 추가의 특성화를 위해 선택된 생성된 mAb에 대한 중쇄 및 경쇄 조합을 표 14에 나타낸다.

표 15는 C2494 CDR을 이전하기 위해 사용된 인간 프레임워크(조합된 V 및 J 영역)를 나타낸다.

[표 12]

프레임워크 적응화 VL 쇠(JK2 서열에 커플링됨).

CDR은 밑줄로 표시한다.

>VL2494(모체)(서열 번호 52)

ETT~~V~~TQSPASLSVATGEKVTIRCI~~T~~TNTDIDDVIHWYQQKPGEPKLLISEGNTLRP  
GVPSRFSSSGYGTD~~F~~VFTIENTLSE~~D~~VADYYCLQSDNMLTFGAGTKLELK

>VL2494-IGKV1-33\*01 018(서열 번호 135)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCITNTDIDDVIHWYQOKPGKAPKLLIYEGNTLRP  
GVPSR~~F~~SGSGSGTD~~F~~TFTISSLQPED~~I~~ATYYCLQSDNMLTFGQGTKLEIK

>VL2494-IGKV1-27\*01 A20(서열 번호 136)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCITNTDIDDVIHWYQQKPGKVPKLLIYEGNTLRP  
GVPSR~~F~~SGSGSGTD~~F~~TLT~~I~~SSLQPED~~V~~ATYYCLQSDNMLTFGQGTKLEIK

>VL2494-IGKV1-39\*01012(서열 번호 137)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCITNTDIDDVIHWYQQKPGKAPKLLIYEGNTLRP  
GVPSR~~F~~SGSGSGTD~~F~~TLT~~I~~SSLQPED~~F~~ATYYCLQSDNMLTFGQGTKLEIK

>VL2494-IGKV1-12\*01 L5(서열 번호 138)

DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCITNTDIDDVIHWYQQKPGKAPKLLIYEGNTLRP  
GVPSR~~F~~SGSGSGTD~~F~~TLT~~I~~SSLQPED~~F~~ATYYCLQSDNMLTFGQGTKLEIK

>VL2494-IGKV1-5\*01 L12(서열 번호 139)

DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCITNTDIDDVIHWYQQKPGKAPKLLIYEGNTLRP  
GVPSR~~F~~SGSGSGTE~~F~~TLT~~I~~SSLQPD~~F~~ATYYCLQSDNMLTFGQGTKLEIK

>VL2494-IGKV1-9\*01 L8(서열 번호 140)

DIQLTQSPSFLSASVGDRVTITCITNTDIDDVIHWYQQKPGKAPKLLIYEGNTLRP  
GVPSR~~F~~SGSGSGTE~~F~~TLT~~I~~SSLQPED~~F~~ATYYCLQSDNMLTFGQGTKLEIK

>VL2494-IGKV3-15\*01 L2(서열 번호 141)

EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCITNTDIDDVIHWYQQKPGQAPRLIYEGNTLRP  
GIPAR~~F~~SGSGSGTE~~F~~TLT~~I~~SSLQSE~~D~~FAVYYCLQSDNMLTFGQGTKLEIK

>VL2494-IGKV1-39\*01 012b(서열 번호 142)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCITNTDIDDVIHWYQQKPGKAPKLLIYEGNTLRP  
GVPSR~~F~~SGSGSGTD~~F~~TLT~~I~~SSLQPED~~F~~ATYYCLQSDNMLTFGQGTKLEIK

JH1에 커플링된 프레임워크 적응화 VH 쇠

>VH2494(모체)(서열 번호 48)

EVQLQQSVAELV~~R~~PGASVKLSCTASAFNIKDDYMHVVKQRPEQGLEWIGRIDPAIGNTEYAPKFQD  
KATMTADTSSNTAYLQLSSLTSED~~T~~AVYYCA~~Q~~GDFYAMDYWGQGTSTVTVSS



[0331] >VH2494-IGHV1-f\*01(서열 번호 143)

EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSAFNIKDDYMHVWQQAPGKGLEWMGRIDPAIGNTEYAEKFQG  
RVTITADTSTDTAYMELSSLRSEDTAVYYCAAGDFYAMDYWGQGLTVTVSS

[0332]

[0333] >VH2494-IGHV1-24\*01(서열 번호 144)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKVSFAFNIKDDYMHVWRQAPGKGLEWMGRIDPAIGNTEYAPKFQD  
RVTMTEDTSTDTAYMELSSLRSEDTAVYYCAAGDFYAMDYWGQGLTVTVSS

[0334]

[0335] [ 표 13]

	HFA-변이체	pDR#	CBIS ID	서열 번호:
VH HFA 체	>VH2494-IGHV1-24*01	9870	STLH195	144
	>VH2494-IGHV1-f*01	9871	STLH194	143
VL HFA 체	>VL2494-IGKV1-39*01 O12b	9865	STLL280	142
	>VL2494-IGKV3-15*01 L2	9873	STLL278	141
	>VL2494-IGKV1-9*01 L8	9874	STLL277	140
	>VL2494-IGKV1-5*01 L12	9875	STLL276	139
	>VL2494-IGKV1-12*01 L5	9876	STLL275	138
	>VL2494-IGKV1-39*01 O12	9877	STLL274	137
	>VL2494-IGKV1-27*01 A20	9878	STLL273	136
	>VL2494-IGKV1-33*01 O18	9879	STLL272	135

[0336]

[0337] [ 표 14]

		VH 체		
		모체 *	>VH2494-IGHV1-24*01	>VH2494-IGHV1-f*01
VL 체	pRD#	pDR4211	pDR9870	pDR9871
모체 *	pDR4212	STLM126	STLM186	STLM196
>VL2494-IGKV1-39*01 O12b	pDR9865	STLM127	STLM187	STLM197
>VL2494-IGKV3-15*01 L2	pDR9873	STLM129	STLM189	STLM199
>VL2494-IGKV1-9*01 L8	pDR9874	STLM130	STLM190	STLM200
>VL2494-IGKV1-5*01 L12	pDR9875	STLM131	STLM191	STLM201
>VL2494-IGKV1-12*01 L5	pDR9876	STLM132	STLM192	STLM202
>VL2494-IGKV1-39*01 O12	pDR9877	STLM133	STLM193	STLM203
>VL2494-IGKV1-27*01 A20	pDR9878	STLM134	STLM194	STLM204
>VL2494-IGKV1-33*01 O18	pDR9879	STLM135	STLM195	STLM205

[0338]

[0339] [ 표 15]

인간 프레임워크 적용화(HFA)에 사용된 프레임워크		서열		서열 번호:
프레임워크 V 영역 기원	프레임워크 J 영역 기원			
IGHV1-24*01	JH1	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSGYGLTSLMHVWRQAPGKGLIEWMGGFDPE DGETIYAQKFGQGRVTMTEDTSTDTAYMELSSLRSEDTAVYYCATWGQGLTVTVSS		148
IGHV1-f*01	JH1	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGYFTDYMHVWQQAPGKGLIEWMGLVDPED GETIYAEKFGQGRVTITADTSTDTAYMELSSLRSEDTAVYYCATWGQGLTVTVSS		149
IGKV3-15*01 L2	JK2	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSSNLAWYQKPGQAPRLIYGASTRATGI PARFSGSGSGTEFTLTISLQSEDFAVYYCQYNWNPPTFGGQTKLEIK		150
IGKV1-9*01 L8	JK2	DIQLTQSPSLASVGDRTITCRASQGISYLAWYQKPGKAPKLLIYAASLTQSGVP SRFSGSGSGTEFTLTISLQPEDFATYYCQQLNSYPTFGGQTKLEIK		151
IGKV1-5*01 L12	JK2	DIQMTQSPSLASVGDRTITCRASQGISYLAWYQKPGKAPKLLIYDASSLESGV PSRFSGSGSGTEFTLTISLQPEDFATYYCQYNSYSTFGGQTKLEIK		152
IGKV1-12*01 L5	JK2	DIQMTQSPSSVSASVGDRTITCRASQGISYLAWYQKPGKAPKLLIYAASLTQSG VPSRFSGSGSGTDFLTLTISLQPEDFATYYCQANSPTFGGQTKLEIK		153
IGKV1-39*01 O12	JK2	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQGISYLAWYQKPGKAPKLLIYAASLTQSGVP SRFSGSGSGTDFLTLTISLQPEDFATYYCQYSYSTPTFGGQTKLEIK		154
IGKV1-27*01 A20	JK2	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQGISYNLAWYQKPGKVPKLLIYAASLTQSGV PSRFSGSGSGTDFLTLTISLQPEDVATYYCQYNSAPTFGGQTKLEIK		155
IGKV1-33*01 O18	JK2	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCASQDISYNLAWYQKPGKAPKLLIYDASNLEIGV PSRFSGSGSGTDFLTLTISLQPEDIATYYCQYQNIPTFGGQTKLEIK		156

[0340]

- [0341] 실시예 12. 파라토프 스캐닝을 위한 알라닌 및 인간 생식세포 돌연변이체의 설계
- [0342] 부위-지정 돌연변이유발을 실행하여 개별적인 CDR 잔기의 결합 기여와 더불어 다른 항체 특징에 잠재적 효과를 갖는 일부 잔기를 평가하였다. 상기 C2494 Fv의 분자 모델을 기반으로 용매-노출된 CDR 잔기의 서브세트가 항원 결합에 관련된 것으로 예측되었다. 이들은 알라닌 및/또는 상응하는 '인간-유사' 잔기로 돌연변이화되었으며, 이는 가장 근접하게 일치하는 생식세포 유전자에서 상응하는 잔기이다. C2494 VH 내의 D101aA(초티아 잔기), (서열 번호 48 내의 D104A) 치환은  $k_{off}$ 를 약 4배( $1.43 \times 10^{-4}$ 으로부터  $3.2 \times 10^{-5}$ )로 감소시켰다.
- [0343] D101aA 치환이 ST2L에 대한 결합에서 C2494 Fab의  $k_{off}$ 를 감소시켰으므로, 동일한 돌연변이가 C2494 HFA 변이체에서 해리 속도 또한 개선할 수 있을 것으로 예상되었다. 따라서, D101aA(초티아 변이체)를 STLH194의 VH에 혼입시켜(>VH2494-IGHV1-f\*01, 서열 번호 143) VH STLH201(서열 번호 145)을 생성시켰다. STLH201은 7개의 경쇄 STLL280, STLL277, STLL276, STLL275, STLL274, STLL273, 및 STLL272(표 13 및 표 14)와 쌍을 이루어 mAb STLM226, STLM227, STLM228, STLM229, STLM230, STLM231, 및 STLM232를 생성하였으며, 이는 추가로 특성화되었다. 그러므로 mAb STLM226, STLM227, STLM228, STLM229, STLM230, STLM231, 및 STLM232는 모체 C2494 항체에 비교할 때 동일한 LCDR1, LCDR2, LCDR3, HCDR1, 및 HCDR2 서열 및 상이한 HCDR3(서열 번호 146, GDFYAMAY)을 갖는다. 또한, 항체 STLM266 VL STLM280은 고유한 LCDR3: LQSDNLLT(서열 번호 147)를 가졌다.
- [0344] STLH201(서열 번호 145):
- EVQLVQSGAEVKKPGATVKISKVSAFNKDDYMHVWVQQAPGKGLEWMGRIDPAIGNTEYAEKFGQ  
RVTITADTSTDTAYMELSSLRSEDTAVYYCA[REDACTED]GDFYAMAYWGQGLVTVSS
- [0345]
- [0346] HCDR3 혼입 D101aA(초티아 변이체) 치환:
- [0347] 서열 번호 146: GDFYAMAY
- [0348] 항체 STLM266 VL STLM280은 고유한 LCDR3: LQSDNLLT(서열 번호 147)를 가졌다.
- [0349] 실시예 13. 항-ST2L 항체의 특성화
- [0350] 파아지 디스플레이, 하이브리도마, 및 인간 프레임워크 적응화 캠페인으로부터 얻어진 항체를 huST2L-ECD, 시노 ST2L-ECD에 대한 결합, 친화력 측정, 인간/마우스 키메라에 대한 결합을 포함하는 다양한 어세이에서 특성화하여 도메인 결합, 수용체-리간드 저해 어세이, 리포터 유전자 어세이, 및 비만 세포 반응 어세이를 결정하였다.
- [0351] 파아지 디스플레이 캠페인으로부터 유래된 항체의 인간 및 시노 ST2L에 대한 친화력과 더불어 인간 ST2L에 대한 그들의 결합 특이성을 표 16에 나타낸다. 표 16의 모든 항체가 인간 ST2L의 도메인 I에 결합하였다.

[0352] [표 16]

	인간 ST2L 친화력			시노 ST2L 친화력			ST2L-ECD 도메인 결합
	$k_{on}$ ( $M^{-1}s^{-1}$ )	$k_{off}$ ( $s^{-1}$ )	KD ( $\mu M$ )	$k_{on}$ ( $M^{-1}s^{-1}$ )	$k_{off}$ ( $s^{-1}$ )	KD ( $\mu M$ )	
STLM103	3.97E+06	1.63E-04	41	6.42E+06	2.02E-04	31	D1
STLM107	2.90E+07	3.41E-04	12	1.00E+08	6.50E-04	7	D1
STLM108	2.29E+06	2.22E-04	97	2.05E+07	5.98E-04	29	D1
STLM123	1.37E+07	2.08E-04	15	1.00E+08	5.19E-04	5	D1
STLM124	1.65E+07	7.56E-04	46	8.71E+07	2.57E-03	30	D1
STLM206	6.39E+06	1.60E-04	25	9.40E+07	5.83E-04	6	D1
STLM207	8.33E+06	3.95E-04	48	1.00E+08	2.07E-03	21	D1
STLM208	5.97E+06	6.76E-05	11	1.39E+07	7.02E-05	5	D1
STLM209	6.59E+06	1.70E-04	26	3.39E+07	3.11E-04	9	D1
STLM210	1.21E+07	2.27E-04	19	5.70E+07	5.28E-04	9	D1
STLM211	1.70E+07	4.83E-04	29	1.00E+08	1.39E-03	14	D1
STLM212	1.24E+07	3.98E-04	32	1.43E+07	3.46E-04	24	D1
STLM213	7.54E+06	1.08E-04	14	1.64E+07	1.24E-04	8	D1
STLM214	9.16E+06	2.99E-04	33	7.20E+06	2.64E-04	37	D1
STLM215	6.91E+06	1.72E-04	25	3.54E+07	3.69E-04	10	D1
STLM216	9.63E+06	1.58E-04	16	7.89E+07	2.64E-04	3	D1
STLM217	7.27E+06	1.26E-04	17	3.81E+07	1.38E-04	4	D1
STLM218	9.89E+06	2.24E-04	23	1.45E+07	2.65E-04	18	D1
STLM219	7.54E+06	2.01E-04	27	1.07E+07	2.30E-04	22	D1
STLM220	5.80E+06	9.53E-05	16	1.60E+07	1.40E-04	9	D1
STLM221	2.73E+06	9.61E-05	35	6.04E+06	1.30E-04	22	D1
STLM222	8.22E+06	3.01E-04	37	1.18E+07	3.45E-04	29	D1
STLM226	2.16E+07	1.93E-03	90	1.00E+08	3.01E-02	301	D1
STLM227	2.66E+07	1.70E-03	64	1.00E+08	2.94E-02	294	D1
STLM228	2.01E+07	1.04E-03	52	1.00E+08	1.55E-02	155	D1
STLM229	1.29E+07	4.45E-04	35	1.00E+08	8.50E-03	85	D1
STLM230	1.11E+07	4.26E-04	38	5.06E+07	7.30E-03	144	D1
STLM231	1.97E+07	9.13E-04	46	8.27E+07	1.43E-02	172	D1
STLM232	1.78E+07	4.49E-04	25	1.00E+08	7.97E-03	80	D1

[0353]

[0354] 모체(STLM62, C2494)와 관련하여 HFA 캠페인으로부터의 항-ST2L 항체의 친화력을 표 17에 나타낸다. 친화력은 프로테온에 의해 분석되었다. 프로테온의 PBS-T-E 완충액(PBS, 0.005% P20 및 3 mM EDTA)을 실행 완충액으로 사용하여 25℃에서 실험을 수행하였다. 실험을 수행하기 위하여 염소 항-인간 Fc(~5800 RU)의 공유적 고정화에 의해 GLC 센서 칩을 제조하고, 122 내지 146 반응 단위(RU)의 Mab를 포획하였다. Mab 포획 후에 0.024 내지 15 nM(5-배 희석)의 ST2L-ECD를 4 min 동안 주입하였다(50  $\mu l/min$ 에서 200  $\mu l$ ). 모든 반응에 대해 30 분 동안 해리를 모니터링하였다. 10 mM 글리신 pH 1.5의 15 sec 펄스 2회를 사용하여 재생을 수행하였다. 기준선 표동 모델(baseline drift model)을 이용하여 데이터를 1:1에 적합시켰다.

[0355] 샘플에 대한 회합 속도는 빠르며, 곡선 적합 및 친화력의 추산을 위해 물질 전달을 동반하는 랭뮤어(langmuir) 모델을 사용하였다. 모든 샘플이 모클론 및 대조군 Mab보다 더 빠른 해리 속도를 가졌다. 해리 속도의 차이는, 모항체에 비교할 때 HFA 변이체의 더 낮은 친화력의 주원인이었다.

[0356] [표 17]

샘플	인간 ST2L 친화력			시노 ST2L 친화력		
	$k_{on}$ ( $M^{-1}s^{-1}$ )	$k_{off}$ ( $s^{-1}$ )	KD ( $\mu M$ )	$k_{on}$ ( $M^{-1}s^{-1}$ )	$k_{off}$ ( $s^{-1}$ )	KD ( $\mu M$ )
STLM62 *	1.84E+07	1.59E-04	8.67	3.84E+07	4.57E-04	12.35
STLM187	3.37E+07	1.59E-02	473.00	1.00E+08	1.10E-01	1100.00
STLM190	1.00E+08	5.34E-02	534.00	1.00E+08	1.02E-01	1020.00
STLM191	8.46E+07	2.47E-02	292.00	1.00E+08	6.66E-02	666.00
STLM192	2.11E+07	8.85E-03	420.00	1.00E+08	9.99E-02	999.00
STLM193	4.77E+07	1.27E-02	267.00	1.00E+08	9.32E-02	932.00
STLM194	1.00E+08	7.03E-02	703.00	1.00E+08	1.90E-01	1900.00
STLM195	2.49E+07	6.73E-03	271.00	1.00E+08	7.19E-02	719.00
STLM197	1.83E+07	1.62E-03	88.50	2.97E+07	6.88E-03	232.00
STLM199	2.17E+07	8.97E-04	41.40	7.78E+07	6.57E-03	84.50
STLM206	2.35E+07	1.43E-03	60.80	8.23E+07	1.10E-02	134.00
STLM201	1.76E+07	8.52E-04	48.40	3.55E+07	4.10E-03	116.00
STLM202	2.24E+07	1.19E-03	52.90	7.75E+07	1.04E-02	134.00
STLM203	2.04E+07	9.67E-04	47.30	5.88E+07	6.56E-03	111.00
STLM204	2.97E+07	2.41E-03	81.30	1.00E+08	2.05E-02	205.00
STLM205	1.73E+07	6.95E-04	40.10	4.04E+07	4.04E-03	100.00

\* STLM62=C2494, 모항체

[0357]

[0358] [표 18]

기원	mAb	RLB IC50, $\mu$ g/ml	RGA IC50, $\mu$ g/ml	시노 내피 어세이	호염기구 사이토카인 방출
파이지 디스플레이	STLM103	0.47	1.92	NT	+
	STLM107	0.44	1.10	NT	++
	STLM108	0.23	2.34	++	++
	STLM116	0.29	6.71	NT	+
	STLM123	0.28	1.25	NT	++
	STLM124	0.35	0.87	++	++
	STLM206	0.40	0.67	++	++
	STLM207	0.36	2.30	NT	++
	STLM208	0.47	0.61	++	++
	STLM209	0.32	0.97	++	++
	STLM210	0.30	2.10	NT	++
	STLM211	0.28	2.52	NT	++
	STLM212	0.33	4.32	NT	+
	STLM213	0.34	0.49	++	++
	STLM214	0.28	2.52	NT	++
	STLM215	0.29	1.30	NT	++
	STLM216	0.30	1.86	NT	++
	STLM217	0.49	1.69	NT	++
	STLM218	0.42	1.33	NT	++
	STLM219	0.29	3.16	NT	++
	STLM220	0.39	0.60	NT	++
	STLM221	0.39	2.79	NT	+
	STLM222	0.25	1.88	NT	++
	STLM226	0.26	0.25	++	++
	STLM227	0.17	0.23	++	++
	STLM228	0.20	0.28	++	++
HFA	STLM229	0.29	0.32	++	++
	STLM230	0.28	0.15	++	++
	STLM231	0.26	1.10	+	+
하이브리도마 C2494	STLM232	0.31	0.15	++	++
	STLM62*	0.70	0.11	++	++

++ 강한 저해  
+ 일부 저해  
- 저해 없음  
NT 시험하지 않음  
\* 하이브리도마로서 시험함  
RLB = 수용체-리간드 결합 저해  
RGA = 리포터 유전자 어세이

[0359]

[0360]

기재된 바와 같이 RPMI + 10% FCS 중의 100  $\mu$ g/ml, 10  $\mu$ g/ml, 1  $\mu$ g/ml, 0.1  $\mu$ g/ml, 또는 0.01  $\mu$ g/ml 항체를 사용하여 인간 제대혈-유래 비만 세포로부터의 3 ng/ml IL-33-유도 IL-5, IL-13, 및 IL-8 방출의 저해를 측정함으로써, 선택된 항체를 비만 세포 반응에 대해 시험하였다. 이들 어세이 조건에서, 모든 시험 항체가 항체 농도 100  $\mu$ g/ml에서 IL-33-유도 IL-5, IL-13, 및 IL-8 사이토카인 방출을 IL-33으로 유도된 대조군 샘플에 비교할 때 약 40% 내지 100% 만큼 저해하였다.

[0361]

실시예 14. 항-ST2L 항체는 인간 호염기구에서 다운스트림 신호전달 경로를 저해한다

[0362]

항-ST2L 항체를 인간 호염기구에서 p38 MAPK 신호전달을 저해하는 그들의 능력에 대해 시험하였다.

[0363]

헤파린 첨가 튜브에 전혈을 수집하고 어세이의 개시 전에 실온(RT)이 되게 하였다. 1 mL의 혈액을 50 mL 원추형 튜브에 분취하고 PBS에 희석한 항-ST2L 항체(STLB252) 또는 동형 대조군(CNT0 8937)을 2, 20, 또는 200  $\mu$ g/mL의 최종 농도로 첨가하였다. 튜브를 온화하게 회전시켜 혼합하고, 37°C × 30 분에서 인큐베이터에 넣고, 15 분 후에 온화하게 회전시켰다. 이어서, 세포 표면 항원(CD123-FITC, CRTH2-PCP-CY5.5, 및 CD45-APC-C7)에 대한 플루오로크롬-표지된 항체로 혈액을 염색하고 튜브를 37°C에서 15 분 동안 인큐베이션하였다. 1 mL의 가온된 배양 배지(RPMI-1640/10% FBS/1% 페니실린-스트렙토마이신)를 각각의 튜브에 첨가한 후, 가온된 배양 배지에 희석한 IL-33을 10 ng/mL의 최종 농도로 첨가하였다. 샘플을 37°C × 10 분에서 인큐베이션한 후에, 적혈구를 용해시키는 동시에 샘플을 고정시키기 위하여, 각각의 튜브에 20 mL의 사전-가온된 BD 포스플로우 용해/고정 완충액(BD Phosflow Lyse/Fix buffer)을 첨가하였다. 튜브를 10회 뒤집어 잘 혼합하고 37°C × 10 분에서 인큐베이션하였다. 샘플을 20 mL의 멸균된 실온 PBS로 세척하고, 2 mL의 1x 실온 BD 투과/세척 완충액(BD Perm/Wash Buffer)에 재현탁하고, 실온 × 30 분에서 인큐베이션하였다. 샘플을 2 mL의 BD 투과/세척 완충액으로 1회 세척한 후에 400  $\mu$ L의 BD 투과/세척 완충액에 재현탁하였다. 세포내 p38-MAPK에 대한 PE-표지된 항체(v



셀 시그널링(vCell Signaling), Cat. 6908S)를 첨가하고, 샘플을 차광하여 실온에서 30 min 인큐베이션하였다. 샘플을 5 mL 투과/세척 완충액으로 1회 세척한 후에 100  $\mu$ L의 FACS 완충액에 재현탁하고 96-웰 둥근-바닥 플레이트에 이전하였다. 각각의 샘플에 대해 가능한 한 많은 이벤트를 수집하는 고효율 시스템(HTS: high-throughput system)을 이용하는 BD LSRII 유세포 분석기를 사용하여 샘플을 분석하였다. 플로조(FloJo) 소프트웨어를 사용하여 데이터를 분석하였다. 호염기구는 CD45<sup>+</sup>CRTH2<sup>+</sup>CD123<sup>+</sup>로서 동정되었으며, 각각의 조건에 대해 p38 MAPK 양성 호염기구의 퍼센트를 평가하였다. 항-ST2L mAb(STLB252)와 함께 전혈을 사전-인큐베이션하는 것은 IL-33 유도 p38-MAPK 인산화의 용량-의존적 저해를 유발한 반면에, 동형 대조군(CNTO 8937)으로는 효과가 관찰되지 않았다. 항-인간 ST2L 항체는 전혈에 있어서 재조합 인간 IL-33에 의한 호염기구 활성화를 특이적으로 차단했다. 결과는 항-ST2L 항체가 생체내에서 내재적 IL-33에 의한 신호전달을 저해함을 제안한다.

[0364] [표 19]

IL-33 (10 ng/ml)	STLB252 ( $\mu$ g/mL)	동형 대조군 ( $\mu$ g/mL)	% 인산화 p38 MAPK
-	0	0	2.2
+	0	0	80.6
+	2	0	44.4
+	20	0	15.7
+	200	0	1.2
+	0	2	76.7
+	0	20	79
+	0	200	77

[0365]

[0366] 실시예 15. 항-ST2L 항체에 의한 생체내 표적 집중(target engagement)

[0367] BAL 세포 동원의 비강내 mIL-33 6 시간 생체내 모델

[0368] 단일 용량의 1.2  $\mu$ g/마우스 mIL-33(R&D 시스템즈 #3626-ML/CF) 또는 PBS를 웅성 Balb/c 마우스(6 내지 8주령, 타코닉(Taconic))에 투여하였다. 최초 mIL-33 비강내 투여 전 24 hr에 랫트 항-마우스 ST2L 항체 CNTO 3914를 2, 0.2, 0.06, 또는 0.02 mg/kg으로 투여하였다. 동형 대조군(ITC) mAb CNTO 5516은 2 mg/kg으로 피하 투여하였다. mIL-33(또는 PBS) 투여 후 6 시간에, 마우스를 희생시키고 혈청 분석을 위해 혈액을 수집하였다. 2 부피의 0.7 mL의 PBS/0.1% BSA를 폐에 주입하고 유출물을 회수함으로써 기관지 폐포 세척(BAL)을 수행하였다. BAL을 원심분리하고(1200rpm, 10 분), 혈구 계수기(라이트-김사-염색 사이토스핀 제제 상에서)를 사용하는 총 세포 계수 및 감별 세포 계수를 위해 세포 펠렛을 200  $\mu$ L의 PBS에 재현탁하였다.

[0369] 마우스 혈청 내의 CNTO 3914의 측정

[0370] MSD SA-STD 플레이트를 50  $\mu$ L/웰의 어세이 완충액으로 5 분 동안 차단하였다. 플레이트를 뒤집어 어세이 완충액을 제거하고 종이 타월 상에 두드렸다. 50  $\mu$ L/웰의 어세이 완충액 중의 1.4  $\mu$ g/mL 바이오틴화 재조합 마우스 ST2L/IL1R4/Fc 키메라(R&D 시스템)를 첨가하고 냉장고 내에서 밤새 인큐베이션하였다. 사전-코팅된 플레이트의 각각의 웰에 코팅 시약을 제거하지 않고 150  $\mu$ L의 어세이 완충액을 첨가하고 30 분 동안 인큐베이션하였다. 플레이트 세척기 상에서 세척 완충액으로 플레이트를 3회 세척하였다. 플레이트를 종이 타월 상에 가볍게 두드려 잔류 세척 완충액을 제거하였다. 플레이트의 각각의 웰에 50  $\mu$ L/웰의 CNTO 3914 샘플을 첨가하였다. 주위 온도에서 온화하게 보텍싱(vortexing)하면서 플레이트를 1 시간 동안 인큐베이션하였다. 플레이트 세척기 상에서 세척 완충액으로 플레이트를 3회 세척하였다. 플레이트의 각각의 웰에 50  $\mu$ L/웰의 역가(titration)의 루테늄-표지된 마우스 항-마우스 IgG1b(BD 바이오사이언시즈(BD Biosciences))를 첨가하였다. 주위 온도에서 온화하게 보텍싱하면서 플레이트를 1 시간 동안 인큐베이션하였다. 플레이트 세척기 상에서 세척 완충액으로 플레이트를 3회 세척하였다. 플레이트의 각각의 웰에 150  $\mu$ L의 판독 완충액을 첨가하였다. MSD 섹터 이미지 6000 판독기 상에서 플레이트를 발광 수준에 대해 즉시 판독하였다.

[0371] 전혈 어세이



[0372] 사르쉬테드(Sarstedt) 필터 튜브 내에서 DMEM 배지 + 1% 페니실린+ 스트렙토마이신 용액 +/- 10 ng/ml 마우스 IL-33에 혈액을 1:4 희석하였다. 튜브를 37℃에서 밤새 인큐베이션한 후, 제조자의 지침에 따라 밀리포어 밀리플렉스(Millipore Milliplex) 마우스 사이토카인/케모카인 키트를 사용하여 상등액에서 사이토카인 및 케모카인 수준을 측정하였다.

[0373] 결과

[0374] 0.2 또는 2 mg/kg CNTO 3914로 투여한 후 24 시간에 마우스의 혈청에서 항-ST2L 항체가 검출가능했다(도 16a).

[0375] IL-33의 비강내 투여는 6 h에 기도로의 세포 동원을 유도했다(도 16b). 항-ST2L mAb 투여는 BAL 세포 동원을 감소시켰으며; BAL 세포 동원의 유의적인 저해를 관찰하기 위해 필요한 최소 용량은 0.2 mg/kg이었다(도 16b). 통계적 유의성은 1-원 ANOVA를 사용하여 계산했다.

[0376] 마우스 IL-33으로 자극한 전혈은 24 h 후에 IL-6(도 16c) 및 MCP-1(도 16d)을 포함하는 사이토카인 및 케모카인의 증가된 수준을 나타냈다. 20 mg/kg 또는 2 mg/kg 항-ST2L mAb CNTO 3914로 투여한 마우스에서는, IL-6 및 MCP-1 수준이 CNT05516(동형 대조군 항-마우스 IgG1)에 비교하여 감소하였으며, 이는 표적 집중을 시사한다. 전혈 어세이에서의 저해와 관련된 최소 용량인 2 mg/kg은 BAL 세포 동원 또한 저해하였다(도 16b).

[0377] 종합적으로, 이 데이터는 항-ST2L mAb가 작용 부위에 도달하며 의도된 약리학적 효과가 달성되었음을 확증한다(표적 집중을 시사함).

[0378] 실시예 16. 항-ST2L 항체의 에피토프

[0379] 에피토프 맵핑 및 경쟁 연구를 수행하여 항-ST2L 항체를 선택하였다.

[0380] 경쟁 결합 어세이

[0381] 경쟁 결합 어세이를 수행하여 항-ST2L mAb에 대한 상이한 결합 에피토프 기를 평가하였다. MSD 하이바인드 플레이트(메릴랜드주 게이더스버그 소재의 메조 스케일 디스커버리) 상에 웰 당 5  $\mu$ l(10  $\mu$ g/ml)의 ST2L-ECD 단백질을 실온에서 2 hr 동안 코팅하였다. 150 마이크로리터의 5% MSD 차단제 A 완충액(메릴랜드주 게이더스버그 소재의 메조 스케일 디스커버리)을 각각의 웰에 첨가하고 실온에서 2 hr 동안 인큐베이션하였다. 플레이트를 0.1 M HEPES 완충액, pH 7.4로 3회 세척한 후에, MSD 형광 염료(설포 태그, NHS 에스테르) 표지된 개별적인 항-ST2L 항체와 상이한 경쟁자의 혼합물을 첨가하였다. 표지된 항체(10 또는 30 nM)를 증가하는 농도의 경쟁자 항체(1 nM 내지 2 또는 5  $\mu$ M)와 함께 인큐베이션한 후, 25  $\mu$ l 부피의 혼합물로 표기된 웰에 첨가하였다. 실온에서 온화하게 진탕하면서 2 시간 인큐베이션한 후에, 플레이트를 0.1 M HEPES 완충액(pH 7.4)으로 3회 세척하였다. MSD 리드(Read) 완충액 T를 멸균수로 희석하고(4-배), 150  $\mu$ l/웰의 부피로 분배하고, SECTOR 이미저(Imager) 6000으로 분석하였다.

[0382] 하기의 항체를 경쟁 어세이에 사용하였다: ST2L 도메인 I 결합 중화 항체 STLM208, STLM213, C2244(STLM15), 및 C2494(STLM62), ST2L 도메인 III 결합 항체 C2539, 및 인간 ST2L의 도메인 I에 결합하는 비-중화 항-ST2L 항체 C2240. 도 17a 및 17b는 경쟁 실험을 나타낸다. 실험을 기반으로 동정된 에피토프 빈(bin)은, 빈A: mAb C2244, C2494, STLM208, 또는 STLM213; 빈B: mAb C2240, 빈C: C2539이다. IL33/ST2L 상호작용을 차단하고 비만 세포 반응을 저해하는 항체가 동일한 에피토프 빈 내에서 확인되었으며 서로 교차-경쟁하는 것으로 확인되었다. 경쟁 데이터의 요약을 표 20에 나타낸다.

[0383] [표 20]

경쟁자	표지된 항체			
	C2240	C2539	C2244	C2494
C2240	+	-	-	-
C2539	-	+	-	-
C2244	-	-	+	+
C2494	-	-	+	+
STLM208	-	-	+	+
STLM213	-	-	+	+

[0384]

[0385] 에피토프 맵핑: H/D 교환 분석

- [0386] H/D 교환에 있어서, 항체 섭동(antibody perturbation)을 분석하기 위해 사용된 절차는, 일부 변형을 동반하여 이전에 기재된 것(문헌[Hamuro, Y., et al., Journal of Biomolecular Techniques, 14:171-182, 2003]; 문헌[Horn, J. R., et al., Biochemistry, 45: 8488-8498, 2006])과 유사하다. 재조합 ST2-ECD(C-말단 His-태그를 동반하여 HEK293E로부터 발현됨)(서열 번호 157의 잔기 18 내지 328)를 중수 용액 중에 소정의 시간 동안 인큐베이션하여 교환가능한 수소 원자에서 중수소 혼입을 유발시켰다. 고정된 항-ST2L C2244 Fab 분자를 함유하는 컬럼 상에 중수소화 ST2-ECD를 포획한 후, 수성 완충액으로 세척하였다. 백(back)-교환된 ST2-ECD 단백질을 컬럼으로부터 용출시키고, 프로테아제 분해 및 질량 분석에 의해 중수소 함유 단편의 위치를 결정하였다.
- [0387] 도 18은 C2244 Fab와 복합체를 형성한 인간 ST2-ECD(가용성 ST2)의 단순화된 H/D 교환 맵을 나타낸다. 서열 번호 119의 ST2-ECD의 잔기 18 내지 31(아미노산 잔기 RCPRQGKPSYTVDW; 서열 번호 210)은 Fab(서열 번호 1의 전체 길이 ST2L의 잔기 35 내지 48에 상응함)에 의해 보호되었다. 이 데이터는 C2244가 에피토프(RCPRQGKPSYTVDW; 서열 번호 210)에 결합하며, C2244와 경쟁하는 항체(C2494, STLM208, 또는 STLM213)가 동일하거나 중첩되는 에피토프에 결합할 가능성이 있음을 나타낸다.
- [0388] 돌연변이유발에 의한 에피토프 맵핑
- [0389] ST2L 도메인 I에서 상응하는 마우스 잔기로의 치환을 갖는 몇몇 ST2L 돌연변이체를 생성시켰다. 시험 항체는 마우스 ST2L과 교차-반응하지 않으므로, 결합이 감소하고/하거나 없어진 ST2L 변이체는 ST2L 상의 치환 부위에서의 에피토프 잔기를 의미할 것으로 예상된다. 표준 방법을 사용하여 변이체를 서열 번호 1의 전체 길이 ST2L의 잔기 19 내지 205를 갖는 작제물 HH-ST2L로 제조하였다. ELISA 또는 프로테온에 의해 ST2L 변이체에 대한 결합에 대해 항체를 시험하였다.
- [0390] 표면 플라즈몬 공명
- [0391] 프로테온 XPR36 단백질 상호작용 어레이 시스템(바이오-라드)(문헌[Bravman T, et al. Anal Biochem 358:281-288, 2006])을 사용하여 결합 연구를 수행하였다. 항-인간/항-마우스 Fc 혼합물(잭슨 면역노리서치, Cat#, 109-005-098/115-005-071)을 아민-커플링 화학에 의해 GLC 센서 칩 상에 고정시켰다. 이어서, 0.5% 노니덱(Nonidet) P-40 및 0.5% Na-테옥시콜레이트를 함유하는 PBS 중에 제조된 항체 용액을 유동시킴으로써(1 mg/mL) 개별적인 항-ST2L mAb를 포획하였다. 항-Fc-코팅된 표면에서 표면의 신호는 ~250 공명 단위(RU, 1 RU = 1 pg 단백질/mm<sup>2</sup>)에 도달하였으며, 이는 이들 항체가 항-ST2L mAb를 특이적으로 포획함을 확증한다. 유체 시스템의 90° 회전 후에, 야생형의 ST2L-D1D2 또는 변이체 단백질을(0.5% 노니덱 P-40 및 0.5% Na-테옥시콜레이트를 함유하는 PBS 중의 0.5 mg/mL)을 평행 유동 채널에 주입하였다. 이들 어세이는 모두 25°C에서 수행하였다. 항체를 단독으로 고정시킨 표면 상에서 관찰된 반응, 및 비히클을 단독으로 주입하여 관찰된 신호를 감산하여(이는 결합-비의존성 반응에 대한 보정을 가능하게 함) 이중 참조(double referencing)에 의해 표면 상의 ST2L-D1D2-의 존성 신호를 얻었다. 생성되는 센서그램을 가장 단순한 1:1 상호작용 모델(프로테온 분석 소프트웨어)에 의해 적합시켜, 상응하는 회합 및 해리 속도 상수( $k_a$  및  $k_d$ )를 얻었다.
- [0392] 도 19는 제조된 ST2L 변이체, 및 변이체에 대한 ST2B206 및 ST2B252 항-ST2L 항체의 친화력을 나타낸다. 변이체 93NL94(치환 93TF94-> 93NL94)는 STLM208 및 STLB252 양자 모두의 결합 친화력을 약 5-배 만큼 감소시켰다(약  $10.8 \times 10^{-12}$  M로부터 약  $49.5 \times 10^{-12}$  M까지). 결합 친화력의 유의적인 감소의 결여는 항체와 ST2L-D1D2 사이의 상호작용에 대한 결합 에너지가 H/D 교환 분석에 의해 동정된 에피토프 영역(RCPRQGKPSYTVDW; 서열 번호 210)과 이러한 93NL94 부위로부터의 부가적인 기여의 합임을 시사한다. 잔기 번호화는 서열 번호 1의 전체 길이 인간 ST2L에 따른다.
- [0393] 실시예 17. ST2L 도메인 I 결합 항체는 시험관내에서 초대 인간 폐 비만 세포 반응을 저해한다
- [0394] 폐 비만 세포 반응을 저해하는 ST2L 도메인 I 결합 항체의 능력을 초대 인간 폐 비만 세포에서 케모카인 및 사이토카인의 방출에 의해 평가하였다.
- [0395] 초대 인간 폐 비만 세포의 단리
- [0396] 국제 진보 의학 협회(International Institute for the Advancement of Medicine)로부터 입수한 정상 비-흡연자 조직으로부터 초대 인간 폐 비만 세포를 단리하였다. 폐 실질 및 소기도로부터 실질 조직(parenchyma tissue)을 분쇄하고(mincing), 세척하고, 밤새 37°C에서 콜라게나아제 및 히알루로니다아제 효소 중에 분해함으로써 세포를 분산시켰다. 세포를 수집하고, 세척하고, MACS 밀레트나이 바이오텍(MACS Miltenyi Biotec)으로부터의 CD117 마이크로비드 키트(MicroBead Kit)(인간)를 사용하는 강화 절차를 적용하여 개체군으로부터 비만 세

포를 양성으로 선택하였다. 실험 전에, 스템프로-34 + 200 ng/ml 줄기 세포 인자 중에 6 주 동안 비만 세포를 배양하였다. 단리 후 2 주에, 퍼센트 비만 세포 순도를 결정하기 위하여 유세포 분석을 사용하여 세포를 표현형에 대해 특성화하였다. 후속의 어세이에 사용된 세포는 CD117(C-kit 또는 줄기 세포 인자 수용체) 및 Fc $\gamma$ RI(고친화력 IgE 수용체)에 대해 89% 이중 양성이었다. 추가로, 그들은 ST2L에 대해 94.2% 양성이었으며; 이에 의해 그들의 비만 세포 표현형이 확증되었다.

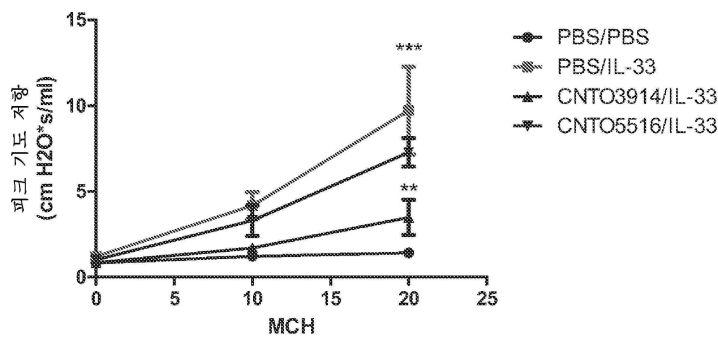
[0397] 초대 인간 폐 비만 세포로부터의 사이토카인 방출 어세이

[0398] 스템프로-34 + 200 ng/ml 줄기 세포 인자 중에 대략 6 주 동안 배양된 초대 인간 폐 비만 세포를 수집하고, RPMI(10% 열-비활성화 FCS) 중의 원심분리에 의해 세척하였다. 세포를 계수하고 RPMI / 10% FCS 배지 중에 65,000 세포의 밀도로 96 웰 플레이트에 플레이팅하였다. 항-ST2L 도메인 I 결합 mAb를 초대 폐 비만 세포에 첨가하고, 30 분 동안 37°C에서 결합시킨 후에 IL-33으로 자극하였다. 배양 상등액 내에 다양한 매개체의 축적을 개시하기 위하여, 세포를 24 시간 동안 3 ng/ml IL-33으로 자극하였다. 배양 상등액을 수확하고 커스텀 밀리플렉스 9-플렉스 키트(custom Milliplex 9-plex kit)에서 어세이할 때까지 냉동 저장하였다.

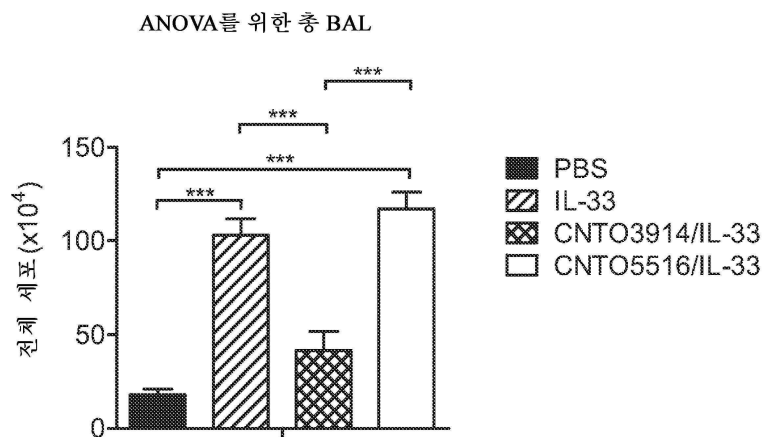
[0399] 항-ST2L 도메인 I 결합 항체, STLM208은 항체 농도 100  $\mu$ g/ml, 10  $\mu$ g/ml, 및 1  $\mu$ g/ml에서 초대 인간 폐 비만 세포 내의 IL-33-유도 GM-CSF(도 20a), IL-5(도 20b), IL-8(도 20c), 및 IL-13(도 20d) 방출을 저해하였다. 제대혈-유래 비만 세포를 사용하여 유사한 결과를 얻었다(데이터는 나타내지 않음).

## 도면

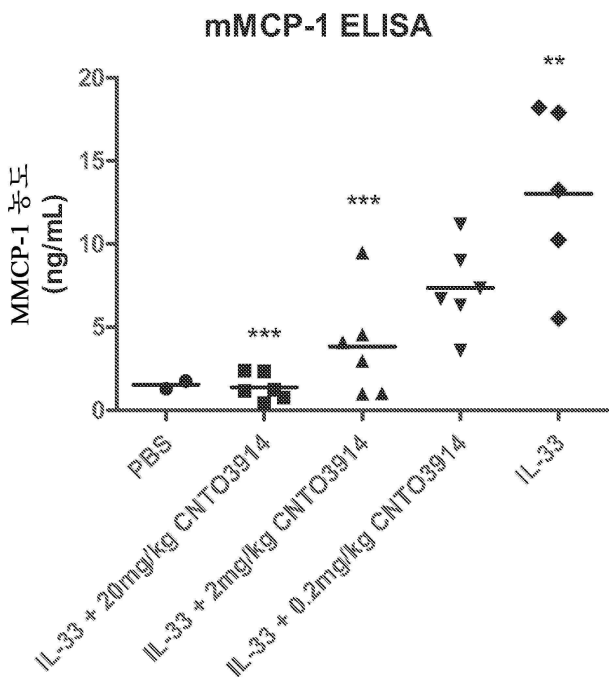
### 도면1



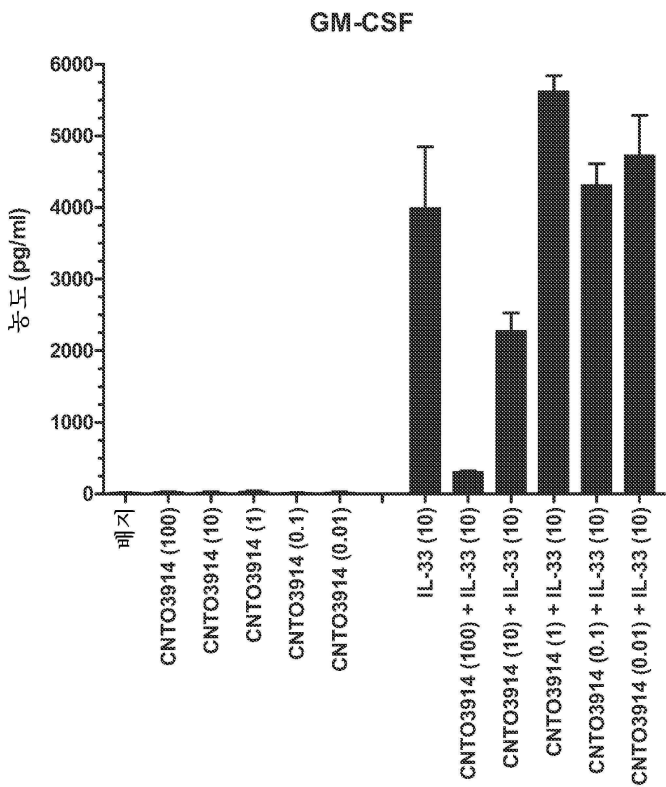
### 도면2



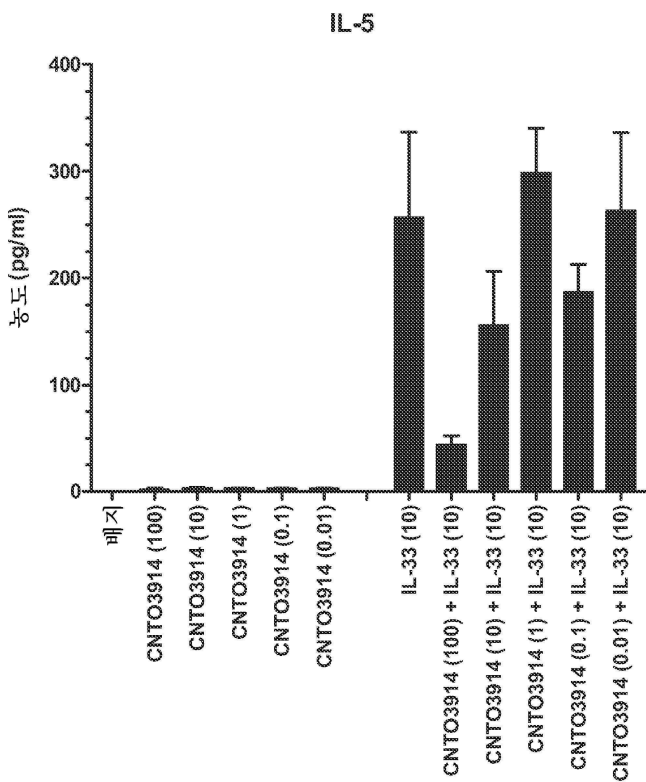
도면3



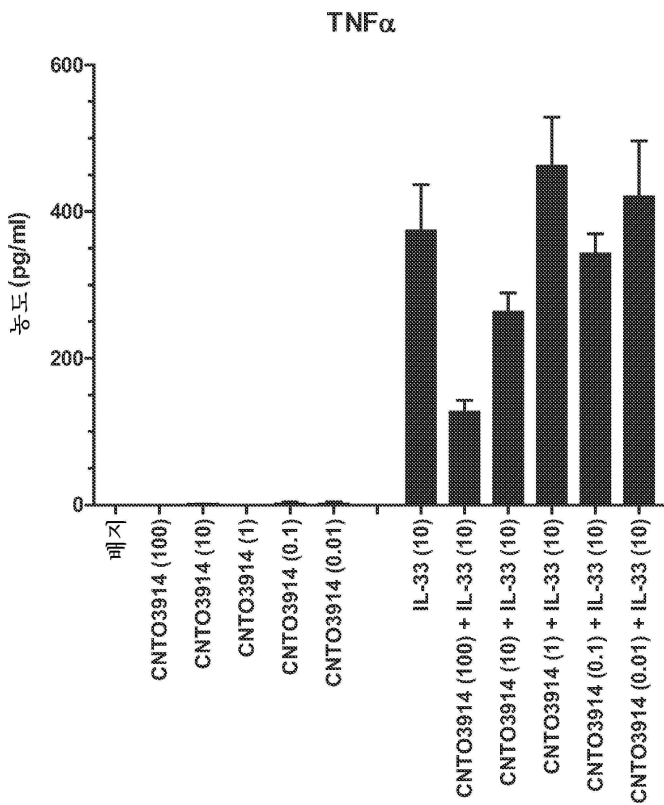
도면4a



도면4b

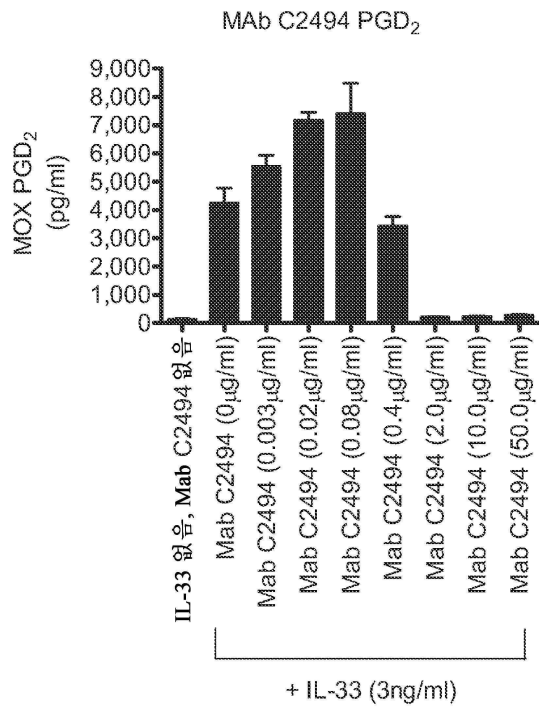


도면4c

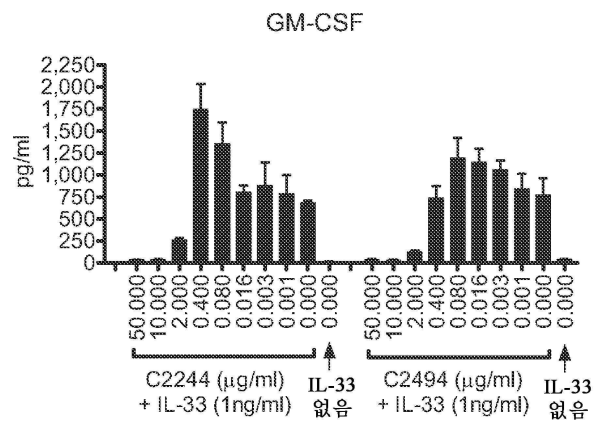




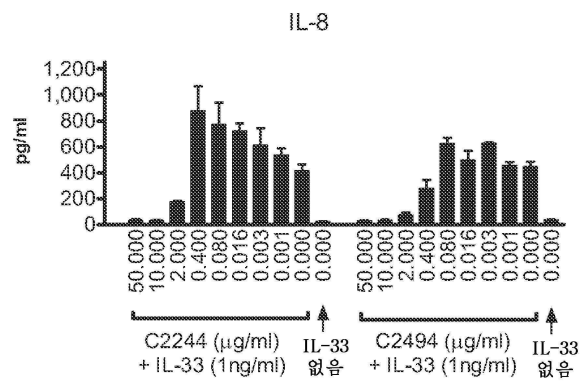
도면5



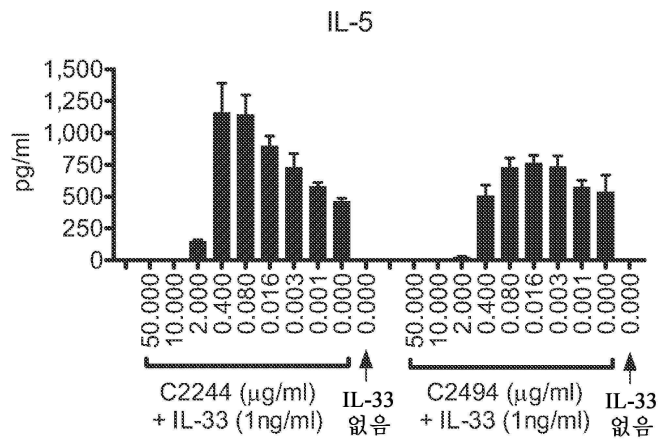
도면6a



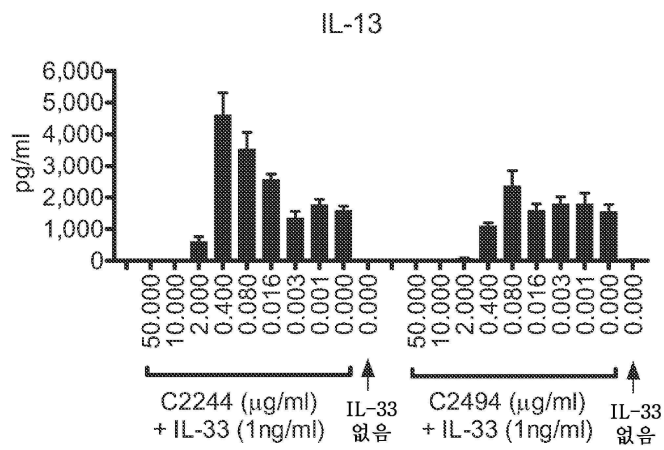
도면6b



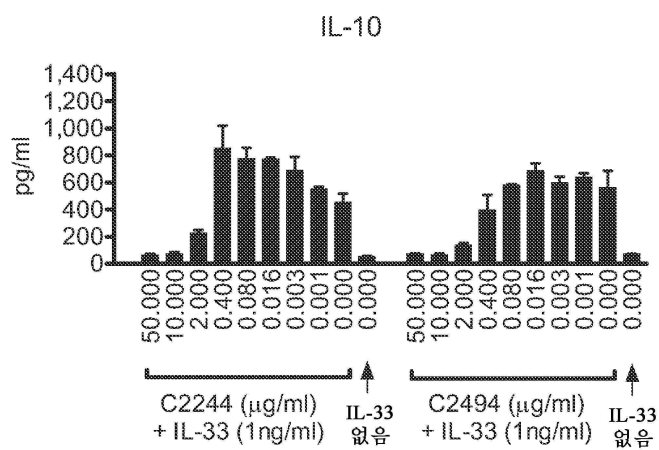
도면6c



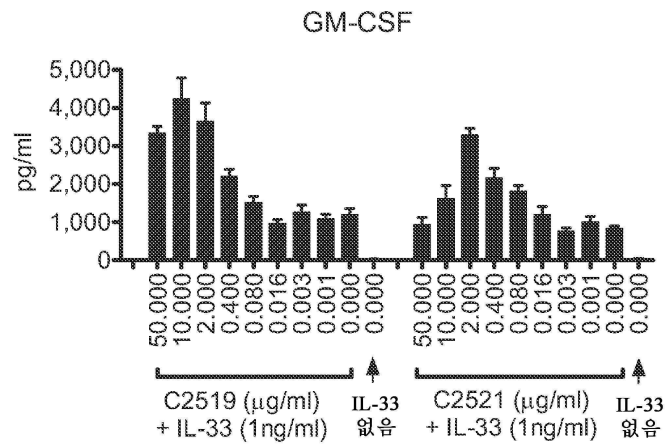
도면6d



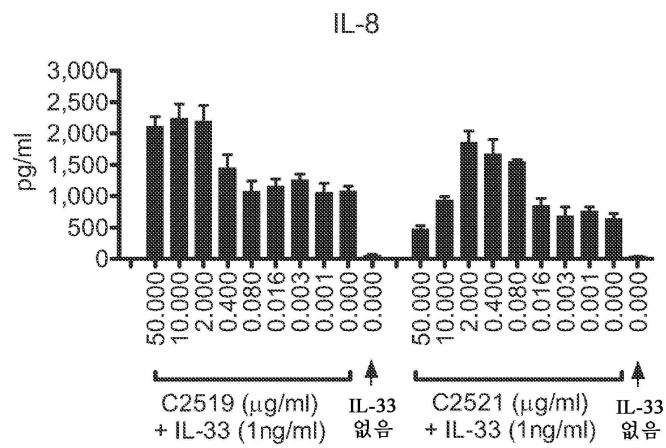
도면6e



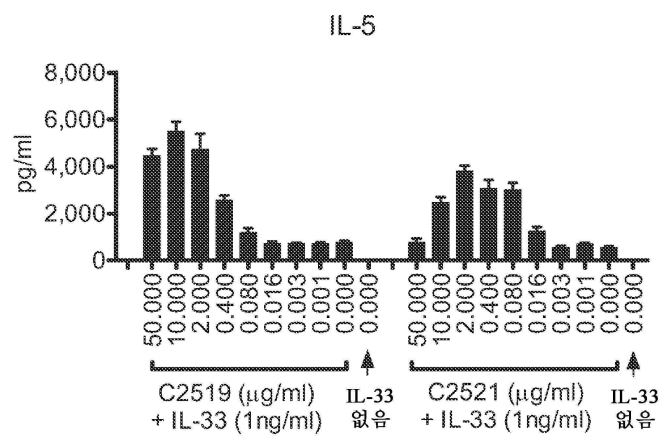
도면7a



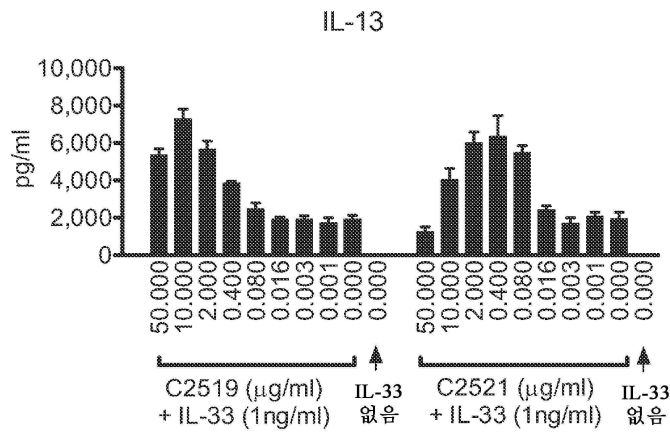
도면7b



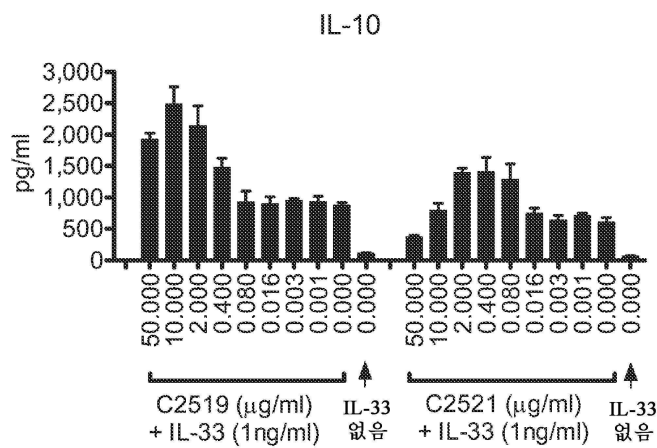
도면7c



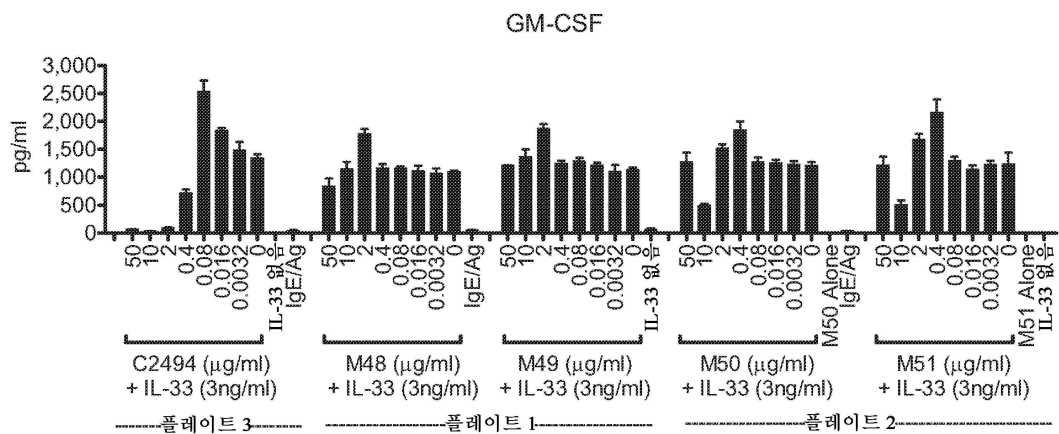
도면7d



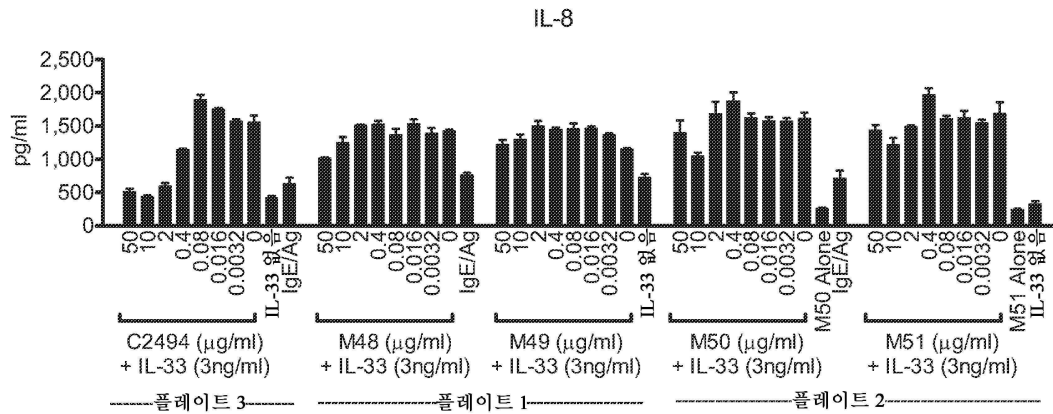
도면7e



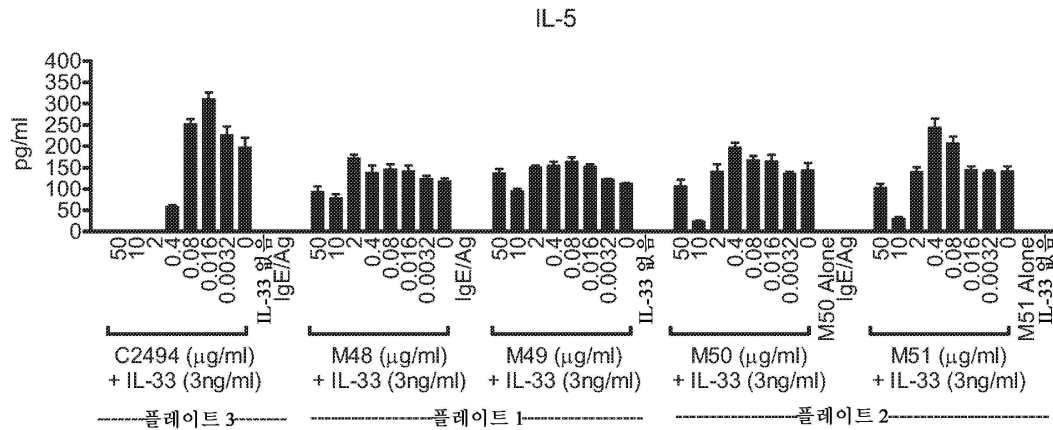
도면8a



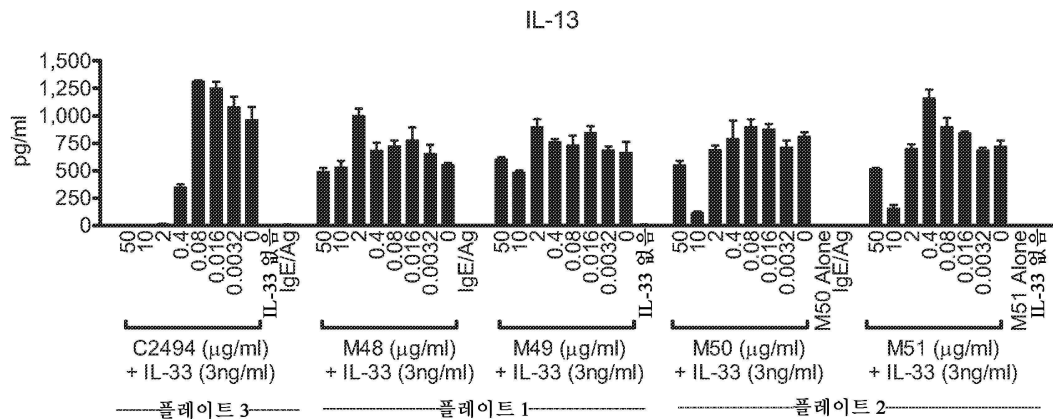
도면8b



도면8c

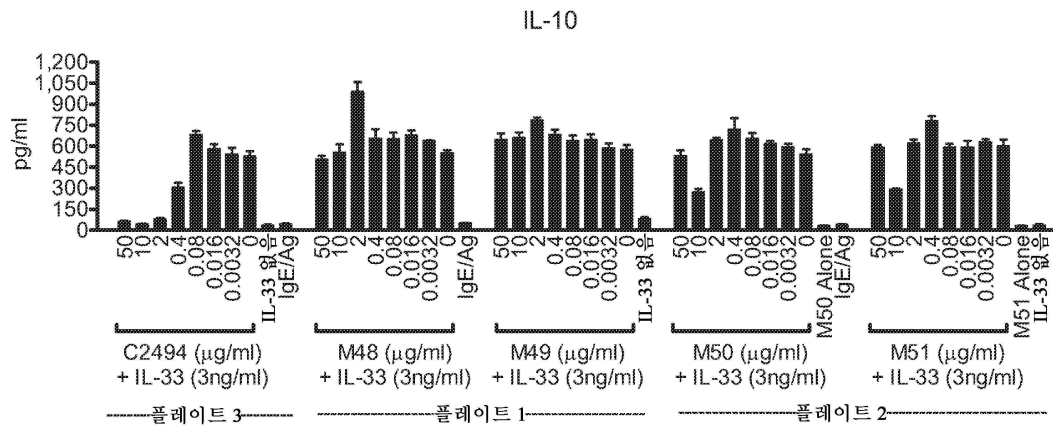


도면8d





도면8e



도면9

스텝프로-34 배지 + 100 ng/mL SCF 중에 1 ng/mL IL-33으로 자극

ST2L 도메인*	Mab	50 μg/mL Mab에 의한 평균 %저해					2 μg/mL Mab에 의한 평균 %저해				
		GM-CSF	IL-5	IL-8	IL-10	IL-13	GM-CSF	IL-5	IL-8	IL-10	IL-13
D1	C2244	95.3	99.4	91.6	86.3	100.0	62.1	68.3	57.1	50.6	62.5
D1	C2494	95.3	99.4	93.5	87.3	100.0	84.1	96.2	83.0	76.1	95.8
D3	C2519	-179.9	-481.5	-95.5	-120.6	-180.0	-205.3	-516.3	-103.3	-144.5	-195.6
D3	C2521	-12.2	-39.4	25.5	38.8	36.0	-295.3	-594.4	-190.0	-130.6	-207.8

RPMI/10% FCS + 100 ng/mL SCF 중에 3 ng/mL IL-33으로 자극

ST2L 도메인*	Mab	50 μg/mL Mab에 의한 평균 %저해					2 μg/mL Mab에 의한 평균 %저해				
		GM-CSF	IL-5	IL-8	IL-10	IL-13	GM-CSF	IL-5	IL-8	IL-10	IL-13
D1	C2494	95.0	99.4	67.0	87.8	99.3	92.9	99.6	62.2	84.7	98.8
D3	ST2M48	23.2	20.7	28.7	8.3	11.0	-61.6	-46.1	-5.8	-79.1	-80.8
D3	ST2M49	-7.0	-20.9	-5.7	-12.4	9.3	-65.4	-33.1	-30.0	-36.8	-35.7
D3	ST2M50	-5.7	25.7	13.2	2.0	31.9	-26.0	1.6	-4.4	-18.7	14.9
D3	ST2M51	1.9	27.3	15.0	1.3	28.6	-35.3	1.2	11.8	-3.6	3.0

\*항체가 결합하는 ST2L 도메인

도면10

mAb/Fab 명칭	VH 명칭	HCDR1		HCDR2		HCDR3	
		서열	서열 번호:	서열	서열 번호:	서열	서열 번호:
ST2F6	ST2H41	SYAMS	78	AISGSGGSTYYADSVKG	81	DPWSTEGSFFVLDY	84
ST2F14	ST2H41	SYAMS	78	AISGSGGSTYYADSVKG	81	DPWSTEGSFFVLDY	84
ST2F17	ST2H41	SYAMS	78	AISGSGGSTYYADSVKG	81	DPWSTEGSFFVLDY	84
ST2F31	ST2H41	SYAMS	78	AISGSGGSTYYADSVKG	81	DPWSTEGSFFVLDY	84
ST2F41	ST2H41	SYAMS	78	AISGSGGSTYYADSVKG	81	DPWSTEGSFFVLDY	84
STLM103	ST2H112	FYDMF	95	SIRGEGGRTDYADSVKG	109	DPWSTEGSFFVLDY	84
STLM107	ST2H52	DYAMF	96	AIEGEGGETNYADSVKG	110	DPWSTEGSFFVLDY	84
STLM108	ST2H50	IYDMI	97	TIKGEggGTYYADSVKG	111	DPWSTEGSFFVLDY	84
STLM123	ST2H52	DYAMF	96	AIEGEGGETNYADSVKG	110	DPWSTEGSFFVLDY	84
STLM124	ST2H50	IYDMI	97	TIKGEggGTYYADSVKG	111	DPWSTEGSFFVLDY	84
STLM206	ST2H232	IYDMI	97	TIRGEGGSTYYADSVKG	112	DPWSTEGSFFVLDY	84
STLM207	ST2H228	SYDMI	98	TIRGEGGTAYADSVKG	113	DPWSTEGSFFVLDY	84
STLM208	ST2H257	IYDMI	97	SIRGEGGTYYADSVKG	114	DPWSTEGSFFVLDY	84
STLM209	ST2H231	IYDMI	97	TIRGEGGSTYADSVKG	115	DPWSTEGSFFVLDY	84
STLM210	ST2H318	DDAMI	99	YIGGNGGTYYADSVKG	116	DPWSTEGSFFVLDY	84
STLM211	ST2H316	GYAMI	100	YIEGEGGETYYADSVKG	117	DPWSTEGSFFVLDY	84
STLM212	ST2H314	VYDMI	101	TIRGEGGTYYADSVKG	118	DPWSTEGSFFVLDY	84
STLM213	ST2H202	FYDMI	102	TIRGEGGDTNYADSVKG	120	DPWSTEGSFFVLDY	84
STLM214	ST2H179	SYDMF	103	DIKGEggRTAYADSVKG	121	DPWSTEGSFFVLDY	84
STLM215	ST2H172	SYDMF	103	AIAGEGGRTYYADSVKG	122	DPWSTEGSFFVLDY	84
STLM216	ST2H173	SYDMF	103	DIKGEggATNYADSVKG	123	DPWSTEGSFFVLDY	84
STLM217	ST2H163	VYDMF	104	DIKGEggETSYADSVKG	124	DPWSTEGSFFVLDY	84
STLM218	ST2H162	VDSMF	105	SIEGNGGATYYADSVKG	125	DPWSTEGSFFVLDY	84
STLM219	ST2H139	GYDMF	106	DIGGEGGSTNYADSVKG	126	DPWSTEGSFFVLDY	84
STLM220	ST2H137	FYDMF	95	DIRGEGGTAYADSVKG	127	DPWSTEGSFFVLDY	84
STLM221	ST2H136	IYDMF	107	YIRGEGGDTNYADSVKG	128	DPWSTEGSFFVLDY	84
STLM222	ST2H129	IYSMF	108	DIGGEGGSTYADSVKG	129	DPWSTEGSFFVLDY	84

도면11

mAb/Fab 명칭	VL 명칭	LCDR1		LCDR2		LCDR3	
		서열	서열 번호:	서열	서열 번호:	서열	서열 번호:
ST2F6	ST2L24	RASQSVDDDLA	87	DASNRAT	90	QQFYNWPLT	92
ST2F14	ST2L32	RASQSVDDDLA	130	DASNRAT	90	QQYIGAPIT	131
ST2F17	ST2L35	RASQSVDDDLA	130	DASNRAT	90	QQYIDAPLT	132
ST2F31	ST2L49	RASQSVDDDLA	130	DASNRAT	90	QQYNDAIT	133
ST2F41	ST2L59	RASQSVDDDLA	130	DASNRAT	90	QQYITAPLT	134
STLM103	ST2L32	RASQSVDDDLA	130	DASNRAT	90	QQYIGAPIT	131
STLM107	ST2L32	RASQSVDDDLA	130	DASNRAT	90	QQYIGAPIT	131
STLM108	ST2L32	RASQSVDDDLA	130	DASNRAT	90	QQYIGAPIT	131
STLM123	ST2L59	RASQSVDDDLA	130	DASNRAT	90	QQYITAPLT	134
STLM124	ST2L59	RASQSVDDDLA	130	DASNRAT	90	QQYITAPLT	134
STLM206	ST2L59	RASQSVDDDLA	130	DASNRAT	90	QQYITAPLT	134
STLM207	ST2L59	RASQSVDDDLA	130	DASNRAT	90	QQYITAPLT	134
STLM208	ST2L59	RASQSVDDDLA	130	DASNRAT	90	QQYITAPLT	134
STLM209	ST2L59	RASQSVDDDLA	130	DASNRAT	90	QQYITAPLT	134
STLM210	ST2L49	RASQSVDDDLA	130	DASNRAT	90	QQYNDAIT	133
STLM211	ST2L49	RASQSVDDDLA	130	DASNRAT	90	QQYNDAIT	133
STLM212	ST2L49	RASQSVDDDLA	130	DASNRAT	90	QQYNDAIT	133
STLM213	ST2L35	RASQSVDDDLA	130	DASNRAT	90	QQYIDAPLT	132
STLM214	ST2L35	RASQSVDDDLA	130	DASNRAT	90	QQYIDAPLT	132
STLM215	ST2L32	RASQSVDDDLA	130	DASNRAT	90	QQYIGAPIT	131
STLM216	ST2L32	RASQSVDDDLA	130	DASNRAT	90	QQYIGAPIT	131
STLM217	ST2L32	RASQSVDDDLA	130	DASNRAT	90	QQYIGAPIT	131
STLM218	ST2L32	RASQSVDDDLA	130	DASNRAT	90	QQYIGAPIT	131
STLM219	ST2L32	RASQSVDDDLA	130	DASNRAT	90	QQYIGAPIT	131
STLM220	ST2L32	RASQSVDDDLA	130	DASNRAT	90	QQYIGAPIT	131
STLM221	ST2L32	RASQSVDDDLA	130	DASNRAT	90	QQYIGAPIT	131
STLM222	ST2L32	RASQSVDDDLA	130	DASNRAT	90	QQYIGAPIT	131

도면12

mAb 명칭	VH 명칭	VL 명칭	H-CDR1		H-CDR2		H-CDR3	
			서열	서열 번호	서열	서열 번호	서열	서열 번호
STLM208	ST2H257	ST2L59	IYDMI	97	SIRGEGGGTYADSVKG	114	DPWSTEGSFFVLDY	84
STLM352	STLH255	ST2L59	IYDMI	97	SIRGEGGGTYADSVKG	114	APWSTEGSFFVLDY	165
STLM351	STLH256	ST2L59	IYDMI	97	SIRGEGGGTYADSVKG	114	RPWSTEGSFFVLDY	166
STLM350	STLH257	ST2L59	IYDMI	97	SIRGEGGGTYADSVKG	114	NPWSTEGSFFVLDY	167
STLM349	STLH258	ST2L59	IYDMI	97	SIRGEGGGTYADSVKG	114	QPWSTEGSFFVLDY	168
STLM348	STLH259	ST2L59	IYDMI	97	SIRGEGGGTYADSVKG	114	EPWSTEGSFFVLDY	169
STLM347	STLH260	ST2L59	IYDMI	97	SIRGEGGGTYADSVKG	114	IPWSTEGSFFVLDY	170
STLM346	STLH261	ST2L59	IYDMI	97	SIRGEGGGTYADSVKG	114	HPWSTEGSFFVLDY	171
STLM345	STLH262	ST2L59	IYDMI	97	SIRGEGGGTYADSVKG	114	SPWSTEGSFFVLDY	172
STLM344	STLH263	ST2L59	IYDMI	97	SIRGEGGGTYADSVKG	114	TPWSTEGSFFVLDY	173
STLM343	STLH264	ST2L59	IYDMI	97	SIRGEGGGTYADSVKG	114	YPWSTEGSFFVLDY	174
STLM342	STLH265	ST2L59	IYDMI	97	SIRGEGGGTYADSVKG	114	DAWSTEGSFFVLDY	175
STLM341	STLH266	ST2L59	IYDMI	97	SIRGEGGGTYADSVKG	114	DHWSTEGSFFVLDY	176
STLM340	STLH267	ST2L59	IYDMI	97	SIRGEGGGTYADSVKG	114	DYWSTEGSFFVLDY	177
STLM339	STLH268	ST2L59	IYDMI	97	SIRGEGGGTYADSVKG	114	DEWSTEGSFFVLDY	178
STLM338	STLH269	ST2L59	IYDMI	97	SIRGEGGGTYADSVKG	114	DQWSTEGSFFVLDY	179
STLM337	STLH270	ST2L59	IYDMI	97	SIRGEGGGTYADSVKG	114	DLWSTEGSFFVLDY	180
STLM336	STLH271	ST2L59	IYDMI	97	SIRGEGGGTYADSVKG	114	DSWSTEGSFFVLDY	181
STLM335	STLH272	ST2L59	IYDMI	97	SIRGEGGGTYADSVKG	114	DNWSTEGSFFVLDY	182
STLM334	STLH273	ST2L59	IYDMI	97	SIRGEGGGTYADSVKG	114	DTWSTEGSFFVLDY	183
STLM333	STLH274	ST2L59	IYDMI	97	SIRGEGGGTYADSVKG	114	DVWSTEGSFFVLDY	184
STLM332	STLH275	ST2L59	IYDMI	97	SIRGEGGGTYADSVKG	114	DIWSTEGSFFVLDY	185

도면13a

mAb	VH 서열 번호	서열	서열 번호:
STLM103	ST2H112	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSFYDMFWVRQAPGKGLEWVSSIRGEGGGTYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDPWSTEGSFFVLDYWGQGTLLTVSS	205
STLM107	ST2H52	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSFYDMFWVRQAPGKGLEWVSSIRGEGGGTYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDPWSTEGSFFVLDYWGQGTLLTVSS	186
STLM108	ST2H50	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSFYDMFWVRQAPGKGLEWVSSIRGEGGGTYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDPWSTEGSFFVLDYWGQGTLLTVSS	187
STLM123	ST2H52	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSFYDMFWVRQAPGKGLEWVSSIRGEGGGTYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDPWSTEGSFFVLDYWGQGTLLTVSS	186
STLM124	ST2H50	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSFYDMFWVRQAPGKGLEWVSSIRGEGGGTYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDPWSTEGSFFVLDYWGQGTLLTVSS	187
STLM206	ST2H232	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSFYDMFWVRQAPGKGLEWVSSIRGEGGGTYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDPWSTEGSFFVLDYWGQGTLLTVSS	192
STLM207	ST2H228	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSFYDMFWVRQAPGKGLEWVSSIRGEGGGTYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDPWSTEGSFFVLDYWGQGTLLTVSS	194
STLM208	ST2H257	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSFYDMFWVRQAPGKGLEWVSSIRGEGGGTYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDPWSTEGSFFVLDYWGQGTLLTVSS	191
STLM209	ST2H231	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSFYDMFWVRQAPGKGLEWVSSIRGEGGGTYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDPWSTEGSFFVLDYWGQGTLLTVSS	193
STLM210	ST2H318	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSFYDMFWVRQAPGKGLEWVSSIRGEGGGTYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDPWSTEGSFFVLDYWGQGTLLTVSS	188
STLM211	ST2H316	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSFYDMFWVRQAPGKGLEWVSSIRGEGGGTYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDPWSTEGSFFVLDYWGQGTLLTVSS	189
STLM212	ST2H314	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSFYDMFWVRQAPGKGLEWVSSIRGEGGGTYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDPWSTEGSFFVLDYWGQGTLLTVSS	190
STLM213	ST2H202	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSFYDMFWVRQAPGKGLEWVSSIRGEGGGTYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDPWSTEGSFFVLDYWGQGTLLTVSS	195
STLM214	ST2H179	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSFYDMFWVRQAPGKGLEWVSSIRGEGGGTYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDPWSTEGSFFVLDYWGQGTLLTVSS	196
STLM215	ST2H172	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSFYDMFWVRQAPGKGLEWVSSIRGEGGGTYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDPWSTEGSFFVLDYWGQGTLLTVSS	198
STLM216	ST2H173	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSFYDMFWVRQAPGKGLEWVSSIRGEGGGTYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDPWSTEGSFFVLDYWGQGTLLTVSS	197
STLM217	ST2H163	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSFYDMFWVRQAPGKGLEWVSSIRGEGGGTYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDPWSTEGSFFVLDYWGQGTLLTVSS	199
STLM218	ST2H162	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSFYDMFWVRQAPGKGLEWVSSIRGEGGGTYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDPWSTEGSFFVLDYWGQGTLLTVSS	200
STLM219	ST2H139	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSFYDMFWVRQAPGKGLEWVSSIRGEGGGTYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDPWSTEGSFFVLDYWGQGTLLTVSS	201
STLM220	ST2H137	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSFYDMFWVRQAPGKGLEWVSSIRGEGGGTYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDPWSTEGSFFVLDYWGQGTLLTVSS	202
STLM221	ST2H136	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSFYDMFWVRQAPGKGLEWVSSIRGEGGGTYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDPWSTEGSFFVLDYWGQGTLLTVSS	203
STLM222	ST2H129	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSFYDMFWVRQAPGKGLEWVSSIRGEGGGTYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDPWSTEGSFFVLDYWGQGTLLTVSS	204



도면 13b

mAb	VH 식별 번호	서열	서열 번호
STLM103	STL232	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRAQSQSVDDDLAWYQKPGQAPRLLIYDASNR ATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELEPEDFAVYYCQQYIGAPITFGQGTKEIK	206
STLM107	STL232	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRAQSQSVDDDLAWYQKPGQAPRLLIYDASNR ATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELEPEDFAVYYCQQYIGAPITFGQGTKEIK	206
STLM108	STL232	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRAQSQSVDDDLAWYQKPGQAPRLLIYDASNR ATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELEPEDFAVYYCQQYIGAPITFGQGTKEIK	206
STLM123	STL259	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRAQSQSVDDDLAWYQKPGQAPRLLIYDASNR ATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELEPEDFAVYYCQQYITAPLITFGQGTKEIK	209
STLM124	STL259	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRAQSQSVDDDLAWYQKPGQAPRLLIYDASNR ATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELEPEDFAVYYCQQYITAPLITFGQGTKEIK	209
STLM206	STL259	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRAQSQSVDDDLAWYQKPGQAPRLLIYDASNR ATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELEPEDFAVYYCQQYITAPLITFGQGTKEIK	209
STLM207	STL259	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRAQSQSVDDDLAWYQKPGQAPRLLIYDASNR ATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELEPEDFAVYYCQQYITAPLITFGQGTKEIK	209
STLM208	STL259	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRAQSQSVDDDLAWYQKPGQAPRLLIYDASNR ATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELEPEDFAVYYCQQYITAPLITFGQGTKEIK	209
STLM209	STL259	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRAQSQSVDDDLAWYQKPGQAPRLLIYDASNR ATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELEPEDFAVYYCQQYITAPLITFGQGTKEIK	209
STLM210	STL249	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRAQSQSVDDDLAWYQKPGQAPRLLIYDASNR ATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELEPEDFAVYYCQQYNDAIIFGQGTKEIK	208
STLM211	STL249	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRAQSQSVDDDLAWYQKPGQAPRLLIYDASNR ATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELEPEDFAVYYCQQYNDAIIFGQGTKEIK	208
STLM212	STL249	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRAQSQSVDDDLAWYQKPGQAPRLLIYDASNR ATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELEPEDFAVYYCQQYNDAIIFGQGTKEIK	208
STLM213	STL235	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRAQSQSVDDDLAWYQKPGQAPRLLIYDASNR ATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELEPEDFAVYYCQQYIDAPLITFGQGTKEIK	207
STLM214	STL235	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRAQSQSVDDDLAWYQKPGQAPRLLIYDASNR ATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELEPEDFAVYYCQQYIDAPLITFGQGTKEIK	207
STLM215	STL232	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRAQSQSVDDDLAWYQKPGQAPRLLIYDASNR ATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELEPEDFAVYYCQQYIGAPITFGQGTKEIK	206
STLM216	STL232	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRAQSQSVDDDLAWYQKPGQAPRLLIYDASNR ATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELEPEDFAVYYCQQYIGAPITFGQGTKEIK	206
STLM217	STL232	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRAQSQSVDDDLAWYQKPGQAPRLLIYDASNR ATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELEPEDFAVYYCQQYIGAPITFGQGTKEIK	206
STLM218	STL232	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRAQSQSVDDDLAWYQKPGQAPRLLIYDASNR ATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELEPEDFAVYYCQQYIGAPITFGQGTKEIK	206
STLM219	STL232	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRAQSQSVDDDLAWYQKPGQAPRLLIYDASNR ATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELEPEDFAVYYCQQYIGAPITFGQGTKEIK	206
STLM220	STL232	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRAQSQSVDDDLAWYQKPGQAPRLLIYDASNR ATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELEPEDFAVYYCQQYIGAPITFGQGTKEIK	206
STLM221	STL232	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRAQSQSVDDDLAWYQKPGQAPRLLIYDASNR ATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELEPEDFAVYYCQQYIGAPITFGQGTKEIK	206
STLM222	STL232	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRAQSQSVDDDLAWYQKPGQAPRLLIYDASNR ATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELEPEDFAVYYCQQYIGAPITFGQGTKEIK	206

도면14

$$V_L =$$

```

1      2      3      4      5      6
123456789012345678901234567890123456789012345678901234567890
>VL2494  ETTVTQSPASLSVATGKVKTIRCITNTNIDIDVHWYQQKPGPEPPKLLISEGNTLRPGVPS
초티아
HFA

```

6 7 8 9 10  
1234567890123456789012345678901234567890123456  
>VL2494 RFSSSGYGTDFVFTIENTLSEDVADYYCQSDNMLTFGAGTKLELK  
초티아 -----  
FEA -----

 $V_H:$ 

```

>VH2494
조티아
HFA

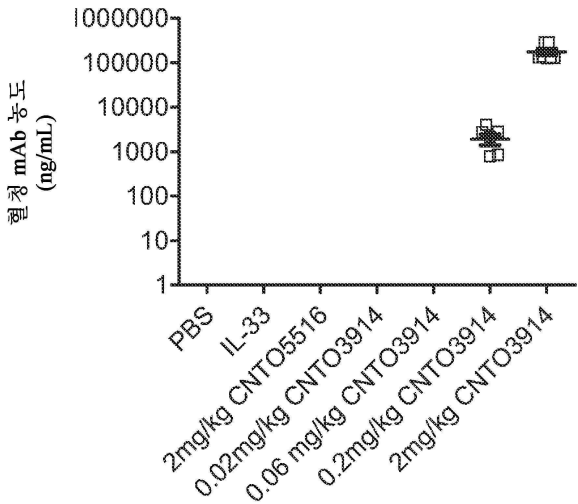
```

도면15

mAb	VL 식별 번호	VH 식별 번호	VL서열 번호	VH서열 번호	H-CDR1		H-CDR2		H-CDR3	
					서열	서열 번호	서열	서열 번호	서열	서열 번호
STLM226	STLL280	STLH201	142	145	DDYMH	24	RIDPAIGNTEYAEKFQG	28	GDFYAMAY	146
STLM227	STLL277	STLH201	140	145	DDYMH	24	RIDPAIGNTEYAEKFQG	28	GDFYAMAY	146
STLM228	STLL276	STLH201	139	145	DDYMH	24	RIDPAIGNTEYAEKFQG	28	GDFYAMAY	146
STLM229	STLL275	STLH201	138	145	DDYMH	24	RIDPAIGNTEYAEKFQG	28	GDFYAMAY	146
STLM230	STLL274	STLH201	137	145	DDYMH	24	RIDPAIGNTEYAEKFQG	28	GDFYAMAY	146
STLM231	STLL273	STLH201	136	145	DDYMH	24	RIDPAIGNTEYAEKFQG	28	GDFYAMAY	146
STLM232	STLL272	STLH201	135	145	DDYMH	24	RIDPAIGNTEYAEKFQG	28	GDFYAMAY	146

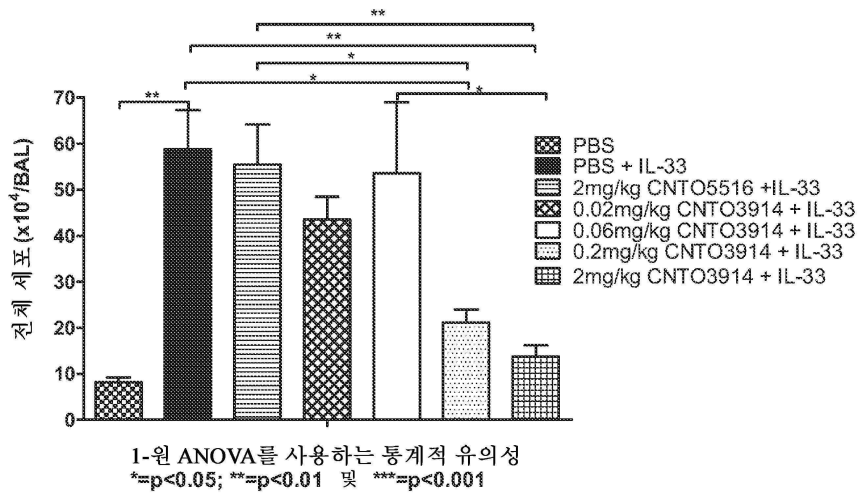
mAb	VL 식별 번호	VH 식별 번호	VL서열 번호	VH서열 번호	L-CDR1		L-CDR2		L-CDR3	
					서열	서열 번호	서열	서열 번호	서열	서열 번호
STLM226	STLL280	STLH201	142	145	ITNTDIDDVIH	36	EGNTLRP	40	LQSDNLLT	147
STLM227	STLL277	STLH201	140	145	ITNTDIDDVIH	36	EGNTLRP	40	LQSDNMLT	44
STLM228	STLL276	STLH201	139	145	ITNTDIDDVIH	36	EGNTLRP	40	LQSDNMLT	44
STLM229	STLL275	STLH201	138	145	ITNTDIDDVIH	36	EGNTLRP	40	LQSDNMLT	44
STLM230	STLL274	STLH201	137	145	ITNTDIDDVIH	36	EGNTLRP	40	LQSDNMLT	44
STLM231	STLL273	STLH201	136	145	ITNTDIDDVIH	36	EGNTLRP	40	LQSDNMLT	44
STLM232	STLL272	STLH201	135	145	ITNTDIDDVIH	36	EGNTLRP	40	LQSDNMLT	44

도면16a

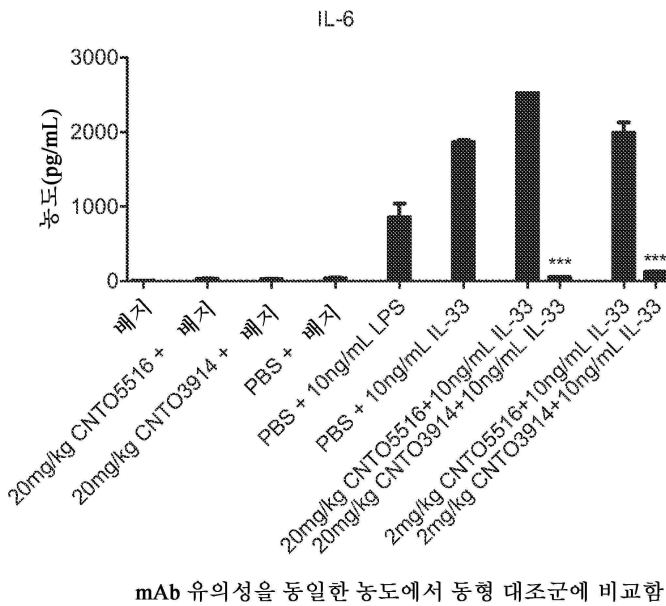




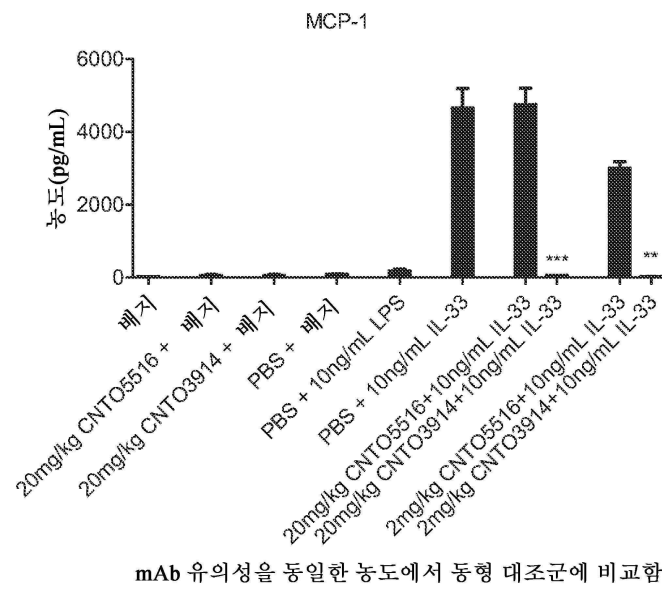
도면16b



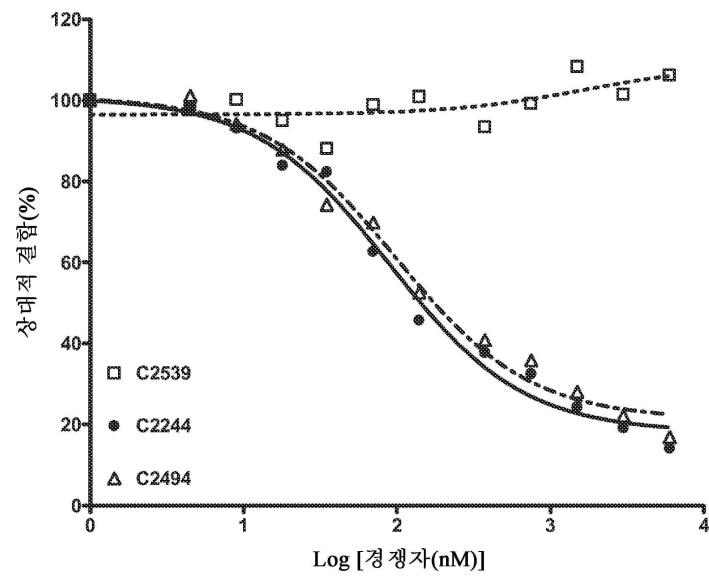
도면16c



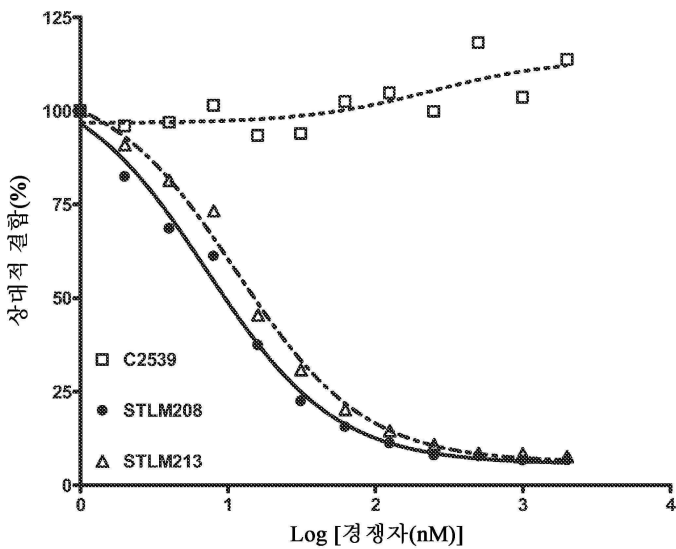
도면16d



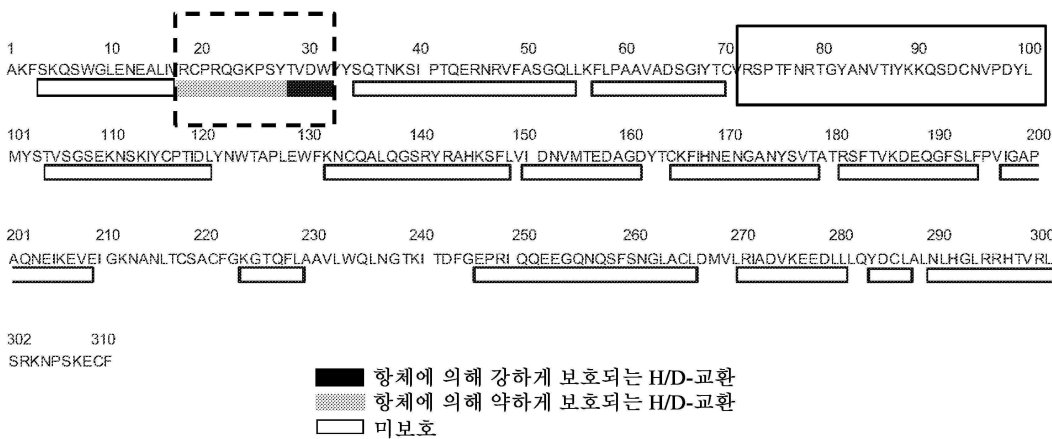
도면17a



도면17b



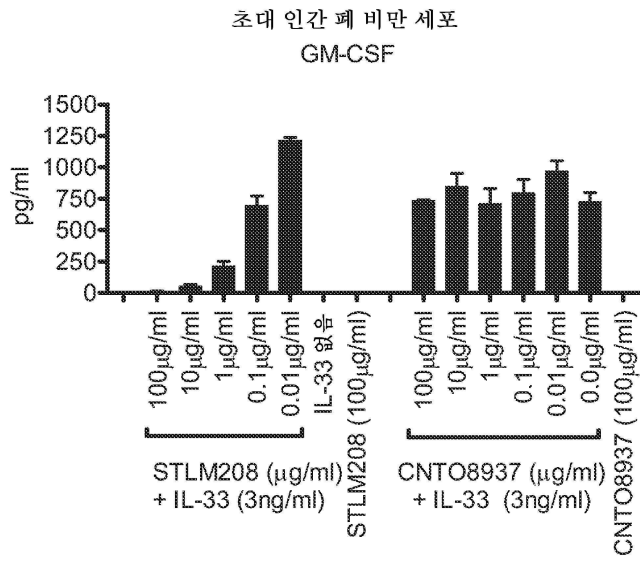
도면18



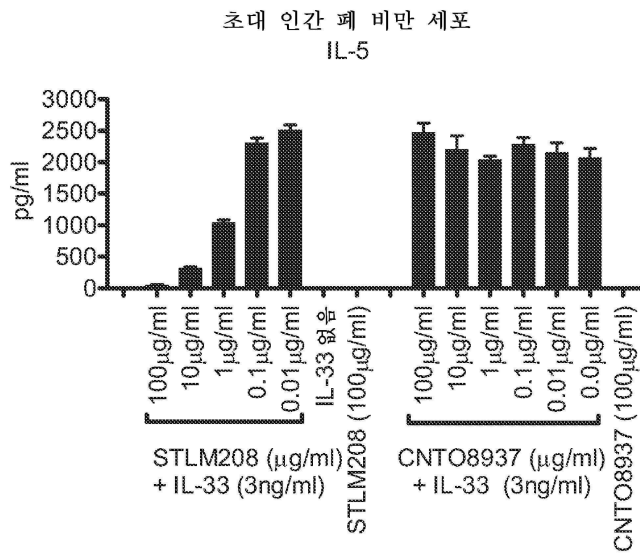
도면19

ST2L 변이체	항체					
	STLB206 (STLM208)			STLB252		
	ka	kd	K <sub>D</sub>	ka	kd	K <sub>D</sub>
	1/Ms	1/s	pM	1/Ms	1/s	pM
야생형	1.14E+07	1.22E-04	10.8	8.85E+06	1.22E-04	13.8
18AKF <sub>20</sub> -->TEG	1.30E+07	2.29E-04	19.3	8.34E+06	1.93E-04	23.2
K <sub>55</sub> E	1.26E+07	1.29E-04	10	1.07E+07	1.26E-04	11.8
E <sub>61</sub> K	1.55E+07	1.26E-04	8.1	1.56E+07	1.21E-04	7.8
69GQL <sub>71</sub> -->RDR	1.02E+07	9.27E-05	9.6	8.06E+06	9.36E-05	11.6
A <sub>78</sub> R	1.24E+07	1.30E-04	10.4	1.08E+07	1.23E-04	11.4
A <sub>80</sub> E	1.15E+07	1.27E-04	11	1.13E+07	1.39E-04	12.4
93TF <sub>94</sub> -->NL	1.27E+07	6.25E-04	49.5	1.07E+07	5.22E-04	48.9
108QSD <sub>110</sub> -->PPS	1.28E+07	1.19E-04	10	8.99E+06	1.17E-04	13

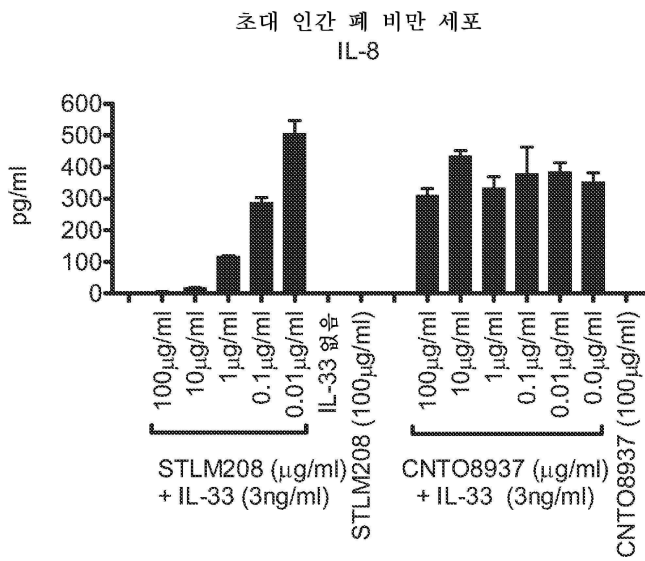
도면20a



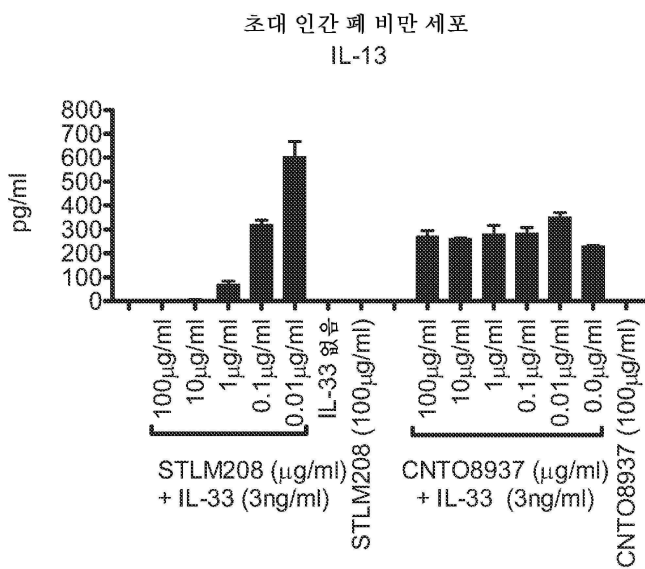
도면20b



도면20c



도면20d



서열 목록

SEQUENCE LISTING

- <110> Janssen Biotech, Inc.  
Duffy, Karen  
Fursoy, Natalie  
Hall, LeRoy  
Healey, Catherine  
Lamb, Roberta  
Luo, Jinqun  
Malaviya, Ravi



Naso, Michael  
 Pratta, Michael  
 Tornetta, Mark  
 Wheeler, John  
 Wu, Sheng-Jiu

<120> ST2L antagonists and methods of use

<130> JBI5003WOPCT

<140> PCT/US13/38637

<141> 2013-04-29

<150> US 61/640,407

<151> 2012-04-30

<150>

US 61/640,238

<151> 2012-04-30

<150> US 13/798,204

<151> 2013-03-13

<150> US 13/798,226

<151> 2013-03-13

<160> 215

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 556

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

Met Gly Phe Trp Ile Leu Ala Ile Leu Thr Ile Leu Met Tyr Ser Thr

1 5 10 15

Ala Ala Lys Phe Ser Lys Gln Ser Trp Gly Leu Glu Asn Glu Ala Leu

20 25 30

Ile Val Arg Cys Pro Arg Gln Gly Lys Pro Ser Tyr Thr Val Asp Trp

35 40 45

Tyr Tyr Ser Gln Thr Asn Lys Ser Ile Pro Thr Gln Glu Arg Asn Arg

50 55 60

Val	Phe	Ala	Ser	Gly	Gln	Leu	Leu	Lys	Phe	Leu	Pro	Ala	Ala	Val	Ala
65				70				75				80			
Asp	Ser	Gly	Ile	Tyr	Thr	Cys	Ile	Val	Arg	Ser	Pro	Thr	Phe	Asn	Arg
85				90				95							
Thr	Gly	Tyr	Ala	Asn	Val	Thr	Ile	Tyr	Lys	Lys	Gln	Ser	Asp	Cys	Asn
100				105				110							
Val	Pro	Asp	Tyr	Leu	Met	Tyr	Ser	Thr	Val	Ser	Gly	Ser	Glu	Lys	Asn
115				120				125							
Ser	Lys	Ile	Tyr	Cys	Pro	Thr	Ile	Asp	Leu	Tyr	Asn	Trp	Thr	Ala	Pro
130				135				140							
Leu	Glu	Trp	Phe	Lys	Asn	Cys	Gln	Ala	Leu	Gln	Gly	Ser	Arg	Tyr	Arg
145				150				155				160			
Ala	His	Lys	Ser	Phe	Leu	Val	Ile	Asp	Asn	Val	Met	Thr	Glu	Asp	Ala
165				170				175							
Gly	Asp	Tyr	Thr	Cys	Lys	Phe	Ile	His	Asn	Glu	Asn	Gly	Ala	Asn	Tyr
180				185				190							
Ser	Val	Thr	Ala	Thr	Arg	Ser	Phe	Thr	Val	Lys	Asp	Glu	Gln	Gly	Phe
195				200				205							
Ser	Leu	Phe	Pro	Val	Ile	Gly	Ala	Pro	Ala	Gln	Asn	Glu	Ile	Lys	Glu
210				215				220							
Val	Glu	Ile	Gly	Lys	Asn	Ala	Asn	Leu	Thr	Cys	Ser	Ala	Cys	Phe	Gly
225				230				235				240			
Lys	Gly	Thr	Gln	Phe	Leu	Ala	Ala	Val	Leu	Trp	Gln	Leu	Asn	Gly	Thr
245				250				255							
Lys	Ile	Thr	Asp	Phe	Gly	Glu	Pro	Arg	Ile	Gln	Gln	Glu	Glu	Gly	Gln
260				265				270							
Asn	Gln	Ser	Phe	Ser	Asn	Gly	Leu	Ala	Cys	Leu	Asp	Met	Val	Leu	Arg
275				280				285							
Ile	Ala	Asp	Val	Lys	Glu	Glu	Asp	Leu	Leu	Leu	Gln	Tyr	Asp	Cys	Leu
290				295				300							
Ala	Leu	Asn	Leu	His	Gly	Leu	Arg	Arg	His	Thr	Val	Arg	Leu	Ser	Arg

305                      310                      315                      320  
 Lys Asn Pro Ile Asp His His Ser Ile Tyr Cys Ile Ile Ala Val Cys  
                          325                      330                      335  
 Ser Val Phe Leu Met Leu Ile Asn Val Leu Val Ile Ile Leu Lys Met  
                          340                      345                      350  
 Phe Trp Ile Glu Ala Thr Leu Leu Trp Arg Asp Ile Ala Lys Pro Tyr  
  
                          355                      360                      365  
 Lys Thr Arg Asn Asp Gly Lys Leu Tyr Asp Ala Tyr Val Val Tyr Pro  
                          370                      375                      380  
 Arg Asn Tyr Lys Ser Ser Thr Asp Gly Ala Ser Arg Val Glu His Phe  
 385                      390                      395                      400  
 Val His Gln Ile Leu Pro Asp Val Leu Glu Asn Lys Cys Gly Tyr Thr  
                          405                      410                      415  
 Leu Cys Ile Tyr Gly Arg Asp Met Leu Pro Gly Glu Asp Val Val Thr  
  
                          420                      425                      430  
 Ala Val Glu Thr Asn Ile Arg Lys Ser Arg Arg His Ile Phe Ile Leu  
                          435                      440                      445  
 Thr Pro Gln Ile Thr His Asn Lys Glu Phe Ala Tyr Glu Gln Glu Val  
                          450                      455                      460  
 Ala Leu His Cys Ala Leu Ile Gln Asn Asp Ala Lys Val Ile Leu Ile  
 465                      470                      475                      480  
 Glu Met Glu Ala Leu Ser Glu Leu Asp Met Leu Gln Ala Glu Ala Leu  
  
                          485                      490                      495  
 Gln Asp Ser Leu Gln His Leu Met Lys Val Gln Gly Thr Ile Lys Trp  
                          500                      505                      510  
 Arg Glu Asp His Ile Ala Asn Lys Arg Ser Leu Asn Ser Lys Phe Trp  
                          515                      520                      525  
 Lys His Val Arg Tyr Gln Met Pro Val Pro Ser Lys Ile Pro Arg Lys  
                          530                      535                      540  
 Ala Ser Ser Leu Thr Pro Leu Ala Ala Gln Lys Gln  
  
 545                      550                      555

<210> 2

<211> 556

<212> PRT

<213> *Macaca fascicularis*

<400> 2

Met Gly Leu Trp Ile Leu Ala Ile Leu Thr Ile Leu Val Tyr Ser Thr

1 5 10 15

Ala Ala Lys Phe Ser Lys Gln Ser Trp Gly Leu Glu Asn Glu Ala Leu

20 25 30

Ile Val Arg Cys Pro Arg Gln Gly Lys Ser Ser Tyr Ile Val Asp Trp

35 40 45

Tyr Tyr Ser Gln Thr Asn Lys Ser Ile Pro Thr Gln Glu Arg Asn Arg

50 55 60

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

65 70 75 80

Asp Ser Gly Ile Tyr Thr Cys Ile Val Arg Ser Pro Thr Phe Asn Arg

85 90 95

Thr Gly Tyr Ala Asn Val Thr Ile Tyr Lys Lys Gln Pro Asp Cys Asn

100 105 110

Val Pro Asp Tyr Leu Met Tyr Ser Thr Val Ser Gly Ser Glu Lys Asn

115 120 125

Ser Lys Ile Tyr Cys Pro Thr Ile Asp Leu Tyr Asn Trp Thr Ala Pro

130 135 140

Leu Glu Trp Phe Lys Asn Cys Gln Ala Leu Gln Gly Ser Arg Tyr Lys

145 150 155 160

Ala His Lys Ser Phe Leu Val Ile Asp Asn Val Met Thr Asp Asp Ala

165 170 175

Gly Asp Tyr Thr Cys Lys Phe Ile His Asn Glu Asn Gly Ala Asn Tyr

180 185 190

Ser Val Thr Ala Thr Arg Ser Phe Thr Val Lys Asp Glu Gln Gly Phe

195 200 205

Ser Leu Phe Pro Val Ile Arg Ala Pro Ala His Asn Glu Thr Lys Glu

210                      215                      220  
 Val Glu Ile Gly Glu Asn Thr Asn Leu Thr Cys Ser Ala Cys Phe Gly  
 225                      230                      235                      240  
  
 Lys Gly Ala Gln Phe Leu Ala Thr Val Gln Trp Gln Leu Asn Gly Asn  
                          245                      250                      255  
 Lys Ile Thr Asp Phe Ser Glu Pro Arg Ile Gln Gln Glu Glu Gly Gln  
                          260                      265                      270  
 Asn Gln Ser Phe Ser Asn Gly Leu Ala Cys Val Asn Thr Val Leu Arg  
                          275                      280                      285  
 Ile Ala Asp Val Lys Glu Glu Asp Leu Leu Leu Arg Tyr Asp Cys Leu  
                          290                      295                      300  
  
 Ala Leu Asn Leu His Gly Leu Arg Arg His Thr Ile Arg Leu Ser Arg  
 305                      310                      315                      320  
 Lys Asn Pro Ile Asp His Gln Ser Thr Tyr Cys Ile Ile Ala Val Cys  
                          325                      330                      335  
 Ser Val Leu Leu Met Leu Ile Asn Val Leu Val Ile Ile Leu Lys Thr  
                          340                      345                      350  
 Phe Trp Ile Glu Ala Thr Leu Leu Trp Arg Asp Ile Ala Lys Pro Tyr  
                          355                      360                      365  
  
 Lys Thr Arg Asn Asp Gly Lys Leu Tyr Asp Ala Tyr Val Ile Tyr Pro  
                          370                      375                      380  
 Arg Asn Tyr Thr Ser Ser Thr Asp Gly Ala Ser Arg Val Glu Tyr Phe  
 385                      390                      395                      400  
 Val His Gln Ile Leu Pro Asp Val Leu Glu Asn Lys Cys Gly Tyr Thr  
                          405                      410                      415  
 Leu Cys Ile Tyr Gly Arg Asp Met Leu Pro Gly Glu Asp Val Val Thr  
                          420                      425                      430  
  
 Ala Val Glu Thr Asn Ile Arg Lys Ser Arg Arg His Ile Phe Ile Leu  
                          435                      440                      445  
 Thr Pro Gln Ile Thr His Asn Glu Glu Phe Ala Tyr Glu Gln Glu Val  
                          450                      455                      460



Ala Leu His Ser Ala Leu Ile Gln Asn Asp Ser Lys Val Ile Leu Ile  
465 470 475 480  
Glu Met Glu Ala Leu Ser Glu Leu Asp Met Leu Gln Ala Glu Ala Leu  
485 490 495

Gln Asp Ser Leu Arg His Leu Met Glu Val Gln Gly Thr Ile Lys Trp  
500 505 510  
Arg Glu Asp His Val Ala Asn Lys Arg Ser Leu Asn Ser Lys Phe Trp  
515 520 525  
Lys His Val Arg Tyr Gln Met Pro Val Pro Ser Lys Met Pro Arg Lys  
530 535 540  
Ala Ser Ser Leu Thr Ser Leu Ala Ala Gln Lys Gln  
545 550 555

<210> 3  
<211  
> 270  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens  
<400> 3

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

Ile Thr Gly Ile Ser Pro Ile Thr Glu Tyr Leu Ala Ser Leu Ser Thr

115 120 125

Tyr Asn Asp Gln Ser Ile Thr Phe Ala Leu Glu Asp Glu Ser Tyr Glu

130 135 140

Ile Tyr Val Glu Asp Leu Lys Lys Asp Glu Lys Lys Asp Lys Val Leu

145 150 155 160

Leu Ser Tyr Tyr Glu Ser Gln His Pro Ser Asn Glu Ser Gly Asp Gly

165 170 175

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

180 185 190

Trp Leu His Ala Asn Asn Lys Glu His Ser Val Glu Leu His Lys Cys

195 200 205

Glu Lys Pro Leu Pro Asp Gln Ala Phe Phe Val Leu His Asn Met His

210 215 220

Ser Asn Cys Val Ser Phe Glu Cys Lys Thr Asp Pro Gly Val Phe Ile

225 230 235 240

Gly Val Lys Asp Asn His Leu Ala Leu Ile Lys Val Asp Ser Ser Glu

245 250 255

Asn Leu Cys Thr Glu Asn Ile Leu Phe Lys Leu Ser Glu Thr

260 265 270

<210> 4

<211> 269

<212> PRT

<213> *Macaca fascicularis*

<400> 4

Met Lys Pro Lys Met Lys Tyr Ser Thr Asn Lys Ile Ser Thr Ala Lys

1 5 10 15

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

20 25 30

Gln Gln Lys Ala Lys Glu Val Cys His Val Tyr Phe Met Lys Leu Arg

35 40 45

Ser Gly Leu Met Ile Lys Lys Glu Ala Cys Tyr Phe Arg Arg Glu Thr  
50 55 60

Thr Lys Arg Pro Ser Leu Lys Thr Gly Gly Lys His Lys Gly His Leu  
65 70 75 80

Val Leu Ala Ala Cys Gln Gln Gln Ser Thr Val Glu Cys Phe Ala Phe  
85 90 95

Gly Ile Ser Gly Val Pro Lys Tyr Thr Arg Ala Leu His Asp Ser Ser  
100 105 110

Ile Thr Gly Ile Ser Pro Ile Thr Glu Ser Leu Ala Ser Leu Ser Thr  
115 120 125

Tyr Asn Asp Gln Ser Ile Thr Phe Ala Leu Glu Asp Glu Ser Tyr Glu  
130 135 140

Ile Tyr Val Glu Asp Leu Lys Lys Asp Lys Lys Lys Asp Lys Val Leu  
145 150 155 160

Leu Ser Tyr Tyr Glu Ser Gln His Pro Ser Ser Glu Ser Gly Asp Gly  
165 170 175

Val Asp Gly Lys Met Leu Met Val Thr Leu Ser Pro Thr Lys Asp Phe  
180 185 190

Trp Leu Gln Ala Asn Asn Lys Glu His Ser Val Glu Leu His Lys Cys  
195 200 205

Glu Lys Pro Leu Pro Asp Gln Ala Phe Phe Val Leu His Asn Arg Ser  
210 215 220

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

Gly Val Lys Asp Asn His Leu Ala Leu Ile Lys Val Asp Tyr Ser Glu  
245 250 255

Asn Leu Gly Ser Glu Asn Ile Leu Phe Lys Leu Ser Glu  
260 265

<210> 5

<211> 567

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 5

Met Ile Asp Arg Gln Arg Met Gly Leu Trp Ala Leu Ala Ile Leu Thr  
1 5 10 15

Leu Pro Met Tyr Leu Thr Val Thr Glu Gly Ser Lys Ser Ser Trp Gly  
20 25 30

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

Thr Tyr Pro Val Glu Trp Tyr Tyr Ser Asp Thr Asn Glu Ser Ile Pro  
50 55 60

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

Leu Pro Ala Arg Val Glu Asp Ser Gly Ile Tyr Ala Cys Val Ile Arg  
85 90 95

Ser Pro Asn Leu Asn Lys Thr Gly Tyr Leu Asn Val Thr Ile His Lys  
100 105 110

Lys Pro Pro Ser Cys Asn Ile Pro Asp Tyr Leu Met Tyr Ser Thr Val  
115 120 125

Arg Gly Ser Asp Lys Asn Phe Lys Ile Thr Cys Pro Thr Ile Asp Leu  
130 135 140

Tyr Asn Trp Thr Ala Pro Val Gln Trp Phe Lys Asn Cys Lys Ala Leu  
145 150 155 160

Gln Glu Pro Arg Phe Arg Ala His Arg Ser Tyr Leu Phe Ile Asp Asn  
165 170 175

Val Thr His Asp Asp Glu Gly Asp Tyr Thr Cys Gln Phe Thr His Ala  
180 185 190

Glu Asn Gly Thr Asn Tyr Ile Val Thr Ala Thr Arg Ser Phe Thr Val  
195 200 205

Glu Glu Lys Gly Phe Ser Met Phe Pro Val Ile Thr Asn Pro Pro Tyr  
210 215 220

Asn His Thr Met Glu Val Glu Ile Gly Lys Pro Ala Ser Ile Ala Cys  
225 230 235 240

Ser Ala Cys Phe Gly Lys Gly Ser His Phe Leu Ala Asp Val Leu Trp  
245 250 255

Gln Ile Asn Lys Thr Val Val Gly Asn Phe Gly Glu Ala Arg Ile Gln  
260 265 270

Glu Glu Glu Gly Arg Asn Glu Ser Ser Ser Asn Asp Met Asp Cys Leu  
275 280 285

Thr Ser Val Leu Arg Ile Thr Gly Val Thr Glu Lys Asp Leu Ser Leu  
290 295 300

Glu Tyr Asp Cys Leu Ala Leu Asn Leu His Gly Met Ile Arg His Thr  
305 310 315 320

Ile Arg Leu Arg Arg Lys Gln Pro Ile Asp His Arg Ser Ile Tyr Tyr  
325 330 335

Ile Val Ala Gly Cys Ser Leu Leu Leu Met Phe Ile Asn Val Leu Val  
340 345 350

Ile Val Leu Lys Val Phe Trp Ile Glu Val Ala Leu Phe Trp Arg Asp  
355 360 365

Ile Val Thr Pro Tyr Lys Thr Arg Asn Asp Gly Lys Leu Tyr Asp Ala  
370 375 380

Tyr Ile Ile Tyr Pro Arg Val Phe Arg Gly Ser Ala Ala Gly Thr His  
385 390 395 400

Ser Val Glu Tyr Phe Val His His Thr Leu Pro Asp Val Leu Glu Asn  
405 410 415

Lys Cys Gly Tyr Lys Leu Cys Ile Tyr Gly Arg Asp Leu Leu Pro Gly  
420 425 430

Gln Asp Ala Ala Thr Val Val Glu Ser Ser Ile Gln Asn Ser Arg Arg  
435 440 445

Gln Val Phe Val Leu Ala Pro His Met Met His Ser Lys Glu Phe Ala  
450 455 460

Tyr Glu Gln Glu Ile Ala Leu His Ser Ala Leu Ile Gln Asn Asn Ser  
465 470 475 480

Lys Val Ile Leu Ile Glu Met Glu Pro Leu Gly Glu Ala Ser Arg Leu



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

Ser Ser Lys Phe Trp Lys His Val Arg Tyr Gln Met Pro Val Pro Glu  
530 535 540  
Arg Ala Ser Lys Thr Ala Ser Val Ala Ala Pro Leu Ser Gly Lys Ala  
545 550 555 560  
Cys Leu Asp Leu Lys His Phe  
565

<210> 6

<211> 300

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> ST2L human mouse chimera HHM

<400> 6

Lys Phe Ser Lys Gln Ser Trp Gly Leu Glu Asn Glu Ala Leu Ile Val  
1 5 10 15

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

Tyr Ala Asn Val Thr Ile Tyr Lys Lys Gln Ser Asp Cys Asn Val Pro  
85 90 95  
Asp Tyr Leu Met Tyr Ser Thr Val Ser Gly Ser Glu Lys Asn Ser Lys  
100 105 110  
Ile Tyr Cys Pro Thr Ile Asp Leu Tyr Asn Trp Thr Ala Pro Leu Glu

115 120 125  
Trp Phe Lys Asn Cys Gln Ala Leu Gln Gly Ser Arg Tyr Arg Ala His  
130 135 140

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

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

Val Thr Glu Lys Asp Leu Ser Leu Glu Tyr Asp Cys Leu Ala Leu Asn  
275 280 285  
Leu His Gly Met Ile Arg His Thr Ile Arg Leu Arg  
290 295 300

<210> 7

<211> 297

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> ST2L human-mouse chimera MHM

<400> 7

Lys Ser Ser Trp Gly Leu Glu Asn Glu Ala Leu Ile Val Arg Cys Pro  
1 5 10 15

Gln Arg Gly Arg Ser Thr Tyr Pro Val Glu Trp Tyr Tyr Ser Asp Thr

20 25 30

Asn Glu Ser Ile Pro Thr Gln Lys Arg Asn Arg Ile Phe Val Ser Arg

35 40 45

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

50 55 60

Ala Cys Val Ile Arg Ser Pro Asn Leu Asn Lys Thr Gly Tyr Leu Asn

65 70 75 80

Val Thr Ile His Lys Lys Pro Pro Ser Cys Asn Ile Pro Asp Tyr Leu

85 90 95

Met Tyr Ser Thr Val Ser Gly Ser Glu Lys Asn Ser Lys Ile Tyr Cys

100 105 110

Pro Thr Ile Asp Leu Tyr Asn Trp Thr Ala Pro Leu Glu Trp Phe Lys

115 120 125

Asn Cys Gln Ala Leu Gln Gly Ser Arg Tyr Arg Ala His Lys Ser Phe

130 135 140

Leu Val Ile Asp Asn Val Met Thr Glu Asp Ala Gly Asp Tyr Thr Cys

145 150 155 160

Lys Phe Ile His Asn Glu Asn Gly Ala Asn Tyr Ser Val Thr Ala Thr

165 170 175

Arg Ser Phe Thr Val Glu Glu Lys Gly Phe Ser Met Phe Pro Val Ile

180 185 190

Thr Asn Pro Pro Tyr Asn His Thr Met Glu Val Glu Ile Gly Lys Pro

195 200 205

Ala Ser Ile Ala Cys Ser Ala Cys Phe Gly Lys Gly Ser His Phe Leu

210 215 220

Ala Asp Val Leu Trp Gln Ile Asn Lys Thr Val Val Gly Asn Phe Gly

225 230 235 240

Glu Ala Arg Ile Gln Glu Glu Glu Gly Arg Asn Glu Ser Ser Ser Asn

245 250 255

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

260 265 270  
Lys Asp Leu Ser Leu Glu Tyr Asp Cys Leu Ala Leu Asn Leu His Gly

275 280 285  
Met Ile Arg His Thr Ile Arg Leu Arg

290 295  
<210> 8  
<211> 303  
<212> PRT  
<213> Artificial sequence  
<220><223> ST2L human-mouse chimera HMM  
<400> 8

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

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

Asp Tyr Leu Met Tyr Ser Thr Val Arg Gly Ser Asp Lys Asn Phe Lys  
100 105 110  
Ile Thr Cys Pro Thr Ile Asp Leu Tyr Asn Trp Thr Ala Pro Val Gln  
115 120 125  
Trp Phe Lys Asn Cys Lys Ala Leu Gln Glu Pro Arg Phe Arg Ala His  
130 135 140  
Arg Ser Tyr Leu Phe Ile Asp Asn Val Thr His Asp Asp Glu Gly Asp  
145 150 155 160

Tyr Thr Cys Gln Phe Thr His Ala Glu Asn Gly Thr Asn Tyr Ile Val  
 165 170 175  
 Thr Ala Thr Arg Ser Phe Thr Val Lys Asp Glu Gln Gly Phe Ser Leu  
 180 185 190  
 Phe Pro Val Ile Gly Ala Pro Ala Gln Asn Glu Ile Lys Glu Val Glu  
 195 200 205  
 Ile Gly Lys Asn Ala Asn Leu Thr Cys Ser Ala Cys Phe Gly Lys Gly  
 210 215 220  
  
 Thr Gln Phe Leu Ala Ala Val Leu Trp Gln Leu Asn Gly Thr Lys Ile  
 225 230 235 240  
 Thr Asp Phe Gly Glu Pro Arg Ile Gln Gln Glu Glu Gly Gln Asn Gln  
 245 250 255  
 Ser Phe Ser Asn Gly Leu Ala Cys Leu Asp Met Val Leu Arg Ile Ala  
 260 265 270  
 Asp Val Lys Glu Glu Asp Leu Leu Leu Gln Tyr Asp Cys Leu Ala Leu  
 275 280 285  
  
 Asn Leu His Gly Leu Arg Arg His Thr Val Arg Leu Ser Arg Lys  
 290 295 300  
 <210> 9  
 <211> 104  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 9  
  
 Lys Phe Ser Lys Gln Ser Trp Gly Leu Glu Asn Glu Ala Leu Ile Val  
 1 5 10 15  
 Arg Cys Pro Arg Gln Gly Lys Pro Ser Tyr Thr Val Asp Trp Tyr Tyr  
 20 25 30  
 Ser Gln Thr Asn Lys Ser Ile Pro Thr Gln Glu Arg Asn Arg Val Phe  
  
 35 40 45  
 Ala Ser Gly Gln Leu Leu Lys Phe Leu Pro Ala Ala Val Ala Asp Ser  
 50 55 60  
 Gly Ile Tyr Thr Cys Ile Val Arg Ser Pro Thr Phe Asn Arg Thr Gly

65                      70                      75                      80  
Tyr Ala Asn Val Thr Ile Tyr Lys Lys Gln Ser Asp Cys Asn Val Pro  
                         85                      90                      95  
Asp Tyr Leu Met Tyr Ser Thr Val  
                         100

<210> 10

<211> 80

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 10

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

50                      55                      60  
Glu Asn Gly Ala Asn Tyr Ser Val Thr Ala Thr Arg Ser Phe Thr Val  
65                      70                      75                      80

<210> 11

<211> 116

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 11

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

Lys Gly Thr Gln Phe Leu Ala Ala Val Leu Trp Gln Leu Asn Gly Thr  
                         35                      40                      45  
Lys Ile Thr Asp Phe Gly Glu Pro Arg Ile Gln Gln Glu Glu Gly Gln



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

Ala Leu Asn Leu His Gly Leu Arg Arg His Thr Val Arg Leu Ser Arg  
 100 105 110

Lys Asn Pro Ile

115

<210> 12

<211> 101

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 12

Lys Ser Ser Trp Gly Leu Glu Asn Glu Ala Leu Ile Val Arg Cys Pro

1 5 10 15

Gln Arg Gly Arg Ser Thr Tyr Pro Val Glu Trp Tyr Tyr Ser Asp Thr

20 25 30

Asn Glu Ser Ile Pro Thr Gln Lys Arg Asn Arg Ile Phe Val Ser Arg

35 40 45

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

50 55 60

Ala Cys Val Ile Arg Ser Pro Asn Leu Asn Lys Thr Gly Tyr Leu Asn

65 70 75 80

Val Thr Ile His Lys Lys Pro Pro Ser Cys Asn Ile Pro Asp Tyr Leu

85 90 95

Met Tyr Ser Thr Val

100

<210

> 13

<211> 5

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 13

His Tyr Gly Met Ala

1 5

<210> 14

<211> 17

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 14

Ser Ile Ile Thr Asp Gly Thr Ser Thr Tyr Tyr Arg Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 15

<211> 8

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 15

Gln Ser Asp Asp Tyr Phe Asp Tyr

1 5

<210> 16

<211> 16

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 16

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Glu Tyr Ser Asp Gly Asp Ser Tyr Leu Glu

1 5 10 15

<210> 17

<211> 7

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 17

Gly Val Ser Asn Arg Phe Ser

1 5

<210> 18

<211> 9

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 18

Phe Gln Ala Thr His Asp Pro Phe Thr

1 5

<210> 19

<211> 117

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 19

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

1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Ile Phe Ser His Tyr

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 20

<211> 112

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 20

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

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

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

<210> 21  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus  
 <400> 21

Asp Tyr Asn Met Asn  
 1                    5  
 <210> 22  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus  
 <400> 22

Thr Tyr Trp Met Asn  
 1                    5  
 <210> 23  
 <211> 6  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus

<400> 23

Ser Asp Tyr Ala Trp Asn

1 5

<210> 24

<211> 5

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 24

Asp Asp Tyr Met His

1 5

<210> 25

<211> 17

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 25

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

1 5 10 15

Gly

<210> 26

<

211> 17

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 26

Gln Ile Phe Pro Ala Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Glu Met Phe Lys

1 5 10 15

Asp

<210> 27

<211> 16

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 27

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

1 5 10 15

<210> 28

<211> 17

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 28

Arg Ile Asp Pro Ala Ile Gly Asn Thr Glu Tyr Ala Pro Lys Phe Gln

1 5 10 15

Asp

<210> 29

<211> 11

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 29

Glu Gly Asp Thr Tyr Leu Ala Trp Phe Ala Tyr

1 5 10

<210> 30

<211> 15

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 30

Ser Glu Asn Ile Tyr Tyr Ile Asn Phe Gln Tyr Tyr Phe Ala Tyr

1 5 10 15

<210> 31

<211> 8

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 31

Tyr Asp Gly Tyr Ser Phe Asp Tyr

1 5

<210> 32

<211> 8



<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 32

Gly Asp Phe Tyr Ala Met Asp Tyr

1 5

<210> 33

<211> 16

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 33

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

1 5 10 15

<210> 34

<211> 11

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 34

Arg Ala Ser Gln Asn Ile Gly Thr Arg Met His

1 5 10

<210> 35

<211> 15

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 35

Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser Gly Ser Ser Tyr Met Phe

1 5 10 15

<210> 36

<211> 11

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 36

Ile Thr Asn Thr Asp Ile Asp Asp Val Ile His

1 5 10

<210> 37

<211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus  
 <400> 37

Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser  
 1 5

<210> 38  
 <211> 7

<212> PRT  
 <213> Mus musculus  
 <400> 38

Tyr Ala Ser Glu Ser Ile Ser  
 1 5

<210> 39  
 <211> 7

<212> PRT  
 <213> Mus musculus  
 <400> 39

Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser  
 1 5

<210> 40  
 <211> 7

<212> PRT  
 <213> Mus musculus  
 <400> 40

Glu Gly Asn Thr Leu Arg Pro  
 1 5

<210> 41  
 <211> 9

<212> PRT  
 <213> Mus musculus  
 <400> 41

Phe Gln Gly Ser His Val Pro Pro Thr

1 5

<210> 42

<211> 9

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 42

Gln Gln Ser Asn Thr Trp Pro Phe Thr

1 5

<210> 43

<211> 9

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 43

Gln His Ser Arg Glu Ile Pro Tyr Thr

1 5

<210> 44

<211> 8

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 44

Leu Gln Ser Asp Asn Met Leu Thr

1 5

<210> 45

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> C2519A VH

<400> 45

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Asn Met Asn Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile

35 40 45  
 Gly Asn Ile Asn Pro Tyr Tyr Gly Ser Thr Thr Tyr Asn Gln Lys Phe  
 50 55 60

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

<210> 46

<211> 124

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> C2521A VH

<400> 46

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

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

115 120

<210> 47

<

211> 117

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> C2244/ STLM15 VH

<400> 47

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Ser Tyr Asp Gly Tyr Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr

100 105 110

Leu Thr Val Ser Ser

115

<210

> 48

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> C2494A/ STLM62 VH

<400> 48

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Leu Ser Cys Thr Ala Ser Ala Phe Asn Ile Lys Asp Asp

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

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

115

<210

> 49

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> C2519A VL

<400> 49

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

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



100 105 110

<210> 50

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> C2521A VL

<400> 50

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

1 5 10 15

Arg Val Ser Phe Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asn Ile Gly Thr Arg Met

20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Arg Thr Asn Gly Ser Pro Arg Leu Leu Ile Lys

35 40 45

Tyr Ala Ser Glu Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser

50 55 60

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

65 70 75 80

Asp Ile Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn Thr Trp Pro Phe Thr

85 90 95

Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 51

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> C2244/ STLM15 VL

<400> 51

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

1 5 10 15

Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser

20 25 30

Gly Ser Ser Tyr Met Phe Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro

35 40 45  
Lys Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ala  
50 55 60  
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Asn Ile His

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

<210> 52

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> C2494A/ STLM62 VL

<400> 52

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

Glu Lys Val Thr Ile Arg Cys Ile Thr Asn Thr Asp Ile Asp Asp Val  
20 25 30

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

Ser Glu Gly Asn Thr Leu Arg Pro Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Ser  
50 55 60

Ser Gly Tyr Gly Thr Asp Phe Val Phe Thr Ile Glu Asn Thr Leu Ser  
65 70 75 80

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

Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys  
100 105

<210> 53

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> STLM48, STLM49, STLM50 HCDR1

<400> 53

Thr Ser Tyr Trp Ile Gly

1 5

<210> 54

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> STLM51 HCDR1

<400> 54

Ser Ser Tyr Ala Ile Ser

1 5

<210> 55

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> STLM48, STLM49, STLM50 HCDR2

<400> 55

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

1 5 10 15

Gln Gly

<210> 56

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> STLM51 HCDR2

<400> 56

Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 57

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> STLM48, STLM50 HCDR3

<400> 57

Leu Ser Gly Arg Phe Asp Tyr

1 5

<210> 58

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> STLM49 HCDR3

<400> 58

Ile Gly Gly Met Phe Asp Tyr

1 5

<210> 59

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> STLM51 HCDR3

<400> 59

Asp Thr Pro Gln Leu Asp Tyr

1 5

<210> 60

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> STLM48 LCDR1

<400> 60

Arg Ala Ser Gln Ser Val Arg Asp Ala Leu Ala

1 5 10

<210> 61

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> STLM49 LCDR1

<400> 61

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ala Asn Ala Leu Ala

1 5 10

<210> 62

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> STLM50 LCDR1

<400> 62

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Asn Ala Leu Ala

1 5 10

<210> 63

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> STLM51 LCDR1

<400> 63

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Asn

1 5 10

<210> 64

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> STLM48, STLM50 LCDR2

<400> 64

Phe Ala Ser Asn Arg Ala Thr

1 5

<210> 65

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> STLM49 LCDR2

<400>

> 65

Lys Ala Ser Asn Arg Ala Thr

1 5

<210> 66

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> STLM51 LCDR2

<400> 66

Tyr Ala Ser Ser Leu Gln Ser

1 5

<210> 67

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> STLM48 LCDR3

<400> 67

Gln Gln Phe Asn Thr Trp Pro Ile Thr

1 5

<210> 68

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> STLM49 LCDR3

<400>

68

Gln Gln Tyr Tyr Gly Trp Pro Ile Thr

1 5

<210> 69

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> STLM50 LCDR3



<400> 69

Gln Gln Phe Phe Asn Trp Pro Ile Thr

1 5

<210> 70

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> STLM51 LCDR3

<400> 70

Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Leu Thr

1 5

<210> 71

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> STLM48, STLM50 VH

<400> 71

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Thr Val Ser Ser

115

<210> 72

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223>

STLM49 VH

<400> 72

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Ile Gly Gly Met Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val

100 105 110

Thr Val Ser Ser

115

<210> 73

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223>

STLM51 VH

<400> 73

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe  
50 55 60

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

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

Ala Arg Asp Thr Pro Gln Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val  
100 105 110

Thr Val Ser Ser  
115

<210> 74

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223>

STLM48 VL

<400> 74

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

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

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

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

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

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Asn Thr Trp Pro Ile  
85 90 95

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

<210> 75

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> STLM49 VL

<400> 75

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

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

65	70	75	80
Glu	Asp	Phe	Ala
Val	Tyr	Tyr	Cys
Gln	Gln	Tyr	Tyr
Gly	Trp	Pro	Ile
85	90	95	
Thr	Phe	Gly	Gln
Gly	Thr	Lys	Val
Glu	Ile	Lys	
100	105		

<210> 76

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> STLM50 VL

<400> 76

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

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

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

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Arg Ala Pro Trp  
 85 90 95  
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
 100 105

<210> 77

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> STLM51 VL

<400> 77

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

20 25 30  
 Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile  
 35 40 45

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

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

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

<210> 78

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> ST2F6 HCDR1

<400> 78

Ser Tyr Ala Met Ser

1 5

<210> 79

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> ST2F4 HCDR1

<400> 79

Ser Tyr Trp Met His

1 5

<210> 80

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> ST2F1 HCDR1

<400> 80

Ser Tyr Trp Ile Gly

1 5

<210> 81

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> ST2F6 HCDR2

<400> 81

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

1 5 10 15

Gly

<210> 82

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial sequence



<220><223> ST2F4 HCDR2

<400> 82

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

1 5 10 15

Gly

<210> 83

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> ST2F1 HCDR2

<400> 83

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

1 5 10 15

Gly

<210> 84

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> ST2F6 HCDR3

<400> 84

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

1 5 10

<210> 85

<211> 12

<212>

PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> ST2F4 HCDR3

<400> 85

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

1 5 10

<210> 86

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> ST2F1 HCDR3

<400> 86

Asp Thr Ala Asp Phe Arg Arg Trp Asp Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 87

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> ST2F6 LCDR1

<400> 87

Arg Ala Ser Gln Ser Val Asp Asp Ala Leu Ala

1 5 10

<210> 88

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> ST2F4 LCDR1

<400> 88

Arg Ala Ser Gln Ser Val Arg Asp Asp Leu Ala

1 5 10

<210> 89

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> ST2F1 LCDR1

<400> 89

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

1 5 10 15

Ala

<210> 90

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> ST2F6, ST2F4 LCDR2

<400> 90

Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr

1 5

<210> 91

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> ST2F1 LCDR2

<400> 91

Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser

1 5

<210> 92

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> ST2F6 LCDR3

<400> 92

Gln Gln Phe Tyr Asn Trp Pro Leu Thr

1 5

<210> 93

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> ST2F4 LCDR3

<400> 93

Gln Gln Tyr Ile His Ala Pro Leu Thr

1 5

<210> 94

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> ST2F1 LCDR3

<400> 94

Gln Gln Ser Asn Thr Tyr Pro Phe Thr

1 5

<210> 95

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> ST2H112, ST2H137 HCDR1

<400> 95

Phe Tyr Asp Met Phe

1 5

<210> 96

<211>

5

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> ST2H52 HCDR1

<400> 96

Asp Tyr Ala Met Phe

1 5

<210> 97

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> ST2H50, ST2H232, ST2H257, ST2H231 HCDR1

<400> 97

Ile Tyr Asp Met Ile

1 5

<210> 98

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> ST2H228 HCDR1

<400> 98

Ser Tyr Asp Met Ile

1 5

<210> 99

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> ST2H318 HCDR1

<400> 99

Asp Asp Ala Met Ile

1 5

<210> 100

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> ST2H316 HCDR1

<400> 100

Gly Tyr Ala Met Ile

1 5

<210> 101

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> ST2H314 HCDR1

<400> 101

Val Tyr Asp Met Ile

1 5

<210> 102

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> ST2H202 HCDR1

<400> 102

Phe Tyr Asp Met Ile

1 5

<210> 103

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> ST2H179, ST2H172, ST2H173 HCDR1

<400> 103

Ser Tyr Asp Met Phe

1 5

<210> 104

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> ST2H163 HCDR1

<400> 104

Val Tyr Asp Met Phe

1 5

<210> 105

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> ST2H162 HCDR1

<400> 105

Val Asp Ser Met Phe

1 5

<210> 106

<211

> 5

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> ST2H139 HCDR1

<400> 106

Gly Tyr Asp Met Phe



1 5  
 <210> 107  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> Artificial sequence  
 <220><223> ST2H136 HCDR1  
 <400> 107

Ile Tyr Asp Met Phe

1 5  
 <210> 108  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> Artificial sequence  
 <220><223> ST2H129 HCDR1  
 <400> 108

Ile Tyr Ser Met Phe

1 5  
 <210> 109  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> Artificial sequence  
 <220><223>  
 > ST2H112 HCDR3  
 <400> 109

Ser Ile Arg Gly Glu Gly Gly Arg Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15  
 Gly

<210> 110  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> Artificial sequence  
 <220><223> ST2H52 HCDR3  
 <400> 110

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

1                    5                    10                    15  
Gly

<210> 111

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> ST2H50 HCDR3

<400> 111

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

1                    5                    10                    15  
Gly

<210> 112

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> ST2H232 HCDR3

<400> 112

Thr Ile Arg Gly Glu Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1                    5                    10                    15  
Gly

<210> 113

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> ST2H228 HCDR3

<400>

113

Thr Ile Arg Gly Glu Gly Gly Thr Thr Ala Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1                    5                    10                    15  
Gly

<210> 114

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> ST2H257 HCDR3

<400> 114

Ser Ile Arg Gly Glu Gly Gly Gly Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 115

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> ST2H231 HCDR3

<400> 115

Thr Ile Arg Gly Glu Gly Gly Gly Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 116

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> ST2H318 HCDR3

<400> 116

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

1 5 10 15

Gly

<210> 117

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> ST2H316 HCDR3

<400> 117

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

1 5 10 15

Gly

<210> 118

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> ST2H314 HCDR3

<400> 118

Thr Ile Arg Gly Glu Gly Gly Gly Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 119

<211> 311

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 119

Ala Lys Phe Ser Lys Gln Ser Trp Gly Leu Glu Asn Glu Ala Leu Ile

1 5 10 15

Val Arg Cys Pro Arg Gln Gly Lys Pro Ser Tyr Thr Val Asp Trp Tyr

20 25 30

Tyr Ser Gln Thr Asn Lys Ser Ile Pro Thr Gln Glu Arg Asn Arg Val

35 40 45

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

50 55 60

Ser Gly Ile Tyr Thr Cys Ile Val Arg Ser Pro Thr Phe Asn Arg Thr

65 70 75 80

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

85	90	95
Pro Asp Tyr Leu Met Tyr Ser Thr Val Ser Gly Ser Glu Lys Asn Ser		
100	105	110
Lys Ile Tyr Cys Pro Thr Ile Asp Leu Tyr Asn Trp Thr Ala Pro Leu		
115	120	125
Glu Trp Phe Lys Asn Cys Gln Ala Leu Gln Gly Ser Arg Tyr Arg Ala		
130	135	140
His Lys Ser Phe Leu Val Ile Asp Asn Val Met Thr Glu Asp Ala Gly		
145	150	155
160		
Asp Tyr Thr Cys Lys Phe Ile His Asn Glu Asn Gly Ala Asn Tyr Ser		
165	170	175
Val Thr Ala Thr Arg Ser Phe Thr Val Lys Asp Glu Gln Gly Phe Ser		
180	185	190
Leu Phe Pro Val Ile Gly Ala Pro Ala Gln Asn Glu Ile Lys Glu Val		
195	200	205
Glu Ile Gly Lys Asn Ala Asn Leu Thr Cys Ser Ala Cys Phe Gly Lys		
210	215	220
Gly Thr Gln Phe Leu Ala Ala Val Leu Trp Gln Leu Asn Gly Thr Lys		
225	230	235
240		
Ile Thr Asp Phe Gly Glu Pro Arg Ile Gln Gln Glu Glu Gly Gln Asn		
245	250	255
Gln Ser Phe Ser Asn Gly Leu Ala Cys Leu Asp Met Val Leu Arg Ile		
260	265	270
Ala Asp Val Lys Glu Glu Asp Leu Leu Leu Gln Tyr Asp Cys Leu Ala		
275	280	285
Leu Asn Leu His Gly Leu Arg Arg His Thr Val Arg Leu Ser Arg Lys		
290	295	300
Asn Pro Ser Lys Glu Cys Phe		
305	310	
<210>	120	
<211>	17	
<212>	PRT	

<213> Artificial sequence

<220><223> ST2H202 HCDR3

<400> 120

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

1 5 10 15

Gly

<210> 121

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> ST2H179 HCDR3

<400> 121

Asp Ile Lys Gly Glu Gly Gly Arg Thr Ala Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 122

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> ST2H172 HCDR3

<400> 122

Ala Ile Ala Gly Glu Gly Gly Arg Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 123

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> ST2H173 HCDR3

<400> 123

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

1 5 10 15

Gly

<210> 124

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> ST2H163 HCDR3

<400> 124

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

1 5 10 15

Gly

<210> 125

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> ST2H162 HCDR3

<400> 125

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

1 5 10 15

Gly

<210> 126

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> ST2H139 HCDR3

<400> 126

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

1 5 10 15

Gly



<210>

127

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> ST2H137 HCDR3

<400> 127

Asp Ile Arg Gly Glu Gly Gly Gly Thr Ala Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 128

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> ST2H136 HCDR3

<400> 128

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

1 5 10 15

Gly

<210> 129

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> ST2H129 HCDR3

<400> 129

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

1 5 10 15

Gly

<210> 130

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> ST2L32 LCDR1

<400> 130

Arg Ala Ser Gln Ser Val Asp Asp Asp Leu Ala

1 5 10

<210> 131

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><

223> ST2L32 LCDR3

<400> 131

Gln Gln Tyr Ile Gly Ala Pro Ile Thr

1 5

<210> 132

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> ST2L35 LCDR3

<400> 132

Gln Gln Tyr Ile Asp Ala Pro Leu Thr

1 5

<210> 133

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> ST2L49 LCDR3

<400> 133

Gln Gln Tyr Asn Asp Ala Ile Thr

1 5

<210> 134

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> ST2L59 LCDR3

<400> 134

Gln Gln Tyr Ile Thr Ala Pro Leu Thr

1 5

<210> 135

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> VL2494-IGKV1-33\*01 018

<400> 135

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ile Thr Asn Thr Asp Ile Asp Asp Val

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Glu Gly Asn Thr Leu Arg Pro Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Ser Asp Asn Met Leu Thr

85 90 95

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 136

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> VL2494-IGKV1-27\*01 A20

<400> 136

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ile Thr Asn Thr Asp Ile Asp Asp Val

20 25 30  
Ile His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Leu Ile  
35 40 45

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

<210> 137

<211> 106

<212>

> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> VL2494-IGKV1-39\*01012

<400> 137

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

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

<210> 138

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> VL2494-IGKV1-12\*01 L5

<400> 138

```

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

```

```

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

```

<210> 139

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> VL2494-IGKV1-5\*01 L12

<400> 139

```

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

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

```

50 55 60  
Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

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

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

<210> 140

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> VL2494-IGKV1-9\*01 L8

<400> 140

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ile Thr Asn Thr Asp Ile Asp Asp Val  
20 25 30

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

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

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

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

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

<210> 141

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> VL2494-IGKV3-15\*01 L2

<400> 141

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Glu Gly Asn Thr Leu Arg Pro Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 142

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> VL2494-IGKV1-39\*01 012b

<400> 142

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ile Thr Asn Thr Asp Ile Asp Asp Val

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Glu Gly Asn Thr Leu Arg Pro Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

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



85 90 95

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 143

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> VH2494-IGHV1-f\*01

<400> 143

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

1 5 10 15

Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Val Ser Ala Phe Asn Ile Lys Asp Asp

20 25 30

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

35 40 45

Gly Arg Ile Asp Pro Ala Ile Gly Asn Thr Glu Tyr Ala Glu Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Thr Gly Asp Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 144

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> VH2494-IGHV1-24\*01

<400> 144

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

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

                  100                    105                    110  
 Val Thr Val Ser Ser

                  115

<210> 145

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> VH STLH201

<400> 145

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

1                    5                    10                    15

Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Val Ser Ala Phe Asn Ile Lys Asp Asp

                  20                    25                    30

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

                  35                    40                    45  
 Gly Arg Ile Asp Pro Ala Ile Gly Asn Thr Glu Tyr Ala Glu Lys Phe

                  50                    55                    60

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

65                    70                    75                    80

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

85 90 95  
Ala Thr Gly Asp Phe Tyr Ala Met Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu

100 105 110  
Val Thr Val Ser Ser

115  
<210> 146  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> Artificial sequence  
<220><223> HCDR3 of STLM226-STLM232  
<400> 146

Gly Asp Phe Tyr Ala Met Ala Tyr  
1 5

<210> 147  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> Artificial sequence  
<220><223> STLM266 VL  
<400> 147

Leu Gln Ser Asp Asn Leu Leu Thr  
1 5

<210> 148  
<211> 109  
<212> PRT  
<213>  
> Artificial  
<220><223> IGHV1-24\*01 framework  
<400> 148

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Val Ser Gly Tyr Thr Leu Thr Glu Leu  
20 25 30

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

Gly Gly Phe Asp Pro Glu Asp Gly Glu Thr Ile Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105

<210> 149

<211> 109

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> IGHV1-f\*01 framework

<400> 149

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

1 5 10 15

Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Val Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105

<210> 150

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> IGKV3-15\*01 L2 framework

<400> 150

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

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

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

<210> 151

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> IGKV1-9\*01 L8 framework

<400> 151

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

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

65                                      70                                      75                                      80

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

85                                      90                                      95

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100                                      105

<210> 152

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> IGKV1-5\*01 L12

<400> 152

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

1                                      5                                      10                                      15

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

20                                      25                                      30

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

35                                      40                                      45

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

50                                      55                                      60

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

65                                      70                                      75                                      80

Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Ser Thr

85                                      90                                      95

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100                                      105

<210> 153

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> IGKV1-12\*01 L5

<400> 153

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

1                    5                    10                    15  
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp  
                   20                    25                    30

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

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

<210> 154

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> IGKV1-39\*01 012

<400> 154

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

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



100 105

<210> 155

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> IGKV1-27\*01 A20

<400> 155

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Lys Tyr Asn Ser Ala Pro Thr

85 90 95

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 156

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> IGKV1-33\*01 018

<400> 156

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45  
Tyr Asp Ala Ser Asn Leu Glu Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
50 55 60

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

<210> 157

<211> 328

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 157

Met Gly Phe Trp Ile Leu Ala Ile Leu Thr Ile Leu Met Tyr Ser Thr  
1 5 10 15

Ala Ala Lys Phe Ser Lys Gln Ser Trp Gly Leu Glu Asn Glu Ala Leu  
20 25 30

Ile Val Arg Cys Pro Arg Gln Gly Lys Pro Ser Tyr Thr Val Asp Trp  
35 40 45

Tyr Tyr Ser Gln Thr Asn Lys Ser Ile Pro Thr Gln Glu Arg Asn Arg  
50 55 60

Val Phe Ala Ser Gly Gln Leu Leu Lys Phe Leu Pro Ala Glu Val Ala  
65 70 75 80

Asp Ser Gly Ile Tyr Thr Cys Ile Val Arg Ser Pro Thr Phe Asn Arg  
85 90 95

Thr Gly Tyr Ala Asn Val Thr Ile Tyr Lys Lys Gln Ser Asp Cys Asn  
100 105 110

Val Pro Asp Tyr Leu Met Tyr Ser Thr Val Ser Gly Ser Glu Lys Asn  
115 120 125

Ser Lys Ile Tyr Cys Pro Thr Ile Asp Leu Tyr Asn Trp Thr Ala Pro

130                      135                      140  
  
 Leu Glu Trp Phe Lys Asn Cys Gln Ala Leu Gln Gly Ser Arg Tyr Arg  
 145                      150                      155                      160  
 Ala His Lys Ser Phe Leu Val Ile Asp Asn Val Met Thr Glu Asp Ala  
                          165                      170                      175  
 Gly Asp Tyr Thr Cys Lys Phe Ile His Asn Glu Asn Gly Ala Asn Tyr  
                          180                      185                      190  
 Ser Val Thr Ala Thr Arg Ser Phe Thr Val Lys Asp Glu Gln Gly Phe  
                          195                      200                      205  
  
 Ser Leu Phe Pro Val Ile Gly Ala Pro Ala Gln Asn Glu Ile Lys Glu  
                          210                      215                      220  
 Val Glu Ile Gly Lys Asn Ala Asn Leu Thr Cys Ser Ala Cys Phe Gly  
 225                      230                      235                      240  
 Lys Gly Thr Gln Phe Leu Ala Ala Val Leu Trp Gln Leu Asn Gly Thr  
                          245                      250                      255  
 Lys Ile Thr Asp Phe Gly Glu Pro Arg Ile Gln Gln Glu Glu Gly Gln  
                          260                      265                      270  
  
 Asn Gln Ser Phe Ser Asn Gly Leu Ala Cys Leu Asp Met Val Leu Arg  
                          275                      280                      285  
 Ile Ala Asp Val Lys Glu Glu Asp Leu Leu Leu Gln Tyr Asp Cys Leu  
                          290                      295                      300  
 Ala Leu Asn Leu His Gly Leu Arg Arg His Thr Val Arg Leu Ser Arg  
 305                      310                      315                      320  
 Lys Asn Pro Ser Lys Glu Cys Phe  
                          325  
  
 <210> 158  
 <211> 109  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
  
 <220><223> VH 3-23 framework  
 <400> 158

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 1                      5                      10                      15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser 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 Lys Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
                     100                      105

<210> 159

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Vk L6 framework (IGKV3-11 )

<400> 159

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

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100

105

<210> 160

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> HCDR1 consensus

<220><221> Xaa1

<222> (1)..(1)

<223> Xaa1 is S, F, D, I, G or V

<220><221> Xaa2

<222> (2)..(2)

<223> Xaa2 is Y or D

<220><221>

> Xaa3

<222> (3)..(3)

<223> Xaa3 is A, D or S

<220><221> Xaa4

<222> (5)..(5)

<223> Xaa4 is S, F or I

<400> 160

Xaa Xaa Xaa Met Xaa

1

5

<210> 161

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> HCDR2 consensus

<220><221> Xaa1

<222> (1)..(1)

<223> Xaa1 is A, S, T, Y or D

<220><221> Xaa2

<222> (3)..(3)

<223> Xaa2 is S, R, E, K, G or A

<220><221> Xaa3

<222> (5)..(5)

<223> Xaa3 is S, E or N

<220><221> Xaa4

<222> (8)..(8)

<223>

> Xaa4 is S, R, E, G, T, D or A

<220><221> Xaa5

<222> (10)..(10)

<223> Xaa5 is Y, D, N, A or S

<400> 161

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

1 5 10 15

Gly

<210> 162

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> HCDR3 consensus

<220><221> Xaa1

<222> (1)..(1)

<223> Xaa1 is D, A, R, N, Q, P, E, I, H, S, T or Y

<220><221> Xaa2

<222> (2)..(2)

<223> Xaa2 is P, A, H, Y, E, Q, L, S, N, T, V or I

<400> 162

Xaa Xaa Trp Ser Thr Glu Gly Ser Phe Phe Val Leu Asp Tyr

1 5 10

<210> 163

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> LCDR1 consensus

<220><221> Xaa1

<222> (9)..(9)

<223> Xaa1 is A or D

<400> 163

Arg Ala Ser Gln Ser Val Asp Asp Xaa Leu Ala

1 5 10

<210> 164

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> LCDR3 consensus

<220><221> Xaa1

<222> (3)..(3)

<223

> Xaa1 is F or Y

<220><221> Xaa2

<222> (4)..(4)

<223> Xaa2 is Y, I or N

<220><221> Xaa3

<222> (5)..(5)

<223> Xaa3 is N, G, D or T

<220><221> Xaa4

<222> (6)..(6)

<223> Xaa4 is W or A

<220><221> Xaa5

<222> (7)..(7)

<223> Xaa5 is P or deleted

<220><221> Xaa6

<222> (8)..(8)

<223> Xaa6 is L or I

<400> 164

Gln Gln Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Thr

1 5

<210> 165

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> STLH255 HCDR3

<400> 165

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

1 5 10

<210> 166

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> STLH256 HCDR3

<400> 166

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

1 5 10

<210> 167

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> STLH257 HCDR3

<400> 167

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

1 5 10

<210> 168

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> STLH258 HCDR3

<400> 168

Gln Pro Trp Ser Thr Glu Gly Ser Phe Phe Val Leu Asp Tyr

1 5 10

<210> 169

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial



<220><223> STLH259 HCDR3

<400> 169

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

1 5 10

<210> 170

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> STLH260 HCDR3

<400> 170

Ile Pro Trp Ser Thr Glu Gly Ser Phe Phe Val Leu Asp Tyr

1 5 10

<210> 171

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> STLH261 HCDR3

<400> 171

His Pro Trp Ser Thr Glu Gly Ser Phe Phe Val Leu Asp Tyr

1 5 10

<210> 172

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> STLH262 HCDR3

<400> 172

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

1 5 10

<210> 173

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> STLH263 HCDR3

<400> 173

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

1 5 10

<210> 174

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> STLH264 HCDR3

<400> 174

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

1 5 10

<210> 175

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> STLH265 HCDR3

<400> 175

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

1 5 10

<210> 176

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> STLH266 HCDR3

<400> 176

Asp His Trp Ser Thr Glu Gly Ser Phe Phe Val Leu Asp Tyr

1 5 10

<210> 177

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> STLH267 HCDR3

<400> 177

Asp Tyr Trp Ser Thr Glu Gly Ser Phe Phe Val Leu Asp Tyr

1 5 10

<210> 178

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> STLH268 HCDR3

<400> 178

Asp Glu Trp Ser Thr Glu Gly Ser Phe Phe Val Leu Asp Tyr

1 5 10

<210> 179

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> STLH269 HCDR3

<400> 179

Asp Gln Trp Ser Thr Glu Gly Ser Phe Phe Val Leu Asp Tyr

1 5 10

<210> 180

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> STLH270 HCDR3

<400> 180

Asp Leu Trp Ser Thr Glu Gly Ser Phe Phe Val Leu Asp Tyr

1 5 10

<210> 181

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> STLH271 HCDR3

<400> 181

Asp Ser Trp Ser Thr Glu Gly Ser Phe Phe Val Leu Asp Tyr

1 5 10

<210> 182  
 <211> 14  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 <220><223> STLH272 HCDR3  
 <400> 182  
 Asp Asn Trp Ser Thr Glu Gly Ser Phe Phe Val Leu Asp Tyr  
 1 5 10

<210> 183  
 <211> 14  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 <220><223> STLH273 HCDR3  
 <400> 183  
 Asp Thr Trp Ser Thr Glu Gly Ser Phe Phe Val Leu Asp Tyr  
 1 5 10

<210> 184  
 <211> 14  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 <220><223> STLH274 HCDR3  
 <400> 184  
 Asp Val Trp Ser Thr Glu Gly Ser Phe Phe Val Leu Asp Tyr  
 1 5 10

<210> 185  
 <211> 14  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 <220><223> STLH275 HCDR3  
 <400> 185  
 Asp Ile Trp Ser Thr Glu Gly Ser Phe Phe Val Leu Asp Tyr  
 1 5 10

<210> 186

<211> 123

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> ST2H52

<400> 186

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 187

<211> 123

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> ST2H50

<400> 187

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45  
 Ser Thr Ile Lys Gly Glu Gly Gly 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 Asp Pro Trp Ser Thr Glu Gly Ser Phe Phe Val Leu Asp Tyr  
 100 105 110  
 Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115 120

<210> 188

<211> 123

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> ST2H318

<400> 188

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Asp

20 25 30  
 Ala Met Ile Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45  
 Ser Tyr Ile Gly Gly Asn Gly Gly Thr 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 Asp Pro Trp Ser Thr Glu Gly Ser Phe Phe Val Leu Asp Tyr  
 100 105 110  
 Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 189

<211> 123

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> ST2H316

<400> 189

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ser Tyr Ile Glu Gly Glu Gly Gly Glu 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 Asp Pro Trp Ser Thr Glu Gly Ser Phe Phe Val Leu Asp Tyr

100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 190

<211> 123

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> ST2H314

<400> 190

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

1 5 10 15

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

20 25 30  
 Asp Met Ile Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45  
 Ser Thr Ile Arg Gly Glu Gly Gly 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 Asp Pro Trp Ser Thr Glu Gly Ser Phe Phe Val Leu Asp Tyr  
 100 105 110  
 Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115 120  
 <210> 191  
 <211> 123  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 <220><223> ST2H257  
 <400> 191

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



100 105 110  
 Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115 120  
 <210> 192  
 <211> 123  
  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 <220><223> ST2H232  
 <400> 192  
 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ile Tyr  
 20 25 30  
 Asp Met Ile Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45  
 Ser Thr Ile Arg Gly Glu 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 Asp Pro Trp Ser Thr Glu Gly Ser Phe Phe Val Leu Asp Tyr  
 100 105 110  
 Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115 120  
  
 <210> 193  
 <211> 123  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 <220><223> ST2H231  
 <400> 193  
 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1                    5                    10                    15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ile Tyr  
                   20                    25                    30  
 Asp Met Ile Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
                   35                    40                    45  
 Ser Thr Ile Arg Gly Glu Gly Gly Gly Thr Ser 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 Asp Pro Trp Ser Thr Glu Gly Ser Phe Phe Val Leu Asp Tyr  
                   100                    105                    110  
 Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
                   115                    120

<210> 194

<211> 123

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> ST2H228

<400> 194

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 1                    5                    10                    15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
                   20                    25                    30  
 Asp Met Ile Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
                   35                    40                    45  
 Ser Thr Ile Arg Gly Glu Gly Gly Thr Thr Ala 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 Asp Pro Trp Ser Thr Glu Gly Ser Phe Phe Val Leu Asp Tyr  
100 105 110  
Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
115 120

<210> 195

<211> 123

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> ST2H202

<400> 195

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
1 5 10 15  
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Phe Tyr  
20 25 30  
Asp Met Ile Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
35 40 45  
Ser Thr Ile Arg Gly Glu Gly Gly Asp Thr Asn 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 Asp Pro Trp Ser Thr Glu Gly Ser Phe Phe Val Leu Asp Tyr  
100 105 110  
Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
115 120

<210> 196

<211> 123

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> ST2H179

<400> 196

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Asp Met Phe Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

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

100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 197

<211> 123

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> ST2H173

<400> 197

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Asp Met Phe Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ser Asp Ile Lys Gly Glu Gly Gly Ala Thr Asn 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 Asp Pro Trp Ser Thr Glu Gly Ser Phe Phe Val Leu Asp Tyr  
                          100                      105                      110  
 Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
                          115                      120

<210> 198

<211> 123

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> ST2H172

<400> 198

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 1                      5                      10                      15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
                          20                      25                      30  
 Asp Met Phe Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
                          35                      40                      45  
 Ser Ala Ile Ala Gly Glu Gly Gly Arg 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 Asp Pro Trp Ser Thr Glu Gly Ser Phe Phe Val Leu Asp Tyr  
                          100                      105                      110  
 Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
                          115                      120

<210> 199

<211> 123

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> ST2H163

<400> 199

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Asp Met Phe Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

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

100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 200

<211> 123

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> ST2H162

<400> 200

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ser Ser Ile Glu Gly Asn Gly Gly Ala 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 Asp Pro Trp Ser Thr Glu Gly Ser Phe Phe Val Leu Asp Tyr  
                          100                      105                      110  
 Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
                          115                      120

<210> 201

<211> 123

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> ST2H139

<400> 201

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 1                      5                      10                      15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Gly Tyr  
                          20                      25                      30  
 Asp Met Phe Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
                          35                      40                      45  
 Ser Asp Ile Gly Gly Glu Gly Gly Ser Thr Asn 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 Asp Pro Trp Ser Thr Glu Gly Ser Phe Phe Val Leu Asp Tyr  
                          100                      105                      110  
 Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
                          115                      120

<210> 202

<211> 123

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> ST2H137

<400> 202

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Asp Met Phe Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

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

100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 203

<211> 123

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> ST2H136

<400> 203

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Asp Met Phe Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45



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

100

105

110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

120

<210> 204

<211> 123

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> ST2H129

<400> 204

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

1

5

10

15

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

20

25

30

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

35

40

45

Ser Asp Ile Gly Gly Glu Gly Gly Gly Thr Ser 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 Asp Pro Trp Ser Thr Glu Gly Ser Phe Phe Val Leu Asp Tyr

100

105

110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

120

<210> 205

<211> 123

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> ST2H112

<400> 205

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Asp Met Phe Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

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

100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

120

<210> 206

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> ST2L32

<400> 206

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

1 5 10 15

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

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

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

<210> 207

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> ST2L35

<400> 207

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

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

<210> 208

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> ST2L49

<400> 208

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

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

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

<210> 209

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> ST2L59

<400> 209

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

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

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

85 90 95  
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 210

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> ST2L epitope

<400> 210

Arg Cys Pro Arg Gln Gly Lys Pro Ser Tyr Thr Val Asp Trp

1 5 10

<210> 211

<211> 369

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> VH cDNA for STLM208

<400> 211

gaggtgcagc tgctggagag cggcggcggc ctggtgcagc cggcggcag cctgcgcctg 60

agctgcgccg ccagcggctt caccttcagc atctacgaca tgatctgggt gcgccaggcc 120

cccggcaagg gcctggagtg ggtcagcagc atccgcggcg agggcggcgg cacctactac 180

gccgacagcg tgaagggccg cttcaccatc agccgcgaca acagcaagaa caccctgtac 240

ctgcagatga acagcctgcg cgccgaggac accgccgtgt actactgcgc ccgcgacccc 300

tggagcaccg agggcagctt cttcgtgctg gactactggg gccagggcac cctggtgacc 360

gtgagcagc 369

<210> 212

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> VL cDNA for STLM208

<400> 212

```
gagatcgtgc tgaccagag ccccgccacc ctgagcctga gccccggcga gcgcgccacc      60
ctgagctgcc gcgccagcca gagcgtggac gacgacctgg cctggtacca gcagaagccc      120
ggccaggccc cccgcctgct gatctacgac gccagcaacc gcgccaccgg catccccgcc      180
cgcttcagcg gcagcggcag cggcaccgac ttcacctga ccatcagcag cctggagccc      240
gaggacttcg ccgtgtacta ctgccagcag tacatcaccg cccccctgac cttcggccag      300
ggcaccaagg tggagatcaa g                                     321
```

<210

> 213

<211> 351

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> VH cDNA for c2244

<400> 213

```
gaggtgcagc ttcaggagtc aggacctggc ctggtgaaac cttctcagtc tctgtccctc      60
acctgcactg tcaactgctt ctcaatcacc agtgattatg cctggaactg gatccggcag      120
tttcaggaa gcaagctaga gtggatgggc ttcataagct acagtgtga cactagcttc      180
aaccatctc tcaaaagtcg aatctctgtc actcgagaca catccaagaa ccagttcttc      240
ctgcagttga attctgtgac tactgaggac acagccacat attactgtgc aagttatgat      300
ggttactcat ttgactactg gggccaaggc actactctca cagtctctc a                                     351
```

<210> 214

<211> 333

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> VL cDNA for c2244

<400> 214

```
gacattgtgc tgaccgaatc tccagcttcc ttagctatat ctctggggca gagggccacc      60
atctcatgca gggccagcaa aagtgtcagt acatctggct ctagtatat gtcttggtac      120
caacagaaac caggacagcc acccaaactc ctcatctatc ttgcatcaa cctagaatct      180
ggggtccctg ccaggttcag tggcagtgga tctgggacag acttcacct caacatacat      240
cctgtggagg aggaggatgc tgcagcctat tactgtcaac acagtaggga gattccgtac      300
acgttcggag gggggaccaa gctggaaata aaa                                     333
```

<210> 215

<211> 266

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 215

Met Arg Pro Arg Met Lys Tyr Ser Asn Ser Lys Ile Ser Pro Ala Lys

1 5 10 15

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

20 25 30

Arg Ser Gln Gln Lys Thr Lys Glu Phe Cys His Val Tyr Cys Met Arg

35 40 45

Leu Arg Ser Gly Leu Thr Ile Arg Lys Glu Thr Ser Tyr Phe Arg Lys

50 55 60

Glu Pro Thr Lys Arg Tyr Ser Leu Lys Ser Gly Thr Lys His Glu Glu

65 70 75 80

Asn Phe Ser Ala Tyr Pro Arg Asp Ser Arg Lys Arg Ser Leu Leu Gly

85 90 95

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

100 105 110

Thr Ser Leu Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ser Thr Tyr Asn Asp

115 120 125

Gln Ser Val Ser Phe Val Leu Glu Asn Gly Cys Tyr Val Ile Asn Val

130 135 140

Asp Asp Ser Gly Lys Asp Gln Glu Gln Asp Gln Val Leu Leu Arg Tyr

145 150 155 160

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

165 170 175

Lys Lys Leu Met Val Asn Met Ser Pro Ile Lys Asp Thr Asp Ile Trp

180 185 190

Leu His Ala Asn Asp Lys Asp Tyr Ser Val Glu Leu Gln Arg Gly Asp

195 200 205

Val Ser Pro Pro Glu Gln Ala Phe Phe Val Leu His Lys Lys Ser Ser

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