



**(19) 대한민국특허청(KR)**  
**(12) 공개특허공보(A)**

(11) 공개번호 10-2008-0049113  
 (43) 공개일자 2008년06월03일

(51) Int. Cl.  
*C07K 16/24* (2006.01) *C07K 16/00* (2006.01)  
*A61K 39/395* (2006.01)  
 (21) 출원번호 10-2008-7009313  
 (22) 출원일자 2008년04월18일  
 심사청구일자 2008년04월18일  
 번역문제출일자 2008년04월18일  
 (86) 국제출원번호 PCT/EP2006/010098  
 국제출원일자 2006년10월19일  
 (87) 국제공개번호 WO 2007/045477  
 국제공개일자 2007년04월26일  
 (30) 우선권주장  
 0521509.0 2005년10월21일 영국(GB)  
 0616666.4 2006년08월22일 영국(GB)

(71) 출원인  
**노파르티스 아게**  
 스위스 체하-4056 바젤 리히트스트라체 35  
 (72) 발명자  
**캠벨, 엠마, 미셸**  
 영국 알에이치12 5에이비 웨스트 서섹스 호삼 워  
 블허스트 로드노바티스 호삼 리서치 센터  
**파르빈, 소피아**  
 영국 알에이치12 5에이비 웨스트 서섹스 호삼 워  
 블허스트 로드노바티스 호삼 리서치 센터  
 (뒷면에 계속)  
 (74) 대리인  
**양영준, 위혜숙**

전체 청구항 수 : 총 26 항

**(54) I L-13에 대한 인간 항체 및 치료적 용도**

**(57) 요약**

본 발명은 인간 항-IL-13 결합성 분자, 특히 항체, 및 IL-13 관련 장애, 예를 들어 천식, 아토피성 피부염, 알레르기성 비염, 섬유증, 염증성 장 질환 및 호지킨 (Hodgkin) 림프종을 진단 또는 치료하는데 있어서 항-IL-13 항체 분자를 사용하는 방법에 관한 것이다.

(72) 발명자

**뷰츨러, 조**

미국 92011 캘리포니아주 칼스바드 캐신스 스트리트 1343

**말키르스, 구나스**

미국 92025 캘리포니아주 에스콘디도 파세오 델 솔 2893

---

**특허청구의 범위**

**청구항 1**

서열 9 및 서열 10 중에서 선택된 아미노산 서열로 제시된 H-CDR3 영역, 및 그의 보존적 변이체를 포함하는, 항체 또는 그의 기능적 단편의 분리된 항원 결합성 영역.

**청구항 2**

서열 8의 아미노산 서열로 제시된 H-CDR2 영역, 및 그의 보존적 변이체를 포함하는, 항체 또는 그의 기능적 단편의 분리된 항원 결합성 영역.

**청구항 3**

서열 6 및 서열 7 중에서 선택된 아미노산 서열로 제시된 H-CDR1 영역, 및 그의 보존적 변이체를 포함하는, 항체 또는 그의 기능적 단편의 분리된 항원 결합성 영역.

**청구항 4**

제2항 또는 제3항에 있어서, 서열 9 및 서열 10 중에서 선택된 아미노산 서열로 제시된 H-CDR3 영역, 및 그의 보존적 변이체를 추가로 포함하는 분리된 항원 결합성 영역.

**청구항 5**

제1항 또는 제3항에 있어서, 서열 8의 아미노산 서열로 제시된 H-CDR2 영역, 및 그의 보존적 변이체를 추가로 포함하는 분리된 항원 결합성 영역.

**청구항 6**

제1항 또는 제2항에 있어서, 서열 6 및 서열 7 중에서 선택된 아미노산 서열로 제시된 H-CDR1 영역, 및 그의 보존적 변이체를 추가로 포함하는 분리된 항원 결합성 영역.

**청구항 7**

서열 6 및 서열 7 중에서 선택된 아미노산 서열로 제시된 H-CDR1 영역, 서열 8의 아미노산 서열로 제시된 H-CDR2 영역 및 서열 9 및 서열 12 중에서 선택된 아미노산 서열로 제시된 H-CDR3 영역, 및 이들의 보존적 변이체를 포함하는, 항체 또는 그의 기능적 단편의 분리된 항원 결합성 영역.

**청구항 8**

제7항에 있어서, 함께 아미노산 서열로 제시된 H-CDR1, H-CDR2 및 H-CDR3 영역이 (i) 서열 6, 서열 8 및 서열 9; 및 (ii) 서열 7, 서열 8 및 서열 10; 및 이들의 보존적 변이체 중에서 선택되는 것인 분리된 항원 결합성 영역.

**청구항 9**

제1항 내지 제8항 중의 어느 한 항에 있어서, 서열 20 내지 22의 군 중에서 선택된 아미노산 서열로 제시된 L-CDR3 영역, 및 그의 보존적 변이체를 추가로 포함하는 분리된 항원 결합성 영역.

**청구항 10**

제1항 내지 제9항 중의 어느 한 항에 있어서, 서열 19의 아미노산 서열로 제시된 L-CDR2 영역, 및 그의 보존적 변이체를 추가로 포함하는 분리된 항원 결합성 영역.

**청구항 11**

제1항 내지 제10항 중의 어느 한 항에 있어서, 서열 16 내지 18의 군 중에서 선택된 아미노산 서열로 제시된 L-CDR1 영역, 및 그의 보존적 변이체를 추가로 포함하는 분리된 항원 결합성 영역.

**청구항 12**

제1항 내지 제11항 중의 어느 한 항에 있어서, 함께 아미노산 서열로 제시된 L-CDR1, L-CDR2 및 L-CDR3 영역이 (i) 서열 16, 서열 19 및 서열 20; (ii) 서열 17, 서열 19 및 서열 21; 및 (iii) 서열 18, 서열 19 및 서열 22; 및 이들의 보존적 변이체 중에서 선택되는 것인 분리된 항원 결합성 영역.

**청구항 13**

제1항 내지 제12항 중의 어느 한 항에 있어서, 함께 아미노산 서열로 제시된 H-CDR1, H-CDR2 및 H-CDR3, 및 L-CDR1, L-CDR2 및 L-CDR3 영역이 (i) 서열 6, 서열 8, 서열 9, 및 서열 16, 서열 19, 서열 20; (ii) 서열 7, 서열 8, 서열 10, 및 서열 17, 서열 19, 서열 21; 및 (iii) 서열 7, 서열 8, 서열 10, 및 서열 18, 서열 19, 서열 22; 및 이들의 보존적 변이체 중에서 선택되는 것인 분리된 항원 결합성 영역.

**청구항 14**

제1항 내지 제13항 중의 어느 한 항에 기재된 CDR 영역과의 CDR 영역 서열 동일률이 60%, 70%, 80%, 90% 또는 95% 이상인 서열을 포함하는 분리된 항원 결합성 영역.

**청구항 15**

제1항 내지 제14항 중의 어느 한 항에 따르는 분리된 항원 결합성 영역을 포함하는 분리된 인간 또는 인간화 IL-13 항체.

**청구항 16**

제15항에 있어서, 서열 23, 27, 31 및 35 중의 어느 하나로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 HC 도메인, 또는 그의 서열 동일률이 60%, 70%, 80%, 90% 또는 95% 이상인 서열을 포함하는 하나 이상의 항원 결합 부위를 포함하는 항체.

**청구항 17**

제15항 또는 제16항에 있어서, 서열 25, 29, 33 및 37 중의 어느 하나로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 LC 도메인, 또는 그의 서열 동일률이 60%, 70%, 80%, 90% 또는 95% 이상인 서열을 포함하는 하나 이상의 항원 결합 부위를 포함하는 항체.

**청구항 18**

제16항의 아미노산 서열 중에서 선택된 제1 HC 도메인 및 제17항의 아미노산 서열 중에서 선택된 제2 LC 도메인, 또는 그의 서열 동일률이 60%, 70%, 80%, 90% 또는 95% 이상인 서열을 포함하는 하나 이상의 항원 결합 부위를 포함하는 항체.

**청구항 19**

제15항 내지 제18항 중의 어느 한 항에 있어서, 서열 23에 따르는 HC 가변 영역 및 서열 25에 따르는 LC 가변 영역, 또는 그의 서열 동일률이 60%, 70%, 80%, 90% 또는 95% 이상인 서열을 포함하는 항체.

**청구항 20**

제15항 내지 제18항 중의 어느 한 항에 있어서, 서열 27에 따르는 HC 가변 영역 및 서열 29에 따르는 LC 가변 영역, 또는 그의 서열 동일률이 60%, 70%, 80%, 90% 또는 95% 이상인 서열을 포함하는 항체.

**청구항 21**

제15항 내지 제18항 중의 어느 한 항에 있어서, 서열 31에 따르는 HC 가변 영역 및 서열 33에 따르는 LC 가변 영역, 또는 그의 서열 동일률이 60%, 70%, 80%, 90% 또는 95% 이상인 서열을 포함하는 항체.

**청구항 22**

제15항 내지 제18항 중의 어느 한 항에 있어서, 서열 35에 따르는 HC 가변 영역 및 서열 37에 따르는 LC 가변 영역, 또는 그의 서열 동일률이 60%, 70%, 80%, 90% 또는 95% 이상인 서열을 포함하는 항체.

**청구항 23**

제15항 내지 제22항 중의 어느 한 항에 있어서, IgG1 또는 IgG4인 항체.

**청구항 24**

제15항 내지 제23항 중의 어느 한 항에 따르는 항체 또는 그의 기능적 단편과, 이에 대한 제약상 허용 가능한 담체 또는 희석제를 포함하는 제약 조성물.

**청구항 25**

유효량의 제24항에 따르는 제약 조성물을, 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 세포 수용체 표적 IL-13의 존재와 연관된 장애 또는 질환을 치료하는 방법.

**청구항 26**

제25항에 있어서, 장애 또는 질환이 천식인 방법.

**명세서**

**기술분야**

<1> 본 발명은 특이적 결합 구성원, 특히 인간 항-IL-13 항체 분자, 및 특히, IL-13 활성을 중화시키는 것에 관한 것이다. 본 발명은 추가로, IL-13 관련 장애, 예를 들어 천식, 아토피성 피부염, 알레르기성 비염, 심유증, 염증성 장 질환 및 호지킨 (Hodgkin) 림프종을 진단 또는 치료하는데 있어서 항-IL-13 항체 분자를 사용하는 방법에 관한 것이다.

**배경기술**

<2> 인터루킨 (IL)-13은 변형되지 않은 분자량이 대략 12 kDa인 114개 아미노산 사이토킨이다 [참고: McKenzie, A. N., et al. J Immunol, 1993.150 (12): p. 5436-44, and Minty, A., et al. Nature, 1993.362 (6417): p. 248-50]. IL-13은 IL-4와 가장 밀접한 관계가 있는데, 아미노산 수준 상의 서열 유사율이 30%이다. 인간 IL-13 유전자는 IL-4 유전자와 인접한 염색체 5q31 상에 위치한다. 이러한 염색체 5q 영역은 기타 Th2 림프구 유래된 사이토킨 (GM-CSF 및 IL-5 포함)에 대한 유전자 서열을 함유하는데, 그의 수준은 IL-4와 함께, 알레르기성 염증의 설치류 모델과 천식 환자의 질병 중증도와 상관이 있는 것으로 밝혀졌다 [참고: Nakamura, Y., et al. Am J Respir Cell Mol Biol, 1996. 15 (5): p. 680-7, Robinson, D. S., et al. N Engl J Med, 1992.326 (5): p. 298-304, Walker, C., et al. Am J Respir Crit Care Med, 1994. 150 (4): p. 1038-48, Humbert, M., et al. Am J Respir Crit Care Med, 1996,154 (5): p. 1497-504, Corrigan, C. J. and A. B. Kay Int Arch Allergy Appl Immunol, 1991. 94 (1-4): p.270-1, Bentley, A. M., et al. Am J Respir Cell Mol Biol, 1993].

<3> IL-13이 초기에는 Th2 CD4+ 림프구 유래된 사이토킨으로서 확인되긴 하였지만, 이는 Th1 CD4+ T-세포, CD8+ T 림프구 NK 세포, 및 비-T-세포 집단, 예를 들어 비만 세포, 호염기구, 호산구, 대식 세포, 단구 및 기도 평활근 세포에 의해 생성되기도 한다.

<4> IL-13은 IL-4와는 결합할 수 있지만 IL-13과는 결합할 수 없는 IL-4 수용체  $\alpha$  체 (IL-4R  $\alpha$ -), 및 2가지 이상의 기타 세포 표면 단백질 IL-13R  $\alpha_1$  및 IL-13R  $\alpha_2$ 을 포함하는 수용체 시스템을 통하여 그의 효과를 매개하는 것으로 보고되었다 [참고: Murata, T., et al. Int J Hematol, 1999. 69(1): p.13-20, Andrews, A.L., et al. J Biol Chem, 2002.277(48): p. 46073-8]. IL-13R  $\alpha_1$ 은 IL-13과 저 친화도로 결합할 수 있고, 연속해서 IL-4R  $\alpha$ 를 동원하여 신호를 보내는 고 친화성 기능적 수용체를 형성할 수 있다 [참고: Miloux, B., et al. FEBS Lett, 1997.401 (2-3): p. 163-6, Hilton, D. J. et al. Proc Natl Acad Sci U S A, 1996. 93 (1): p. 497-501]. 유전자은행 데이터베이스에는 IL-13R  $\alpha_1$ 의 아미노산 서열 및 핵산 서열이 각각 NP 001551 및 Y10659로서 열거되어 있다. STAT6 (전사 6의 신호 변환기 및 활성인자)-결핍성 마우스에서 연구한 결과, IL-13이 IL-4와 유사한 방식으로, JAK-STAT6 경로를 활용함으로써 신호를 보낸다는 사실이 밝혀졌다 [참고: Kuperman, D., et al. J Exp Med, 1998. 187 (6): p. 939-48, Nelms, K., et al. Annu Rev Immunol, 1999.17: p. 701-38.]. IL-13R  $\alpha$

<sub>2</sub>는 IL-13R α<sub>1</sub>과 아미노산 수준 상의 서열 동일률이 37%이고 IL-13과 고 친화도로 결합한다 [참고: Zhang, J. G., et al. J Biol Chem, 1997.272 (14): p. 9474-80, Caput, D., et al. J Biol Chem, 1996.271 (28): p. 16921-6]. 그러나, IL-13R α<sub>2</sub>는 공지된 신호 전달 모티프가 결여된 보다 짧은 세포질성 말미를 갖고 있다. IL-13R α<sub>2</sub>를 발현하는 세포는 IL-4R α의 존재 하에서도 IL-13에 대해 반응성이 없다 [참고: Kawakami, K., et al. Blood, 2001.97 (9): p. 2673-9]. 따라서, IL-13R α<sub>2</sub>는 IL-13 기능은 조절하지만 IL-4 기능은 그렇게 하지 못하는 미끼 수용체로서 작용하는 것으로 주장되고 있다. 이는 IL-13R α<sub>2</sub> 결핍성 마우스 (그의 표현형은 IL-13에 대한 반응성 증가와 일치하였다)에서의 연구에 의해 뒷받침된다 [참고: Wood, N., et al. J Exp Med, 2003.197 (6): p. 703-709, Chiaramonte, M. G., et al. J Exp Med, 2003.197 (6): p. 687-701]. 유전자은행 데이터베이스에는 IL-13R α<sub>2</sub>의 아미노산 서열 및 핵산 서열이 각각 NP000631 및 Y08768로서 열거되어 있다.

<5> 발명의 요약

- <6> 본 발명의 특정 양태는 표적 단백질 IL-13에 대해 특이적인 항원 결합성 영역을 수반하는 분리된 인간 또는 인간화 항체 또는 그의 기능적 단편을 제공하고, 이러한 항체 또는 그의 기능적 단편은 IL-13과 결합한다. 관련 양태에서, IL-13과의 결합은 적어도, 염증 매개인자 방출을 방지시키는 세포 표면 IL-13 수용체 결합성에 의해 결정된다.
- <7> 또 다른 양태에서, 본 발명은 항체 또는 그의 기능적 단편의 분리된 항원 결합성 영역을 제공한다. 특정 양태에서, 이러한 분리된 항원 결합성 영역에는 서열 9 내지 10 중에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 H-CDR3 영역, 및 그의 보존적 변이체가 포함된다. 본원에 기재된 바와 같은, 보존적 변이체에는 확인된 모든 아미노산 서열 내의 아미노산 잔기가 포함된다. 관련 양태에서, 분리된 항원 결합성 영역은 서열 8의 아미노산 서열을 갖는 H-CDR2 영역, 및 그의 보존적 변이체이다. 또 다른 관련 양태에서, 분리된 항원 결합성 영역은 서열 6 내지 7 중에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 H-CDR1 영역, 및 그의 보존적 변이체이다.
- <8> 또 다른 양태에서, 분리된 항원 결합성 영역은 서열 20 내지 22 중에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 L-CDR3 영역, 및 그의 보존적 변이체이다. 또 다른 관련 양태에서, 분리된 항원 결합성 영역은 서열 16 내지 18 중에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 L-CDR1 영역, 및 그의 보존적 변이체이다. 또 다른 관련 양태에서, 분리된 항원 결합성 영역은 서열 19의 아미노산 서열을 갖는 L-CDR2 영역, 및 그의 보존적 변이체이다.
- <9> 특정 양태에서, 분리된 항원 결합성 영역은 서열 16 내지 22 중에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 가변 경쇄, 및 그의 보존적 변이체이다.
- <10> 또 다른 양태에서, 분리된 항원 결합성 영역은 서열 6 내지 10 중의 1개 내지 3개 중에서 선택된 아미노산 서열, 및 서열 6 내지 10을 갖는 CDR 영역 내에서의 서열 동일률이 60%, 70%, 80%, 90% 또는 95% 이상인 서열을 갖는 중쇄이다. 관련 양태에서, 분리된 항원 결합성 영역은 서열 16 내지 22 중의 1개 내지 3개 중에서 선택된 아미노산 서열, 및 서열 16 내지 22을 갖는 CDR 영역 내에서의 서열 동일률이 60%, 70%, 80%, 90% 또는 95% 이상인 서열을 갖는 경쇄이다.
- <11> 특정 양태에서, 분리된 항체는 IgG이다. 또 다른 양태에서, 분리된 항체는 IgG1 또는 IgG4이다.
- <12> 또 다른 양태에서, 본 발명은 IL-13의 에피토프에 대해 특이적인 항원 결합성 영역을 갖는, 분리된 인간 또는 인간화 항체 또는 그의 기능적 단편을 제공하고, 이러한 항체 또는 그의 기능적 단편은 세포 상의 IL-13 표면 수용체와 결합한다. 관련 양태에서, 본 발명은 표적 IL-13의 에피토프에 대해 특이적인 항원 결합성 영역을 갖는, 분리된 인간 또는 인간화 항체 또는 그의 기능적 단편을 제공하고, 이러한 에피토프는 표적 IL-13의 아미노산 잔기 1 내지 112 중의 하나 이상의 아미노산 잔기를 함유한다. 관련 양태에서, 상기 에피토프는 입체 형태적 에피토프이다.
- <13> 또 다른 양태에서, 항체 또는 기능적 단편은 Fab 또는 scFv 항체 단편이다. 관련 양태에서, 분리된 항체는 IgG이다. 또 다른 관련 양태에서, 분리된 항체는 IgG1 또는 IgG4이다.
- <14> 또 다른 양태에서, 본 발명은 상기 항체 또는 기능적 단편 또는 보존적 변이체 중의 하나 이상과, 이에 대한 제약상 허용 가능한 담체 또는 부형제를 갖는 제약 조성물을 제공한다.
- <15> 또 다른 양태에서, 본 발명은 상기 항체 또는 그의 기능적 단편을 암호화하는 유전자를 보유하고 있는 트랜스제닉 (transgenic) 동물을 제공한다.

- <16> 특정 양태에서, 본 발명은 IL-13에 대한 수용체 표적을 갖는 세포의 존재와 연관된 장애 또는 질환을 치료하는 방법을 제공한다. 이 방법은 상기 제약 조성물의 유효량을, 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 것을 포함한다. 관련 양태에서, 치료하고자 하는 장애 또는 질환은 호흡기 장애이다.
- <17> 또 다른 양태에서, 치료하고자 하는 장애 또는 질환은 기도 과민성 (AHR), 점액 과생산, 섬유증 및 혈청 IgE 수준 상승을 특징으로 하는, 영속적이고 흔한 폐 염증 질환인 기관지 천식이다. 문헌 [참고: Li et al, Abstract for poster submitted at The American Thoracic Society Annual Meeting, 2003, Seattle]에는 만성 마우스 천식 모델에 있어서의 항-마우스 IL-13 중화 항체의 효과가 보고되었다.
- <18> 또 다른 양태에서, 치료하고자 하는 장애 또는 질환은 만성 폐쇄성 폐 질환 (COPD)이다. 문헌 [참고: Zheng et al J Clin Invest, 2000.106 (9): p. 1081-93]에는 IL-13이 마우스 폐에서 과발현되면 폐기종이 유발되고, 점액 생성과 염증이 증가하는데, 이는 인간 COPD의 국면을 반영하는 것으로 입증되었다. IL-13의 mRNA 수준은 폐 질환이 있는 것으로 보고된 적이 없는 대상체로부터의 폐 샘플과 비교해서, COPD 병력이 있는 대상체로부터의 부검 조직 샘플에서 더 높은 것으로 밝혀졌다 [참고: J. Elias, Oral communication at American Thoracic Society Annual Meeting 2002]. 또 다른 연구에서는, IL-13의 수준 상승이 COPD 환자로부터의 말초 폐 절편에서의 면역조직화학에 의해 입증되었다 [참고: Wardlaw, A. J., Clin Med, 2001.1 (3): p. 214-8].
- <19> 또 다른 양태에서, 치료하고자 하는 장애 또는 질환은 기타 염증성 또는 폐쇄성 기도 질병 및 질환, 예를 들어 급성 폐 손상 (ALI), 급성/성인 호흡 곤란 증후군 (ARDS), 호흡 곤란, 알레르기성 기도 염증, 소기도 질병, 폐암종, 겸상 적혈구 질병 환자에게서의 급성 흉부 증후군 및 폐성 고혈압 뿐만 아니라 기타 약물 요법, 특히 기타 흡입 약물 요법에 따른 기도 과반응성 악화 중에서 선택된다.
- <20> 또 다른 양태에서, 치료하고자 하는 장애 또는 질환은 모든 유형 또는 기원의 기관지염인데, 이에 예는 예를 들어 급성, 아라키딕 (arachidic), 카타르성 (catarrhal), 크롭성 (croupus), 만성 또는 프티노이드 (phthinoic) 기관지염이 포함된다.
- <21> 또 다른 양태에서, 치료하고자 하는 장애 또는 질환에는 모든 유형 또는 기원의 진폐증 (만성이든지 아니면 급성이든지 간에, 종종 기도 폐쇄를 수반하는 반복되는 분진 흡입에 의해 야기되는, 통상적으로 직업성인 염증성 폐 질환)이 포함되는데, 이의 예로는 알루미늄증, 탄분증, 석면증, 석분증, 첩모탈락증, 철침착증, 규폐증, 연초 중독증 및 면폐증이 있다.
- <22> 또 다른 양태에서, 치료하고자 하는 장애 또는 질환은 아토피성 비염 (건초열), 알레르기성 피부염 (습진) 및 만성 부비동염 중에서 선택된다. IL-13 수준 상승이 아토피성 비염 (건초열), 알레르기성 피부염 (습진) 및 만성 부비동염 인간 환자에게서 측정되었다. 예를 들어, IL-13 수준은 대조군 대상체와 비교해서 천식 환자로부터의 기관지 생검, 가래 및 기관지-폐포성 세정 (BAL) 세포에서 더 높은 것으로 밝혀졌다 [참고: Humbert, M., et al. J Allergy Clin Immunol, 1997.99 (5): p. 657-65, Kotsimbos, T. C., P. Ernst, and Q. A. Hamid, Proc Assoc Am Physicians, 1996.108 (5): p. 368-73, Komai-Koma, M., F. Y.Liew, and P. C. Wilkinson, J Immunol, 1995.155 (3): p. 1110-6, Naseer, T., et al. Am J Respir Crit Care Med, 1997].
- <23> 또 다른 양태에서, 치료하고자 하는 장애 또는 질환은 기타 피부 염증성 질환 중에서 선택되는데, 예를 들어 건선 또는 홍반성 루푸스이다.
- <24> 또 다른 양태에서, 치료하고자 하는 장애 또는 질환은 염증성 장 질환, 예를 들어 궤양성 결장염 및 크론병 (Crohn's disease)이다. 문헌 [참고: Heller et al. (2002) Immunity, 17 (5): 629-38]에는 가용성 IL-13Ra2를 투여함으로써 IL-13을 중화시키면, 인간 궤양성 결장염의 무린 모델에서 결장 염증이 개선되었다고 보고되었다. 상응하게, IL-13 발현은 대조군과 비교해서 궤양성 결장염 환자로부터의 직장 생검 표본에서 더 높았다.
- <25> 또 다른 양태에서, 치료하고자 하는 장애 또는 질환은 기타 섬유성 질환, 예를 들어 전신성 경화증, 폐 섬유증, 특발성 폐 섬유증 또는 섬유양 폐 중에서 선택된다. IL-13 수준 증가가 전신성 경화증 환자의 혈청에서 측정되었고 [참고: Hasegawa, M., et al. J Rheumatol, 1997. 24 (2): p. 328-32], 기타 형태의 폐 섬유증을 앓고 있는 환자로부터의 BAL 샘플에서 측정되었다 [참고: Hancock, A., et al. Am J Respir Cell Mol Biol, 1998].
- <26> 또 다른 양태에서, 치료하고자 하는 장애 또는 질환은 간 섬유증이다. 가용성 IL-13Ra2를 투여함으로써 IL-13을 특이적으로 억제하거나, 또는 IL-4 생성을 없애는 것이 아니라 IL-13 유전자를 붕괴시키면, 간에서의 섬유 발생이 방지되었다 [참고: Fallon, P. G., et al. J Immunol, 2000.164 (5): p. 2585-91, Chiamonte, M.G.,

et al. J Clin Invest, 1999.104 (6): p. 777-85, Chiaramonte, M. G., et al. Hepatology, 2001.34(2): p. 273-82.].

- <27> 또 다른 양태에서, 치료하고자 하는 장애 또는 질환은 호지킨병이다. 호지킨병은 종종 B-세포로부터 유래된 종양성 리드-슈테른베르크 (Reed-Sternberg) 세포가 임상적으로 탐지 가능한 질량의 단지 작은 비율 만을 구성하고 있다는 점에서 악성 종양 중에서도 특이하다. 호지킨병 유래된 세포주 및 일차 리드-슈테른베르크 세포는 종종, IL-13 및 그의 수용체를 발현한다 [참고: Skinnider, B. F., et al. Blood, 2001.97(1): p. 250-5]. IL-13은 정상 B-세포에서의 세포 생존과 증식을 증진시키기 때문에, IL-13이 리드-슈테른베르크 세포에 대한 성장 인자로서 작용할 수 있었다고 제안되었다. 상기 문헌에서는, IL-13에 대항한 중화 항체가 호지킨병 유래된 시험관내 세포주의 성장을 억제할 수 있다는 사실이 입증되었다 [참고: Kapp, U., et al. J Exp Med, 1999. 189 (12): p. 1939-46]. 이러한 발견은 리드-슈테른베르크 세포가 IL-13 자가분비 및 측분비 사이토킨 루프에 의해 자신의 생존을 증강시킬 수도 있다고 제안하였다. 이러한 가설과 일관되게, IL-13 수준 상승이 정상 대조군과 비교해서 몇몇 호지킨병 환자의 혈청에서 탐지되었다 [참고: Fiumara, P., F. Cabanillas, and A. Younes, Blood, 2001. 98 (9): p.2877-8.]. 따라서, IL-13 억제제는 악성 리드-슈테른베르크 세포의 증식을 억제함으로써 질병 진행을 방지할 수 있다.
- <28> 또 다른 양태에서, 치료하고자 하는 장애 또는 질환은 종양 재발 또는 전이이다. IL-13의 억제가 동물 모델에서 항바이러스성 백신을 증강시키는 것으로 밝혀졌고, HIV 및 기타 감염성 질환을 치료하는데 유익할 수 있다 [참고: Ahlers, J. D., et al. Proc Natl Acad Sci U S A, 2002]. 많은 인간 암 세포는 면역원성 종양 특이적 항원을 발현한다. 그러나, 많은 종양이 자발적으로 퇴행되긴 하지만, T-세포 매개된 면역을 억제함으로써 면역계 장애를 모면한다 (면역감시). 문헌 [참고: Terabe et al. Nat Immunol, 2000.1 (6): p. 515-20]에서는, 종양이 초기 성장 후 자발적으로 퇴행된 다음, 재발되는 마우스 모델의 면역억제에 있어서의 IL-13의 역할을 입증하였다. 가용성 IL-13Ra2를 이용하여 IL-13을 특이적으로 억제시키면, 이들 마우스에게 종양이 재발되지 못하였다. 상기 문헌 [Terabe et al]에는 IL-13이 항-종양 면역 반응을 매개하는 종양 특이적 CD8+ 세포독성 림프구의 분화를 억제한다고 제시되었다.
- <29> 또 다른 양태에서, 치료하고자 하는 장애 또는 질환은 진행되고 있는 만성 질환, 예를 들어 천식, 만성 기관지염, COPD, 중이염 및 부비동염을 악화시키는 호흡기 바이러스성 감염증이다. 치료받고 있는 호흡기 바이러스성 감염증은 이차 세균성 감염증, 예를 들어 중이염, 부비동염 또는 폐렴과 연관될 수 있다.
- <30> 또 다른 양태에서, 치료하고자 하는 장애 또는 질환은 기타 질병 또는 질환, 특히 염증 성분을 지닌 질병 또는 질환, 예를 들어 뼈 및 관절 질환, 예를 들어 류마티스성 관절염, 건선성 관절염, 및 기타 질병, 예를 들어 아테롬성 경화증, 다발성 경화증, 및 예를 들어, 심장, 신장, 간, 폐 또는 골수 이식 후 급성 및 만성 동종이식 거부 중에서 선택된다.
- <31> 또 다른 양태에서, 치료하고자 하는 장애 또는 질환은 내독성 속, 사구체신염, 뇌 및 심장 허혈증, 알츠하이머 병 (Alzheimer's disease), 낭포성 섬유증, 바이러스 감염증 및 이와 연관된 악화 증상, 후천성 면역 결핍증 (AIDS), 다발성 경화증 (MS), 헬리코박터 피롤리 (*Helicobacter pylori*) 관련 위염, 및 암, 특히 난소암의 성장이다.
- <32> 또 다른 양태에서, 치료하고자 하는 장애 또는 질환은 인간 리노바이러스, 기타 엔테로바이러스, 코로나바이러스, 헤르페스 바이러스, 인플루엔자 바이러스, 파라인플루엔자 바이러스, 호흡기 합포체 바이러스 또는 아데노 바이러스에 의해 야기되는, 인간에게서의 바이러스성 감염증에 의해 유발된 증상이다.
- <33> 본 발명에 따르는 치료는 대증 요법이거나 예방적 처치일 수 있다.
- <34> 염증 질환, 특히 염증성 기도 질환을 억제하는데 있어서의 본 발명의 작용제의 유효성은, 예를 들어 다음 문헌에 기재된 바와 같이, 기도 염증 또는 기타 염증성 질환의 동물 모델, 예를 들어 마우스, 랫트 또는 토끼 모델에서 입증할 수 있다 [참고: Wada et al, *J. Exp. Med* (1994) 180:1135-40; Sekido et al, *Nature* (1993) 365:654-57; Modelska et al, *Am. J. Respir. Crit. Care. Med* (1999) 160:1450-56; and Laffon et al (1999) *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 160:1443-49].
- <35> 또 다른 양태에서, 본 발명은 IL-13에 대한 수용체를 갖는 세포를 확인하는 방법을 제공한다. 이러한 방법은 상기 세포를, 탐지 가능한 표지를 추가로 갖는 상기 항체 또는 항체 단편과 접촉시키는 것을 포함한다. 표지는 방사성, 형광성, 자성, 상자성 또는 화학발광성이다. 상기 방법은 추가로, 상기 표지된 세포를 영상화 또는 분리시키는 것을 포함할 수 있다.



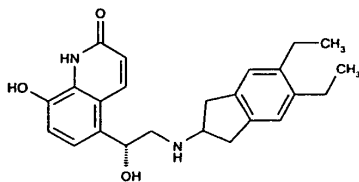
<36> 또 다른 양태에서, 상기 인간 또는 인간화 항체 또는 항체 단편은 합성이다.

<37> 또 다른 양태에서, 본 발명은 제약 조성물 및 부가의 치료제를 제공한다.

<38> 부가의 치료제는, 예를 들어 다음 약물의 치료 활성 증강제로서 또는 다음 약물의 잠재적 부작용 또는 요구되는 투여량을 저하시키기 위한 수단으로서, 특히 폐쇄성 또는 염증성 기도 질환, 예를 들어 전술된 바와 같은 질환을 치료하는데 있어서의, 소염제, 기관지 확장제, 항히스타민제 또는 진해제 약물로 이루어진 군 중에서 선택될 수 있다. 본 발명의 치료제는 고정된 제약 조성물 중에서 기타 약물과 혼합할 수 있거나, 또는 이를 기타 약물과 별개로, 기타 약물 이전에, 기타 약물과 동시에, 또는 기타 약물 다음에 투여할 수 있다. 따라서, 본 발명에는 전술된 바와 같은 본 발명의 작용제와, 소염제, 기관지 확장제, 항히스타민제 또는 진해제 약물의 조합물이 포함되는데, 본 발명의 작용제와 상기 약물은 동일하거나 상이한 제약 조성물에 존재한다.

<39> 적합한 소염 약물에는 스테로이드, 특히 글루코코르티코스테로이드, 예를 들어 부데소니드, 베클라메타손 디프로피오네이트, 플루티카손 프로피오네이트, 시클레소니드 또는 모메타손 푸로에이트, 또는 WO 02/88167, WO 02/12266, WO 02/100879, WO 02/00679 (특히, 실시예 3, 11, 14, 17, 19, 26, 34, 37, 39, 51, 60, 67, 72, 73, 90, 99 및 101), WO 03/35668, WO 03/48181, WO 03/62259, WO 03/64445, WO 03/72592, WO 04/39827 및 WO 04/66920에 기재된 스테로이드; DE 10261874, WO 00/00531, WO 02/10143, WO 03/82280, WO 03/82787, WO 03/86294, WO 03/104195, WO 03/101932, WO 04/05229, WO 04/18429, WO 04/19935 및 WO 04/26248에 기재된 바와 같은 비스테로이드계 글루코코르티코이드 수용체 작동제; LTB<sub>4</sub> 길항제, 예를 들어 BIIL 284, CP-195543, DPC11870, LTB<sub>4</sub> 에탄올아미드, LY 293111, LY 255283, CGS025019C, CP-195543, ONO-4057, SB 209247, SC-53228 및 US 5451700에 기재된 것; LTD<sub>4</sub> 길항제, 예를 들어 몬테루카스트 (montelukast), 프란루카스트 (pranlukast), 자피르루카스트 (zafirlukast), 아콜레이트, SR2640, Wy-48,252, ICI 198615, MK-571, LY-171883, Ro 24-5913 및 L-648051; PDE4 억제제, 예를 들어 실로밀라스트 [cilomilast (Ariflo<sup>®</sup> GlaxoSmithKline), 로플루밀라스트 [Roflumilast (Byk Gulden)], V-11294A (Napp), BAY19-8004 (Bayer), SCH-351591 (Schering-Plough), 아로필린 [Arofylline (Almirall Prodesfarma)], PD189659/PD168787 (Parke-Davis), AWD-12-281 (Asta Medica), CDC-801 (Celgene), SelCID(TM) CC-10004 (Celgene), VM554/UM565 (Vernalis), T-440 (Tanabe), KW-4490 (Kyowa Hakko Kogyo), 및 WO 92/19594, WO 93/19749, WO 93/19750, WO 93/19751, WO 98/18796, WO 99/16766, WO 01/13953, WO 03/104204, WO 03/104205, WO 03/39544, WO 04/000814, WO 04/000839, WO 04/005258, WO 04/018450, WO 04/018451, WO 04/018457, WO 04/018465, WO 04/018431, WO 04/018449, WO 04/018450, WO 04/018451, WO 04/018457, WO 04/018465, WO 04/019944, WO 04/019945, WO 04/045607 및 WO 04/037805에 기재된 것; EP 1052264, EP 1241176, EP 409595A2, WO 94/17090, WO 96/02543, WO 96/02553, WO 98/28319, WO 99/24449, WO 99/24450, WO 99/24451, WO 99/38877, WO 99/41267, WO 99/67263, WO 99/67264, WO 99/67265, WO 99/67266, WO 00/23457, WO 00/77018, WO 00/78774, WO 01/23399, WO 01/27130, WO 01/27131, WO 01/60835, WO 01/94368, WO 02/00676, WO 02/22630, WO 02/96462, 및 WO 03/086408에 기재된 바와 같은 A<sub>2A</sub> 작동제; 및 WO 02/42298에 기재된 바와 같은 A<sub>2B</sub> 작동제가 포함된다.

<40> 적합한 기관지 확장제에는 항콜린 작동제 또는 항무스카린제, 특히 이프라트로퓜 브로마이드, 옥시트로퓜 브로마이드, 티오토로퓜 염 및 CHF 4226 (Chiesi), 및 글리코피롤레이트 뿐만 아니라 EP 424021, US 3714357, US 5171744, WO 01/04118, WO 02/00652, WO 02/51841, WO 02/53564, WO 03/00840, WO 03/33495, WO 03/53966, WO 03/87094, WO 04/018422 및 WO 04/05285에 기재된 것; 및 베타-2 아드레날린 수용체 작동제, 예를 들어 알부테롤 (살부타몰), 메타프로테레놀, 테르부탈린, 살메테롤, 페노테롤, 프로카테롤, 및 특히 포르모테롤, 카르모테롤 및 그의 제약상 허용 가능한 염, 및 WO 00/75114 (이 문헌은 본원에 참고로 도입된다)의 화학식 I의 화합물 (자유 또는 염 또는 용매화물 형태), 바람직하게 그의 실시예 화합물, 특히 다음 식



<41>

<42> 의 화합물, 즉 (5-[(R)-2-(5,6-디에틸-인단-2-일아미노)-1-히드록시-에틸]-8-히드록시-1H-퀴놀린-2-온) 및 그의 제약상 허용 가능한 염 뿐만 아니라 WO 04/16601의 화학식 I의 화합물 (자유 또는 염 또는 용매화물 형태), 및

또한 EP 1440966, JP 05025045, WO 93/18007, WO 99/64035, US 2002/0055651, WO 01/42193, WO 01/83462, WO 02/66422, WO 02/70490, WO 02/76933, WO 03/24439, WO 03/42160, WO 03/42164, WO 03/72539, WO 03/91204, WO 03/99764, WO 04/16578, WO 04/22547, WO 04/32921, WO 04/33412, WO 04/37768, WO 04/37773, WO 04/37807, WO 04/39762, WO 04/39766, WO 04/45618, WO 04/46083, WO 04/80964, EP1460064, WO 04/087142, WO 04/089892, EP 01477167, US 2004/0242622, US 2004/0229904, WO 04/108675, WO 04/108676, WO 05/033121, WO 05/040103 및 WO 05/044787의 화합물이 포함된다.

- <43> 적합한 이중 소염 약물과 기관지 확장제에는 이중 베타-2 아드레날린 수용체 작동제/무스카린성 길항제, 예를 들어 US 2004/0167167, WO 04/74246 및 WO 04/74812에 기재된 것이 포함된다.
- <44> 적합한 항히스타민 약물에는 세티리진 히드로클로라이드, 아세트아미노펜, 클레마스틴 푸마레이트, 프로메타진, 로라티딘, 데슬로라티딘, 디펜히드라민 및 펙소페나딘 히드로클로라이드, 악티바스틴, 아스테미졸, 아젤라스틴, 에바스틴, 에피나스틴, 미졸라스틴 및 테페나딘 뿐만 아니라 JP 2004107299, WO 03/099807 및 WO 04/026841에 기재된 것이 포함된다.
- <45> 본 발명의 치료제와, 항콜린작용제 또는 항무스카린제, 스테로이드, 베타-2 작용제, PDE4 억제제, 도파민 수용체 작용제, LTD4 길항제 또는 LTB4 길항제의 조합물을 사용할 수도 있다. 본 발명의 작용제와 소염 약물의 기타 유용한 조합물은 케모카인 수용체의 기타 길항제, 예를 들어 CCR-1, CCR-3, CCR-4, CCR-5, CCR-6, CCR-7, CCR-8, CCR-9 및 CCR10, CXCR1, CXCR2, CXCR3, CXCR4, CXCR5, 특히 CCR-5 길항제, 예를 들어 셰링-플라우 (Schering-Plough) 길항제 SC-351125, SCH-55700 및 SCH-D, 다케다 (Takeda) 길항제, 예를 들어 N-[[4-[[[6,7-디히드로-2-(4-메틸페닐)-5H-벤조시클로헥텐-8-일]카보닐]아미노]페닐]-메틸]-테트라히드로-N,N-디메틸-2H-피란-4-암모늄 클로라이드 (TAK-770), US 6166037 (특히, 청구항 18 및 19), WO 0066558 (특히, 청구항 8), WO 0066559 (특히, 청구항 9), WO 04/018425 및 WO 04/026873에 기재된 CCR-5 길항제와의 조합물이다.
- <46> 부가의 치료제는 기타 사이토킨 결합성 분자, 특히 기타 사이토킨의 항체, 특히 항-IL-4 항체 (PCT/EP2005/00836에 기재된 바와 같음), 항-IgE 항체, 예를 들어 Xolair<sup>®</sup>, 항-IL-31 항체, 항-IL-31R 항체, 항-TSLP 항체, 항-TSLP 수용체 항체, 항-엔돌린 항체, 항-IL-1b 항체 또는 또 다른 항-IL-13 항체 (WO 05/007699에 기재된 바와 같음)와의 조합물로 이루어진 군 중에서 선택될 수도 있다.
- <47> 특정 양태에서, 본 발명은 서열 6 내지 10 중의 1개 내지 3개 중에서 선택된 중쇄이고, 서열 6 내지 10을 갖는 CDR 영역 내에서의 서열 동일률이 60%, 70%, 80%, 90% 또는 95% 이상인 서열인 제1 아미노산 서열; 및 서열 16 내지 22 중의 1개 내지 3개 중에서 선택된 경쇄이고, 서열 16 내지 22에 제시된 CDR 영역 내에서의 서열 동일률이 60%, 70%, 80%, 90% 또는 95% 이상인 서열인 제2 아미노산 서열을 갖는 항체를 제공한다.
- <48> 또 다른 양태에서, 본 발명은 항체 또는 그의 단편인 제1 성분과, 제2 아미노산 서열을 갖는 제2 성분으로부터 만든 면역접합체를 제공한다. 예를 들어, 이러한 면역접합체는 세포독소이거나, 면역접합체는 IL-13과 상이한 표적에 대한 결합 특이성을 지닌 항체 또는 결합성 단백질이다.
- <49> 특정 양태에서, 본 발명은 이중-특이적 (bisppecific) 항체를 제공한다.
- <50> 또 다른 양태에서, 본 발명은 항체 또는 그의 항체 단편을 갖는 키트를 제공한다. 몇몇 양태에서, 키트는 이에 대한 제약상 허용 가능한 담체 또는 부형제를 추가로 함유한다. 기타 관련 양태에서, 키트 내의 항체는 단위 용량으로 제시된다. 또 다른 관련 양태에서, 키트에는 대상체에게 투여하는데 사용하기 위한 지시 사항이 포함된다.

**발명의 상세한 설명**

- <51> 본 발명은 IL-13과 특이적으로 결합하고 IL-13의 기능적 특성을 억제하는 분리된 항체, 특히 인간 항체에 관한 것이다. 특정 양태에서, 본 발명의 항체는 특별한 중쇄 및 경쇄 서열로부터 유래되고/되거나 특별한 아미노산 서열을 포함하는 특별한 구조적 특징 (예: CDR 영역)을 포함한다. 본 발명은 분리된 항체, 이러한 항체의 제조 방법, 상기 항체를 포함하는 면역접합체 및 이중-특이적 분자, 및 본 발명의 항체, 면역접합체 또는 이중-특이적 분자를 함유하는 제약 조성물을 제공한다. 본 발명은 또한, 세포 수용체 표적 IL-13의 존재와 연관된 장애 또는 질환을 치료하기 위해, 예를 들어 염증성 또는 알레르기성 질환, 특히 염증성 또는 폐쇄성 기도 질환을 치료하는데 있어서 상기 항체를 사용하는 방법에 관한 것이다.
- <52> 본 발명을 보다 용이하게 이해할 수 있도록 하기 위해, 특정 용어를 먼저 규정하였다. 부가의 정의는 상세한

설명 전반에 걸쳐 제시되어 있다.

- <53> 용어 '인터루킨-13' 또는 'IL-13'은 달리 지시하는 경우를 제외하고는, 인간 IL-13을 지칭한다. 본 발명은 비-인간 영장류 IL-13 (시노몰구스 및 붉은털 원숭이 IL-13 포함)과 교차-반응성인 인간 IL-13에 대한 항체, 특히 인간 항체를 제공한다. 본 발명의 몇몇 양태에 따르는 항체는 아미노산 위치 130에서의 아르기닌 잔기를 글루타민으로 대체시킨 IL-13의 변이체를 인식한다. 기타 국면 및 양태에서, 본 발명은 뮤린 IL-13, 특히 마우스 IL-13에 대항한 특이적 결합 구성원을 제공한다.
- <54> 용어 "면역 반응"은 침입성 병원체, 병원체에 감염된 세포 또는 조직, 암성 세포, 또는 자가면역 또는 병리학적 염증의 경우, 정상 인간 세포 또는 조직에 대해 선택적인 손상을 가져다 주고, 이들 병원체, 세포 또는 조직을 파괴하거나 이들을 인체로부터 제거시켜 주는, 예를 들어 림프구, 항원 제시 세포, 포식세포, 과립구, 및 상피 세포 또는 간에 의해 생성된 가용성 거대분자 (항체, 사이토킨, 및 보체 포함)의 작용을 지칭한다.
- <55> "신호 변환 경로"는 신호를 세포의 한 부분으로부터 세포의 또 다른 부분으로 전송시키는데 일정 역할을 하는 각종 신호 변환 분자들 간의 생화학적 관계를 지칭한다. 본원에 사용된 바와 같은 "세포 표면 수용체"에는 신호를 수용할 수 있고 이러한 신호를 세포의 혈장 막을 가로질러 전송할 수 있는 분자 및 분자 복합체가 포함된다. 본 발명의 "세포 표면 수용체"의 한 예는 IL-13 단백질 분자와 결합하는 IL-13 수용체이다.
- <56> 본원에 지칭된 바와 같은 용어 "항체"에는 완전 항체 및 그의 모든 항원 결합성 단편 (즉, "항원 결합성 부분") 또는 단일 쇠가 포함된다. 천연 발생적 "항체"는 디설파이드 결합에 의해 내부-연결된 적어도 2개의 중쇄 (H)와 2개의 경쇄 (L)를 포함하는 당단백질이다. 각 중쇄는 중쇄 가변 영역 (본원에서  $V_H$ 로서 약칭됨)과 중쇄 불변 영역으로 구성된다. 중쇄 불변 영역은 3개의 도메인, 즉 CH1, CH2 및 CH3으로 구성된다. 각 경쇄는 경쇄 가변 영역 (본원에서  $V_L$ 로서 약칭됨)과 경쇄 불변 영역으로 구성된다. 경쇄 불변 영역은 1개 도메인, 즉  $C_L$ 로 구성된다.  $V_H$  및  $V_L$  영역은 골격 영역 (FR)으로 명명되고 보다 보존되는 영역이 산재된, 상보성 결정 영역 (CDR)으로 명명된 초가변성 영역으로 추가로 세분될 수 있다. 각  $V_H$  및  $V_L$ 은 3개의 CDR과 4개의 FR로 구성되는데, 이들은 아미노 말단에서부터 카복시 말단까지 다음 순서로 배열된다: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. 중쇄 및 경쇄의 가변 영역은 항원과 상호 작용하는 결합성 도메인을 함유한다. 항체의 불변 영역은 숙주 조직 또는 인자, 예를 들어 면역계의 각종 세포 (예: 효과인자 세포) 및 전통적인 보체 시스템의 제1 성분 (C1q)에 대한 면역글로불린의 결합을 매개할 수 있다.
- <57> 본원에 사용된 바와 같은, 항체의 "항원 결합성 부분" (또는 간단히 "항원 부분")은 항원 (예: IL-13)과 특이적으로 결합할 수 있는 능력을 보유하고 있는 항체의 하나 이상의 단편을 지칭한다. 항체의 항원 결합성 기능은 완전한 길이의 항체의 단편에 의해 수행할 수 있다는 사실이 밝혀졌다. 항체의 "항원 결합성 부분" 내에 포괄된 결합성 단편의 예에는  $V_L$ ,  $V_H$ ,  $C_L$  및 CH1 도메인으로 이루어진 1가 단편인 Fab 단편; 힌지 (hinge) 영역에서 디설파이드 브릿지에 의해 연결된 2개의 Fab 단편을 포함하는 2가 단편인 F(ab)<sub>2</sub> 단편;  $V_H$  및 CH1 도메인으로 이루어진 Fd 단편; 항체의 단일 압 (arm)의  $V_L$  및  $V_H$  도메인으로 이루어진 Fv 단편;  $V_H$  도메인으로 이루어진 dAb 단편 [참고: Ward et al., 1989 Nature 341 :544-546]; 및 분리된 상보성 결정 영역 (CDR)이 포함된다.
- <58> 더욱이, Fv 단편의 두 도메인  $V_L$  및  $V_H$ 이 별개의 유전자를 암호화하긴 하지만,  $V_L$  및  $V_H$  영역이 쌍을 이루어 1가 분자 [단일 쇠 Fv (scFv)로서 공지됨]를 형성하는 단일 단백질 쇠로서 만들어질 수 있도록 해주는 합성 링커에 의해 재조합 방법을 사용하여 상기 두 도메인을 연결시킬 수 있다 [참고: Bird et al., 1988 Science 242:423-426; and Huston et al., 1988 Proc. Natl. Acad. Sci. 85:5879-5883]. 이러한 단일 쇠 항체가 또한, 항체의 "항원 결합성 부분" 내에 포괄된다. 이들 항체 단편은 당업자에게 공지된 통상적인 기술을 사용하여 수득하고, 이 단편을 대상으로 하여 본래의 항체와 동일한 방식으로 활용하는 것에 관해 스크리닝한다.
- <59> 본원에 사용된 바와 같은 "분리된 항체"는 상이한 항원 특이성을 지닌 기타 항체가 실질적으로 없는 항체를 지칭한다 (예를 들어, IL-13과 특이적으로 결합하는 분리된 항체는 IL-13 이외의 항원과 특이적으로 결합하는 항체가 실질적으로 없다). 그러나, IL-13과 특이적으로 결합하는 분리된 항체는 기타 항원, 예를 들어 기타 종으로부터의 IL-13 분자에 대한 교차 반응성을 지닐 수 있다. 더욱이, 분리된 항체는 기타 세포성 물질 및/또는 화학물질이 실질적으로 없을 수 있다.
- <60> 본원에 사용된 바와 같은 용어 "모노클로날 항체" 또는 "모노클로날 항체 조성물"은 단일 분자상 조성물의 항체 분자 제제를 지칭한다. 모노클로날 항체 조성물은 특별한 에피토프에 대한 단일 결합 특이성과 친화성을 표시

한다.

- <61> 본원에 사용된 바와 같은 용어 "인간 항체"에는 골격 영역과 CDR 영역 둘 다가 인간 기원의 서열로부터 유래되는 가변 영역을 갖는 항체가 포함된다. 더우기, 항체가 불변 영역을 함유하는 경우, 이러한 불변 영역은 또한 상기 인간 서열, 예를 들어 인간 생식세포계 서열, 또는 인간 생식세포계 서열의 돌연변이된 버전으로부터 유래된다. 본 발명의 인간 항체에는 인간 서열에 의해 암호화되지 않는 아미노산 잔기 (예를 들어, 시험관 내에서 무작위 또는 부위 특이적 돌연변이 유발, 또는 생체내 체세포 돌연변이에 의해 도입된 돌연변이물)를 포함할 수 있다. 그러나, 본원에 사용된 바와 같은 용어 "인간 항체"에는 또 다른 포유류 종 (예: 마우스)의 생식세포계로부터 유래된 CDR 서열을 인간 골격 서열 상으로 이식시킨 항체가 포함되지 않는다.
- <62> 용어 "인간 모노클로날 항체"는 골격 영역과 CDR 영역 둘 다가 인간 서열로부터 유래되는 가변 영역을 갖는 단일 결합 특이성을 표시하는 항체를 지칭한다. 한 양태에서, 인간 모노클로날 항체는 인간 중쇄 트랜스유전자 (transgene)와 불멸화 세포와 융합된 경쇄 트랜스유전자를 포함하는 계놈을 갖는 트랜스제닉 비인간 동물 (예: 트랜스제닉 마우스)로부터 수득한 B 세포를 포함하는 하이브리도마에 의해 생성된다.
- <63> 본원에 사용된 바와 같은 용어 "재조합 인간 항체"에는 재조합 수단에 의해 제조, 발현, 창출 또는 분리되는 모든 인간 항체, 예를 들어 인간 면역글로불린 유전자에 대한 트랜스제닉 또는 트랜스-염색체성인 동물 (예: 마우스)로부터 분리된 항체 또는 이로부터 제조된 하이브리도마; 예를 들어, 형질감염 세포로부터 인간 항체를 발현하도록 형질전환시킨 숙주 세포로부터 분리된 항체; 재조합의 조합 인간 항체 라이브러리로부터 분리된 항체; 및 인간 면역글로불린 유전자 서열의 전부 또는 일부를 기타 DNA 서열에 스플라이싱하는 것을 포함하는 기타 모든 수단에 의해 제조, 발현, 창출 또는 분리된 항체가 포함된다. 이러한 재조합 인간 항체는 골격 영역과 CDR 영역이 인간 생식세포계 면역글로불린 서열로부터 유래되는 가변 영역을 갖는다. 그러나, 특정 양태에서 상기 재조합 인간 항체를 대상으로 하여 시험관내 돌연변이 유발시킬 수 (또는 인간 Ig 서열에 대해 트랜스제닉인 동물을 사용하는 경우에는, 생체내 체세포 돌연변이 유발시킨다) 있으므로, 재조합 항체의 V<sub>H</sub> 및 V<sub>L</sub> 영역의 아미노산 서열은, 인간 생식세포계 V<sub>H</sub> 및 V<sub>L</sub>로부터 유래되고 이와 관련되면서도, 생체내 인간 항체 생식세포계 레퍼토리 내에 친연상 존재하지 않을 수 있는 서열이다.
- <64> 본원에 사용된 바와 같은 "이소형"은 중쇄 불변 영역 유전자에 의해 암호화되는 항체 부류 (예: IgM, IgE, IgG, 예를 들어 IgG1 또는 IgG4)를 지칭한다.
- <65> "항원을 인식하는 항체" 및 "항원에 대해 특이적인 항체"란 표현은 본원에서 "항원과 특이적으로 결합하는 항체"란 표현과 상호 교환적으로 사용된다.
- <66> 본원에 사용된 바와 같은, "인간 IL-13과 특이적으로 결합하는" 항체는 인간 IL-13과  $5 \times 10^{-9}$  M 이하의 K<sub>D</sub>로 결합하는 항체를 지칭한다. "인간 IL-13 이외의 항원과 교차 반응하는" 항체는 이러한 항원과  $5 \times 10^{-9}$  M 이하의 K<sub>D</sub>로 결합하는 항체를 지칭한다. "특별한 항원과 교차 반응하지 않는" 항체는 이러한 항원과  $1.5 \times 10^{-8}$  M 이상의 K<sub>D</sub>, 또는 5 내지  $10 \times 10^{-8}$  M 이상 또는  $1 \times 10^{-7}$  M 이상의 K<sub>D</sub>로 결합하는 항체를 지칭한다. 특정 양태에서, 항원과 교차 반응하지 않는 상기 항체는 본질적으로, 표준 결합 검정에서 이들 단백질에 대항하여 탐지 가능하지 않은 결합성을 나타낸다.
- <67> 본원에 사용된 바와 같은, "IL-13 수용체에 대한 IL-13의 결합을 억제시키는" 항체는 상기 수용체에 대한 IL-13 결합을 5 nM 이하의 K<sub>D</sub>로 억제시키는 항체를 지칭한다.
- <68> 본원에 사용된 바와 같은, "염증성 매개인자 방출을 억제시키는" 항체는 10 nM, 5 nM, 2.5 nM, 1.0 nM, 0.5 nM 이하의 IC<sub>50</sub>으로, 인간 폐 섬유아세포로부터의 IL-13 유도된 에오타신 (eotaxin) 방출을 억제시키는 항체를 지칭한다.
- <69> 본원에 사용된 바와 같은 용어 "K<sub>assoc</sub>" 또는 "K<sub>a</sub>"는 특별한 항체-항원 상호 작용의 연합 속도를 지칭하는 반면, 본원에 사용된 바와 같은 용어 "K<sub>dis</sub>" 또는 "K<sub>d</sub>"는 특별한 항체-항원 상호 작용의 해리 속도를 지칭한다. 본원에 사용된 바와 같은 용어 "K<sub>D</sub>"는 K<sub>d</sub> 대 K<sub>a</sub>의 비 (즉, K<sub>d</sub>/K<sub>a</sub>)로부터 수득되고 몰 농도 (M)로서 표현되는 해리 상수를 지칭한다. 항체에 대한 K<sub>D</sub> 값은 당해 분야에 널리 확립된 방법을 사용하여 결정할 수 있다. 항체의 K<sub>D</sub>를

결정하는 방법은 표면 플라즈몬 공명을 사용하거나, 또는 바이오센서 시스템, 예를 들어 비아코어 (Biacore®) 시스템을 사용하는 것이다.

- <70> 본원에 사용된 바와 같은, IgG 항체에 대한 "고 친화성"은 표적 항원에 대한  $K_D$ 가  $10^{-8}$  M 이하,  $10^{-9}$  M 이하, 또는  $10^{-10}$  M 이하인 항체를 지칭한다.
- <71> 본원에 사용된 바와 같은 용어 "대상체"에는 모든 인간 또는 비인간 동물이 포함된다. 용어 "비인간 동물"에는 모든 척추동물, 예를 들어 포유류 및 비포유류, 예를 들어 비인간 영장류, 양, 개, 고양이, 말, 암소, 치킨, 양서류, 파충류 등이 포함된다.
- <72> 본 발명의 각종 국면이 다음 서브섹션에 추가로 상세히 기재되어 있다.
- <73> 각종 종의 IL-13에 대한 항체의 결합 능력을 평가하기 위한 표준 검정은 당해 분야에 공지되어 있고, 이의 예로는 ELISA, 웨스턴 블롯 및 RIA가 있다. 적합한 검정은 본 실시예에 상세히 기재되어 있다. 항체의 결합 역학 (예: 결합 친화성)은 또한, 당해 분야에 공지된 표준 검정, 예를 들어 비아코어 분석에 의해 평가할 수 있다. IL-13의 기능적 특성에 대한 항체의 효과를 평가하기 위한 검정이 본 실시예에 추가로 상세히 기재되어 있다.
- <74> 따라서, 당해 분야에 공지되어 있고 본원에 기재된 바와 같은 방법론에 따라서 결정된 바와 같이, 이들 IL-13 기능적 특성 (예: 생화학적, 면역화학적, 세포적, 생리학적 또는 기타 생물학적 활성 등) 중의 한 가지 이상을 "억제시키는" 항체는, 이러한 항체의 부재 하에서 관찰된 것과 비교해서 (또는, 무관한 특이성의 대조군 항체가 존재하는 경우) 특별한 활성이 통계상 유의적으로 저하되었다는 것에 관한 것임을 이해해야 할 것이다. IL-13 활성을 억제시키는 항체는 이러한 통계상 유의적 저하를 측정 파라미터의 10% 이상, 50%, 80% 또는 90% 이상 정도로 발휘하고, 특정 양태에서 본 발명의 항체는 IL-13 기능적 활성을 95%, 98% 또는 99% 초과하여 억제시킬 수 있다.
- <75> 모노클로날 항체
- <76> 본 발명의 항체는 실시예 1 내지 5에 기재된 바와 같이 분리하고 구조적으로 명확히 규명한 인간 모노클로날 항체이다. 이러한 항체의  $V_H$  아미노산 서열은 서열 6 내지 10에 각각 제시되어 있다. 이러한 항체의  $V_L$  아미노산 서열은 서열 16 내지 22에 각각 제시되어 있다. 본 발명의 기타 항체는 돌연변이시켰지만, 상기 언급된 서열에 제시된 CDR 영역 내에서의 동일률이 60%, 70%, 80%, 90% 또는 95% 이상인 아미노산을 포함한다.
- <77> 이들 항체 각각이 IL-13과 결합할 수 있기 때문에,  $V_H$  서열과  $V_L$  서열을 "혼합 및 매칭"하여 본 발명의 기타 항-IL-13 결합성 분자를 창출시킬 수 있다. 이와 같이 "혼합 및 매칭시킨" 항체의 IL-13 결합성은 상기 및 본 실시예에 기재된 결합 검정 (예: ELISA)을 사용하여 시험할 수 있다.  $V_H$  및  $V_L$  쇄를 혼합 및 매칭하는 경우, 특별한  $V_H/V_L$  쌍 형성으로부터의  $V_H$  서열을 구조적으로 유사한  $V_H$  서열로 대체시켜야 한다. 마찬가지로, 특별한  $V_H/V_L$  쌍 형성으로부터의  $V_L$  서열을 구조적으로 유사한  $V_L$  서열로 대체시켜야 한다. 본 발명의 항체의  $V_H$  및  $V_L$  서열은 특히, 혼합 및 매칭에 적합하며, 이는 이들 항체가 동일한 생식세포계 서열로부터 유래된  $V_H$  및  $V_L$  서열을 사용하므로 구조적 유사성을 나타내기 때문이다.
- <78> 또 다른 국면에서, 본 발명은 항체의 중쇄 및 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3, 또는 그의 조합물을 포함하는 항체를 제공한다. 항체의  $V_H$  CDR1의 아미노산 서열은 서열 6 내지 7에 제시되어 있다. 항체의  $V_H$  CDR2의 아미노산 서열은 서열 8에 제시되어 있다. 항체의  $V_H$  CDR3의 아미노산 서열은 서열 9 내지 10에 제시되어 있다. 항체의  $V_L$  CDR1의 아미노산 서열은 서열 16 내지 18에 제시되어 있다. 항체의  $V_L$  CDR2의 아미노산 서열은 서열 19에 제시되어 있다. 항체의  $V_L$  CDR3의 아미노산 서열은 서열 20 내지 22에 제시되어 있다. CDR 영역은 카바트 (Kabat) 시스템을 사용하여 서술한다 [참고: Kabat, E. A., et al., 1991 Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242].
- <79> 이들 항체 각각이 IL-13과 결합할 수 있고 항원 결합 특이성이 주로 CDR1, 2 및 3 영역에 의해 제공된다면,  $V_H$  CDR1, 2 및 3 서열과  $V_L$  CDR1, 2 및 3 서열을 "혼합 및 매칭하여" (즉, 상이한 항체로부터의 CDR을 혼합 및 매칭할 수 있지만, 각 항체는  $V_H$  CDR1, 2 및 3 서열과  $V_L$  CDR1, 2 및 3을 함유해야 한다) 본 발명의 기타 항-IL-13 결합성 분자를 창출시킬 수 있다. 이러한 "혼합 및 매칭시킨" 항체의 IL-13 결합성은 상기 및 본 실시예에

기재된 결합 검정 (예: ELISA)을 사용하여 시험할 수 있다.  $V_H$  CDR 서열을 혼합 및 매칭하는 경우, 특별한  $V_H$  서열로부터의 CDR1, CDR2 및/또는 CDR3 서열을 구조적으로 유사한 CDR 서열로 대체시켜야 한다. 마찬가지로,  $V_L$  CDR 서열을 혼합 및 매칭하는 경우, 특별한  $V_L$  서열로부터의 CDR1, CDR2 및/또는 CDR3 서열을 구조적으로 유사한 CDR 서열로 대체시켜야 한다. 신규한  $V_H$  및  $V_L$  서열은 하나 이상의  $V_H$  및/또는  $V_L$  CDR 영역 서열을, 본 발명의 모노클로날 항체에 대해 본원에 제시된 CDR 서열로부터의 구조적으로 유사한 서열로 치환시킴으로써 창출시킬 수 있다는 것이 당업자에게는 용이하게 명백할 것이다.

<80> 분리된 모노클로날 항체, 또는 그의 항원 결합성 부분은 서열 6 내지 7로 이루어진 군 중에서 선택된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR1; 서열 8의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR2; 서열 9 내지 10으로 이루어진 군 중에서 선택된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR3; 서열 16 내지 18로 이루어진 군 중에서 선택된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR1; 서열 19의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR2; 및 서열 20 내지 22로 이루어진 군 중에서 선택된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR3을 갖는데, 항체는 IL-13과 특이적으로 결합한다.

<81> 특정 양태에서, 항체는 서열 6을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR1; 서열 8을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR2; 서열 9를 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR3; 서열 16을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR1; 서열 19를 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR2; 및 서열 20을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR3으로 이루어진다.

<82> 또 다른 양태에서, 항체는 서열 7을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR1; 서열 8을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR2; 서열 10을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR3; 서열 17을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR1; 서열 19를 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR2; 및 서열 21을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR3으로 이루어진다.

<83> 또 다른 양태에서, 항체는 서열 7을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR1; 서열 8을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR2; 서열 10을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR3; 서열 18을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR1; 서열 19를 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR2; 및 서열 22를 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR3으로 이루어진다.

<84> 본원에 사용된 바와 같은 인간 항체는 이러한 항체의 가변 영역이 인간 생식세포계 면역글로불린 유전자를 이용하는 시스템으로부터 획득되는 경우에, 특별한 생식세포계 서열의 "생성물이거나" 또는 "이로부터 유래되는" 중쇄 또는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 이러한 시스템은 관심있는 항원을 이용하여 인간 면역글로불린 유전자를 보유하고 있는 트랜스제닉 마우스를 면역시키거나, 또는 관심있는 항원을 이용하여 파아지 상에 디스플레이된 인간 면역글로불린 유전자 라이브러리를 스크리닝하는 것을 포함한다. 인간 생식세포계 면역글로불린 서열의 "생성물이거나" 또는 "이로부터 유래되는" 인간 항체는 인간 항체의 아미노산 서열을 인간 생식세포계 면역글로불린의 아미노산 서열 서열과 비교하고, 인간 항체의 서열에 가장 근접한 서열 [즉, 가장 큰 동일률(%)을 나타냄]인 인간 생식세포계 면역글로불린 서열을 선별함으로써 그 자체로서 확인할 수 있다. 특별한 인간 생식세포계 면역글로불린 서열의 "생성물이거나" 또는 "이로부터 유래되는" 인간 항체는, 예를 들어 천연 발생적 체세포 돌연변이, 또는 부위 지시된 돌연변이의 의도적 도입으로 인해, 생식세포계 서열과 비교해서 아미노산 차이를 함유할 수 있다. 그러나, 선별된 인간 항체는 전형적으로, 인간 생식세포계 면역글로불린 유전자에 의해 암호화된 아미노산 서열과의 아미노산 서열 동일률이 90% 이상이고, 기타 중의 생식세포계 면역글로불린 아미노산 서열 (예: 무린 생식세포계 서열)과 비교해서 상기 인간 항체를 인간으로서 확인시켜 주는 아미노산 잔기를 함유하고 있다. 특정한 경우, 인간 항체는 생식세포계 면역글로불린 유전자에 의해 암호화된 아미노산 서열과의 아미노산 서열 동일률이 60%, 70%, 80%, 90%, 또는 95% 이상, 또는 심지어 96%, 97%, 98%, 또는 99% 이상일 수 있다. 전형적으로, 특별한 인간 생식세포계 서열로부터 유래된 인간 항체는 인간 생식세포계 면역글로불린 유전자에 의해 암호화된 아미노산 서열과 10개 이하의 아미노산 차이를 나타낼 것이다. 특정한 경우, 인간 항체는 생식세포계 면역글로불린 유전자에 의해 암호화된 아미노산 서열과 5개 이하, 또는 심지어 4, 3, 2 또는 1개 이하의 아미노산 차이를 나타낼 수 있다.

<85> 상동성 항체

<86> 또 다른 양태에서, 본 발명의 항체는 본원에 기재된 항체의 아미노산 서열과 상동성인 아미노산 서열을 갖는 중쇄 및 경쇄 가변 영역을 갖는데, 이러한 항체는 본 발명의 항-IL-13 항체의 목적하는 기능적 특성을 보유하고 있다.

<87> 예를 들어, 본 발명은 중쇄 가변 영역과 경쇄 가변 영역을 포함하는 분리된 모노클로날 항체, 또는 그의 항원 결합성 부분을 제공하는데, 중쇄 가변 영역은 서열 6 내지 10으로 이루어진 군 중에서 선택된 아미노산 서열과 80% 이상 상동성인 아미노산 서열을 포함하고; 경쇄 가변 영역은 서열 16 내지 22로 이루어진 군 중에서 선택

된 아미노산 서열과 80% 이상 상동성인 아미노산 서열을 포함하며; 상기 항체가 IL-13과 특이적으로 결합하고; 항체가 다음 기능적 특성 중의 한 가지 이상을 나타낸다: 항체는 IL-13 수용체에 대한 IL-13 단백질의 결합을 억제하거나, 항체는 IL-13 수용체 결합을 억제하여, 염증성 또는 알레르기성 질환, 특히 염증성 또는 폐쇄성 기도 질환을 예방 또는 개선시키거나, 항체는 IL-13 수용체 결합을 억제하여 천식을 예방 또는 개선시키거나, 또는 항체는 IL-13 수용체 결합을 억제하여 COPD를 예방 또는 개선시킨다.

<88> 각종 양태에서, 본 발명의 항체는 상기 논의된 기능적 특성 중의 한 가지 이상, 두 가지 이상, 또는 세 가지를 나타낼 수 있다. 항체는, 예를 들어 인간 항체, 인간화 항체 또는 키메라 항체일 수 있다.

<89> 기타 양태에서,  $V_H$  및/또는  $V_L$  아미노산 서열은 상기 제시된 서열과의 상동률이 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%일 수 있다. 서열 6 내지 10 및 서열 16 내지 22 각각의  $V_H$  및  $V_L$  영역과의 상동률이 높은 (즉, 80% 이상)  $V_H$  및  $V_L$  영역을 갖는 항체는 서열 6 내지 10 및/또는 서열 16 내지 22를 암호화하는 핵산 분자를 돌연변이 유발 (예를 들어, 부위 지시되거나 PCR 매개된 돌연변이 유발)시킨 다음, 이와 같이 암호화되고 변경된 항체를 대상으로 하여 본원에 기재된 기능적 검정을 사용하여 보유된 기능 (즉, 상기 제시된 기능)에 관하여 시험함으로써 획득할 수 있다.

<90> 본원에 사용된 바와 같은, 두 아미노산 서열 간의 상동률(%)은 두 서열 간의 동일률(%)과 등가이다. 두 서열 간의 동일률(%)은 두 서열을 최적으로 정렬시키기 위해 도입될 필요가 있는 각 갭의 길이와 갭의 수를 고려하여, 해당 서열을 공유하는 동일한 위치 수의 함수이다 (즉, 상동률(%) = 동일한 위치 수/총 위치 수 x 100). 서열을 비교하고, 두 서열 간의 동일률을 결정하는 것은 다음 비제한적 실시예에 기재되는 바와 같은 수학적 알고리즘을 사용하여 달성할 수 있다.

<91> 두 아미노산 서열 간의 동일률(%)은 PAM120 중량 잔기 표, 갭 길이 페널티 12 및 갭 페널티 4를 사용하여, ALIGN 프로그램 (버전 2.0) 내로 혼입시킨 알고리즘 [참고: E. Meyers and W. Miller (Comput. Appl. Biosci., 4:1 1-17, 1988)]을 사용하여 결정할 수 있다. 또한, 두 아미노산 서열 간의 동일률(%)은 블로섬 (Blossom) 62 매트릭스 또는 PAM250 매트릭스, 및 갭 중량 16, 14, 12, 10, 8, 6, 또는 4 및 길이 중량 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6을 사용하여, GCG 소프트웨어 패키지 (<http://www.gcg.com>에서 입수 가능함) 중의 GAP 프로그램 내로 혼입시킨 알고리즘 [참고: Needleman and Wunsch (J. Mol. Biol. 48:444-453, 1970)]을 사용하여 결정할 수 있다.

<92> 부가적으로 또는 또 다른 한편, 본 발명의 단백질 서열을 "조회 서열"로서 추가로 사용하여 공개 데이터베이스에 대한 조사를 수행하여, 예를 들어 관련 서열을 확인할 수 있다. 이러한 조사는 XBLAST 프로그램 (버전 2.0) [참고: Altschul, et al., 1990 J.Mol. Biol. 215:403-10]을 사용하여 수행할 수 있다. BLAST 단백질 조사는 XBLAST 프로그램, 스코어 = 50, 워드 길이 = 3을 사용하여 수행하여 본 발명의 항체 분자와 상동성인 아미노산 서열을 획득할 수 있다. 비교용의 갭이 있는 정렬을 획득하기 위해서는, 갭이 있는 BLAST를 문헌 [참고: Altschul et al., 1997 Nucleic Acids Res. 25(17):3389-3402]에 기재된 바와 같이 활용할 수 있다. BLAST 및 갭이 있는 BLAST 프로그램을 활용하는 경우, 각각의 프로그램 (예: XBLAST 및 NBLAST)의 디폴트 (default) 파라미터를 사용할 수 있다 [참고: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>].

<93> 보존적 변형을 수반한 항체

<94> 특정 양태에서, 본 발명의 항체는 CDR1, CDR2, 및 CDR3 서열로 이루어진 중쇄 가변 영역과 CDR1, CDR2, 및 CDR3 서열로 이루어진 경쇄 가변 영역을 갖는데, 이들 CDR 서열 중의 하나 이상은 본원에 기재된 항체를 기준으로 한 지정된 아미노산 서열 또는 그의 보존적 변형물을 갖고 있고, 상기 항체는 본 발명의 항-IL-13 항체의 목적하는 기능적 특성을 보유하고 있다. 따라서, 본 발명은 CDR1, CDR2, 및 CDR3 서열로 이루어진 중쇄 가변 영역과 CDR1, CDR2, 및 CDR3 서열로 이루어진 경쇄 가변 영역으로 이루어진 분리된 모노클로날 항체, 또는 그의 항원 결합성 부분을 제공하는데, CDR1의 중쇄 가변 영역은 서열 6 내지 7의 아미노산 서열로 이루어진 군 중에서 선택된 아미노산 서열로 이루어진 서열, 및 그의 보존적 변형물이고; CDR2의 중쇄 가변 영역은 서열 8의 아미노산 서열로 이루어진 서열, 및 그의 보존적 변형물이며; CDR3의 중쇄 가변 영역은 서열 9 내지 10의 아미노산 서열로 이루어진 군 중에서 선택된 아미노산 서열로 이루어진 서열, 및 그의 보존적 변형물이고; CDR1의 경쇄 가변 영역은 서열 16 내지 18의 아미노산 서열로 이루어진 군 중에서 선택된 아미노산 서열로 이루어진 서열, 및 그의 보존적 변형물이고; CDR2의 경쇄 가변 영역은 서열 19의 아미노산 서열로 이루어진 서열, 및 그의 보존적 변형물이며; CDR3의 경쇄 가변 영역은 서열 20 내지 22의 아미노산 서열로 이루어진 군 중에서 선택된 아미노산 서열로 이루어진 서열, 및 그의 보존적 변형물이고; 상기 항체는 IL-13과 특이적으로 결합하며; 항

체는 IL-13 수용체 결합을 억제하여 염증성 매개인자 방출을 방지시킨다.

- <95> 각종 양태에서, 본 발명의 항체는 상기 논의되고 열거된 기능적 특성 중의 한 가지 이상, 두 가지 이상, 또는 세 가지 이상을 나타낼 수 있다. 이러한 항체는, 예를 들어 인간 항체, 인간화 항체 또는 키메라 항체일 수 있다.
- <96> 본원에 사용된 바와 같은 용어 "보존적 서열 변형물"은 해당 아미노산 서열을 함유하는 항체의 결합성 특징에 상당한 영향을 미치지 않거나 이를 변경시키지 않는 아미노산 변형물을 지칭한다. 이러한 보존적 변형물에는 아미노산 치환물, 부가물 및 결실물이 포함된다. 변형물은 당해 분야에 공지된 표준 기술, 예를 들어 부위 지시된 돌연변이 유발 및 PCR-매개된 돌연변이 유발에 의해 본 발명의 항체 내로 도입할 수 있다.
- <97> 보존적 아미노산 치환은 아미노산 잔기를 유사한 측쇄를 갖는 아미노산 잔기로 대체시키는 것이다. 유사한 측쇄를 갖는 아미노산 잔기 계열은 당해 분야에 규정되었다. 이들 계열에는 염기성 측쇄를 갖는 아미노산 (예: 리신, 아르기닌, 히스티딘), 산성 측쇄를 갖는 아미노산 (예: 아스파르트산, 글루탐산), 전하를 띠지 않는 극성 측쇄를 갖는 아미노산 (예: 글리신, 아스파라긴, 글루타민, 세린, 트레오닌, 티로신, 시스테인, 트립토판), 비극성 측쇄를 갖는 아미노산 (예: 알라닌, 발린, 루이신, 이소루이신, 프롤린, 페닐알라닌, 메티오닌), 베타-분지된 측쇄를 갖는 아미노산 (예: 트레오닌, 발린, 이소루이신) 및 방향족 측쇄를 갖는 아미노산 (예: 티로신, 페닐알라닌, 트립토판, 히스티딘)이 포함된다. 따라서, 본 발명의 항체의 CDR 영역 내의 하나 이상의 아미노산 잔기를 동일한 측쇄 계열로부터의 기타 아미노산 잔기로 대체시킬 수 있고, 이와 같이 변경된 항체를 대상으로 하여 본원에 기재된 기능적 검정을 이용하여 보유하고 있는 기능에 관해 시험할 수 있다.
- <98> 본 발명의 항-IL-13 항체와 동일한 에피토프와 결합하는 항체
- <99> 또 다른 양태에서, 본 발명은 본원에 제공된 본 발명의 각종 항-IL-13 항체가 하는 바와 동일한 에피토프와 결합하는 항체를 제공한다. 이러한 부가의 항체는 표준 IL-13 결합 검정에서 본 발명의 기타 항체와 교차-경쟁할 수 있는 능력 (예를 들어, 통계상 유의적 방식으로 그의 결합을 경쟁적으로 억제할 수 있는 능력)에 의거하여 확인할 수 있다. 인간 IL-13에 대한 본 발명의 항체의 결합성을 억제할 수 있는 시험 항체의 능력은 이러한 시험 항체가 인간 IL-13과의 결합을 놓고 상기 항체와 경쟁할 수 있다는 것을 입증하며; 이러한 항체는 비-제한적 이론에 따라서, 이와 경쟁하는 항체와 동일하거나 관련된 (예: 구조적으로 유사하거나 공간상 근접한) 인간 IL-13 상의 에피토프와 결합할 수 있다. 특정 양태에서, 본 발명의 항체로서 인간 IL-13 상의 동일한 에피토프와 결합하는 항체는 인간 모노클로날 항체이다. 이러한 인간 모노클로날 항체는 본 실시예에 기재된 바와 같이 제조 및 분리할 수 있다.
- <100> 공학 처리되고 변형시킨 항체
- <101> 본 발명의 항체는 추가로, 변형시킨 항체를 공학 처리하기 위해 출발 물질로서 본원에 제시된  $V_H$  및/또는  $V_L$  서열 중의 하나 이상을 갖는 항체를 사용하여 제조할 수 있는데, 상기 변형시킨 항체는 출발 항체로부터 변경된 특성을 지닐 수 있다. 항체는 가변 영역 중의 하나 또는 둘 다 (즉,  $V_H$  및/또는  $V_L$ ) 내의 하나 이상의 잔기, 예를 들어 하나 이상의 CDR 영역 및/또는 하나 이상의 골격 영역 내의 하나 이상의 잔기를 변형시킴으로써 공학 처리시킬 수 있다. 부가적으로, 또는 또 다른 한편, 항체는 불변 영역 내의 잔기를 변형시킴으로써 공학 처리하여, 예를 들어 이러한 항체의 효과인자 기능(들)을 변경시킬 수 있다.
- <102> 수행될 수 있는 가변 영역 공학 처리의 한 가지 유형은 CDR 이식화이다. 항체는 주로 6개의 중쇄 및 경쇄 상보성 결정 영역 (CDR) 내에 위치하는 아미노산 잔기를 통하여 표적 항원과 상호 작용한다. 이러한 이유로 인해, CDR 내의 아미노산 서열은 CDR 외부의 서열 보다 개개 항체들 간에 보다 다양하다. CDR 서열은 대부분의 항체-항원 상호 작용에 책임이 있기 때문에, 상이한 특성을 지닌 상이한 항체로부터의 골격 서열 상으로 이식된 특이적 천연 발생적 항체로부터의 CDR 서열을 포함하는 발현 벡터를 구축함으로써 특이적 천연 발생적 항체의 특성을 모방하는 재조합 항체를 발현시킬 수 있다 [참고: 예를 들어, Riechmann, L. et al., 1998 Nature 332:323-327; Jones, P. et al., 1986 Nature 321:522-525; Queen, C. et al., 1989 Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 86:10029-10033; 미국 특허 제5,225,539호 (winter), 및 미국 특허 제5,530,101호; 제5,585,089호; 제5,693,762호 및 제6,180,370호 (Queen et al.)].
- <103> 따라서, 본 발명의 또 다른 양태는 서열 6 내지 7로 이루어진 군 중에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 CDR1 서열; 서열 8의 아미노산 서열을 갖는 CDR2 서열; 서열 9 내지 10으로 이루어진 군 중에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 CDR3 서열을 각각 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 서열 16 내지 18로 이루어진 군 중에서 선택된 아미노



산 서열을 갖는 CDR1 서열; 서열 19의 아미노산 서열을 갖는 CDR2 서열; 서열 20 내지 22로 이루어진 군 중에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 CDR3 서열을 각각 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 분리된 모노클로날 항체, 또는 그의 항원 결합성 부분에 관한 것이다. 따라서, 이러한 항체는 모노클로날 항체의  $V_H$  및  $V_L$  CDR 서열을 함유하지만, 이들 항체와는 상이한 골격 서열을 함유할 수도 있다.

<104> 이러한 골격 서열은 생식세포계 항체 유전자 서열을 포함하는 공개된 참고 문헌 또는 공개 DNA 데이터베이스로부터 취득할 수 있다. 예를 들어, 인간 중쇄 및 경쇄 가변 영역 유전자에 대한 생식세포계 DNA 서열은 "VBase" 인간 생식세포계 서열 데이터베이스 (인터넷 [www.mrc-cpe.cam.ac.uk/vbase](http://www.mrc-cpe.cam.ac.uk/vbase)로부터 입수 가능함)에서 발견할 수 있을 뿐만 아니라 문헌 [참고: Kabat, E. A., et al., 1991 Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242; Tomlinson, I. M., et al., 1992 J. mol. Biol. 227:776-798; and Cox, J. P. L. et al., 1994 Eur. J Immunol. 24:827-836; 각각의 전문이 본원에 참고로 도입된다]에 보고되었다.

<105> 본 발명의 항체에 사용하기 위한 골격 서열의 한 예는 본 발명의 선별된 항체에 의해 사용된 골격 서열과 구조적으로 유사한 서열, 예를 들어 본 발명의 모노클로날 항체에 의해 사용된 컨센서스 서열 및/또는 골격 서열이다.  $V_H$  CDR1, 2 및 3 서열, 및  $V_L$  CDR1, 2 및 3 서열을, 골격 서열이 유래되는 생식세포계 면역글로불린 유전자에서 발견되는 바와 동일한 서열을 갖는 골격 영역 상으로 이식시킬 수 있거나, 또는 CDR 서열을 생식세포계 서열과 비교해서 하나 이상의 돌연변이를 함유하는 골격 영역 상으로 이식시킬 수 있다. 예를 들어, 특정의 경우에는 골격 영역 내의 잔기를 돌연변이시켜 항체의 항원 결합 능력을 유지 또는 증강시키는 것이 유리한 것으로 밝혀졌다 [참고: 예를 들어, 미국 특허 제5,530,101호; 제5,585,089호; 제5,693,762호 및 제6,180,370호 (Queen et al)].

<106> 또 다른 유형의 가변 영역 변형은  $V_H$  및/또는  $V_L$  CDR1, CDR2 및/또는 CDR3 영역 내의 아미노산 잔기를 돌연변이 시킴으로써, 관심있는 항체의 한 가지 이상 결합 특성 (예: 친화성)을 개선시키는 것이다 ("친화 돌연변이"로서 공지됨). 부위 지시된 돌연변이 유발 또는 PCR 매개된 돌연변이 유발을 수행하여 상기 돌연변이를 도입할 수 있고, 항체 결합성에 대한 효과, 또는 관심있는 기타 기능적 특성은 본원에 기재되어 있고 본 실시예에 제공된 바와 같은 시험관내 및 생체내 검정에서 평가할 수 있다. 보존적 변형 (상기 논의된 바와 같음)을 도입할 수 있다. 돌연변이는 아미노산 치환, 부가 또는 결실일 수 있다. 더우기, 전형적으로 CDR 영역 내의 1개, 2개, 3개, 4개 또는 5개 이하 잔기를 변경시킨다.

<107> 따라서, 또 다른 양태에서 본 발명은 서열 6 내지 7을 갖는 군 중에서 선택된 아미노산 서열, 또는 서열 6 내지 7과 비교해서 1개, 2개, 3개, 4개 또는 5개 아미노산 치환, 결실 또는 부가를 갖는 아미노산 서열로 이루어진  $V_H$  CDR1 영역; 서열 8의 아미노산 서열, 또는 서열 8과 비교해서 1개, 2개, 3개, 4개 또는 5개 아미노산 치환, 결실 또는 부가를 갖는 아미노산 서열을 갖는  $V_H$  CDR2 영역; 서열 9 내지 10으로 이루어진 군 중에서 선택된 아미노산 서열, 또는 서열 9 내지 10과 비교해서 1개, 2개, 3개, 4개 또는 5개 아미노산 치환, 결실 또는 부가를 갖는 아미노산 서열을 갖는  $V_H$  CDR3 영역을 갖는 중쇄 가변 영역과, 서열 16 내지 18로 이루어진 군 중에서 선택된 아미노산 서열, 또는 서열 16 내지 18과 비교해서 1개, 2개, 3개, 4개 또는 5개 아미노산 치환, 결실 또는 부가를 갖는 아미노산 서열을 갖는  $V_L$  CDR1 영역; 서열 19의 아미노산 서열, 또는 서열 19와 비교해서 1개, 2개, 3개, 4개 또는 5개 아미노산 치환, 결실 또는 부가를 갖는 아미노산 서열을 갖는  $V_L$  CDR2 영역; 및 서열 20 내지 22로 이루어진 군 중에서 선택된 아미노산 서열, 또는 서열 20 내지 22와 비교해서 1개, 2개, 3개, 4개 또는 5개 아미노산 치환, 결실 또는 부가를 갖는 아미노산 서열을 갖는  $V_L$  CDR3 영역을 갖는 경쇄 가변 영역으로 이루어진 분리된 항-IL-13 모노클로날 항체, 또는 그의 항원 결합성 부분을 제공한다.

<108> 본 발명의 공학 처리시킨 항체는  $V_H$  및/또는  $V_L$  내의 골격 잔기에 대해 변형이 이루어져서, 예를 들어 항체의 특성을 개선시킨 것이 포함된다. 전형적으로, 이러한 골격 변형은 항체의 면역원성을 저하시키기 위해 이루어진다. 예를 들어, 한 가지 접근방식은 1개 이상의 골격 잔기를 상응하는 생식세포계 서열로 "역돌연변이"시키는 것이다. 보다 구체적으로 언급하면, 체세포 돌연변이를 진행한 항체는 이러한 항체가 유래되는 생식세포계 서열과는 상이한 골격 잔기를 함유할 수 있다. 이러한 잔기는 항체 골격 서열을 해당 항체가 유래되는 생식세포계 서열과 비교함으로써 확인할 수 있다. 골격 영역 서열을 그들의 생식세포계 형상으로 복귀시키기 위해서는, 체세포 돌연변이물을, 예를 들어 부위 지시된 돌연변이 유발 또는 PCR 매개된 돌연변이 유발에 의해 생식세포계 서열로 "역돌연변이"시킬 수 있다. 이러한 "역돌연변이된" 항체가 또한 본 발명에 포함된다.

- <109> 또 다른 유형의 골격 변형은 골격 영역 내의 1개 이상의 잔기, 또는 심지어 하나 이상의 CDR 영역 내의 1개 이상의 잔기를 돌연변이시켜 T 세포-에피토프를 제거함으로써, 항체의 잠재적 면역원성을 저하시키는 것을 포함한다. 이러한 접근방식은 "탈면역"으로서 지칭되기도 하고, 미국 공개특허공보 제20030153043호 (Carr et al)에 추가로 상세히 기재되어 있다.
- <110> 골격 또는 CDR 영역 내에서 이루어진 변형 이외에도 또는 변형에 대한 대안으로서, 본 발명의 항체가 Fc 영역 내에서의 변형을 포함하도록, 전형적으로 항체의 한 가지 이상 기능적 특성, 예를 들면 혈청 반감기, 보체 고정화, Fc 수용체 결합성, 및/또는 항원-의존적 세포성 세포독성을 변경시키도록 본 발명의 항체를 공학 처리할 수 있다. 더우기, 본 발명의 항체를 화학적으로 변형시킬 수 있거나 (예를 들어, 하나 이상의 화학적 부분을 항체에 부착시킬 수 있다), 또는 그의 당화를 변경시켜 항체의 한 가지 이상 기능적 특성을 변경시키도록 변형시킬 수 있다. 이들 양태 각각이 다음에 추가로 상세히 기재되어 있다. Fc 영역 내의 잔기 넘버링은 카바트 (Kabat)의 EU 인덱스에 따른다.
- <111> 한 양태에서, CH1의 힌지 영역은 이러한 힌지 영역 내의 시스테인 잔기 수가 변경되도록, 예를 들어 감소되거나 증가되도록 변형시킨다. 이러한 접근 방식은 미국 특허 제5,677,425호 (Bodmer et al)에 추가로 기재되어 있다. CH1의 힌지 영역 내의 시스테인 잔기 수는, 예를 들어 경쇄 및 중쇄의 어셈블리를 촉진시키거나 또는 항체의 안정성을 증가 또는 저하시키도록 변경시킨다.
- <112> 또 다른 양태에서, 항체의 Fc 힌지 영역은 항체의 생물학적 반감기를 감소시키도록 돌연변이시킨다. 보다 구체적으로 언급하면, 1개 이상의 아미노산 돌연변이를 Fc-힌지 단편의 CH2-CH3 도메인 계면 영역 내로 도입하여, 항체가 본래의 Fc-힌지 도메인 스태필로코실 (Staphylococcyli) 단백질 A (SpA) 결합성과 비교해서 손상된 SpA 결합성을 지니도록 한다. 이러한 접근 방식은 미국 특허 제6,165,745호 (Ward et al)에 추가로 상세히 기재되어 있다.
- <113> 또 다른 양태에서, 항체는 그의 생물학적 반감기를 증가시키도록 변형시킨다. 각종 접근 방식이 가능하다. 예를 들어, 다음 돌연변이 중의 한 가지 이상을 도입할 수 있다: T252L, T254S, T256F [미국 특허 제6,277,375호 (Ward)에 기재된 바와 같음]. 또 다른 한편 생물학적 반감기를 증가시키기 위해, 항체를 CH1 또는 CL 영역 내에서 변경시켜, IgG의 Fc 영역의 CH2 도메인의 2개 루프로부터 취한 재이용 수용체 결합성 에피토프를 함유하도록 할 수 있다 [미국 특허 제5,869,046호 및 제6,121,022호 (Presta et al)에 기재된 바와 같음].
- <114> 기타 양태에서, Fc 영역은 1개 이상의 아미노산 잔기를 상이한 아미노산 잔기로 대체시켜 항체의 효과인자 기능을 변경시킴으로써 변경시킨다. 예를 들어, 항체가 효과인자 리간드에 대한 변경된 친화성을 지니긴 하지만 모 항체의 항원-결합성 능력을 보유하도록, 1개 이상의 아미노산을 상이한 아미노산 잔기로 대체시킬 수 있다. 친화성을 변경시키는 효과인자 리간드는, 예를 들어 Fc 수용체 또는 보체의 C1 성분일 수 있다. 이러한 접근 방식은 미국 특허 제5,624,821호 및 제5,648,260호 (Winter et al)에 추가로 상세히 기재되어 있다.
- <115> 또 다른 양태에서, 항체가 변경된 Clq 결합성 및/또는 저하되거나 제거된 보체 의존성 세포독성 (CDC)을 지니도록, 아미노산 잔기 중에서 선택된 1개 이상의 아미노산을 상이한 아미노산 잔기로 대체시킬 수 있다. 이러한 접근 방식은 미국 특허 제6,194,551호 (Idusogie et al)에 추가로 상세히 기재되어 있다.
- <116> 또 다른 양태에서, 1개 이상의 아미노산 잔기를 변경시킴으로써 보체를 고정시킬 수 있는 항체의 능력을 변경시킨다. 이러한 접근 방식은 PCT 공개공보 WO 94/29351 (Bodmer et al)에 추가로 상세히 기재되어 있다.
- <117> 또 다른 양태에서, Fc 영역은 1개 이상의 아미노산을 변형시킴으로써 Fc $\gamma$  수용체에 대한 항체의 친화성을 증가시키고/시키거나 항체 의존성 세포성 세포독성 (ADCC)을 매개할 수 있는 항체의 능력을 증가시키도록 변형시킨다. 이러한 접근 방식은 PCT 공개공보 WO 00/42072 (Presta)에 추가로 기재되어 있다. 더우기, Fc $\gamma$ RI, Fc $\gamma$ RII, Fc $\gamma$ RIII 및 FcRn에 대한 인간 IgG1 상의 결합 부위를 지도화하였고 개선된 결합성을 지닌 변이체가 보고되었다 [참고: Shields, R.L. et al., 2001 J. Biol. Chem. 276:6591-6604].
- <118> 또 다른 양태에서, 항체의 당화를 변형시킨다. 예를 들어, 비당화 항체를 만들 수 있다 (즉, 항체에 당화가 결여됨). 당화는, 예를 들어 "항원"에 대한 항체의 친화성을 증가시키도록 변경시킬 수 있다. 이러한 탄수화물 변형은, 예를 들어 항체 서열 내의 하나 이상의 당화 부위를 변경시킴으로써 수행할 수 있다. 예를 들어, 하나 이상의 가변 영역 골격 당화 부위를 제거시킴으로써, 이 부위에서의 당화를 제거시켜 주는 1개 이상의 아미노산 치환을 만들 수 있다. 이러한 비당화는 항원에 대한 항체의 친화성을 증가시킬 수 있다. 상기 접근 방식은 미국 특허 제5,714,350호 및 제6,350,861호 (Co et al)에 추가로 상세히 기재되어 있다.

- <119> 부가적으로, 또는 또 다른 한편, 변경된 유형의 당화를 나타내는 항체, 예를 들어 푸코실 잔기 양이 감소된 저푸코실화 항체 또는 이등분 GlcNac 구조가 증가된 항체를 만들 수 있다. 이와 같이 변경된 당화 패턴은 항체의 ADCC 능력을 증가시키는 것으로 입증되었다. 이러한 탄수화물 변형은, 예를 들어 변경된 당화 기구를 수반하는 숙주 세포에서 해당 항체를 발현시킴으로써 수행할 수 있다. 변경된 당화 기구를 수반한 세포는 당해 분야에 보고된 바 있고, 본 발명의 재조합 항체를 발현시킴으로써 변경된 당화를 나타내는 항체를 생성시키는 숙주 세포로서 사용될 수 있다. 예를 들어, EP 1,176,195 (Hang et al)에는 푸코실 트랜스퍼라제를 암호화하는, 기능상 붕괴된 FUT8 유전자를 수반한 세포주가 기재되어 있는데, 이로써 상기 세포주에서 발현된 항체는 저푸코실화를 나타낸다. PCT 공개공보 WO 03/035835 (Presta)에는 Asn(297)-연결된 탄수화물에 푸코스를 부착시킬 수 있는 능력이 저하된 변이체 CHO 세포주 Lec13 세포가 기재되어 있는데, 이러한 숙주 세포에서 발현된 항체는 저푸코실화되기도 한다 [참고: Shields, R.L. et al., 2002 J. Biol. Chem. 277:26733-26740]. PCT 공개공보 WO 99/54342 (Umana et al.)에는 당단백질 조절성 글리코실 트랜스퍼라제 [예: 베타(1,4)-N 아세틸글루코사미닐트랜스퍼라제 III (GnTIII)]를 발현하도록 공학 처리시킨 세포주가 기재되어 있는데, 이와 같이 공학 처리시킨 세포주에서 발현된 항체는 증가된 이등분 GlcNac 구조를 나타내어 항체의 ADCC 활성이 증가된다 [참고: Umana et al., 1999 Nat. Biotech. 17:176-180].
- <120> 본 발명에 고려되는 본원의 항체의 또 다른 변형은 PEG화이다. 항체는, 예를 들어 항체의 생물학적 (예: 혈청) 반감기를 증가시키도록 PEG화할 수 있다. 항체를 PEG화하기 위해서는, 이러한 항체 또는 그의 단편을 전형적으로, 1개 이상의 PEG 기가 항체 또는 항체 단편에 부착되도록 하는 조건 하에 폴리에틸렌 글리콜 (PEG), 예를 들어 PEG의 반응성 에스테르 또는 알데히드 유도체와 반응시킨다. PEG화는 반응성 PEG 분자 (또는 유사한 반응성 수용성 중합체)와의 알킬화 반응 또는 아실화 반응에 의해 수행할 수 있다. 본원에 사용된 바와 같은 용어 "폴리에틸렌 글리콜"은 기타 단백질, 예를 들어 모노 (C1-C10) 알콕시- 또는 아릴옥시-폴리에틸렌 글리콜 또는 폴리에틸렌 글리콜-말레이미드를 유도체화하기 위해 사용되어 온 모든 형태의 PEG를 포괄한다. 특정 양태에서, PEG화되는 항체는 비당화 항체이다. 단백질을 PEG화하는 방법은 당해 분야에 공지되어 있고, 이를 본 발명의 항체에 적용할 수 있다 [참고: 예를 들어, EP 0 154 316 (Nishimura et al) and EP 0 401 384 (Ishikawa et al)].
- <121> 항체를 공학 처리하는 방법
- <122> 상기 논의된 바와 같이, 본원에 제시된  $V_H$  및  $V_L$  서열을 갖는 항-IL-13 항체를 사용하여,  $V_H$  및/또는  $V_L$  서열, 또는 이에 부착된 불변 영역(들)을 변형시킴으로써 신규한 항-IL-13 항체를 창출시킬 수 있다. 따라서, 본 발명의 또 다른 국면에서, 본 발명의 항-IL-13 항체의 기능적 특징을 이용하여 본 발명의 항체의 한 가지 이상의 구조적 특성, 예를 들어 인간 IL-13과의 결합성 및 IL-13의 한 가지 이상의 기능적 특성 억제성 (예: 수용체 결합성, 매개인자 방출 억제)을 보유하고 있는, 구조적으로 관계된 항-IL-13 항체를 창출시킨다.
- <123> 예를 들어, 본 발명의 항체의 하나 이상의 CDR 영역, 또는 그의 돌연변이물을 공지된 골격 영역 및/또는 기타 CDR과 재조합적으로 조합시켜, 상기 논의된 바와 같이 재조합적으로 공학 처리시킨 본 발명의 부가의 항-IL-13 항체를 창출시킬 수 있다. 기타 유형의 변형에는 앞서 섹션에 기재된 것들이 포함된다. 공학 처리 방법을 위한 출발 물질은 본원에 제공된  $V_H$  및/또는  $V_L$  서열 중의 하나 이상, 또는 그의 하나 이상의 CDR이다. 공학 처리시킨 항체를 창출시키기 위해서는, 본원에 제공된  $V_H$  및/또는  $V_L$  서열 중의 하나 이상, 또는 그의 하나 이상의 CDR을 갖는 항체를 실제적으로 제조 (즉, 단백질로서 발현)할 필요는 없다. 오히려, 이들 서열 내에 함유된 정보를 출발 물질로서 사용하여 본래의 서열로부터 유래된 "차세대" 서열을 창출시킨 다음, 이러한 "차세대" 서열을 단백질로서 제조 및 발현시킨다.
- <124> 따라서, 또 다른 양태에서 본 발명은 서열 6 내지 7로 이루어진 군 중에서 선택된 CDR1 서열, 서열 8의 CDR2 서열 및/또는 서열 9 내지 10으로 이루어진 군 중에서 선택된 CDR3 서열을 갖는 중쇄 가변 영역 항체 서열과, 서열 16 내지 18로 이루어진 군 중에서 선택된 CDR1 서열, 서열 19의 CDR2 서열 및/또는 서열 20 내지 22로 이루어진 군 중에서 선택된 CDR3 서열을 갖는 경쇄 가변 영역 항체 서열로 이루어진 항-IL-13 항체를 제조하고; 상기 중쇄 가변 영역 항체 서열 및/또는 경쇄 가변 영역 항체 서열 내의 1개 이상의 아미노산 잔기를 변경시켜 하나 이상의 변경된 항체 서열을 창출시키며; 이와 같이 변경된 항체 서열을 단백질로서 발현시키는 방법을 제공한다.
- <125> 표준 분자 생물학 기술을 사용하여 변경된 항체 서열을 제조 및 발현할 수 있다. 이와 같이 변경된 항체 서열에 의해 암호화된 항체는 본원에 기재된 항-IL-13 항체의 기능적 특성 중의 한 가지 특성, 몇 가지 특성 또는

전부를 보유하고 있는 것인데, 이러한 기능적 특성에는 인간 IL-13에 대한 특이적 결합성이 포함되지만, 그에 제한되지 않고; 상기 항체는 다음 기능적 특성 중의 한 가지 이상을 나타낸다: 항체는 IL-13 수용체에 대한 IL-13 단백질의 결합을 억제하거나, 항체는 IL-13 수용체 결합을 억제하여 염증성, 섬유성 또는 알레르기성 질환, 특히 염증성 또는 폐쇄성 기도 질환을 예방 또는 개선시키거나, 또는 항체는 IL-13 수용체 결합을 억제함으로써 천식을 예방 또는 개선시킨다.

<126> 변경된 항체는 상기 논의된 기능적 특성 중의 한 가지 이상, 두 가지 이상, 또는 세 가지 이상을 나타낼 수 있다.

<127> 변경된 항체의 기능적 특성은 당해 분야에 입수 가능하고/하거나 본원에 기재된 표준 검정, 예를 들어 본 실시예에 제시된 표준 검정 (예: ELISA)을 사용하여 평가할 수 있다.

<128> 본 발명의 항체를 공학 처리하는 방법의 특정 양태에서는, 돌연변이를 항-IL-13 항체 암호화 서열의 전부 또는 일부를 따라 무작위 또는 선택적으로 도입할 수 있고, 이로써 생성되는 변형된 항-IL-13 항체를 대상으로 하여 결합 활성 및/또는 본원에 기재된 바와 같은 기타 기능적 특성에 관하여 스크리닝할 수 있다. 돌연변이 방법은 당해 분야에 보고되었다. 예를 들어, PCT 공개공보 WO 02/092780 (Short)에는 포화 돌연변이 유발, 합성 연결 어셈블리, 또는 이들의 조합을 이용하여 항체 돌연변이물을 창출 및 스크리닝하는 방법이 기재되어 있다. 또 다른 한편, PCT 공개공보 WO 03/074679 (Lazar et al)에는 항체의 물리화학적 특성을 최적화하기 위한 연산처리 스크리닝 방법을 사용하는 방법이 기재되어 있다.

<129> 본 발명의 항체를 암호화하는 핵산 분자

<130> 본 발명의 또 다른 국면은 본 발명의 항체를 암호화하는 핵산 분자에 관한 것이다. 이러한 핵산 분자는 완전 세포, 세포 용해물에 제시될 수 있거나, 또는 부분적으로 정제되거나 실질적으로 정제된 형태의 핵산일 수 있다. 핵산은 표준 기술, 예를 들어 알칼리성/SDS 처리, CsCl 밴드 형성, 칼럼 크로마토그래피, 아가로스 겔 전기영동 및 당해 분야에 공지된 기타 기술에 의해 기타 세포성 성분 또는 기타 오염물질, 예를 들어 기타 세포성 핵산 또는 단백질로부터 정제 제거되는 경우에 "분리"되거나 "실질적으로 순수하게 된다" [참고: F. Ausubel, et al., ed. 1987 Current Protocols in Molecular Biology, Greene Publishing and Wiley Interscience, New York]. 본 발명의 핵산은, 예를 들어 DNA 또는 RNA일 수 있고, 인트론성 서열을 함유하거나 함유하지 않을 수 있다. 특정 양태에서는, 핵산이 cDNA 분자이다. 핵산은 벡터 [예: 파이지 디스플레이 (phage display) 벡터], 또는 제조할 플라스미드 벡터에 제시될 수 있다.

<131> 본 발명의 핵산은 표준 분자 생물학 기술을 사용하여 수득할 수 있다. 하이브리도마 (예를 들어, 다음에 추가로 기재되는 바와 같은 인간 면역글로불린 유전자를 보유하고 있는 트랜스제닉 마우스로부터 제조된 하이브리도마)에 의해 발현된 항체의 경우에는, 이러한 하이브리도마에 의해 생성된 항체의 경쇄 및 중쇄를 암호화하는 cDNA를 표준 PCR 증폭 또는 cDNA 클로닝 기술에 의해 수득할 수 있다. 면역글로불린 유전자 라이브러리로부터 수득한 항체의 경우에는 (예를 들어, 파이지 디스플레이 기술을 사용하는 경우), 이러한 항체를 암호화하는 핵산을 상기 라이브러리의 구성원인 각종 파이지 클론으로부터 회수할 수 있다.

<132> 일단  $V_H$  및  $V_L$  절편을 암호화하는 DNA 단편을 수득하게 되면, 이들 DNA 단편을 표준 재조합 DNA 기술에 의해 추가로 조작하여, 예를 들어 가변 영역 유전자를 완전한 길이의 항체쇄 유전자, Fab 단편 유전자 또는 scFv 유전자로 전환시킬 수 있다. 이들 조작에서는,  $V_L$ - 또는  $V_H$ -암호화 DNA 단편을 또 다른 DNA 분자와 작동적으로 연결시키거나, 또는 또 다른 단백질, 예를 들어 항체 불변 영역 또는 가요성 링커를 암호화하는 단편과 작동적으로 연결시킨다. 이러한 맥락에서 사용된 바와 같은 용어 "작동적으로 연결된"이란 2개 DNA 단편을 기능적 방식으로 연결시켜, 예를 들어 이러한 2개 DNA 단편에 의해 암호화된 아미노산 서열이 동일 프레임 내에서 유지되도록 하거나 또는 단백질이 목적하는 프로모터의 제어 하에 발현되도록 하는 것을 의미한다.

<133>  $V_H$  영역을 암호화하는 분리된 DNA는 중쇄 불변 영역 (CH1, CH2 및 CH3)을 암호화하는 또 다른 DNA 분자에  $V_H$ -암호화 DNA를 작동적으로 연결시킴으로써 완전한 길이의 중쇄 유전자로 전환시킬 수 있다. 인간 중쇄 불변 영역 유전자의 서열은 당해 분야에 공지되어 있고 [참고: 예를 들어, Kabat, E. A., et al., 1991 Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242], 이들 영역을 포괄하는 DNA 단편은 표준 PCR 증폭에 의해 수득할 수 있다. 중쇄 불변 영역은 IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA, IgE, IgM 또는 IgD 불변 영역일 수 있다. Fab 단편 중쇄 유전자의 경우,  $V_H$ -암호화 DNA는 단지 중쇄 CH1 불변 영역만을 암호화하는 또 다른 DNA 분자와 작동적으로 연결시킬 수

있다.

- <134> V<sub>L</sub> 영역을 암호화하는 분리된 DNA는 경쇄 불변 영역 CL을 암호화하는 또 다른 DNA 분자에 V<sub>L</sub>-암호화 DNA를 작동적으로 연결시킴으로써 완전한 길이의 경쇄 유전자 (뿐만 아니라 Fab 경쇄 유전자)로 전환시킬 수 있다. 인간 경쇄 불변 영역 유전자의 서열은 당해 분야에 공지되어 있고 [참고: 예를 들어, Kabat, E. A., et al., 1991 Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242], 이들 영역을 포괄하는 DNA 단편은 표준 PCR 증폭에 의해 획득할 수 있다. 경쇄 불변 영역은 카파 또는 람다 불변 영역일 수 있다.
- <135> scFv 유전자를 창출하기 위해서는, V<sub>H</sub>- 및 V<sub>L</sub>-암호화 DNA 단편을 가요성 링커, 예를 들어 아미노산 서열 (Gly4-Ser)<sub>3</sub>을 암호화하는 또 다른 단편과 작동적으로 연결시켜, V<sub>H</sub> 및 V<sub>L</sub> 서열이 연속되는 단일쇄 단백질로서 발현될 수 있도록 하는데, V<sub>L</sub> 영역과 V<sub>H</sub> 영역은 가요성 링커에 의해 연결된다 [참고: 예를 들어, Bird et al., 1988 Science 242:423-426; Huston et al., 1988 Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883; McCafferty et al., 1990 Nature 348:552-554].
- <136> 본 발명의 모노클로날 항체의 생성
- <137> 모노클로날 항체 (mAb)는 통상적인 모노클로날 항체 방법론을 포함한 각종 기술, 예를 들어 문헌 [참고: Kohler and Milstein, 1975 Nature 256: 495]의 표준 체세포 혼성화 기술에 의해 생성될 수 있다. 모노클로날 항체를 생성시키는 많은 기술, 예를 들어 B 림프구의 바이러스성 또는 발암성 형질전환을 이용할 수 있다.
- <138> 하이브리도마를 제조하기 위한 동물 시스템은 무린 시스템이다. 마우스에서 하이브리도마를 생성시키는 것은 널리 확립된 과정이다. 면역 프로토콜 및 융합을 위해 면역시킨 비장세포를 분리하는 기술은 당해 분야에 공지되어 있다. 융합 파트너 (예: 무린 골수종 세포) 및 융합 과정 또한 공지되어 있다.
- <139> 본 발명의 키메라 또는 인간화 항체는 상기 언급된 바와 같이 제조된 무린 모노클로날 항체의 서열을 기준으로 하여 제조할 수 있다. 중쇄 및 경쇄 면역글로불린을 암호화하는 DNA는 관심있는 무린 하이브리도마로부터 획득할 수 있고, 표준 분자 생물학 기술을 사용하여 비-무린 (예: 인간) 면역글로불린 서열을 함유하도록 공학 처리할 수 있다. 예를 들어, 키메라 항체를 창출하기 위해서는, 무린 가변 영역을 당해 분야에 공지된 방법을 사용하여 인간 불변 영역에 연결시킬 수 있다 [참고: 예를 들어, 미국 특허 제4,816,567호 (Cabilly et al.)]. 인간화 항체를 창출하기 위해서는, 무린 CDR 영역을 당해 분야에 공지된 방법을 사용하여 인간 골격 내로 삽입할 수 있다 [참고: 예를 들어, 미국 특허 제5,225,539 (Winter), 및 미국 특허 제5,530,101호; 제5,585,089호; 제5,693,762호 및 제6,180,370호 (Queen et al.)].
- <140> 특정 양태에서, 본 발명의 항체는 인간 모노클로날 항체이다. IL-13에 대항하여 유도된 인간 모노클로날 항체는 마우스 시스템 보다는 오히려 인간 면역계의 일부를 수반하고 있는 트랜스제닉 또는 트랜스-염색체성 마우스를 사용하여 생성시킬 수 있다. 이들 트랜스제닉 및 트랜스-염색체성 마우스에는 본원에서 HuMAb 마우스 및 KM 마우스로서 각각 지칭된 마우스가 포함되고, 이는 본원에서 집합적으로 "인간 Ig 마우스"로서 지칭된다.
- <141> HuMAb 마우스<sup>®</sup> (공급처: Medarex, Inc.)는 내인성  $\mu$  및  $\kappa$ 쇄 유전자자리를 불활성화시키는 표적화 돌연변이와 함께, 재배열되지 않은 인간 중쇄 ( $\mu$  및  $\gamma$ ) 및  $\kappa$  경쇄 면역글로불린 서열을 암호화하는 인간 면역글로불린 유전자 미니자리를 함유한다 [참고: 예를 들어, Lonberg, et al., 1994 Nature 368(6474): 856-859]. 따라서, 마우스는 마우스 IgM 또는  $\kappa$ 의 발현 저하를 나타내고, 면역에 반응하여 도입된 인간 중쇄 및 경쇄 트랜스-유전자는 부류 전환과 체세포 돌연변이를 진행하여 고 친화성 인간 IgG $\kappa$  모노클로날을 생성시킨다 [참고: Lonberg, N. et al., 1994 상기 참고; Lonberg, N., 1994 Handbook of Experimental Pharmacology 113:49-101; Lonberg, N. and Huszar, D., 1995 Intern. Rev. Immunol.13: 65-93, and Harding, F. and Lonberg, N., 1995 Ann. N. Y. Acad. Sci. 764:536-546]. HuMAb 마우스의 제조 및 용도, 및 이러한 마우스에 의해 수반된 계놈 변형이 다음 문헌에 추가로 기재되어 있다 [참고: Taylor, L. et al., 1992 Nucleic Acids Research 20:6287-6295; Chen, J. et al., 1993 International Immunology 5: 647-656; Tuaille et al., 1993 Proc. Natl. Acad. Sci. USA 94:3720-3724; Choi et al., 1993 Nature Genetics 4:1 17-123; Chen, J. et al., 1993 EMBO J. 12: 821-830; Tuaille et al., 1994 J. Immunol. 152:2912-2920; Taylor, L. et al., 1994 International Immunology 579-591; and Fishwild, D. et al., 1996 Nature Biotechnology 14: 845-851 (이들 모두의 전문이 본원에 참고로 도입된다)]. 또한 추가로, 미국 특허 제5,545,806호; 제5,569,825호; 제5,625,126호; 제5,633,425호; 제5,789,650호; 제5,877,397호; 제5,661,016호; 제5,814,318호; 제5,874,299호; 및 제5,770,429

호 (Lonberg and Kay); 미국 특허 제5,545,807호 (Surani et al); PCT 공개공보 WO 92103918, WO 93/12227, WO 94/25585, WO 97113852, WO 98/24884 및 WO 99/45962 (Lonberg and Kay); 및 PCT 공개공보 WO 01/14424 (Korman et al)를 참고할 수 있다.

- <142> 또 다른 양태에서, 본 발명의 인간 항체는 트랜스-유전자 및 트랜스-염색체 상에 인간 면역글로불린 서열을 보유하고 있는 마우스, 예를 들어 인간 중쇄 트랜스-유전자 및 인간 경쇄 트랜스-염색체를 보유하고 있는 마우스를 사용하여 상승시킬 수 있다. 이러한 마우스는 본원에서 "KM 마우스"로서 지칭되고, PCT 공개공보 WO 02/43478 (Ishida et al)에 상세히 기재되어 있다.
- <143> 인간 면역글로불린 유전자를 발현하는 추가의 또 다른 트랜스제닉 동물 시스템이 당해 분야에서 입수 가능하고, 이를 사용하여 본 발명의 항-IL-13 항체를 상승시킬 수 있다. 예를 들어, 제노마우스 [Xenomouse (공급처: Abgenix, Inc.)]로서 지칭된 또 다른 트랜스제닉 시스템을 사용할 수 있고; 이러한 마우스는, 예를 들어 미국 특허 제5,939,598호; 제6,075,181호; 제6,114,598호; 제6,150,584호 및 제6,162,963호 (Kucherlapati et al)에 기재되어 있다.
- <144> 더우기, 인간 면역글로불린 유전자를 발현하는 또 다른 트랜스-염색체성 동물 시스템이 당해 분야에서 입수 가능하고, 이를 사용하여 본 발명의 항-IL-13 항체를 상승시킬 수 있다. 예를 들어, 인간 중쇄 트랜스-염색체와 인간 경쇄 트랜스-염색체 둘 다를 보유하고 있는 마우스 ("TC 마우스"로서 지칭됨)를 사용할 수 있고; 이러한 마우스는 문헌 [참고: Tomizuka et al., 2000 Proc. Natl. Acad. Sci. USA 97:722-727]에 기재되어 있다. 더우기, 인간 중쇄 트랜스-염색체와 인간 경쇄 트랜스-염색체를 보유하고 있는 암소가 당해 분야에 보고되었고 [참고: Kuroiwa et al., 2002 Nature Biotechnology 20:889-894], 이를 사용하여 본 발명의 항-IL-13 항체를 상승시킬 수 있다.
- <145> 본 발명의 인간 모노클로날 항체는 인간 면역글로불린 유전자의 라이브러리를 스크리닝하기 위한 파아지 디스플레이 방법을 사용하여 제조할 수도 있다. 이와 같이 인간 항체를 분리하기 위한 파아지 디스플레이 방법은 당해 분야에 확립되어 있다 [참고: 예를 들어, 미국 특허 제5,223,409호; 제5,403,484호 및 제5,571,698호 (Ladner et al.); 미국 특허 제5,427,908호 및 제5,580,717호 (Dower et al.); 미국 특허 제5,969,108호 및 제6,172,197호 (McCafferty et al.); 및 미국 특허 제5,885,793호; 제6,521,404호; 제6,544,731호; 제6,555,313호; 제6,582,915호 및 제6,593,081호 (Griffiths et al.)].
- <146> 본 발명의 인간 모노클로날 항체는, 인간 면역 세포를 재구성시킨 바 있는 SCID 마우스를 사용하여 제조할 수도 있는데, 이로써 면역시 인간 항체 반응이 발생할 수 있다. 이러한 마우스는, 예를 들어 미국 특허 제5,476,996호 및 제5,698,767호 (Wilson et al)에 기재되어 있다.
- <147> IL-13에 대항한 인간 모노클로날 항체의 생성
- <148> 범 DR T 조력인자 에피토프 (PADRE)와 접합된 정제된 재조합 인간 (hr) IL-13을 항원으로서 사용한다. 인간 항체 유전자를 발현하는 HuMab 트랜스제닉 유전자의 HCo 균주를 사용하여 IL-13에 대한 완전한 인간 모노클로날 항체를 제조한다. 이러한 마우스 균주에서는, 내인성 마우스 카과 경쇄 유전자를 문헌 [참고: Chen et al., 1993 EMBO J. 12:811-820]에 기재된 바와 같이 동형 접합적으로 붕괴시킬 수 있고, 내인성 마우스 중쇄 유전자를 PCT 공개공보 WO 01109187의 실시예 1에 기재된 바와 같이 동형 접합적으로 붕괴시킬 수 있다. 이러한 마우스 균주는 문헌 [참고: Fishwild et al., 1996 Nature Biotechnology 14:845-851]에 기재된 바와 같은 인간 카과 경쇄 트랜스-유전자 KCo5를 보유하고 있고, 미국 특허 제5,545,806호; 제5,625,825호; 및 제5,545,807호에 기재된 바와 같은 HCo7 인간 중쇄 트랜스-유전자를 보유하고 있다.
- <149> 본 발명의 IL-13에 대한 완전한 인간 모노클로날 항체를 생성시키기 위해, HuMab 마우스를 HEK-EBNA/PADRE 접합체로부터 유래된 정제된 재조합 IL-13 (마우스당 42  $\mu$ g)과 Quil A (마우스당 15  $\mu$ g; 공급처: Accurate Chemical)의 혼합물로 면역시킨다. HuMab 마우스에 대한 일반적 면역 도식이 다음 문헌에 기재되어 있다 [참고: Lonberg, N. et al., 1994 Nature 368(6474): 856-859; Fishwild, D. et al., 1996 Nature Biotechnology 14:845-851 and PCT Publication WO 98/24884]. 트랜스제닉 마우스를 1일과 7일 사이에 정맥내 (IV) 또는 피하 (SC) 면역시킨다. 마우스를 희생시켜 비장을 제거하기 2일 전에 항원 (아주반트를 수반하지 않음)으로 정맥내 추가면역시킨다. 뉴클레오스핀 (Nucleospin) RNA II 분리용 키트 (공급처: BD Biosciences/Clontech)를 사용하여 RNA를 비장으로부터 분리하였다. 이러한 RNA를 사용하여 미국 특허 제6,794,132호에 기재된 바와 같이 Fab 파아지 디스플레이 벡터 내에서 무작위로 분류된 H 및 L 쇠 가변 도메인의 파아지 디스플레이 라이브러리를 생성시켰다. 이러한 파아지 디스플레이 라이브러리를 대상으로 하여, 상기 특

하에 기재된 바와 같은 용액 상 평형 결합 프로토콜 중에서 바이오티닐화 hrIL-13을 사용하여 선별 5회전을 수행하였다. 처음 선별 4회전은 hrIL-13을  $10^{-8}$  M으로 이용하였고 마지막 선별 회전은 hrIL-13을  $10^{-9}$  M으로 이용하였다. 항원의 존재 하에 회수한 pfu를 항원의 부재 하에 회수한 pfu로 나눠 계수함으로써 결정된 최종 신호 대 소음 비는 상기 라이브러리의 경우 37이었는데, 이는 선별된 파아지의 90% 초과가 hrIL-13과 결합한 발현성 항체란 사실을 나타낸다. 이어서, 파아지 디스플레이 라이브러리를 미국 특허 제6,794,132호에 기재된 바와 같이 가용성 Fab의 발현을 위해 플라스미드 벡터 내로 서브클로닝하였다.

<150> 모노클로날 항체를 생산하는 형질감염 세포의 생성

<151> 본 발명의 항체는 또한, 당해 분야에 널리 공지된 바와 같은 재조합 DNA 기술과 유전자 형질감염 방법을 병용 사용하여 숙주 세포 형질감염 세포에서 생성시킬 수 있다 [참고: 예를 들어, Morrison, S. (1985) Science 229:1202].

<152> 예를 들어, 항체 또는 그의 항체 단편을 발현시키기 위해, 부분 또는 완전한 길이의 경쇄 및 중쇄를 암호화하는 DNA를 표준 분자 생물학 기술 (예를 들어, 관심있는 항체를 발현하는 하이브리도마를 사용하는 cDNA 클로닝 또는 PCR 증폭)에 의해 획득할 수 있고, 이러한 DNA를 발현 벡터 내로 삽입하여 해당 유전자가 전사 및 해독 제어 서열과 작동적으로 연결되도록 한다. 이러한 맥락에서, 용어 "작동적으로 연결된"이란 벡터 내의 전사 및 해독 제어 서열이 항체 유전자의 전사 및 해독을 조절하는 그들의 의도한 기능을 제공하도록, 항체 유전자가 벡터 내로 연결되는 것을 의미한다. 발현 벡터 및 발현 제어 서열은 사용된 발현 숙주 세포와 호환성이 되도록 선택한다. 항체 경쇄 유전자와 항체 중쇄 유전자를 별개의 벡터 내로 삽입할 수 있거나, 또는 보다 전형적으로는, 양 유전자를 동일한 발현 벡터 내로 삽입한다. 항체 유전자를 표준 방법 (예를 들어, 항체 유전자 단편 및 벡터 상의 상보적 제한 부위의 연결, 또는 제한 부위가 전혀 존재하지 않는 경우에는 평할 말단 연결)에 의해 발현 벡터 내로 삽입한다. 본원에 기재된 항체의 경쇄 및 중쇄 가변 영역을 사용하여, 이들을 이미 목적하는 이소형의 중쇄 불변 영역과 경쇄 불변 영역을 암호화하는 발현 벡터 내로 삽입함으로써 모든 항체 이소형의 완전한 길이의 항체 유전자를 창출시켜  $V_H$  절편이 벡터 내의 CH 절편(들)과 작동적으로 연결되고  $V_L$  절편이 벡터 내의 CL 절편과 작동적으로 연결되도록 한다. 부가적으로, 또는 또 다른 한편, 재조합 발현 벡터는 숙주 세포로부터 항체 쇄의 분비를 촉진시켜 주는 신호 펩티드를 암호화할 수 있다. 항체 쇄 유전자는 신호 펩티드가 동일 프레임 내에서 항체 쇄 유전자의 아미노 말단과 연결되도록 벡터 내로 클로닝할 수 있다. 신호 펩티드는 면역글로불린 신호 펩티드 또는 이중 신호 펩티드 (즉, 비-면역글로불린 단백질로부터의 신호 펩티드)일 수 있다.

<153> 항체 쇄 유전자 이외에도, 본 발명의 재조합 발현 벡터는 숙주 세포에서의 항체 쇄 유전자의 발현을 제어하는 조절성 서열을 보유하고 있다. 용어 "조절성 서열"에는 프로모터, 증강인자, 및 항체 쇄 유전자의 전사 또는 해독을 제어하는 기타 발현 제어 요소 (예: 폴리아데닐화 신호)가 포함된다. 이러한 조절성 서열은, 예를 들어 다음 문헌에 기재되어 있다 [참고: Goeddel (Gene Expression Technology. Methods in Enzymology 185, Academic Press, San Diego, CA 1990)]. 조절성 서열의 선별을 포함한, 발현 벡터의 설계는 형질전환시키고자 하는 숙주 세포의 선택, 목적하는 단백질의 발현 수준 등의 요인에 좌우될 수 있다는 것을 당업자는 인지할 것이다. 포유류 숙주 세포 발현을 위한 조절성 서열에는 포유류 세포에서 고 수준의 단백질 발현을 지시하는 바이러스성 요소, 예를 들어 시토메갈로바이러스 (CMV), 원숭이 바이러스 40 (SV40), 아데노바이러스 [예: 아데노바이러스 주요 후기 프로모터 (AdMLP)], 및 폴리오마로부터 유래된 프로모터 및/또는 증강인자가 포함된다. 또 다른 한편, 비-바이러스성 조절성 서열, 예를 들어 우비퀴틴 프로모터 또는 P-글로빈 프로모터를 사용할 수 있다. 또한 추가로, SV40 초기 프로모터 및 인간 T 세포 백혈병 바이러스 유형 1의 장 말단 반복 서열로부터의 서열을 함유하는, 상이한 공급원 (예: SRa 프로모터 시스템)으로부터의 서열로 구성된 조절성 요소를 사용할 수 있다 [참고: Takebe, Y. et al., 1988 Mol. Cell. Biol. 8:466-472].

<154> 항체 쇄 유전자 및 조절성 서열 이외에도, 본 발명의 재조합 발현 벡터는 부가의 서열, 예를 들어 숙주 세포에서 벡터의 복제를 조절하는 서열 (예: 복제 기점) 및 선별성 마커 유전자를 수반할 수 있다. 선별성 마커 유전자는 벡터를 도입시킨 숙주 세포의 선별을 용이하게 해준다 [참고: 예를 들어, 미국 특허 제4,399,216호, 제4,634,665호 및 제5,179,017호 (Axel et al.)]. 예를 들어, 전형적으로 선별성 마커 유전자는 벡터를 도입시킨 숙주 세포 상에서 약물 (예를 들어, G418, 히그로마이신 또는 메토포렉세이트)에 대한 내성을 부여해준다. 선별성 마커 유전자에는 디히드로폴레이트 리덕타제 (DHFR) 유전자 (메토포렉세이트 선별/증폭을 이용하여 dhfr- 숙주 세포에서 사용하기 위함) 및 neo 유전자 (G418 선별하기 위함)가 포함된다.

<155> 경쇄 및 중쇄를 발현시키기 위해서는, 이러한 중쇄 및 경쇄를 암호화하는 발현 벡터(들)를 표준 기술에 의해 숙주 세포 내로 형질감염시킨다. 각종 형태의 용어 "형질감염"은 외인성 DNA를 원핵 또는 진핵 숙주 세포 내로

도입하기 위해 흔히 사용되고 있는 광범위한 기술, 예를 들어 전기천공, 인산칼슘 침전, DEAE-텍스트란 형질감염 등을 포괄한다. 본 발명의 항체를 원핵 또는 진핵 숙주 세포에서 발현시키는 것이 이론상 가능하다. 항체를 진핵 세포, 특히 포유류 숙주 세포에서 발현시키는 것이 논의되는데, 이는 이러한 진핵 세포, 특히 포유류 세포가 적절하게 폴딩되고 면역학적으로 활성인 항체를 어셈블리하고 분비시키는 데에 원핵 세포 보다 더 적합하기 때문이다. 항체 유전자의 원핵성 발현은 활성 항체를 고 수율로 생성시키는데 비효과적인 것으로 보고되었다 [참고: Boss, M. A. and Wood, C. R., 1985 Immunology Today 6:12-13].

<156> 본 발명의 재조합 항체를 발현시키기 위한 포유류 숙주 세포에는, 예를 들어 문헌 [참고: R.J. Kaufman and P.A. Sharp, 1982 Mol. Biol. 159:601-621]에 기재된 마와 같이, DHFR 선별성 마커와 함께 사용된 중국산 햄스터 난소 세포 (CHO 세포) [문헌 (참고: Urlaub and Chasin, 1980 Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4216-4220)에 기재된 dhfr- CHO 세포 포함], NSO 골수종 세포, COS 세포 및 SP2 세포가 포함된다. 항체 유전자를 암호화하는 재조합 발현 벡터를 포유류 숙주 세포 내로 도입하는 경우에는, 항체를 숙주 세포가 성장하는 배양 배지 내로 분비시키거나 항체를 숙주 세포에서 발현시키기에 충분한 시간 동안 숙주 세포를 배양함으로써 항체를 생성시킨다. 표준 단백질 정제 방법을 사용하여 항체를 배양 배지로부터 회수할 수 있다.

<157> 면역접합체

<158> 또 다른 국면에서, 본 발명은 치료적 부분, 예를 들어 세포독소, 약물 (예: 면역억제제) 또는 방사성독소와 접합시킨 항-IL-13 항체, 또는 그의 단편을 특징으로 한다. 이러한 접합체는 본원에서 "면역접합체"로서 지칭된다. 하나 이상의 세포독소를 포함하는 면역접합체는 "면역독소"로서 지칭된다. 세포독소 또는 세포독성제에는 세포에게 해로운 (예를 들어, 세포를 사멸시키는) 모든 작용제가 포함된다. 그의 예로는 탁손, 시토킨 B, 그라미시딘 D, 에티뎀 브로마이드, 에메틴, 미토마이신, 에토포시드, 테노포시드, 빈크리스틴, 빈블라스틴, 티. 폴키신, 독소루비신, 다우노루비신, 디히드록시 안트라신 디온, 미톡산트론, 미트라마이신, 악티노마이신 D, 1-데히드로테스토스테론, 글루코코르티코이드, 프로카인, 테트라카인, 리도카인, 프로프라놀롤 및 푸로마이신, 및 그의 유사체 또는 동족체가 있다. 치료제에는, 예를 들어, 항대사제 (예: 메토틱세이트, 6-머캅토프린, 6-티오구아닌, 시타라빈, 5-플루오로우라실 데카르바진), 용제 (ablating agent) (예: 메클로르에타민, 티오에파 클로락스부실, 메이팔란, 카르무스틴 (BSNU) 및 로무스틴 (CCNU), 시클로토스파미드, 부술판, 디브로모만니톨, 스트렙토조토신, 미토마이신 C, 및 시스-디클로로디아민 백금 (II) (DDP) 시스플라틴, 안트라사이클린 [예: 다우노루비신 (기존명: 다우노마이신) 및 독소루비신], 항생제 [예: 닥티노마이신 (기존명: 악티노마이신), 블레오마이신, 미트라마이신, 및 안트라마이신 (AMC)], 및 항유사분열제 (예: 빈크리스틴 및 빈블라스틴)가 포함된다.

<159> 본 발명의 항체와 접합시킬 수 있는 치료적 세포독소의 기타 예에는 두오카르마이신, 칼리케아미신, 마이탄신 및 아우리스타틴, 및 그의 유도체가 포함된다. 칼리케아미신 항체 접합체의 특정 예는 시판중이다 (Mylotarg™; 공급처: Wyeth-Ayerst).

<160> 세포독소는 당해 분야에서 이용 가능한 링커 기술을 사용하여 본 발명의 항체와 접합시킬 수 있다. 세포독소를 항체에 접합시키기 위해 사용되어 온 링커 유형의 예에는 히드라존, 티오에테르, 에스테르, 디설피드 및 펩티드 함유 링커가 포함되지만, 그에 제한되지 않는다. 예를 들어, 리소솜성 구획 내에서의 저 pH에 의해 절단되기 쉽거나 또는 프로테아제, 예를 들어 종양 조직에서 우선적으로 발현된 프로테아제 [예: 카텡신, 예를 들어 카텡신 B, C, D]에 의해 절단되기 쉬운 링커를 선택할 수 있다.

<161> 세포독소, 링커의 유형, 및 치료제를 항체와 접합시키는 방법에 관한 추가의 논의는 다음 문헌을 참고할 수 있다 [참고: Saito, G. et al., 2003 Adv. Drug Deliv. Rev. 55: 199-215; Trail, P.A. et al., 2003 Cancer Immunol. Immunother. 52:328-337; Payne, G., 2003 Cancer Cell 3:207-212; Allen, T.M., 2002 Nat. Rev. Cancer 2:750-763; Pastan, I. and Kreitman, R. J., 2002 Curr. Opin. Investig. Drugs 3:1089-1091; Senter, P.D. and Springer, C.J., 2001 Adv. Drug Deliv. Rev. 53:247-264].

<162> 본 발명의 항체는 또한, 방사성 동위원소와 접합시켜 세포독성 방사성의약품 (방사성 면역접합체로서 지칭되기도 함)을 생성시킬 수 있다. 진단적으로 또는 치료적으로 사용하기 위해 항체와 접합시킬 수 있는 방사성 동위원소의 예에는 요오드<sup>131</sup>, 인듐<sup>111</sup>, 이트륨<sup>90</sup> 및 루테튬<sup>177</sup>이 포함되지만, 그에 제한되지 않는다. 방사성 면역접합체를 제조하는 방법은 당해 분야에 확립되어 있다. 방사성 면역접합체의 예는 시판중이며 [Zevalin™ (공급처: DEC Pharmaceuticals) 및 Bexxar™ (공급처: Corixa Pharmaceuticals)], 유사한 방법을 사용하고 본 발명의 항체를 이용하여 방사성 면역접합체를 제조할 수 있다.

<163> 본 발명의 항체 접합체를 사용하여 소정의 생체 반응을 조정할 수 있고, 약물 부분은 전통적인 화학적 치료제로



만 제한되지 말아야 한다. 예를 들어, 약물 부분은 목적하는 생물학적 활성을 보유하고 있는 단백질 또는 폴리펩티드일 수 있다. 이러한 단백질에는, 예를 들어 효소적 활성 독소, 또는 그의 활성 단편, 예를 들어 아브린, 리신 A, 슈도모나스 (pseudomonas) 내독소, 또는 디프테리아 (diphtheria) 독소; 단백질, 예를 들어 종양 괴사 인자 또는 인터페론- $\gamma$ ; 또는 생체 반응 조정제, 예를 들어 림포카인, 인터루킨-1 ("IL-1"), 인터루킨-2 ("IL-2"), 인터루킨-6 ("IL-6"), 과립구 대식 세포 집락 자극 인자 ("GM-CSF"), 과립구 집락 자극 인자 ("G-CSF"), 또는 기타 성장 인자가 포함될 수 있다.

<164> 이러한 치료적 부분을 항체와 접합시키는 기술은 널리 공지되어 있다 [참고: 예를 들어, Amon et al., "Monoclonal Antibodies For Immunotargeting Of Drugs In Cancer Therapy", in Monoclonal Antibodies And Cancer Therapy, Reisfeld et al. (eds.), pp. 243-56 (Alan R. Liss, Inc. 1985); Hellstrom et al., "Antibodies For Drug Delivery", in Controlled Drug Delivery (2nd Ed.), Robinson et al. (eds.), pp. 623-53 (Marcel Dekker, Inc. 1987); Thorpe, "Antibody Carriers Of Cytotoxic Agents In Cancer Therapy: A Review", in Monoclonal Antibodies '84: Biological And Clinical Applications, Pinchera et al. (eds.), pp. 475-506 (1985); "Analysis, Results, And Future Prospective Of The Therapeutic Use Of Radiolabeled Antibody In Cancer Therapy", in Monoclonal Antibodies For Cancer Detection And Therapy, Baldwin et al. (eds.), pp. 303-16 (Academic Press 1985), and Thorpe et al., "The Preparation And Cytotoxic Properties Of Antibody-Toxin Conjugates", Immunol. Rev., 62:119-58 (1982)].

<165> 이중-특이적 분자

<166> 또 다른 국면에서, 본 발명은 본 발명의 항-IL-13 항체 또는 그의 단편을 포함하는 이중-특이적 분자를 특징으로 한다. 본 발명의 항체, 또는 그의 항원 결합성 부분을 또 다른 기능성 분자, 예를 들어 또 다른 펩티드 또는 단백질 (예: 또 다른 항체 또는 수용체에 대한 리간드)로 유도체화하거나 이와 연결시켜 2개 이상의 상이한 결합 부위 또는 표적 분자와 결합하는 이중-특이적 분자를 생성시킬 수 있다. 본 발명의 항체를 사실상, 하나 이상의 기타 기능성 분자로 유도체화하거나 이와 연결시켜 둘 이상의 상이한 결합 부위 및/또는 표적 분자와 결합하는 다중-특이적 분자를 생성시킬 수 있는데; 이러한 다중-특이적 분자는 본원에 사용된 바와 같은 용어 "이중-특이적 분자"에 포괄된다. 본 발명의 이중-특이적 분자를 창출시키기 위해, 본 발명의 항체를 하나 이상의 기타 결합성 분자, 예를 들어 또 다른 항체, 항체 단편, 펩티드 또는 결합성 유사작용제와 기능적으로 연결시켜 (예를 들어, 화학적 커플링, 유전적 융합, 비공유적 연합 등에 의함) 이중-특이적 분자가 생성되도록 할 수 있다.

<167> 따라서, 본 발명은 IL-13에 대한 하나 이상의 제1 결합 특이성과, 제2 표적 에피토프에 대한 제2 결합 특이성을 포함하는 이중-특이적 분자를 포함한다. 예를 들어, 제2 표적 에피토프는 Fc 수용체, 예를 들어 인간 Fc $\gamma$ R1 (CD64) 또는 인간 Fc $\alpha$  수용체 (CD89)이다. 따라서, 본 발명은 효과인자 세포 [예: 단구, 대식 세포 또는 다형 핵 세포 (PMN)]를 발현하는 Fc $\gamma$ R, Fc $\alpha$ R 또는 Fc $\epsilon$ R과, IL-13을 발현하는 표적 세포 둘 다와 결합할 수 있는 이중-특이적 분자를 포함한다. 이들 이중-특이적 분자는 효과인자 세포에 대한 IL-13 발현성 세포를 표적으로 하고, Fc 수용체-매개된 효과인자 세포 활성화, 예를 들어 IL-13 발현성 세포의 포식작용, 항체 의존성 세포-매개된 세포독성 (ADCC), 사이토킨 방출, 또는 과산화물 음이온의 발생을 촉발시킨다.

<168> 부가적으로, 이중-특이적 분자가 다중-특이적인 발명의 경우에는, 이 분자가 항-Fc 결합 특이성과 항-IL-13 결합 특이성 이외에도 제3의 결합 특이성을 추가로 포함할 수 있다. 예를 들어, 제3의 결합 특이성은 항-증강 인자 (EF) 부분, 예를 들어 세포독성 활성화에 관여한 표면 단백질과 결합함으로써 표적 세포에 대항한 면역 반응을 증가시키는 분자일 수 있다. "항-증강 인자 부분"은 항체, 기능적 항체 단편, 또는 소정의 분자 (예: 항원 또는 수용체)와 결합함으로써 Fc 수용체 또는 표적 세포 항원에 대한 결합 결정기 효과를 증강시켜 주는 리간드일 수 있다.

<169> "항-증강 인자 부분"은 Fc 수용체 또는 표적 세포 항원과 결합할 수 있다. 또 다른 한편, 항-증강 인자 부분은 제1 및 제2 결합 특이성과 결합하는 실체와는 상이한 실체와 결합할 수 있다. 예를 들어, 항-증강 인자 부분은 세포독성 T-세포와 결합할 수 있다 (예를 들어, CD2, CD3, CD8, CD28, CD4, CD44, ICAM-1, 또는 표적 세포에 대항한 면역 반응을 증가시켜 주는 기타 면역 세포에 의함).

<170> 한 양태에서, 본 발명의 이중-특이적 분자는 결합 특이성으로서 하나 이상의 항체, 또는 그의 항체 단편 [이에 는, 예를 들어 Fab, Fab', F(ab')<sub>2</sub>, Fv, 또는 단일 쇠 Fv가 포함된다]을 포함한다. 항체는 또한, 경쇄 또는 중 쇠 이량체, 또는 그의 모든 최소 단편, 예를 들어 Fv 또는 단일 쇠 구조물일 수도 있다 [참고: 미국 특허 제

4,946,778호 (Ladner et al); 그의 전문이 본원에 참고로 도입된다].

- <171> 한 양태에서, Fc $\gamma$  수용체에 대한 결합 특이성은 모노클로날 항체에 의해 제공되는데, 그의 결합성은 인간 면역 글로불린 G (IgG)에 의해 차단되지 않는다. 본원에 사용된 바와 같은 용어 "IgG 수용체"는 염색체 1 상에 위치한 8개  $\gamma$ -쇄 유전자를 지칭한다. 이들 유전자는 다음 3가지 Fc $\gamma$  수용체 부류로 분류되는 총 12개의 막관통 또는 가용성 수용체 이소형을 암호화한다: Fc $\gamma$ RI (CD64), Fc $\gamma$ RRII (CD32), 및 Fc $\gamma$ RRIII (CD16). 또 다른 양태에서, Fc $\gamma$  수용체는 인간 고 친화성 Fc $\gamma$ RI이다. 인간 Fc $\gamma$ RI은 단량체성 IgG에 대한 고 친화성을 나타내는 ( $10^8$  내지  $10^9$  M $^{-1}$ ) 72 kDa 분자이다.
- <172> 특정의 항-Fc $\gamma$  모노클로날 항체의 생성 및 성상 확인은 PCT 공개공보 WO 88/00052 (Fanger et al) 및 미국 특허 제4,954,617호 (그의 교시 전부가 본원에 참고로 도입된다)에 기재되어 있다. 이들 항체는 수용체의 Fc $\gamma$  결합 부위와 별개인 부위에서 Fc $\gamma$ RI, Fc $\gamma$ RRII 또는 Fc $\gamma$ RRIII의 에피토프와 결합하므로, 그들의 결합이 IgG의 생리적 수준에 의해 실질적으로 차단되지 않는다. 본 발명에 유용한 특이적 항-Fc $\gamma$ RI 항체는 mAb 22, mAb 32, mAb 44, mAb 62 및 mAb 197이다. mAb 32를 생산하는 하이브리도마는 아메리칸 타입 컬처 콜렉션 [American Type Culture Collection]으로부터 ATCC 승인 번호 HB9469로 입수 가능하다. 기타 양태에서, 항-Fc $\gamma$  수용체 항체는 모노클로날 항체 22의 인간화 형태 (H22)이다. H22 항체의 생성과 성상 확인은 다음 문헌에 기재되어 있다 [참고: Graziano, R.F. et al., 1995 J. Immunol 155 (10): 4996-5002 and PCT Publication WO 94/10332]. 1122 항체 생산 세포주는 아메리칸 타입 컬처 콜렉션에 명칭 HA022CL1로 기탁되었고 승인 번호 CRL 11177을 갖는다.
- <173> 기타 양태에서, Fc 수용체에 대한 결합 특이성은 인간 IgA 수용체, 예를 들어 Fc $\alpha$ RI (CD89)와 결합하는 항체에 의해 제공되는데, 그의 결합성은 인간 면역글로불린 A (IgA)에 의해 차단되지 않아야 한다. 용어 "IgA 수용체"에는 염색체 19 상에 위치한 하나의 유전자 (Fc $\alpha$ RI)의 유전자 생성물이 포함된다. 이러한 유전자는 55 내지 110 kDa의 몇 가지 교대로 스플라이싱된 막관통 이소형을 암호화하는 것으로 공지되어 있다. Fc $\alpha$ RI (CD89)은 단구/대식 세포, 호산구성 및 호중구성 과립구 상에서 구성적으로 발현되지만, 비-효과인자 세포 집단 상에서는 그렇지 못하다. Fc $\alpha$ RI은 IgA1 및 IgA2 둘 다에 대한 중간 정도의 친화도 ( $5 \times 10^7$  M $^{-1}$ )을 지니고 있고, 이는 G-CSF 또는 GM-CSF와 같은 사이토킨에 대한 노출시 증가된다 [참고: Morton, H.C. et al., 1996 Critical Reviews in Immunology 116:423-440]. IgA 리간드 결합성 도메인 외부의 Fc $\alpha$ RI와 결합하는, A3, A59, A62 및 A77로서 확인된 4개의 Fc $\alpha$ RI-특이적 모노클로날 항체가 보고되었다 [참고: Monteiro, R.C. et al., 1992 J. Immunol. 148:1764].
- <174> Fc $\alpha$ RI 및 Fc $\gamma$ RI는 본 발명의 이중-특이적 분자에 사용하기 위한 촉발 수용체인데, 이는 이들이 주로 면역 효과인자 세포, 예를 들어 단구, PMN, 대식 세포 및 수지상 세포 상에서 발현되고; 고 수준으로 발현되며 (예를 들어, 세포당 5,000 내지 100,000); 세포독성 활성 (예: ADCC, 포식 작용)의 매개인자이고; 그들에 대해 표적화된 항원 (자가 항원 포함)의 증강된 항원 제시를 매개하기 때문이다.
- <175> 본 발명의 이중-특이적 분자에 이용될 수 있는 기타 항체는 뮤린, 키메라 및 인간화 모노클로날 항체이다.
- <176> 본 발명의 이중-특이적 분자는 당해 분야에 공지된 방법을 사용하여 구성분 결합 특이성, 예를 들어 항-FcR 및 항-IL-13 결합 특이성을 접합시킴으로써 제조할 수 있다. 예를 들어, 이중-특이적 분자의 각 결합 특이성은 개별적으로 생성시킨 다음, 서로 접합시킬 수 있다. 결합 특이성이 단백질 또는 펩티드인 경우에는, 공유 접합을 위한 각종 커플링제 또는 가교 결합제를 사용할 수 있다. 가교 결합제의 예에는 단백질 A, 카보다이미드, N-석신이미딜-S-아세틸-티오아세테이트 (SATA), 5,5'-디티오비스(2-니트로벤조산) (DTNB), o-페닐렌디말레이미드 (oPDM), N-석신이미딜-3-(2-피리딜디티오)프로피오네이트 (SPDP), 및 설포석신이미딜 4-(N-말레이미도메틸) 시클로헥산-1-카복실레이트 (설포-SMCC)가 포함된다 [참고: 예를 들어, Karpovsky et al., 1984 J. Exp. Med. 160:1686; Liu, MA et al., 1985 Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82:8648]. 기타 방법에는 다음 문헌에 기재된 방법이 포함된다 [참고: Paulus, 1985 Behring Ins. Mitt. No. 78,118-132; Brennan et al., 1985 Science 229:81-83, and Glennie et al., 1987 J. Immunol. 139: 2367-2375]. 접합제는 SATA 및 설포-SMCC [둘 다 Pierce Chemical Co. (Rockford, IL)로부터 입수 가능하다]이다.
- <177> 결합 특이성이 항체인 경우에는, 이들을 두 중쇄의 C-말단 힌지 영역을 설프히드릴 결합시킴으로써 접합시킬 수 있다. 특별한 양태에서, 힌지 영역은 접합 이전에 홀수의 설프히드릴 잔기, 예를 들어 1개의 설프히드릴 잔기를 함유하도록 변형시킨다.
- <178> 또 다른 한편, 양 결합 특이성을 동일한 벡터에서 암호화할 수 있고, 동일한 숙주 세포에서 발현 및 어셈블리할

수 있다. 이 방법은 이중-특이적 분자가 mAb x mAb, mAb x Fab, Fab x F(ab')<sub>2</sub> 또는 리간드 x Fab 융합 단백질 인 경우에 특히 유용하다. 본 발명의 이중-특이적 분자는 하나의 단일쇄 항체와 결합 결정기를 포함하는 단일쇄 분자, 또는 2개의 결합 결정기를 포함하는 단일쇄 이중-특이적 분자일 수 있다. 이중-특이적 분자는 2개 이상의 단일쇄 분자를 포함할 수 있다. 이중-특이적 분자의 제조 방법은, 예를 들어 미국 특허 제5,260,203호; 미국 특허 제5,455,030호; 미국 특허 제4,881,175호; 미국 특허 제5,132,405호; 미국 특허 제5,091,513호; 미국 특허 제5,476,786호; 미국 특허 제5,013,653호; 미국 특허 제5,258,498호; 및 미국 특허 제5,482,858호에 기재되어 있다.

<179> 그들의 특이적 표적에 대한 이중-특이적 분자의 결합성은, 예를 들어 효소 결합 면역흡착 검정 (ELISA), 방사성 면역검정 (REA), FACS 분석, 생물학적 검정 (예: 성장 억제) 또는 웨스턴 블롯 (Western Blot) 검정에 의해 확증할 수 있다. 이들 검정 각각은 일반적으로, 관심있는 복합체에 대해 특이적인 표지된 시약 (예: 항체)를 이용함으로써 특별히 관심있는 단백질-항체 복합체의 존재를 탐지한다. 예를 들어, FcR-항체 복합체는, 예를 들어 항체-FcR 복합체를 인식하고 이와 특이적으로 결합하는 효소-결합 항체 또는 항체 단편을 사용하여 탐지할 수 있다. 또 다른 한편, 복합체는 각종 기타 면역검정을 사용하여 탐지할 수 있다. 예를 들어, 항체를 방사성 표지시킬 수 있고, 방사성 면역검정 (RIA)에 사용할 수 있다 [참고: Weintraub; B., Principles of Radioimmunoassays, Seventh Training Course on Radioligand Assay Techniques, The Endocrine Society, March, 1986; 본원에 참고로 도입된다]. 방사성 동위원소는  $\gamma$  계수기 또는 신틸레이션 계수기를 사용하는 것과 같은 수단에 의해, 또는 자가방사선 촬영술에 의해 탐지할 수 있다.

<180> 제약 조성물

<181> 또 다른 국면에서, 본 발명은 제약상 허용 가능한 담체와 함께 제형화시킨, 본 발명의 모노클로날 항체 또는 그의 항원 결합성 부분을 하나 또는 조합하여 함유하는 조성물 (예: 제약 조성물)을 제공한다. 이러한 조성물은 본 발명의 항체, 또는 면역접합체 또는 이중-특이적 분자를 하나 또는 조합하여 (예를 들어, 둘 이상의 상이한) 포함할 수 있다. 예를 들어, 본 발명의 제약 조성물은 표적 항원 상의 상이한 에피토프와 결합하거나 또는 상보적 활성을 지닌 항체 (또는 면역접합체 또는 이중-특이적 분자)의 조합물을 포함할 수 있다.

<182> 본 발명의 제약 조성물은 병용 요법으로 투여할 수도 있는데, 즉 기타 작용제와 병용해서 투여할 수 있다. 예를 들어, 병용 요법에는 본 발명의 항-IL-13 항체를 한 가지 이상의 기타 소염제와 병용하는 것이 포함될 수 있다. 병용 요법에 사용될 수 있는 치료제의 예가 본 발명의 항체 용도에 관한 다음 섹션에 보다 상세히 기재되어 있다.

<183> 본원에 사용된 바와 같은 "제약상 허용 가능한 담체"에는 생리학적으로 화합성인 모든 용매, 분산 매질, 피복제, 향균 및 항진균제, 등장성 및 흡수 지연제 등이 포함된다. 담체는 정맥내, 근육내, 피하, 비경구, 척수 또는 표피 투여 (예를 들어, 주사 또는 주입에 의함)하는데 적합해야 한다. 투여 경로에 따라서, 활성 화합물, 즉 항체, 면역접합체 또는 이중-특이적 분자를, 이 화합물을 불활성화시킬 수도 있는 산의 작용과 기타 천연 조건으로부터 상기 화합물을 보호해주는 물질에 피복시킬 수 있다.

<184> 본 발명의 제약 화합물에는 하나 이상의 제약상 허용 가능한 염이 포함될 수 있다. "제약상 허용 가능한 염"은 모 화합물의 목적하는 생물학적 활성을 보유하고 있고 바람직하지 못한 어떠한 독성학적 효과도 제공하지 않는 염을 지칭한다 [참고: 예를 들어, Berge, S.M., et al., 1977 J. Pharm. Sci. 66:1-19]. 이러한 염의 예에는 산 부가 염 및 염기 부가 염이 포함된다. 산 부가 염에는 무독성 무기 산, 예를 들어 염산, 질산, 인산, 황산, 브롬화수소산, 요오드화수소산, 인산 등으로부터 유래된 염 뿐만 아니라 무독성 유기 산, 예를 들어 지방족 모노- 및 디-카복실산, 페닐-치환된 알카노산, 히드록시 알카노산, 방향족 산, 지방족 및 방향족 설폰산으로부터 유래된 염 등이 포함된다. 염기 부가 염에는 알칼리 토금속, 예를 들어 나트륨, 칼륨, 마그네슘, 칼슘 등으로부터 유래된 염 뿐만 아니라 무독성 유기 아민, 예를 들어 N,N'-디벤질에틸렌디아민, N-메틸글루카민, 클로로프로카인, 콜린, 디에탄올아민, 에틸렌디아민, 프로카인 등으로부터 유래된 염이 포함된다.

<185> 본 발명의 제약 조성물은 또한, 제약상 허용 가능한 항산화제를 포함할 수 있다. 제약상 허용 가능한 항산화제의 예에는 수용성 항산화제, 예를 들어 아스코르브산, 시스테인 히드로클로라이드, 중황산나트륨, 나트륨 메타비설파이트, 아황산나트륨 등; 오일 가용성 항산화제, 예를 들어 아스코르빌 팔미테이트, 부틸화 히드록시아니솔 (BHA), 부틸화 히드록시톨루엔 (BHT), 레시틴, 프로필 갈레이트, 알파-토코페롤 등; 및 금속 킬레이트제, 예를 들어 시트르산, 에틸렌디아민 테트라아세트산 (EDTA), 솔비톨, 타르타르산, 인산 등이 포함된다.

<186> 본 발명의 제약 조성물에 이용될 수 있는 적합한 수성 및 비수성 담체의 예에는 물, 에탄올, 폴리올 (예를

들어, 글리세롤, 프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜 등) 및 그의 적합한 혼합물, 식물성 오일, 예를 들어 올리브유, 및 주사 가능한 유기 에스테르, 예를 들어 에틸 올레에이트가 포함된다. 적당한 유동성은, 예를 들어 피복 물질 (예: 레시틴)을 사용하고, 분산제의 경우에는 요구되는 입자 크기를 유지하며, 계면활성제를 사용함으로써 유지시킬 수 있다.

<187> 이들 조성물은 방부제, 습윤제, 유화제 및 분산제와 같은 보조제를 함유할 수도 있다. 미생물이 존재하지 못하게 하는 것은 멸균 과정 (상기 참고)에 의해, 그리고 각종 항균 및 항진균제, 예를 들어 파라벤, 클로로부탄올, 페놀 소르브산 등을 봉입시킴으로써 보장할 수 있다. 등장제, 예를 들어 당, 염화나트륨 등을 조성물 내로 봉입시키는 것이 요망될 수도 있다. 또한, 주사 가능한 제약 형태를 장기간 흡수시키는 것은 흡수를 지연시키는 작용제, 예를 들어 알루미늄 모노스테아레이트 및 젤라틴을 봉입시킴으로써 수행할 수 있다.

<188> 제약상 허용 가능한 담체에는 멸균성 수성 용액 또는 분산액, 및 멸균성 주사용 용액 또는 분산액을 즉시 제조하기 위한 멸균성 분말이 포함된다. 제약상 활성 물질에 대해 상기 매질 및 작용제를 사용하는 것은 당해 분야에 공지되어 있다. 통상적인 매질 또는 작용제가 활성 화합물과 비-화합성인 경우를 제외하고는, 본 발명의 제약 조성물에서의 그의 용도가 고려된다. 보충 활성 화합물을 본 발명의 조성물 내로 혼입시킬 수도 있다.

<189> 치료 조성물은 전형적으로, 제작 및 저장 조건 하에 멸균성이고 안정해야만 한다. 이러한 조성물은 용제, 미소 에멀션, 리포솜, 또는 고 약물 농도에 적합한 기타 정렬된 구조물로서 제형화할 수 있다. 용매는, 예를 들어 물, 에탄올, 폴리에틸렌 (예: 글리세롤, 프로필렌 글리콜 및 액상 폴리에틸렌 글리콜 등), 및 그의 적합한 혼합물을 함유하는 용매 또는 분산 매질일 수 있다. 적당한 유동성은, 예를 들어 피복 물질 (예: 레시틴)을 사용하고, 분산제의 경우에는 요구되는 입자 크기를 유지하며, 계면활성제를 사용함으로써 유지시킬 수 있다. 많은 경우에 있어, 상기 조성물 내에 등장제, 예를 들어 당, 다가알코올, 예를 들어 만니톨, 솔비톨, 또는 염화나트륨을 포함할 수 있다. 주사 가능한 조성물을 장기간 흡수시키는 것은 조성물 내에 흡수를 지연시키는 작용제, 예를 들어 모노스테아레이트 및 레시틴을 봉입시킴으로써 수행할 수 있다.

<190> 멸균성 주사 용제는 요구 량의 활성 화합물을, 필요에 따라 상기 열거된 성분들 중의 하나 또는 조합물과 함께 적당한 용매에 혼입시킨 다음, 멸균 미소여과시킴으로써 제조할 수 있다. 일반적으로, 분산제는 활성 화합물을 기본 분산 매질과 상기 열거된 것 중에서 요구되는 기타 성분을 함유하는 멸균성 비히클 내로 혼입함으로써 제조한다. 멸균성 주사 용제를 제조하기 위한 멸균성 산제의 경우, 제조 방법은 진공 건조 및 동결 건조인데, 이로써 앞서 멸균-여과시킨 그의 용액으로부터 부가의 목적 성분이 활성 성분에 추가된 분말이 산출된다.

<191> 단일 투여 형태를 제조하기 위해 담체 물질과 조합될 수 있는 활성 성분의 양은 치료받는 대상체, 및 특별한 투여 방식에 따라서 다양할 것이다. 단일 투여 형태를 제조하기 위해 담체 물질과 조합될 수 있는 활성 성분의 양은 일반적으로, 치료 효과를 가져다 주는 조성물의 양일 것이다. 일반적으로, 이러한 활성 성분의 양은 제약상 허용 가능한 담체와 조합되는 활성 성분 100%를 기준으로 하여, 약 0.01% 내지 약 99%, 약 0.1% 내지 약 70%, 또는 약 1% 내지 약 30%의 범위일 것이다.

<192> 투여량 섭생은 목적하는 최적의 반응 (예를 들어, 치료 반응)을 제공하도록 조정한다. 예를 들어, 단일 거환을 투여할 수 있거나, 수 회분으로 나누어 일정 시간에 걸쳐 투여할 수 있거나, 또는 치료적 상황의 위급성에 비례하여 용량을 감소 또는 증가시킬 수 있다. 투여 용이성과 투여량의 균질성을 위해서는 비경구 조성물을 투여 단위 형태로 제형화하는 것이 특히 유리하다. 본원에 사용된 바와 같은 투여 단위 형태는 치료받고자 하는 대상체에 대한 단일 투여량으로서 적합한 물리적으로 별개의 단위를 지칭하고; 각 단위는 요구되는 제약 담체와 연합하여 목적하는 치료 효과를 야기시키도록 계산된 예정 량의 활성 성분을 함유한다. 본 발명의 투여 단위 형태에 관한 명세서는 활성 화합물의 독특한 특징 및 달성하고자 하는 특별한 치료 효과, 및 개개인에게서 민감도를 치료하기 위해 상기 활성 화합물을 화합하는 분야에 내재된 제한 사항에 의해 지시되고 이에 직접적으로 좌우된다.

<193> 항체를 투여하는 경우, 투여량 범위는 숙주 체중 kg당 약 0.0001 내지 100 mg, 및 보다 통상적으로 0.01 내지 5 mg이다. 예를 들어, 투여량은 0.3 mg/체중 kg, 1 mg/체중 kg, 3 mg/체중 kg, 5 mg/체중 kg 또는 10 mg/체중 kg, 또는 1 내지 10 mg/체중 kg의 범위 내이다. 예시되는 치료 섭생은 1주 1회 투여, 2주 마다 1회 투여, 3주 마다 1회 투여, 4주 마다 1회 투여, 1개월에 1회 투여, 3개월 마다 1회 투여, 또는 3 내지 6개월 마다 1회 투여한다. 본 발명의 항-IL-13 항체에 대한 투여량 섭생은 정맥내 또는 피하 투여의 경우에, 1 mg/체중 kg 또는 3 mg/체중 kg인데, 상기 항체는 다음 투여 스케줄 중의 한 가지를 이용하여 제공된다: 예를 들어, 6회 투여량을 4주 마다 투여한 다음, 3개월 마다 투여하고; 3주 마다 투여하며; 3 mg/체중 kg을 1회 투여한 다음, 3주 마다 1 mg/체중 kg을 투여한다.

- <194> 몇몇 방법에서는, 상이한 결합 특이성을 지닌 2개 이상의 모노클로날 항체를 동시에 투여하는데, 이러한 경우에 투여되는 각 항체의 투여량은 지시된 범위 내에 속한다. 항체는 통상적으로, 여러 번 나누어 투여한다. 1회 투여 사이 간격은, 예를 들어 매주, 매달, 3개월 마다 또는 매년일 수 있다. 환자 내의 표적 항원에 대한 항체의 혈액 수준을 측정함으로써 나타내는 바와 같이 간격이 불규칙할 수도 있다. 몇몇 방법에서는, 약 1 내지 1000  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 혈장 항체 농도를 달성하도록 투여량을 조정하고, 몇몇 방법에서는 약 25 내지 300  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 혈장 항체 농도를 달성하도록 투여량을 조정한다.
- <195> 또 다른 한편, 보다 적은 횟수로 투여하는 것이 요구되는 경우에는 항체를 지속 방출 제형으로서 투여할 수 있다. 투여량과 투여 횟수는 환자 내에서의 항체의 반감기에 따라서 다양하다. 일반적으로, 인간 항체가 가장 긴 반감기를 나타내고, 그 다음으로 인간화 항체, 키메라 항체 및 비인간 항체 순이다. 투여량과 투여 횟수는 수행되는 처치가 예방적인지 아니면 치료적인지에 따라서 다양할 수 있다. 예방적으로 적용하는 경우에는, 비교적 저 투여량을 장기간에 걸쳐 비교적 드문 간격으로 투여한다. 몇몇 환자는 그들의 나머지 일생 동안 지속적으로 치료받아야 한다. 치료적으로 적용하는 경우에는, 해당 질병의 진행이 저하되거나 종결될 때까지, 또는 환자가 질병 증상의 부분적 또는 완전한 개선을 나타낼 때까지 비교적 고 투여량을 비교적 짧은 간격으로 투여하는 것이 종종 요구된다. 그 후, 환자에게 예방적 섭생을 투여할 수 있다.
- <196> 본 발명의 제약 조성물 중의 활성 성분의 실제 투여량 수준은 특별한 환자에 대해 목적하는 치료 반응을 달성시키기 위해 유효한 양의 활성 성분, 조성물 및 투여 방식을 수득하도록 다양할 수 있는데, 환자에게 독성이 없어야 한다. 선택된 투여량 수준은 각종 약동학적 요인들, 예를 들어 이용된 본 발명의 특별한 조성물, 또는 그의 에스테르, 염 또는 아미드의 활성, 투여 경로, 투여 시간, 이용되는 특별한 화합물의 배출 속도, 치료 기간, 이용된 특별한 화합물과 병용해서 사용되는 기타 약물, 화합물 및/또는 물질, 치료받는 환자의 연령, 성별, 체중, 상태, 일반적 건강 및 기존의 병력, 및 의학 분야에 널리 공지된 기타 요인에 좌우될 것이다.
- <197> 본 발명의 항-IL-13 항체의 "치료적 유효 투여량"은 질병 증상의 중증도를 저하시키거나, 질병 증상이 없는 기간과 빈도를 증가시키거나, 또는 질병 고통으로 인한 장애 또는 신체 장애를 예방시켜줄 수 있다.
- <198> 본 발명의 조성물은 당해 분야에 공지된 각종 방법 중의 한 가지 이상을 사용하여 한 가지 이상의 투여 경로에 의해 투여할 수 있다. 당업자가 인지하는 바와 같이, 투여 경로 및/또는 방식은 목적하는 결과에 따라서 다양할 것이다. 본 발명의 항체에 대한 투여 경로에는 정맥내, 근육내, 피내, 복강내, 피하, 척수 또는 기타 비경구 투여 경로, 예를 들어 주사 또는 주입 경로가 포함된다. 본원에 사용된 바와 같은 "비경구 투여"는 장내 및 국소 투여 이외의 투여 방식, 통상적으로 주사에 의한 투여를 의미하는데, 이는 정맥내, 근육내, 동맥내, 수막강내, 협막내, 안와내, 심장내, 피내, 복강내, 경기관, 피하, 표피하, 관절내, 협막하, 지주막하, 척수내, 경막 및 흉골내 주사 및 주입이 포함되지만, 그에 제한되지 않는다.
- <199> 또 다른 한편, 본 발명의 항체는 비-비경구 경로, 예를 들어 국소, 표피 또는 점막 투여 경로, 예를 들어 비내, 경구, 질내, 직장내, 설하 또는 국소 경로에 의해 투여할 수 있다.
- <200> 활성 화합물은 이러한 화합물이 신속하게 방출되지 못하게 해주는 담체와 함께 제어 방출 제형으로서 제조될 수 있는데, 이는 이식제, 경피 패치, 및 미소피막화 전달 시스템이 포함된다. 생분해성, 생체 적합성 중합체, 예를 들어 에틸렌 비닐 아세테이트, 폴리무수물, 폴리글리콜산, 콜라겐, 폴리오르토에스테르, 및 폴리락트산을 사용할 수 있다. 이러한 제형의 많은 제조 방법이 특허되었거나 일반적으로 당업자에게 공지되어 있다 [참고: 예를 들어, Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems, J.R. Robinson, ed., Marcel Dekker, Inc., New York, 1978].
- <201> 치료 조성물은 당해 분야에 공지된 의료 기구를 이용하여 투여할 수 있다. 예를 들어 한 양태에서, 본 발명의 치료 조성물은 바늘이 없는 피하 주사 기구, 예를 들어 미국 특허 제5,399,163호; 제5,383,851호; 제5,312,335호; 제5,064,413호; 제4,941,880호; 제4,790,824호 또는 제4,596,556호에 제시된 기구를 이용하여 투여할 수 있다. 본 발명에 유용한 널리 공지된 이식제 및 모듈의 예에는 약물을 제어 속도로 투약하기 위한 이식성 미소-주입용 펌프를 제시하고 있는 미국 특허 제4,487,603호; 약물을 피부를 통하여 투여하기 위한 치료 기구를 제시하고 있는 미국 특허 제4,486,194호; 약물을 정확한 주입 속도로 전달하기 위한 약물 주입용 펌프를 제시하고 있는 미국 특허 제4,447,233호; 지속적인 약물 전달을 위한 가변 유동 이식성 주입 장치를 제시하고 있는 미국 특허 제4,447,224호; 다중-챔버 구획을 갖는 삼투압 약물 전달 시스템을 제시하고 있는 미국 특허 제4,439,196호; 및 삼투압 약물 전달 시스템을 제시하고 있는 미국 특허 제4,475,196호 (이들 특허는 본원에 참고로 도입된다)가 포함된다. 기타 많은 이식제, 전달 시스템 및 모듈이 당업자에게 공지되어 있다.

<202> 특정 양태에서, 본 발명의 인간 모노클로날 항체는 생체 내에서의 적당한 분배를 보장하도록 제형화할 수 있다. 예를 들어, 혈액-뇌 장벽 (BBB)이 고도로 친수성인 많은 화합물을 배제시키고 있다. 본 발명의 치료 화합물이 (경우에 따라) BBB를 가로질러 가기 위해서는, 이들을 예를 들어, 리포솜에 제형화할 수 있다. 리포솜 제작 방법에 관해서는 미국 특허 제4,522,811호; 제5,374,548호; 및 제5,399,331호를 참고할 수 있다. 리포솜은 특이적 세포 또는 기관 내로 선택적으로 수송되므로, 표적화 약물 전달을 증강시켜 주는 하나 이상의 부분을 포함할 수 있다 [참고: 예를 들어, V.V. Ranade, 1989 J. Cline Pharmacol. 29:685]. 예시되는 표적화 부분에는 엽산염 또는 바이오틴 [참고: 예를 들어, 미국 특허 제5,416,016호 (Low et al.)]; 만노시드 [참고: Umezawa et al., 1988 Biochem. Biophys. Res. Commun. 153: 1038]; 항체 [참고: P.G. Bloeman et al., 1995 FEBS Lett. 357:140; M. Owais et al., 1995 Antimicrob. Agents Chemother. 39:180]; 계면활성제 단백질 A 수용체 [참고: Briscoe et al., 1995 Am. J. Physiol.1233: 134]; p20 [참고: Schreier et al., 1994 J. Biol. Chem. 269:9090]이 포함된다. 또한 다음 문헌을 참고할 수 있다 [참고: K. Keinanen; M.L. Laukkanen, 1994 FEBS Lett. 346:123; J.J. Killion; I.J. Fidler, 1994 Immunomethods 4:273].

<203> 본 발명의 용도 및 방법

<204> 본 발명의 항체 (및 면역접합체 및 이중-특이적 분자)는 시험관내 및 생체내 진단 및 치료적 용도를 지니고 있다. 예를 들어, 이들 분자는 배양 중인 세포, 예를 들어 시험관내 또는 생체내 세포에게 투여하거나, 또는 생체내 대상체에게 투여하여 각종 장애를 치료, 예방 또는 진단할 수 있다. 본원에 사용된 바와 같은 용어 "대상체"에는 인간 및 비인간 동물이 포함된다. 비인간 동물에는 모든 척추동물, 예를 들어 포유류 및 비포유류 (예: 비인간 영장류, 양, 개, 고양이, 암소, 말, 치킨, 양서류 및 파충류)가 포함된다. 이상한 IL-13 발현과 연관된 장애가 있는 인간 환자를 치료하는 방법이 특히 적합하다. IL-13에 대한 항체를 또 다른 작용제와 함께 투여하는 경우, 이들 두 성분을 동시에 투여하거나 어느 순서로든 투여할 수 있다.

<205> 한 양태에서, 본 발명의 항체 (및 면역접합체 및 이중-특이적 분자)를 사용하여 IL-13 수준을 탐지하거나, 또는 IL-13을 함유하는 세포 수준을 탐지할 수 있다. 이는, 예를 들어 특정 샘플 (예: 시험관내 샘플) 및 대조군 샘플을, 항-IL-13항체와 IL-13 간에 복합체를 형성시킬 수 있는 조건 하에, 항-IL-13 항체와 접촉시킴으로써 달성할 수 있다. 상기 항체와 IL-13 간에 형성된 모든 복합체를 탐지하고, 상기 샘플과 대조군을 비교하였다. 예를 들어, 본 발명의 조성물을 사용하여 당해 분야에 널리 공지된 표준 탐지 방법, 예를 들어 ELISA 및 유동 세포계수 검정을 수행할 수 있다.

<206> 따라서, 한 국면에서 본 발명은 추가로, 특정 샘플 및 대조군 샘플을, IL-13과 특이적으로 결합하는 본 발명의 항체 또는 그의 항원 결합성 부분과 IL-13 간에 복합체를 형성시킬 수 있는 조건 하에, 상기 항체 또는 그의 일부와 접촉시키는 것을 포함하는, 상기 샘플 중에서의 IL-13 (예: 인간 IL-13 항원)의 존재를 탐지하거나 또는 IL-13의 양을 측정하는 방법을 제공한다. 그 다음, 복합체의 형성을 탐지하는데, 상기 샘플 간의 복합체 형성이 대조군 샘플과 비교해서 차이가 있다는 것은 이러한 샘플 중에 IL-13이 존재한다는 지표이다.

<207> 또한 본 발명의 범위 내에는, 본 발명의 조성물 (예: 항체, 인간 항체, 면역접합체 및 이중-특이적 분자)과 사용에 관한 지시 사항으로 이루어진 키트가 포함된다. 이러한 키트는 한 가지 이상의 부가 시약, 또는 본 발명의 한 가지 이상의 부가 항체 (예를 들어, 제1 항체와 별개로 표적 항원 상의 에피토프와 결합하는 보충 활성을 지닌 항체)를 추가로 함유할 수 있다. 키트는 전형적으로, 키트 내용물의 의도한 용도를 표시하는 표지를 포함한다. 용어 표지에는 키트 상에 또는 키트와 함께 제공되거나 키트에 수반되는 모든 문서 또는 기록 물질이 포함된다.

<208> 본 발명이 상세히 기재되긴 하였지만, 다음 실시예 및 청구의 범위에 의해 추가로 예시되는데, 이는 단지 예시적이며 이로써 제한되지 않는다. 당업자는 단지 통상적인 실험을 사용하여, 본원에 기재된 구체적인 과정에 대한 수 많은 등가 수준을 인식하거나 확인할 수 있을 것이다. 이러한 등가 수준이 본 발명 및 청구의 범위 내에 있다. 본 명세서 전반에 걸쳐 인용된 모든 참고 문헌 (허여된 특허 및 공개된 특허출원 포함)의 내용은 본원에 참고로 도입된다.

**실시예**

<209> **실시예 1: 면역시킨 비장 라이브러리로부터의 인간 IL-13 특이적 항체 생성**

<210> 비장으로부터의 RNA를 사용하여, 미국 특허 제6,794,132호에 기재된 바와 같은 Fab 파아지 디스플레이 벡터 내에서 무작위로 분류된 H 및 L 쇠 가변 도메인의 파아지 디스플레이 라이브러리를 생성시켰다. 이러한 파아지 디스플레이 라이브러리를 대상으로 하여, 상기 특허에 기재된 바와 같은 용액 상 평형 결합 프로토콜에서 바이

오티닐화 hrIL-13을 사용하여 선별 5회전을 수행하였다. 처음 선별 4회전은 hrIL-13을  $10^{-8}$  M으로 이용하였고 마지막 선별 회전은 hrIL-13을  $10^{-9}$  M으로 이용하였다. 항원의 존재 하에 회수한 pfu를 항원의 부재 하에 회수한 pfu로 나눠 계수함으로써 결정된 최종 신호 대 소음 비는 상기 라이브러리의 경우 37이었는데, 이는 선별된 파아지의 90% 초과가 hrIL-13과 결합한 발현성 항체란 사실을 나타낸다. 이어서, 파아지 디스플레이 라이브러리를 미국 특허 제6,794,132호에 기재된 바와 같이 가용성 Fab의 발현을 위해 플라스미드 벡터 내로 서브클로닝하였다. 서브클로닝된 라이브러리는 이. 콜라이 (*E. coli*)에서의 플라스미드 벡터를 포함하는데, 각 플라스미드는 모노클로날 Fab 단편을 암호화한다. 서브클론 라이브러리를 도말하고, 개개의 클론을 나타내는 집락을 골라내어 96-웰 판에 접종하였다. 밤새 성장시킨 후, 상기 판 배양물을 사용하여 96-웰 판에서의 클론에 대한 동결 세포 은행에 보관하였고, 또한 모노클로날 항체를 발현하도록 유도시킨 복제 96-웰 판에 시딩하였다. 그 다음날, 이들 96-웰 판 배양물을 대상으로 하여 세정제 추출하고 정제하여 마이크로그램 양의 항체를 회수하였다. 이와 같이 정제된 항체를 처리하여 내독소를 제거하고 마지막으로 멸균성 여과시켰다. 아비딘 판 상에 피복된 바이오티닐화 rhIL-13을 사용하여 ELISA 검정을 수행하여, 기능적 양성물을 함유한 웰을 확인하였다. 항체의 불변 영역을 표적으로 하는 샌드위치 검정을 사용하여 상이한 웰 중에서의 항체 농도를 결정하였다. 항체와 검정 데이터를 함유하는 96-웰 판을 대상으로 하여 생물학적 활성에 관하여 평가하였다. 그 다음, 96-웰 동결 세포 은행 중의 관심있는 클론을 서열 분석하여 독특한 항체를 발현하는 것을 확인하였다. 연속해서, 이들 독특한 클론의 동결 세포 은행을 사용하여 소규모의 진탕 플라스크 배양물을 시딩하고 밤새 성장시켰다. 밤새 배양물을 사용하여 대규모 플라스크에 시딩한 다음, 항체를 발현하도록 유도시켰다. 그 다음날, 플라스크 배양물을 기계적으로 균질화시키고 정제하여 밀리그램 양의 항체를 산출시켰다. 정제된 Fab를 대상으로 하여 내독소 제거하도록 처리하였고 종결 멸균 여과시켰다. 이들 항체의 기능적 활성은 아비딘 판 상에 피복된 바이오티닐화 rhIL-13을 사용하여 ELISA함으로써 입증하였다. 항체 농도는 280 nm 하에서의 흡광도 측정치에 의해 결정하였다. 정제된 Fab를 대상으로 하여, 세포에 의거한 검정에서 시험관내 결합성 및 활성에 관하여 평가하였다.

<211> **실시예 2: 결합 친화성의 정량적 분석: 항-인간 IL-13 Fab 후보의 결정**

<212> 항-IL-13 Fab와 몇 가지 hrIL-13 간의 상호 작용을 정량화하는 표면 플라즈몬 공명 측정을, 광학 바이오센서 BIAcore 2000을 사용하여 수행하였다. BIAcore 칩 상에 고정화된 각각의 IL-13 Fab에 대한 IL-13의 특이적 결합량을 측정하는 다음, 수용체 상에 축적된 리간드 양을 측정할 수 있다. 이러한 칩 상에서의 질량 축적 속도로부터, 현미경을 이용한 연합 속도 ( $k_{on}$ )와 해리 속도 ( $k_{off}$ )를 직접적으로 측정할 수 있고, 이를 반응 단위 (RU)로 표현하였다. 항-IL-13 Fab를 이차 항-인간 Lk 항체 (공급처: Jackson Immunochemicals)를 통하여 칩 표면에 고정화시켰다. 이러한 포획 항체는 제조업자의 프로토콜에 권장된 바와 같이 '아민 커플링 키트' (BIAcore, Cat.No. BR-1000-50)를 사용하여 공유적으로 결합시켰다. 다양한 농도의 hrIL-13 250  $\mu$ l를 20  $\mu$ l/min의 유속으로 주사하고 역학적 추적을 기록하였다. 100 mM HCl을 사용하고 10  $\mu$ l을 20  $\mu$ l/min의 유속으로 주사하면서 2회 산 세척 단계에 의해 칩 표면을 재생시켰다. 이러한 처리로 인해, 가역적 산 변성 때문에 Fab IL-13 복합체가 해리되었다. 항체를 후속 수행을 위해 재주사한 경우에는, 결합 활성의 유의적 손실이 전혀 관찰되지 않았다. 1:1 랑뮈르 (Langmuir) 연합 모델을 적용하는 BIAcore 소프트웨어를 이용하여 역학적 추적을 평가하였다. 인간 IL-13에 대한 요약된 친화도 데이터가 다음 표 1에 제시되었다:

**표 1**

Fab	KD [pM] 인간 IL-13
01471/G6	100 ± 2
03161/H2	197 ± 12
01951/G12	480 ± 68
01771/E10	343 ± 54

<213> **실시예 3: IgG 포맷으로의 전환**

<214> 항체 DNA 서열 분석용 주형을, QIAprep 미니프렘 (공급처: Qiagen Inc.)을 사용하여 3 ml 배양물로부터 정제하였다. 제조업자의 명세서에 따라서 어플라이드 바이오시스템즈 (Applied Biosystems) 3100 아방 제네틱 분석기 (Avant Genetic Analyzer)를 사용하여 주형을 서열 분석하였다. 선별된 클론의 중쇄 및 카파 쇠 가변 영역을 PCR에 의해 상기 서열 분석용 주형으로부터 별개로 증폭시키고, 아가로스 겔 전기영동에 의해 정제된 다음, 겔

로부터 절제 및 정제하였다.  $V_H$  및  $V_L$ 을 암호화하는 플라즈미드를 인간 카파 경쇄 및 인간 IgG<sub>1</sub> 중쇄에 대한 발현 카세트 내로 클로닝하였다. Sp2/0 모 세포주를 2개의 벡터로 형질감염시켰는데, 하나는 경쇄 벡터에 대한 것이고 다른 하나는 중쇄 벡터에 대한 것이다. 형질감염시킨 세포를 선별하고, G418 및 메토타렉세이트를 각각 사용하여 증폭시키면, 역가 범위가 5 mg/L 내지 30 mg/L인 항체를 생산하는 내성 증폭 세포 풀이 발생하였다. 그 다음, 희석 클로닝을 이용하면, 6개 96-웰 판으로부터 127개의 생존 클론이 분리되었다. 이어서, 새로 생겨난 세포 주를 대상으로 하여 공급-배치 진탕기 포맷으로 생산성에 관하여 시험하였다. 발현 구조물의 안정한 통합과 생성물의 활발한 발현을 확인하기 위한 안정성 시험을 또한 90일에 걸쳐 수행하였다. 노던 블롯은 동등한 밴드 세기를 지닌 완전한 길이의 단일 RNA를 나타내었는데, 이는 중쇄와 경쇄 둘 다에 대한 유사한 발현 수준을 표시한다.

**실시예 4: 세포에 의거한 검정에서 항-IL-13 완전 항체의 시험관내 정상 확인**

IL-13은 인간 폐 섬유아세포로부터의 에오타신 (eotaxin) 방출의 강력한 유도인자이다. IL-13의 생체 활성을 증폭시킬 수 있는 항체의 능력은 인간 폐 섬유아세포를 사용하여 IL-13-유도된 에오타신 방출 검정에서 평가하였다. 간략하게 설명하면, 세포 (100  $\mu$ l 용적 중에서 웰당 2 x 10<sup>4</sup> 개 세포)를 96 웰 조직 배양 판의 각 웰에 도말하였다. 세포를 최대 에오타신 방출의 80%를 부여하는 IL-13의 농도로 자극하였는데, 이러한 농도는 0 내지 100 ng/ml IL-13의 표준 곡선을 사용하여 세포의 각 배치물로부터 예정되었다. 다양한 농도의 항체를 세포에 공동-적용하였다. 세포를 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 하에 24시간 동안 항온 배양하였고, 배양 배지를 수거한 다음, 요구될 때까지 -20°C 하에 저장하였다. 배지 내의 에오타신 수준을 특이적 ELISA (공급처: R&D systems)에 의해 측정하였는데, 검정 민감도는 15 내지 1000 pg/ml였다.

이로써, 항-IL-13 Fab를 상기 기재된 바와 같이 EC<sub>50</sub>에 대하여 분석하고 다음 표 2에 제시하였다:

**표 2**

항체	EC <sub>50</sub> [nM] 인간 IL-13
01471/G6	1.23 ± 0.4
03161/H2	0.95 ± 0.2
01951/G12	0.33 ± 0.1
01771/E10	1.71 ± 0.5

**실시예 5: 항-IL-13 항체의 서열 분석**

모든 항체의 중쇄 및 경쇄 가변 영역 ( $V_H$  및  $V_L$ )의 뉴클레오티드 서열을 결정하였다. 상보성 결정 영역 (CDR)의 아미노산 서열이 본원의 표 3 및 4에 열거되었다. 카바트 정의 [참고: E. Kabat et al, 1991, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th edition, Public Health Service, National Institute of Health, Bethesda, MD]에 따르는 CDR이 표 3a 및 4a에 열거되었다:

**표 3**

항체	HCDR1	서열 번호 HCDR1	HCDR2	서열 번호 HCDR2	HCDR3	서열 번호 HCDR3
01471/G6	GFTFSNYG	1	IWYDGSN	3	VKGSGDIP	4
03161/H2	GFTFSNYG	1	IWYDGSN	3	VKGSGDIP	4
01951/G12	GFTFSSYG	2	IWYDGSN	3	ARLWFGDLD	5
01771/E10	GFTFSSYG	2	IWYDGSN	3	ARLWFGDLD	5



표 3a

항체	HCDR1	서열 번호 HCDR1	HCDR2	서열 번호 HCDR2	HCDR3	서열 번호 HCDR3
01471/G6	NYGMH	6	IIWYDGSNKYYADSVKG	8	GSGDIPFDY	9
03161/H2	NYGMH	6	IIWYDGSNKYYADSVKG	8	GSGDIPFDY	9
01951/G12	SYGMH	7	IIWYDGSNKYYADSVKG	8	LWFGDLDAFDI	10
01771/E10	SYGMH	7	IIWYDGSNKYYADSVKG	8	LWFGDLDAFDI	10

표 4

항체	LCDR1	서열 번호 LCDR1	LCDR2	서열 번호 LCDR2	LCDR3	서열 번호 LCDR3
01471/G6	QSVSSY	11	DA	12	HQRSHWPPI	13
03161/H2	QSVSSY	11	DA	12	HQRSHWPPI	13
01951/G12	QSVSSY	11	DA	12	QQRSSWPPV	14
01771/E10	QSVSSY	11	DA	12	HQRSSWPPPI	15

표 4a

항체	LCDR1	서열 번호 LCDR1	LCDR2	서열 번호 LCDR2	LCDR3	서열 번호 LCDR3
01471/G6	RASQSVSSYLA	16	DASNRAT	19	HQRSHWPPIIFT	20
03161/H2	RASQSVSSYLA	16	DASNRAT	19	HQRSHWPPIIFT	20
01951/G12	RAGQSVSSYLV	17	DASNRAT	19	QQRSSWPPVYT	21
01771/E10	RASQSVSSYLA	18	DASNRAT	19	HQRSSWPIIFT	22

앞서 표의 항체 서열 (골격 영역 포함)이 다음에 제시되었다. 완전한 IgG1 항체 경쇄 및 중쇄 불변 영역이 또한 다음에 제시되었는데, 한 예로서 항체 01951/G12의 가변 영역 (강조됨)이 혼입되었다.

01471/G6 항체 서열

(i) HC 가변 영역

01471/G6에 대한 HC 가변 아미노산 서열이 서열 23에 제시되고, 서열 24에 제시된 뉴클레오티드 서열에 의해 암호화된다

```

E V Q L V E S G G G V V Q P G R S L R L
gaagtgcagctggtggagtctgggggagcgtggtccagcctgggaggtccctgagactc 60

S C A A S G F T F S N Y G M H W V R Q A
tcctgtgcagcgtctggattcaccttcagtaactatggcatgcactgggtccgccaggt 120

P G K G L E W V A I I W Y D G S N K Y Y
ccaggcaaggggctggagtgggtgcaattatatggtatgatggaagtaataaatactat 180

A D S V K G R F T I S R D N S K N T L Y
gcagactccgtgaagggcggattcacctctccagagacaattccaagaacacgctgtat 240

L Q M N S L R A E D T A V Y Y C V K G S
ctgcaaatgaacagtctgagagccgagacacggctgtgtattactgtgtgaaaggatct 300

G D I P F D Y W G Q G T L V T (서열 23)
ggggatattccctttgactactggggccaggaaccctggtcacc 345 (서열 24)
    
```

(ii) LC 가변 영역

01471/G6에 대한 LC 가변 아미노산 서열이 서열 25에 제시되고, 서열 26에 제시된 뉴클레오티드 서열에 의해 암호화된다

E I V L T Q S P A T L S S S P G E R A T 60  
 gaaattgtgttgacgcagctctccagccaccctgtcttctcgtctccaggggaaagagccacc  
 L S C R A S Q S V S S Y L A W Y Q Q K P 120  
 ctctcctgcagggccagtcagagtgtagcagctacttagcctggtaccaacagaaacct  
 G Q A P R L L I Y D A S N R A T G I P A 180  
 ggccaggctcccaggctcctcatctatgatgcatccaacagggccactggcatcccagcc  
 R F S G S G S G T D F T L T I S S L E P 240  
 aggttcagtgagcagtggtctgggacagacttactctcaccatcagcagcctagagcct  
 E D F A V Y Y C H Q R S H W P P I F T F 300  
 gaagattttgcagctctattactgtcatcagcgtagccactggcctcccatattcactttc

G P G T (서열 25)  
 ggccctgggacc 312 (서열 26)

03161/H2 항체

(i) HC 가변 영역

03161/H2에 대한 HC 가변 아미노산 서열이 서열 27에 제시되고, 서열 28에 제시된 뉴클레오티드 서열에 의해 암호화된다

E V Q L V E S G G G V V Q P G R S L R L 60  
 gaagtgcagctggaggagctctgggggagcgtggtccagcctgggaggtccctgagactc  
 S C A A S G F T F S N Y G M H W V R Q A 120  
 tcctgtgcagcgtctggattcaccttcagtaactatggcatgactgggtccgccaggct  
 P G K G L E W V A I I W Y D G S N K Y Y 180  
 ccaggcaaggggctggagtggtggcaattataggtatgatggaagtaataaatactat  
 A D S V K G R F T I S R D N S K N T L Y 240  
 gcagactccgtgaagggccgattcaccatctccagagacaattccaagaacacgctgtat  
 L Q M N S L R A E D T A V Y Y C V K G S 300  
 ctgcaaatgaacagctctgagagccgaggacacggctgtgtattactgtgtgaaaggatct

G D I P F D Y W G Q G T L V T (서열 27)  
 ggggatattccctttgactactggggccagggaaaccctggtcacc 345> (서열 28)

(ii) LC 가변 영역

03161/H2에 대한 LC 가변 아미노산 서열이 서열 29에 제시되고, 서열 30에 제시된 뉴클레오티드 서열에 의해 암호화된다

E I V L T Q S P A T L S S S P G E R A T 60  
 gaaattgtgttgacgcagctcccagccaccctgtcttctcgtctccaggggaaagagccacc  
 L S C R A S Q S V S S Y L A W Y Q Q K P 120  
 ctctcctgcagggccagtcagagtgtagcagctacttagcctggtaccaacagaaacct  
 G Q A P R L L I Y D A S N R A T G T P A 180  
 ggccaggctcccaggctcctcatctatgatgcatccaacagggccactggcaccaccagcc  
 R F S G S G S G T D F T L T I S S L E P 240  
 aggttcagtgagcagtggtctgggacagacttactctcaccatcagcagcctagagcct  
 E D F A V Y Y C H Q R S H W P P I F T F 300  
 gaagattttgcagctctattactgtcatcagcgtagccactggcctcccatattcactttc

G P G T (서열 29)  
 ggccctgggacc 312 (서열 30)

01951/G12 항체 서열

(i) HC 가변 영역

01951/G12에 대한 HC 가변 아미노산 서열이 서열 31에 제시되고, 서열 32에 제시된 뉴클레오티드 서열에 의해 암호화된다

E V Q L V E S G G G V V Q P G R S L R L  
 gaagtgcagctggtggagctctgggggagcggtggtccagcctgggaggtccctgagactc 60  
 S C A A S G F T F S S Y G M H W V R Q A  
 tcctgtgcagcgtctggattcaccttcagtagctatggcatgcaactgggtccgcccaggct 120  
 P G K G L E W V A I I W Y D G S N K Y Y  
 ccaggcaaggggctggagtggtggcaattatatggtatgatggaagtaataaatactat 180  
 A D S V K G R F T I S R D N S K N T L Y  
 gcggactccgtgaagggccgattcacatctccagagacaattccaagaacacgctgtat 240  
 L Q M N S L R A E D T A V Y Y C A R L W  
 ctgcaaatgaacagcctgagagccgagacacggctgtgtattactgtgagagctatgg 300  
 F G D L D A F D I W G Q G T M V T (서열 31)  
 ttcggggacttagatgcttttgatatctggggccaagggacaatggtcacc 351 (서열  
 32)

<244>

<245>

(ii) LC 가변 영역

<246>

01951/G12에 대한 LC 가변 아미노산 서열이 서열 33에 제시되고, 서열 34에 제시된 뉴클레오티드 서열에 의해 암호화된다

E I V L T Q S P A T L S L S P G E R A I  
 gaaattgtgttgacgcagctctccagccaccctgtctttgtctccaggggaaagagccatc 60  
 L S C R A G Q S V S S Y L V W Y Q Q K P  
 ctctcctgcagggccggtcagagtgtagcagttacttagtctggtaccaacagaaacct 120  
 G Q A P R L L I Y D A S N R A T G I P A  
 ggccaggctcccaggctcctcatctatgatgcatccaacagggccactggcatcccagcc 180  
 R F S G S G S G T D F T L T I S S L E P  
 aggttcagtgagcagtggtctgggacagacttcactctccatcagcagcctagagcct 240  
 E D F A V Y Y C Q Q R S S W P P V Y T F  
 gaagatcttgagctttattactgtcagcagcgcagcagctggcctccgggtgtacactttt 300  
 G Q G T (서열 33)  
 ggccaggggacc 312 (서열 34)

<247>

<248>

01771/E10 항체 서열

<249>

(i) HC 가변 영역

<250>

01771/E10에 대한 HC 가변 아미노산 서열이 서열 35에 제시되고, 서열 36에 제시된 뉴클레오티드 서열에 의해 암호화된다

Q V Q L V Q S G G G V V Q P G R S L R L  
 caggtgcagctggtgcagctctgggggagcggtggtccagcctgggaggtccctgagactc 60  
 S C A A S G F T F S S Y G M H W V R Q A  
 tcctgtgcggcgtctggattcaccttcagtagctatggcatgcaactgggtccgcccaggct 120  
 P G K G L E W V A I I W Y D G S N K Y Y  
 ccaggcaaggggctggagtggtggcaattatatggtatgatggaagtaataaatactat 180  
 A D S V K G R F T I S R D N S K N T L Y  
 gcggactccgtgaagggccgattcacatctccagagacaattccaagaacacgctatat 240  
 L Q M N S L R A E D T A V Y Y C A R L W  
 ctacaaatgaacagcctgagagccgagacacggctgtgtattactgtgagagctatgg 300  
 F G D L D A F D I W G Q G T M V T (서열 35)  
 ttcggggacttagatgcttttgatatctggggccaagggacaatggtcacc 351 (서열 36)

<251>

<252>

(ii) LC 가변 영역

<253>

01771/E10에 대한 LC 가변 아미노산 서열이 서열 37에 제시되고, 서열 38에 제시된 뉴클레오티드 서열에 의해 암호화된다

```

E I V L T Q S P A T L S L S P G E R A T      60
gaaattgtgttgacgcagctctccagccaccctgtctttgtctccaggggaaagagccacc

L S C R A S Q S V S S Y L A W Y Q Q K P      120
ctctcctgcagggccagtcagagtgtagcagctacttagcctggtaccaacagaaacct

G Q A P R L L I Y D A S N R A T G I P A      180
ggccaggctcccaggctcctcatctatgatgcatccaacagggccactggcatcccagcc

R F S G S G S G T D F T L T I S S L E P      240
agttcagtgggcagtggtctgggacagacttactctcaccatcagcagcctagagcct

E D F A V Y Y C H Q R S S W P P I F T F      300
gaagatthtgcggtttatctactgtcatcagcgtagcagctggccccgatattcactttc

G P G T (서열 37)
ggccctgggacc 312 (서열 38)

```

<254>

<255> 항체 01951/G12의 가변 영역 (강조됨)이 혼입된 완전한 항체 IgG1 경쇄 서열

<256> LC 아미노산 서열이 서열 39에 제시되고, 서열 40의 뉴클레오티드 서열에 의해 암호화된다

```

M S V L T Q V L A L L L L W L T G
1 ATGAGTGTGC TCACTCAGGT CCTGGCGTTG CTGCTGCTGT GGCTTACAGG

T R C E I V L T Q S P A T L S L S
51 TACGCGTTGT GAAATTGTGT TGACGCAGTC TCCAGCCACC CTGTCTTTGT

P G E R A I L S C R A G Q S V S
101 CTCCAGGGGA AAGAGCCATC CTCTCCTGCA GGGCCGGTCA GAGTGTTAGC

S Y L V W Y Q Q K P G Q A P R L L
151 AGTTACTTAG TCTGGTACCA ACAGAAACCT GGCCAGGCTC CCAGGCTCCT

I Y D A S N R A T G I P A R F S G
201 CATCTATGAT GCATCCAACA GGGCCACTGG CATCCAGCC AGGTCAGTG

S G S G T D F T L T I S S L E P
251 GCAGTGGGTC TGGACAGAC TTCACTCTCA CCATCAGCAG CCTAGAGCCT

E D F A V Y Y C Q Q R S S W P P V
301 GAAGATTTTG CAGTTTATTA CTGTCAGCAG CGCAGCAGCT GGCCTCCGGT

Y T F G Q G T K L E I K R T V A A
351 GTACACTTTT GGCCAGGGGA CCAAGCTTGA AATCAAACGA ACTGTGGCTG

P S V F I F P P S D E Q L K S G
401 CACCATCTGT CTTTCATCTT CCGCCATCTG ATGAGCAGTT GAAATCTGGA

T A S V V C L L N N F Y P R E A K
451 ACTGCCTCTG TTGTGTGCCT GCTGAATAAC TTCTATCCCA GAGAGGCCAA

V Q W K V D N A L Q S G N S Q E S
501 AGTACAGTGG AAGGTGGATA ACGCCCTCCA ATCGGGTAAC TCCCAGGAGA

V T E Q D S K D S T Y S L S S T
551 GTGTCACAGA GCAGGACAGC AAGGACAGCA CCTACAGCCT CAGCAGCACC

L T L S K A D Y E K H K V Y A C E
601 CTGACGCTGA GCAAAGCAGA CTACGAGAAA CACAAAGTCT ACGCCTGCCA

V T H Q G L S S P V T K S F N R G
651 AGTACCCCAT CAGGGCCTGA GCTCGCCCGT CACAAAGAGC TTCAACAGGG

E C * (서열 39)
701 GAGAGTGTTA G (서열 40)

```

<257>

<258> 항체 01951/G12의 가변 영역 (강조됨)이 혼입된 완전한 항체 IgG1 중쇄 서열

<259>

HC 아미노산 서열이 서열 41에 제시되고, 서열 42의 뉴클레오티드 서열에 의해 암호화된다

```

1   M A W V W T L P F L M A A A Q S V
   ATGGCTGGG TGTGGACCTT GCCATTCCTG ATGGCAGCTG CCCAAAGTGT
51  Q A E V Q L V E S G G G V V Q P G
   CCAGGCAGAA GTGCAGCTGG TGGAGTCTGG GGGAGGCGTG GTCCAGCCTG
101 R S L R L S C A A S G F T F S S
   GGAGGTCCCT GAGACTCTCC TGTGCAGCGT CTGGATTCAC CTTCAGTAGC
151 Y G M H W V R Q A P G K G L E W V
   TATGGCATGC ACTGGGTCCG CCAGGCTCCA GGCAAGGGGC TGGAGTGGGT
201 A I I W Y D G S N K Y Y A D S V K
   GGCAATTATA TGGTATGATG GAAGTAATAA ATACTATGCG GACTCCGTGA
251 G R F T I S R D N S K N T L Y L
   AGGGCCGATT CACCATCTCC AGAGACAATT CCAAGAACAC GCTGTATCTG
301 Q M N S L R A E D T A V Y Y C A R
   CAAATGAACA GCCTGAGAGC CGAGGACACG GCTGTGTATT ACTGTGCGAG
351 L W F G D L D A F D I W G Q G T M
   GCTATGGTTC GGGGACTTAG ATGCTTTTGA TATCTGGGGC CAAGGGACAA
401 V T V S S A S T K G P S V F P L
   TGGTCACCGT CTCCTCAGCC TCCACCAAGG GCCCATCGGT CTTCGCCCTG
451 A P S S K S T S G G T A A L G C L
   GCACCCTCCT CCAAGAGCAC CTCTGGGGGC ACAGCGGCCC TGGGCTGCCT
501 V K D Y F P E P V T V S W N S G A
   GGTCAAGGAC TACTTCCCGG AACCGGTGAC GGTGTCGTGG AACTCAGGCG
551 L T S G V H T F P A V L Q S S G
   CCCTGACCAG CGGCGTGAC ACCTTCCCGG CTGTCTACA GTCCTCAGGA
601 L Y S L S S V V T V P S S S L G T
   CTCTACTCCC TCAGCAGCGT CGTGACCGTG CCCTCCAGCA GCTTGGGCAC
651 Q T Y I C N V N H K P S N T K V D
   CCAGACCTAC ATCTGCAACG TGAATCACA GCCCAGCAAC ACCAAGGTGG
701 K R V E P K S C D K T H T C P P
   ACAAGAGAGT TGAGCCCAA TCTTGTGACA AAACCTCACAC ATGCCACCG
751 C P A P E L L G G P S V F L F P P
   TGCCAGCAC CTGAACCTCT GGGGGGACCG TCAGTCTTCC TCTTCCCCC
801 K P K D T L M I S R T P E V T C V
   AAAACCCAAG GACACCCTCA TGATCTCCCG GACCCCTGAG GTCACATGCG
851 V V D V S H E D P E V K F N W Y
   TGGTGGTGA CGTGAGCCAC GAAGACCCTG AGGTCAAGTT CAACTGGTAC
901 V D G V E V H N A K T K P R E E Q
   GTGGACGGCG TGGAGGTGCA TAATGCCAAG ACAAGGCCG GGGAGGAGCA
951 Y N S T Y R V V S V L T V L H Q D
   GTACAACAGC ACGTACCGTG TGGTCAGCGT CCTCACCGTC CTGCACCAGG
1001 W L N G K E Y K C K V S N K A L
   ACTGGCTGAA TGGCAAGGAG TACAAGTGA AGGTCTCAA CAAAGCCCTC
1051 P A P I E K T I S K A K G Q P R E
   CCAGCCCCCA TCGAGAAAAC CATCTCCAAA GCCAAAGGGC AGCCCCGAGA
1101 P Q V Y T L P P S R E E M T K N Q
   ACCACAGGTG TACACCCTGC CCCATCCCG GGAGGAGATG ACCAAGAACC
1151 V S L T C L V K G F Y P S D I A
   AGGTCAGCCT GACCTGCCTG GTCAAAGGCT TCTATCCCAG CGACATCGCC
1201 V E W E S N G Q P E N N Y K T T P
   GTGGAGTGGG AGAGCAATGG GCAGCCGGAG AACAAC TACA AGACCAGGCC
1251 P V L D S D G S F F L Y S K L T V
   TCCCGTGTG GACTCCGACG GCTCCTTCTT CCTCTATAGC AAGCTCACCG
1301 D K S R W Q Q G N V F S C S V M
   TGGACAAGAG CAGGTGGCAG CAGGGGAACG TCTTCTCATG CTCCGTGATG
1351 H E A L H N H Y T Q K S L S L S P
   CATGAGGCTC TGCACAACCA CTACACGACG AAGAGCCTCT CCCTGTCCCC
1401 G K * (서열 41)
   GGGTAAATGA (서열 42)

```

<261>

서열목록

SEQUENCE LISTING

<110> Novartis AG  
Campbell, Emma  
Parveen, Sofia  
Buechler, Joe  
Valkirs, Gunars

<120> Anti-IL13 antibodies, QAX576

<130> 34582

<140> PCT/EP/2006/010098

<141> 2006-10-19

<150> GB 0521509.0

<151> 2005-10-21

<160> 42

<170> PatentIn version 3.3

<210> 1

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Gly  
1 5

<210> 2

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 2

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Gly  
1 5

<210> 3  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 3

Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn  
1                   5

<210> 4  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 4

Val Lys Gly Ser Gly Asp Ile Pro  
1                   5

<210> 5  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 5

Ala Arg Leu Trp Phe Gly Asp Leu Asp  
1                   5

<210> 6  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 6

Asn Tyr Gly Met His  
1                   5

<210> 7  
<211> 5

<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 7

Ser Tyr Gly Met His  
1 5

<210> 8  
<211> 17  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 8

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

Gly

<210> 9  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 9

Gly Ser Gly Asp Ile Pro Phe Asp Tyr  
1 5

<210> 10  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 10

Leu Trp Phe Gly Asp Leu Asp Ala Phe Asp Ile  
1 5 10



<210> 11  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 11

Gln Ser Val Ser Ser Tyr  
1 5

<210> 12  
<211> 2  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 12

Asp Ala  
1

<210> 13  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 13

His Gln Arg Ser His Trp Pro Pro Ile  
1 5

<210> 14  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 14

Gln Gln Arg Ser Ser Trp Pro Pro Val  
1 5

<210> 15  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 15

His Gln Arg Ser Ser Trp Pro Pro Ile  
1                   5

<210> 16  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 16

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr Leu Ala  
1                   5                   10

<210> 17  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 17

Arg Ala Gly Gln Ser Val Ser Ser Tyr Leu Val  
1                   5                   10

<210> 18

<400> 18  
000

<210> 19  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 19

Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr  
1 5

<210> 20  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 20

His Gln Arg Ser His Trp Pro Pro Ile Phe Thr  
1 5 10

<210> 21  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 21

Gln Gln Arg Ser Ser Trp Pro Pro Val Tyr Thr  
1 5 10

<210> 22  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 22

His Gln Arg Ser Ser Trp Pro Pro Ile Phe Thr  
1 5 10

<210> 23  
<211> 115  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 23

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

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

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

Ala Ile Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
 50 55 60

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

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

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

Leu Val Thr  
 115

<210> 24  
 <211> 345  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (1)..(345)

<400> 24  
 gaa gtg cag ctg gtg gag tct ggg gga ggc gtg gtc cag cct ggg agg 48  
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg  
 1 5 10 15

tcc ctg aga ctc tcc tgt gca gcg tct gga ttc acc ttc agt aac tat 96

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

ggc atg cac tgg gtc cgc cag gct cca ggc aag ggg ctg gag tgg gtg 144  
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45

gca att ata tgg tat gat gga agt aat aaa tac tat gca gac tcc gtg 192  
 Ala Ile Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
 50 55 60

aag ggc cga ttc acc atc tcc aga gac aat tcc aag aac acg ctg tat 240  
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
 65 70 75 80

ctg caa atg aac agt ctg aga gcc gag gac acg gct gtg tat tac tgt 288  
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95

gtg aaa gga tct ggg gat att ccc ttt gac tac tgg ggc cag gga acc 336  
 Val Lys Gly Ser Gly Asp Ile Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr  
 100 105 110

ctg gtc acc 345  
 Leu Val Thr  
 115

<210> 25  
 <211> 104  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 25

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Ser 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 His Gln Arg Ser His Trp Pro Pro  
 85 90 95

Ile Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr  
 100

<210> 26  
 <211> 312  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (1)..(312)

<400> 26  
 gaa att gtg ttg acg cag tct cca gcc acc ctg tct tcg tct cca ggg 48  
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Ser Ser Pro Gly  
 1 5 10 15

gaa aga gcc acc ctc tcc tgc agg gcc agt cag agt gtt agc agc tac 96  
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr  
 20 25 30

tta gcc tgg tac caa cag aaa cct ggc cag gct ccc agg ctc ctc atc 144  
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile  
 35 40 45

tat gat gca tcc aac agg gcc act ggc atc cca gcc agg ttc agt ggc 192  
 Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60

agt ggg tct ggg aca gac ttc act ctc acc atc agc agc cta gag cct 240

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

gaa gat ttt gca gtc tat tac tgt cat cag cgt agc cac tgg cct ccc 288  
Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys His Gln Arg Ser His Trp Pro Pro  
85 90 95

ata ttc act ttc ggc cct ggg acc 312  
Ile Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr  
100

<210> 27  
<211> 115  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 27

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

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

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

Ala Ile Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
50 55 60

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

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

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

Leu Val Thr  
115

<210> 28  
<211> 345  
<212> DNA  
<213> Homo sapiens

<220>  
<221> CDS  
<222> (1)..(345)

<400> 28  
gaa gtg cag ctg gtg gag tct ggg gga ggc gtg gtc cag cct ggg agg 48  
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg  
1 5 10 15

tcc ctg aga ctc tcc tgt gca gcg tct gga ttc acc ttc agt aac tat 96  
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr  
20 25 30

ggc atg cac tgg gtc cgc cag gct cca ggc aag ggg ctg gag tgg gtg 144  
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
35 40 45

gca att ata tgg tat gat gga agt aat aaa tac tat gca gac tcc gtg 192  
Ala Ile Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
50 55 60

aag ggc cga ttc acc atc tcc aga gac aat tcc aag aac acg ctg tat 240  
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
65 70 75 80

ctg caa atg aac agt ctg aga gcc gag gac acg gct gtg tat tac tgt 288  
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
85 90 95

gtg aaa gga tct ggg gat att ccc ttt gac tac tgg ggc cag gga acc 336  
Val Lys Gly Ser Gly Asp Ile Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr  
100 105 110

ctg gtc acc 345  
Leu Val Thr



115

<210> 29  
 <211> 104  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 29

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Ser 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 Thr 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 His Gln Arg Ser His Trp Pro Pro  
                   85                   90                   95

Ile Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr  
           100

<210> 30  
 <211> 312  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <221> CDS

<222> (1)..(312)

<400> 30

gaa att gtg ttg acg cag tcc cca gcc acc ctg tct tcg tct cca ggg 48  
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Ser Ser Pro Gly  
 1 5 10 15

gaa aga gcc acc ctc tcc tgc agg gcc agt cag agt gtt agc agc tac 96  
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr  
 20 25 30

tta gcc tgg tac caa cag aaa cct ggc cag gct ccc agg ctc ctc atc 144  
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile  
 35 40 45

tat gat gca tcc aac agg gcc act ggc acc cca gcc agg ttc agt ggc 192  
 Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60

agt ggg tct ggg aca gac ttc act ctc acc atc agc agc cta gag cct 240  
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro  
 65 70 75 80

gaa gat ttt gca gtc tat tac tgt cat cag cgt agc cac tgg cct ccc 288  
 Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys His Gln Arg Ser His Trp Pro Pro  
 85 90 95

ata ttc act ttc ggc cct ggg acc 312  
 Ile Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr  
 100

<210> 31

<211> 117

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 31

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

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

20 25 30

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

Ala Ile Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
 50 55 60

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

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

Ala Arg Leu Trp Phe Gly Asp Leu Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln  
 100 105 110

Gly Thr Met Val Thr  
 115

<210> 32  
 <211> 351  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (1)..(351)

<400> 32  
 gaa gtg cag ctg gtg gag tct ggg gga ggc gtg gtc cag cct ggg agg 48  
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg  
 1 5 10 15

tcc ctg aga ctc tcc tgt gca gcg tct gga ttc acc ttc agt agc tat 96  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
 20 25 30

ggc atg cac tgg gtc cgc cag gct cca ggc aag ggg ctg gag tgg gtg 144

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

gca att ata tgg tat gat gga agt aat aaa tac tat gcg gac tcc gtg 192  
 Ala Ile Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
 50 55 60

aag ggc cga ttc acc atc tcc aga gac aat tcc aag aac acg ctg tat 240  
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
 65 70 75 80

ctg caa atg aac agc ctg aga gcc gag gac acg gct gtg tat tac tgt 288  
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95

gcg agg cta tgg ttc ggg gac tta gat gct ttt gat atc tgg ggc caa 336  
 Ala Arg Leu Trp Phe Gly Asp Leu Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln  
 100 105 110

ggg aca atg gtc acc 351  
 Gly Thr Met Val Thr  
 115

<210> 33  
 <211> 104  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 33

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

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

Leu Val 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 Ser Trp Pro Pro  
85 90 95

Val Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr  
100

<210> 34  
<211> 312  
<212> DNA  
<213> Homo sapiens

<220>  
<221> CDS  
<222> (1)..(312)

<400> 34  
gaa att gtg ttg acg cag tct cca gcc acc ctg tct ttg tct cca ggg 48  
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
1 5 10 15

gaa aga gcc atc ctc tcc tgc agg gcc ggt cag agt gtt agc agt tac 96  
Glu Arg Ala Ile Leu Ser Cys Arg Ala Gly Gln Ser Val Ser Ser Tyr  
20 25 30

tta gtc tgg tac caa cag aaa cct ggc cag gct ccc agg ctc ctc atc 144  
Leu Val Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile  
35 40 45

tat gat gca tcc aac agg gcc act ggc atc cca gcc agg ttc agt ggc 192  
Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly  
50 55 60

agt ggg tct ggg aca gac ttc act ctc acc atc agc agc cta gag cct 240  
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro  
65 70 75 80

gaa gat ttt gca gtt tat tac tgt cag cag cgc agc agc tgg cct ccg 288

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

gtg tac act ttt ggc cag ggg acc 312  
 Val Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr  
 100

<210> 35  
 <211> 117  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 35

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

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

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

Ala Ile Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
 50 55 60

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

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

Ala Arg Leu Trp Phe Gly Asp Leu Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln  
 100 105 110

Gly Thr Met Val Thr  
 115

<210> 36  
 <211> 351  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (1)..(351)

<400> 36  
 cag gtg cag ctg gtg cag tct ggg gga ggc gtg gtc cag cct ggg agg 48  
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg  
 1 5 10 15

tcc ctg aga ctc tcc tgt gcg gcg tct gga ttc acc ttc agt agc tat 96  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
 20 25 30

ggc atg cac tgg gtc cgc cag gct cca ggc aag ggg ctg gag tgg gtg 144  
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45

gca att ata tgg tat gat gga agt aat aaa tac tat gcg gac tcc gtg 192  
 Ala Ile Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
 50 55 60

aag ggc cga ttc acc atc tcc aga gac aat tcc aag aac acg cta tat 240  
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
 65 70 75 80

cta caa atg aac agc ctg aga gcc gag gac acg gct gtg tat tac tgt 288  
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95

gcg agg cta tgg ttc ggg gac tta gat gct ttt gat atc tgg ggc caa 336  
 Ala Arg Leu Trp Phe Gly Asp Leu Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln  
 100 105 110

ggg aca atg gtc acc 351  
 Gly Thr Met Val Thr  
 115

<210> 37  
 <211> 104  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 37

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 His Gln Arg Ser Ser Trp Pro Pro  
                   85                   90                   95

Ile Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr  
           100

<210> 38  
 <211> 312  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (1)..(312)



<400> 38  
 gaa att gtg ttg acg cag tct cca gcc acc ctg tct ttg tct cca ggg 48  
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
 1 5 10 15

gaa aga gcc acc ctc tcc tgc agg gcc agt cag agt gtt agc agc tac 96  
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr  
 20 25 30

tta gcc tgg tac caa cag aaa cct ggc cag gct ccc agg ctc ctc atc 144  
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile  
 35 40 45

tat gat gca tcc aac agg gcc act ggc atc cca gcc agg ttc agt ggc 192  
 Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60

agt ggg tct ggg aca gac ttc act ctc acc atc agc agc cta gag cct 240  
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro  
 65 70 75 80

gaa gat ttt gcg gtt tat tac tgt cat cag cgt agc agc tgg ccc ccg 288  
 Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys His Gln Arg Ser Ser Trp Pro Pro  
 85 90 95

ata ttc act ttc ggc cct ggg acc 312  
 Ile Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr  
 100

<210> 39  
 <211> 236  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 39

Met Ser Val Leu Thr Gln Val Leu Ala Leu Leu Leu Leu Trp Leu Thr  
 1 5 10 15

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

20 25 30

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

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

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

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

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

Ser Trp Pro Pro Val Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile  
115 120 125

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

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

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

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

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

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

210 215 220

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

<210> 40  
 <211> 711  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (1)..(711)

<400> 40  
 atg agt gtg ctc act cag gtc ctg gcg ttg ctg ctg ctg tgg ctt aca 48  
 Met Ser Val Leu Thr Gln Val Leu Ala Leu Leu Leu Leu Trp Leu Thr  
 1 5 10 15

ggt acg cgt tgt gaa att gtg ttg acg cag tct cca gcc acc ctg tct 96  
 Gly Thr Arg Cys Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser  
 20 25 30

ttg tct cca ggg gaa aga gcc atc ctc tcc tgc agg gcc ggt cag agt 144  
 Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Ile Leu Ser Cys Arg Ala Gly Gln Ser  
 35 40 45

gtt agc agt tac tta gtc tgg tac caa cag aaa cct ggc cag gct ccc 192  
 Val Ser Ser Tyr Leu Val Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro  
 50 55 60

agg ctc ctc atc tat gat gca tcc aac agg gcc act ggc atc cca gcc 240  
 Arg Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala  
 65 70 75 80

agg ttc agt ggc agt ggg tct ggg aca gac ttc act ctc acc atc agc 288  
 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser  
 85 90 95

agc cta gag cct gaa gat ttt gca gtt tat tac tgt cag cag cgc agc 336  
 Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser  
 100 105 110

agc tgg cct ccg gtg tac act ttt ggc cag ggg acc aag ctt gaa atc 384  
 Ser Trp Pro Pro Val Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile  
 115 120 125

aaa cga act gtg gct gca cca tct gtc ttc atc ttc ccg cca tct gat 432  
 Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp  
 130 135 140

gag cag ttg aaa tct gga act gcc tct gtt gtg tgc ctg ctg aat aac 480  
 Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn  
 145 150 155 160

ttc tat ccc aga gag gcc aaa gta cag tgg aag gtg gat aac gcc ctc 528  
 Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu  
 165 170 175

caa tcg ggt aac tcc cag gag agt gtc aca gag cag gac agc aag gac 576  
 Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp  
 180 185 190

agc acc tac agc ctc agc agc acc ctg acg ctg agc aaa gca gac tac 624  
 Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr  
 195 200 205

gag aaa cac aaa gtc tac gcc tgc gaa gtc acc cat cag ggc ctg agc 672  
 Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser  
 210 215 220

tcg ccc gtc aca aag agc ttc aac agg gga gag tgt tag 711  
 Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 225 230 235

<210> 41  
 <211> 469  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 41

Met Ala Trp Val Trp Thr Leu Pro Phe Leu Met Ala Ala Ala Gln Ser  
 1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Leu Ser Pro Gly Lys  
 465

<210> 42  
 <211> 1410  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (1)..(1410)

<400> 42  
 atg gct tgg gtg tgg acc ttg cca ttc ctg atg gca gct gcc caa agt 48  
 Met Ala Trp Val Trp Thr Leu Pro Phe Leu Met Ala Ala Ala Gln Ser  
 1 5 10 15

gtc cag gca gaa gtg cag ctg gtg gag tct ggg gga ggc gtg gtc cag 96  
 Val Gln Ala Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln  
 20 25 30

cct ggg agg tcc ctg aga ctc tcc tgt gca gcg tct gga ttc acc ttc 144  
 Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe  
 35 40 45

agt agc tat ggc atg cac tgg gtc cgc cag gct cca ggc aag ggg ctg 192  
 Ser Ser Tyr Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu

50	55	60	
gag tgg gtg gca att ata tgg tat gat gga agt aat aaa tac tat gcg 240			
Glu Trp Val Ala Ile Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala			
65	70	75	80
gac tcc gtg aag ggc cga ttc acc atc tcc aga gac aat tcc aag aac 288			
Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn			
	85	90	95
acg ctg tat ctg caa atg aac agc ctg aga gcc gag gac acg gct gtg 336			
Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val			
	100	105	110
tat tac tgt gcg agg cta tgg ttc ggg gac tta gat gct ttt gat atc 384			
Tyr Tyr Cys Ala Arg Leu Trp Phe Gly Asp Leu Asp Ala Phe Asp Ile			
	115	120	125
tgg ggc caa ggg aca atg gtc acc gtc tcc tca gcc tcc acc aag ggc 432			
Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly			
130	135	140	
cca tcg gtc ttc ccc ctg gca ccc tcc tcc aag agc acc tct ggg ggc 480			
Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly			
145	150	155	160
aca gcg gcc ctg ggc tgc ctg gtc aag gac tac ttc ccc gaa ccg gtg 528			
Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val			
	165	170	175
acg gtg tcg tgg aac tca ggc gcc ctg acc agc ggc gtg cac acc ttc 576			
Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe			
	180	185	190
ccg gct gtc cta cag tcc tca gga ctc tac tcc ctc agc agc gtc gtg 624			
Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val			
	195	200	205
acc gtg ccc tcc agc agc ttg ggc acc cag acc tac atc tgc aac gtg 672			
Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val			
210	215	220	
aat cac aag ccc agc aac acc aag gtg gac aag aga gtt gag ccc aaa 720			
Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys			



225	230	235	240	
tct tgt gac aaa act cac aca tgc cca ccg tgc cca gca cct gaa ctc				768
Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu				
	245	250	255	
ctg ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag gac acc				816
Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr				
	260	265	270	
ctc atg atc tcc cgg acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gtg gac gtg				864
Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val				
	275	280	285	
agc cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac ggc gtg				912
Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val				
	290	295	300	
gag gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgg gag gag cag tac aac agc				960
Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser				
305	310	315	320	
acg tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac tgg ctg				1008
Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu				
	325	330	335	
aat ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa gcc ctc cca gcc				1056
Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala				
	340	345	350	
ccc atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga gaa cca				1104
Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro				
	355	360	365	
cag gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgg gag gag atg acc aag aac cag				1152
Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln				
	370	375	380	
gtc agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac atc gcc				1200
Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala				
385	390	395	400	
gtg gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag acc acg				1248
Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr				

405

410

415

cct ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tat agc aag ctc 1296  
 Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu  
           420                          425                          430

acc gtg gac aag agc agg tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc tcc 1344  
 Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser  
           435                          440                          445

gtg atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc ctc tcc 1392  
 Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser  
           450                          455                          460

ctg tcc ccg ggt aaa tga 1410  
 Leu Ser Pro Gly Lys  
 465