



**(19) 대한민국특허청(KR)**  
**(12) 등록특허공보(B1)**

(45) 공고일자 2022년05월27일  
(11) 등록번호 10-2402973  
(24) 등록일자 2022년05월24일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
C07K 16/24 (2006.01) A61K 47/48 (2006.01)  
G01N 33/564 (2006.01) G01N 33/68 (2006.01)

(52) CPC특허분류  
C07K 16/249 (2013.01)  
A61K 47/6845 (2017.08)

(21) 출원번호 10-2016-7002873

(22) 출원일자(국제) 2014년07월03일  
심사청구일자 2019년07월03일

(85) 번역문제출일자 2016년02월01일

(65) 공개번호 10-2016-0027171

(43) 공개일자 2016년03월09일

(86) 국제출원번호 PCT/EP2014/064167

(87) 국제공개번호 WO 2015/001013  
국제공개일자 2015년01월08일

(30) 우선권주장  
13174995.4 2013년07월03일  
유럽특허청(EPO)(EP)

(56) 선행기술조사문헌  
KR1020030081461 A\*  
KR1020070011243 A\*  
\*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자  
이뮤노큐어 아게  
독일 뒤셀도르프 40212 쾨니히스알레 90

(72) 발명자  
하크 사이다 에프. 와이.  
영국 런던 엔4 1제이엔 러틀랜드 가든스 11  
헤이데이 아드리안  
영국 오펅턴 켄트 비알69디알 고딩턴 레인 13  
(뒷면에 계속)

(74) 대리인  
특허법인태평양

전체 청구항 수 : 총 19 항

심사관 : 정지혜

(54) 발명의 명칭 **인간 항-IFN-알파 항체**

**(57) 요약**

인간 기원의 신규한 IFN- $\alpha$  결합 분자, 특히 인간-유도된 항-IFN- $\alpha$  항체뿐만 아니라 IFN- $\alpha$  결합 단편, 유도체 및 이들의 변이체가 제공된다. 또한, 진단 및 치료법에서 사용하기 위한 약학적 조성물, 키트 및 방법이 기재되어 있다.

(52) CPC특허분류

**G01N 33/564** (2013.01)  
**G01N 33/6866** (2013.01)  
*C07K 2317/21* (2013.01)  
*C07K 2317/33* (2013.01)  
*C07K 2317/55* (2013.01)  
*C07K 2317/76* (2013.01)  
*C07K 2317/92* (2013.01)  
*G01N 2333/56* (2013.01)

(72) 발명자

**키산드 카이**

에스토니아 이이-50412 타르투 투트비 스트리트 9

**크론 카이**

핀란드 에프아이-36450 살멘타카 살멘타안티에 751

**마카그노 아날리자**

스위스 체하-8952 솔리렌 스타인비센슈트라쎄 22

**마이여 스테판**

독일 뮌헨 81476 필히너슈트라쎄 13

**피터슨 파트**

에스토니아 이이-10912 탈린 스빌라 27에이-엘

**로테 마이크**

독일 크레일링 82152 엘리센슈트라쎄 4

**블라이쿠 필립**

독일 알링 82239 키르히슈트라쎄 14

**우드워드 마틴**

영국 런던 이15 3큐엘 스트랫퍼드 포트웨이108

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

인간 항-인터페론-알파(IFN- $\alpha$ ) 항체 또는 그의 IFN- $\alpha$  결합 단편으로서,

상기 항-IFN- $\alpha$  항체 또는 그의 IFN- $\alpha$  결합 단편은 인간 IFN- $\alpha$  서브타입 IFNA2, IFNA4, IFNA5, IFNA6, IFNA10 및 IFNA14에 결합하고, 및

상기 항-IFN- $\alpha$  항체 또는 그의 IFN- $\alpha$  결합 단편은 그 가변 영역에 하기 a) 내지 i)로부터 선택되는 상보성 결정 영역(CDR) VH-CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3, 및 VL-CDR1, VL-CDR2 및 VL-CDR3을 포함하는 항-IFN- $\alpha$  항체 또는 그의 IFN- $\alpha$  결합 단편:

a) VH-CDR1: 서열번호 2의 위치 31-35

VH-CDR2: 서열번호 2의 위치 50-66

VH-CDR3: 서열번호 2의 위치 99-111

VL-CDR1: 서열번호 4의 위치 24-34

VL-CDR2: 서열번호 4의 위치 50-56

VL-CDR3: 서열번호 4의 위치 89-97;

b) VH-CDR1: 서열번호 10의 위치 31-35

VH-CDR2: 서열번호 10의 위치 50-66

VH-CDR3: 서열번호 10의 위치 99-112

VL-CDR1: 서열번호 12의 위치 24-34

VL-CDR2: 서열번호 12의 위치 50-56

VL-CDR3: 서열번호 12의 위치 89-95;

c) VH-CDR1: 서열번호 18의 위치 31-35

VH-CDR2: 서열번호 18의 위치 50-66

VH-CDR3: 서열번호 18의 위치 99-115

VL-CDR1: 서열번호 20의 위치 24-35

VL-CDR2: 서열번호 20의 위치 51-57

VL-CDR3: 서열번호 20의 위치 90-100;

d) VH-CDR1: 서열번호 22의 위치 31-35

VH-CDR2: 서열번호 22의 위치 50-66

VH-CDR3: 서열번호 22의 위치 99-111

VL-CDR1: 서열번호 24의 위치 24-34

VL-CDR2: 서열번호 24의 위치 50-56

VL-CDR3: 서열번호 24의 위치 89-97;

e) VH-CDR1: 서열번호 30의 위치 31-37

VH-CDR2: 서열번호 30의 위치 52-67

VH-CDR3: 서열번호 30의 위치 100-113

- VL-CDR1: 서열번호 32의 위치 24-40
- VL-CDR2: 서열번호 32의 위치 56-62
- VL-CDR3: 서열번호 32의 위치 95-103;
- f) VH-CDR1: 서열번호 38의 위치 31-37
- VH-CDR2: 서열번호 38의 위치 52-67
- VH-CDR3: 서열번호 38의 위치 100-113
- VL-CDR1: 서열번호 40의 위치 24-40
- VL-CDR2: 서열번호 40의 위치 56-62
- VL-CDR3: 서열번호 40의 위치 95-103;
- g) VH-CDR1: 서열번호 76의 위치 31-35
- VH-CDR2: 서열번호 76의 위치 50-66
- VH-CDR3: 서열번호 76의 위치 99-113
- VL-CDR1: 서열번호 78의 위치 24-34
- VL-CDR2: 서열번호 78의 위치 50-56
- VL-CDR3: 서열번호 78의 위치 89-97;
- h) VH-CDR1: 서열번호 84의 위치 31-35
- VH-CDR2: 서열번호 84의 위치 50-66
- VH-CDR3: 서열번호 84의 위치 99-112
- VL-CDR1: 서열번호 86의 위치 24-34
- VL-CDR2: 서열번호 86의 위치 50-56
- VL-CDR3: 서열번호 86의 위치 89-98; 및
- i) VH-CDR1: 서열번호 92의 위치 31-35
- VH-CDR2: 서열번호 92의 위치 50-66
- VH-CDR3: 서열번호 92의 위치 99-103
- VL-CDR1: 서열번호 94의 위치 24-34
- VL-CDR2: 서열번호 94의 위치 50-56
- VL-CDR3: 서열번호 94의 위치 89-99.

**청구항 2**

청구항 1에 있어서,

그 가변 영역에 a) 내지 i)로 구성된 군으로부터 선택되는  $V_H$  및  $V_L$  영역의 아미노산 서열을 포함하는 항-IFN- $\alpha$  항체 또는 그의 IFN- $\alpha$  결합 단편:

- a) 서열번호 2의  $V_H$  및 서열번호 4의  $V_L$ ,
- b) 서열번호 10의  $V_H$  및 서열번호 12의  $V_L$ ,
- c) 서열번호 18의  $V_H$  및 서열번호 20의  $V_L$ ,
- d) 서열번호 22의  $V_H$  및 서열번호 24의  $V_L$ ,

- e) 서열번호 30의  $V_H$  및 서열번호 32의  $V_L$ ,
- f) 서열번호 38의  $V_H$  및 서열번호 40의  $V_L$ ,
- g) 서열번호 76의  $V_H$  및 서열번호 78의  $V_L$ ,
- h) 서열번호 84의  $V_H$  및 서열번호 86의  $V_L$ , 및
- i) 서열번호 92의  $V_H$  및 서열번호 94의  $V_L$ .

**청구항 3**

청구항 1에 있어서,  
IgG1인 항-IFN- $\alpha$  항체 또는 그의 IFN- $\alpha$  결합 단편.

**청구항 4**

청구항 1에 있어서,  
서열번호: 6, 8, 14, 16, 26, 28, 34, 36, 42, 44, 72, 74, 80, 82, 88, 90, 96 및 98의  $C_H$  및  $C_L$  아미노산 서열로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는  $C_H$  또는  $C_L$  불변 영역을 포함하는 항-IFN- $\alpha$  항체 또는 그의 IFN- $\alpha$  결합 단편.

**청구항 5**

청구항 1에 있어서,  
단일쇄 Fv 단편(scFv), F(ab') 단편, F(ab) 단편, F(ab')<sub>2</sub> 단편 및 단일 도메인 항체 단편(sdAB)으로 구성된 군으로부터 선택되는 항-IFN- $\alpha$  항체 또는 그의 IFN- $\alpha$  결합 단편.

**청구항 6**

청구항 1 내지 청구항 5 중 어느 한 항의 항-IFN- $\alpha$  항체 또는 그의 IFN- $\alpha$  결합 단편을 인코딩하는 폴리뉴클레오타이드.

**청구항 7**

청구항 6의 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 벡터.

**청구항 8**

청구항 7의 벡터를 포함하는 단리된 숙주 세포.

**청구항 9**

청구항 1에 있어서,  
검출 가능하게 표지되거나 약물에 부착되며, 상기 검출 가능한 표지는 효소, 방사성동위원소, 형광단, 펩타이드 및 중금속으로 구성된 군으로부터 선택되는 항-IFN- $\alpha$  항체 또는 그의 IFN- $\alpha$  결합 단편.

**청구항 10**

청구항 1의 항-IFN- $\alpha$  항체 또는 그의 IFN- $\alpha$  결합 단편 및 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 자가면역 질환의 진행을 치료 또는 예방하기 위한 약학적 조성물로서,  
상기 자가면역 질환은 전신 홍반성 루푸스(SLE), 피부 홍반성 루푸스(CLE), 원반모양 홍반성 루푸스(DLE), 1형 당뇨병(T1DM), 쇼그렌 증후군, 그레이브스 질환, 피부근염, 다발성 경화증(MS), 건선, 자가면역 갑상샘염, 류마티스성 관절염(RA), 척추관절염, 피부경화증, 사구체신염 및 APS1로 구성된 군으로부터 선택되는 약학적 조성물.

**청구항 11**

청구항 10에 있어서,

상기 약학적 조성물은 자가면역 질환의 치료에 유용한 추가적인 제제를 추가로 포함하는 약학적 조성물.

**청구항 12**

청구항 1의 항-IFN- $\alpha$  항체 또는 그의 IFN- $\alpha$  결합 단편 및 면역- 또는 핵산 기반 진단 방법에서 통상적으로 사용되는 시약을 포함하는 자가면역 질환의 존재에 대해 대상체를 진단 또는 스크리닝하거나 그 발생에 대한 대상체의 위험을 결정하기 위한 진단 조성물로서,

상기 자가면역 질환은 전신 홍반성 루푸스(SLE), 피부 홍반성 루푸스(CLE), 원반모양 홍반성 루푸스(DLE), 1형 당뇨병(T1DM), 쇼그렌 증후군, 그레이브스 질환, 피부근염, 다발성 경화증(MS), 건선, 자가면역 갑상샘염, 류마티스성 관절염(RA), 척추관절염, 피부경화증, 사구체신염 및 APS1로 구성된 군으로부터 선택되는 진단 조성물.

**청구항 13**

삭제

**청구항 14**

청구항 1의 항-IFN- $\alpha$  항체 또는 그의 IFN- $\alpha$  결합 단편을 포함하는 자가면역 질환을 치료 또는 예방 또는 진단 또는 스크리닝하기 위한 키트로서,

상기 자가면역 질환은 전신 홍반성 루푸스(SLE), 피부 홍반성 루푸스(CLE), 원반모양 홍반성 루푸스(DLE), 1형 당뇨병(T1DM), 쇼그렌 증후군, 그레이브스 질환, 피부근염, 다발성 경화증(MS), 건선, 자가면역 갑상샘염, 류마티스성 관절염(RA), 척추관절염, 피부경화증, 사구체신염 및 APS1로 구성된 군으로부터 선택되는 키트.

**청구항 15**

청구항 6의 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 자가면역 질환을 치료 또는 예방 또는 진단 또는 스크리닝하기 위한 키트로서,

상기 자가면역 질환은 전신 홍반성 루푸스(SLE), 피부 홍반성 루푸스(CLE), 원반모양 홍반성 루푸스(DLE), 1형 당뇨병(T1DM), 쇼그렌 증후군, 그레이브스 질환, 피부근염, 다발성 경화증(MS), 건선, 자가면역 갑상샘염, 류마티스성 관절염(RA), 척추관절염, 피부경화증, 사구체신염 및 APS1로 구성된 군으로부터 선택되는 키트.

**청구항 16**

청구항 1에 있어서,

환자에서 IFN- $\alpha$ 의 발현과 연관되는 하기 방법에서 사용하기 위한 항-IFN- $\alpha$  항체 또는 그의 IFN- $\alpha$  결합 단편으로서,

- (a) 자가면역 질환의 진행의 치료 또는 예방 방법;
- (b) 자가면역 질환에 연관된 증상의 개선 방법; 또는
- (c) 자가면역 질환의 존재에 대한 대상체의 진단 또는 스크리닝 방법 또는 그 발생에 대한 대상체의 위험 결정 방법;

상기 자가면역 질환은 전신 홍반성 루푸스(SLE), 피부 홍반성 루푸스(CLE), 원반모양 홍반성 루푸스(DLE), 1형 당뇨병(T1DM), 쇼그렌 증후군, 그레이브스 질환, 피부근염, 다발성 경화증(MS), 건선, 자가면역 갑상샘염, 류마티스성 관절염(RA), 척추관절염, 피부경화증, 사구체신염 및 APS1로 구성된 군으로부터 선택되는 항-IFN- $\alpha$  항체 또는 그의 IFN- $\alpha$  결합 단편.

**청구항 17**

청구항 16에 있어서,

상기 자가면역 질환은 전신 홍반성 루푸스(SLE), 피부 홍반성 루푸스(CLE), 원반모양 홍반성 루푸스(DLE), 1형

당뇨병(T1DM), 쇼그렌 증후군, 그레이브스 질환, 피부근염, 다발성 경화증(MS), 건선, 자가면역 갑상샘염, 류마티스성 관절염(RA), 척추관절염, 피부경화증, 사구체신염 및 APS1로 구성된 군으로부터 선택되는 항-IFN- $\alpha$  항체 또는 그의 IFN- $\alpha$  결합 단편.

**청구항 18**

청구항 1 내지 청구항 5 또는 청구항 9 중 어느 한 항의 항-IFN- $\alpha$  항체 또는 그의 IFN- $\alpha$  결합 단편과 표본을 혼합하여 항체가 혼합물에 존재하는 IFN- $\alpha$  서브타입과 복합체를 형성할 수 있도록 하는 단계, 및 혼합물에 존재하는 복합체를 검출하는 단계;를 포함하는 단리된 생물학적 표본 중 IFN- $\alpha$ 를 검출하거나 결정하는 방법.

**청구항 19**

그 제조가 청구항 1 내지 청구항 5 또는 청구항 9 중 어느 한 항의 항-IFN- $\alpha$  항체 또는 그의 IFN- $\alpha$  결합 단편을 인코딩하는 DNA를 형질전환한 재조합 숙주 유기체에서의 발현에 의해 항-IFN- $\alpha$  항체 또는 그의 IFN- $\alpha$  결합 단편을 제조하는 단계를 포함하는, 인간-유도된 항-IFN- $\alpha$  항체 또는 그의 IFN- $\alpha$  결합 단편, 또는 항-IFN- $\alpha$  항체 또는 그의 IFN- $\alpha$  결합 단편을 포함하는 조성물의 제조 방법.

**청구항 20**

청구항 19에 있어서,

상기 조성물은 약학적 조성물이고, 상기 항-IFN- $\alpha$  항체 또는 그의 IFN- $\alpha$  결합 단편의 제조 단계에는 약학적 조성물의 제조에서 상기 항-IFN- $\alpha$  항체 또는 그의 IFN- $\alpha$  결합 단편을 약학적으로 허용 가능한 담체와 혼합하는 단계가 뒤따르는 방법.

**청구항 21**

삭제

**청구항 22**

삭제

**청구항 23**

삭제

**발명의 설명**

**기술 분야**

[0001] 본 발명은 일반적으로 포유류, 바람직하게는 인간 기원의 IFN- $\alpha$ 에 결합하는 신규한 분자 결합, 특히 IFN- $\alpha$ 의 상이한 서브타입을 인식하는 인간 모노클로날 항체뿐만 아니라 단편, 유도체 및 이들의 변이체에 관한 것이다. 특히, 재조합 인간 환자-유도된 항-IFN- $\alpha$  항체 및 이의 제조 방법이 제공된다. 또한, 장애의 치료 및 진단에 유용한 이러한 결합 분자, 항체 및 이들의 모사체를 포함하는 조성물이 기재되어 있다. 또한, 본 발명은 면역치료법에 사용하기 위한 제제뿐만 아니라 자가면역 및 자가염증성 장애뿐만 아니라 악성물, 예컨대 전신 홍반성 루푸스(SLE) 및 1형 당뇨병(T1DM)의 치료적 개입에서 표적으로서의 자가항체에 관한 것이다. 보다 구체적으로, 본 발명은 전형적으로 면역 조절에 관여되는 유전자에서의 돌연변이로 인해 중추 및/또는 말초 관용성이 손상되거나 자가-관용성의 상실된 대상체로부터 유도된 B 세포에서 단리된 모노클로날 자가항체에 관한 것이다.

**배경 기술**

[0002] 면역계의 부적절한 반응은 관여된 유기체에 스트레스를 주는 증상을 야기할 수 있다. 보통 동물 또는 인간의 건강에 상당한 효과를 갖지 않는 외래 물질 또는 신체적 상태에 대한 과장된 면역 응답은 경증 반응, 예컨대 피부 자극부터 생명 위협 상황, 예컨대 아나필락시스 쇼크 또는 다양한 유형의 혈관염에 이르는 범위의 증상을 갖는 알려지기로 이어질 수 있다. 내인성 항원에 대한 면역 응답은 자가면역 장애, 예컨대 전신 홍반성 루푸스(SLE), 1형 또는 인슐린 의존성 당뇨병(T1DM 또는 IDDM) 및 상이한 형태의 관절염을 유도할 수 있다.

[0003] 면역 반응은 조절된 방식으로 일어나며, 몇몇 세포가 관여되고 관여된 세포 간 신호전달 분자, 예컨대 사이토카

인에 의한 커뮤니케이션을 필요로 한다. 상기 커뮤니케이션은, 예로 각 수용체의 신호 저지 또는 차단에 의해 영향을 받거나 억제될 수 있다.

[0004] 사이토카인은 이들이 전신 수준에서 작용하며 정상적 또는 병리적 상태에서 개별 세포 또는 조직의 기능적 활성을 조정한다는 점에서, 전통적 호르몬과 같이 거동하는 나노몰 내지 피코몰 농도에서 체액성 조절제로 작용하는 분비된 가용성 단백질, 펩타이드 및 당단백질이다. 사이토카인은 이들이 특화된 세포에 구성된 특화된 세포에 의해 생산되지 않는다는 점에서 호르몬과 상이하다, 즉 이들은 선천성 및 적응 면역에 관여되는 실제로 모든 세포, 예컨대 상피 세포, 대식구, 수지상 세포(DC), 자연 살해(NK) 세포 및 특히 T 세포에 의해, 그 중 뚜렷하게는 T 헬퍼(Th) 림프구에 의해 발현되므로, 이들 매개물질에 대한 단일 기관 또는 세포 원천은 존재하지 않는다.

[0005] 이들의 각 기능에 따라, 사이토카인은 3가지 기능적 범주로 분류될 수 있다: 선천성 면역 반응의 조절, 적응 면역 반응의 조절 및 조절의 자극. 상기 3가지 범주 내의, 예로 세포 활성화, 증식, 분화, 모집 또는 다른 생리적 반응, 예로 표적 세포에 의한 염증에 특징적인 단백질 분비에 관한 이들의 다표현형발현 활성으로 인해, 비전형적으로 조절된 사이토카인 생산에 의해 매개된 세포 신호전달의 교란이 결손 면역 반응에 연관된 여러 장애, 예를 들어 염증 및 암의 원인으로 나타났다.

[0006] 3가지 공지된 단백질 패밀리, I형, II형 및 III형 인터페론으로 구성된 인터페론(IFN)은 가장 중요한 사이토카인 클래스 중 하나를 구성한다. 모든 인간 I형 인터페론은 두 막통과 단백질 IFNAR-1 및 IFNAR-2로 구성된 세포 표면 수용체(IFN 알파 수용체, IFNAR)에 결합하여 JAK-STAT 활성화, ISGF3 형성 및 유전자 발현의 후속 개시로 이어진다(Platanias and Fish, *Exp. Hematol.* (1999), 1583-1592). I형 IFN의 조성, 수용체 및 신호전달 경로는, 예로 [Stark et al., *Annu. Rev. Biochem.* (1998), 227-64; Pestka S., *Biopolymers* (2000), 254-87]에서 검토되었다. I형 인터페론은 구조적으로 관련된 패밀리(IFN- $\alpha$ (알파), IFN- $\beta$ (베타), IFN- $\kappa$ (카파), IFN- $\delta$ (델타), IFN- $\epsilon$ (엡실론), IFN- $\tau$ (타우), IFN- $\omega$ (오메가), 및 IFN- $\zeta$ (제타))를 구축하며, 그 중 IFN- $\delta$  및 IFN- $\tau$ 는 인간에서 생기기 않는다. 인간 I형 인터페론(IFN) 유전자는 인간 염색체 9p21 상에 클러스터되어 있으며, 마우스 유전자는 마우스 염색체 4 상의 보존된 다유전자보존 영역에 위치한다. 지금까지, 14개의 IFN- $\alpha$  유전자 및 3개의 위유전자가 마우스에서 동정되었다. 인간에서는 13개의 IFN- $\alpha$ (또는 IFNA) 유전자(IFNA1, IFNA2, IFNA4, IFNA5, IFNA6, IFNA7, IFNA8, IFNA10, IFNA13, IFNA14, IFNA16, IFNA17 및 IFNA21) 및 1개의 위유전자가 동정되었고, 여기서 2개의 인간 IFN- $\alpha$  유전자(IFNA1/IFN- $\alpha$ 1 및 IFNA13/IFN- $\alpha$ 13)는 동일한 단백질을 인코딩한다(van Pesch et al., *J. Virol.* (2004), 8219-8228).

[0007] IFN- $\gamma$ 는 유일한 II형 인터페론이다. 이는 주로 대식구 자극에 의한 항균 및 항종양 기전의 유도에 관여된다. IFN- $\gamma$  수용체(IFNGR)는 두 신호-전달 IFNGR2 사슬에 연관된 두 리간드-결합 IFNGR1 사슬로 이루어진 이종이량체 수용체이다(Schroder et al., *J. Leukoc. Biol.* 75 (2004), 163-189; Bach et al., *Annu. Rev. Immunol.* 15 (1997), 563-591). III형 인터페론은 3개의 서브타입으로 구성되며, 또한 IFN $\lambda$ (IFN $\lambda$ 1 또는 IL-29, IFN $\lambda$ 2 또는 IL-28A 및 IFN $\lambda$ 3 또는 IL-28B)로 불리고, 항바이러스, 항종양, 및 면역조절 활성을 갖는다. IFN- $\lambda$  수용체는 또한 독특한 리간드-결합 사슬, IFN- $\lambda$ R1(또한 IL-28R $\alpha$ 로 명명됨), 및 IL-10 관련된 사이토카인에 대한 수용체와 공유되는 보조 사슬 IL-10R2로 구성된 이종이량체 복합체이다(Li et al., *J. Leukoc. Biol.* 86 (2009), 23-32).

[0008] I형 인터페론은 항바이러스, 항종양 및 면역조절 기능을 갖는 다표현형발현 사이토카인이다. 맥락에 따라, 이들은 항-염증성 및 조직 보호성이거나 친염증성이고 자가면역성을 촉진할 수 있다. IFN- $\beta$ 1a 또는 1b는 다발성 경화증의 치료 및 여러 암(흑색종, 혈액암)에 대한 IFN- $\alpha$ 2b 치료법을 위해 사용된다. 상승된 IFN- $\alpha$  활성은 전신 홍반성 루푸스(SLE) 환자의 혈청에서 빈번하게 검출되어 IFN- $\alpha$ 가 SLE 발생에 중추적 역할을 수행함을 시사한다(Roennblom and Alm, *J. Exp. Med.* (2001), F59-F63; Crow MK, *Arthritis Rheum.* (2003), 2396-2401; Crow MK., *Curr Top Microbiol. Immunol.* (2007), 359-386; Crow MK. *Rheum Dis Clin North Am.* (2010), 173-186).

[0009] 다른 한 편, 인터페론 의존적 유전자의 특이적 발현 패턴("인터페론 특징"으로 명명됨)이 다양한 자가면역 장애 환자, 예컨대 SLE, T1DM, 쇼그렌 증후군, 피부근염, 다발성 경화증(MS), 건선 및 류마티스성 관절염(RA) 환자의 백혈구에서 나타난다. 또한, 염증성 관절염, MS 및 T1DM의 발생이 IFN- $\alpha$  치료법 동안 반복적으로 관찰되어 IFN- $\alpha$ 가 적어도 이들 질환을 촉진함을 시사한다(Crow MK, *Arthritis Res Ther.* (2010), Suppl 1:S5). 추가 데이터는 근염, 전신성 피부경화증, 만성 건선(Higgs et al., *Eur Musc Rev* (2012), 22-28; Bissonnette et al., *J Am Acad Dermatol* (2009), 427-436; Greenberg SA, *Arth Res Ther* (2010): S4;) 및 자가면역 갑상샘염(Prummel and Laurberg, *Tyroid* (2003), 547-551)에서 IFN- $\alpha$ 의 관여를 제시한다.

- [0010] 따라서 맥락 상황에 따라, RA, MS 및 상이한 백혈병에서와 같은 I형 인터페론을 이용한 치료 또는, 예컨대 SLE에서 I형 인터페론을 중화시키는 항체를 이용한 치료가 지시될 수도 있고, 그 동일한 치료가 자가면역성, 염증 및 인터페론-치료 관련 독성을 촉진하거나 심지어 MS 및 T1DM과 같은 질환 발생을 야기함으로써 환자에게 해로울 수도 있다. 이러한 상이한 효과에서의 하나의 요인은, 상이한 IFN 서브타입이 동일한 세포 표면 수용체 복합체를 활성화함에도 불구하고, 이들이 또한 세포형 의존적인 가변 반응을 매개한다는 점에서 기인할 수 있다(van Pesch et al., *J Virol* 78 (2004), 8219-8228; Antonelli G., *New Microbiol.* 31 (2008), 305-318; Gibbert et al., *PLoS Pathog.* 8 (2012), e1002868). 따라서 치료는 바람직하게는 주어진 병리적 상태에 연관되는 특정 IFN- $\alpha$  서브타입만 환자에 투여되거나 특정 IFN- $\alpha$  서브타입만 중화되는 선택적 방식으로 수행되어야 한다. IFN- $\alpha$  치료에 대해, 이러한 선택성은 치료 목적을 위한 고도 정제된 IFN- $\alpha$  제조물의 사용에 의해 수득될 수 있다(Antonelli G., *New Microbiol.* 31 (2008), 305-318). 그러나 IFN- $\alpha$  항체의 사용에 관해, IFN- $\alpha$  서브타입 간 80-95% 상동성 및 IFN- $\beta$ 와 50% 상동성을 가지는 아미노산 수준에서의 고도의 상동성이 존재하므로, 특정 IFN- $\alpha$  서브타입에 관해 선택성을 수득하기 더 어렵다. 따라서 모든, 선택된, 또는 특정 인간 IFN $\alpha$  서브타입에 대해 다양한 특이성을 갖는, 인간에서 관용되는 IFN- $\alpha$  항체 풀을 제공하는 것이 바람직할 것이며, 이는 치료 및/또는 진단 적응증에 따라 선택적으로 이용될 수 있다.
- [0011] 상기 목표를 달성하기 위한 최초 시도는 이미 수행되었다. 예를 들어, 특허 출원 US 2009/0214565 A1은 3개 내지 13개의 상이한 서브타입의 인간 IFN- $\alpha$ 를 중화시키는 몇몇 마우스 항-인간 IFN- $\alpha$  항체의 단리를 기재하며, US 특허 번호 7,087,726 B2는 7개 서브타입의 인간 IFN- $\alpha$ 를 인식하는 쥐과 항-인간 IFN- $\alpha$  항체 및 그 인간화 버전을 기재한다. 그러나, 전체는 아니라도 지금까지 제공된 대부분의 항-IFN- $\alpha$  항체는 쥐과 기원이며, 이에 따라 인간에서 유해 반응을 일으키기 쉽다.
- [0012] 인간에서의 마우스 항체(HAMA-반응; Schroff et al., *Cancer Res.* 45 (1985), 879-885; Shawler et al., *J. Immunol.* 135 (1985), 1530-1535)와 같이, 외래 항체에 대한 면역학적 반응으로 인해, 대부분 항체의 인간화 버전이 본 치료적 접근에서 이용된다(Chan and Carter, *Nature Reviews Immunology* 10 (2010), 301-316; Nelson et al., *Nature Reviews Drug Discovery* 9 (2010), 767-774). 이러한 항체를 획득하기 위한 하나의 접근은 항체 인간화(Jones et al., *Nature* 321 (1986), 522-525)로 공지된 공정으로, 상보성 결정 영역(CDR)을 완전히 인간 틀 내로 이식하는 것이었다. 상기 접근은 마우스 CDR이 인간 가변 도메인 틀에 쉽게 전달되지 않아서 이들의 모계 쥐과 항체에 비해 더 낮은 친화도의 인간화 항체를 생성한다는 점에 의해 종종 복잡해진다. 따라서 이렇게 조작된 항체의 친화도를 증가시키기 위해, 추가의 정교한 돌연변이화 실험이 종종 요구된다. 인간화 항체를 획득하기 위한 또 다른 접근은 이들의 선천성 항체 유전자가 인간 항체 유전자로 대체된 마우스를 면역화하고, 이들 동물에 의해 생산된 항체를 단리하는 것이다. 그러나 상기 방법은 여전히 항원을 이용한 면역화를 필요로 하며, 이들 일부의 독성으로 인해 모든 항원에서 가능한 것은 아니다. 또한, 상기 방법은 특정 계통의 트랜스제닉 마우스의 생산으로 제한된다.
- [0013] 또 다른 방법은, 예를 들어 국제 출원 WO 2005/007699에 IL-13 특이적 항체의 생성에 대해 기재된 바와 같은 인간 항체 라이브러리, 예컨대 파지 디스플레이를 사용하는 것이다. 여기서, 박테리오파지는 파지 모집단 내에 인간 항체 유전자를 삽입함으로써 이들 표면 상에 인간 scFv/Fab 단편을 디스플레이하도록 조작된다. 불행하게도, 다가 디스플레이를 위한 단백질 서열의 크기 제한, 단백질, 즉 항체 scFv/Fab 단편의 박테리아로부터의 분비 필요성, 라이브러리의 크기 제한, 생산되고 평가될 수 있는 항체의 제한된 수, 천연 면역화에 의해 생산된 체세포 돌연변이를 갖는 항체 비율의 감소, 그리고 모든 파지-인코딩된 단백질이 일부 단백질의 결합을 위한 접근성 또는 활성을 제한할 수 있는 융합 단백질이라는 점을 포함하는 상기 방법의 여러 단점이 또한 존재한다. 유사하게, 유럽 특허 출원 EP 0 616 640 A1은 파지 상에 디스플레이된 항체 분절 레퍼토리오로부터의 자가-항체 생산을 기재한다. 상기 측면에서 파지 라이브러리는 면역화되지 않은 인간으로부터 생성된다(예로, 실시예 1: 16페이지, 43-51줄; 실시예 2, 17페이지, [0158] 단락, 57-58줄 참조). 그러나, 상기 특허 출원에 기재된 방법도 포유류, 즉 인간 신체에서 생산되고 성숙된 항체에 비해, 파지 라이브러리로부터 생성된 항체의 상기 언급된 일반적 단점을 겪는다.
- [0014] 이는 대부분의 IFN- $\alpha$  서브타입에 결합하고 이를 특이적으로 중화시켜 I형 IFN 수용체를 통한 신호전달을 방지하는 가장 뚜렷한 항-IFN $\alpha$  모노클로날 항체 시팔리무맙(Sifalimumab, 이전에 MEDI-545로 불림)에도 마찬가지로 적용된다. 시팔리무맙은 "인간" 항-IFN $\alpha$  모노클로날 항체로 불리지만, 실제로는 인간화 마우스로부터, 즉 가장 큰 분획의 인간 생식계열 레퍼토리가 도입된 트랜스제닉 마우스에 기반한 이전 회사 Medarex의 UltiMab 플랫폼으로부터 유도되었다.
- [0015] 그럼에도 불구하고, 인간화 마우스로부터 유도된 항체의 아미노산 서열이 인간 기원이지만, 이들 항체는 인간에

서의 면역화, 재조합, 선택 및 친화도 성숙을 거치지 않았으므로 인공적이며 실제 인간의 것이 아니고, 그 이유로, 특히 인간-유도된 항체에 비해, 면역원성이고 덜 효과적인 위험이 여전히 존재한다.

[0016] 상기 측면에서, 단일치료법 또는 조합 접근을 위해 인간에서 관용되는 선택된 범위 또는 모든 IFN- $\alpha$  서브타입에 특이적인, 특정 인간 IFN- $\alpha$  서브타입에 대해 고 특이성을 갖는 결합 분자와 같은 추가적이고 새로운 화합물에 대한 필요성이 여전히 존재한다.

[0017] 상기 문제에 대한 해결책은 청구범위에 나타내고 명세서에 개시되며 실시예와 도면에서 아래에 추가 예시되는 바와 같은 본 발명의 구현예에 의해 제공된다.

**발명의 내용**

[0018] **발명의 요약**

[0019] 본 발명은 IFN- $\alpha$  특이적 인간 모노클로날 항체 및 이들의 IFN- $\alpha$  결합 단편에 관한 것이다. 특히, IFN- $\alpha$  서브타입에 대해 선택적 결합 프로필을 가지며, 실시예 및 도면에 나타낸 바와 같이 결합 및 중화 활성을 나타내는 인간 모노클로날 항-IFN- $\alpha$  항체가 제공된다. 이들의 중화 특성으로 인해, 본 발명의 항체는 치료, 예진 및 진단 유용성을 가지며, 이는 이들을 원치 않는 면역 반응의 개시 및/또는 유지에서 IFN- $\alpha$  활성에 연관된/관여된 다양한 자가면역 또는 자가염증성 장애 및 상태, 예컨대 전신성 홍반성 루푸스(SLE), 비제한적으로 류마티스성 관절염(RA)을 포함하는 다양한 형태의 관절염, 1형 또는 인슐린 의존성 당뇨병(T1DM 또는 IDDM), 쇼그렌 증후군, 피부근염, 다발성 경화증(MS), 건선, 만성 건선, 근염, 전신성 피부경화증, 자가면역 갑상샘염 및 백혈병을 포함하는 암에 관한 적용을 위해 특히 귀중하게 만든다(전체; Einav et al., *Oncogene* 24 (2005), 6367-6375); 또한 관련된 치료, 진단 및/또는 예진 적용에서 본 발명의 항체의 가능한 적응증에 대한 IFN- $\alpha$  서브타입 및 이들의 가능한 관여 장애 및 시사를 기재하는 상기 "배경기술" 섹션도 참고하라.

[0020] 본 발명의 항체는 바람직하게는 포유류, 특히 인간에서 단리되며, 이는 바람직하게는 단일유전자 자가면역 장애에 의해 유도되는, 손상되거나 탈조절된 자가 관용성의 발생에 기인하거나 연관될 수 있는 손상된 중추 및/또는 말초 관용성 또는 자가-관용성의 상실의 영향을 받는다. 본 발명에 따른 자가항체를 위해 특히 적합한 원천을 제공하는 포유류의 예는 포유류, 예로 *AIRE*(자가면역 조절물질) 유전자, 예컨대 자가면역 다중내분비병 증후군 1형(APS1) (Peterson et al., *Nat. Rev. Immunol.* 8 (2008), 948-957), 자가면역 다중내분비병 증후군 2형(APS2) (Baker et al., *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 95 (2010), E263-E270) 및 면역조절곤란 다중내분비병 장애 X-연관 증후군(IPEX) (Powell et al., *J. Pediatr.* 100 (1982), 731-737; Ochs et al., *Immunol. Rev.* 203 (2005), 156-164)에서의 돌연변이에 연관된 장애를 갖는 인간이다. 바람직하게는, 이들의 항체가 단리된 환자는 홍반성 루푸스(SLE)에 대해 증상이 없고 dsDNA 및 적어도 하나의 인간 IFN- $\alpha$  서브타입에 대한 혈청반응성을 나타내는 것을 특징으로 하는 APS1 환자이다.

[0021] 특히 본 발명에 따르면, 최초로 상이한 IFN- $\alpha$  결합 프로필 및 IFN- $\alpha$  중화 활성을 가져서, 단독으로 또는 조합되어 실질적으로 모든 IFN- $\alpha$  서브타입을 커버하는 인간 및 인간 환자 유도된 항-IFN- $\alpha$  항체가 제공된다.

[0022] 따라서 하나의 측면에서, 본 발명은 일반적으로 몇몇 IFN- $\alpha$  서브타입에 대한 고친화도 중화 모노클로날 항체에 관한 것이다. 추가 측면에서, 본 발명은 아래에 상세히 기재되는 몇몇 IFN- $\alpha$  서브타입, 즉 적어도 하나의 인간 IFN- $\alpha$ (IFNA) 서브타입 IFN- $\alpha$ 1/13(IFNA1/13; IFNA1b), IFN- $\alpha$ 2(IFNA2), IFN- $\alpha$ 4(IFNA4), IFN- $\alpha$ 5(IFNA5), IFN- $\alpha$ 6(IFNA6), IFN- $\alpha$ 8(IFNA8), IFN- $\alpha$ 10(IFNA10), IFN- $\alpha$ 14(IFNA14) 또는 IFN- $\alpha$ 21(IFNA21)에 대한 인간 모노클로날 항체(mAbs, 또는 MABs)에 관한 것이며, 이는 이들 사이토카인이 관여되는 장애에 대해 안전하고 효과적인 치료제로 간주된다. 하나의 구현예에서, 본 발명의 IFN- $\alpha$  결합 분자는 IFN- $\beta$ (베타 인터페론, IFNB), IFN- $\gamma$ (감마 인터페론, IFNG) 또는 IFN- $\omega$ (인터페론 오메가, IFNW)에 임의의 유의미한 정도로 결합하고/하거나 이를 중화시키지 않는다.

[0023] 또 다른 구현예에서, 본 발명에 따르면 면역분석 또는 항바이러스 중화 생체분석에서 항혈청 또는 모노클로날 항체와 보통 교차반응하지 않으므로, 각각 그 항원 특성이 IFN- $\alpha$ 에 관련되지 않은 것으로 지금까지 기재된 IFN- $\omega$ 에 또한 결합하고 그 활성을 중화시키는 항-IFN- $\alpha$  항체가 제공된다. 따라서 하나의 측면에서, 본 발명은 적어도 하나의 인간 IFN- $\alpha$  서브타입 및 인간 IFN- $\omega$ 에 결합하고/하거나 그 활성을 중화시킬 수 있는 신규한 IFN 결합 분자, 바람직하게는 인간-유도된 모노클로날 항체뿐만 아니라 단편 및 이들의 생물공학적 유도체에 관한 것이다. 바람직하게는, IFN-결합 분자의 결합 및 중화 활성은 각각 IFN- $\alpha$  서브타입(들) 및 IFN- $\omega$ 에 대해 본질적으로 동일하거나 적어도 동등한 크기 수준이다.

[0024] 자연적으로, 본 발명은 핵산, 특히 본 발명의 항체의 적어도 하나의 가변, 불변 및/또는 상보성 결정 영역을 인코딩하는 cDNA, 이러한 핵산을 포함하는 벡터, 항체 생산 세포주 및 재조합 세포로 연장된다. 본 발명은 또한 본 발명에 따라 단리된 항체에 의해 인식되는 결합 분자 또는 펩타이드를 포함하는 약학적 조성물, 진단 분석 및 키트 그리고 이에 기반한 치료 방법에 관한 것이다.

[0025] 또한, 본 발명은 각각 인간-유도된 항-IFN $\alpha$  및 항-IFN $\alpha$ /IFN $\omega$  모노클로날 항체 또는 IFN- $\alpha$  결합 단편 또는 이들의 생물공학적 유도체 또는 각각의 항-IFN $\alpha$  및 항-IFN $\alpha$ /IFN $\omega$  모노클로날 항체 또는 IFN- $\alpha$  결합 단편 또는 이들의 생물공학적 유도체를 포함하는 조성물의 제조 방법에 관한 것이며, 상기 제조는 항체, IFN-결합 단편 또는 이들의 생물공학적 유도체를 인코딩하는 형질전환 DNA의 재조합 숙주 유기체 내 발현에 의한 항체, IFN-결합 단편 또는 이들의 생물공학적 유도체의 제조 단계를 포함한다. 하나의 구현예에서, 조성물은 약학적 조성물이며, 여기서 항체, IFN-결합 단편 또는 이들의 생물공학적 유도체의 제조 단계에는 항체, IFN-결합 단편 또는 이들의 생물공학적 유도체와 약학적으로 허용 가능한 담체를 약학적 조성물의 제조에서 혼합하는 단계가 이어진다.

[0026] 본 발명은 본 발명에 따라 수행되고 실시예에 기재된 실험에서 원래 수득한 인간-유도된 항체를 참조하여 예시되고 기재되지만, 본 발명의 항체 또는 항체 단편에는 대상 항체의 하나 이상의 기능적 특성, 특히 IFN $\alpha$  및 IFN $\omega$ 에 대한 그 중화 활성을 보유하는, 화학적 또는 재조합 기법에 의해 합성된 임의의 조작된 항체 또는 항체-유사 IFN 결합 분자를 의미하는 항체의 합성 및 생물공학적 유도체가 포함됨이 이해되어야 한다. 따라서 본 발명은 항체를 참조하여 간결성을 위해 기재될 수 있지만, 달리 언급되지 않는 한, 용어 항체의 의미에는 이들의 합성 및 생물공학적 유도체뿐만 아니라 균등한 IFN 결합 분자가 의미되고 포함된다.

[0027] 본 발명의 추가 구현예는 후술되는 설명 및 실시예에서 자명해질 것이다.

**도면의 간단한 설명**

[0028] **도 1:** 가변 영역, 즉 본 발명의 항-IFN- $\alpha$  특이적 인간 항체의 중쇄 및 카파/람다 경쇄(VH, VL)의 아미노산 서열. IgG1, 카파, 항-IFN- $\alpha$  특이적 항체 **A:** 5D1; **B:** 13B11; **C:** 19D11; **D:** 25C3; **E:** 26B9; **F:** 31B4, **G:** 8H1, **H:** 12H5 및 **I:** 50E11. 틀(FR) 및 상보성 결정 영역(CDRs)은 CDR을 밑줄 쳐서 나타낸다. 이탤릭체 아미노산은 서열분석되지 않았지만 데이터베이스에서 수득된 서열을 나타낸다. 클로닝 전략으로 인해, 중쇄 및 경쇄의 N-말단에서의 아미노산 서열은 FR1에서 프라이머-유도된 변경을 포함할 수 있지만 항체의 생물학적 활성에는 실질적으로 영향을 미치지 않는다.

**도 2:** 교차-경쟁 - 에피토프 맵핑. 구별되는 결합 부위에 본 발명의 예시적인 항-IFN $\alpha$  MAB의 차별적 결합을 **A:** IFN $\alpha$ 2, **B:** IFN $\alpha$ 4 및 **C:** IFN $\alpha$ 14 상의 교차-경쟁 실험에서 조사하였다. IFN- $\alpha$  비결합 대조군(hIgG1)으로, 관련되지 않은 항원에 대한 인간 항체 결합을 이용하였다.

**도 3:** EC50 ELISA 결정. **A:** IFN $\alpha$ 2, **B:** IFN $\alpha$ 4 및 **C:** IFN $\alpha$ 14에 대한 hMAB 5D1, 13B11, 25C3 및 26B9의 EC50 결합. hMAB **D:** 19D11 및 **E:** 31B4의 IFN $\alpha$ 2/-4/-14에 대한 EC50 결합.

**도 4:** APS1 환자에서 공지된 질환-연관된 보호성 자가항체의 존재 상관화는 IFN- $\alpha$  자가항체가 APS1 환자에서 흥반성 루푸스의 개시를 방지함을 시사한다(열 dsDNA 내지 IFN $\alpha$  14). 표적: 상관화 연구에서 검사된 특정 APS1-환자의 코딩 번호. 항-dsDNA 항체는 SLE에 대해 매우 특이적이며, 질환의 진단에서 이용된다. APS1 환자는 ProtoArray 분석(Life Technologies)에 의해 평가된 바와 같이 항-dsDNA 항체의 빈번한 존재에도 불구하고 루푸스를 갖지 않는다. APS1 환자는 여러 루푸스-시사된 분자적 기전에 관여된 임상적으로-관련된 약물 표적인 몇몇 IFN- $\alpha$  서브타입에 대해 현저한 혈청반응성을 나타낸다. 원은 존재를 나타내며, 빈 셀은 특정 항체의 부재를 나타낸다. 환자 2, 4, 13 및 21(검은색 화살표)은 T1DM이다. 환자 10, 14, 16, 17 및 18(흰색 화살표)은 T1DM의 특징을 갖지만 이것이 아니다. 결과는 T1DM를 겪는 APS1 환자 및 그렇지 않은 환자의 혈청에서 차별적 중화 활성을 제시한다. 도 31 및 32에서 알 수 있듯이, 여기서 관찰된 상기 차이는 두 환자 클래스에서 모두 개별 항-IFN 항체의 중화 활성에서의 차이보다는 항-IFN 항체의 역가 차이에 기인하는 것으로 보이며, T1DM를 겪지 않는 APS1 환자에서 훨씬 더 높은 항체 역가를 갖는다.

**도 5:** 인간-유도된 항-IFN- $\alpha$  모노클로날 항체는 HEK 293T 세포에서 rhIFN $\alpha$ -매개된 STAT1 활성화를 중화시킨다. HEK 293T 세포는 나타낸 바와 같이 항체 부재 하에 또는 인간-유도된 IFN $\alpha$  모노클로날 항체 또는 인간 대조군 IgG(Ctrl)의 존재 하에 미처리 상태로 두거나(-) 또는 재조합 인간 rhIFN $\alpha$  또는 IFN-Gaussia 루시퍼라제 융합 단백질(g1 IFNs)로 자극하였다. 세포 용해물로 SDS-PAGE를 수행하고, 인산화된 STAT1 수준(pSTAT1)을 웨스턴 블롯으로 가시화하였다. 총 STAT1 수준 또는 튜블린 수준이 로딩 대조군으로 작용한다. 항체 농도: 5  $\mu$ g/ml. rhIFN $\alpha$  농도: 10 ng/ml(rhIFN $\alpha$ 1), 2 ng/ml(모든 다른 rhIFN); IFN-Gaussia 루시퍼라제 융합 단백질을 일시적으

로 발현하는 293T 세포의 g1 IFNA-함유 상청액을 이들의 각각의 EC80 희석도로 사용하였다. A1: 대조군: 100 ng/ml IFNA2/-4/-14 자극 후 293T 세포에서 웨스턴 블롯(WB)에 의한 총 및 인산화된 STAT1(pSTAT1)의 검출. IFNA2/-4/-14에 의한 293T-세포 자극. i): 인산화된 STAT1, (ii): 총 STAT1, (iii): 튜블린 로딩 대조군. 시간: 각각의 IFN을 이용한 세포의 처리 기간을 나타낸다. 자극 후, 인산화된 STAT1을 모든 3 IFNA 서브타입에 대해 관찰할 수 있다. 각각의 분자량(kDa) 표준 밴드의 위치를 비교를 위해 블롯 왼쪽에 나타낸다. A2: 대조군: 상이한 용량의 rhIFNA1, rhIFNA2 및 rhIFNA16을 이용한 자극 후 293T 세포에서 웨스턴 블롯(WB)에 의한 총 및 인산화된 STAT1(pSTAT1)의 검출. B: IFNA1, IFNA2, IFNA4, g1 IFNA5 및 IFNA6 자극. 5D1을 제외한 모든 예시적 항체가 IFNA1을 효율적으로 중화시키며, 모든 예시적 항체가 IFNA2, IFNA4 및 g1 IFNA5를 중화시킨다. 예시적인 항체 25C3, 5D1 및 13B11은 더 약한 IFNA6의 중화를 나타낸다. C: IFNA7, g1 IFNA8, IFNA10, IFNA14 및 IFNA16 자극. 모든 예시적 항체가 IFNA7을 중화시킨다. 25C3 및 13B11을 제외한 모든 예시적 항체가 g1 IFNA8을 효율적으로 중화시킨다. IFNA10은 25C3을 제외한 모든 예시적 항체에 의해 효율적으로 중화되는 반면, IFNA16은 예시적 항체 19D11, 5D1 및 13B11에 의해서만 효율적으로 중화된다. D: IFNA17, IFNA21, IFNW, IFNB 및 g1 IFNG 자극. 모든 예시적 항체가 IFNA17을 중화시키며, 13B11을 제외한 모든 예시적 항체가 IFNA21을 효율적으로 중화시킨다. IFNW는 뚜렷하게 예시적 항체 26B9 및 31B4에 의해서만 효율적으로 중화된다. 예시적 항체는 IFNB 또는 g1 IFNG를 중화시키지 않는다.

**도 6:** 내부 정상화 대조군으로 사용된 초파리-루시페라제 리포터 구축물 및 레닐라(Renilla)-루시페라제 구축물의 도식적 표시, TRE-전사 반응 요소; CMV - 사이토메갈로바이러스.

**도 7:** 인간-유도된 항-IFN- $\alpha$  모노클로날 항체는 HEK 293T 세포에서 rhIFNA-유도된 ISRE-루시페라제 리포터 유전자 활성화를 중화시킨다. A 및 B: 예시적인 항-IFN- $\alpha$  항체 19D11, 25C3, 26B9 및 31B4의 평가. ISRE 이중 루시페라제 리포터 구축물을 일시적으로 발현하는 HEK 293T 세포를 나타낸 바와 같이 항체 부재 하에 또는 인간-유도된 IFNA 모노클로날 항체 또는 인간 대조군 IgG의 존재 하에 미처리 상태로 두거나(-) 또는 rhIFN으로 자극하였다(+). rhIFN 농도: 2 ng/ml; 항체 농도: 5  $\mu$ g/ml, C 및 D: 예시적인 항-IFN- $\alpha$  항체 5D1 및 13B11의 평가. ISRE 이중 루시페라제 리포터 구축물을 일시적으로 발현하는 HEK 293T 세포를 (A/B)에서와 같이 처리하고, ISRE 리포터 활성을 24시간 후 분석하였다. rhIFNA 농도: 1 ng/ml; 항체 농도: 5  $\mu$ g/ml.) A/C: 상대 루시페라제 단위의 측정, B/D: 발현 배율 변화의 계산. E: 본 발명의 예시적인 인간-유도된 모노클로날 항체 8H1 및 12H5에 의한 rhIFNA1, A2, A4, A5, A6, A7, A8, A10, A14, A16, A17, A21, rhIFNW 및 rhIFNB의 중화. 예시적인 항체 8H1은 IFNA1, A4, A5, A6, A7, A10, A16, A17 및 A21과 함께 IFNW를 완전 중화시키는 반면, 약간 더 약한 IFNA2, A8 및 A14 중화를 나타낸다. 예시적인 항체 12H5는 모든 IFNA 서브타입을 중화시키지만 IFNW는 중화시키지 않는다. 예시적인 항체 8H1이나 12H5는 IFNB를 중화시키지 않는다. HEK 293T MSR을 A에서와 같이 처리하고, ISRE 리포터 활성을 24시간 후 분석하였다. rhIFN 농도: 10 ng/ml(IFNA1), 1.3 ng/ml(IFNA16), 4 ng/ml(IFNA21), 1 ng/ml(IFNB) 및 2 ng/ml(모든 다른 IFN). 항체 농도: 5  $\mu$ g/ml.

**도 8:** ISRE-루시페라제 리포터 중화 분석에 의한 예시적인 인간-유도된 IFNA mAb 26B9의 IC50 분석. A: IFNA2; B: IFNA4; C: IFNA5; D: IFNA8; E: IFNA14의 예시적인 항체 26B9에 의한 IC50 중화 그래프. F: IFNA1, G: IFNA2, H: IFNA4, I: IFNA5, J: IFNA6, K: IFNA7, L: IFNA8, M: IFNA10, N: IFNA14, O: IFNA16, P: IFNA17, Q: IFNA21 및 R: IFNW의 예시적인 항체 26B9에 대한 중화 분석 확인 라운드의 IC50 분석 결과를 나타낸다. IC50 데이터를 표 4에 요약한다. 상기 도면에서와 같이, Y-축의 RLU = 상대 광 단위.

**도 9:** ISRE-루시페라제 리포터 중화 분석에 의한 예시적인 인간-유도된 항-IFN- $\alpha$  mAb 25C3의 IC50 분석. 분석을 도 8에 기재된 바와 같이 수행하였다. A: IFNA2; B: IFNA4; C: IFNA5; D: IFNA8 및 E: IFNA14의 예시적인 항체 26B9에 의한 IC50 중화 그래프.

**도 10:** ISRE-루시페라제 리포터 중화 분석에 의한 예시적인 인간-유도된 항-IFN- $\alpha$  mAb 19D11의 IC50 분석. 분석을 도 8에 기재된 바와 같이 수행하였다. A: IFNA2; B: IFNA4; C: IFNA5; D: IFNA8; E: IFNA14의 예시적인 항체 19D11에 의한 IC50 중화 그래프. F: IFNA1, G: IFNA2, H: IFNA4, I: IFNA5, J: IFNA6, K: IFNA7, L: IFNA8, M: IFNA10, N: IFNA14, O: IFNA16, P: IFNA17 및 Q: IFNA21의 예시적인 항체 19D11에 대한 확인 실험 라운드의 IC50 중화 그래프. IC50 데이터를 표 4에 요약한다.

**도 11:** A: ELISA에 의한 IFNA1 및 IFNA2(ImmunoTools)에 대한 본 발명의 예시적인 MAB 19D11, 25C3, 26B9, 5D1 및 13B11의 결합 결정 및 비교. 예시적인 항-IFN- $\alpha$  항체 5D1은 IFNA1과 교차반응하지 않는다. B: LIPS에 의한 IFNA8 및 IFNA14(IFN-Gaussia 루시페라제 융합 단백질)에 대한 본 발명의 예시적인 MAB 5D1, 13B11, 19D11, 25C3, 26B9 및 31B4의 결합 결정 및 비교. 예시적인 MAB 13B11은 IFNA8(g1IFNA8)과 교차반응성을 갖지 않는다.

**C:** IFNA5, IFNA6, IFNA8, IFNA21(모두 PBL) 및 IFNA14(ATGen)에 대한 본 발명의 예시적인 MAB 5D1, 13B11, 19D11, 25C3, 26B9 및 31B4의 결합 결정 및 비교. 예시적인 항-IFN- $\alpha$  항체 13B11은 IFNA8 및 IFNA21과 교차반응하지 않는다. 항체 19D11은 다른 IFNA 서브타입보다 더 낮은 친화도로 IFNA21과 교차반응한다. (C)에서 MAB는 1  $\mu$ g/ml에서 평가하였다.

**도 12:** LIPS 분석 - 상이한 IFNA 서브타입(IFN-Gaussia 루시퍼라제 융합 단백질)에 대한 본 발명의 항체의 결합 결정. **A:** IFNA5; **B:** IFNA6 및 **C:** IFNA8에 대한 본 발명의 예시적인 항체의 결합. 예시적인 항-IFN- $\alpha$  항체 13B11은 IFNA8과 실질적인 교차반응성을 나타내지 않는다. IFN- $\alpha$  비결합 대조군(hIgG1)으로서, 관련되지 않은 항원에 대한 인간 항체 결합을 이용하였다.

**도 13:** LIPS 분석 - IFNA1, IFNA2, IFNA5, IFNA6, IFNA8, IFNA10, IFNA14, IFNA16 및 IFNA 21(IFN-Gaussia 루시퍼라제 융합 단백질)에 대한 본 발명의 예시적인 항체 5D1, 13B11, 19D11, 25C3, 26B9 및 31B4의 결합 특징 결정. IFN- $\alpha$  비결합 대조군(hIgG1)으로서, 관련되지 않은 항원에 대한 인간 항체 결합을 이용하였다. 모든 항체는 0.5  $\mu$ g/ml에서 평가하였다. 도 12 및 13에서 이용된 모든 IFN- $\alpha$  서브타입은 IFN- $\alpha$ -Gaussia 루시퍼라제 융합 단백질(g1IFNAs)이다.

**도 14:** 귀 염증 분석 - 마우스에서 인간 IFN 서브타입의 친염증성 효과 평가. **A:** 예시적인 6-일 실험 타임라인. **B:** 각각의 코호트에 대해, 관련 PBS 대조군에 대해 정상화된 0일 측정에 대한 배울 변화로 계산된 CytoEar 귀 두께 측정. **B1:** 모든 정상화된 측정의 효과 개요. **B2:** IFNa2a 및 IFNa2b의 주사 효과. **B3:** IFNa4 및 IFNa14의 주사 효과. 평가된 모든 4개의 인간 IFNA 서브타입은 ID 후 귀 팽창을 유의미하게 유도할 수 있었다. 모든 귀는 PBS 처리된 귀에 비해 뚜렷이 더 두꺼웠다. IFNa14가 가장 강력한 친염증성 제제였다. 평균  $\pm$  SEM, I1-3 또는 ID = 피내 사이토카인 주사, M = 측정 - 귀 두께 및 동물 체중, S = 동물 희생; 짧은 화살표 - 사이토카인 주사; 긴 화살표 - 예시적인 항-IFN- $\alpha$  항체 주사일.

**도 15:** 귀 염증 분석 - 마우스에서 인간 IFN 서브타입의 친염증성 효과 평가. 각각의 코호트에 대한 CytoEar 귀 두께 측정을 절대값(mm)으로 나타낸다. **A:** 모든 측정 효과의 개요. **B:** IFNa2a 및 IFNa2b의 주사 효과. **C:** IFNa4 및 IFNa14의 주사 효과. 모든 표시는 도 14에서와 같다.

**도 16:** 귀 염증 분석 - 마우스에서 인간 IFN 서브타입의 친염증성 효과 평가. CytoEar 귀 두께 측정을 각각의 코호트에 대해 0일로부터의 배울 변화로 나타낸다. **A:** 모든 측정 효과의 개요. **B:** IFNa2a 및 IFNa2b의 주사 효과. **C:** IFNa4 및 IFNa14의 주사 효과. 모든 표시는 도 14에서와 같다.

**도 17:** 인간 IFN- $\alpha$  서브타입의 귀 염증 유도능에 대한 귀 염증 분석의 요약. P값은 2-웨이 ANOVA 평가에 의해 취득하였음, ns(유의미하지 않음) =  $P > 0.05$ ; \* =  $P \leq 0.05$ ; \*\* =  $P \leq 0.01$ ; \*\*\* =  $P < 0.001$ , \*\*\*\* =  $p < 0.0001$ . 모든 귀는 PBS 처리된 귀에 비해 뚜렷이 더 두꺼웠다; 이는 3일부터 실험 말기까지, 2차 ID 후 모든 군에서 유의미하였다.

**도 18:** LIPS 분석 - IFN $\gamma$ (IFNG), IFN- $\beta$ 1(IFNB1), IFN $\epsilon$ (IFNE), IFN- $\omega$ (IFNW), 3 IFN $\lambda$ (IL28A, IL28B 및 IL29) 및 IFNA10(모두 IFN-Gaussia 루시퍼라제 융합 단백질)에 대한 본 발명의 예시적인 항-IFN- $\alpha$  항체 5D1, 13B11, 19D11, 25C3, 26B9 및 31B4의 결합 특징 결정 및 비교. **A:** 상이한 IFN-유형에 대한 항체 결합. **B:** 항체에 의한 IFN 결합 상호 다이어그램. 예시적인 항체 26B9 및 31B4는 IFNA10에 대한 이들의 친화도에 더하여 IFN- $\omega$ (IFNW) 결합을 나타낸다. IFN- $\beta$ 1(IFNB1), IFN $\epsilon$ (IFNE), 3 IFN $\lambda$  및 IFN $\gamma$ (IFNG)의 예시적인 항체의 실질적 결합은 관찰할 수 없었다.

**도 19:** 마우스 IFNA에 대한 MAB의 교차반응성(ELISA). hIgG1 = 비-IFNA 관련 특이성을 갖는 항체(음성 대조군). **A:** ELISA 분석에서 인간 및 쥐과 IFNA2, IFNA4 및 IFNA14에 대한 예시적인 항체 5D1, 13B11, 19D11, 25C3, 26B9 및 31B4의 교차반응성 평가. 쥐과 IFNA2에 대해 교차반응성을 나타내는 항체 25C3를 제외하고, 다른 항체는 평가된 쥐과 IFNA 서브타입에 대한 결합 특이성을 나타내지 않거나 약간만 나타낸다. **B:** 마우스 IFNA 상에서 MAB의 교차반응성(LIPS-분석). 항체 5D1 및 19D11은 쥐과 g1mIFNA1에 대한 교차반응성을 나타내며, 여기서 다른 항체는 음성 대조군에 대해 관찰된 수준 미만의 반응성만을 나타낸다. 어느 항체도 쥐과 IFN- $\alpha$  서브타입 g1mIFNA9에 대해 교차반응성을 나타내지 않는다.

**도 20:** ISRE 루시퍼라제 리포터 중화 분석에 의한 예시적인 인간-유도된 항-IFN- $\alpha$  mAb 8H1의 IC50 분석. 예시적인 항체 8H1의 IC50 중화 그래프. **A:** IFNA1, **B:** IFNA2, **C:** IFNA4, **D:** IFNA5, **E:** IFNA6, **F:** IFNA7, **G:** IFNA8, **H:** IFNA10, **I:** IFNA14, **J:** IFNA16, **K:** IFNA17, **L:** IFNA21 및 **M:** IFNW. IC50 데이터를 표 4에 요약한다.

**도 21:** ISRE 루시퍼라제 리포터 중화 분석에 의한 예시적인 인간-유도된 항-IFN- $\alpha$  mAb 12H5의 IC50 분석. 예시

적인 항체 12H5의 IC50 중화 그래프. **A:** IFNA1, **B:** IFNA2, **C:** IFNA4, **D:** IFNA5, **E:** IFNA6, **F:** IFNA7, **G:** IFNA8, **H:** IFNA10, **I:** IFNA14, **J:** IFNA16, **K:** IFNA17 및 **L:** IFNA21. IC50 데이터를 표 4에 요약한다.

**도 22:** ISRE 루시퍼라제 리포터 중화 분석에 의한 예시적인 인간-유도된 항-IFN- $\alpha$  mAb 50E11의 IC50 분석. 예시적인 항체 50E11의 IC50 중화 그래프. **A:** IFNA1, **B:** IFNA2, **C:** IFNA4, **D:** IFNA5, **E:** IFNA6, **F:** IFNA7, **G:** IFNA8, **H:** IFNA10, **I:** IFNA14, **J:** IFNA16, **K:** IFNA17, **L:** IFNA21 및 **M:** IFNW. IC50 데이터를 표 4에 요약한다.

**도 23:** 인간-유도된 항-IFN- $\alpha$  모노클로날 항체는 발광 세포 결합 분석에서 IFN 수용체를 내인적으로 발현하는 HEK 293T MSR 세포에 대한 IFN-Gaussia 루시퍼라제 융합 단백질의 결합을 중화시킨다. 세포를 나타낸 바와 같이 억제제의 부재 하에(-) 또는 경쟁적 억제제의 존재 하에 인터페론-Gaussia 루시퍼라제 융합 단백질을 발현하는 HEK 293T 세포의 상청액과 인큐베이션하였다. **A:** 루시퍼라제-기반 화학발광 세포 결합 분석의 도식적 표시. 관심 리간드(3)를 Gaussia 루시퍼라제(4)에 융합시킨다. 융합 단백질을 관심 리간드(2)에 대한 수용체를 발현하는 세포(1)에 결합시킨다. 결합되지 않은 융합 단백질의 제거 후, 루시퍼라제 기질을 첨가하고(5) 광 방출을 기록한다(6). 광 출력은 결합된 융합 단백질의 양과 비례한다. 관심 리간드(7)의 결합에 대해 수용체와 경쟁하는 항-리간드 항체는 결합된 리간드 감소 및 광 방출 감소를 야기한다. **B:** 대조군: 인간 IFNA-Gaussia 루시퍼라제 융합 단백질은 HEK 293T MSR 세포에 특이적으로 결합한다. IFNA5-Gaussia 루시퍼라제 융합 단백질(g1 IFNA5)의 HEK 293T MSR 세포에 대한 결합은 표지되지 않은 rhIFNA2(3  $\mu\text{g/ml}$ ) 및 예시적인 인간-유도된 모노클로날 IFNA 항체 19D11(1.7  $\mu\text{g/ml}$ )에 의해 억제된다. 인간 대조군 항체(huIgG, 15  $\mu\text{g/ml}$ )는 효과를 나타내지 않는다. **C:** g1 IFNA2, A4, A5, A6, A7, A8, A10, A14, A16, A17 및 A21 융합 단백질의 HEK 293T MSR 세포로의 결합은 예시적인 인간-유도된 모노클로날 IFN 항체 19D11에 의해 억제된다. g1 IFNB 및 IFNW의 결합은 19D11에 의해 영향을 받지 않는다. 모든 g1 IFN의 결합은 대조군 인간 항체(huIgG)에 의해 영향을 받지 않는다. 항체 농도: 5  $\mu\text{g/ml}$ . **D:** 예시적인 항체 19D11 및 26B9에 의한 g1 IFNA16 및 g1 IFNW의 결합 중화. 세포를 나타낸 바와 같이 항체의 부재 하에(-) 또는 예시적인 항체 19D11, 26B9 또는 대조군 인간 항체(huIgG)의 존재 하에 g1 IFNA16 또는 g1 IFNW로 처리하였다. 항체 농도: 10  $\mu\text{g/ml}$ . 예시적인 항체 19D11은 g1 IFNA16의 중화에서 26B9보다 강력하다. 예시적인 항체 26B9는 293T MSR 세포 상에서 그 수용체에 대한 g1 IFNW의 결합을 효율적으로 차단하는 반면, 예시적인 항체 19D11은 상기 리간드에 대해 뚜렷한 효과를 나타내지 않는다.

**도 24:** 인간 IFNW-Gaussia 루시퍼라제 융합 단백질은 막통과 항-IFNW mAb를 발현하는 HEK 293T MSR 세포에 특이적으로 결합한다. HEK 293T MSR 세포를 항-IFNW mAb 26B9(26B9-TM) 또는 빈 벡터(Mock)의 막-결합된 버전을 인코딩하는 나타낸 양의 cDNA로 역-전달감염시켰다. 전달감염 48시간 후, IFNW-Gaussia 루시퍼라제를 첨가하고(g1 IFNW) 결합을 화학발광 세포 결합 분석에서 분석하였다. **A:** 대조군: 26B9-TM을 전달감염된 HEK 293T MSR 세포의 세포 표면에서 발현시킨다. 표면 항체 발현을 세포-기반 ELISA에서 전달감염 48시간 후 분석하였다. **B:** g1 IFNW는 발광 세포 결합 분석에서 26B9-TM을 발현하는 세포에 특이적으로 결합한다.

**도 25:** 항-IFNW 항체의 교차경쟁 분석. g1 IFNW의 26B9-TM으로의 결합이 가용성 26B9에 의해 그리고 클론 관련된 31B4 항체에 의해 용량 의존적으로 경쟁된다. 대조적으로, 결합은 대조군 IgG에 의해 또는 예시적인 항-IFNW 항체 8H1에 의해 영향받지 않는다.

**도 26:** SPR 분석. **A:** 본 발명의 예시적인 항체 19D11(**A1-A4**) 및 26B9(**B1-B4**)에 대한 인간 **A1/B1:** IFNA2b, **A2/B2:** IFNA4, **A3/B3:** IFN14 및 **A4/B4:** IFN $\omega$ 의 결합에 대한 센소그램의 상세 분석. 1:1 결합 역학이 관찰되었다. 항원을 1 nM, 2.5 nM, 5 nM, 10 nM, 15 nM, 25 nM, 50 nM 및 100 nM 농도로 주사하였다. 계산된 친화도(KD 값[M])를 다이어그램에 나타낸다. **C:** 그래프는 평가된 모든 항체의 연합(온-오프  $k_a$ ) 및 해리(오프-오프  $k_d$ )에 대해 피팅된 곡선에서 유도된 역학적 파라미터를 나타낸다. 단속선으로 나타낸 대각선은 친화도(KD)를 나타낸다. **D:** 바이오틴-스트랩타비딘 결합의 SPR 문헌값과 대비되는 본 발명의 예시적인 항체의 KD 값. 각각 인간 IFNA4 및 IFNA14에 대한 친화도는 피코몰 농도 미만 범위이며, IFN2b에 대해서는 나노몰 농도 미만이다. 26B9는 또한 피코몰 농도 미만의 친화도로 인간 IFN $\omega$ 에 결합한다.

**도 27:** 에피토프 맵핑. **A:** 마이크로어레이에 커플링된 전장 항원에 대한 본 발명의 항체의 결합. Y-축은 Cy5-접합된 이차 항체를 이용한 검출 시의 형광 강도(RFU)를 나타내었다. **B:** 본 발명의 항체 19D11에 대한 인간 IFNA2의 18머 펩타이드의 일차 펩타이드 어레이. 하부 패널에는 아스파라긴 65 내지 라이신 98 및 라이신 117 내지 세린 150의 서열을 커버하는 펩타이드를 도시한다. 항체 19D11은 펩타이드 19 및 32에 특이적으로 결합한다. **C:** 본 발명의 항체 26B9에 대한 인간 IFNA2의 18머 펩타이드의 일차 펩타이드 어레이. 하부 패널에는 아스파르트산 77 내지 라이신 110의 서열을 커버하는 펩타이드를 도시한다. 항체 26B9는 펩타이드 22에 특이적으로 결합한다. **D:** 본 발명의 항체 26B9에 대한 인간 IFNW의 18머 펩타이드의 일차 펩타이드 어레이. 하부 패널에는 메티오닌

102 내지 알라닌 135의 서열을 커버하는 펩타이드를 도시한다. 항체 26B9는 펩타이드 23에 특이적으로 결합한다.

**도 28:** 귀 염증 분석 CytoEar IFN $\alpha$ 14. hIFN $\alpha$ 14 유도된 염증 후 본 발명의 상이한 IFN $\alpha$  차단 항체의 효과 평가. 염증을 유도하기 위해, 20  $\mu$ l IFN $\alpha$ 14를 귀 하나당 25  $\mu$ g/ml 농도로 주사하였다. 두께 측정은 또한 주사 전에, 그리고 귀 하나당 2회 측정으로 수행하였다. **A:** 예시적인 10-일 실험 타임라인. **B:** 실험 동물군 A 내지 I의 실험 처리의 개요. Ref. A - IFN $\alpha$ -특이적 참조 항체. 각각의 코호트에 대해, 관련 PBS 대조군에 대해 정상화된 측정 0일 대비 배율 변화로 계산된 CytoEar 귀 두께 측정. **C:** 모든 정상화된 측정의 효과 개요. **D:** IFN $\alpha$ 14 주사 후 26B9의 처리 효과. **E:** IFN $\alpha$ 14 주사 후 19D11의 처리 효과. **F:** IFN $\alpha$ 14 주사 후 참조 항-IFN- $\alpha$  항체 Ref. A의 처리 효과. 본 발명의 항체 26B9 및 19D11의 처리(각각 7, 9, 10일에, 19D11에 대해서는 4, 7-10일에 귀 두께의 유의미한 감소)는 IgG(IFN- $\alpha$  관련되지 않은 결합 특이성을 가짐)를 이용한 대조군 처리 및 Ref. A를 이용한 처리에 비해 IFN $\alpha$ 14 주사로 야기되는 귀 두께의 현저한 감소로 이어진다. 평균 +/- SEM, ID = 피내 사이토카인 주사, M = 측정 - 귀 두께, S = 동물 희생; ID - 사이토카인 주사; 평가된 항체 26B9, 19D11, Ref. A 및 대조군 IgG를 0일에 주사하였다(IP).

**도 29:** 귀 염증 분석 CytoEar IFN $\alpha$ 5. hIFN $\alpha$ 5 유도된 염증 후 본 발명의 상이한 IFN $\alpha$  차단 항체의 효과 평가. 염증을 유도하기 위해, 20  $\mu$ l IFN $\alpha$ 5를 귀 하나당 25  $\mu$ g/ml 농도로 주사하였다. 두께 측정은 또한 주사 전에, 그리고 귀 하나당 2회 측정으로 수행하였다. **A:** 예시적인 10-일 실험 타임라인. **B:** 실험 동물군 A 내지 I의 실험 처리의 개요. Ref. A - IFN $\alpha$ -특이적 참조 항체. 각각의 코호트에 대해, 관련 PBS 대조군에 대해 정상화된 측정 0일 대비 배율 변화로 계산된 CytoEar 귀 두께 측정. **C:** 모든 정상화된 측정의 효과 개요. **D:** IFN $\alpha$ 5 주사 후 26B9의 처리 효과. **E:** IFN $\alpha$ 5 주사 후 19D11의 처리 효과. **F:** IFN $\alpha$ 5 주사 후 참조 항-IFN- $\alpha$  항체 Ref. A의 처리 효과. 본 발명의 항체 26B9 및 19D11의 처리는 IFN $\alpha$ 5 주사로 야기되는 귀 두께의 현저한 감소로 이어진다(4, 6, 7, 8 및 9일에 26B9에 대해; 7-9일에 19D11에 대해 유의미한 감소). 추가 상세내용에 대해서는 도 26의 기재 를 참고하라. 평가된 항체 26B9, 19D11, Ref. A 및 대조군 IgG를 0일에 주사하였다(IP).

**도 30:** 귀 염증 분석 CytoEar IFN $\omega$ . hIFN $\omega$ (IFN $\omega$ ) 유도된 염증 후 본 발명의 상이한 IFN $\alpha$  차단 항체의 효과 평가. 염증을 유도하기 위해, 20  $\mu$ l IFN $\omega$ 를 귀 하나당 6,25 $\mu$ g/ml, 125 ng/귀 농도로 주사하였다. 두께 측정은 또한 주사 전에, 그리고 귀 하나당 2회 측정으로 수행하였다. **A:** 예시적인 10-일 실험 타임라인. **B:** 실험 동물군 A 내지 I의 실험 처리의 개요. Ref. A - IFN $\alpha$ -특이적 참조 항체. 각각의 코호트에 대해, 관련 PBS 대조군에 대해 정상화된 측정 0일 대비 배율 변화로 계산된 CytoEar 귀 두께 측정. **C:** 모든 정상화된 측정의 효과 개요. **D:** IFN $\omega$  주사 후 26B9의 처리 효과. **E:** IFN $\omega$  주사 후 19D11의 처리 효과. **F:** IFN $\omega$  주사 후 참조 항-IFN- $\alpha$  항체 Ref. A의 처리 효과. 본 발명의 항체 26B9의 처리는 실험 9일에 IFN $\omega$  주사로 야기되는 귀 두께의 현저한 감소로 이어진다. 19D11 또는 Ref. A의 처리는 명백히 귀 두께의 감소를 전혀 일으키지 않거나 약간만 감소시켰다(모든 날짜에 대조군 IgG 주사 대비 유의미하지 않음(ns)). 추가 상세내용에 대해서는 도 26의 기재 를 참고하라. 평가된 항체 26B9, 19D11, Ref. A 및 대조군 IgG를 0일에 주사하였다(IP).

**도 31:** 1형 당뇨병이 있는(T1D) 또는 없는(N) APS1/APECED 환자 혈청 중 IFN 중화 활성 비교. **A:** IFN $\alpha$ 1, **B:** IFN $\alpha$ 2a, **C:** IFN $\alpha$ 4, **D:** IFN $\alpha$ 5, **E:** IFN $\alpha$ 6, **F:** IFN $\alpha$ 7, **G:** IFN $\alpha$ 16, **H:** IFN $\alpha$ 17, **I:** IFN $\alpha$ 21 및 **J:** IFN $\omega$ .

**도 32:** 1형 당뇨병이 있는(T1D) 또는 없는(N) APS1/APECED 환자 혈청 중 IFN 중화 활성 비교. 도 31에 나타낸 바와 같이, 그러나 T1D가 있는 APS1/APECED 환자 혈청에서 측정된 중화 활성의 더 우수한 가시화를 위해 Y-축을 로그 스케일로 함. **A:** IFN $\alpha$ 1, **B:** IFN $\alpha$ 2a, **C:** IFN $\alpha$ 4, **D:** IFN $\alpha$ 5, **E:** IFN $\alpha$ 6, **F:** IFN $\alpha$ 7, **G:** IFN $\alpha$ 8, **H:** IFN $\alpha$ 10, **I:** IFN $\alpha$ 14, **J:** IFN $\alpha$ 16, **K:** IFN $\alpha$ 17 및 **L:** IFN $\alpha$ 21. T1D를 겪지 않는 APS1 환자(N)는 T1D-APS1-환자에 비해 이들의 혈청에서 모든 항체에 대해 더 높은 역가를 나타낸다. 상기 역가 차이는 두 환자군 모두에서의 차별적 치료 요건을 시사할 수 있다.

**발명을 실시하기 위한 구체적인 내용**

**[0029] 발명의 상세한 설명**

**[0030]** 본 발명은 일반적으로 상이한 서브타입의 IFN- $\alpha$ 를 인식하고 보다 중요하게는 그 활성을 중화시킬 수 있는 포유류, 바람직하게는 인간 기원의 IFN- $\alpha$ 에 결합하는 신규한 분자, 특히 환자-유도된 인간 모노클로날 항체뿐만 아니라 이들의 단편, 유도체 및 변이체에 관한 것이다; IFN $\alpha$ 1, IFN $\alpha$ 2, IFN $\alpha$ 4, IFN $\alpha$ 5, IFN $\alpha$ 6, IFN $\alpha$ 7, IFN $\alpha$ 8, IFN $\alpha$ 10, IFN $\alpha$ 13, IFN $\alpha$ 14, IFN $\alpha$ 16, IFN $\alpha$ 17 및 IFN $\alpha$ 21을 포함하는 IFN $\alpha$  서브타입의 기재에 대한 상기 배경 섹션 도 참고하라(IFN $\alpha$ 1 및 IFN $\alpha$ 13 유전자는 동일한 IFN $\alpha$ 1/13 서브타입을 인코딩함).

- [0031] 실시예에 기재된 바와 같이, 본 발명의 예시적인 항체는 중추 및/또는 말초 관용성이 손상되거나 자가-관용성이 상실된 환자, 예컨대 IFN- $\alpha$  단백질로의 자가항체에 대한 APECED/APS1 환자의 혈청 스크리닝에 기반한, 본 출원인의 국제 출원 WO2013/098419 A1에 개시되는 대상 방법에 의해서 뿐만 아니라 본 출원인의 국제 출원 WO2013/098420 A1에 개시되는 대상 자가면역 장애 또는 자가-염증성 질환을 겪는 대상체의 B 세포로부터 항체를 분리하는 신규한 방법을 이용하여 분리되었다.
- [0032] 본 발명에 따라 수행된 실험은 그 면역반응성이 APECED/APS1 환자에서, 예로 SLE의 개시에 대해 보호성인 것으로 또는 적어도 SLE 증상의 발현을 감소시키는 것으로 나타난 선택적 IFN- $\alpha$  서브타입 특이성을 갖는 IFN- $\alpha$  결합 분자, 즉 항체 및 이들의 IFN- $\alpha$  결합 단편의 제공에 대한 것이다.
- [0033] 따라서, 첫 번째 일반적 측면에서 본 발명은 전체 IFN- $\alpha$  서브타입에 대해 또는 하위범위의 또는 특정한 IFN- $\alpha$  서브타입에 대해서만 결합 특이성 및 바람직하게는 중화 활성을 나타내는 인간-유도된 항-인터페론-알파(IFN- $\alpha$ ) 항체 또는 IFN- $\alpha$  결합 단편, 이들의 합성 또는 생물공학적 유도체를 제공한다. 본 발명의 바람직한 구현예에서, 항-IFN- $\alpha$  항체 또는 IFN- $\alpha$  결합 단편은
- [0034] (i) 인간 IFN- $\alpha$  서브타입 IFNA2, IFNA4, IFNA5, IFNA6, IFNA10 및 IFNA14에 결합하고;
- [0035] (ii) 적어도 하나의 인간 IFN- $\alpha$  서브타입 IFNA1/13(IFNA1b), IFNA8, IFNA16 및/또는 IFNA21에 결합하고; 및/또는
- [0036] (iii) 적어도 하나의 인간 IFN- $\alpha$  서브타입의 생물학적 활성을 중화시킬 수 있다. 따라서, 본 발명은 당분야에 공지된 항체와 상이하고 더 넓은 적용 프로필을 제공하는 상이한 IFN $\alpha$  서브타입 특이성의 항체 풀을 제공한다.
- [0037] 모든 IFN $\alpha$  서브타입은 이중이량체 IFN $\alpha/\beta$  수용체(IFNAR)를 이용하며 세포질 티로신 키나아제 Tyk2 및 Jak1 수행된 인산화 및 동시적인 STAT1 및 STAT2(신호 변환제 및 전사 활성화제)의 활성화를 통해 수신 세포에서 신호를 생성한다. STAT 단백질은 핵으로 전위하고, 이들의 프로모터에 GAS 또는 ISRE 부위 중 하나 또는 둘 다를 갖는 유전자의 발현을 활성화한다(Borden et al., Nat. Rev. Drug Discov. 6 (2007), 975-990; Hu et al., Immunol. Rev. 226 (2008), 41-56; van Boxel-Dezaire et al., Immunity 25 (2006), 361-372). 상기 활성화 기전은 본 발명에서 뿐만 아니라 IFN-활성 측정 시험관내 방법, 예컨대 본원에서, 예로 본 발명의 항체의 중화력을 모니터링하기 위해 실시예 3 및 도 5 내지 7에 기재되고 이용된 바와 같은 세포 기반 STAT(신호 변환제 및 전사 활성화제) 활성화 분석 및 ISRE(인터페론 자극 반응 요소) 리포터 유전자 분석(Cignal 리포터 분석, Qiagen)의 설계를 위해 이용되었다. 여기에 상세히 기재된 바와 같이, 본 발명의 항체는 아래에서 더 상세히 나타낸 바와 같이 몇몇 IFNA 서브타입에 대해 강력한 중화 활성을 갖는 것으로 나타났다.
- [0038] 따라서 본 발명의 하나의 구현예에서, 본 발명의 항체 또는 IFN- $\alpha$  결합 단편에 의해 중화된 생물학적 활성은 세포 기반 STAT(신호 변환제 및 전사 활성화제) 활성화 분석, ISRE(인터페론 자극 반응 요소) 리포터 유전자 분석, 및/또는 세포 결합 분석에서의 IFN- $\alpha$  신호전달이다(실시예 9 참고).
- [0039] 또한, 본 발명의 항체의 결합 친화도를 본원, 예로 실시예 1, 2, 6 및 9 및 도 3, 7 내지 13, 및 18 내지 27에 기재된 바와 같이, ELISA, LIPS 및 세포 결합 분석에 의해 평가하였다. 이들 실험 결과에 따라, 본 발명은 구별되는 IFNA 서브타입에 대해 차별적 결합 친화도를 나타내는 몇몇 예시적인 항-IFN- $\alpha$  항체를 제공하며, 이는 본원에서 제공된 IFN- $\alpha$  결합 분자의 결합 및 중화 특징을 예시한다.
- [0040] 예를 들면, 본 발명의 예시적인 항-IFN- $\alpha$  항체 19D11은 적어도 인간 IFN- $\alpha$  서브타입 IFNA1/13, IFNA2, IFNA4, IFNA5, IFNA6, IFNA8, IFNA10, IFNA14, IFNA16 및 IFNA21에 결합하며(예로, 도 13 및 18 내지 27 참고) 실시예 및 도 5 내지 7에 기재된 바와 같은 중화 특성을 갖는다. 따라서 하나의 구현예에서, 본 발명의 항체 또는 IFN- $\alpha$  결합 단편은 상기 섹션 (i)에서 정의된 IFN- $\alpha$  서브타입에 부가하여, 적어도 인간 IFN- $\alpha$  서브타입 IFNA1/13, IFNA8, IFNA16 및 IFNA21에 결합한다. 따라서 하나의 바람직한 구현예에서, 항-IFN- $\alpha$  항체 또는 IFN- $\alpha$  결합 단편, 이들의 합성 또는 생물공학적 유도체는 특히 상이한 IFN- $\alpha$  서브타입에 대한 그 중화 활성에 관해 첨부되는 실시예 및 도면에서 예시된 바와 같은, 항체 19D11의 면역학적 특징 및/또는 생물학적 특성을 갖는다.
- [0041] 본 발명의 예시적인 항-IFN- $\alpha$  항체 26B9 및 31B4는 적어도 인간 IFN- $\alpha$  서브타입 IFNA1/13, IFNA2, IFNA4, IFNA5, IFNA6, IFNA8, IFNA10, IFNA14 및 IFNA21에 결합하며(예로, 도 13 및 18 내지 27 참고) 실시예 및 도 5 내지 7에 기재된 바와 같은 중화 특성을 갖는다. 따라서 하나의 구현예에서, 본 발명의 항체 또는 IFN- $\alpha$  결합 단편은 상기 섹션 (i)에서 정의된 IFN- $\alpha$  서브타입에 부가하여, 적어도 인간 IFN- $\alpha$  서브타입 IFNA1/13, IFNA8

및 IFNA21에 결합한다. 따라서 또 다른 바람직한 구현예에서, 항-IFN- $\alpha$  항체 또는 IFN- $\alpha$  결합 단편, 이들의 합성 또는 생물공학적 유도체는 특히 상이한 IFN- $\alpha$  서브타입에 대한 그 중화 활성에 관해 첨부되는 실시예 및 도면에서 예시된 바와 같은, 항체 26B9 또는 31B4의 면역학적 특징 및/또는 생물학적 특성을 갖는다.

[0042] 본 발명의 예시적인 항-IFN- $\alpha$  항체 25C3은 적어도 인간 IFN- $\alpha$  서브타입 IFNA1/13, IFNA2, IFNA4, IFNA5, IFNA6, IFNA8, IFNA10, IFNA14, IFNA16 및 IFNA21에 결합하며(예로, 도 13 및 18 내지 19 참고) 실시예 및 도 5 내지 7에 기재된 바와 같은 중화 특성을 가지며, 특히 IFNA6, IFNA8, IFNA10 및 IFNA16에 대해 감소된 중화능을 나타낸다. 따라서 하나의 구현예에서, 본 발명의 항체 또는 IFN- $\alpha$  결합 단편은 상기 섹션 (i)에서 정의된 IFN- $\alpha$  서브타입에 부가하여, 적어도 인간 IFN- $\alpha$  서브타입 IFNA1/13, IFNA8, IFNA16 및 IFNA21에 결합하지만 IFNA16의 약한 중화만을 나타낸다. 추가 구현예에서, 본 발명의 항체 또는 IFN- $\alpha$  결합 단편은 또한 IFNA6, IFNA8 및 IFNA10의 약한 중화만을 나타낸다. 따라서 또 다른 바람직한 구현예에서, 항-IFN- $\alpha$  항체 또는 IFN- $\alpha$  결합 단편, 이들의 합성 또는 생물공학적 유도체는 특히 상이한 IFN- $\alpha$  서브타입에 대한 그 중화 활성에 관해 첨부되는 실시예 및 도면에서 예시된 바와 같은, 항체 25C3의 면역학적 특징 및/또는 생물학적 특성을 갖는다.

[0043] 본 발명의 예시적인 항-IFN- $\alpha$  항체 5D1은 적어도 인간 IFN- $\alpha$  서브타입 IFNA2, IFNA4, IFNA5, IFNA6, IFNA8, IFNA10, IFNA14, IFNA16 및 IFNA21에 결합하지만 IFNA1/13에는 결합하지 않으며 실시예 및 도 5 내지 7에 기재된 바와 같은 중화 특성을 갖는다. 따라서 하나의 구현예에서, 본 발명의 항체 또는 IFN- $\alpha$  결합 단편은 상기 섹션 (i)에서 정의된 IFN- $\alpha$  서브타입에 부가하여, 적어도 인간 IFN- $\alpha$  서브타입 IFNA8, IFNA16 및 IFNA21에 결합하지만 IFNA1/13에는 결합하지 않는다. 따라서 또 다른 바람직한 구현예에서, 항-IFN- $\alpha$  항체 또는 IFN- $\alpha$  결합 단편, 이들의 합성 또는 생물공학적 유도체는 특히 상이한 IFN- $\alpha$  서브타입에 대한 그 중화 활성에 관해 첨부되는 실시예 및 도면에서 예시된 바와 같은, 항체 5D1의 면역학적 특징 및/또는 생물학적 특성을 갖는다.

[0044] 본 발명의 예시적인 항-IFN- $\alpha$  항체 13B11은 적어도 인간 IFN- $\alpha$  서브타입 IFNA1/13, IFNA2, IFNA4, IFNA5, IFNA6, IFNA10, IFNA14 및 IFNA16에 결합하지만 IFNA8에는 결합하지 않으며, 실시예 및 도 5 내지 7에 기재된 바와 같은 중화 특성을 갖는다. 따라서 하나의 구현예에서, 본 발명의 항체 또는 IFN- $\alpha$  결합 단편은 상기 섹션 (i)에서 정의된 IFN- $\alpha$  서브타입에 부가하여, 적어도 인간 IFN- $\alpha$  서브타입 IFNA1/13 및 IFNA16에 결합하지만 IFNA8에는 결합하지 않는다. 따라서 추가의 바람직한 구현예에서, 항-IFN- $\alpha$  항체 또는 IFN- $\alpha$  결합 단편, 이들의 합성 또는 생물공학적 유도체는 특히 상이한 IFN- $\alpha$  서브타입에 대한 그 중화 활성에 관해 첨부되는 실시예 및 도면에서 예시된 바와 같은, 항체 13B11의 면역학적 특징 및/또는 생물학적 특성을 갖는다.

[0045] 본 발명의 예시적인 항-IFN- $\alpha$  항체인 항체 8H1은 적어도 인간 IFN- $\alpha$  서브타입 IFNA1, IFNA4, IFNA5, IFNA6, IFNA7, IFNA10, IFNA16, IFNA17 및 IFNA21에 결합하는 반면 IFNA2, IFNA8 및 IFNA14의 더 약한 중화를 나타내며 실시예 및 도 7에 기재된 바와 같은 중화 특성을 갖는다. 따라서 하나의 구현예에서, 본 발명의 항체 또는 IFN- $\alpha$  결합 단편은 상기 섹션 (i)에서 정의된 IFN- $\alpha$  서브타입에 부가하여, 적어도 인간 IFN- $\alpha$  서브타입 IFNA1/13, IFNA17 및 IFNA21에 결합한다. 따라서 추가의 바람직한 구현예에서, 항-IFN- $\alpha$  항체 또는 IFN- $\alpha$  결합 단편, 이들의 합성 또는 생물공학적 유도체는 특히 상이한 IFN- $\alpha$  서브타입에 대한 그 중화 활성에 관해 첨부되는 실시예 및 도면에서 예시된 바와 같은, 항체 8H1의 면역학적 특징 및/또는 생물학적 특성을 갖는다.

[0046] 본 발명의 예시적인 항-IFN- $\alpha$  항체 12H5는 모든 인간 IFN- $\alpha$  서브타입, 즉 IFNA1, IFNA2, IFNA4, IFNA5, IFNA6, IFNA7, IFNA8, IFNA10, IFNA14, IFNA16, IFNA17 및 IFNA21에 결합하고 이를 중화시키며, 실시예 및 도 7에 기재된 바와 같은 중화 특성을 갖는다. 따라서 하나의 구현예에서, 본 발명의 항체 또는 IFN- $\alpha$  결합 단편은 모든 인간 IFN- $\alpha$  서브타입에 결합한다. 따라서 추가의 바람직한 구현예에서, 항-IFN- $\alpha$  항체 또는 IFN- $\alpha$  결합 단편, 이들의 합성 또는 생물공학적 유도체는 특히 상이한 IFN- $\alpha$  서브타입에 대한 그 중화 활성에 관해 첨부되는 실시예 및 도면에서 예시된 바와 같은, 항체 12H5의 면역학적 특징 및/또는 생물학적 특성을 갖는다.

[0047] 하나의 구현예에서, 본 발명의 항-IFN- $\alpha$  항체 및 IFN- $\alpha$  결합 단편은 IFNA21을 인식하고/하거나 중화시키며, 바람직하게는 항체 또는 이들의 단편에 의해 인식되고/되거나 중화되는 임의의 다른 IFNA와 적어도 실질적으로 동일한 결합 선호/중화 활성을 갖는다.

[0048] 또한, 본 발명의 범위 내에서 수행된 실험에서 획득된 예비 결과가 본 발명에 의해 제공되는 예시적인 항체가 적어도 하나의 IFNA 서브타입에 부가하여 도 18에서 항체 26B9 및 31B4에 대해 예시적으로 나타낸 바와 같이 또 다른 I형 인터페론, 즉 IFN-오메가(또한 본원에서 IFNW 또는 IFN- $\omega$ 로 나타냄)에 결합함을 이미 시사한 후, 추가 실험에서 IFNW에 대한 일부 대상 항체, 즉 도 5에서 항체 26B9 및 31B4에 대한 그리고 도 24에서 항체 19D11 대비 항체 26B9에 대한, 도 25-26에서 항체 26B9에 대한, 도 25에서 항체 31B4에 대한, 도 7 및 20에서 항체 8H1에 대한 그리고 도 22에서 항체 50E11에 대한 놀라운 중화 특성이 확인되었다. 따라서 하나의 구현예에서,

본 발명은 또한 적어도 하나의 IFN $\alpha$  서브타입에 더하여 또한 적어도 하나의 다른 I형 인터페론에 결합하는 항-IFN- $\alpha$  항체 및 이들의 IFN- $\alpha$  결합 단편에 관한 것이며, 여기서 바람직하게는 다른 I형 인터페론은 인간 IFN- $\omega$ (IFNW)이다. 해당하는 IFN- $\alpha$  결합 분자는 또한 IFN $\alpha$ /IFNW 결합 분자 또는 항-IFN $\alpha$ /IFNW 항체로 표시될 수 있다. 바람직하게는, 본 발명의 항-IFN- $\alpha$  항체 또는 IFN- $\alpha$  결합 단편은 적어도 하나의 IFN- $\alpha$  서브타입에 부가하여 인간 IFN- $\omega$ (IFNW)의 생물학적 활성을 증화시킬 수 있다. 이러한 항체는 더 높은 역가의 IFNW를 갖는 환자의 예방, 치료 또는 진단에서 사용하기 위해 및/또는 증가된 역가의 IFN $\alpha$  서브타입 및 IFNW를 모두 나타내는 환자를 위해 특히 중요하다. 따라서 추가의 바람직한 구현예에서, 항-IFN- $\alpha$  항체 또는 IFN- $\alpha$  결합 단편, 이들의 합성 또는 생물공학적 유도체는 특히 IFN- $\omega$ 에 대한 그 증화 활성에 관해 첨부되는 실시예 및 도면에서 예시된 바와 같은, 항체 26B9, 31B4, 8H1 또는 50E11의 면역학적 특징 및/또는 생물학적 특성을 갖는다.

[0049] 본 발명의 IFN $\alpha$ /IFNW 결합 분자는 특히, IFN $\alpha$ 의 발현 또는 활성 수준이 또한 증가된 경우, 대상체에서 IFNW의 증가된 발현 또는 활성 수준과 연관된 질환의 예방, 치료법 및/또는 진단에 특히 유용하다. 예를 들어, IFNW는 상승된 수준의 IFN $\alpha$  서브타입에 부가하여, 전신 홍반성 루푸스(SLE) 및 신장 질환 환자의 혈청에서 확인된다; 예로 [M C Dall'Era et al., Ann. Rheum. Dis. 64 (2005), 1692-1697 및 Han et al., Genes and Immunity 4 (2003), 177-186] 참고. 따라서, 여러 I형 IFN을 광범위하게 차단하는 본 발명의 IFN $\alpha$ /IFNW 결합 분자는 IFN $\alpha$ 에만 특이적인 항체보다 잠재적 치료제로서 더 유리할 수 있다. 또한, IFN- $\beta$ 에 더하여 류마티스성 관절염 환자의 혈청은 정상 대조군에 비해 상승된 수준의 IFN- $\omega$ 를 갖지만 IFN- $\alpha$ 는 상승되지 않는 것으로 보고되었다; [Lavoie et al., J. Immunol. 186 (2011), 186, meeting abstract 101.37] 참고. 따라서 본 발명의 IFN $\alpha$ /IFNW 결합 분자는 또한 IFN $\alpha$ 가 관여되지 않거나 유의미하게 관여되지 않는, 그러나 IFNW가 관여되는 자가면역 장애의 치료에서 유용한 것으로 입증될 수 있다.

[0050] 따라서 추가 측면에서, 본 발명은 IFNW에 대한 이들의 증화 활성을 실질적으로 보유하지만, 하나 이상의 IFN- $\alpha$  서브타입에 대한 이들의 결합 특이성 또는 IFN- $\alpha$ 의 결합능을 모두 상실한 인간-유도된 항-IFN- $\alpha$  항체 26B9, 31B4, 8H1 또는 50E11의 합성 또는 생물공학적 유도체인 IFNW 결합 분자에 관한 것이다. 또한, 본 발명은 실시예에 기재된 임의 분석에서 IFNW의 결합 및/또는 증화를 위한, 그러나 반드시 IFN- $\alpha$ 의 결합 및/또는 증화를 위해서가 아닌 임의의 인간-유도된 항-IFN- $\alpha$  항체 26B9, 31B4, 8H1 또는 50E11와 경쟁하는 임의의 IFNW 결합 분자, 바람직하게는 항체 또는 항체 단편에 관한 것이다.

[0051] 또한, 도 18에 나타난 바와 같이, 본 발명의 예시적인 항-IFN- $\alpha$  항체는 I형 인터페론 IFN- $\epsilon$ , IFN- $\beta$ 에 대해, II형 인터페론으로 IFN- $\gamma$ 에 대해 및/또는 III형 인터페론으로 IFN- $\lambda$ (도 18에서 IL-29, IL-28A 및 IL-28B)에 대해 훨씬 더 약한 친화도를 나타내거나 친화도를 나타내지 않는다. 따라서 하나의 구현예에서, 본 발명은 바람직하게는 II형 및/또는 III형 인터페론에 비해 I형에 결합하는 항-IFN- $\alpha$  항체 및 이들의 IFN- $\alpha$  결합 단편에 관한 것이며, 보다 바람직하게는 본 발명의 항-IFN- $\alpha$  항체 및 IFN- $\alpha$  결합 단편은 II형 및 III형 인터페론을 실질적으로 인식하지 않는다.

[0052] 본 발명은 IFN- $\alpha$  결합 분자, 즉 항체 및 이들의 IFN- $\alpha$  결합 단편을 예시하며, 이는 일반적으로 이들의 가변 영역, 즉 결합 도메인에 ( $V_H$ )(서열번호: 2, 10, 18, 22, 30, 38, 76, 84 및 92) 및 ( $V_L$ )(서열번호: 4, 12, 20, 24, 32, 40, 78, 86 및 94)의 도 1에 도시된 아미노산 서열을 포함하는 가변 영역의  $V_H$  및/또는  $V_L$ 의 적어도 하나의 상보성 결정 영역(CDR)을 포함하는 것을 특징으로 할 수 있다 - 도 1에 밑줄치고 표 1에 나타난 예시적인 CDR 서열을 참고하라. 그러나 하기에서 논의된 바와 같이, 당분야 숙련가는 특히 CDR2 및 CDR3의 경우, 도 1에 나타난 것로부터 이들의 아미노산 서열이 1개, 2개, 또는 3개 이상의 아미노산만큼 상이한 CDR이 추가적으로 또는 대안적으로 사용될 수 있다는 점을 잘 인지한다.

[0053] 실시예 및 도에 나타난 바와 같은 특정한 IFN- $\alpha$  서브타입 및 IFNW에 대한 특정 선호 및 증화 능력에 대해, 상기 제공된 일반적인 특징분석은 본 발명의 IFN- $\alpha$  결합 분자, 즉 항체 및 이들의 결합 단편의 하기 그룹으로 하위구분될 수 있다.

[0054] 하나의 구현예에서, 본 발명의 항체 또는 IFN- $\alpha$  결합 단편은 인간-유도된 항체이며, IFN $\alpha$ 1/13, IFN $\alpha$ 2, IFN $\alpha$ 4, IFN $\alpha$ 5, IFN $\alpha$ 6, IFN $\alpha$ 8, IFN $\alpha$ 10, IFN $\alpha$ 14, IFN $\alpha$ 16 및 IFN $\alpha$ 21로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 하나의 IFN- $\alpha$  서브타입에 결합하고, 그 가변 영역에 하기를 포함한다:

[0055] (a) 도 1( $V_H$ )(서열번호: 18); 및 도 1( $V_L$ )(서열번호: 20)에 도시된  $V_H$  및/또는  $V_L$  가변 영역 아미노산 서열의 적어도 하나의 상보성 결정 영역(CDR);

- [0056] (b) 도 1에 도시된  $V_H$  및/또는  $V_L$  영역의 아미노산 서열;
- [0057] (c) (a)의 임의의 하나의 아미노산 서열의 부분적 변경으로 생성된 아미노산 서열로 구성된 적어도 하나의 CDR; 및/또는
- [0058] (d) (b)의 아미노산 서열의 부분적 변경으로 생성된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및/또는 경쇄 가변 영역.
- [0059] 추가적으로 또는 대안적으로, 본 발명의 항체 또는 IFN- $\alpha$  결합 단편은 예시적인 항체 19D11의 결합 특징을 나타내는 것을 특징으로 한다.
- [0060] 실시예 5에 예시되고 도 27a/b에 나타낸 바와 같이, 예시적인 항체 19D11에 의해 특이적으로 인식되는 IFNA2 내 에피토프가 동정되었다. 따라서 하나의 구현예에서, 본 발명의 항체 또는 IFN- $\alpha$  결합 단편, 합성 또는 생물공학 적 유도체는 아미노산 서열 SAAWDETLLDKFYTELYQ(서열번호: 99) 및/또는 RITLYLKEKKYSPCAWEV(서열번호: 100)로 구성된 IFNA2 내 에피토프에 결합할 수 있다.
- [0061] 또 다른 구현예에서, 본 발명의 항체 또는 IFN- $\alpha$  결합 단편은 인간-유도된 항체이며 IFNA1/13, IFNA2, IFNA4, IFNA5, IFNA6, IFNA8, IFNA10, IFNA14 및 IFNA21로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 하나의 IFN- $\alpha$  서브타입에 결합하고, 그 가변 영역에 하기를 포함한다:
- [0062] (a) 도 1( $V_H$ )(서열번호: 30 또는 서열번호: 38); 및 도 1( $V_L$ )(서열번호: 32 또는 서열번호: 40)에 도시된  $V_H$  및/또는  $V_L$  가변 영역 아미노산 서열의 적어도 하나의 상보성 결정 영역(CDR);
- [0063] (b) 도 1에 도시된  $V_H$  및/또는  $V_L$  영역의 아미노산 서열;
- [0064] (c) (a)의 임의의 하나의 아미노산 서열의 부분적 변경으로 생성된 아미노산 서열로 구성된 적어도 하나의 CDR; 및/또는
- [0065] (d) (b)의 아미노산 서열의 부분적 변경으로 생성된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및/또는 경쇄 가변 영역.
- [0066] 추가적으로 또는 대안적으로, 본 발명의 항체 또는 IFN- $\alpha$  결합 단편은 예시적인 항체 26B9 또는 31B4의 결합 특징을 나타내는 것을 특징으로 한다. 따라서 상기 구현예에서, 항-IFN- $\alpha$  항체 또는 IFN- $\alpha$  결합 단편은 바람직하게는 IFN $\omega$ 를 또한 인식하고 중화시킨다; 또한 상기 문헌을 참고하라.
- [0067] 실시예 5에 예시되고 도 27C/D에 나타낸 바와 같이, 예시적인 항체 26B9에 의해 특이적으로 인식된 IFNA2 및 IFN $\omega$  내 에피토프가 동정되었다. 따라서 하나의 구현예에서, 본 발명의 항체 또는 IFN- $\alpha$  결합 단편, 합성 또는 생물공학 적 유도체는 아미노산 서열 YTELYQQLNDLEACVIQG(서열번호: 101)로 구성된 IFNA2의 에피토프 및/또는 아미노산 서열 TGLHQQLQHLETCLLQV(서열번호: 102)로 구성된 IFNA $\omega$ 의 에피토프에 결합할 수 있다.
- [0068] 또 다른 구현예에서, 본 발명의 항체 또는 IFN- $\alpha$  결합 단편은 인간-유도된 항체이며, 서브타입 IFNA1/13, IFNA2, IFNA4, IFNA5, IFNA6, IFNA8, IFNA10, IFNA14, IFNA16 및 IFNA21로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 하나의 IFN- $\alpha$  서브타입에 결합하고, 그 가변 영역에 하기를 포함한다:
- [0069] (a) 도 1( $V_H$ )(서열번호: 22); 및 도 1( $V_L$ )(서열번호: 24)에 도시된  $V_H$  및/또는  $V_L$  가변 영역 아미노산 서열의 적어도 하나의 상보성 결정 영역(CDR);
- [0070] (b) 도 1에 도시된  $V_H$  및/또는  $V_L$  영역의 아미노산 서열;
- [0071] (c) (a)의 임의의 하나의 아미노산 서열의 부분적 변경으로 생성된 아미노산 서열로 구성된 적어도 하나의 CDR; 및/또는
- [0072] (d) (b)의 아미노산 서열의 부분적 변경으로 생성된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및/또는 경쇄 가변 영역.
- [0073] 추가적으로 또는 대안적으로, 본 발명의 항체 또는 IFN- $\alpha$  결합 단편은 예시적인 항체 25C3의 결합 특징을 나타내는 것을 특징으로 한다.
- [0074] 또 다른 구현예에서, 본 발명의 항체 또는 IFN- $\alpha$  결합 단편은 인간-유도된 항체이며, 서브타입 IFNA2, IFNA4, IFNA5, IFNA6, IFNA8, IFNA10, IFNA14, IFNA16 및 IFNA21로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 하나의 IFN- $\alpha$  서브타입에 결합하지만 IFNA1/13에는 결합하지 않고, 그 가변 영역에 하기를 포함한다:
- [0075] (a) 도 1( $V_H$ )(서열번호: 2); 및 도 1( $V_L$ )(서열번호: 4)에 도시된  $V_H$  및/또는  $V_L$  가변 영역 아미노산 서열의 적어

도 하나의 상보성 결정 영역(CDR);

- [0076] (b) 도 1에 도시된  $V_H$  및/또는  $V_L$  영역의 아미노산 서열;
- [0077] (c) (a)의 임의의 하나의 아미노산 서열의 부분적 변경으로 생성된 아미노산 서열로 구성된 적어도 하나의 CDR; 및/또는
- [0078] (d) (b)의 아미노산 서열의 부분적 변경으로 생성된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및/또는 경쇄 가변 영역.
- [0079] 추가적으로 또는 대안적으로, 본 발명의 항체 또는 IFN- $\alpha$  결합 단편은 예시적인 항체 5D1의 결합 특징을 나타내는 것을 특징으로 한다.
- [0080] 또 다른 구현예에서, 본 발명의 항체 또는 IFN- $\alpha$  결합 단편은 인간-유도된 항체이며, 서브타입 IFNA1/13, IFNA2, IFNA4, IFNA5, IFNA6, IFNA10, IFNA14 및 IFNA16으로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 하나의 IFN- $\alpha$  서브타입에 결합하고, 그 가변 영역에 하기를 포함한다:
- [0081] (a) 도 1( $V_H$ )(서열번호: 10); 및 도 1( $V_L$ )(서열번호: 12)에 도시된  $V_H$  및/또는  $V_L$  가변 영역 아미노산 서열의 적어도 하나의 상보성 결정 영역(CDR);
- [0082] (b) 도 1에 도시된  $V_H$  및/또는  $V_L$  영역의 아미노산 서열;
- [0083] (c) (a)의 임의의 하나의 아미노산 서열의 부분적 변경으로 생성된 아미노산 서열로 구성된 적어도 하나의 CDR; 및/또는
- [0084] (d) (b)의 아미노산 서열의 부분적 변경으로 생성된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및/또는 경쇄 가변 영역.
- [0085] 추가적으로 또는 대안적으로, 본 발명의 항체 또는 IFN- $\alpha$  결합 단편은 예시적인 항체 13B11의 결합 특징을 나타내는 것을 특징으로 한다.
- [0086] 또 다른 구현예에서, 본 발명의 항체 또는 IFN- $\alpha$  결합 단편은 인간-유도된 항체이며 IFNA1, IFNA4, IFNA5, IFNA6, IFNA7, IFNA10, IFNA16, IFNA17 및 IFNA21로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 하나의 IFN- $\alpha$  서브타입에 결합하고, 그 가변 영역에 하기를 포함한다:
- [0087] (a) 도 1( $V_H$ )(서열번호: 76); 및 도 1( $V_L$ )(서열번호: 78)에 도시된  $V_H$  및/또는  $V_L$  가변 영역 아미노산 서열의 적어도 하나의 상보성 결정 영역(CDR);
- [0088] (b) 도 1에 도시된  $V_H$  및/또는  $V_L$  영역의 아미노산 서열;
- [0089] (c) (a)의 임의의 하나의 아미노산 서열의 부분적 변경으로 생성된 아미노산 서열로 구성된 적어도 하나의 CDR; 및/또는
- [0090] (d) (b)의 아미노산 서열의 부분적 변경으로 생성된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및/또는 경쇄 가변 영역.
- [0091] 추가적으로 또는 대안적으로, 본 발명의 항체 또는 IFN- $\alpha$  결합 단편은 예시적인 항체 8H1의 결합 특징을 나타내는 것을 특징으로 한다. 따라서 상기 구현예에서, 항-IFN- $\alpha$  항체 또는 IFN- $\alpha$  결합 단편은 바람직하게는 IFNW를 또한 인식하고 중화시킨다; 또한 상기 문헌을 참고하라.
- [0092] 또 다른 구현예에서, 본 발명의 항체 또는 IFN- $\alpha$  결합 단편은 인간-유도된 항체이며 IFNA1/13, IFNA2, IFNA4, IFNA5, IFNA6, IFNA8, IFNA10, IFNA14 및 IFNA21로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 하나의 IFN- $\alpha$  서브타입에 결합하고, 그 가변 영역에 하기를 포함한다:
- [0093] (a) 도 1( $V_H$ )(서열번호: 84); 및 도 1( $V_L$ )(서열번호: 86)에 도시된  $V_H$  및/또는  $V_L$  가변 영역 아미노산 서열의 적어도 하나의 상보성 결정 영역(CDR);
- [0094] (b) 도 1에 도시된  $V_H$  및/또는  $V_L$  영역의 아미노산 서열;
- [0095] (c) (a)의 임의의 하나의 아미노산 서열의 부분적 변경으로 생성된 아미노산 서열로 구성된 적어도 하나의 CDR; 및/또는
- [0096] (d) (b)의 아미노산 서열의 부분적 변경으로 생성된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및/또는 경쇄 가변 영역.
- [0097] 추가적으로 또는 대안적으로, 본 발명의 항체 또는 IFN- $\alpha$  결합 단편은 예시적인 항체 12H5의 결합 특징을 나타

내는 것을 특징으로 한다.

- [0098] 또 다른 구현예에서, 본 발명의 항체 또는 IFN- $\alpha$  결합 단편은 인간-유도된 항체이며 IFNA1/13, IFNA2, IFNA4, IFNA5, IFNA6, IFNA8, IFNA10, IFNA14 및 IFNA21로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 하나의 IFN- $\alpha$  서브타입에 결합하고, 그 가변 영역에 하기를 포함한다:
- [0099] (a) 도 1( $V_H$ )(서열번호: 92); 및 도 1( $V_L$ )(서열번호: 94)에 도시된  $V_H$  및/또는  $V_L$  가변 영역 아미노산 서열의 적어도 하나의 상보성 결정 영역(CDR);
- [0100] (b) 도 1에 도시된  $V_H$  및/또는  $V_L$  영역의 아미노산 서열;
- [0101] (c) (a)의 임의의 하나의 아미노산 서열의 부분적 변경으로 생성된 아미노산 서열로 구성된 적어도 하나의 CDR; 및/또는
- [0102] (d) (b)의 아미노산 서열의 부분적 변경으로 생성된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및/또는 경쇄 가변 영역.
- [0103] 추가적으로 또는 대안적으로, 본 발명의 항체 또는 IFN- $\alpha$  결합 단편은 예시적인 항체 50E11의 결합 특징을 나타내는 것을 특징으로 한다. 따라서 상기 구현예에서 항-IFN- $\alpha$  항체 또는 IFN- $\alpha$  결합 단편은 바람직하게는 IFNW를 또한 적어도 어느 정도까지 인식하고 중화시킨다; 또한 상기 문헌을 참고하라.
- [0104] 요약하면, 하나의 측면에서 본 발명은 이들의 가변 영역에 하기를 포함하는, 인간-유도된 모노클로날 항체 및 IFN- $\alpha$  결합 단편뿐만 아니라 본원에 예시된 대상 항체의 합성 및 생물공학적 유도체에 관한 것이며, 바람직하게는 항체, IFN- $\alpha$  결합 단편 또는 이들의 합성 및 생물공학적 유도체는 실시예에 기재된 임의의 대상 항체의 적어도 하나의 면역학적 특징 및/또는 생물학적 활성, 예로 상이한 IFNA 서브타입 및/또는 IFNW에 대한 중화 활성을 보유한다:
- [0105] (a) (i) 도 1( $V_H$ )(서열번호: 2, 10, 18, 22, 30, 38, 76, 84 및 92); 및 (ii) 도 1( $V_L$ )(서열번호: 4, 12, 20, 24, 32, 40, 78, 86 및 94)에 도시된  $V_H$  및/또는  $V_L$  가변 영역 아미노산 서열의 적어도 하나의 상보성 결정 영역(CDR);
- [0106] (b) 도 1에 도시된  $V_H$  및/또는  $V_L$  영역의 아미노산 서열;
- [0107] (c) (a)의 임의의 하나의 아미노산 서열의 부분적 변경으로 생성된 아미노산 서열로 구성된 적어도 하나의 CDR; 및/또는
- [0108] (d) (b)의 아미노산 서열의 부분적 변경으로 생성된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및/또는 경쇄 가변 영역.
- [0109] 또한, 하나의 측면에서 본 발명은 적어도 하나의 IFN-서브타입 및/또는 IFNW에 대한 결합 및/중화에 대해 상기에서 정의된 바와 같은 상기 항체 또는 이들의 단편과 경쟁하는 IFN- $\alpha$  중화 항체 또는 이들의 IFN- $\alpha$  결합 단편에 관한 것이다. 또한, 하나의 구현예에서 본 발명의 항체 또는 이들의 IFN- $\alpha$  결합 단편은
- [0110] (i) 도 1( $V_H$ )(서열번호: 2, 10, 18, 22, 30, 38, 76, 84 및 92); 및 (ii) 도 1( $V_L$ )(서열번호: 4, 12, 20, 24, 32, 40, 78, 86 및 94)에 도시된  $V_H$  및/또는  $V_L$  가변 영역의 적어도 CDR3, 또는
- [0111] 6개, 5개 또는 4개, 바람직하게는 3개 이하, 그리고 가장 바람직하게는 2개 이하 또는 1개 아미노산의 치환, 결실 및/또는 부가에 의해 그 아미노산 서열이 상이한 대응 CDR3을 함유한다.
- [0112] 치료 적용에 특히 적합한 항체를 제공하기 위해, 즉 외래 항체, 예컨대 인간에서 마우스 항체에 대해 관찰되는 바와 같은 본 발명의 항체에 대한 면역학적 반응(HAMA-반응)을 회피하기 위해 본 발명을 예시하는 실시예에 기재되는 예시적인 IFN- $\alpha$  항체가 인간 환자에서 유도되었으므로, 본 발명은 바람직하게는 완전 인간 또는 인간-유도된 항체에 관한 것이다.
- [0113] 상기 맥락에서, 인간화 항체 및 다른 인간-유사 항체와는 대조적으로(아래의 논의를 또한 참고), 본 발명의 인간-유도된 항체는 인체에서 나타난 CDR을 포함하는 것을 특징으로 하며, 이에 따라 실질적으로 면역원성이 될 위험성이 배제된다. 따라서, 항체의 가변 경쇄 및 중쇄 중 하나 또는 둘 다의 적어도 1개, 바람직하게는 2개 및 가장 바람직하게는 전체 3개 CDR이 본원에 예시된 인간 항체에서 유도되는 경우, 본 발명의 항체는 여전히 인간-유도된 것으로 표시될 수 있다.
- [0114] 본 발명의 인간-유도된 항체는 또한 이들 항체가 실제로 처음에는 인간 대상체에 의해 발현되었으며, 예를 들어

지금까지 인간-유사 항체를 제공하기 위해 시도하는 가장 일반적인 방법을 나타낸 파지 라이브러리를 발현하는 인간 면역글로불린에 의해 생성된 시험관내 선택된 구축물 또는 인간 면역글로불린 레퍼토리의 트랜스제닉 동물 발현 부분에서 생성된 이중발생성 항체가 아니라는 것을 강조하기 위해 "인간 자가-항체"로도 불릴 수 있다. 반면, 본 발명의 인간-유도된 항체는 이를 단백질 A 또는 친화도 칼럼을 통해 정제될 수 있는 자체 인간 혈청 항체와 구별하기 위해, 합성, 재조합, 및/또는 생물공학적인 것으로 나타낼 수 있다.

[0115] 그러나, 본 발명은 동물 모델, 예로 인간 IFN- $\alpha$ 를 발현하는 트랜스제닉 마우스에서 본 발명의 항체를 이용하며, 그 추가 연구를 열거한다. 인간에서의 HAMA-반응과 유사한 실험 동물에서의 면역원성 효과를 회피하기 위해, 하나의 측면에서, 본 발명의 항체는 인간화, 이중발생성, 또는 키메라성 인간-쥐과 항체, 바람직하게는 키메라성 설치류-인간 또는 설치류화 항체, 가장 바람직하게는 키메라성 쥐과-인간 또는 쥐과화 항체일 수 있다.

[0116] 본원에서 아래에 보다 상세히 기재된 바와 같이, 본 발명의 항체 또는 이들의 항원-결합 단편은 임의의 유형, 클래스 또는 서브클래스의 면역글로불린 분자이거나 이로부터 유도될 수 있다. 그러나 바람직한 구현예에서, IgG 이소형, 가장 바람직하게는 IgG1 서브클래스인 본 발명의 항체가 제공된다.

[0117] 이러한 인간화, 키메라성, 특히 완전 인간 항체, 이들의 단편 및/또는 원상태 Fab 단편을 제공하기 위해, 본 발명의 항체는 바람직하게는 표 1에 나타낸 C<sub>H</sub> 및 C<sub>L</sub> 아미노산 서열로부터 선택된 아미노산 서열(서열번호: 6, 8, 14, 16, 26, 28, 34, 36, 42, 44, 72, 74, 80, 82, 88, 90, 96 및 98) 또는 언급된 참조 서열에 대해 적어도 60% 동일성, 바람직하게는 70% 동일성, 보다 바람직하게는 80% 동일성, 더욱 바람직하게는 90% 동일성, 특히 바람직하게는 적어도 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 C<sub>H</sub> 및/또는 C<sub>L</sub> 불변 영역을 추가로 포함한다.

[0118] 추가적으로 또는 대안적으로, 본 발명의 항체의 틀 영역은 도 1(V<sub>H</sub>)(서열번호: 2, 10, 18, 22, 30, 38, 76, 84 및 92); 및 도 1(V<sub>L</sub>)(서열번호: 4, 12, 20, 24, 32, 40, 78, 86 및 94)로부터 선택된 아미노산 서열 또는 언급된 참조 서열에 대해 적어도 60% 동일성, 바람직하게는 70% 동일성, 보다 바람직하게는 80% 동일성, 더욱 바람직하게는 90% 동일성, 특히 바람직하게는 적어도 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0119] 상기 언급된 바와 같이, 본 발명의 항체는 APECED/APS1 환자로부터 단리되었다. 상기 맥락에서, 본 출원인의 공동 계류 중인 국제 출원 WO2013/098419에 개시된 실험은 놀랍게도 APECED/APS1 환자가 자가-이뮤노솜, 즉 상이한 IFN $\alpha$  서브타입에 대해 특이적인 광범위한 결합 분자 스펙트럼을 또한 포함하는 자가항체 프로필을 나타냄을 드러내었다. APS1은 자가면역 조절물질(AIRE) 유전자 내 돌연변이에 의해 야기된 희귀한 자가면역 질환이다. AIRE 단백질은 발생하는 가슴샘세포를 관용하기 위해 MHC가 제시하는 여러 말초 자가-항원(예로, 인슐린)의 수질성 가슴샘 상피 내 발현을 제어한다. APS1에서, AIRE 돌연변이는 비정상 음성 선택을 유도하며, 이는 자가반응성 T 세포가 말초로 탈출할 수 있게 한다. 따라서, 환자는 APS1에서 매우 가변적인 임상 특성 스펙트럼을 나타내지만, 보통 내분비 조직의 몇몇 자가면역 장애를 갖는다. 결정적인 APS1 3징후는 만성 점막피부 칸디다증, 부갑상샘저하증 및 부신 부전을 포함한다(Perheentupa, *Endocrinol. Metab. Clin. North Am.* 31 (2002), 295-320). APECED 환자에서 나타나는 다른 임상 상태에는 갑상샘 자가면역 질환, 당뇨병, 생식샘 부전, 백반증, 탈모증, 만성 간염, 만성 위염 및 악성 빈혈 및 상이한 형태의 다른 위장관 증상이 포함된다. APECED/APS1 환자에 관한 추가 상세내용 및 이들의 자가-이뮤노솜의 스크리닝에 대해서는 그 개시 내용이 본원에 참조로 도입되는 국제 출원 WO2013/098419의 기재 및 여기에 기재된 실시예, 특히 112-117페이지의 재료 및 방법 섹션; 117-118페이지의 실시예 1 및 128페이지의 실시예 7 그리고 뒤따르는 표 1 내지 14; 및 168-171페이지의 실시예 17을 참고하라.

[0120] 상기에 상세히 기재되고 실시예 1에 제시된 바와 같이, 하나의 바람직한 구현예에서 본 발명의 항체는 자가면역 다중내분비병-칸디다-외배엽 형성이상(APECED/APS1)을 겪는 인간 대상체의 표본으로부터 또는 그 개시 내용이 본원에 참조로 도입되는 국제 출원 WO2013/098419 및 여기서의 실시예, 특히 112-117페이지의 재료 및 방법 섹션; 117-118페이지의 실시예 1; 156-161페이지의 실시예 10, 특히 여기서의 156페이지의 "환자 및 대조군" 섹션; 그리고 168-171페이지의 실시예 17에 기재된 바와 같은 유사한 자가면역 질환을 겪는 환자로부터 수득된다.

[0121] 상기 맥락에서, 본 발명의 대상 항-IFN- $\alpha$  항체는 인간 항체를 단리하는 신규하고 독점적 방법에 의해 클로닝되었음이 주지되며, 이는 그 개시 내용이 본원에 참조로 도입되는, 본 출원인의 공동 계류 중인 국제 출원

WO2013/098420에 개시된다.

- [0122] 간략하게, 관심 항체를 단리하기 위한 표본은 가능한 항체 반응성을 검출하기 위한 말초혈 단핵구(PBMC) 및 혈청을 포함하거나 이로 구성된다. 대상체로부터 유도된 표본은, 예로 하나 이상의 원하는 항원(들)에 대한 혈청 반응성 평가를 위해 직접 이용될 수도 있고, 또는 추가 가공, 예를 들어 B 림프구에 대해 농축될 수도 있다. 특히, 표본이 관심 항체를 생산하는 B 세포, 가장 바람직하게는 메모리 B 세포를 포함하거나 이로부터 유도되는 것이 바람직하다. 메모리 B 세포는 B 세포의 한정된 수명만을 허용하는 조건 하에, 전형적으로 B 세포 배양으로부터 원하는 항원에 대해 반응성인 세포의 선별 뒤 면역글로불린 유전자 레퍼토리를 수득하기 위한 단일 정렬된 세포의 RT-PCR 전까지 1 내지 2주 이하로 배양된다; 상세한 설명에 대해서는, 그 개시 내용이 본원에 참조로 도입되는 WO2013/098419의 118 내지 120 페이지의 실시예 1 및 2, 특히 WO2013/098420의 27 내지 31페이지의 실시예 1 내지 4를 참고하라. 자연적으로, 본 발명은 위에서 그리고 아래에서 본원에 정의된 바와 같이 구별되고 독특한 특징을 갖는 항체를 생산하는, 불멸화된 인간 B 메모리 림프구 및 B 세포로 각각 연장된다.
- [0123] 따라서 선택된 환자 풀을 이용하는 것에 더하여, 자가면역 질환 환자, 예컨대 APECED/APS1 환자의 B 세포로부터 인간 모노클로날 항체를 단리하기 위해 특이적으로 개발되고 채택된 특정 방법을 채용함으로써 항-IFN- $\alpha$  항체가 제공되었다.
- [0124] 하나의 구현예에서, 본 발명의 항체 또는 IFN- $\alpha$  결합 분자는 도 1에 도시된 또는 표 1에 나타낸 바와 같은 대응 핵산에 의해 인코딩된  $V_H$  및/또는  $V_L$  영역의 아미노산 서열을 포함한다. 또한, 또 다른 구현예에서 본 발명은 항-IFN- $\alpha$  항체 또는 IFN- $\alpha$  결합 분자에 관한 것이며, 이는 적어도 하나의 인간 IFN- $\alpha$  서브타입 및/또는 인간 IFN- $\omega$ 에 대한 특이적 결합에 있어서 본원에서 상기 정의된 바와 같은 본 발명의 항체와 경쟁한다.
- [0125] 특히, 실시예 및 도에 예시된 항체에 대해 개요된 바와 같은 면역학적 결합 특징 및/또는 생물학적 특성을 나타내는 항-IFN- $\alpha$  항체가 제공된다. 존재하는 경우, 용어 "면역학적 결합 특징" 또는 항체의 항원의 다른 결합 특징은 모든 그 문법적 형태에서 항체의 특이성, 친화도, 교차반응성, 및 다른 결합 특징을 나타낸다.
- [0126] 실시예에 나타낸 바와 같이, 본 발명의 항체는 특히 대부분의 IFN $\alpha$  서브타입뿐만 아니라 26B9, 31B4 및 8H1 항체의 경우 IFN $\omega$ 에 대해 나노몰 농도 미만 범위인 이들의 높은 중화 활성을 특징으로 한다. 바람직하게는, 인간-유도된 모노클로날 항체 및 IFN- $\alpha$  결합 단편뿐만 아니라 이들의 합성 및 생물공학적 유도체는 적어도 1개, 2개, 3개, 4개, 5개, 6개, 7개, 8개, 9개, 10개, 11개, 12개 또는 거의 모든 IFN $\alpha$  서브타입 및 선택적으로 IFN $\omega$ 에 대해 본원에 예시된 대상 항체의 ISRE(인터페론 자극 반응 요소) 리포터 유전자 분석에서 결정되는 IC50 값을 나타내거나 이들의 IC50값은 임의의 IFN $\alpha$  서브타입 및 선택적으로 IFN $\omega$ 에 대해 실시예 및 도면에 예시된 대상 항체에 대해 결정된 IC50값과 50% 이하, 바람직하게는 40% 미만, 보다 바람직하게는 30% 미만, 더욱 바람직하게는 20% 미만, 특히 바람직하게는 10% 미만으로 상이하다. 바람직한 구현예에서, 본 발명의 항체 또는 유사한 IFN-결합 분자는 적어도 5개, 바람직하게는 6개, 보다 바람직하게는 7개, 더욱 바람직하게는 8개 또는 유리하게는 9개 또는 10개의 인간 IFN- $\alpha$  서브타입 및/또는 인간 IFN- $\omega$ 에 대해  $\leq 10$ ng의 IC50값을 갖는다.
- [0127] 추가 구현예에서, 본 발명의 항체는 항체 단편이다. 예를 들어, 본 발명의 항체 또는 항체 단편은 단일쇄 Fv 단편(scFv), F(ab') 단편, F(ab) 단편, F(ab')<sub>2</sub> 단편 및 단일 도메인 항체 단편(sdAB)으로 구성된 군으로부터 선택될 수 있다.
- [0128] 본 발명의 항체의 추가 장점은 체액성 면역 반응이 그 생리적 및 세포 환경에서 원상태 항원에 대해 야기되었다는 사실에 기인하여, 전형적으로 맥락 내, 예를 들어 다른 세포 성분과의 그 제시, 세포 표면 막 상의 제시 및/또는 수용체로의 결합으로 인해 항원의 입체형태적 에피토프를 인식하는 자가항체가 생산되고 단리될 수 있다는 것이다. 대조적으로, 모노클로날 항체, 예컨대 마우스 모노클로날, 이들의 인간화 버전 또는 파지 디스플레이로부터 수득된 항체를 생성하는 통상적인 방법은 전형적으로 각각 비-인간 포유류의 면역화 및 검출을 위해 표적 단백질의 항원성 단편을 채용하며, 이 때 보통 그 생리적 및 세포 맥락에서 원상태 단백질의 존재 하에서가 아니라 면역원의 2차원 구조에 제한된 입체형태적 에피토프 또는 선형 에피토프를 인식하는 항체가 수득된다. 따라서, 본 발명의 자가항체가 이들의 에피토프 특이성 측면에서 독특하다는 것을 예상하는 것이 합당하다. 따라서, 본 발명은 또한 본 발명의 방법에 따라 단리된 자가항체와 실질적으로 동일한 결합 특이성을 나타내는 항체 및 유사-결합 분자에 관한 것이다. 이러한 항체는, 예를 들어 경쟁적 ELISA에 의해 또는 보다 적절하게는 참조 항체로서 본 발명의 자가항체 및 이들의 모노클로날 유도체를 각각 이용하는 세포 기반 중화 분석 및 실시예에 기재되거나 당분야 숙련자에게 널리 공지되어 있는 면역학적 평가에 의해 쉽게 평가될 수 있다.
- [0129] 실시예 및 도면, 예로 도 19에서 추가 예시된 바와 같이, 본 발명의 항체는 바람직하게는 인간 공여자로부터 단

리되고 이에 따라 인간 IFN $\alpha$  서브타입에 결합한다. 따라서 하나의 구현예에서, 본 발명의 항-IFN- $\alpha$  항체 및 IFN- $\alpha$  결합 단편은 인간 항원을 유일하게 또는 적어도 다른 중, 예컨대 마우스로부터의 대응하는 항원에 비해 선호하여 인식한다. 또 다른 구현예에서 본 발명의 항-IFN- $\alpha$  항체 및 IFN- $\alpha$  결합 단편은 다른 종의 적어도 하나의 IFN $\alpha$  서브타입에 결합하며, 바람직하게는 다른 종은 마우스이다. 본 발명의 항체의 결합 특징, 예컨대 특이성 및 친화도는 본원에서, 예로 실시예 2, 5 및 6 및 도 2-3 및 8-13, 및 18 내지 27에 기재되고 나타낸 바와 같은 몇몇 실험 분석에서 평가되었다.

[0130] 본 발명의 항체에 대해 추가로 설명된 바와 같이, 이들은 이들의 표적 단백질의 생물학적 활성을 중화시킬 수 있다; 예로, 실시예 3 및 도 5 내지 7에 기재된 STAT1 인산화 분석 및 인터페론 특이적 반응 요소 리포터-유전자 분석 결과를 참고하라. 상기 맥락에서, 용어 "중화"는 본 발명의 항체가 본 발명의 대상 항체의 존재 하에 각각의 분석을 수행함으로써 평가될 수 있는 생화학적 또는 세포-기반 분석에서 그 표적 단백질의 생물학적 활성을 간섭할 수 있음을 의미하며, 여기서 표적 단백질의 생물학적 활성은 본 발명의 항체의 부재 및 화합물, 예를 들어 표적 단백질의 생물학적 활성이 영향받지 않도록 하는 것으로 공지된 종류의 대조군 항체의 존재 하의 단백질의 생물학적 활성에 비해 분석을 받는 본 발명의 항체의 수준 증가와 동시에 감소된다. 이러한 생화학적 및 시험관내 기반 분석은 또한 표적 단백질의 생물학적 활성을 중화시킬 수 있는 것으로 공지된, 예컨대 본 발명의 항-IFN- $\alpha$  항체에 대해 나타낸 바와 같은 참고 항체를 이용해서, 후보 항체를 평가 표본에 가하여 수행될 수 있고, 여기서 참조 및 후보 항체의 조합 활성에서 생성되는 부가적 중화 효과가 관찰될 수도 있고, 또는 어느 한 항체의 표지에 의해 결정될 수 있는 후보 항체 및 참조 항체의 경쟁이 관찰되기도 한다. 따라서 본 발명의 바람직한 구현예에서, 본 발명의 방법에 의해 수득된 항체는 그 항원, 예로 적어도 하나의 인간 IFN- $\alpha$  서브타입의 생물학적 활성을 중화시킬 수 있다.

[0131] 본 발명의 항체 또는 항원-결합 단편, 예로 펩타이드, 폴리펩타이드 또는 융합 단백질은, 상기 나타낸 바와 같이, 예를 들어 숙주 세포 또는 시험관내 무세포 번역 시스템 내 발현에 의해 제공될 수 있다. 펩타이드, 폴리펩타이드 또는 융합 단백질을 숙주 세포 내에서 발현하기 위해, 상기 펩타이드, 폴리펩타이드 또는 융합 단백질을 인코딩하는 핵산 분자를 적절한 발현 벡터, 즉 삽입된 코딩 서열의 전사 및 번역을 위해 필요한 요소를 함유하는 벡터 내로 삽입할 수 있다. 당업자에게 널리 공지된 방법이 관심 폴리펩타이드를 인코딩하는 서열을 및 적절한 전사 및 번역 조절 요소를 함유하는 발현 벡터를 구축하기 위해 이용될 수 있다. 이들 방법에는 시험관내 재조합 DNA 기법, 합성 기법 및 생체내 유전자 재조합이 포함된다. 이러한 기법은 [Sambrook et al., *Molecular Cloning, A Laboratory Manual* (1989), 및 Ausubel et al., *Current Protocols in Molecular Biology* (1989)]에 기재되어 있다; 또한 이와 관련한 상세 내용에 대해서는 더 아래의 "폴리뉴클레오타이드" 및 "발현" 그리고 실시예 섹션에서 언급된 문헌을 참고하라.

[0132] 산물의 발현에 적합한 숙주 세포는 임의의 원핵생물 또는 진핵생물 세포; 예로, 박테리아 세포 예컨대 대장균 또는 고초균, 곤충 세포(배큘로바이러스), 효모 세포, 식물 세포 또는 동물 세포일 수 있다. 그러나 효율적인 가공을 위해, 포유류 세포가 바람직하다. 상기 목적을 위해 유용한 전형적인 포유류 세포주에는 CHO 세포, HEK 293 세포, COS 세포 및 NSO 세포가 포함된다.

[0133] 본 발명의 단리된 항체는 당연히 환자에게 그대로 적용되지 않을 수 있지만, 보통 예로 환자에서 이들의 안정성, 허용 가능성 및 생체이용률을 보장하기 위해 약학적으로 제형화되어야 한다. 따라서 하나의 구현예에서, 단리된 모노클로날 항체 또는 이들의 단편을 약학적으로 허용 가능한 담체와 혼합하는 단계를 추가로 포함하는 본 발명의 방법이 제공된다. 약학적으로 허용 가능한 담체는 아래에서 더 상세히 기재될 것이다.

[0134] 특히 약학적 이용을 위한, 본 발명의 결합 분자의 안정하고 영구적인 원천을 수득하기 위한 조치로서, 이들 결합 분자를 인코딩하는 이종성 유전자가 직접적 클로닝, PCR 증폭, 또는 인공적 합성에 의해 단리되고 적합한 숙주 세포 또는 유기체에 도입되고 발현될 수 있다. 따라서, 본 발명의 목적은 또한 하기 단계를 포함하는, 재조합 인간 항-IFN- $\alpha$  항체 또는 이들의 IFN- $\alpha$  결합 단편의 생산에 유용한 재조합 세포의 제조 방법을 제공하는 것이다:

[0135] (a) 상술된 바와 같은 방법에 의해 B 세포를 제조하는 단계;

[0136] (b) 핵산을 서열분석하고/하거나 하기를 인코딩하는 핵산을 B 세포로부터 수득하는 단계;

[0137] (i) 표 1에 나타낸 적어도 하나의 C<sub>H</sub> 및 C<sub>L</sub> 아미노산 서열(서열번호.: 6, 8, 14, 16, 26, 28, 34, 36, 42, 44, 72, 74, 80, 82, 88, 92, 96 및 98) 또는 적어도 60% 동일성을 갖는 아미노산 서열;

- [0138] (ii) - 도 1( $V_H$ )(서열번호: 2, 10, 18, 22, 30, 38, 76, 84 및 92); 및
- [0139] - 도 1( $V_L$ )(서열번호: 4, 12, 20, 24, 32, 40, 78, 86 및 94)에 도시된  $V_H$  및/또는  $V_L$  가변 영역 아미노산 서열의 적어도 하나의 상보성 결정 영역(CDR);
- [0140] (iii) 도 1에 도시된  $V_H$  및/또는  $V_L$  영역의 아미노산 서열;
- [0141] (iv) (a)의 임의의 하나의 아미노산 서열의 부분적 변경으로 생성된 아미노산 서열로 구성된 적어도 하나의 CDR;
- [0142] (v) (ii)의 아미노산 서열의 부분적 변경으로 생성된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및/또는 경쇄 가변 영역; 및/또는
- [0143] (c) 숙주에서 관심 항체의 발현을 허용하기 위해 발현 숙주 내로 핵산을 삽입하는 단계.
- [0144] 본원에 기재된 바와 같은 숙주 세포도 선행 방법에서 그리고 본 명세서의 "숙주" 섹션에 상세히 기재된 바와 같이 사용될 수 있다. 상기 측면에서, 하나의 구현예에서 발현 숙주가 효모 세포, 식물 세포 또는 동물 세포인 상기 방법이 제공된다.
- [0145] 또한, 하나의 구현예에서, 하기를 포함하는, IFN- $\alpha$  및/또는 IFN- $\omega$ 의 발현 및 활성화에 연관된 장애의 치료에 사용하기 위한 약학적 조성물의 제조 방법이 제공된다:
- [0146] (a) 상기 정의된 바와 같은 숙주 세포를 배양하는 단계;
- [0147] (b) 배양으로부터 본 발명의 항체, 이들의 IFN- $\alpha$  결합 단편, 생물공학적 유도체 또는 면역글로불린 사슬(들)을 약학 등급으로 정제하는 단계; 및
- [0148] (c) 본 발명의 항체, 이들의 IFN- $\alpha$  결합 단편 또는 이들의 생물공학적 유도체를 약학적으로 허용 가능한 담체와 혼합하는 단계.
- [0149] 각각의 관심 항체를 생산하기 위한 상술된 방법에 관해, 하나의 구현예에서 본 발명은 핵산이 제한효소 부위를 도입하고, 코돈 사용을 변화시키고, 및/또는 전사 및/또는 번역 조절 서열을 부가하거나 최적화하기 위해 상기 단계 (b) 및 (c) 사이에 조작되는 방법을 제공한다.
- [0150] 첨부된 실시예 2 및 3에 나타내고 표 4에 요약된 바와 같이, 적어도 하나의 인간 IFN- $\alpha$  서브타입에 대해 낮은 억제 농도(IC50)를 가지며 특히 높은 결합 친화도(EC50/ED50) 및/또는 특히 높은 시험관내 중화 활성을 나타내는 결합 분자, 즉 항체가 동정되고 클로닝되었다. 이에 관해, 하나의 구현예에서 본 발명의 항-IFN- $\alpha$  항체 및 이들의 IFN- $\alpha$  결합 단편은 그 각각의 표적 분자, 예로 본원에서 상기 정의된 바와 같은 인간 IFN- $\alpha$  서브타입에 대해 높은 친화도를 가지며, 100 ng/ml 미만, 바람직하게는 20 ng/ml 미만, 보다 바람직하게는 10 ng/ml 미만 농도에서 EC50을 나타낸다. 대안적으로 또는 추가적으로, 하나의 구현예에서 항-IFN- $\alpha$  항체 및 이들의 IFN- $\alpha$  결합 단편은 적어도 하나의 인간 IFN- $\alpha$  서브타입에 대해 높은 중화력을 가지며, 500, 400, 300 또는 100 ng/ml 미만, 바람직하게는 20 ng/ml 미만, 보다 바람직하게는 10 ng/ml 미만, 가장 바람직하게는 5 ng/ml 미만 농도에서 IC50을 나타낸다. 본 발명의 항체의 결합 친화도에 대한 보다 상세한 내용은, 예로 더 아래의 "결합 특징" 섹션을 참고하라.
- [0151] 본 발명은 또한 본 발명의 항체 또는 항원-결합 단편의 면역글로불린 사슬의 적어도 가변 영역을 인코딩하는 폴리뉴클레오타이드에 관한 것이다. 바람직하게는, 상기 가변 영역은 도 1에 나타낸 가변 영역의  $V_H$  및/또는  $V_L$ 의 적어도 하나의 상보성 결정 영역(CDR)을 포함한다.
- [0152] 유도된 서열의 경우, 상기 서열은 상기 나타내고 서열목록에서 확인되는 서열로 구성된 균의 서열과 적어도 60% 동일성, 보다 바람직하게는(하기 순서로) 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 가장 바람직하게는 95%, 적어도 96-99%, 또는 심지어 100% 동일성을 나타낸다. 두 서열 간 동일성 백분율은 두 서열의 최적 정렬을 위해 도입되어야 하는 갭의 수 및 각 갭의 길이를 고려하여, 서열에 의해 공유되는 동일한 위치의 수의 함수이다. 두 서열 간 서열 비교 및 동일성 백분율의 결정은 당분야 숙련자에게 널리 공지된 수학적 알고리즘을 이용하여 달성될 수 있다. 본원에서 언급되는 동일성은 위에서 본원에서 추가로 언급된 바와 같은 BLAST 프로그램을 이용해서 결정된다.
- [0153] 상기 언급된 바와 같이, 바람직한 구현예에서 본 발명은 실질적으로 완전 인간 항체, 바람직하게는 적어도 불변

중쇄 I(C<sub>H</sub>1) 및 불변 영역의 대응하는 경쇄, 즉  $\gamma$ -1,  $\gamma$ -2,  $\gamma$ -3 또는  $\gamma$ -4를 램다 또는 카파와의 조합으로 포함하는 IgG에 관한 것이다. 특히 바람직한 구현예에서, 실시예에 예시된 대상 항체에 대해 단리된 불변 영역의 뉴클레오타이드 및 아미노산 서열이 아래 표 1 및 뉴클레오타이드 서열에 대한 서열번호: 5, 7, 13, 15, 25, 27, 33, 35, 41, 43, 71, 73, 79, 81, 87, 89, 95 및 97 및/또는 아미노산 서열에 대한 서열번호: 6, 8, 14, 16, 26, 28, 34, 36, 42, 44, 72, 74, 80, 82, 88, 90, 96 및 98 또는 이전에 참조된 것들과 적어도 60% 동일성을 갖는 아미노산 서열에 도시된 바와 같이 이용된다.

[0154]

상기에 따라, 본 발명은 또한 본 발명의 항-IFN- $\alpha$  항체 또는 IFN- $\alpha$  결합 단편의 하나의 면역글로불린 사슬의 적어도 가변 영역을 인코딩하는 폴리뉴클레오타이드, 특히 재조합 폴리뉴클레오타이드에 관한 것이다. 전형적으로, 폴리뉴클레오타이드에 의해 인코딩된 상기 가변 영역은 상기 항체의 가변 영역의 V<sub>H</sub> 및/또는 V<sub>L</sub>의 적어도 하나의 상보성 결정 영역(CDR)을 포함한다. 항체의 가변 및 불변 영역은 아래의 "IgG 구조" 섹션에서 보다 상세히 기재되어 있다. 본 발명의 바람직한 구현예에서, 폴리뉴클레오타이드는 아래 표 1에 도시된 바와 같이, 본 발명의 항체의 V<sub>H</sub> 또는 V<sub>L</sub> 영역을 인코딩하는 폴리뉴클레오타이드 서열을 갖는 핵산을 포함하거나, 이로 본질적으로 구성되거나, 이로 구성된다. 이에 관해, 당분야 숙련가는 경쇄 및/또는 중쇄의 적어도 가변 도메인을 인코딩하는 폴리뉴클레오타이드가 면역글로불린 사슬 중 어느 하나 또는 이들 중 단 하나의 가변 도메인을 인코딩할 수 있음을 쉽게 이해할 것이다. 바람직한 구현예에서, 폴리뉴클레오타이드는 본원에서 상기 정의된 바와 같은 항-IFN- $\alpha$  항체 또는 IFN- $\alpha$  결합 단편을 인코딩한다.

표 1

본 발명의 IgG1, 카파, IFN- $\alpha$  특이적 5D1, 13B11, 19D11, 25C3, 26B9, 31B4, 8H1, 12H5 및 50E11 항체의 가변 및 불변 영역(V<sub>H</sub>, V<sub>L</sub>, C<sub>H</sub>, C<sub>L</sub>)의 뉴클레오타이드 서열. 밑줄 친 진한, 진한 뉴클레오타이드 또는 아미노산은 가변 사슬 서열에서의 CDR 코딩 영역을 나타낸다. 밑줄 친, 이탤릭체 뉴클레오타이드 또는 아미노산은 서열분석되지 않았지만 데이터베이스에서 수득된 서열을 나타낸다. 불변 사슬에서, 이러한 영역은 데이터베이스에서 관련 인간 생식 계열 가변 영역 서열과 정렬되고 이에 따라 조정된다; 예로 MRC Centre for Protein Engineering(Cambridge, UK)에서 호스팅되는 Vbase(<http://vbase.mrc-cpe.cam.ac.uk>)를 참고하라.

항체	가변 중쇄(VH) 및 가변 경쇄(VL), 불변 중쇄(CH) 및 불변 경쇄(CL)의 뉴클레오타이드 및 아미노산 서열.
5D1-V <sub>H</sub>	gaaagtcaactggtgcaggccggcgcagagtgaaagcggccggggagctcttgaggatctcctgtaaggtg tctggatcacacctttacaagttattggatcagttgggtgcggcagattccgggaaaggcctggagtgatg gtg <del>aaaattgatcctagagactcttataccatctacaaccgctcctccaagg</del> gcacgtctccatctcagtt gacaagstccatcaccactgtctaccctgcagtggaagcagcctgcaggcctcggacaccgccatttatattgt gtgaga <del>cattatcttacacagtcattgggtgactactttgaccac</del> tgggccagggaaacgctggctccctc tcctct 서열번호: 1
5D1-V <sub>H</sub>	EVQLVQAGAEVYAPGESLRISCKVSGYFTF <del>SYWISWVRQIPGEGLEWMV</del> <del>KIDPRISYTIYNPSFG</del> GHVSI DKSITTVYLQWSSLQASDTAIIYCV <del>RHYLTQSLVDYFIHWGQGITLAV</del> VSS 서열번호: 2
5D1-V <sub>L</sub> 카파형	gacattcagatgaccagctctccatcctccctgtctgcatctgtggagagacagtgaccatcacttg <del>ccgg</del> <del>gcaagtcagagcgtatccaactacttccat</del> tggtatcgacagagccgggaaagccctgaaactcctgac tat <del>tctgcatccaatttgcaact</del> gggtcccatcaagattcaactggcagtggtctgggacagaaatgcaact ctcaccatcaccagctcgcagcctgatgatctcgaacttactactgt <del>caacagactcagcgttacccgttc</del> <del>acttttgccaggggacccaagctggacgtcaga</del> 서열번호: 3
5D1-V <sub>L</sub> 카파형	DIQMTQSPSSLSASVGDSDVTITCR <del>ASQSVSNYPH</del> WYRQKPGKAPELLIYS <del>ASNLQ</del> TGVP SRFTGSGSGTECT LTI TSLQPDFA TYYC <del>QQTHGYPFT</del> FGQGT KLDVR 서열번호: 4
5D1-C <sub>H</sub>	gctccaaccaaggcccatcgctctccccctggcaccctcctccaagagcaacctgggggacagcggcc ctggctgctgtcaaggactacttccccgaaccggtagcggtagctgtggaactcaggccctgacca ggcgtgacacaccttccggctgtctacagtcctcaggactctactcctcagcagcgtggtagccgtccc tccagcacttggcaccagacatcactgcaacgtgaatcacaagcccagcaacaccaagtgagacaag aaagttagcccaaatctgtgacaaaactcacacatgcccaccgtgcccagcactgaaactctgggggaa ccgtcagctctcctctcccccaaaacccaaggacacctcaatcctcccggaccctgaggcaccatgc gtggtgtagcgtgagccagaaacccctgaggtcaagtcaactgtagctgtagggcgtggaggtgcat aatgccaagacaagccggggagggagcagtacaacagcactaccgtgtagcgtctcaccctctg caccaggactgctgaatggcaaggagtacaagtgcaaggtctccaacaagcctccagccccatcgag aaaaccactccaagccaaaaggcagcccagaaaccaagggtgtacacctgccccatccccggatgag ctgaccaagaaccaggtcagcctgactgctgggtcaaaaggctctatcccagcagatcgccgtggagtg gagagcaatggcagccgggaaacaactacaagaaccgctcctccgtgctggactccagcgtctctctc ctctacagcaagctcaccgtgacagagcaggtggcagcagggaaactctctcagctccgtgatcat gaggtctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctccgggtaaatga 서열번호: 5

[0155]

5D1-C <sub>2</sub>	ASTEGPSVFPLA P SSE STSGGTAAL GCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTS GVHT FPAVL QSSGLYSLSSVVTVP SSSLGTQTY ICNVMH E PSNTX YDKXVEPKS CDKTHCTPPCPAP ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VYV D VSHEDPEV KFNWYVDGVEVHN A KTEPREEQYNSYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCEVSNKALPAP IE KTI SXAKGQPRE PQVYTLPPS RDELTKNQVSLTCLVGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFF LYSKLTVDESRWQQGNV FSCSVMHE ALHMHYTKSLSLSPGK 서열번호: 6
5D1-C <sub>1</sub> 카파형	cgaactgtggctgcaccatctgtcttcacatctcccgcca tctgatgagcagtgaaa tctggaactgcctct gttgtgtgctctgataatacttctatcccagagaggccaag tacagtgaa agtggataacccctccaa tcgggtaactccagagagtgtaacagagcaggacagcaaggacagcactacagcctcagcagcaccctg acgctgagcaaa gcagactacgaga aacacaag tctacgctgcgaa gtc <u>ccccatcagggccctgagctcg</u> <u>ccccatcacaagagcttcaacaggggagagcttttag</u> 서열번호: 7
5D1-C <sub>1</sub> 카파형	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVYCLINNFYPR EAKYQWVKYDMLQSGNS QESVTEQDS KDSITYSLSTL TLSKADY EKHKVYACEV <u>TRQGLSSPVTKSFNRGEC</u> 서열번호: 8
13B11-V <sub>2</sub>	Gacgtacagctgttgcagctctggsgagccttga tacagccggsgggctccctgagactctcctgtgcagcc tctggcttactttta ag <u>gactatgccatgagt</u> gggctccggcaggctccagsgaaggcctggagtgsgtc tca <u>gtaa taagtctagtgatataatgtagactatgctgactcctgaaagggc</u> ggttcaaccgtccca gacaattccaacaaca cactcttctgc aaatggacggcctgagagccgacgacagsgcca ttattactgt gcaaaa <u>ccaagata gattgctggtcctcctgsggctttgactcct</u> gggccagsgaa cccctgtctcc gtctcctca 서열번호: 9
13B11-V <sub>2</sub>	DYQLIQSGGGI QPGGSLRLSCAASGFTFK <u>DYAMSWVRQAPGKGLWVSYISRSNI VDYVDSYKGRFTYSR</u> <u>DNSMNTLFLQMDGLRA DDTA IYYCA EPKIM IVVVY PAFGDSWGQGLVSVSS</u> 서열번호: 10
13B11-V <sub>1</sub> 카파형	gacatccagatgaccagtttccatccaccctgtctgca tctgttggagacagcgtcaccatcactg <u>ccgg</u> <u>ggcagtcagagcattagctggctggctggct</u> ggtatcagcaga aacca gsgaaagccctaaactcctgac tat <u>aaggggtctagat tagaaaac</u> gsgctccatcgagg tcaagcggcagtgatctggaacagaa ttcact ctcaccatcgsgagcctgcagcctgatgat tttgcaacttattactgc <u>caacaatat aagacttggagct</u> tc ggccaaggagacc aagsgtaaatcaaa 서열번호: 11
13B11-V <sub>1</sub> 카파형	DIQMTQF PSTLS ASYVGDVYTI TC <u>RASQISISAWLA WYQQK PGKA PELL IYKGSRLENG VPSRFSGSGSGTEFT</u> <u>LTI GSIQPD DFA TYYC QYKTIWTFGGQGTVEIK</u> 서열번호: 12
13B11-C <sub>2</sub>	gcctcca ccaaggcccatcgctctccccctggcaccctcctccaagagca cctctggsggscaca gggcc ctggctgcctgtgcaaggactactccccgaaccggtgacgggtctctgsga actcagggccctgaccagc ggcgtgacacacttccggctgtccctacagtcctcaggactctactccctcagcagctggtagaccctccc tccagcagcttggca cccagacctacatctgaca acgtgaa tcaaacgcca gcaacacca agstgacaag aaagttgagcccaaatctgtgaca aaactcaca catgccaccctgcccagcactgaa ctctggsgsga ccgtcagctctctctcccccaaa acccaaggacacctca tga tccccgaccctgaggtcacatgc gtggtggtagacgtagccac gaagacctgagg tcaagtcaactgtagctggagggctggaggtgcat aatgccaagaca aagccggsgaggagcag tacaacagcactaccgtgtgtagcgtctcaccgtctg caccagactggctgaatggcaaggagtacaagt gcaaggtctccaacaagccctcccagccccatcgag aaaacca tctccaagcca aaaggcagccccgagaacca caggtagtacacctgccccatcccggatgag ctgacca agaaccaggtagcctgacctgctgg tcaaa ggtctctatccagcagatcccgtagagtag gagagcaatggcagccggag aacaactacaaga ccacgctcctggctgtagactccagcgtctctct ctctacagcaagctca cctgtagaca agagcaggtggcagcaggsgaacgtctctca tgcctcggtagcat gaggtctctgaca aacctacacgcagaag agcctctcctgtctccggtaaatga 서열번호: 13
13B11-C <sub>2</sub>	ASTEGPSVFPLA P SSE STSGGTAAL GCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTS GVHT FPAVL QSSGLYSLSSVVTVP SSSLGTQTY ICNVMH E PSNTX YDKXVEPKS CDKTHCTPPCPAP ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VYV D VSHEDPEV KFNWYVDGVEVHN A KTEPREEQYNSYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCEVSNKALPAP IE KTI SXAKGQPRE PQVYTLPPS RDELTKNQVSLTCLVGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFF LYSKLTVDESRWQQGNV FSCSVMHE ALHMHYTKSLSLSPGK 서열번호: 14
13B11-C <sub>1</sub> 카파형	cgaactgtggctgcaccatctgtcttcacatctcccgcca tctgatgagcagtgaaa tctggaactgcctct gttgtgtgctctgataatacttctatcccagagaggccaag tacagtgaa agtggataacccctccaa tcgggtaactccagagagtgtaacagagcaggacagcaaggacagcactacagcctcagcagcaccctg acgctgagcaaa gcagactacgaga aacacaag tctacgctgcgaa gtc <u>ccccatcagggcctgagctcg</u> <u>ccggtca caaagagcttcaacaggggagagtgtag</u> 서열번호: 15

[0156]

13B11-C <sub>1</sub> 카파형	RTVAAPSVFIFPPSDEQLESGTASVYCLINNFYPRRAEVQWYDNLQSGNSQESYVEQDSYEDSTYSLSSITL TLSEKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC 서열번호: 16
19D11-V <sub>2</sub>	<u>gagctcactcttggagctct</u> gggctgaggtgaagagccctgctgctgagggctctctgcaaggct tctggagacaccttcaagcttaccctatcagttggctgacacaggccctggacaaaggcttgaatggaag ggaaggaatctcctgacctggtgacacaactacgctcagaacttccggggcagaatcagattaccgag gacaaagtcggccctcagaccctacttggaaatgagtagcctcagatttggagacagccctgctatctactgt ccgagtcaccagtcggacataattcctctgatttggggacacccctcttgctctggggccagggaaagc <u>ctggtcaccctctctca</u> 서열번호: 17
19D11-V <sub>2</sub>	<u>EVQLLESGAEVFRPGSSVYRVS</u> CRASGDTFS <u>SYPI</u> SWYRQAPGQGLEWMGRILPALGVINVAQNFGRITITA DKSPLTAYLELSLRFEDTAVYYCA <u>SPSADII</u> PSILGTTLFAFWGQGS <u>LVTYSS</u> 서열번호: 18
19D11-V <sub>2</sub> 카파형	<u>gaaatgctgctgacagct</u> ctccagaccctgtctctgtctccggggaaaggccacctctctctgaggg <u>ggcagtcagaatgttagcagactacttaacc</u> gtaccagcagaaaactggccagctctcccggctcctc atctatggggctccagcaggccactggctccagacaggttcagtgccgctgggtctgggacagacttc actctccatcagcagggctggagcctgaaactttcagatgtttactgacagagctatcagtagccacct <u>ctctgtacactttccgacaggggacaaagctggaatcaaa</u> 서열번호: 19
19D11-V <sub>2</sub> 카파형	<u>EVQLLESGAEVFRPGSSVYRVS</u> CRASGDTFS <u>SYPI</u> SWYRQAPGQGLEWMGRILPALGVINVAQNFGRITITA DKSPLTAYLELSLRFEDTAVYYCA <u>SPSADII</u> PSILGTTLFAFWGQGS <u>LVTYSS</u> 서열번호: 20
19D11-C <sub>2</sub>	<u>gctcccaaccaagggccatcggctctccccctgg</u> accctctccaagagcaccctctggggcacaagccct ctgggctgctgctcaaggacttctccccgaaccgctgacggctgctgagaaactcagccgctgaccagc ggcgtgacacaccttcccggctgtctacagctctcaggactctactcctcagcagcgtggtagcctgccc tccagcagcttgggcacccagacctacatctgcaacgtgaatcaaaccccagcaacaccaaggggacaag agagttgagccccaaatctgtgacaaaactcacaatgcccaccgctgcccagcactgaaactcctgggggca ccgtcagctctctcttcccccaaaacccaaggacacctcagatctccccggaccctgaggtcacatgc gtggtggtagcctgagccacgaagacctgaggtcaagtcaactgtagctggagggctggaggtgcat aatgccaagacaagccggcggagggagcagtaacaacagcagctaccgtgtagctgagctctcaccctctg caccagactggctgataagcaaggagtagcaaggtcaaggtctccaacaagccctccagccccatcagag aaaaccactccaaagccaaaaggcagccccagaaaccaagggtgtacacctgccccatcccggggagag atgaccaagaaccagctcagctcagcctgctgcaaaaggctctatcccagcagatcccgctggaggtgg gagagcaatggcagccggagaaactacagaccagcctccctgctgactccgagcggctctctctct ctctatagcaagctcaccgtagacaagagcaggtggcagcagggaactctctcagctccgtagatgat gaggtctgacacaactacagcagaanancctctccctgtccccgggtaaatga 서열번호: 71
19D11-C <sub>2</sub>	<u>ASTKGPSVPLA</u> PSSEKSTSGGTAALGCLVYDYFPEPVYSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVYIVP SSSLGTQTYICNVNHEPSMTEVDERVEPKSCDKHTHTCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VYVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAITKPREPQQYNSYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYEKCKVSNKALPAPIE KTIISAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNVFSVCSYMHAEALHNHYTQKXLSLSPGK 서열번호: 72
19D11-C <sub>2</sub> 카파형	cgaactgtggctgacacatctgtcttcacttcccggcactctgtagagcagtgaaaactggaactgcctct gttgtgtgctgctgataaacttctatcccagagaggccaagtagagtgaaaggatgataacccctccaa tcgggtaactccaggagaggtgtcagagcaggacagcaaggacagcactacagcctcagcagcaccctg acgctgagcaaaagcagactacgagaacacaaagtctacgctgcaaggtcaccatcaggcctgagctcg cccgtcaaaaagagctcaacagggagaggtgtag 서열번호: 73
19D11-C <sub>2</sub> 카파형	RTVAAPSVFIFPPSDEQLESGTASVYCLINNFYPRRAEVQWYDNLQSGNSQESYVEQDSYEDSTYSLSSITL TLSEKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC 서열번호: 74
25C3-V <sub>2</sub>	gagatcagactgtagagctctggggaggtttggtacaaaccggggggctccctgagactctctgtatagcc tctggtttcaccctttaaaagttttgcagtagtggctccggcaggctccaggaaaggctggagtgagct gctatgctggctctcagggtggcagcaaaactatgcaacctccgtgaaaggccgggttctccatctccaga gacaattccaacaactctctatgtgcaaatgacagcctggagctcaggacagcgcctttatattgt gttaaaagagaccagtcagtgccagcagtgacgctcttgacatgtagggccaaaggaccctgctatcgtc tctacc 서열번호: 21

[0157]

25C3-V <sub>2</sub>	EMQIMESGGGLVQPGGSLRLSCVASGFTFX <b>SFAMS</b> WVRQAPGKGLEWVA <b>SVGSQGGSKYYA</b> PSVKG RFSISR DINSNNTL YVQMNLSLGV EDTAFYYCVK <b>ETDAVATHDALIM</b> WGQGLVIYST 서열번호: 22
25C3-V <sub>1</sub> 카파형	gacatccgggtgaccagctctccatcctccctgtctgca tctgtcggagacagggctcaca tctcttgc <b>caag</b> <b>acaagtcagagctttaacata tatc taat</b> tggatcaacagagaccagggaaagccctcagctcctgac tc tct <b>gctgcttccactttcagagt</b> ggggtccatcaagg ttcagtgccagtgatctgggacagacttca tc ctcaccatcatcagctc tacaacctgaagat tctgcatcctactactgt <b>caacagggt taca ttaccocgtac</b> <b>act</b> tttgccaggggaccaaagtgagatcaaa 서열번호: 23
25C3-V <sub>1</sub> 카파형	DIRVTQSPSSLSASVGDVRSI SC <b>QTSQSVN IYLN</b> WYQQRPGKGPQLLI <b>SAASTLQSG</b> VPSRFSGSGSDIFI LTI ISLQPEDSA SYTC <b>QGGYI TPYTF</b> GGGTVEVEIK 서열번호: 24
25C3-C <sub>2</sub>	gctcca ccaaggccatcggctctccccctggcaccctcctccaagagca cctctggggscacagcc ctgggctgctgtgcaaggactctccccgaaccgggtgacgggtctgtgga actcagccctgaccagc ggcgtgacacacctccccggctgtctacagctctcaggactctactcctcagcagcctggtgaccgtcccc tccagcagcttgggacccagacctacatctgcaacgtgaatcacaagccagcaacaccaaggtgacaag agagttgagcccaaatcttgtgaca aaactcaca cataccaccctgcccagcacctgaactcctggggga ccgtcagctctcctctcccccaaaacccaaggacacctcctatgctccccggaccctgaggtcacatgc gtggtgg tggactgagccacgaagacctgagg tcaagtcaactggtagctggacggcgtggaggtgcat aatgccaagaca aagccggggagggagcag tacaacagcactaccgtgtgg tcaagctctcaccctctg caccaggactggctga atggcaaggagtac aagtgcaaggtctccaacaagccctcccagccccatcag aaaacca tctccaagccaaa gggcagccccagaaaccaagg tctacacctgcccccatcccggggagag atgaccaagaaccagg tcaagctgacctgctgctgcaaggctctatcccagcagatcgcctgaggtgg gagagcaatgggacggcggagaaactacaga ccagcctccctgctggactccgagcgtctctctc ctctatagcaagctcaccgtggaca agagcaggtggcagcaggsgaacgtctctca tgcctcgtgatgat gaggtctctgacaaccactacagcagaagagcctctcctctgccccgggtaaatga 서열번호: 25
25C3-C <sub>2</sub>	ASTIGPSVFPLA P SSE STSGGTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTSGVHTFPFV LQSSGLYSLSSVTVYP SSSLGTQTYICNVNHEPSNTEVDERVPEKSCDKHTHTCPPAP ELLGGPSVFLFPPKPEDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNATKTP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYYCKVSNKALPAP IE KTI SEAKGQPREPOVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLLVKGFYPSDI AVEVESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNVFSFCSVMHEALHNHYTQESLSLSLPGK 서열번호: 26
25C3-C <sub>1</sub> 카파형	cgaactgtggctgaccatctgtcttcctccccca tctgatgagcagtgaaa tctggaaactgcctct gttgtgtgctctgataaacctctatccccagagggccaaag tacagtgga agtgagataacgccccca tcgggtaactccccaggagagtctcacagagcaggacagcaaggacagcactacagcctcagcagcactg acgtgagcaaaagcagactacgaga aacacaaagctctacgcctgcgaagtc <b>accatcagggcctgagctcg</b> <b>ccctcacaagagcttcaac agggagagctttag</b> 서열번호: 27
25C3-C <sub>1</sub> 카파형	RTVAAPSVEIFPPSDEQLKESGTASVYCLINLNLYP REAKVQWKEV DNALQSGNSQESVT EQDSKIDSTYSLSSL TLSKADYDKHEVYACEV <b>TRQGLSSPVTKSFNRGEC</b> 서열번호: 28
26B9-V <sub>2</sub>	cagatactactcagagagtcggcccgagactggtgaaagccca cggagacctgtcctcactcctgtagtct tctggtagctccatcagtg <b>gatagtagctactggcc</b> tggattcggcagccccca gggaggggaccagag tggattgg <b>agtgctctat</b> tttagttcgatgaccactaca <b>accctcctcacaag</b> tcggctcagcatctcc gttgacaagcccaagaaccagttctccttaaaagtgacctctgtgactgtcggcagcagggccaca tattac tgtgcagaga <b>caagcccttaccgagtcgga gcca tgaat tgg tggaccct</b> ggggccagggatctctggctc acagctcctca 서열번호: 29
26B9-V <sub>2</sub>	QILIQESGPGVLKPTETLSLTCSSVSGDSIS <b>DKSHYAWI</b> RQPPGKGP EWIG <b>SVYFSSMTHYNPSL</b> KSRVSI VDK PENQFSLEIVTSYTVADTA TYCARQAL <b>ARVGA</b> <b>AWF</b> DPWGQGLVTVSS 서열번호: 30
26B9-V <sub>1</sub> 카파형	gacatca taatgaccagctctccagactcctgcctgtgtctc tggcaggggggtcaccatcaactgca <b>ag</b> <b>tccagccagagcgtct tttcacctccagt aataagagt ttt tagct</b> tggatcagcagaagcca gggaaag tctccccaaattactca tttac <b>tgggcatca acccgcaatcc</b> gggtccctgaccgattcagaggcagcggg tctgggacagattctctctcaccatcaccagctcagagctgaaagtggctgttatttctgt <b>cagcag</b> <b>tgtcagacatccctccact</b> ttcggcggaggggaccagttggagatcaaa 서열번호: 31
26B9-V <sub>1</sub> 카파형	DIINTQSPDSL P VSLGEGVTINC <b>KSSQSYF</b> FTSSNKSLAWYQKPGKSP ELLIY <b>WASTRQSG</b> VPDFRFGSG SGTDFSLTITSLQAEDVAVYF <b>QQCQTSPT</b> FGGGTRLEIK 서열번호: 32

[0158]

26B9-C <sub>2</sub>	gcttcca ccaagggcccatcggtct tccccctggcaccctcctccaagagca cctct gggggscaca gcccgc ctggctg cctgtcaaggact tact tccccgaaccggtagcgggtctctg tggaaactca ggcgcccgtg acca cc ggcgtgcacacct tccccgctgtcc tacagctctcaggactct actccctcagcagcgtggtagccctgccc tccagcagcttggcaccagacct acatctgcaacgtgaatcacaagcccc gcaacacca agstggaca ag aga gttgagccccaaat cttgtgaca aaact cacacatgccaccctgcccagcacct gaactcctgggggza ccgtcagctcttctct tcccccaa aacccaaggacacctca tgaatccccggaccctgaggtcacatgc gtagstggtagcgtgaccacaagacctgagg tcaagtcca actggtacgtggacggcgtggaggtgcat aatgccagaca aagccggggaggagcag tacaacagcacgt accgtgtggtagcgtcc taccgtcttg caccagactggctga atggcaaggagtagca aagtgcaaggtctccaacaaagccctccagcccccatcgag aaaacca tctccaaagccaaaggcagccccgagaaacca cagggtgacacctgcccccat cccgggaggag atgacca agaaccaggtagcctgac cctgctgg tcaaa ggcttctatccccgcacatgcccgtggagtgg gagagca atgggagcgggaga aactacaaga ccaccctccctgctggactccgacgctcttcttct ctctata gcaagctcacccgtggaca agagcaggtggcagcaggggaaactcttctca tgcctccgtatgcat gaggtcttcac aacctacacgcagaagacctctccctgtccccggtaaatga 서열번호: 33
26B9-C <sub>2</sub>	AST EGPVVFPLA PSSXSTSGGTAAL GCLVX DYFPEPVTVSWNSGALTS GVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVP SSSLGTQTYICNVMHK PSNTXVDRVPEKSCDEHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPEDTLMISRTPEVTC VYVIVSHEDPEV KFNWYDGV EYHNAKTEPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YEKCVSNKALPAP IE ETISXAKGQPRE PQVYTLPPSREEMTENVQSLTCLLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFF LYSKLTVDESRWQQGNVVFSCSVMHE ALHKNHYTQKSLSLSPGK 서열번호: 34
26B9-C <sub>2</sub> 카파형	cgaactgtggctgcacatctgtcttcac tctcccccca tctgatgagcagt gaaa tctggaactgctct gttgtgtgctgtcgaataacttctatccccagagaggccaag tacagtgga agstggataacgccctccaa tcgggtaactccaggagaggtgca cacagcaggacagcaag acagcacctacagcctcagcagcaccctg accctgagcaaa gcagactacgaga aacacaag tctacgctgcgaa gta cccatcaggscctgagctcg cccctcaaaaagagct tcaacaggggagagtgttag 서열번호: 35
26B9-C <sub>2</sub> 카파형	RTV AAPSVMFIFP PSDEQLKSGTASVVCLLNNFYP REAEVQWVVDNALQSGNSQESVTEQDS EDSTYSLSS TL TLEADY EKHEVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC 서열번호: 36
31B4-V <sub>2</sub>	cagatacagctg caggagtcggcc caggactgg tggggccca cggagacctgtccctca cttgtagtgc tctggtgactccatca gtcagagtagtcat tactgggctggat tccgagccccca gggagggaa ccagaa tgattggcagtgctctat ttttagctcgatgaccactaca accctccctcacaagt cggctcagcatctcc attgacaaggccatgaataagttctccttaaaagtacctctgtgactgtcggcagcagggccaca tattac tgtgcagagacagggcccttcccag tccggagcca tgaat tggctcgacccttggggcagggaatctctggtc aca gctcctca 서열번호: 37
31B4-V <sub>2</sub>	QIQIQESGPGLVBPTE TSLTCSVSGDSIS QSSHYWAWI RPPPGEGPEWIGSVYFSSHHZYNPSLTSRVS IS IDKAMNEFSLKVTSTVADTA TYCARQALARVGAHWFDPNGQGS LVTSS 서열번호: 38
31B4-V <sub>2</sub> 카파형	gacatca taatgaccagctctccagagctccctgctgtctctggcaggggggtcaccatcaactgcaag tccagccagagcgtct tttcacctccagtaataaggagt tgtttagcttggatcagcaga agccaaggacag tctcccaaatgctca tttac tgggcatca acccgccaatccggggctcctgacga ttcacaggcagcggg tctgggacagatttctctcaccatcgcgggtctgacaggtgaa gatggactgtttatttctgtcagcag tgtcagcatccctccact ttcggggcgggacagattggagctcaga 서열번호: 39
31B4-V <sub>2</sub> 카파형	DIIMTQSPESLPVSLGEGVTINCKSSQSVF FTSSNRSLAWYQKPGQSPKLLIYWA STRQS GVPDRFTGSG SGTDFSLTIAGLQVEDVAVYFCQQCHASPPITFGGGTRLELR 서열번호: 40

[0159]

31B4-C <sub>2</sub>	gcc tcca ccaagggcccatcggtct tccccctggcaccctcctccaagagca cctct gggggcaca gcggcc ctgggtgcctgctcaaggactact tccccgaaccggtagcggtagcggactca ggcgcctgaccaac ggcgtgcacaccttcccgctgtcc tacag tccctcaggaactctactccctcagcagcgtggtagcctgcc tccagcagcttgggca cccagacctacatctgcaacgtgaa tacaagccca gcaacacca aggtggacaag aga gttgagccc aatcttgt gaca aaactcaca catgccaccctgcccagcacctgaactcctggggga ccgtcag tcttctct tcccccaaaacccaaggacacctca tga tccccgaccctgaggtcacatgc gtggtggtagacgtgagccacgaagacctgagg tcaag ttaactgtagcggcggcggtagggtagc aatgccagaca aagcccgsggagggagcag tacaacagcagctaccgtgtgtagcgtctcaccgtctg caccagactgctgaatggcaaggagtagaagtgcaaggtctccaacaagccctccagccccatccag aaaacca tctccaaagccaaa gggcagccccagaaacca caggtagtacacctgccccatccccggagag atgaccaagaaccaggtcagcctgacctgctgg tcaaa ggtctctatcccagcagatcccgtaggtgg gagagcaatggcagccggag aacaactacaaga ccagcctcccgtagctggactccgacggctctctc ctctatagcaagctaccgtgacagagcaggtggcagcagg gaaactctctca tgcctccgtgatc gaggtctcgcacaaactacagcagaagagcctctccctgtccccggtaaatga 서열번호: 41
31B4-C <sub>2</sub>	ASTKGPSVFLA PPSSESTSGGTAALGCLVLDYFP EPVTVSWNSGALTS GVHTFP AVLQSSGLYLSLVVTV SSSLGQTYICNWMHEPSNTEVDKRVPEKCDKHTHTPPCPAP ELLGGPSVFLFPPEKXDTLMISRTPEVTC VVYDVSH EDPEYKFNWYVDGV EVDNAKTEPREEQYNSTYRVYSVLTVLHQDWLNGEYECVSMKALPAP IE KTI SXAKGQPRE PQVYTLPPS REEMTKNQVSLTCLVGFYPSDI AVEWESNGQPEMNYKTPPVLDSDGSFF LYSKLVYDKSRWQQGNVFSKVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK 서열번호: 42
31B4-C <sub>1</sub> 카파형	cgaactgtgctgcacacctgtcttcac tcccgccatctgtagcagctgaaa tctggaaactscctct gttgtgtgctcctgataaacttctatcccagagaggccaaggtacagtgga aggtggataacccctccaa tccggtaactccagagaggtgca cagagcaggacagcaaggacagcactacagcctcagcagcaccctg acgtgagcaaa scagactac gaga aacacaag tctacgctgcgaag tccatcagggcctgagctc cccctcaca aagagctfcaacagggagaggtttag 서열번호: 43
31B4-C <sub>1</sub> 카파형	RTVAAPSVEIFFP PSDEQLSGTASVVCLLNNFYP REAEVQWV DMLQSGNSQESVT EQDSKDYSLSS TL TLSKADYERHEVYACEV <u>THQGLSSPVTKSFMNGEC</u> 서열번호: 44
8H1 V <sub>H</sub>	caggtcagctgtagcag tctgggctgagg tgaag aagcctggggcctcagtgagg tctcctgcaaggct tctggagacaccttcacc <u>agtgatgatcaact</u> gggtgagcagagccctgga caggggctagatggatg gga <u>ggaggaaacctaacactcaggacagggtatgcacagaagtccacggc</u> agactcaccctgaccagc aacagttccataag taca tctatctggagt tagcggcctgaga tctgaggacagggcctgtattactgt scgagag <u>ggggacttcgacctgaccggcactacttcgctttggggct</u> ggggccagggaccagctc atcgtctcctca 서열번호: 75
8H1 V <sub>H</sub>	QVQLVQSGA EVYKPGASV EVSC KASGQFTF <u>SDDINWVRQA PGQGL EWMGWIMPN TQDTGYAQK FHR</u> LTLTS NSSISTSYL ELSGLRSED TAVYYCAR <u>AGTSLTGHYFALGW</u> GGQGTIVVSS 서열번호: 76
8H1 V <sub>L</sub> 카파형	gaca tccagctgaccag tctccatcctccccgtctgcatctgtaggagacagag tca ccatcactgtcag <u>gcaactcaggatattagcaaatatttaatt</u> ggatcagcagaaa ccaggaaa gtcctcaaa cctcgtatc tac <u>gaaacatccaatttgaag</u> tagggctccatca aggtcagtgaaag tggctgggacacatttact ctca ccatcagcagcctgaggctgaa gattttgca acatattactgt <u>caacagtagagaatttccgcttc</u> <u>actt</u> tcggcggagggaccaggtggagatcaaa 서열번호: 77
8H1 V <sub>L</sub> 카파형	DIQLTQSPSSLSASVGDVYITC <u>QATQDISKYL</u> NYQQEPGEVPELLIY <u>ETSNLE</u> GVPSRFSGGSGTHFT LTISLQAE DFATYYC <u>QQYENF PFT</u> FGGGTVEIK 서열번호: 78

[0160]

8H1 C <sub>H</sub>	gcctccaccaaggccca tccgtcttccccctggca cctcctccaagaaccctctgsgggcacagcggcc ctgsgctgctgg tcaaggactacttccccgaaccggtgacggtg tctgsgaac tcaagsgccctga ccaagc ggcgtgacacct tccccgctg tctcaagctctcaaggactctactccc tcaagcagctggtgacctgccc tccagcagcttgggcaccagacctacatctgcaacgtgaatcacaagcccagcaaca ccaaggtggaacaag agagttagcccaaatcttgtgacaaa actcacaca tgcaccaccg tgcaccagca cctgaactcctgsgggga ccgtcagcttcttctcccccaaaa cccaaggacacctctatgatctcccggacctctgaggtca catgc gttggtggtgacgtgagccacg aagaccctg aggtcaagt tcaactggt acgtgacgscgtgsgagg tscat aatgccaagacaa agccgcgggaggagcagtacaacagcagcgtaccgtg tggtcagcgtctctaccg tctctg caccaggactggtgaaatggcaaggag tacaagtgcaagg tctccaaca aagccctccagccccca tggag aaaa ccatctcca aagccaaggggcagccccgagaa ccacaggtgtaca cctgccccatccccgggaggag atgacccaagaaccaggtcagcctgacctgacctgcttcaaaagccttctatcccagcgaca tgccttggagttg gaga gcaatggcgagccggaga acaactaca agaccagcctcccgtctggactccgacggctctctctct ctctatagcaagctcaccctggacaagagcaggtggcagcagggg aacgtcttctcat gctccgtgagcat gaggctctgcacacacctacacgcagaaga gctctcctctcccgggataa 서열번호: 79
8H1 C <sub>H</sub>	ASTIGPSVFLPLAPSSKSTSGGT AALGLVVDYFPEPVYVSWNSGALTSGVHTFP AVLQSSGLYSLSSVVTYP SSSLGTQTY ICMVNHKPSNTKV DERVE PKSCDEHTCPPCPAPEL LGGP SVFLF PPKP IDTLM I SRT PEVTC VVVDVSHEDPEVK FMYVY DGVVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEY KCVSNKAL PAPIE KTISKAEGQPREPQVYTL PPSREEMTENQVSL TCLV EGFY PSDIA VEWESNGQP ENMY KTTTPVLDSDGSFF LYSXLTVDKSRWQGMVF SCSVMHEALHNYTQKSLSLSPGX 서열번호: 80
8H1 C <sub>L</sub> 카파형	cgaactgtgctgcacca tctgtcttcatct tccccccatctaat gacagttgaaatctggaactgcctct gttgtgtgctgctgaaataact tctatcccagagagccca aagta cagtggaaggtgataaacgccctccaa tccgstaact tcccaggagaggtgcacagcagcagcaaggacagca cctacagcctcagcagca cctctg acgctgagcaaaagcagactacgagaaa cacaagctc taccctgcgaagtcacccatcaggscctgagctcg cccgtcaca aaga gcttcaaca ggggagaggttag 서열번호: 81
8H1 C <sub>L</sub> 카파형	RTVA APSVF I FPP SDEQL ESGT ASVVCLLNNFYPRE AFVQWEVDNALQSGNSQESVTE QDSIEDSTYLSSTL TLSE ADYEXHEVY ACEVTHOGL SSPVT KSFNRGEC 서열번호: 82
12H5 V <sub>H</sub>	caagtgcaactga tacagctctggacctgagtgaaagggcctggscctcagtg aaggtctcctgca aggcg tctgaaaacacct tgcac <b>actcattatattaatt</b> ggstgacgacag gccctgga caagsgcttacttggctg gga <b>tgctgaacctaccactggtaaaacaggctttccacaaaagtttaagggc</b> agagtcattctga ccagc gaca cctccctaaa atactgctat atggagtgagccgctgaca tctgaggacagcggctttatttctgt gcca gagg <b>tttgaagttgctgatgag tacaactatggttgcagctct</b> gggcccaagggaccaggtctc gtctcctca 서열번호: 83
12H5 V <sub>H</sub>	QVQL IQSGP EYERPGASVYVSCYASENFD <b>THYIM</b> VRQA PGQGL TWLG <b>WLNPTTGTGFPQKFI</b> GRVILTS DTSLNTAYMEVSR LSTEDTAVYFCAR <b>VLRKLSDEYNYGFY</b> WGQGT TVIVSS 서열번호: 84
12H5 V <sub>L</sub> 카파형	gaca tccagtgta cccagctccatctc tccctgtctgcatctatt ggggacagagtcacatcacstg <b>ccgg</b> <b>gcaagtcagaaca tctcactttataaatt</b> ggatcagcaca aaa ccagggaaa gccctaaa ctcc tgaatc tat <b>gctgcatccg ttttcaaaaat</b> gaa gctccatca aggttcagtggca gsga tctgsgacagatttcaact ctcacatcaccagctctgcaacctgacgatttggaa acttactactg <b>cagcagacttaccttaccctcaa</b> <b>tgca gttttggccaggggacca aggtggagatcaaa</b> 서열번호: 85
12H5 V <sub>L</sub> 카파형	DIQVTSFSSLSA SIGDRVITTC <b>RASQNILTFIN</b> WYQHKPGEAPKLLIY <b>AASVLRQNEV</b> PSRFGSGSGTDFI LTITSLQPDFDFTYYC <b>QQITLPQCSF</b> GGGT KVEIK 서열번호: 86

[0161]

12H5 C <sub>2</sub>	gcctccaccaaggccca tccg tcttcccc tggca cctcctcc aaga gcacc tctg sggscacag cggcc ctgg sctgctgg tcaagg actacttcccc aaccg stga cggstg tctg sgaac tcag gcgccc tga ccaag ggcgtgcacacct tcccggctg tcta cagtcctca ggcactctac tccc tcagcagcg tggtagccg tacc tcca gcagcttgg gcacc caga cctacatct gcaac gtaga atcac aagccagcaaca ccaagstgg acaag aaagttagccca aatct tgtg acaaa actc acaca tggccaccg tggccagca cctg aactcctg sggsga ccgtcagtc tctc tctcccc aaaa ccca aggcacacct catg atct cccgg acccctg aggtca catg stggtggtgacg tgaacc cagc aagaccctg aggtca agt tcaact ggtacgtg acgscgtg sggstgacat aatgccaag acaa agccg cgggaggagcag tacaac agca cgtaccgtg tggtagcgt tctcaccg tctg caccaggact tggc tgaat ggca agtag taca agtgc aagg tctcc aaca aagccctcc cagccccca tcgag aaaa ccatc tcca aagcca aagg ggcag cccc gaga a ccacagstg taca cctg cccc catcc cgggtag ctga ccaag aacc aggtc agctg acc tggc taaaggcttct tatccagc gaca tggcctg sggagstg gaga gcaat sggc agccg gaga acaactaca agacc agcctccc gtc tggactccg accgctctct tctc ctctacagca aagc taccgtgg acaag agcagstgscagcagsgg aacgtctctc atgctcctgtag tscat gaggctctg caca accactaca cscaga aagcctc tccctgtct cgggtaaatga 서열번호: 87
12H5 C <sub>2</sub>	ASTIGPSVFLPAPSSKSTSGGT AALGCLVLDYFPEPVTYSWNSGAL TSGVHTFP AVLQSSGLYSLSSVVTVP SSSLGTQTY ICMWNHPSNTKVDKVE PKSCDHTHTCPPCPAPEL LGGP SVFLF PPKP EDTLM ISRTPEVTC VYVDVSHEDPEVY FMWYV DGVVHNAE KTPREBQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEY ECKFVSNAL PAPIE KTISKAEGQPREPQVYTL PPSRDEL TENQVSLTCLV EGFYPSDIA VEWESNGQPENNY KTTTPVLDSDGSFF LYSLTYDKEFWQGNVFS CSVMHEALHMHY TQKSLSLSPGK 서열번호: 88
12H5 C <sub>2</sub> 카파형	cgaactgctgctg caccatctg tcttcatct tccc ccatctgat gacagttg aactctg gaactg cctct gttgtgtac tctg tgaataact tctat cccagagagccca aagta cagt ggaagstg gataacgcc tccaa tcgggtaac tcccaggag agtgcacagc agcagcagca agcagcagca cctacagcc tcagcagca cctg accctgagca aagcagac tacg aaaaa caca aagctac cctgca agtca cccatc agggcctg agcctg cccgtcaca aaga gcttcaaca ggggag agtgttag 서열번호: 89
12H5 C <sub>2</sub> 카파형	RTVA APSVFI FPPSDEQL KSGT ASVVCLLNNFYPRE AFVQWEVDNALQSGNSQESVTE QDSYDSTYLSLSTL TLSEADYEHKHY ACEVTHOGL SSPVT KSFNRGEC 서열번호: 90
50E11 V <sub>2</sub>	caggtagcagctgg tgcag tctg sggcagaga tgaagaagcctgg tctcggtag aagstctcctgca aggat tttgaggcacccttcagc <b>gtctatggtgcaact</b> ggstg cagcag gcccctgga caagsgcttgagtgatg gggggctcatcctct <b>cattgsgcagctaactacgcacagaagtccagggc</b> agaa tccaccattactg gacgaatccacagacacagcctatagtag ttagcagcctgaga tttgacgacagccatttattattgt tgaag <b>gacgacaacgaat</b> ttggggccagggaacctggctaccgtctcctg 서열번호: 91
50E11 V <sub>2</sub>	QVQLVQSGAEMKRP GSSVYVSC KDFGGTFSY <b>YGVN</b> VRQA PGQGL EWMG <b>GLIPVIGPANYAQK FGR</b> ITITA DESTSTAYMELSSLRFDITAIYYCVRD <b>DINEY</b> WGQGITLVTVSS 서열번호: 92
50E11 V <sub>2</sub> 카파형	gaaatggtgctgacacag tctccagccacctgtct tttctcca ggaagaaag gcca cctctctct <b>tagg</b> <b>gccaagcagactgttagcacttcttagcct</b> ggtag caacagaaa cctggcaggttccagcctctctgct tac <b>gatatctcctccaggccaat</b> ggcactccagccagst tcaagtgccggtgg tctg sgcagact tcaact ctca ccatcagca gcctagaacttgaagattttgctgttattactgt <b>cagtgcgtagcaactggcctcc</b> <b>tcgctcact</b> ttcggcggagggaccagstgagatcaaa 서열번호: 93
50E11 V <sub>2</sub> 카파형	EMVL TQSPA TLSPGERATLSC <b>RASQIVSTFLAWY</b> QKPGQVPRLLVY <b>DISSRAN</b> GT PARFSGGGSGTDF LTISLSELEDFAVYYC <b>QWRSNPPSLT</b> FGGGTRVEIK 서열번호: 94

[0162]

50E11 C <sub>2</sub>	gcctccaccaaggccca tccg tcttcccc tggca cctcctcc aaga gcacc tctg sggscacag cggcc ctgg sctgctgg tcaagg actacttcccc aaccg stga cggstg tctg sgaac tcag gcgccc tga ccaag ggcgtgcacacct tcccggctg tcta cagtcctca ggcactctac tccc tcagcagcg tggtagccg tacc tcca gcagcttgg gcacc caga cctacatct gcaac gtaga atcac aagccagcaaca ccaagstgg acaag aaagttagccca aatct tgtg acaaa actc acaca tggccaccg tggccagca cctg aactcctg sggsga ccgtcagtc tctc tctcccc aaaa ccca aggcacacct catg atct cccgg acccctg aggtca catg stggtggtgacg tgaacc cagc aagaccctg aggtca agt tcaact ggtacgtg acgscgtg sggstgacat aatgccaag acaa agccg cgggaggagcag tacaac agca cgtaccgtg tggtagcgt tctcaccg tctg caccaggact tggc tgaat ggca agtag taca agtgc aagg tctcc aaca aagccctcc cagccccca tcgag aaaa ccatc tcca aagcca aagg ggcag cccc gaga a ccacagstg taca cctg cccc catcc cgggtag ctga ccaag aacc aggtc agctg acc tggc taaaggcttct tatccagc gaca tggcctg sggagstg gaga gcaat sggc agccg gaga acaactaca agacc agcctccc gtc tggactccg accgctctct tctc ctctacagca aagc taccgtgg acaag agcagstgscagcagsgg aacgtctctc atgctcctgtag tscat gaggctctg caca accactaca cscaga aagcctc tccctgtct cgggtaaatga 서열번호: 95
50E11 C <sub>2</sub>	ASTIGPSVFLPAPSSKSTSGGT AALGCLVLDYFPEPVTYSWNSGAL TSGVHTFP AVLQSSGLYSLSSVVTVP SSSLGTQTY ICMWNHPSNTKVDKVE PKSCDHTHTCPPCPAPEL LGGP SVFLF PPKP EDTLM ISRTPEVTC VYVDVSHEDPEVY FMWYV DGVVHNAE KTPREBQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEY ECKFVSNAL PAPIE KTISKAEGQPREPQVYTL PPSRDEL TENQVSLTCLV EGFYPSDIA VEWESNGQPENNY KTTTPVLDSDGSFF LYSLTYDKEFWQGNVFS CSVMHEALHMHY TQKSLSLSPGK 서열번호: 96
50E11 C <sub>2</sub> 카파형	cgaactgctgctg caccatctg tcttcatct tccc ccatctgat gacagttg aactctg gaactg cctct gttgtgtac tctg tgaataact tctat cccagagagccca aagta cagt ggaagstg gataacgcc tccaa tcgggtaac tcccaggag agtgcacagc agcagcagca agcagcagca cctacagcc tcagcagca cctg accctgagca aagcagac tacg aaaaa caca aagctac cctgca agtca cccatc agggcctg agcctg cccgtcaca aaga gcttcaaca ggggag agtgttag 서열번호: 97
50E11 C <sub>2</sub> 카파형	RTVA APSVFI FPPSDEQL KSGT ASVVCLLNNFYPRE AFVQWEVDNALQSGNSQESVTE QDSYDSTYLSLSTL TLSEADYEHKHY ACEVTHOGL SSPVT KSFNRGEC 서열번호: 98

[0163]

- [0164] 당분야 숙련가는 상술된 가변 도메인을 갖는 항체의 가변 도메인이 원하는 특이성 및 생물학적 기능을 갖는 다른 폴리펩타이드 또는 항체의 구축을 위해 이용될 수 있음을 쉽게 이해할 것이다. 따라서, 본 발명은 또한 상술된 가변 도메인의 적어도 하나의 CDR을 포함하며, 유리하게는 첨부된 실시예에 기재된 항체와 실질적으로 동일하거나 유사한 결합 특성을 갖는 폴리펩타이드 및 항체를 포괄한다. 당분야 숙련가는 본원에 기재된 가변 도메인 또는 CDR을 이용하여 항체가 당분야에 공지된 방법에 따라, 예로 유럽 특허 출원 EP 0 451 216 A1 및 EP 0 549 581 A1에 기재된 바와 같이 구축될 수 있음을 쉽게 이해할 것이다. 또한, 당분야 숙련가는 부분적으로 Kabat에 의해 정의된 CDR과 중첩되는 고가변 루프(Chothia and Lesk, *J. Mol. Biol.* 196 (1987), 901-917) 내 또는 CDR 내에서 아미노산 치환을 수행하여 결합 친화도가 증대될 수 있음을 안다. 따라서, 본 발명은 또한 언급된 CDR 중 하나 이상이 하나 이상의, 바람직하게는 2개 이하의 아미노산 치환을 포함하는 항체에 관한 것이다. 바람직하게는, 본 발명의 항체는 서열번호: 2, 10, 18, 22, 30, 38, 76, 84 및 92에서 V<sub>H</sub> 영역에 대해, V<sub>L</sub> 영역에 대해 서열번호: 4, 12, 20, 24, 32, 40, 78, 86 및 94에서 또는 도 1에 나타난 바와 같은 가변 영역의 2개 또는 전체 3개의 CDR을 그 면역글로불린 사슬 중 하나 또는 둘 다에 포함한다.
- [0165] 상술된 항체를 인코딩하는 본 발명의 폴리뉴클레오타이드는, 예로 임의의 이들 폴리뉴클레오타이드를 단독으로 또는 조합으로 포함하는 DNA, cDNA, RNA 또는 합성적으로 생산된 DNA 또는 RNA 또는 재조합적으로 생산된 키메라성 핵산 분자일 수 있다. 하나의 구현예에서, 폴리뉴클레오타이드는 가변 영역 및 적어도 일부 불변 도메인을 인코딩하는 cDNA이다. 바람직한 구현예에서, 상기 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 벡터는 선택적으로 상기 항체의 다른 면역글로불린 사슬의 가변 영역을 인코딩하는 상기 폴리뉴클레오타이드와 조합되어 제공된다. 상기 벡터는 적합한 숙주 세포 내에 적합한 조건 하에 상기 벡터의 선택을 허용하는 추가 유전자, 예컨대 마커 유전자를 포함할 수 있다.
- [0166] 바람직하게는, 본 발명의 폴리뉴클레오타이드는 원핵생물 또는 진핵생물 세포에서 발현을 허용하는 발현 조절 서열에 작동가능하게 연결된다. 상기 폴리뉴클레오타이드의 발현은 폴리뉴클레오타이드의 번역 가능한 mRNA로의 전사를 포함한다. 진핵생물 세포, 바람직하게는 포유류 세포에서의 발현을 보장하는 조절 요소는 당분야 숙련가에게 널리 공지되어 있다. 이들은 보통 전사 개시를 보장하는 조절 서열 및 선택적으로 전사 종결 및 전사체의 안정화를 보장하는 폴리-A 신호를 포함한다. 추가적인 조절 요소에는 전사 인핸서 뿐만 아니라 번역 인핸서, 및 /또는 천연 연관된 또는 이중성 프로모터 영역이 포함될 수 있다.
- [0167] 이에 관해, 당분야 숙련가는 경쇄 및/또는 중쇄의 적어도 가변 도메인을 인코딩하는 폴리뉴클레오타이드가 면역글로불린 사슬 둘 다 또는 사슬 하나만의 가변 도메인을 인코딩할 수 있음을 쉽게 이해할 것이다.
- [0168] 마찬가지로, 상기 폴리뉴클레오타이드는 동일한 프로모터의 조절 하에 있을 수도 있고 또는 발현에 대해 별도로 조절될 수도 있다. 원핵생물 숙주 세포에서 발현을 허용하는 가능한 조절 요소는, 예로 대장균에서의 P<sub>L</sub>, lac, trp 또는 tac 프로모터를 포함하며, 진핵생물 숙주 세포에서 발현을 허용하는 조절 요소에 대한 예는 효모에서의 AOX1 또는 GAL1 프로모터 또는 포유류 또는 다른 동물 세포에서의 CMV-, SV40-, RSV-프로모터, CMV-인핸서, SV40-인핸서 또는 글로빈 인트론이다.
- [0169] 전사 개시에 관여되는 요소에 더하여, 이러한 조절 요소는 또한 전사 종료 신호, 예컨대 SV40-폴리-A 부위 또는 tk-폴리-A 부위를 폴리뉴클레오타이드 하류에 포함할 수 있다. 또한 이용되는 발현 시스템에 따라, 폴리펩타이드를 세포 구획으로 보내거나 이를 배지 내로 분비시킬 수 있는 리더 서열이 본 발명의 폴리뉴클레오타이드의 코딩 서열에 부가될 수 있고 당분야에 널리 공지되어 있다. 리더 서열(들)은 번역, 개시 및 종료 서열과 적절한 상으로 조립되며, 바람직하게는 리더 서열은 번역된 단백질 또는 이들의 일부의 원형질막 주위 공간 또는 세포 외 매질 내로의 분비를 지시할 수 있다. 선택적으로, 이중성 서열은 원하는 특징, 예로 발현된 재조합 산물의 안정화 또는 정제 단순화를 부여하는 C- 또는 N-말단 확인 펩타이드를 포함하는 융합 단백질을 인코딩할 수 있다. 상기 맥락에서, 적합한 발현 벡터, 예컨대 Okayama-Berg cDNA 발현 벡터 pcDV1(Pharmacia), pCDM8, pRc/CMV, pcDNA1, pcDNA3(Invitrogen), 또는 pSPORT1(GIBCO BRL)은 당분야에 공지되어 있다.
- [0170] 바람직하게는, 발현 조절 서열은 진핵생물 숙주 세포를 형질전환시키거나 전달감염시킬 수 있는 벡터 내의 진핵생물 프로모터 시스템일 것이지만, 원핵생물 숙주에 대한 조절 서열도 이용될 수 있다. 벡터가 적절한 숙주 내로 도입되면, 숙주는 뉴클레오타이드 서열의 고수준 발현에 적합한 조건 하에 유지되며, 필요에 따라 면역글로불린 경쇄, 중쇄, 경쇄/중쇄 이량체 또는 온전한 항체, 결합 단편 또는 다른 면역글로불린 형태의 수집 및 정제가 뒤따를 수 있다; [Beychok, *Cells of Immunoglobulin Synthesis*, Academic Press, N.Y., (1979)]를 참고하라.

- [0171] 또한, 본 발명은 항원 또는 바람직하게는 본 발명의 항체의 면역글로불린 사슬의 가변 도메인을 인코딩하는 폴리뉴클레오타이드를; 선택적으로 본 발명의 항체의 다른 면역글로불린 사슬의 가변 도메인을 인코딩하는 본 발명의 폴리뉴클레오타이드와의 조합으로 포함하는, 유전자 조작에서 통상적으로 이용되는 벡터, 특히 플라스미드, 코스미드, 바이러스 및 박테리오파지에 관한 것이다. 바람직하게는, 상기 벡터는 발현 벡터 및/또는 유전자 전달 또는 표적화 벡터이다.
- [0172] 바이러스, 예컨대 레트로바이러스, 박시니아 바이러스, 아데노-연관 바이러스, 헤르페스 바이러스, 또는 소 유두종 바이러스로부터 유도된 발현 벡터가 본 발명의 폴리뉴클레오타이드 또는 벡터의 표적화된 세포 모집단 내로의 전달을 위해 이용될 수 있다. 당분야 숙련자에게 널리 공지된 방법이 재조합 바이러스 벡터를 구축하기 위해 이용될 수 있다; 예를 들어, [Sambrook, *Molecular Cloning A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory (1989) N.Y. 및 Ausubel, *Current Protocols in Molecular Biology*, Green Publishing Associates and Wiley Interscience, N.Y. (1994)]에 기재된 기법을 참고하라. 대안적으로, 본 발명의 폴리뉴클레오타이드 및 벡터는 표적 세포로의 전달을 위해 리포솜 내로 재구성될 수 있다. 본 발명의 폴리뉴클레오타이드(예로, 면역글로불린 사슬 인코딩 서열의 중쇄 및/또는 경쇄 가변 도메인(들) 및 발현 조절 서열)을 포함하는 벡터는 세포 숙주 유형에 따라 변하는, 널리 공지된 방법에 의해 숙주 세포 내로 전달될 수 있다. 예를 들어, 칼슘 클로라이드 전달감염은 원핵생물 세포에 대해 일반적으로 이용되는 반면, 칼슘 포스페이트 처리 또는 전기천공은 다른 세포 숙주의 형질전환을 위해 이용될 수 있다; [Sambrook, 상기 문헌]을 참고하라.
- [0173] 상기에 관해, 본 발명은 또한 상기 폴리뉴클레오타이드 또는 벡터를 포함하는 숙주 세포에 관한 것이다. 상기 숙주 세포는 원핵생물 또는 진핵생물 세포일 수 있다. 숙주 세포에 존재하는 본 발명의 폴리뉴클레오타이드 또는 벡터는 숙주 세포 계통 내로 통합될 수도 있고 또는 염색체 외로 유지될 수도 있다. 숙주 세포는 임의의 원핵생물 또는 진핵생물 세포, 예컨대 박테리아, 곤충, 진균, 식물, 동물 또는 인간 세포일 수 있다; 본 발명의 항체 생산을 위해 적합한 숙주 세포 및 방법은 아래의 "숙주 세포" 섹션에 보다 상세히 기재되어 있다.
- [0174] 상기 언급된 숙주 세포를 이용하여, 예로 치료적 개입을 위한 표적으로 또는 약학적 이용을 위해 본 발명의 항체를 생산하고 제조할 수 있다. 따라서 하나의 구현예에서, 하기를 포함하는, 항-IFN- $\alpha$  항체 또는 이들의 IFN- $\alpha$  결합 단편의 제조 방법을 제공하는 것이 본 발명의 목적이다:
- [0175] (a) 상기 본원에서 정의된 바와 같이 세포를 배양하는 단계; 및
- [0176] (b) 배양으로부터 상기 항체 또는 이들의 IFN- $\alpha$  결합 단편을 분리하는 단계.
- [0177] 따라서, 본 발명은 본 발명의 폴리뉴클레오타이드에 의해 인코딩되거나 항-IFN- $\alpha$  항체 또는 이들의 면역글로불린 사슬(들)의 상기 언급된 제조 방법에 의해 수득 가능한 재조합 항체 또는 이들의 IFN- $\alpha$  결합 단편 이들의 면역글로불린 사슬(들)에 관한 것이다. 항체 및 이들의 모사체의 재조합 생산을 위한 수단 및 방법뿐만 아니라 항체일 수도 항체가 아닐 수도 있는 경쟁적 결합 분자에 대한 스크리닝 방법은 당분야에 공지되어 있다. 그러나 본원에 기재된 바와 같이, 특히 인간에서의 치료적 적용에 대해, 본 발명의 항체는 상기 항체의 적용이 키메라성 및 심지어 인간화 항체에 대해 달리 관찰되는 이러한 항체에 대해 일어나는 면역 반응이 실질적으로 없다는 점에서 재조합 인간 항체이다.
- [0178] 결합 분자, 항체 또는 이들의 단편은 치료제로 직접 사용될 수 있다. 그러나 하나의 구현예에서, 본 발명에 의해 제공되는 항체 또는 항원-결합 단편은 검출 가능하게 표지되거나 약물에 부착되며, 바람직하게는 검출 가능한 표지는 효소, 방사성동위원소, 형광단, 펩타이드 및 중금속으로 구성된 군으로부터 선택된다. 본 발명의 표지된 항체 또는 항원-결합 단편은 시험관내 "면역화학/면역표지" 유사 분석을 포함하여 생체내 또는 시험관내에서 특이적 표적을 검출하기 위해 이용될 수 있다. 생체내에서 이들은 조직, 세포 또는 관심 항원을 발현하는 다른 물질을 검출하기 위해 핵 의학 조영 기법과 유사한 방식으로 이용될 수 있다. 표지, 진단에서의 이들의 용도 및 본 발명의 결합 분자에 대한 이들의 커플링은 더 아래에 "표지 및 진단" 섹션에 보다 상세히 기재되어 있다.
- [0179] 본 발명의 항체는 자가면역 장애를 겪는 동물 또는 인간으로부터 분리된다. 반면, 본 발명에서 동정된 IFN- $\alpha$  특이적 항체는, 예로 APECED 환자에서 관찰된 증상에 연관되는 이환 개체의 면역계의 심각한 손상에 관여될 수 있다. 따라서, 본 발명의 추가 측면은 질환이 있는 인간 환자 또는 동물에서 자가-항체의 수 및/또는 이들의 효과를 최소화하기 위한 수단 및 조치를 제공함으로써, 자가면역 장애를 겪는 대상체의 병리적 반응을 소멸시키거나 적어도 완화하는 것이다. 따라서 하나의 구현예에서, 본 발명은 또한 본 발명의 자가항체에 의해 특이적으로 인식된 에피토프를 포함하는 펩타이드 또는 펩타이드-기반 화합물에 관한 것이다. 경쟁적 항원의 적용, 격리 및 그에 따른 자가항체의 이들 각각의 표적에 대한 결합을 방지하는 것과 같은 유사 효과가 더 아래에 상세히 기재

된 바와 같은 항-개별특이형 항체에 의해 수득될 수 있다. 따라서 하나의 구현예에서, 본 발명은 또한 본 발명의 자가항체의 항-개별특이형 항체를 제공한다.

- [0180] 위에서 이미 나타난 바와 같이, 본 발명은 또한 상기 정의된 바와 같은 장애, 즉 자가-관용성의 손상되거나 탈 조절된 생성에 연관된 장애의 치료에 사용하기 위한 본 발명의 항-개별특이형 항체 또는 펩타이드 또는 펩타이드-기반 화합물에 관한 것이다. 본 발명의 이러한 단리된 항체 또는 이들의 단편은 모노클로날 항-개별특이형 패널을 생성하기 위한 면역원으로 이용될 수 있다. 항-개별특이형 항체의 생성을 위해 적합한 방법에 대해서는 [Raychadhuri et al., *J. Immunol.* 137 (1986), 1743]를, 그리고 T-세포에 대해서는 [Ertl et al., *J. Exp. Med.* 159 (1985), 1776]을 참고하라. 항-개별특이형 항체는 [Raychadhuri et al., *J. Immunol.* 137 (1986), 1743]에 상세히 기재된 바와 같이 당분야에서 일상적으로 실시되는 표준 분석을 이용한 내부 이미지 및 비-내부 이미지 개별특이형의 발현에 대해 분석될 수 있다. 항-개별특이형 항체가 이것이 결합하거나 결합되는 항체의 항원을 구조적으로 모사하는 경우, 이는 항원의 "내부 이미지"로 불린다.
- [0181] 자가면역 질환-연관된 자가-항체(자가항체들)의 개별특이형을 모사하는 분자의 제공 방법은 당분야에 기재되어 있다; 예로, 그 내용의 개시가 본원에 참조로 도입된 국제 출원 W003/099868을 참고하라. 예를 들어, 이러한 방법은 하기 단계를 포함할 수 있다: (a) 본 발명의 방법에 따라 자가항체를 제공하는 단계; (b) 자가항체를 고상에 결합시켜 친화도 기제를 형성하는 단계; (c) 면역글로불린을 포함하는 풀링된 혈장 또는 B 세포를 친화도 기제와 접촉시킨 후 결합되지 않은 혈장 성분을 제거하는 단계; (d) 자가항체에 대해 항-개별특이형 항체(항-Id)인 결합된 면역글로불린을 기제로부터 용출하는 단계; (e) 복수의 분자 구성원을 포함하는 분자 라이브러리를 제공하는 단계; 및 (e) 항-Id를 분자 라이브러리와 접촉시키고 항-Id에 결합된 분자를 단리하는 단계(결합된 분자는 자가항체의 개별특이형을 모사하는 분자임). 그 내용의 개시가 본원에 참조로 도입된 국제 출원 W02010/136196에 개시된 개별특이형 자가항체의 단리 방법은 자가면역 질환 및 면역계 장애의 치료를 위해 정상 인간 혈청(NHS)으로부터 단리된 천연 폴리클로날 IgG-반응성 항체(Abs)를 함유하는 면역글로불린 제조물을 기재한다. IgG-반응성 Ab는 항원 조합 부위 내에서 또는 근처에서(예로 이와 중첩되어) 위치하는 이들의 항원성 결정기에 대한 결합에 의해, 자가면역 질환을 겪는 환자의 혈청 중에 존재하는 질환-연관된 또는 병원성 자가항체를 강력히 중화시킨다.
- [0182] 본 발명은 또한 상기 언급된 임의의 하나의 본 발명의 항-IFN- $\alpha$  항체 및/또는 IFN- $\alpha$  결합 단편, 폴리뉴클레오타이드, 벡터, 세포, 펩타이드 또는 펩타이드-기반 화합물 및/또는 조합되어 본 발명의 항체 또는 이들의 IFN- $\alpha$  결합 단편의 특성을 나타내는 항체 또는 이들의 IFN- $\alpha$  결합 단편의 각테일을 포함하는 조성물에 관한 것이다. 추가적으로 또는 대안적으로 하나의 구현예에서, 본 발명의 조성물 또는 키트는 본 발명의 항-개별특이형 항체를 포함한다. 하나의 구현예에서, 조성물은 약학적 조성물이며 약학적으로 허용 가능한 담체를 추가로 포함한다. 약학적으로 허용 가능한 담체, 투여 경로 및 투여 방식은 당분야 숙련자에게 공지된 해당 문헌에서 취할 수 있으며, 또한 더 아래의 "약학 담체" 및 "투여 방식" 섹션에도 보다 상세히 기재되어 있다.
- [0183] 생화학적 및 세포 기반 시험관내 분석에 더하여, 본 발명의 항체의 치료적 유용성은 예컨대 RA, 건선, SLE 또는 T1DM에 대한 적절한 동물 모델에서 검증될 수 있다; 아래 실시예, 예로 실시예 4를 참고하라.
- [0184] 하나의 구현예에서, 약학적 조성물은 염증 또는 자가면역 장애의 치료에 유용한 추가 제제를 추가로 포함하며, 바람직하게는 상기 제제는 비스테로이드성 소염 약물(NSAIDs), 코르티코스테로이드, 항-히스타민 및 이들의 조합으로 구성된 군으로부터 선택된다. 추가적으로 또는 대안적으로, 추가 구현예에서 약학적 조성물은 면역억제 및 소염 또는 "항-류마티스성" 약물로 구성된 군으로부터 선택된, 염증 관련 질환의 치료에 유용한 추가 제제를 추가로 포함한다.
- [0185] 또 다른 구현예에서, 조성물은 진단 조성물 또는 키트이며, 면역- 또는 핵산 기반 진단 방법에서 통상적으로 사용되는 시약을 추가로 포함한다.
- [0186] 또한, 본 발명은 하기 방법에서 사용하기 위한, 본원에서 상기 정의된 바와 같은 임의의 하나의 상기 언급된 항-IFN- $\alpha$  항체 및 이들의 IFN- $\alpha$  결합 단편, 또는 조성물에 관한 것이다:
- [0187] (a) 면역 매개된 또는 자가면역 질환 또는 상태의 진행을 치료 또는 방지하는 방법;
- [0188] (b) 면역 매개된 또는 자가면역 질환 또는 상태에 연관된 증상을 완화하는 방법; 및/또는
- [0189] (c) 면역 매개된 또는 자가면역 질환 또는 상태의 존재에 대해 또는 그 발생에 대한 대상체의 위험을 결정하기 위해 대상체를 진단하거나 스크리닝하는 방법(여기서 질환 또는 상태는 환자에서 IFN- $\alpha$  및/또는 IFN- $\omega$ 의 발현

에 연관됨).

- [0190] 이에 관해 몇몇 적용 경로가 이용될 수 있다. 본 발명의 하나의 구현예에서, 상기 언급된 항체 또는 항원-결합 단편, 항-개별특이형 항체 또는 펩타이드 또는 펩타이드-기반 화합물 및/또는 조합되어 본 발명의 항체의 특성을 나타내는 항체 각테일이 제공되며, 이는 정맥내, 근육내, 피하, 복강내, 비강내, 비경구 또는 에어로졸로 투여되도록 설계된다.
- [0191] 상기 나타난 바와 같이, 이들의 결합 특이성으로 인해, 본 발명의 분자, 예컨대 항체 및 이들의 단편은 바람직하게는 면역 매개된 또는 자가면역 장애 또는 상태의 상기 정의된 치료, 완화, 진단 및/또는 스크리닝 방법에서 이용될 수 있다. 예를 들어, 상승된 IFN- $\alpha$  활성은 SLE 환자 혈청에서 빈번하게 검출되었다(Roennblom *et al.*, *Sem. Immun.* 23 (2011), 113-121). 인터페론-의존적 유전자의 특정 발현 패턴("인터페론 시그니처"로 명명됨)은 다양한 자가면역 장애 환자, 예컨대 쇼그렌 증후군, 피부근염, 다발성 경화증(MS), 건선, 1형 또는 인슐린 의존성 당뇨병(T1DM 또는 IDDM) 및 일부 RA 환자의 백혈구에서 또한 나타난다(예로, Higgs *et al.*, *Eur Musc Rev* (2012), 22-28 참고). 또한, 염증성 관절염, MS 및 T1DM의 발생이 IFN- $\alpha$  치료법 동안 반복적으로 관찰되어, IFN- $\alpha$ 가 적어도 이들 질환을 촉진함을 시사하였다(Crow MK., *Arthritis Res Ther.* (2010), Suppl 1:S5). 추가 데이터는 근염, 전신성 피부경화증, 만성 건선(Higgs *et al.*, *Eur Musc Rev* (2012), 22-28; Bissonnette *et al.*, *J Am Acad Dermatol* (2009), 427-436; Greenberg SA, *Arth Res Ther* (2010): S4;) 및 자가면역 갑상샘염(Prummel and Laurberg, *Thyroid* (2003), 547-551)에서 IFN- $\alpha$ 의 관여를 제시한다. 따라서, 하나의 구현예에서 상기 언급된 방법에서 사용하기 위한 본원에서 상기 정의된 바와 같은 항체 또는 이들의 IFN- $\alpha$  결합 단편 또는 조성물이 제공되며, 여기서 상기 질환은 바람직하게는 전신 홍반성 루푸스(SLE), 피부 홍반성 루푸스(CLE), 원반모양 홍반성 루푸스(DLE), 1형 당뇨병(T1DM) 쇼그렌 증후군, 피부근염, 건선, 자가면역 갑상샘염, 류마티스성 관절염, 척추관절염, 피부경화증으로 구성된 군으로부터 선택된 자가면역 질환 및 백혈병을 포함하는 상이한 암 형태, 예컨대 유방암 및 난소암 그리고 유아기 림프모구 백혈병이다(모두; Einav *et al.*, *Oncogene* 24 (2005), 6367-6375). 예비 결과는 T1DM를 겪거나 겪지 않는 APS1-환자로부터 수득한 항체의 중화 활성에서 차이를 제시하였다(도 4). 그러나 환자 혈청의 보다 상세한 분석으로 두 종류 환자에서 개별 항-IFN $\alpha$  항체의 중화 활성은 실질적으로 동일할 수 있는 반면, 항체 역가 및 IFN 중화 활성의 전체 수준은 T1DM 환자에서 매우 낮은 역가를 가지며 크게 상이함을 드러냈다; 도 31 및 32를 참고하라. 따라서, 하나의 구현예에서 본 발명은 그 혈청 표본이 대조군 표본, 즉 질환 증상이 없는 T1DM 환자 또는 건강한 대상체로부터의 혈청에 비해 적어도 하나의 IFN- $\alpha$  서브타입의 사이토카인에 대해 더 낮은 중화 활성을 나타내는 것으로 결정된 환자에서 T1DM의 치료에 사용하기 위한 본원에 기재된 IFN- $\alpha$  및 IFN- $\alpha/\omega$  결합 분자뿐만 아니라 다른 IFN- $\alpha$  결합 분자에 관한 것이다.
- [0192] 예로, 본원에 제시된 증거에 연관된 장애의 치료에 적합한 여러 분자로 인해, 본 발명은 또한 이러한 장애의 치료, 진단 및/또는 가능한 경과 및 결과의 예진 방법에 관한 것이며, 바람직하게는 면역 매개된 또는 자가면역 질환 또는 상태는 본 발명의 분자의 사용에 대한 IFN- $\alpha$  및/또는 IFN- $\omega$ 의 발현에 연관된다. 하나의 구현예에서, 상기 언급된 항체 또는 항원-결합 단편, 조합되어 본 발명의 항체, 항-개별특이형 항체 또는 펩타이드 또는 펩타이드-기반 화합물의 특성을 나타내는 항체 각테일의 치료적 유효량을 이를 필요로 하는 대상체에 투여하는 단계를 포함하는 이러한 장애의 치료 방법이 제공된다.
- [0193] 또한, 하나의 구현예에서 본 발명은 하기를 포함하는 리간드 결합 분자의 치료적 유효량을 대상체에 투여하는 단계를 포함하는, IFN- $\alpha$  및/또는 IFN- $\omega$ 의 발현에 연관된 면역 매개된 또는 자가면역 질환 또는 상태의 치료 방법에 관한 것이다:
- [0194] (i) 본 발명의 항-IFN- $\alpha$  항체 및 IFN- $\alpha$  결합 단편의 적어도 하나의 CDR; 또는
- [0195] (ii) 본원에서 상기 정의된 바와 같은 적어도 하나의 항-개별특이형 항체 및/또는 펩타이드 또는 펩타이드-기반 화합물.
- [0196] 질환에 관련되거나 이를 유도하는 특정 항원의 에피토프에 특이적인 단 하나의 모노클로날 항체의 사용에 기반한 치료 방법은 몇몇 단점을 겪을 수 있다. 예를 들어, 치료의 어려움 및 가능한 비효율성이 몇몇 항원을 동시에 표적화하는 것을 필요로 하는 특정 장애를 유도하는 여러 병원성 기전에서 야기될 수 있다. 또한, 예로 적어도 사용되는 모노클로날 항체의 감소된 결합 효율로 이어질 수 있는 상이한 또는 한 환자에서의 주어진 항원의 다형성, 당화의 이종성 또는 약간의 변성에 관한 환자 모집단의 내재적 다양성이 고려되어야 한다. 이들 단점의 일부는, 예로 항원이 치료받을 환자에 대해 면역학적으로 관련되는지 그리고 특정 환자에 임의의 에피토프 변화가 있는지를 결정하기 위한 치료 전 스크리닝에 의해 회피될 수 있다. 그러나 이러한 스크리닝은 종종 치료 긴급성 또는 비용 제약으로 인해 생략된다. 따라서, 본 발명은 또한 환자에게 한 번에 둘 이상의 유형의 결합 분

자의 적용, 즉 결합 분자 카테일의 적용에 기반한 방법에 관한 것이다. 이들 결합 분자는 IFN- $\omega$ 의 상이한 에피토프 및/또는 하나의 에피토프에서 하나의 IFNA 서브타입에 특이적으로 결합할 수 있고, 적용된 각각의 결합 분자가 또 다른 IFNA 서브타입에 특이적으로 결합할 수 있거나 몇몇 결합 분자가 둘 이상의 IFNA 서브타입 및/또는 IFN- $\omega$ 의 몇몇 에피토프에 결합하는데 이용된다. 본 발명의 결합 분자가 항원으로서 하나의 IFNA 서브타입에 대한(특이적으로 결합하는) 경우, 이들의 결합 특이성은 상기 항원의 구별되는 에피토프에 대한 것이다. 이러한 카테일의 사용은 약 3000여 내인성 항원에 대한 자가항체의 존재의 측면에서 종종 하나의 특정 항체에 대한 단일치료법을 받아들이지 않는 자가면역 장애, 예컨대 APS1을 겪는 환자의 치료에 대해 특히 고려된다. 이러한 경우, 동일하거나 상이한 항원 특이성을 갖는 본 발명의 2개 이상의 모노클로날 항체 및/또는 펩타이드 및 펩타이드-기반 화합물을 이용한 조합 치료법은 증상의 적어도 일부 완화를 달성할 것으로 예상된다.

[0197] 따라서, 하나의 구현예에서 하기로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 2개, 3개, 4개, 5개 이상의 성분으로 본질적으로 구성된 카테일의 치료적 유효량을 대상체에 투여하는 단계를 포함하는 추가적인 장애의 치료 방법이 제공된다:

[0198] - 본원에서 상기 정의된 바와 같은 IFNA 서브타입 및/또는 IFN- $\omega$ 에 특이적으로 결합하는 본 발명의 항-IFN- $\alpha$  항체 및 IFN- $\alpha$  결합 단편; 및/또는

[0199] - 본 발명의 항-개별특이형 항체 및/또는 본 발명의 펩타이드 또는 펩타이드-기반 화합물(상기 펩타이드 또는 펩타이드-기반 화합물은 본 발명의 항-IFN- $\alpha$  항체 및 IFN- $\alpha$  결합 단편에 의해 특이적으로 인식되는 에피토프를 포함함).

[0200] 본 발명은 하나 이상의 서브타입의 IFN- $\alpha$  및/또는 IFN- $\omega$ 의 발현에 연관된 면역 매개된 또는 이에 연관된 자가면역 상태 및 장애의 진단 및/또는 질환 발생, 즉 그 진행, 치료에 대한 반응 또는 회복의 예진에 대한 진단 및 예진 방법으로도 자연히 연장된다. 따라서, 하나의 구현예에서 본 발명은 대상체의 생물학적 표본을 본 발명의 항-IFN- $\alpha$  항체 및 IFN- $\alpha$  결합 단편과 접촉시키는 단계, 및 IFN- $\alpha$  및/또는 IFN- $\omega$ 의 존재를 검출하는 단계를 포함하는, 대상체에서 IFN- $\alpha$ 의 발현에 연관된 면역 매개된 또는 자가면역 질환 또는 상태의 진단 방법에 관한 것이다. 또한, 하나의 구현예에서 본 발명은 표본을 본 발명의 항-IFN- $\alpha$  항체와 혼합하는 단계, 항체가 혼합물에 존재하는 임의의 IFN- $\alpha$  서브타입 및/또는 IFN- $\omega$ 와 복합체를 형성하도록 두는 단계, 및 혼합물에 존재하는 복합체를 검출하는 단계를 포함하는 분리된 생물학적 표본 중 IFN- $\alpha$  및/또는 IFN- $\omega$ 의 검출 또는 결정 방법에 관한 것이다.

[0201] 이미 상기 언급된 바와 같이, 하나의 구현예에서 본 발명은 IFN- $\alpha$  및/또는 IFN- $\omega$ 의 발현에 연관된 면역 매개된 또는 자가면역 질환 또는 상태의 진단용 키트에 관한 것이며, 상기 키트는 상기 언급된 항-IFN- $\alpha$  항체 및 IFN- $\alpha$  결합 단편, 항-개별특이형 항체 또는 펩타이드 또는 펩타이드-기반 화합물, 폴리뉴클레오타이드, 벡터 또는 세포를 선택적으로 시약 및/또는 사용 지침과 함께 포함한다. 인간 투여를 위한 제조, 사용 또는 판매 당국의 허가를 반영하는 통지인 약학적 또는 생물학적 제제의 제조, 사용 또는 판매를 규제하는 정부 당국에서 처방된 형태의 통지가 본 발명의 키트에, 예로 키트를 포함하는 용기 내에 연관될 수 있다. 추가적으로 또는 대안적으로, 키트는 적절한 진단 분석에서 사용하기 위한 시약 및/또는 지침을 포함한다. 본 발명의 조성물, 즉 키트는 당연히 IFN- $\alpha$ 의 발현에 수반되는 장애의 진단, 예방 및 치료에 특히 적합하며, 특히 상기 언급된 바와 같은 질환의 치료에 적용 가능하다. 특히 바람직한 구현예에서, 장애는 하나 이상의 IFN- $\alpha$  서브타입 및/또는 IFN- $\omega$ 의 발현에 연관된다.

[0202] 또 다른 구현예에서 본 발명은 상술된 본 발명의 결합 분자, 항체, 항원-결합 단편, 펩타이드 또는 펩타이드-기반 화합물, 폴리뉴클레오타이드, 벡터 또는 세포 중 임의 하나 및 선택적으로 검출에 적합한 수단, 예컨대 면역- 또는 핵산 기반 진단 방법에서 통상적으로 사용되는 시약을 포함하는 진단 조성물에 관한 것이다. 본 발명의 항체는, 예를 들어 액상에서 또는 고상 담체에 결합되어 이용될 수 있는 면역분석에서 사용하기 적합하다. 본 발명의 항체를 이용할 수 있는 면역분석의 예는 직접적 또는 간접적 형식의 경쟁적 및 비-경쟁적 면역분석이다. 이러한 면역분석의 예는 방사선면역분석(RIA), 샌드위치(면역계측 분석), 유세포 측정 및 웨스턴 블롯 분석이다. 본 발명의 항원 및 항체는 여러 상이한 담체에 결합되어 이에 특이적으로 결합된 세포를 분리하기 위해 이용될 수 있다. 널리 공지된 담체의 예에는 유리, 폴리스티렌, 폴리비닐 클로라이드, 폴리프로필렌, 폴리에틸렌, 폴리카보네이트, 텍스트란, 나일론, 아밀로스, 천연 및 개질된 셀룰로스, 폴리아크릴아미드, 아가로스 및 자철광이 포함된다. 담체의 성질은 본 발명의 목적을 위해 가용성이거나 불용성일 수 있다. 당업자에게 공지된 여러 상이한 표지 및 표지 방법이 존재한다. 본 발명에서 이용될 수 있는 표지의 유형의 예에는 효소, 방사성동위원소, 콜로이드성 금속, 형광 화합물, 화학발광 화합물, 및 생체발광 화합물이 포함된다; 또한 본원에서 상기

에 논의된 구현예를 참고하라.

[0203] 상기 맥락에서, 본 발명은 또한 상기 목적을 위해 구체적으로 설계된 수단에 관한 것이다. 예를 들어, 하나 이상의 IFN- $\alpha$  서브타입으로부터 유도되고 자가면역 질환, 특히 SLE 또는 APECED/APS를 겪는 환자에 존재할 수 있는 자가항체를 검출하기 위해 질환-연관된 항원을 함유하는 항원 또는 염증-연관된 항원 중 임의 하나를 특이적으로 인식하는 본 발명의 항체 또는 균등한 항원-결합 분자가 로딩되는 단백질- 또는 항체-기반 어레이가 이용될 수 있다. 마이크로어레이 면역분석의 설계는 [Kusnezow et al., *Mol. Cell Proteomics* 5 (2006), 1681-1696]에 요약된다. 따라서, 본 발명은 또한 결합 분자, 특히 본 발명에 따라 동정된 항원 또는 본 발명의 항-IFN- $\alpha$  항체 및 IFN- $\alpha$  결합 단편이 로딩된 마이크로어레이에 관한 것이다.

[0204] **정의 및 구현예**

[0205] 달리 언급되지 않는 한, 본원에서 사용되는 용어 및 구현예는 국제 출원 W02013/098419 및 국제 출원 W02013/098420에 제공되고 사용되는 바와 같은 정의로 제공된다. 보충하여, 본원에서 사용되는 일반 용어는 [Oxford Dictionary of Biochemistry and Molecular Biology, Oxford University Press, 1997, 2000 개정 및 2003 재판, ISBN 0 19 850673 2]에 제공된 바와 같은 정의로 제공된다.

[0206] 단수 대상체에 대한 용어는 하나 이상의 대상체를 나타냄이 주지된다; 예를 들어, "항체"는 하나 이상의 항체를 나타내는 것으로 이해된다. 이와 같이, 단수 용어, 및 "하나 이상" 그리고 "적어도 하나"는 본원에서 상호교환적으로 사용될 수 있다.

[0207] 용어 "중화" 및 "중화 항체"는 각각 항체가 항원 또는 생명체의 적어도 일부 생물학적 활성을 감소시키거나 폐지함을 의미하는 당분야에서와 같이 사용된다. 예를 들어, 본 발명의 서브타입-특이적 항-IFN- $\alpha$  항체는 이것이 적절한 양으로 각각의 IFN- $\alpha$  서브타입(들)의 활성을, 예를 들어 실시예에 기재된 바와 같은 분석에서 폐지하거나 감소시키는 경우 중화 항체이다. 중화는 일반적으로 50% 억제 농도(IC50)로 정의되며, 중화 적정 곡선 하 면적(AUC)에 기반하여 통계적으로 평가될 수 있다. 본 발명의 예시적인 항-IFN- $\alpha$  항체의 IC50값은 본원에, 예로 도 8-10 및 표 4에 기재되고 나타낸다.

[0208] **중추 및 말초 관용성**

[0209] 중추 및 말초 관용성은 그 개시 내용이 본원에 참조로 도입되는 국제 출원 W02013/098419, 62-63페이지의 각 장에 보다 상세히 기재되어 있다.

[0210] **펩타이드 및 폴리펩타이드:**

[0211] 용어 "펩타이드"는 그 의미 내에 용어 "폴리펩타이드" 및 "단백질"(때때로 본원에서 상호교환적으로 사용될 수 있음) 및 본 발명의 임의의 아미노산 서열, 예컨대 중쇄 및 경쇄 가변 영역뿐만 아니라 불변 영역의 아미노산 서열을 포함하는 것으로 이해된다. 유사하게, 단백질 및 폴리펩타이드의 단편도 고려되며, 본원에서 "펩타이드"로 불릴 수 있다. 그럼에도 불구하고, 용어 "펩타이드"는 바람직하게는 적어도 5개 인접 아미노산, 바람직하게는 적어도 10개 인접 아미노산, 보다 바람직하게는 적어도 15개 인접 아미노산, 더욱 바람직하게는 적어도 20개 인접 아미노산, 특히 바람직하게는 적어도 25개 인접 아미노산을 포함하는 아미노산 폴리머를 나타낸다. 또한, 본 발명에 따른 펩타이드는 전형적으로 100개 이하의 인접 아미노산, 바람직하게는 80개 미만의 인접 아미노산, 보다 바람직하게는 50개 미만의 인접 아미노산을 갖는다.

[0212] 본원에서 사용되는 용어 "폴리펩타이드"는 단수의 "폴리펩타이드"뿐만 아니라 복수의 "폴리펩타이드", 예컨대 본 발명의 항체를 포괄하려는 것이며, 아미드 결합(펩타이드 결합으로도 알려져 있음)에 의해 선형 연결된 모노머(아미노산)로 이루어진 분자를 나타낸다. 용어 "폴리펩타이드"는 2개 이상의 아미노산의 임의 사슬 또는 사슬들을 나타내며, 특정 길이의 산물을 나타내지는 않는다. 따라서, "펩타이드", "디펩타이드", "트리펩타이드", "올리고펩타이드", "단백질", "아미노산 사슬" 또는 2개 이상의 아미노산의 사슬 또는 사슬들을 나타내기 위해 사용된 임의의 다른 용어에는 "폴리펩타이드"의 정의 내에 포함되며, 용어 "폴리펩타이드"는 임의의 이들 용어 대신에 또는 상호교환적으로 사용될 수 있다.

[0213] 용어 "폴리펩타이드"는 또한 비제한적으로 당화, 아세틸화, 인산화, 아미드화, 공지된 보호/차단기에 의한 유도 체화, 단백질 분해 절단, 또는 비천연 생성 아미노산에 의한 개질을 포함하는, 폴리펩타이드의 발현-후 개질 산물을 나타내려는 것이다. 폴리펩타이드는 천연 생물학적 원천에서 유도되거나 재조합 기술에 의해 생산될 수 있지만, 반드시 지정된 핵산 서열로부터 번역되지는 않는다. 이는 화학적 합성을 포함하는 임의의 방식으로 생성될 수 있다.

- [0214] 본 발명의 폴리펩타이드는 약 3개 이상, 5개 이상, 10개 이상, 20개 이상, 25개 이상, 50개 이상, 75개 이상, 100개 이상, 200개 이상, 500개 이상, 1,000개 이상, 또는 2,000개 이상의 아미노산의 크기일 수 있다. 그럼에도 불구하고, 용어 "폴리펩타이드"는 바람직하게는 적어도 100개 아미노산을 포함하는 아미노산 폴리머를 나타낸다. 폴리펩타이드는 정의된 3-차원 구조를 가질 수 있지만, 반드시 그러한 구조를 갖는 것은 아니다. 정의된 3-차원 구조를 갖는 폴리펩타이드는 폴딩된 것으로 불리며, 정의된 3-차원 구조를 보유하지 않고 다수의 상이한 입체형태를 채택할 수 있는 폴리펩타이드는 폴딩되지 않은 것으로 불린다. 본원에서 사용되는 용어 당단백질은 아미노산 잔기, 예로 세린 잔기 또는 아스파라긴 잔기의 산소-함유 또는 질소-함유 측쇄를 통해 단백질에 부착되는 적어도 하나의 탄수화물 모이어티에서 커플링된 단백질을 나타낸다.
- [0215] "단리된" 폴리펩타이드 또는 이들의 단편, 변이체, 또는 유도체란 그 천연 환경에 있지 않는 폴리펩타이드에 대한 것이다. 특정 수준의 정제가 요구되지는 않는다. 예를 들어, 단리된 폴리펩타이드는 그 원상태 또는 천연 환경에서 제거될 수 있다. 숙주 세포에서 발현된 재조합적으로 생산된 폴리펩타이드 및 단백질은 임의의 적합한 기법에 의해 분리되거나, 분획되거나, 또는 부분적으로 또는 실질적으로 정제된 원상태 또는 재조합 폴리펩타이드와 마찬가지로, 본 발명의 목적을 위해 단리된 것으로 간주된다.
- [0216] "재조합 펩타이드, 폴리펩타이드 또는 단백질"은 재조합 DNA 기법에 의해 생산된, 즉 원하는 펩타이드를 포함하는 융합 단백질을 인코딩하는 외인성 재조합 DNA 발현 구축물에 의해 형질전환된 세포, 미생물 또는 포유류로부터 생산된 펩타이드, 폴리펩타이드 또는 단백질을 나타낸다. 대부분의 박테리아 배양에서 발현된 단백질 또는 펩타이드에는 전형적으로 글리칸이 없을 것이다. 효모에서 발현된 단백질 또는 폴리펩타이드는 포유류 세포에서 발현되는 것과 상이한 당화 패턴을 가질 수 있다.
- [0217] 또한 본 발명의 폴리펩타이드로서, 상기 폴리펩타이드의 단편, 유도체, 유사체 및 변이체 그리고 이들의 임의 조합이 포함된다. 용어 "단편", "변이체", "유도체" 및 "유사체"에는 천연 펩타이드의 아미노산 서열과 충분히 유사한 아미노산 서열을 갖는 펩타이드 및 폴리펩타이드가 포함된다. 용어 "충분히 유사한"은 제1 및 제2 아미노산 서열이 공통적 구조 도메인 및/또는 공통적 기능 활성을 갖도록 제2 아미노산 서열에 대해 충분하거나 최소 수의 동일하거나 균등한 아미노산 잔기를 함유하는 제1 아미노산 서열을 의미한다. 예를 들어, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 적어도 약 100% 동일한 공통적 구조 도메인을 포함하는 아미노산 서열은 본원에서 충분히 유사한 것으로 정의된다. 바람직하게는, 변이체는 본 발명의 바람직한 펩타이드의 아미노산 서열, 특히 본 발명의 항체 또는 이들 중 어느 하나의 단편, 변이체, 유도체 또는 유사체에 의해 인식되는 에피토프를 포함하는 항체 또는 항체 단편, 또는 합성 펩타이드 또는 펩타이드-기반 화합물과 충분히 유사할 것이다. 이러한 변이체는 일반적으로 본 발명의 펩타이드의 기능적 활성을 보유한다, 즉 본 발명의 항체에 의해 결합된다. 변이체에는 각각 원상태 및 wt 펩타이드의 아미노산 서열과 하나 이상의 아미노산 결실(들), 부가(들), 및/또는 치환(들)에 의해 상이한 펩타이드가 포함된다. 이들은 천연 생성 변이체뿐만 아니라 인공적으로 설계된 것일 수 있다.
- [0218] 본 발명의 항체 또는 항체 폴리펩타이드를 나타내는 경우, 용어 "단편", "변이체", "유도체" 및 "유사체"에는 대응하는 원상태 결합 분자, 항체, 또는 폴리펩타이드의 적어도 일부 항원-결합 특성을 보유하는 임의의 폴리펩타이드가 포함된다. 본 발명의 폴리펩타이드의 단편에는 본원에서 다른 곳에 논의된 특이적 항체 단편에 부가하여 단백질 단편뿐만 아니라 결실 단편이 포함된다. 본 발명의 항체 및 항체 폴리펩타이드의 변이체에는 상술된 바와 같은 단편, 및 아미노산 치환, 결실, 또는 삽입으로 인해 변형된 아미노산 서열을 갖는 폴리펩타이드도 포함된다. 변이체는 천연 생성될 수도 있고 천연 생성되지 않을 수도 있다. 비천연 생성 변이체는 당분야에 공지된 돌연변이화 기법을 이용해서 생산될 수 있다. 변이체 폴리펩타이드는 보존적 또는 비보존적 아미노산 치환, 결실 또는 부가를 포함할 수 있다. 본 발명의 결합 분자, 예로 본 발명의 항체 및 항체 폴리펩타이드의 유도체는 원상태 폴리펩타이드에서 발견되지 않는 추가 특성을 나타내기 위해 변형된 폴리펩타이드이다. 예에는 융합 단백질이 포함된다. 변이체 폴리펩타이드는 또한 본원에서 "폴리펩타이드 유사체"로 불릴 수 있다. 본원에서 사용되는 결합 분자 또는 이들의 단편, 항체, 또는 항체 폴리펩타이드의 "유도체"는 기능적 측쇄의 반응에 의해 화학적으로 유도체화된 하나 이상의 잔기를 갖는 대상 폴리펩타이드를 나타낸다. "유도체"로서, 20개 표준 아미노산의 하나 이상의 천연 생성 아미노산 유도체를 함유하는 펩타이드가 또한 포함된다. 예를 들어, 4-히드록시프롤린이 프롤린에 대해 치환될 수 있고; 5-히드록시라이신이 라이신에 대해 치환될 수 있고; 3-메틸히스티딘이 히스티딘에 대해 치환될 수 있고; 호모세린이 세린에 대해 치환될 수 있고; 오르니틴이 라이신에 대해 치환될 수 있다.

- [0219] 항-개별특이형 항체:
- [0220] 항체 또는 다른 항체 분자를 나타내는 경우, 용어 "항-개별특이형 항체"에는 항원 결합 부위 또는 그 근처의 항체 가변 영역 상에 위치하는 독특한 항원성 펩타이드 서열에 결합하여, 주어진 자가-항체에 의해 달리 야기되는 상기 특이적 면역 반응을 저해하는 분자가 포함된다. 유사한 방식으로, 본 발명의 항체에 의해 특이적으로 인식되는 에피토프를 포함하는 합성 펩타이드 또는 펩타이드-기반 화합물이 사용될 수 있다.
- [0221] 항-개별특이형 항체는 다른 항체와 유사한 방식으로 수득될 수 있다. 특정 항-개별특이형 항체는 응집(탁도측정 또는 혼탁측정 분석), 침전(라디칼 면역확산), 또는 샌드위치 면역분석, 예컨대 ELISA에 의한, 임의 종류의 가교에 의해 검출된다. U.S. 특허 출원 번호 20020142356은 고농도, 고분자량 표적 항원에 특이적인 항체에 대한 항-개별특이형 모노클로날 항체 모집단의 수득 방법을 제공하며, 여기서 상기 항-개별특이형 항체 모집단은 상기 표적 항원에 특이적인 선택된 항체에 대해 광범위한 결합 친화도를 가지며, 특정 적용을 위해 필요한 친화도를 갖는 상기 항-개별특이형 항체 모집단의 서브세트가 선택될 수 있다.
- [0222] U.S. 특허 출원 번호 20020142356은 코팅으로서 항체 및 검출로서 항-개별특이형 항체를 이용하는 또는 반대인, 항원의 경쟁적 면역분석을 기재한다. 대리 항원으로서 항-개별특이형 항체의 사용을 개시하는 다른 참고문헌에는 [Losman et al., *Cancer Research*, 55 (1995)(23 suppl. S):S5978-S5982; Becker et al., *J. of Immunol. Methods* 192 (1996), 73-85; Baral et al., *International J. of Cancer*, 92 (2001), 88-95; 및 Kohen et al., *Food and Agriculture Immunology*, 12 (2000), 193-201]이 포함된다. 질환 또는 기생충에 대한 치료에서 항-개별특이형 항체의 사용은 당분야에 공지되어 있다; 예로 [Sacks et al., *J. Exper. Medicine*, 155 (1982), 1108-1119]를 참고하라.
- [0223] 분자의 유사성 및/또는 동일성 결정:
- [0224] 두 펩타이드 간 "유사성"은 하나의 펩타이드의 아미노산 서열을 제2 펩타이드의 서열과 비교하여 결정된다. 하나의 펩타이드의 아미노산은 이것이 동일하거나 보존적인 아미노산 치환인 경우, 제2 펩타이드의 대응 아미노산과 유사하다. 보존적 치환에는 [Dayhoff, M.O., ed., *The Atlas of Protein Sequence and Structure* 5, *National Biomedical Research Foundation*, Washington, D.C. (1978), 및 Argos, *EMBO J.* 8 (1989), 779-785]에 기재된 것들이 포함된다. 예를 들어, 하기 그룹 중 하나에 속하는 아미노산은 보존적 변화 또는 치환을 나타낸다: -Ala, Pro, Gly, Gln, Asn, Ser, Thr; -Cys, Ser, Tyr, Thr; -Val, Ile, Leu, Met, Ala, Phe; -Lys, Arg, His; -Phe, Tyr, Trp, His; 및 -Asp, Glu.
- [0225] 두 서열 간 동일성 또는 유사성 백분율의 결정은 바람직하게는 [Karlin and Altschul(1993) *Proc. Natl. Acad. Sci USA* 90: 5873-5877]의 수학적 알고리즘을 이용해서 달성된다. 이러한 알고리즘은 NCBI(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/Blast.cgi>)에서 이용 가능한 [Altschul et al. (1990) *J. Mol. Biol.* 215: 403-410]의 BLASTn 및 BLASTp 프로그램 내로 포함된다.
- [0226] 동일성 또는 유사성 백분율의 결정은 BLASTn 및 BLASTp 프로그램의 표준 파라미터를 이용해서 수행된다.
- [0227] BLAST 폴리뉴클레오타이드 검색은 BLASTn 프로그램을 이용해서 수행된다.
- [0228] 일반적인 파라미터에 있어서, "최대 표적 서열" 박스는 100으로 설정할 수 있고, "짧은 쿼리" 박스를 체크할 수 있고, "예상 역치" 박스는 10으로 설정할 수 있고, "워드 크기" 박스는 28로 설정할 수 있다. 스코어링 파라미터에 있어서, "매치/미스매치 스코어"는 1,-2로 설정할 수 있고, "갭 코스트" 박스는 선형으로 설정할 수 있다. 필터 및 마스킹 파라미터에 있어서, "저복잡성 영역" 박스는 체크하지 않을 수 있고, "중-특이적 반복" 박스는 체크하지 않을 수 있고, "특업 표만 마스킹" 박스는 체크할 수 있고, "소문자만 마스킹" 박스는 체크하지 않을 수 있다.
- [0229] BLAST 단백질 검색은 BLASTp 프로그램을 이용해서 수행된다. 일반적인 파라미터에 있어서, "최대 표적 서열" 박스는 100으로 설정할 수 있고, "짧은 쿼리" 박스는 체크할 수 있고, "예상 역치" 박스는 10으로 설정할 수 있고, "워드 크기" 박스는 "3"으로 설정할 수 있다. 스코어링 파라미터에 있어서, "매트릭스" 박스는 "BLOSUM62"로 설정할 수 있고, "갭 코스트" 박스는 "준재: 11 연장: 1"로 설정할 수 있고, "구성 조정" 박스는 "조건별 구성 스코어 매트릭스 조정"으로 설정할 수 있다. 필터 및 마스킹 파라미터에 있어서, "저복잡성 영역" 박스는 체크하지 않을 수 있고, "특업 표만 마스킹" 박스는 체크하지 않을 수 있고 "소문자만 마스킹" 박스는 체크하지 않을 수 있다.
- [0230] 폴리뉴클레오타이드:

- [0231] 용어 "폴리뉴클레오타이드"는 단수 핵산뿐만 아니라 복수 핵산을 포괄하려는 것이며, 단리된 핵산 분자 또는 구축물, 예로 메신저 RNA(mRNA) 또는 플라스미드 DNA(pDNA)를 나타낸다. 폴리뉴클레오타이드는 통상적인 포스포디에스테르 결합 또는 비-통상적 결합(예로, 펩타이드 핵산(PNA)에서 발견되는 것과 같은 아미드 결합)을 포함할 수 있다. 용어 "핵산"은 폴리뉴클레오타이드에 존재하는 임의의 하나 이상의 핵산 분절, 예로 DNA 또는 RNA 단편을 나타낸다. "단리된" 핵산 또는 폴리뉴클레오타이드란 그 원상태 환경에서 제거된 핵산 분자, DNA 또는 RNA에 대한 것이다. 예를 들어, 벡터에 함유된 항체를 인코딩하는 재조합 폴리뉴클레오타이드는 본 발명의 목적을 위해 단리된 것으로 간주된다. 단리된 폴리뉴클레오타이드의 추가 예에는 이종성 숙주 세포 중 유지된 재조합 폴리뉴클레오타이드 또는 용액 중 정제된(부분적으로 또는 실질적으로) 폴리뉴클레오타이드가 포함된다. 단리된 RNA 분자에는 본 발명의 폴리뉴클레오타이드의 생체내 또는 시험관내 RNA 전사체가 포함된다. 본 발명에 따른 단리된 폴리뉴클레오타이드 또는 핵산에는 합성적으로 생산된 이러한 분자가 추가로 포함된다. 또한, 폴리뉴클레오타이드 또는 핵산은 조절 요소, 예컨대 프로모터, 리보솜 결합 부위, 또는 전사 종료자일 수 있거나 이를 포함할 수 있다.
- [0232] 본원에서 사용되는 "코딩 영역"은 아미노산으로 번역된 코돈으로 구성되는 핵산 부분이다. "정지 코돈"(TAG, TGA, 또는 TAA)은 아미노산으로 번역되지 않지만, 이는 코딩 영역의 일부인 것으로 간주될 수 있고, 그러나 임의의 인접 서열, 예를 들어 프로모터, 리보솜 결합 부위, 전사 종료자, 인트론 등은 코딩 영역의 일부가 아니다. 본 발명의 2 이상의 코딩 영역은 단일 폴리뉴클레오타이드 구축물에, 예로 단일 벡터 상에, 또는 별도의 폴리뉴클레오타이드 구축물에, 예로 별도의(상이한) 벡터 상에 존재할 수 있다. 또한, 임의의 벡터는 단일 코딩 영역을 포함할 수도 있고, 또는 2 이상의 코딩 영역을 포함할 수도 있다, 예로 단일 벡터가 번역글로불린 중쇄 가변 영역 및 번역글로불린 경쇄 가변 영역을 별도로 인코딩할 수 있다. 또한, 본 발명의 벡터, 폴리뉴클레오타이드, 또는 핵산은 결합 분자, 항체, 또는 이들의 단편, 변이체, 또는 유도체를 인코딩하는 핵산에 융합되거나 융합되지 않은 이종성 코딩 영역을 인코딩할 수 있다. 이종성 코딩 영역에는 비제한적으로 특화된 요소 또는 모티브, 예컨대 분비 신호 펩타이드 또는 이종성 기능 도메인이 포함된다.
- [0233] 특정 구현예에서, 폴리뉴클레오타이드 또는 핵산은 DNA이다. DNA의 경우, 보통 폴리펩타이드를 인코딩하는 핵산을 포함하는 폴리뉴클레오타이드에는 하나 이상의 코딩 영역에 작동 가능하게 연관된 프로모터 및/또는 다른 전사 또는 번역 조절 요소가 포함될 수 있다. 작동 가능한 연관 유전자 산물, 예로 폴리펩타이드에 대한 코딩 영역이 조절 서열(들)의 영향 또는 조절 하에 유전자 산물의 발현을 일으키도록 하는 방식으로 하나 이상의 조절 서열과 연관되는 경우이다. 두 DNA 단편(예컨대 폴리펩타이드 코딩 영역 및 이와 연관된 프로모터)은 프로모터 기능의 유도가 원하는 유전자 산물을 인코딩하는 mRNA의 전사를 일으키는 경우 그리고 두 DNA 단편 간 연결의 성질이 유전자 산물의 발현을 지시하는 발현 조절 서열의 능력을 방해하거나 전사될 DNA 주형의 능력을 방해하지 않는 경우 "작동 가능하게 연관된" 또는 "작동 가능하게 연결된" 것이다. 따라서, 프로모터 영역은 프로모터가 그 핵산의 전사를 수행할 수 있는 경우, 폴리펩타이드를 인코딩하는 핵산과 작동 가능하게 연관될 것이다. 프로모터는 소경 세포에서만 DNA의 실질적 전사를 유도하는 세포-특이적 프로모터일 수 있다. 프로모터 이외의 다른 전사 조절 요소, 예를 들어 인핸서, 작동유전자, 억제유전자 및 전사 종료 신호가 세포-특이적 전사를 지시하기 위해 폴리뉴클레오타이드와 작동 가능하게 연관될 수 있다. 적합한 프로모터 및 다른 전사 조절 영역이 본원에 개시된다.
- [0234] 다양한 전사 조절 영역이 당분야 숙련자에게 공지되어 있다. 이들에는 비제한적으로 척추동물 세포에서 기능하는 전사 조절 영역, 예컨대 비제한적으로 사이토메갈로바이러스(인트론-A와 함께 최조기 프로모터), 시미안 바이러스 40(조기 프로모터), 및 레트로바이러스(예컨대 라우스 육종 바이러스)로부터의 프로모터 및 인핸서 분절이 포함된다. 다른 전사 조절 영역에는 척추동물 유전자로부터 유도된 것들, 예컨대 액틴, 열 충격 단백질, 소 성장 호르몬 및 토끼  $\beta$ -글로빈뿐만 아니라 진핵생물 세포에서 유전자 발현을 조절할 수 있는 다른 서열이 포함된다. 추가적인 적합한 전사 조절 영역에는 조직-특이적 프로모터 및 인핸서뿐만 아니라 림포카인-유도성 프로모터(예로, 인터페론 또는 인터류킨에 의해 유도 가능한 프로모터)가 포함된다.
- [0235] 유사하게, 다양한 번역 조절 요소가 당업자에게 공지되어 있다. 이들에는 비제한적으로 리보솜 결합 부위, 번역 개시 및 종료 코돈, 및 피코나바이러스로부터 유도된 요소(특히 내부 리보솜 진입 부위, 또는 IRES, 또한 CITE 서열로 불림)가 포함된다.
- [0236] 다른 구현예에서, 본 발명의 폴리뉴클레오타이드는 RNA, 예를 들어 메신저 RNA(mRNA), 소형 헤어핀 RNA(shRNA), 소형 간섭 RNA(siRNA) 또는 임의의 다른 RNA 산물의 형태이다.
- [0237] 본 발명의 폴리뉴클레오타이드 및 핵산 코딩 영역은 분비 또는 신호 펩타이드를 인코딩하는 추가 코딩 영역에

연관될 수 있고, 이는 본 발명의 폴리뉴클레오타이드에 의해 인코딩된 폴리펩타이드의 분비를 지시한다. 신호 가설에 따르면, 포유류 세포에 의해 분비된 단백질은 조면 소포체를 통해 성장하는 단백질 사슬의 외수송이 개시되면 성숙 단백질로부터 절단되는 신호 펩타이드 또는 분비 리더 서열을 갖는다. 당업자는 척추동물 세포에 의해 분비된 폴리펩타이드가 일반적으로 폴리펩타이드의 N-말단에 융합되는 신호 펩타이드를 가지며, 이는 완전 또는 "전장" 폴리펩타이드로부터 절단되어 폴리펩타이드의 분비된 또는 "성숙" 형태를 생산하는 것을 인지한다. 특정 구현예에서, 원상태 신호 펩타이드, 예로 면역글로불린 중쇄 또는 경쇄 신호 펩타이드, 또는 이에 작동 가능하게 연관된 폴리펩타이드의 분비를 지시하는 능력을 보유하는 그 서열의 기능적 유도체가 사용된다. 대안적으로, 이종성 포유류 신호 펩타이드, 또는 이들의 기능적 유도체가 사용될 수 있다. 예를 들어, 야생형 리더 서열은 인간 조직 플라스미노겐 활성화제(TPA) 또는 마우스  $\beta$ -글루쿠코니다제의 리더 서열로 치환될 수 있다. 그러나 폴리펩타이드, 특히 본 발명의 면역글로불린 및 이들의 단편의 세포내 생산도 가능하다.

[0238] **발현:**

[0239] 본원에서 사용되는 용어 "발현"은 유전자가 생화학 물질, 예를 들어 RNA 또는 폴리펩타이드를 생산하는 공정을 나타낸다. 본 공정에는 비제한적으로 유전자 녹다운뿐만 아니라 일시적 발현 및 안정한 발현 모두를 포함하는 세포 내 유전자의 기능적 존재의 임의 표시가 포함된다. 여기에는 비제한적으로 유전자의 메신저 RNA(mRNA), 전달 RNA(tRNA), 소형 헤어핀 RNA(shRNA), 소형 간섭 RNA(siRNA) 또는 임의의 다른 RNA 산물로의 전사, 및 이러한 mRNA의 폴리펩타이드(들)로의 번역이 포함된다. 원하는 최종 산물이 생화학 물질인 경우, 발현에는 생화학 물질 및 임의의 전구체의 생성이 포함된다. 유전자의 발현은 "유전자 산물"을 생산한다. 본원에서 사용되는 유전자 산물은 핵산, 예로 소형 간섭 RNA(siRNA), 유전자 전사에 의해 생산된 메신저 RNA, 또는 전사체로부터 번역되는 폴리펩타이드일 수 있다. 본원에 기재된 유전자 산물에는 전사 후 개질, 예로 폴리아데닐화를 갖는 핵산 또는 번역 후 개질, 예로 메틸화, 당화, 지질 부가, 다른 단백질 서브유닛과의 연합, 단백질해 절단 등을 갖는 폴리펩타이드가 추가로 포함된다.

[0240] 다양한 발현 벡터/숙주 시스템이 폴리뉴클레오타이드 서열을 함유하고 발현하기 위해 이용될 수 있다. 이들에는 비제한적으로 미생물, 예컨대 재조합 박테리오파지, 플라스미드, 또는 코스미드 DNA 발현 벡터로 형질전환된 박테리아; 효모 발현 벡터로 형질전환된 효모; 바이러스 발현 벡터(예로, 배칼로바이러스)로 감염된 곤충 세포 시스템; 바이러스 발현 벡터(예로, 콜리플라워 모자이크 바이러스, CaMV; 담배 모자이크 바이러스, TMV) 또는 박테리아 발현 벡터(예로, Ti 또는 pBR322 플라스미드)로 형질전환된 식물 세포 시스템; 또는 동물 세포 시스템이 포함된다.

[0241] 숙주 세포에서 펩타이드, 폴리펩타이드 또는 융합 단백질(이후 "산물"로 불림)을 발현하기 위해, 예컨대 하기 절차가 이용될 수 있다. 상기 산물을 인코딩하는 DNA 서열을 함유하는 제한효소 단편은 숙주 세포에서 기능하는 복제 기원 및 적절한 선별 마커를 함유하는 적절한 재조합 플라스미드 내로 클로닝될 수 있다. 플라스미드에는 산물의 유도성 발현을 위한 프로모터가 포함될 수 있다(예로, pTrc(Amann et al, *Gene* 69 (1988), 301-315) 및 pET1 Id(Studier et al., *Gene Expression Technology: Methods in Enzymology* 185, Academic Press, San Diego, Calif. (1990), 60-89). 재조합 플라스미드는, 예를 들어 전기천공에 의해 숙주 세포 내로 도입될 수도 있고, 재조합 플라스미드를 함유하는 세포는 플라스미드 상의 마커에 대한 선별에 의해 동정될 수 있다. 산물의 발현은 산물에 특이적인 분석을 이용하여 숙주 세포에서 유도되고 검출될 수 있다.

[0242] 일부 구현예에서, 산물/펩타이드를 인코딩하는 DNA는 숙주 세포에서의 발현을 위해 최적화될 수 있다. 예를 들어, DNA에는 동일한 아미노산에 대해 다른 코돈에 비해 숙주 세포에서 우세한 하나 이상의 아미노산에 대한 코돈이 포함될 수 있다.

[0243] 대안적으로, 산물의 발현은 또한 기능적 연구를 위해 개질된 또는 비천연 아미노산의 도입을 위해 특히 적합한 무세포 추출물 중 단백질의 시험관내 합성에 의해 수행될 수 있다; 또한 하기 문헌을 참고하라. 시험관내 번역 시스템의 이용은 과발현된 산물이 숙주 세포에 독성인 경우, 산물이 불용성이거나 봉입체를 형성하는 경우, 또는 단백질이 세포내 프로테아제에 의해 신속한 단백질해를 거치는 경우 생체내 유전자 발현에 비해 장점을 가질 수 있다. 가장 빈번하게 이용된 무세포 번역 시스템은 토끼 망상적혈구, 밀 배아 및 대장균으로부터의 추출물로 구성된다. 모두 외인성 RNA의 번역을 위해 필요한 모든 거대분자 성분(70S 또는 80S 리보솜, tRNA, 아미노아실-tRNA 합성효소, 개시, 연장 및 종료 인자 등)을 함유하는 조절제 추출물로 제조된다. 효율적인 번역을 보장하기 위해, 각각의 추출물은 아미노산, 에너지원(ATP, GTP), 에너지 재생 시스템(진핵생물 시스템을 위한 크레아틴 포스페이트 및 크레아틴 포스포키나아제, 및 대장균 용해물을 위한 포스포에놀 피루베이트 및 피루베이트 키나아제), 및 당분야에 공지된 다른 보조-인자( $Mg^{2+}$ ,  $K^{+}$  등)가 보장되어야 한다. 적절한 전사/번역 시스템은, 예를

들어 Promega Corporation, Roche Diagnostics, 및 Ambion, 즉 Applied Biosystems에서 시판된다(Anderson, C. et al., *Meth. Enzymol.* 101 (1983), 635-644; Arduengo, M. et al. (2007), *The Role of Cell-Free Rabbit Reticulocyte Expression Systems in Functional Proteomics* in, Kudlicki, Katzen and Bennett eds., *Cell-Free Expression* Vol. 2007. Austin, Tx: Landes Bioscience, pp. 1-18; Chen and Zubay, *Meth. Enzymol.* 101 (1983), 674-90; Ezure et al., *Biotechnol. Prog.* 22 (2006), 1570-1577).

[0244] 숙주 세포:

[0245] 본 발명에 대해, 숙주 세포는 임의의 원핵생물 또는 진핵생물 세포, 예컨대 박테리아, 곤충, 진균, 식물, 동물 또는 인간 세포일 수 있다. 바람직한 진균 세포는, 예를 들어 사카로마이세스 속의 세포, 특히 *S. 세레비시애* 종의 세포이다. 용어 "원핵생물"은 본 발명의 항체 또는 대응하는 면역글로불린 사슬의 발현을 위한 DNA 또는 RNA 분자로 형질전환되거나 전달감염될 수 있는 모든 박테리아를 포함하려는 것이다. 원핵생물 숙주에는 그람 음성뿐만 아니라 그람 양성 박테리아, 예컨대 대장균, *S. 타이피푸리움*, *세라티아 마르세센스* 및 고초균이 포함될 수 있다. 용어 "진핵생물"은 효모, 고등 식물, 곤충 및 바람직하게는 포유류 세포, 가장 바람직하게는 HEK 293, NSO, CSO 및 CHO 세포를 포함하려는 것이다. 재조합 생산 절차에서 채용되는 숙주에 따라, 본 발명의 폴리뉴클레오타이드에 의해 인코딩된 항체 또는 면역글로불린 사슬은 당화될 수도 있고 당화되지 않을 수도 있다. 본 발명의 항체 또는 대응하는 면역글로불린 사슬에는 또한 최초 메티오닌 아미노산 잔기가 포함될 수 있다. 본 발명의 폴리뉴클레오타이드는 당업자에게 일반적으로 공지된 임의의 기법을 이용하여 숙주를 형질전환하거나 전달감염하기 위해 사용될 수 있다. 또한, 융합되고 작동 가능하게 연결된 유전자를 제조하고 이들을, 예로 포유류 세포 및 박테리아에서 발현하기 위한 방법은 당분야에 널리 공지되어 있다(Sambrook, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY, 1989). 여기에 기재된 유전적 구축물 및 방법은 진핵생물 또는 원핵생물 숙주에서 본 발명의 항체 또는 대응하는 면역글로불린 사슬의 발현을 위해 이용될 수 있다. 일반적으로, 삽입된 폴리뉴클레오타이드의 효율적인 전사를 촉진하는 프로모터 서열을 함유하는 발현 벡터가 숙주와 함께 이용된다. 발현 벡터는 전형적으로 복제 기원, 프로모터, 및 종료자뿐만 아니라 형질전환된 세포의 표현형 선별을 제공할 수 있는 특정 유전자를 함유한다. DNA 서열에 대해 적합한 원천 세포 및 면역글로불린 발현 및 분비를 위한 숙주 세포는 여러 원천, 예컨대 American Type Culture Collection (본원에 참조로 포함되는 "Catalogue of Cell Lines and Hybridomas," Fifth edition (1985) Rockville, Maryland, U.S.A.)에서 입수될 수 있다. 또한, 본 발명의 세포를 포함하는 트랜스제닉 동물, 바람직하게는 포유류는 본 발명의 항체의 대규모 생산을 위해 이용될 수 있다.

[0246] 형질전환된 숙주는 최적 세포 성장을 달성하기 위해 당분야에 공지된 기법에 따라 발효기에서 성장되고 배양될 수 있다. 일단 발현되면, 본 발명의 전체 항체, 이들의 이량체, 개별 경쇄 및 중쇄, 또는 다른 면역글로불린 형태는 암모늄 설페이트 침전, 친화도 칼럼, 칼럼 크로마토그래피, 겔 전기영동 등을 포함하는 당분야의 표준 절차에 따라 정제될 수 있다; [Scopes, "*Protein Purification*", Springer Verlag, N.Y. (1982)]를 참고하라. 이어서 본 발명의 항체 또는 그 대응하는 면역글로불린 사슬(들)은 성장 배지, 세포 용해물, 또는 세포막 분획에서 단리될 수 있다. 예로, 본 발명의 재조합적으로 발현된 항체 또는 면역글로불린 사슬의 단리 및 정제는 임의의 통상적 수단, 예컨대 제조용 크로마토그래피 분리 및 면역학적 분리, 예컨대 본 발명의 항체의 불변 영역에 대해 유도된 모노클로날 또는 폴리클로날 항체의 사용이 관여되는 수단에 의할 수 있다. 당분야 숙련가에게는 본 발명의 항체가, 예로 약물 표적화 및 조영 적용을 위한 다른 모이머티에 추가 커플링될 수 있음이 자명할 것이다. 이러한 커플링은 부착 부위에 대한 항체 또는 항원의 발현 후 화학적으로 수행될 수도 있고 또는 커플링 산물이 DNA 수준에서 본 발명의 항체 또는 항원 내로 조작될 수도 있다. 이어서 DNA가 적합한 숙주 시스템에서 발현되며, 필요한 경우 발현된 단백질이 수집되고 재생된다.

[0247] 약학적 이용을 위해, 적어도 약 90 내지 95% 균질성의 실질적으로 순수한 면역글로불린이 바람직하며, 98 내지 99% 이상의 균질성이 가장 바람직하다. 일단 부분적으로 또는 필요한 경우, 균질성까지 정제되면 항체는 치료적으로(체외 포함) 또는 개발 중이고 수행 중인 분석 절차에서 사용될 수 있다.

[0248] 본 발명에는 또한 세포를 본 발명의 폴리뉴클레오타이드 또는 벡터로 유전적으로 조작하는 단계를 포함하는, 본 발명의 항체 또는 그 대응하는 면역글로불린 사슬(들)을 발현할 수 있는 세포의 생산 방법이 관여된다. 본 발명의 방법에 의해 수득 가능한 세포는, 예를 들어 본 발명의 항체와 그 항원의 상호작용을 평가하기 위해 이용될 수 있다.

[0249] ELISA-분석:

[0250] 다양한 항원에 대한 효소-연관된 면역흡착 분석(ELISAs)에는 비색측정, 화학발광 및 형광측정에 기반한 것들이

포함된다. ELISA는 혈장 및 소변 표본 중 소량의 약물 및 다른 항원성 성분의 결정에 성공적으로 적용되어 왔고, 추출 단계가 관여되지 않으며, 단순하게 수행된다. 단백질 항원에 대한 항체 검출을 위한 ELISA는 종종 마이크로타이터 플레이트의 플라스틱 표면에 대한 짧은 합성 펩타이드의 직접적 결합을 이용한다. 펩타이드는 일반적으로, 이들의 합성 성질 및 고성능 액체 크로마토그래피를 이용하는 효율적인 정제 방법으로 인해 매우 순수하다. 짧은 펩타이드의 단점은 이들이 보통 입체형태적이거나 불연속적인 에피토프가 아닌 선형 에피토프를 나타낸다는 점이다. 입체형태적 에피토프를 나타내기 위해서는, 긴 펩타이드 또는 완전한 원상태 단백질이 사용된다. 플레이트의 소수성 폴리스티렌 지지체에 대한 단백질 항원의 직접적 결합은 결합된 단백질의 부분적 또는 전체적 변성 및 입체형태적 에피토프의 상실을 야기할 수 있다. 항원의 고정화(포획 ELISA)를 매개하는 항체를 이용한 플레이트의 코팅은 상기 효과를 배제할 수 있다.

[0251] 그러나 빈번하게, 과발현된 재조합 단백질은 불용성이고, 변성 조건 하의 정제를 그리고 입체형태적 에피토프에 대한 항체가 분석되어야 하는 경우 복원을 필요로 한다. 예를 들어, 코팅 단백질로 재조합 용합 단백질을 이용하는 일반적 ELISA에 대해서는 U.S. 특허 출원 번호 20030044870을 참고하라.

[0252] 결합 분자:

[0253] 본 발명의 맥락에서 사용되는 "결합 분자"는 주로 항체, 및 이들의 단편에 관한 것이지만, 또한 본 발명의 "관심 분자"에 결합하는 다른 비-항체 분자를 나타낼 수 있고, 여기서 관심 분자는 사이토카인으로 공지된 당단백질 클래스의 단백질, 특히 상이한 IFN- $\alpha$  서브타입 그룹으로부터 선택된 인터페론이다. 본 발명의 관심 분자는 위에서 그리고 아래에서 본 발명의 특정 구현예의 기재 내에 더 상세히 정의되어 있다. 본 발명의 결합 분자에는 비제한적으로 호르몬, 수용체, 리간드, 구조적 적합 복합체(MHC) 분자, 샤페론, 예컨대 열 충격 단백질(HSPs)뿐만 아니라 세포-세포 접촉 분자, 예컨대 카드헤린, 인테그린, C-형 렉틴 및 면역글로불린(Ig) 수퍼패밀리의 구성원이 포함된다. 따라서 본 발명의 범위를 제한하지 않고 단지 명확성을 위해, 대부분의 하기 구현예는 치료 및 진단 제제의 개발을 위해 바람직한 결합 분자를 나타내는 항체 및 항체-유사 분자에 대해 논의된다.

[0254] 항체:

[0255] 용어 "항체" 및 "면역글로불린"은 본원에서 상호교환적으로 사용된다. 항체 또는 면역글로불린은 본원에서 위에서 그리고 아래에서 정의된 바와 같은 본 발명의 관심 분자에 결합하는 분자이며, 이는 적어도 중쇄의 가변 도메인을 포함하고, 보통 적어도 중쇄 및 경쇄의 가변 도메인을 포함한다. 척추동물 시스템에서의 기본적인 면역글로불린 구조는 비교적 잘 이해되어 있다; 예로, [Harlow and Lane, *Antibodies: A Laboratory Manual*, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2nd ed. 1988)]를 참고하라. 용어 "결합한다" 및 "인식한다"는 본 발명의 결합 분자, 예로 항체의 결합 친화도에 대해 상호교환적으로 사용된다.

[0256] 본원에서 위에서 그리고 아래에서 정의된 바와 같은 관심 분자에 특이적으로 결합하기 충분한 구조를 함유하는 임의의 항체 또는 면역글로불린 단편은 본원에서 "결합 분자", "결합 단편" 또는 "면역특이적 단편"으로 상호교환적으로 표시된다.

[0257] 본 발명의 항체 또는 항원-결합 단편, 면역특이적 단편, 변이체, 또는 이들의 유도체에는 비제한적으로, 폴리클로날, 모노클로날, 다중특이적, 인간, 인간화, 영장류화, 쥐과화 또는 키메라성 항체, 단일쇄 항체, 에피토프-결합 단편, 예로 Fab, Fab' 및 F(ab')<sub>2</sub>, Fd, Fv, 단일쇄 Fv(scFv), 단일쇄 항체, 디설피드-연결된 Fv(sdFv), V<sub>L</sub> 또는 V<sub>H</sub> 도메인을 포함하는 단편, Fab 발현 라이브러리에 의해 생산된 단편, 및 항-개별특이형(항-Id) 항체(예로, 본원에 개시된 항체에 대한 항-Id 항체 포함)가 포함된다. ScFv 분자는 당분야에 공지되어 있고, 예로 US 특허 5,892,019에 기재되어 있다. 이에 관해, 항체의 항원-결합 단편은 또한 단일 도메인 항체(sdAB) 또는 nanobodies™(Ablynx, Gent, Belgium)로 알려져 있는 도메인 항체(dAb)일 수 있으며, 예로 [De Haard et al., *J. Bacteriol.* 187 (2005), 4531-4541; Holt et al., *Trends Biotechnol.* 21 (2003), 484-490]을 참고하라. 아래에서 더 상세히 논의될 바와 같이, 용어 "면역글로불린"은 생화학적으로 구별될 수 있는 광범위한 폴리펩타이드 클래스를 포함한다. 당분야 숙련가는 중쇄가 감마, 뮤, 알파, 델타, 또는 엡실론( $\gamma$ ,  $\mu$ ,  $\alpha$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$ )으로 분류되며, 이들 간의 일부 서브클래스(예로,  $\gamma$  1- $\gamma$  4)를 포함함을 이해할 것이다. 항체의 "클래스"를 각각 IgG, IgE, IgM, IgD, IgA, 및 IgY로 결정하는 것은 상기 사슬의 성질이다. 면역글로불린 서브클래스(이소형), 예로 IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 등도 잘 분석되어 있고, 기능 특화를 부여함이 알려져 있다. 본 발명의 면역글로불린 또는 항체 분자는 임의 유형(예로, IgG, IgE, IgM, IgD, IgA, 및 IgY), 클래스(예로, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1, IgA2 등) 또는 서브클래스의 면역글로불린 분자일 수 있다. 이들 클래스 및 이소형 각각의 개질된 버전은 본 개시의 측면에서 당분야 숙련가가 쉽게 식별할 수 있으며, 따라서 본 발명의 범위 내에 있다. 모든

면역글로불린 클래스가 명확히 본 발명의 범위 내에 있지만, 하기 논의는 일반적으로 면역글로불린 분자의 IgG 클래스에 대해 수행될 것이다. IgG에 대해, 표준 면역글로불린 분자는 분자량 대략 23,000 달톤인 2개의 동일한 경쇄 폴리펩타이드, 및 분자량 53,000-70,000인 2개의 동일한 중쇄 폴리펩타이드를 포함한다. 4개 사슬은 전형적으로 "Y" 배치로 디설피드 결합에 의해 연결되며, 여기서 경쇄는 "Y"의 입구에서 시작하여 가변 영역을 통해 계속 중쇄를 괄호 모양으로 둘러싼다.

[0258] 상기 표 1에 기재된 본 발명의 예시적인 항-IFN $\alpha$  항체의 분류로부터 자명하듯이, 본 발명의 예시적인 항체는 IgG1 클래스의 것으로, 이러한 AIRE-결핍 상태에서의 개시에서 조절 T-세포 반응 및/또는 상피를 시사할 수 있다. 이러한 발견은 그 개시 내용이 본원에 참조로 도입되는 [Kaerner et al., in Clin. Exp. Immunol. (2012); doi: 10.1111/cei.12024]에 의해 기재된 AIRE-결핍 마우스에서 발견된 대응하는 자가항체의 분류에 의해 확인된다. 따라서 본 발명의 바람직한 구현예에서, 본 발명의 항체는 IgG 유형의 것이며, 더 바람직하게는 IgG1의 것이다.

[0259] IgG 구조:

[0260] 경쇄는 카파 또는 람다( $\kappa$ ,  $\lambda$ )로 분류된다. 각각의 중쇄 클래스는 카파 또는 람다 경쇄와 결합될 수 있다. 일반적으로, 경쇄 및 중쇄는 서로 공유 결합되며, 두 중쇄의 "꼬리" 부분은 면역글로불린이 하이브리도마, B 세포 또는 유전적으로 조작된 숙주 세포에 의해 생성되는 경우 비공유 결합 또는 공유 디설피드 결합에 의해 서로 결합된다. 중쇄에서, 아미노산 서열은 Y 배치의 포크형 말단에 있는 N-말단부터 각 사슬의 하부에 있는 C-말단으로 진행된다.

[0261] 경쇄 및 중쇄는 모두 구조 및 기능 상동성 영역으로 구분된다. 용어 "불변" 및 "가변"은 기능적으로 사용된다. 이에 관해, 경쇄( $V_L$ ) 및 중쇄( $V_H$ ) 부분 모두의 가변 도메인이 항원 인식 및 특이성을 결정한다는 것이 이해될 것이다. 반대로, 경쇄(CL) 및 중쇄(CH1, CH2 또는 CH3)의 불변 도메인은 중요한 생물학적 특성, 예컨대 분비, 태반 통과 이동성, Fc 수용체 결합, 보체 결합 등을 부여한다. 관례 상, 불변 영역 도메인의 번호지정은 이들이 항체의 항원-결합 부위 또는 아미노-말단에서 더 멀어질수록 증가한다. N-말단부는 가변 영역이고 C-말단부는 불변 영역이다; CH3 및 CL 도메인은 실제로 중쇄 및 경쇄의 카복시-말단을 각각 포함한다.

[0262] 위에 나타낸 바와 같이, 가변 영역은 항체가 항원 상의 에피토프를 선택적으로 인식하고 특이적으로 결합할 수 있도록 한다. 즉, 항체의  $V_L$  도메인 및  $V_H$  도메인, 또는 상보성 결정 영역(CDRs)의 서브세트가 조합되어 3차원적 항원-결합 부위를 정의하는 가변 영역을 형성한다. 상기 4차 항체 구조는 Y의 각 팔의 말단에 존재하는 항원-결합 부위를 형성한다. 보다 구체적으로, 항원-결합 부위는 각각의  $V_H$  및  $V_L$  사슬 상의 3 CDR에 의해 정의된다. 본 발명의 관심 분자에 특이적으로 결합하기 충분한 구조를 함유하는 임의의 항체 또는 면역글로불린 단편은 본원에서 상호교환적으로 "결합 단편" 또는 "면역특이적 단편"으로 표시된다.

[0263] 천연 생성 항체에서, 항체는 때때로 각각의 항원-결합 도메인에 존재하는 "상보성 결정 영역" 또는 "CDR"로 불리는 6개의 고가변 영역을 포함하며, 이는 수성 환경에서 항체가 그 3차원 배치를 취할 때 항원-결합 도메인을 형성하도록 특이적으로 배치되는 짧은 비인접 아미노산 서열이다. "CDR"에는 더 적은 분자간 가변성을 나타내는 4개의 상대적으로 보존된 "틀" 영역" 또는 "FR"이 측면에 있다. 틀 영역은 대개  $\beta$ -시트 입체형태를 채택하며, CDR은  $\beta$ -시트 구조를 연결하고 때로는 그 일부를 형성하는 루프를 형성한다. 따라서 틀 영역은 사슬 간 비-공유 상호작용에 의해 CDR의 정확한 배향으로의 배치를 제공하는 골격을 형성하는 작용을 한다. 배치된 CDR에 의해 형성된 항원-결합 도메인은 면역반응성 항원 상의 에피토프에 대해 상보적인 표면을 정의한다. 상기 상보적 표면은 그 인지체 에피토프에 대한 항체의 비-공유 결합을 촉진한다. 각각 CDR 및 틀 영역을 이루는 아미노산은 이들이 정확하게 정의되었으므로, 당업자가 임의의 주어진 중쇄 또는 경쇄 가변 영역에 대해 쉽게 확인할 수 있다; 본원에 이들의 전문이 참조로 도입되는 ["Sequences of Proteins of Immunological Interest," Kabat, E., et al., U.S. Department of Health and Human Services, (1983); 및 Chothia and Lesk, *J. Mol. Biol.* 196 (1987), 901-917]을 참고하라.

[0264] 당분야에서 사용되고/되거나 허용되는 2개 이상의 용어 정의가 존재하는 경우, 본원에서 사용된 용어의 정의는 명시적으로 다르게 언급되지 않는 한 모든 그러한 의미를 포함하려는 것이다. 구체에는 중쇄 및 경쇄 폴리펩타이드 둘 다의 가변 영역 내에서 확인되는 비인접 항원 조합 부위를 설명하기 위한 용어 "상보성 결정 영역"("CDR")의 사용이다. 상기 특정 영역은 본원에 참조로 도입되는 [Kabat et al., U.S. Dept. of Health and Human Services, "Sequences of Proteins of Immunological Interest" (1983) 및 Chothia and Lesk, *J. Mol. Biol.* 196 (1987), 901-917]에 기재되었으며, 여기서 서로 비교되는 경우, 그 정의에는 중첩되거나 서브세트인

아미노산 잔기가 포함된다. 그럼에도 불구하고, 항체 또는 이들의 변이체의 CDR을 나타내기 위한 정의의 적용은 본원에서 정의되고 사용된 용어의 범위 내인 것으로 의도된다. 상기 언급된 각각의 참조에 의해 정의된 바와 같은 CDR을 포괄하는 적절한 아미노산 잔기를 대조로서 표 2에 나타낸다. 특정 CDR을 포괄하는 정확한 잔기 번호는 CDR의 서열 및 크기에 따라 변할 것이다. 당분야 숙련가는 주어진 항체의 가변 영역 아미노산 서열에 대하여 어느 잔기가 항체의 인간 IgG 서브타입의 특정한 고가변 영역 또는 CDR을 이루는지를 일상적으로 결정할 수 있다.

표 2

[0265]

CDR 정의<sup>1</sup>

	Kabat	Chothia
VH CDR1	31-35	26-32
VH CDR2	50-65	52-58
VH CDR3	95-102	95-102
VL CDR1	24-34	26-32
VL CDR2	50-56	50-52
VL CDR3	89-97	91-96

[0266]

<sup>1</sup>표 2에서 모든 CDR 정의의 번호지정은 Kabat 등(아래 참고)이 나타낸 번호지정 관례를 따른다.

[0267]

Kabat 등은 또한 임의 항체에 적용 가능한 가변 도메인 서열에 대한 번호지정 시스템을 정의하였다. 당업자는 서열 자체를 넘어서는 임의의 실험 데이터에 의존하지 않고 임의의 가변 도메인 서열에 "Kabat 번호지정"의 상기 시스템을 모호하지 않게 배정할 수 있다. 본원에서 사용되는 "Kabat 번호지정"은 [Kabat *et al.*, *U.S. Dept. of Health and Human Services*, "Sequences of Proteins of Immunological Interest" (1983)]에 나타낸 번호지정 시스템을 나타낸다. 달리 명시되지 않는 한, 본 발명의 항체 또는 항원-결합 단편, 변이체, 또는 이들의 유도체에서 특정 아미노산 잔기 위치의 번호지정에 대한 언급은 Kabat 번호지정 시스템을 따르지만, 이는 이론적인 것이며 본 발명의 모든 항체에 동일하게 적용되지 않을 수 있다. 예를 들어, 제1 CDR의 위치에 따라, 다음 CDR이 어느 방향으로든 이동될 수 있다.

[0268]

하나의 구현예에서, 본 발명의 항체는 IgM 또는 5가 구조를 갖는 이들의 유도체가 아니다. 특히, 본 발명의 특정 적용, 특히 치료적 이용에서, IgM은 이들의 5가 구조 및 친화도 성숙의 부재로 인해 종종 비특이적인 교차 반응성 및 매우 낮은 친화도를 나타내므로, IgM은 IgG 및 다른 2가 항체 또는 대응하는 결합 분자에 비해 덜 유용하다.

[0269]

특히 바람직한 구현예에서, 본 발명의 항체는 폴리클로날 항체가 아니다, 즉 이는 혈장 면역글로불린 표본에서 수득된 혼합물인 것보다 하나의 특정 항체 종으로 실질적으로 구성된다.

[0270]

항체 단편, 동물화:

[0271]

단일쇄 항체를 포함하는 항체 단편은 단독으로 또는 하기 전부 또는 일부와의 조합으로 가변 영역(들)을 포함할 수 있다: 힌지 영역, CH1, CH2, 및 CH3 도메인. 또한 본 발명의 관심 분자에 결합하는 단편이 본 발명에 포함되며, 상기 단편은 가변 영역(들)과 힌지 영역, CH1, CH2, 및 CH3 도메인의 임의 조합을 포함한다. 본 발명의 방법에 따라 단리된 모노클로날 항체, 특히 인간 모노클로날 항체와 균등한 본 발명의 항체 또는 이들의 면역특이적 단편은 조류 및 포유류를 포함하는 임의의 동물 기원의 것일 수 있다. 바람직하게는, 항체는 인간, 쥐과, 당나귀, 토끼, 염소, 기니아피, 낙타, 라마, 말 또는 닭 항체이다. 또 다른 구현예에서, 가변 영역은 콘트릭토이드(condrictoid) 기원(예로, 상어 유래)일 수 있다.

[0272]

본 발명의 특히 바람직한 구현예에서, 항체는 인간 대상체로부터 클로닝된 천연 생성 인간 모노클로날 항체 또는 이들의 결합 단편, 유도체 및 변이체이며, 이는 위에서 그리고 아래에서, 예로 표 1, 도면, 특히 도 1 내지 4에서 그리고 실시예에서, 예로 실시예 2 및 6에서 상세히 정의된 바와 같은 본 발명의 특이적 IFN $\alpha$  서브타입에 특이적으로 결합한다.

[0273]

선택적으로, 인간 항체의 틀 영역이 데이터베이스에서 관련 인간 생식 계열 가변 영역 서열에 따라 정렬되고 채택된다; 예로, MRC Centre for Protein Engineering(Cambridge, UK)에서 호스팅되는 Vbase(<http://vbase.mrc-cpe.cam.ac.uk/>)를 참고하라. 예를 들어, 실제 생식 계열 서열에서 일탈할 수 있는 것으로 여겨지는 아미노산은

클로닝 공정 동안 도입되는 PCR 프라이머 서열에 기인할 수 있다. 인공 생성된 인간-유사 항체, 예컨대 과거 디스플레이된 항체 라이브러리 또는 이중발생성 마우스로부터의 단일쇄 항체 단편(scFvs)에 비해, 본 발명의 인간 모노클로날 항체는 (i) 동물 대리 반응의 항체가 아닌 인간 면역 반응을 이용해서 획득되며, 즉 항체는 인체에서 이들의 관련 입체형태인 천연 IFN $\alpha$  서브타입에 반응하여 생성되며, (ii) 적어도 유의미한 질환, 예로 SLE 증상의 존재를 최소화하거나 이로부터 개체를 보호하고, (iii) 항체가 인간 기원이므로, 자가-항원에 대한 교차 반응성의 위험이 최소화된다는 것을 특징으로 한다. 따라서 본 발명에 따르면, 용어 "인간 모노클로날 항체", "인간 모노클로날 자가항체", "인간 항체" 등은 인간 기원인, 즉 인간 세포, 예컨대 B 세포 또는 이들의 하이브리도마로부터 단리되었거나 그 cDNA가 인간 세포, 예를 들어 인간 메모리 B 세포의 mRNA로부터 직접 클로닝된 특정 IFN- $\alpha$  서브타입 특이성의 IFN- $\alpha$  결합 분자를 표시하기 위해 사용된다. 인간 항체는 항체에서 아미노산 치환이, 예로 그 결합 특징을 개선하기 위해 수행되는 경우에도 여전히 "인간"으로 간주될 수 있다.

[0274] 인간 면역글로불린 라이브러리로부터 또는 하나 이상의 인간 면역글로불린에 대해 트랜스제닉이고 아래, 예를 들어 US 특허 번호 5,939,598(Kucherlapati *et al.*)에 기재된 바와 같이 내인성 면역글로불린을 발현하지 않는 동물로부터 유도된 항체는 본 발명의 실제 인간 항체로부터 이들을 구별하기 위해 인간-유사 항체로 표시된다.

[0275] 예를 들어, 인간-유사 항체, 예컨대 전형적으로 과거 디스플레이로부터 단리된 합성 및 반-합성 항체의 중쇄 및 경쇄의 페어링은 원래 인간 B 세포에서 일어난 바와 같은 원래 페어링을 반드시 반영하지는 않는다. 따라서 선행기술에서 공통적으로 사용된 바와 같은 재조합 발현 라이브러리로부터 획득된 Fab 및 scFv 단편은 면역원성 및 안정성에 대해 모든 가능한 연관 효과와 함께 인공적인 것으로 간주될 수 있다.

[0276] 대조적으로, 본 발명은 이들의 치료적 유용성을 특징으로 하는, 선택된 인간 대상체로부터의 단리된 친화도-성숙된 항체를 제공한다.

[0277] 그래프트된 항체(균동물)

[0278] 본 발명은 또한 본 발명의 항체, 예컨대 항-IFN- $\alpha$  항체로부터 유도된 CDR을 각각 함유하는 그래프트된 항체(상호교환적으로 균동물로 나타냄)에 관한 것이다. 이러한 그래프트된 CDR에는 동물화된 항체가 포함되며, 본 발명의 항체로부터의 CDR이 그래프트되거나 하나 이상의 아미노산 치환을 함유하는 CDR이 그래프트된다. CDR은 위에 나타난 바와 같은 동물 기원으로부터 항체 틀 또는 인간 틀 내로 직접 그래프트될 수 있다. 원하는 경우, 틀 변화는 또한 틀 라이브러리를 생성함으로써 도입될 수 있다. CDR 및/또는 틀 서열의 최적화는 독립적으로 수행되고 순차적으로 조합될 수 있거나 아래에 보다 상세히 기재된 바와 같이 동시에 수행될 수 있다.

[0279] 그래프트된 항체를 생성하기 위해, 본 발명의 항체의 공여체 CDR이 항체 수신체 가변 영역 틀 상에 그래프트된다. 항체를 그래프팅하고 CDR 변이체를 생성하여 활성을 최적화하는 방법은 전에 기재되어 있다(예로, 국제 특허 출원 WO 98/33919; WO 00/78815; WO 01/27160 참고). 공여체 CDR의 그래프팅 및 친화도 재획득을 동시에 공정에서 달성하기 위한 절차가 수행될 수 있다. 가변 영역의 결합 친화도를 개선하거나 최적화하기 위한 방법이 유사하게 단독으로 또는 CDR 그래프팅과 조합되어 이용될 수 있다. 수신체 가변 영역 상에 공여체 CDR 결합 친화도를 부여하는 방법은 중쇄 및 경쇄 가변 영역 모두에 적용 가능하며, 그대로 항체 가변 영역의 결합 친화도를 최적화하고 그래프트하기 위해 동시에 사용될 수 있다.

[0280] 공여체 CDR은 공여체 CDR 내의 모든 또는 선택된 위치에서 복수의 상이한 아미노산 잔기 변화를 함유하도록 변형될 수 있다. 예를 들어, 20개 천연 생성 아미노산 잔기 또는 미리 선택된 서브세트의 무작위 또는 편향된 도입이 CDR 중의 다양한 모집단을 생산하기 위해 공여체 CDR 내로 도입될 수 있다. 가변 영역의 다양한 모집단 내로의 CDR 변이체 중의 도입은 소정 항원에 대해 최적화된 결합 친화도를 나타내는 변이체 중의 생성을 허용한다. 광범위한 가능한 변화가 공여체 CDR 위치에서 제조될 수 있다. 변화에 대해 선택될 수 있는 일부 또는 모든 가능한 변화가 그래프트된 공여체 CDR의 모집단 내에 도입될 수 있다. CDR 내 단일 위치가 변화를 도입하기 위해 선택될 수도 있고 또는 변형된 아미노산을 갖는 다양한 위치가 활성에 대해 조합되고 스크리닝될 수 있다.

[0281] 하나의 접근은 각 위치에서, 예를 들어 모든 20개 천연 생성 아미노산을 이용한 대체에 의해 CDR에 따라 모든 아미노산 위치를 변화시키는 것이다. 각 위치의 대체는 CDR의 상당부가 진정한 공여체 CDR 서열을, 그리고 이에 따라 공여체 CDR의 결합 친화도를 유지하도록 다른 공여체 CDR 아미노산 위치의 맥락에서 일어날 수 있다. 예를 들어, 천연 틀이든 변형된 틀이든, 수신체 가변 영역 틀에는 CDR 내의 각 위치에서 단일 위치 대체를 함유하는 CDR 모집단이 그래프트될 수 있다. 유사하게, 수신체 가변 영역 틀은 모든 20개 아미노산 잔기 또는 아미노산 서브세트를 도입하기 위해 변화된 둘 이상의 위치를 함유하는 CDR 모집단의 그래프팅을 위해 표적화될 수 있다.

그래프트될 CDR 내 또는 CDR 그룹 내 하나 이상의 아미노산 위치가 변형되고 수신체 가변 영역 틀 내로 그래프트되어 그래프트된 항체 모집단을 생성할 수 있다. 원하는 경우, 하나 이상의 변형된 위치를 갖는 CDR이 하나 이상의 변형된 위치를 갖는 하나 이상의 다른 CDR과 조합될 수 있음이 이해된다.

[0282] 하나 이상의 변형된 위치를 갖는 CDR 변이체 종의 모집단은 가변 영역의 결합 포켓을 구성하는 임의의 또는 모든 CDR과 조합될 수 있다. 따라서, 수신체 가변 영역 틀은 중쇄 또는 경쇄에서 1개, 2개 또는 모든 3개 수신체 CDR 위치에서 공여체 CDR 변이체 모집단의 동시 도입을 위해 표적화될 수 있다. 아미노산 위치 변화를 표적화하기 위한 CDR 또는 CDR의 수의 선택은, 예를 들어 수신체 내로의 전체 CDR 그래프팅이 요구되는지 또는 방법이 결합 친화도의 최적화를 위해 수행되고 있는지 여부에 의존할 것이다.

[0283] 항체 수신체 가변 영역 틀 상에 공여체 CDR 결합 친화도를 부여하기 위해 변화시킬 공여체 CDR 아미노산을 선택하기 위한 또 다른 접근은 고가변적인 공지된 또는 쉽게 동정 가능한 CDR 위치를 선택하는 것이다. 예를 들어, 가변 영역 CDR3은 일반적으로 고가변적이다. 따라서 상기 영역은 단독으로 또는 관련 수신체 가변 틀 변화와 함께, 결합 친화도 재획득 또는 증강을 보장하기 위해 그래프팅 절차 동안 아미노산 위치 변화에 대해 선택적으로 표적화될 수 있다.

[0284] 귀과화 항체:

[0285] 상술된 바와 같은 그래프팅에 의해 생성된 항체의 예는 귀과화 항체이다. 본원에서 사용되는 용어 "귀과화 항체" 또는 "귀과화 면역글로불린"은 본 발명의 인간 항체로부터의 하나 이상의 CDR; 및 마우스 항체 서열에 기반하는 아미노산 치환 및/또는 결실 및/또는 삽입을 함유하는 인간 틀 영역을 포함하는 항체를 나타낸다. CDR을 제공하는 인간 면역글로불린은 "모체" 또는 "수신체"로 불리며, 틀 변화를 제공하는 마우스 항체는 "공여체"로 불린다. 불변 영역이 존재할 필요는 없지만, 존재하는 경우 이들은 보통 마우스 항체 불변 영역과 실질적으로 동일하다, 즉 적어도 약 85-90%, 바람직하게는 약 95% 이상 동일하다. 따라서 일부 구현예에서, 전장 귀과화 인간 중쇄 또는 경쇄 면역글로불린은 마우스 불변 영역, 인간 CDR, 및 여러 "귀과화" 아미노산 치환을 갖는 실질적으로 인간 틀을 함유한다. 전형적으로, "귀과화 항체"는 귀과화 가변 경쇄 및/또는 귀과화 가변 중쇄를 포함하는 항체이다. 예를 들어, 귀과화 항체는, 예로 키메라성 항체의 전체 가변 영역이 비-마우스이므로, 전형적인 키메라성 항체를 포괄하지 않을 것이다. "귀과화" 공정에 의해 "귀과화"된 개질된 항체는 CDR을 제공하는 모체 항체와 동일한 항원에 결합하고, 보통 모체 항체에 비해 마우스에서 면역원성이 더 작다.

[0286] 항체 단편:

[0287] 본원에서 사용되는 용어 "중쇄 부분"에는 면역글로불린 중쇄에서 유도된 아미노산 서열이 포함된다. 중쇄 부분을 포함하는 폴리펩타이드는 하기 중 적어도 하나를 포함한다: CH1 도메인, 힌지(예로, 상부, 중앙, 및/또는 하부 힌지 영역) 도메인, CH2 도메인, CH3 도메인, 또는 이들의 변이체 또는 단편. 예를 들어, 본 발명에서 사용하기 위한 결합 폴리펩타이드는 CH1 도메인을 포함하는 폴리펩타이드 사슬; CH1 도메인, 적어도 일부 힌지 도메인, 및 CH2 도메인을 포함하는 폴리펩타이드 사슬; CH1 도메인 및 CH3 도메인을 포함하는 폴리펩타이드 사슬; CH1 도메인, 적어도 일부 힌지 도메인, 및 CH3 도메인을 포함하는 폴리펩타이드 사슬, 또는 CH1 도메인, 적어도 일부 힌지 도메인, CH2 도메인, 및 CH3 도메인을 포함하는 폴리펩타이드 사슬을 포함할 수 있다. 또 다른 구현예에서, 본 발명의 폴리펩타이드는 CH3 도메인을 포함하는 폴리펩타이드 사슬을 포함한다. 또한, 본 발명에서 사용하기 위한 결합 폴리펩타이드에는 적어도 일부 CH2 도메인(예로, CH2 도메인의 전부 또는 일부)이 없을 수 있다. 상기 나타난 바와 같이, 당업자는 이들 도메인(예로, 중쇄 부분)이 천연 생성 면역글로불린 분자로부터의 아미노산 서열과 다르도록 개질될 수 있음을 이해할 것이다.

[0288] 본원에 개시된 특정 항체, 또는 항원-결합 단편, 변이체, 또는 이들의 유도체에서, 다량체의 하나의 폴리펩타이드 사슬의 중쇄 부분은 다량체의 제2 폴리펩타이드 사슬 상의 중쇄 부분과 동일하다. 대안적으로, 본 발명의 중쇄 부분-함유 모노머는 동일하지 않다. 예를 들어, 각각의 모노머는, 예를 들어 이중특이적 항체 또는 디아바디를 형성하는 상이한 표적 결합 부위를 포함할 수 있다.

[0289] 또 다른 구현예에서, 본원에 개시된 항체, 또는 항원-결합 단편, 변이체, 또는 이들의 유도체는 단일 폴리펩타이드 사슬, 예컨대 scFv로 이루어지며, 잠재적 생체내 치료 및 진단 적용을 위해 세포내 발현될 것이다(인트라바디).

[0290] 본원에 개시된 진단 및 치료 방법에 사용하기 위한 결합 폴리펩타이드의 중쇄 부분은 상이한 면역글로불린 분자에서 유도될 수 있다. 예를 들어, 폴리펩타이드의 중쇄 부분은 IgG1 분자에서 유도된 CH1 도메인 및 IgG3 분자에서 유도된 힌지 영역을 포함할 수 있다. 또 다른 예에서, 중쇄 부분은 부분적으로 IgG1 분자에서 그리고 부분

적으로 IgG3 분자에서 유도된 힌지 영역을 포함할 수 있다. 또 다른 예에서, 중쇄 부분은 부분적으로 IgG1 분자에서 그리고 부분적으로 IgG4 분자에서 유도된 키메라성 힌지를 포함할 수 있다.

- [0291] 따라서 실시예에 또한 예시된 바와 같이, 하나의 구현예에서 본 발명의 항체의 불변 영역 또는 이들의 일부, 특히 CH2 및/또는 CH3 도메인, 그러나 선택적으로 또한 CH1 도메인은 본 발명의 방법에 따라 단리된 원상태 인간 모노클로날 항체의 가변 영역에 대해 이중성이다. 상기 맥락에서, 이중성 불변 영역(들)은 본 발명의 항체의 치료적 적용의 경우 바람직하게는 인간 기원의 것이지만, 또한 예를 들어 동물 연구의 경우 설치류 기원의 것일 수 있다; 실시예를 또한 참고하라.
- [0292] 본원에서 사용되는 용어 "경쇄 부분"에는 면역글로불린 경쇄에서 유도된 아미노산 서열이 포함된다. 바람직하게는, 경쇄 부분은 적어도 하나의  $V_L$  또는  $C_L$  도메인을 포함한다.
- [0293] 전에 나타낸 바와 같이, 다양한 면역글로불린 클래스의 불변 영역의 서브유닛 구조 및 3차원 배치는 널리 공지되어 있다. 본원에서 사용되는 용어 " $V_H$  도메인"에는 면역글로불린 중쇄의 아미노 말단 가변 도메인이 포함되며, 용어 "CH1 도메인"에는 면역글로불린 중쇄의 첫 번째(가장 아미노 말단의) 불변 영역 도메인이 포함된다. CH1 도메인은  $V_H$  도메인에 인접하며, 면역글로불린 중쇄 분자의 힌지 영역에 대해 아미노 말단에 있다.
- [0294] 본원에서 사용되는 용어 "CH2 도메인"에는, 예로 통상적 번호지정 방식을 이용하여 항체의 약 잔기 244 내지 잔기 360으로 연장되는 중쇄 분자 부분(잔기 244 내지 360, Kabat 번호지정 시스템; 및 잔기 231-340, EU 번호지정 시스템; Kabat EA *et al.* 상기 문헌 참고)이 포함된다. CH2 도메인은 이것이 또 다른 도메인과 밀접하게 폐어렇되지 않는다는 점에서 독특하다. 오히려 2개의 N-연결된 분지형 탄수화물 사슬이 온전한 원상태 IgG 분자의 두 CH2 도메인 사이에 배치된다. 또한 CH3 도메인이 IgG 분자의 CH2 도메인에서 C-말단으로 연장되며, 대략 108 개 잔기를 포함한다는 것이 잘 보고되어 있다.
- [0295] 본원에서 사용되는 용어 "힌지 영역"에는 CH1 도메인을 CH2 도메인으로 연결하는 중쇄 분자 부분이 포함된다. 상기 힌지 영역은 대략 25개 잔기를 포함하며 가요성이므로, 2개의 N-말단 항원-결합 영역이 독립적으로 운동할 수 있도록 한다. 힌지 영역은 3개의 구별되는 도메인: 상부, 중앙, 및 하부 힌지 도메인으로 세분될 수 있다; [Roux *et al.*, *J. Immunol.* 161 (1998), 4083]을 참고하라.
- [0296] 본원에서 사용되는 용어 "디설피드 결합"에는 2개의 황 원자 사이에 형성된 공유 결합이 포함된다. 아미노산 시스테인은 제2 티올기와 디설피드 결합 또는 가교를 형성할 수 있는 티올기를 포함한다. 대부분의 천연 생성 IgG 분자에서, CH1 및 CL 영역은 디설피드 결합에 의해 연결되며, 2개의 중쇄는 Kabat 번호지정 시스템을 이용하여 239 및 242에 대응하는 위치(위치 226 또는 229, EU 번호지정 시스템)에서 2개의 디설피드 결합에 의해 연결된다.
- [0297] 본원에서 사용되는 용어 "연결된", "융합된" 또는 "융합"은 상호교환적으로 사용된다. 이들 용어는 화학적 접합 또는 재조합 수단을 포함하는 임의 수단에 의해, 2개 이상의 요소 또는 성분을 함께 연결하는 것을 나타낸다. "틀내 융합"은 원래 ORF의 정확한 번역 해독들을 유지하는 방식으로, 2개 이상의 폴리뉴클레오타이드 개방 해독들(ORFs)을 연결하여 더 긴 연속적 ORF를 형성하는 것을 나타낸다. 따라서, 재조합 융합 단백질은 원래 ORF에 의해 인코딩된 폴리펩타이드에 대응하는 2개 이상의 분절을 함유하는 단일 단백질이다(이 분절은 자연에서는 보통 이렇게 연결되지 않음). 이렇게 제조된 해독들은 융합 분절에 걸쳐 연속적이지만, 분절은, 예를 들어 틀내 링커 서열에 의해 물리적으로 또는 공간적으로 분리될 수 있다. 예를 들어, 면역글로불린 가변 영역의 CDR을 인코딩하는 폴리뉴클레오타이드는 틀내 융합될 수 있지만, "융합된" CDR이 연속적 폴리펩타이드의 일부로서 공동-번역되는 한, 적어도 하나의 면역글로불린 틀 영역 또는 추가적인 CDR 영역을 인코딩하는 폴리뉴클레오타이드에 의해 분리될 수 있다. 따라서 하나의 구현예에서, 폴리뉴클레오타이드는 본원에서 정의된 바와 같은 본 발명의 항체의 가변 영역 및 불변 도메인을 인코딩하는 cDNA이다. 하나의 구현예에서, 폴리뉴클레오타이드는 본원에서 정의된 바와 같은 본 발명의 항체의 가변 영역 및 불변 도메인을 인코딩하는 cDNA이다.
- [0298] 에피토프:
- [0299] 항체에 대한 펩타이드 또는 폴리펩타이드 에피토프의 최소 크기는 약 4개 내지 5개 아미노산인 것으로 여겨진다. 펩타이드 또는 폴리펩타이드 에피토프는 바람직하게는 적어도 7개, 보다 바람직하게는 적어도 9개, 가장 바람직하게는 적어도 약 15개 내지 약 30개 아미노산을 함유한다. CDR은 그 3차 형태로 항원성 펩타이드 또는 폴리펩타이드를 인식할 수 있으므로, 에피토프를 이루는 아미노산이 인접할 필요는 없으며, 일부 경우에는 동일 펩타이드 사슬 상에 있지 않을 수도 있다. 본 발명에서, 항체가 2개 이상의 서브타입을 인식하는 경우,

본 발명의 항체에 의해 인식되는 펩타이드 또는 폴리펩타이드 에피토프는 본 발명의 관심 분자의 적어도 4개, 적어도 5개, 적어도 6개, 적어도 7개, 보다 바람직하게는 적어도 8개, 적어도 9개, 적어도 10개, 적어도 15개, 적어도 20개, 적어도 25개, 약 15개 내지 약 30개 또는 약 30개 내지 약 50개의 인접 또는 비인접 아미노산 서열, 즉 적어도 하나의 IFNA 서브타입, 또는 다른 IFNA 서브타입의 상동성 서열을 함유한다. 본 발명의 예시적인 항체 19D11 및 26B9에 대한 IFNA2의 에피토프 및 예시적인 항체 26B9에 대한 IFNW의 에피토프의 맵핑에 대해서는 도 27을 참고하라.

[0300] 결합 특징:

[0301] 본원에서 상호교환적으로 사용되는 "결합" 또는 "인식"이란, 일반적으로 결합 분자, 예로 항체가 그 항원-결합 도메인을 통해 소정 에피토프에 결합하며, 그 결합이 항원-결합 도메인 및 에피토프 간 일부 상보성을 수반한다는 것을 의미한다. 상기 정의에 따르면, 항체는 이것이 그 항원-결합 도메인을 통해, 관련되지 않은 무작위 에피토프에 결합할 것보다 더 쉽게 에피토프에 결합하는 경우, 에피토프에 "특이적으로 결합한다"고 언급된다. 용어 "특이성"은 본원에서 특정 항체가 특정 에피토프에 결합하는 상대적 친화도를 정량하기 위해 사용된다. 예를 들어, 항체 "A"는 항체 "B"에 비해 주어진 에피토프에 대해 더 높은 특이성을 갖는 것으로 간주될 수도 있고, 또는 항체 "A"는 관련된 에피토프 "D"에 대해 갖는 것보다 더 높은 특이성으로 에피토프 "C"에 결합하는 것으로 불릴 수도 있다. 관련되지 않은 에피토프는 보통 비특이적 항원(예로, BSA, 카제인, 또는 임의의 다른 특정된 폴리펩타이드)의 일부이며, 이는 주어진 결합 분자의 결합 특이성을 추산하기 위해 사용될 수 있다. 이에 관해, 용어 "특이적 결합"은 비특이적 항원에 대한 결합에 있어서의 그  $K_D$ 보다 적어도 2배 더 작은  $K_D$ 를 갖는 소정 항원에 대한 항체 결합을 나타낸다. 본원에서 사용되는 용어 "고도로 특이적인" 결합은 특정 표적 에피토프에 대한 항체의 상대적  $K_D$ 가 그 항체의 다른 리간드에 대한 결합을 위한  $K_D$ 보다 적어도 10배 더 작다는 것을 의미한다.

[0302] 존재하는 경우, 용어 "면역학적 결합 특징" 또는 항체와 항원의 다른 결합 특징은 그 모든 분법적 형태에서 항체의 특이성, 친화도, 교차반응성, 및 다른 결합 특징을 나타낸다.

[0303] "우선적으로 결합하는"이란, 결합 분자, 예로 항체가 관련된, 유사한, 상동성 또는 유사성 에피토프에 결합할 것보다 더 쉽게 에피토프에 특이적으로 결합한다는 것을 의미한다. 따라서 주어진 에피토프에 "우선적으로 결합하는" 항체는 이러한 항체가 관련된 에피토프에 교차반응할 수 있음에도 불구하고, 관련된 에피토프에 비해 그 에피토프에 더 쉽게 결합할 것이다. 특정 항원, 예컨대 특이적 IFNA 서브타입에 대해, 용어 "우선적으로 결합하는"은 결합 분자, 예로 항체가 관련된, 유사한, 상동성 또는 유사성 IFNA 서브타입에 결합할 것보다 더 쉽게 IFNA 서브타입에 특이적으로 결합한다는 것을 의미한다.

[0304] 비제한적 예로서, 결합 분자, 예로 항체는 이것이 제2 에피토프에 대한 항체의  $K_D$ 보다 작은 해리 상수( $K_D$ )로 상기 제1 에피토프에 결합하는 경우, 제1 에피토프에 우선적으로 결합하는 것으로 간주될 수 있다. 또 다른 비제한적 예에서, 항체는 제2 에피토프에 대한 항체의  $K_D$ 보다 적어도 한 차수 크기가 작은 친화도로 제1 에피토프에 결합하는 경우, 제1 항원에 우선적으로 결합하는 것으로 간주될 수 있다. 또 다른 비제한적 예에서, 항체는 제2 에피토프에 대한 항체의  $K_D$ 보다 적어도 두 차수 크기가 작은 친화도로 제1 에피토프에 결합하는 경우, 제1 에피토프에 우선적으로 결합하는 것으로 간주될 수 있다.

[0305] 또 다른 비제한적 예에서, 결합 분자, 예로 항체는 제2 에피토프에 대한 항체의  $k(off)$ 보다 작은 오프-율( $k(off)$ )로 제1 에피토프에 결합하는 경우, 제1 에피토프에 우선적으로 결합하는 것으로 간주될 수 있다. 또 다른 비제한적 예에서, 항체는 제2 에피토프에 대한 항체의  $k(off)$ 보다 적어도 한 차수 크기가 작은 친화도로 제1 에피토프에 결합하는 경우, 제1 에피토프에 우선적으로 결합하는 것으로 간주될 수 있다. 또 다른 비제한적 예에서, 항체는 제2 에피토프에 대한 항체의  $k(off)$ 보다 적어도 두 차수 크기가 작은 친화도로 제1 에피토프에 결합하는 경우, 제1 에피토프에 우선적으로 결합하는 것으로 간주될 수 있다.

[0306] 결합 분자, 예로 본원에 개시된 항체 또는 항원-결합 단편, 변이체, 또는 유도체는  $5 \times 10^{-2}$  초<sup>-1</sup>,  $10^{-2}$  초<sup>-1</sup>,  $5 \times 10^{-3}$  초<sup>-1</sup> 또는  $10^{-3}$  초<sup>-1</sup> 이하의 오프-율( $k(off)$ )로 본 발명의 관심 분자, 단편 또는 이들의 변이체에 결합하는 것으로 언급될 수 있다. 보다 바람직하게는, 본 발명의 항체는  $5 \times 10^{-4}$  초<sup>-1</sup>,  $10^{-4}$  초<sup>-1</sup>,  $5 \times 10^{-5}$  초<sup>-1</sup>, 또는  $10^{-5}$  초<sup>-1</sup>  $5 \times 10^{-6}$  초<sup>-1</sup>,  $10^{-6}$  초<sup>-1</sup>,  $5 \times 10^{-7}$  초<sup>-1</sup> 또는  $10^{-7}$  초<sup>-1</sup> 이하의 오프-율( $k(off)$ )로 본 발명의 관심 분자 또는 이들의 단편 또는 변이체에 결합하는 것으로 언급될 수 있다.

- [0307] 결합 분자, 예로 본원에 개시된 항체 또는 항원-결합 단편, 변이체, 또는 유도체는  $10^3 \text{ M}^{-1} \text{ 초}^{-1}$ ,  $5 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ 초}^{-1}$ ,  $10^4 \text{ M}^{-1} \text{ 초}^{-1}$  또는  $5 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ 초}^{-1}$  이상의 온-율(k(on))로 본 발명의 관심 분자 또는 이들의 단편 또는 변이체에 결합하는 것으로 언급될 수 있다. 보다 바람직하게는, 본 발명의 항체는  $10^5 \text{ M}^{-1} \text{ 초}^{-1}$ ,  $5 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ 초}^{-1}$ ,  $10^6 \text{ M}^{-1} \text{ 초}^{-1}$ , 또는  $5 \times 10^6 \text{ M}^{-1} \text{ 초}^{-1}$  또는  $10^7 \text{ M}^{-1} \text{ 초}^{-1}$  이상의 온-율(k(on))로 본 발명의 관심 분자 또는 이들의 단편 또는 변이체에 결합하는 것으로 언급될 수 있다.
- [0308] 결합 분자, 예로 항체는 이것이 에피토프에 대한 참조 항체의 결합을 어느 정도 차단하는 정도까지 그 에피토프에 우선적으로 결합하는 경우, 주어진 에피토프에 대한 참조 항체의 결합을 경쟁적으로 억제하는 것으로 언급된다. 경쟁적 억제는 당분야에 공지된 임의의 방법, 예를 들어 경쟁적 ELISA 분석에 의해 결정될 수 있다. 항체는 적어도 90%, 적어도 80%, 적어도 70%, 적어도 60%, 또는 적어도 50% 만큼 주어진 에피토프에 대한 참조 항체의 결합을 경쟁적으로 억제하는 것으로 언급될 수 있다.
- [0309] 본원에서 사용되는 용어 "친화도"는 결합 분자, 예로 면역글로불린 분자의 CDR과 개별 에피토프의 결합 강도의 척도를 나타낸다; 예로 [Harlow *et al.*, *Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2nd ed. (1988) at pages 27-28]를 참고하라. 본원에서 사용되는 용어 "결합력"은 면역글로불린 모집단 및 항원 간 복합체의 전반적 안정성, 즉 면역글로불린 혼합물과 항원의 기능적 조합 강도를 나타낸다; 예로 [Harlow at pages 29-34]를 참고하라. 결합력은 모집단 내 개별 면역글로불린 분자와 특정 에피토프의 친화도 및 또한 면역글로불린 및 항원의 결합가 모두에 관련된다. 예를 들어, 2가 모노클로날 항체 및 고도로 반복되는 에피토프 구조를 갖는 항원, 예컨대 폴리머 간 상호작용은 높은 결합력을 갖는 것일 것이다. 항원에 대한 항체의 친화도 또는 결합력은 임의의 적합한 방법을 이용해서 실험적으로 결정될 수 있다; 예를 들어 [Berzofsky *et al.*, "Antibody-Antigen Interactions" In *Fundamental Immunology*, Paul, W. E., Ed., Raven Press New York, N Y (1984), Kuby, *Janis Immunology*, W. H. Freeman and Company New York, N Y (1992)] 및 여기에 기재된 방법을 참고하라. 항원에 대한 항체의 친화도를 측정하기 위한 일반적인 기법에는 ELISA, RIA, 및 표면 플라즈몬 공명이 포함된다. 특정 항체-항원 상호작용의 측정된 친화도는 상이한 조건, 예로 염 농도, pH에서 측정되는 경우 변할 수 있다. 따라서, 친화도 및 다른 항원-결합 파라미터, 예로  $K_D$ ,  $IC_{50}$ 의 측정은 바람직하게는 항체 및 항원의 표준화된 용액 및 표준화된 완충액으로 수행된다.
- [0310] 본 발명의 결합 분자, 예로 항체 또는 항원-결합 단편, 변이체 또는 이들의 유도체는 또한 이들의 교차반응성의 관점에서 기재되거나 명시될 수 있다. 본원에서 사용되는 용어 "교차반응성"은 하나의 항원에 대해 특이적인 항체의 제2 항원과 반응하는 능력; 두 상이한 항원성 물질 간 관련성의 척도를 나타낸다. 따라서 항체는 이것이 그 형성을 유도한 것과 다른 에피토프에 결합하는 경우 교차 반응성이다. 교차 반응성 에피토프는 일반적으로 유도성 에피토프로서 여러 동일한 상보적 구조 특성을 함유하며, 일부 경우 실질적으로 원래 것보다 잘 피팅될 수 있다.
- [0311] 예를 들어, 특정 항체는 이들이 관련되지만 동일하지 않은 에피토프, 예로 참조 에피토프에 대해 적어도 95%, 적어도 90%, 적어도 85%, 적어도 80%, 적어도 75%, 적어도 70%, 적어도 65%, 적어도 60%, 적어도 55%, 및 적어도 50% 동일성(당분야에 공지되고 본원에 기재된 방법을 이용해서 계산됨)을 갖는 에피토프에 결합한다는 점에서 어느 정도 교차반응성을 갖는다. 항체는 이것이 참조 에피토프에 대해 95% 미만, 90% 미만, 85% 미만, 80% 미만, 75% 미만, 70% 미만, 65% 미만, 60% 미만, 55% 미만, 및 50% 미만 동일성(당분야에 공지되고 본원에 기재된 방법을 이용해서 계산됨)을 갖는 에피토프에 결합하지 않는 경우, 교차반응성이 거의 또는 전혀 없다고 언급될 수 있다. 항체는 이것이 그 에피토프의 임의의 다른 유사체, 오르소로그 또는 상동체에 결합하지 않는 경우, 특정 에피토프에 대해 "고도로 특이적인" 것으로 간주될 수 있다.
- [0312] 본 발명의 결합 분자, 예로 항체 또는 항원-결합 단편, 변이체 또는 이들의 유도체는 또한 본 발명의 관심 분자에 대한 이들의 결합 친화도의 관점에서 기재되거나 명시될 수 있다. 바람직한 결합 친화도에는  $5 \times 10^{-2} \text{ M}$ ,  $10^{-2} \text{ M}$ ,  $5 \times 10^{-3} \text{ M}$ ,  $10^{-3} \text{ M}$ ,  $5 \times 10^{-4} \text{ M}$ ,  $10^{-4} \text{ M}$ ,  $5 \times 10^{-5} \text{ M}$ ,  $10^{-5} \text{ M}$ ,  $5 \times 10^{-6} \text{ M}$ ,  $10^{-6} \text{ M}$ ,  $5 \times 10^{-7} \text{ M}$ ,  $10^{-7} \text{ M}$ ,  $5 \times 10^{-8} \text{ M}$ ,  $10^{-8} \text{ M}$ ,  $5 \times 10^{-9} \text{ M}$ ,  $10^{-9} \text{ M}$ ,  $5 \times 10^{-10} \text{ M}$ ,  $10^{-10} \text{ M}$ ,  $5 \times 10^{-11} \text{ M}$ ,  $10^{-11} \text{ M}$ ,  $5 \times 10^{-12} \text{ M}$ ,  $10^{-12} \text{ M}$ ,  $5 \times 10^{-13} \text{ M}$ ,  $10^{-13} \text{ M}$ ,  $5 \times 10^{-14} \text{ M}$ ,  $10^{-14} \text{ M}$ ,  $5 \times 10^{-15} \text{ M}$ , 또는  $10^{-15} \text{ M}$  미만의 해리 상수 또는  $K_D$ 를 갖는 것들이 포함된다. 전형적으로, 항체는 그 소정 항원에 대해  $10^{-7} \text{ M}$  이하의 해리 상수( $K_D$ )로 결합한다. 바람직하게는, 항체는 그 인지체 항원에

$10^{-9}$  M 이하의 해리 상수( $K_D$ ), 더욱 바람직하게는  $10^{-11}$  M 이하의 해리 상수( $K_D$ )로 결합한다.

[0313] 항체의 개질:

[0314] 면역글로불린 또는 그 인코딩 cDNA는 추가 개질될 수 있다. 따라서 추가 구현예에서, 본 발명의 방법은 키메라성 항체, 인간화 항체, 단일쇄 항체, Fab-단편, 이중-특이적 항체, 융합 항체, 표지된 항체 또는 이들 중 임의 하나의 유사체의 생산 단계(들) 중 임의 하나를 포함한다. 대응하는 방법은 당분야 숙련자에게 공지되어 있고, 예로 [Harlow and Lane "Antibodies, A Laboratory Manual", CSH Press, Cold Spring Harbor, 1988]에 기재되어 있다. 상기 항체의 유도체가 파지 디스플레이 기법에 의해 획득되는 경우, BIAcore 시스템에서 채용되는 표면 플라즈몬 공명이 본 발명에 의해 제공되는 항체의 임의 하나에서와 동일한 에피토프에 결합하는 파지 항체의 효율을 증가시키기 위해 이용될 수 있다(Schier, *Human Antibodies Hybridomas* 7 (1996), 97-105; Malmborg, *J. Immunol. Methods* 183 (1995), 7-13). 키메라성 항체의 생산은, 예를 들어 국제 출원 WO89/09622에 기재되어 있다. 인간화 항체의 생산 방법은, 예로 유럽 출원 EP-A1 0 239 400 및 국제 출원 WO90/07861에 기재되어 있다. 본 발명에 따라 이용될 항체의 추가 원천은 소위 이중발생성 항체이다. 이중발생성 항체, 예컨대 마우스에서 인간 항체의 생산을 위한 일반적 원리는, 예로 국제 출원 WO91/10741, WO94/02602, WO96/34096 및 WO 96/33735에 기재되어 있다. 위에서 논의된 바와 같이, 본 발명의 항체는 완전 항체에 더하여, 예를 들어 Fv, Fab 및 F(ab)<sub>2</sub>뿐만 아니라 단일쇄를 포함하는 다양한 형태로 존재할 수 있다; 예로, 국제 출원 WO88/09344를 참고하라.

[0315] 본 발명의 항체 또는 이들의 대응하는 면역글로불린 사슬(들)은 당분야에 공지된 통상적 기법을 이용하여, 예를 들어 단독으로 또는 조합으로 아미노산 결실(들), 삽입(들), 치환(들), 부가(들), 및/또는 재조합(들) 및/또는 당분야에 공지된 임의의 다른 개질(들)을 이용하여 추가 개질될 수 있다. 면역글로불린 사슬의 아미노산 서열에 내재되는 DNA 서열 내 이러한 개질의 도입 방법은 당분야 숙련자에게 널리 공지되어 있다; 예로, [Sambrook, *Molecular Cloning A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory (1989) N.Y. 및 Ausubel, *Current Protocols in Molecular Biol* 절수록 *Green Publishing Associates and Wiley Interscience*, N.Y. (1994)]를 참고하라. 본 발명의 항체의 개질에는 측쇄 개질, 골격 개질, 및 N- 및 C-말단 개질, 예컨대 아세틸화, 히드록실화, 메틸화, 아미드화, 및 탄수화물 또는 지질 모이어티, 보조인자 등의 부착을 포함하는 하나 이상의 구성 아미노산의 화학적 및/또는 효소적 유도체화가 포함된다. 마찬가지로 본 발명은 이중성 분자, 예컨대 표지 또는 약물에 융합된 아미노 말단에서 기재된 항체 또는 이들의 일부 단편을 포함하는 키메라성 단백질의 생산을 포괄한다. 상기 방식으로 생성된 항원 결합 분자는 이환 세포 및 조직 각각의 적절한 표면 구조를 발현하는 세포에 약물 편재화를 위해 이용될 수 있다. 상기 표적화 및 세포에 대한 결합은 치료 또는 진단 활성제의 전달 및 유전자 치료법/유전자 전달을 위해 유용할 수 있다. 본 발명의 항체를 포함하는 분자/입자는 특정 관심 항원을 발현하는 세포/조직에 특이적으로 결합할 것이며, 이에 따라 진단적 및 치료적 용도를 가질 수 있다.

[0316] 표본:

[0317] 본원에서 사용되는 용어 "표본" 또는 "생물학적 표본"은 대상체 또는 환자로부터 획득되는 임의의 생물학적 물질을 나타낸다. 하나의 측면에서, 표본은 혈액, 뇌척수액("CSF"), 또는 소변을 포함할 수 있다. 다른 측면에서, 표본은 전혈, 혈장, 말초혈에서 농축된 단핵구(PBMC), 예컨대 림프구(즉 T-세포, NK-세포 또는 B-세포), 단핵구, 대식구, 수지상 세포 및 호염기구; 및 배양된 세포(예로, 대상체로부터의 B-세포)를 포함할 수 있다. 표본에는 또한 중앙 조직을 포함하는 생검 또는 조직 표본이 포함될 수 있다. 다른 측면에서, 표본은 전체 세포 및/또는 세포 용해물을 포함할 수 있다. 하나의 구현예에서, 표본은 말초혈 단핵구(PBMC)를 포함한다. 표본은 당분야에 공지된 방법에 의해 수집될 수 있다.

[0318] 항-IFN- $\alpha$  항체의 동정, 대응하는 B 세포의 단리 및 항-IFN- $\alpha$  항체의 재조합 발현:

[0319] 표 1에 기재되고 몇몇 IFN- $\alpha$  서브타입 및 관심 특이성뿐만 아니라 이들의 재조합 발현 및 기능 특징분석을 나타내는 항체의 분자 클로닝에 대해 예시적으로 나타낸 바와 같은 본 발명의 항-IFN- $\alpha$  항체에 특이적인 B-세포의 동정은 일반적으로 국제 출원 WO2013/098419 및 WO2013/098420에 기재된 바와 같이 수행될 수 있다; 여기서의 실시예 섹션, 특히 그 개시 내용이 본원에 참조로 도입되는 WO2013/098419의 실시예 1 및 2, 118 내지 120페이지 및 WO2013/098420의 실시예 1 내지 4, 27 내지 31페이지를 참고하라.

[0320] 간략하게, 본 발명의 하나의 구현예에서, 단일 또는 올리고클로날 B-세포 배양물을 배양하고, 상기 B-세포에 의해 생산된 항체를 함유하는 배양 상청액을 실시예에 기재된 바와 같이 하나 이상의 IFN- $\alpha$  서브타입에 특이적인 항체의 존재 및 친화도에 대해 스크리닝하였다. 또 다른 구현예에서, 환자 혈청을 먼저 IFN- $\alpha$  서브타입에 대한

자가항체의 존재에 대해 스크리닝한 뒤, 고역가를 갖는 것들을 말초혈 단핵구 단리를 위해 선택하였다; 그 개시 내용이 본원에 참조로 도입되는 W02013/098419의 실시예 2, 118-120페이지를 참고하라. 스크리닝 공정은 IFN- $\alpha$  서브타입의 단편, 펩타이드 또는 유도체 상의 결합에 대한 스크리닝을 포함한다. 이어서, 결합이 검출되는 항체 또는 상기 항체를 생산하는 세포를 단리하였다; 그 개시 내용이 본원에 참조로 도입되는 W02013/098419의 실시예 3, 120페이지를 참고하라. 따라서 항체 분비 세포를 함유하는 표본(예컨대 전체 말초혈 또는 혈청)을 이용해서, 후보 공여체 패널 상에서 예비 스크리닝이 수행될 수 있다. 특히, 말초혈 단핵구(PBMCs)를 단리하기 위한 표준 분리 기법, 예컨대 구배 원심분리를 이용하여 단핵구가 혈액 또는 림프 조직에서 단리될 수 있다. 상기 분리 단계 후에 및/또는 전에, 혈청(또는 혈장), 세포 배양 상청액, 또는 세포(상이한 환자로부터, 상이한 조직으로부터, 및/또는 상이한 시점에 획득됨)표본이 항체 및 항체 분비 세포의 존재를 검출하기 위한 표준 기술(예로 ELISA, BIACORE, 웨스턴 블롯, FACS, SERPA, 항원 어레이, 세포 배양 시스템 내 바이러스 감염의 중화, 또는 ELISPOT 분석)을 이용해서 사전 스크리닝될 수 있다. 문헌에서는, 예를 들어 백신접종된 공여체에서 면역 반응의 특징분석을 위한 ELISPOT의 이용(Crotty et al., Immunol Meth. 286 (2004), 111-122), 새로 감염된 환자에 대한 진단 도구로서 항원 마이크로어레이의 이용(Mezzasoma et al., Clin Chem. 48 (2002), 121-130), 및 항원-특이적 면역 반응을 측정하기 위한 다른 기술(Kern et al., Trends Immunol. 26 (2005), 477-484)을 나타내는 이들 기술의 몇몇 예를 제공한다.

[0321] 후보 항-IFN- $\alpha$  항체 및 이들을 분비하는 B 세포 각각의 동정 후, B 세포를 제조하는 단계 및 관심 항체를 인코딩하는 B 세포로부터 핵산을 획득/서열분석하는 단계 및 관심 항체를 발현할 수 있는 발현 숙주 내로 핵산을 추가 삽입하거나 핵산을 이용하여 이를 제조하는 단계, 관심 항체가 발현되는 조건 하에 발현 숙주를 배양하거나 계대 배양하는 단계, 그리고 선택적으로 관심 항체를 정제하는 단계를 포함하여, 관심 항체를 인코딩하는 핵산 서열이 획득된다. 제한효소 부위를 도입하고, 교돈 사용을 변화시키고, 및/또는 전사 및/또는 번역 조절 서열을 부가하거나 최적화하는 단계 사이에 핵산이 조각될 수 있음은 당연하다. 이들 기법은 당분야의 수준 내이며, 지나친 부담 없이 당분야 숙련가가 수행할 수 있다. 예를 들어, 중쇄 불변 영역은 상이한 이소형의 것으로 교환되거나 함께 제거될 수 있다. 가변 영역이 연결되어 단일쇄 Fv 영역을 인코딩할 수 있다. 다중 Fv 영역이 연결되어 둘 이상의 표적에 대한 결합력을 부여할 수 있거나 또는 키메라성 중쇄 및 경쇄 조합이 채용될 수 있다. 유전 물질이 입수되면, 원하는 표적에 결합하는 이들의 능력을 모두 보유한 상술된 바와 같은 유사체의 설계가 수월해진다. 항체 가변 영역의 클로닝 및 재조합 항체의 생성 방법은 당분야 숙련가에게 공지되어 있고, 예를 들어 [Gilliland et al., Tissue Antigens 47 (1996), 1-20; Doenecke et al., Leukemia 11 (1997), 1787-1792]에 기재되어 있다. 그러나 본 발명의 바람직한 구현예에서는, B 세포가 획득되며, 대응하는 항체는 그 개시 내용이 본원에 참조로 도입되는 국제 출원 W02013/098420, 특히 여기서 실시예 3, 28-30페이지에 기재된 방법에 의해 발현된다.

[0322] 질환 및 장애:

[0323] 달리 언급되지 않는 한, 용어 "장애" 및 "질환"은 본원에서 상호교환적으로 사용된다. 본원에서 사용되는 용어 "자가면역 장애"는 개체 자신의 조직 또는 기관에서 그리고 이에 대해 생기는 질환 또는 장애 또는 이들의 공동-분리 또는 표시 또는 이로부터 생기는 상태이다. 자가면역 질환은 주로 적응 면역 반응의 조절장애에 의해 유도되며, 자가-구조에 대한 자가항체 또는 자가반응성 T 세포가 형성된다. 거의 모든 자가면역 질환은 염증 성분을 또한 갖는다. 자가염증성 질환은 주로 염증성이며, 일부 전통적인 자가염증성 질환은 선천성 염증성 경로의 유전적 결함에 의해 유도된다. 자가염증성 질환에서는 자가반응성 T 세포 또는 자가항체가 확인되지 않는다. 이러한 여러 자가면역 및 자가염증성 장애에서, 비제한적으로 고감마글로불린혈증, 고수준의 자가항체, 조직 내 항원-항체 복합체 침적물, 코르티코스테로이드 또는 면역억제 치료의 혜택, 및 이환 조직 내 림프모양 세포 응집물을 포함하는 여러 임상적 및 실험실 마커가 존재할 수 있다. 이론에 구애받고자 하지 않고, B-세포 매개된 자가면역 장애에 있어서, B 세포는 자가항체 생산, 면역 복합체 형성, 수치상 및 T-세포 활성화, 사이토카인 합성, 직접적 케모카인 방출을 포함하며 단 곳에서 림프모양 형성을 위한 핵을 제공하는 여러 기계적 경로를 통해 인간 자가면역 질환에 병리적 효과를 나타내는 것으로 여겨진다. 각각의 이러한 경로는 상이한 정도로 자가면역 질환의 병리에 참여할 수 있다.

[0324] 본원에서 사용되는 "자가면역 장애"는 기관-특이적 질환(즉, 면역 반응이 기관 시스템, 예컨대 내분비계, 조혈계, 피부, 심폐계, 위장관 및 간계, 신장계, 갑상샘, 귀, 신경근계, 중추신경계 등에 대해 특이적으로 유도됨) 또는 다기관 시스템에 영향을 미칠 수 있는 전신성 질환(예를 들어, 전신 홍반성 루푸스(SLE), 류마티스성 관절염, 다발근염, 자가면역 다중내분비병 증후군 1형(APS1)/자가면역 다중내분비병-칸디다-외배염 형성이상(APECED) 등)일 수 있다. 바람직한 상기 질환에는 자가면역 류마티스성 장애(예컨대, 류마티스성 관절염, 쇼그

렌 증후군, 피부경화증, 루푸스, 예컨대 SLE 및 루푸스 신장염, 다발근육염/피부근염, 및 건선 관절염), 자가면역 피부 장애(예컨대, 건선, 천포창 그룹 질환, 물집유사 천포창 질환, 및 아급성피부 홍반성 루푸스), 및 자가면역 내분비 장애(예컨대, 예를 들어, 당뇨병 관련 자가면역 질환, 예컨대 1형 또는 인슐린 의존적 당뇨병(T1DM 또는 IDDM), 자가면역 갑상샘 질환(예로, 그레이브스 질환 및 갑상샘염)) 및 자가면역성의 생성에 영향을 미치는 질환, 예컨대 자가면역 다중내분비병 증후군 1형(APS1)/자가면역 다중내분비병-칸디다-외배염 형성이상(APECED) 증증 근무력증(MG/가슴샘종)이 포함된다.

[0325] 바람직한 질환에는, 예를 들어 SLE, RA, T1DM, MS, 쇼그렌 증후군, 그레이브스 질환, 갑상샘염, 및 사구체신염, 및 APS1이 포함된다. 더 바람직한 것은 RA, SLE, 및 MS이며, 가장 바람직한 것은 SLE이다.

[0326] 표지 및 진단:

[0327] 표지 제제는 본 발명의 항체 또는 항원에 직접적으로 또는 간접적으로 커플링될 수 있다. 간접적 커플링의 하나의 예는 스페이서 모이어티의 사용에 의한 것이다. 또한, 본 발명의 항체는 추가 도메인을 포함할 수 있고, 상기 도메인은 공유 또는 비-공유 결합에 의해 연결된다. 연결은 당분야에 공지되고 상술된 방법에 따른 유전적 융합에 기반할 수도 있고, 또는 예로 국제 출원 WO94/04686에 기재된 바와 같은 화학적 가교에 의해 수행될 수도 있다. 본 발명의 항체를 포함하는 융합 단백질에 존재하는 추가 도메인은 바람직하게는 가요성 링커, 유리하게는 폴리펩타이드 링커에 의해 연결될 수 있고, 여기서 상기 폴리펩타이드 링커는 상기 추가 도메인의 C-말단 및 본 발명의 항체의 N-말단 또는 그 반대 간 거리에 미치기 충분한 길이의 복수의 친수성 펩타이드-결합된 아미노산을 포함한다. 치료 또는 진단 활성제는 다양한 수단에 의해 본 발명의 항체 또는 이들의 항원-결합 단편에 커플링될 수 있다. 여기에는, 예를 들어 치료 또는 진단 활성제에 대해 공유 방법, 예컨대 펩타이드 연결에 의해 커플링된 본 발명의 항체의 가변 영역을 포함하는 단일쇄 융합 단백질이 포함된다. 추가예에는 공유적으로 또는 비공유적으로 추가 분자에 커플링된 적어도 항원-결합 단편을 포함하는 분자가 포함되며, 하기 비제한적 예시 목록에 있는 것들이 포함된다. [Traunecker, *Int. J. Cancer Surp. SuDP* 7 (1992), 51-52]에는 CD3에 대한 Fv 영역이 가용성 CD4 또는 다른 리간드, 예컨대 OVCA 및 IL-7에 커플링되는 이중특이적 시약 야누신(janusin)이 기재되어 있다. 유사하게, 본 발명의 항체의 가변 영역이 Fv 분자 내로 구축되고 대안적 리간드, 예컨대 언급된 문헌에 예시된 것들에 커플링될 수 있다. [Higgins, *J. Infect. Disease* 166 (1992), 198-202]에는 GP120의 V3 영역 내 특이적 서열에 대한 항체에 가교된 OKT3으로 이루어진 이중-접합체 항체가 기재되어 있다. 이러한 이중-접합체 항체는 또한 본 발명의 방법의 항체에 함유된 적어도 가변 영역을 이용하여 구축될 수 있다. 특이적 항체의 추가예에는 [Fanger, *Cancer Treat. Res.* 68 (1993), 181-194 및 Fanger, *Crit. Rev. Immunol.* 12 (1992), 101-124]에 기재된 것들이 포함된다. 종래 항체를 포함하는 면역독소인 접합체는 당분야에 널리 기재되어 있다. 독소는 통상적 커플링 기법에 의해 항체에 커플링될 수도 있고 또는 단백질 독소부를 함유하는 면역독소가 융합 단백질로 생산될 수도 있다. 본 발명의 항체는 이러한 면역독소를 수득하기 위해 대응하는 방식에서 이용될 수 있다. 이러한 면역독소의 예는 [Byers, *Seminars Cell. Biol.* 2 (1991), 59-70 및 Fanger, *Immunol. Today* 12 (1991), 51-54]에 기재된 것들이다.

[0328] 상술된 융합 단백질은 프로티나제에 대한 절단 부위 또는 절단 가능한 링커를 추가로 포함할 수 있다. 이들 스페이서 모이어티는 다시 불용성 또는 가용성일 수 있고(Diener et al., *Science* 231 (1986), 148) 표적 부위에서 항원으로부터 약물 방출을 구현하도록 선택될 수 있다. 면역치료법을 위해 본 발명의 항체 및 항원에 커플링될 수 있는 치료제의 예는 케모카인, 귀소 분자, 약물, 방사성동위원소, 렉틴, 및 독소이다. 본 발명의 항체 및 항원에 접합될 수 있는 약물은 접합된 분자가 사용되려는 질환 맥락에 의존한다. 예를 들어, 종양 질환의 치료에 유용한 표적에 특이적인 항체는 전통적으로 항종양 약물로 언급되는 화합물, 예컨대 미토마이신 C, 다우노루비신 및 빈블라스틴에 접합될 수 있다. 예로 종양 면역치료법을 위한 본 발명의 방사성동위원소적으로 접합된 항체 또는 항원의 사용에 있어서, 특정 동위원소가 백혈구 분포뿐만 아니라 안정성 및 방출과 같은 요인에 근거하여 다른 것보다 더 바람직할 수 있다. 자가면역 반응에 따라, 일부 방출체가 다른 것에 비해 바람직할 수 있다. 일반적으로,  $\alpha$  및  $\beta$  입자를 방출하는 방사성동위원소가 면역치료법에서 바람직하다. 바람직한 것은 단범위 고에너지  $\alpha$  방출체, 예컨대  $^{212}\text{Bi}$ 이다. 치료 목적을 위해 본 발명의 항체 또는 항원에 결합될 수 있는 방사성동위원소의 예는  $^{125}\text{I}$ ,  $^{131}\text{I}$ ,  $^{90}\text{Y}$ ,  $^{67}\text{Cu}$ ,  $^{212}\text{Bi}$ ,  $^{212}\text{At}$ ,  $^{211}\text{Pb}$ ,  $^{47}\text{Sc}$ ,  $^{109}\text{Pd}$  및  $^{188}\text{Re}$ 이다. 본 발명의 항체 또는 항원에 커플링될 수 있는 다른 치료제뿐만 아니라 생체의 및 생체내 치료 프로토콜은 당업자에게 공지되어 있거나 쉽게 확인될 수 있다. 표지를 위해 적합한 방사선 핵종의 비제한적 예는  $^{198}\text{Au}$ ,  $^{212}\text{Bi}$ ,  $^{11}\text{C}$ ,  $^{14}\text{C}$ ,  $^{57}\text{Co}$ ,  $^{67}\text{Cu}$ ,  $^{18}\text{F}$ ,  $^{67}\text{Ga}$ ,  $^{68}\text{Ga}$ ,  $^3\text{H}$ ,  $^{197}\text{Hg}$ ,  $^{166}\text{Ho}$ ,  $^{111}\text{In}$ ,  $^{113\text{m}}\text{In}$ ,  $^{123}\text{I}$ ,  $^{125}\text{I}$ ,  $^{127}\text{I}$ ,  $^{131}\text{I}$ ,  $^{111}\text{In}$ ,  $^{177}\text{Lu}$ ,  $^{15}\text{O}$ ,  $^{13}\text{N}$ ,  $^{32}\text{P}$ ,  $^{33}\text{P}$ ,  $^{203}\text{Pb}$ ,  $^{186}\text{Re}$ ,

<sup>188</sup>Re, <sup>105</sup>Rh, <sup>97</sup>Ru, <sup>35</sup>S, <sup>153</sup>Sm 및 <sup>99m</sup>Tc이다. 표지에 적합한 다른 분자는 형광 또는 발광 염료, 자기 입자, 금속 및 이차 효소 또는 결합 단계, 예컨대 효소 또는 펩타이드 태그를 통해 검출될 수 있는 분자이다. 본 발명에서 표지로 사용하기 적합한 상업적 형광 탐침은 그 개시 내용이 본원에 참조로 도입되는 [Handbook of Fluorescent Probes and Research Products, 8th Edition]에 기재되어 있다. 자기 입자 기반 분석(MPAs)에 사용하기 적합한 자기 입자는 상자성, 반자성, 강자성, 강자성 및 초상자성 물질로부터 선택될 수 있다.

[0329] 진단 목적에 유용한 분자 및 세포 생화학에서의 일반적인 방법은 [Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 3rd Ed. (Sambrook *et al.*, Harbor Laboratory Press 2001); Short Protocols in Molecular Biology, 4th Ed. (Ausubel *et al.* eds., John Wiley & Sons 1999); Protein Methods (Bollag *et al.*, John Wiley & Sons 1996)]과 같은 표준 참고서에서 확인될 수 있다. 진단 목적을 위한 시약, 검출 수단 및 키트는 상업적 공급업체, 예컨대 Pharmacia Diagnostics, Amersham, BioRad, Stratagene, Invitrogen, 및 Sigma-Aldrich뿐만 아니라 본원에서 언급된 참고문헌, 특히 특허 문헌 중 임의 하나에 제공된 공급원에서 입수 가능하다.

[0330] 치료 및 약물:

[0331] 본원에서 사용되는 용어 "치료하다" 또는 "치료"는 치료적 처치 및 방지적 또는 예방적 조치를 모두 나타내며, 여기서 목적은 원하지 않는 생리적 변화 또는 장애, 예컨대 자가면역 및/또는 자가염증성 질환의 발생을 예방하거나 늦추는(줄이는) 것이다. 유익하거나 원하는 임상 결과에는 비제한적으로 증상의 경감, 질환 정도의 감소, 질환의 안정화된(즉, 악화되지 않는) 상태, 질환 진행의 지연 또는 늦춤, 질환 상태의 개선 또는 완화, 및 진정(부분적이건 전체적이건)이, 검출 가능하건 검출 불가능하건 간에 포함된다. "치료"는 또한 치료를 받지 않는 경우의 예상 생존에 비해 연장된 생존을 의미할 수 있다. 치료를 필요로 하는 자들에는 이미 상태 또는 장애를 갖는 자들뿐만 아니라 상태 또는 장애를 갖기 쉬운 자들 또는 상태 또는 장애의 발현이 예방될 자들이 포함된다.

[0332] 달리 언급되지 않는 한, 용어 "약물", "의약," 또는 "약제"는 본원에서 상호교환적으로 사용되며, 비제한적으로 (A) 내부 또는 외부 사용을 위한 물질, 의약 및 제조물 및 인간 또는 다른 동물 질환의 진단, 치유, 완화, 치료, 또는 예방을 위해 사용될 임의의 물질 또는 물질 혼합물; 및 (B) 인간 또는 다른 동물 신체의 구조 또는 임의 기능에 영향을 미치기 위한 물질, 의약 및 제조물(식품 이외); 및 (C) (A) 및 (B)항에서 명시된 임의 물질의 성분으로 사용하려는 물질이 모두 포함된다. 용어 "약물", "의약", 또는 "약제"에는 인간 또는 다른 동물의 신체 내, 예로 피부, 위 또는 장에서 의도되는 표적 위치에서 "약물", "의약", 또는 "약제"의 용이한 수송, 분해, 분리, 용해 및 생물학적 이용가능성을 보장하거나 충전제, 붕해제, 운할제, 활택제, 결합제로서 하나 이상의 "제제", "화합물", "물질" 또는 "(화학적)조성물"을 그리고 일부 다른 맥락에서는 다른 약학적 불활성 부형제를 또한 함유하는 인간 또는 다른 동물에서 사용하기 위한 제조물의 전체 제형이 포함된다. 용어 "제제", "화합물" 또는 "물질"은 본원에서 상호교환적으로 사용되며, 보다 특정한 맥락에서 그러나 비제한적으로 모든 약리활성제, 즉 원하는 생물학적 또는 약리적 효과를 유도하거나, 본 발명의 방법에 의해 이러한 가능 약리 효과의 유도능에 대해 조사되거나 평가되는 제제가 포함된다.

[0333] "항-류마티스 약물" 및 면역억제 약물의 예에는 클로로퀸, 히드록시클로로퀸, 미오크리신, 오라노팜, 설파살라진, 메토티렉세이트, 레플루노마이드, 에타네르셉트, 인플릭시맵(+경구 및 피하 메토티렉세이트), 아달리무맵 등, 아자티오프린, D-페니실라민, 금 염(경구), 금 염(근육내), 미노사이클린, 사이클로스포린(사이클로스포린 A 및 국소 사이클로스포린 포함), 타크롤리무스, 미코페놀레이트 모페틸, 사이클로포스파미드, 스타필로코커스 단백질 A(Goodyear and Silverman, J. Exp. Med., 197 (2003), 125-39)가 이들의 염 및 유도체 등을 포함하여 포함된다.

[0334] "비스테로이드성 소염 약물" 또는 "NSAID"의 예에는 아스피린, 아세틸살리실산, 이부프로펜 및 이부프로펜 리타드, 페노프로펜, 피록시캅, 플루르비프로펜, 나프록센, 케토프로펜, 나프록센, 테녹시캅, 베노틸레이트, 디클로페낙, 나프록센, 나부메톤, 인도메타신, 케토프로펜, 메페남산, 디클로페낙, 펜부렌, 아자프로파론, 아세메타신, 티아프로펜산, 인도메타신, 설린달, 톨메틴, 페닐부타존, 디클로페낙 및 디클로페낙 리타드, 사이클로옥시게나제(COX)-2 억제제, 예컨대 GR 253035, MK966, 셀레콕시브(CELEBREX®; 4-(5-(4-메틸페닐)-3-(트리플루오로메틸)-1H-피라졸-1-일), 벤젠설폰-아미드 및 발데콕시브(BEXTRA®), 및 멜록시캅(MOBIC®)이 이들의 염 및 유도체 등을 포함하여 포함된다. 바람직하게는 이들은 아스피린, 나프록센, 이부프로펜, 인도메타신 또는 톨메틴이다. 이러한 NSAID는 선택적으로 진통제, 예컨대 코데닌, 트라마돌 및/또는 디하이드로코디닌 또는 마약, 예컨대 모르핀과 함께 사용된다.

[0335] "대상체" 또는 "개체" 또는 "동물" 또는 "환자" 또는 "포유류"란, 진단, 예진, 예방 또는 치료법이 요구되는 임

의 대상체, 특히 포유류 대상체, 예로 인간 환자를 의미한다.

[0336] 약학 담체:

[0337] 약학적으로 허용 가능한 담체 및 투여 경로는 당분야 숙련자에게 공지된 해당 문헌에서 취할 수 있다. 본 발명의 약학적 조성물은 당분야에 널리 공지된 방법에 따라 제형화될 수 있다; 예를 들어 [Remington: *The Science and Practice of Pharmacy* (2000) by the University of Sciences in Philadelphia, ISBN 0-683-306472, Vaccine Protocols. 2nd Edition by Robinson et al., Humana Press, Totowa, New Jersey, USA, 2003; Banga, *Therapeutic Peptides and Proteins: Formulation, Processing, and Delivery Systems*. 2nd Edition by Taylor and Francis. (2006), ISBN: 0-8493-1630-8]을 참고하라. 적합한 약학 담체의 예는 당분야에 널리 공지되어 있고, 포스페이트 완충 식염수 용액, 물, 에멀션, 예컨대 오일/물 에멀션, 다양한 유형의 수화제, 멸균 용액 등이 포함된다. 이러한 담체를 포함하는 조성물은 널리 공지된 통상적 방법에 의해 제형화될 수 있다. 이들 약학적 조성물은 적합한 용량으로 대상체에 투여될 수 있다. 적합한 조성물의 투여는 상이한 방식으로 실시될 수 있다. 예에는 경구, 비강내, 직장, 국소, 복강내, 정맥내, 근육내, 피하, 피내, 경피, 경막내 및 두개내 방법을 통한 약학적으로 허용 가능한 담체를 함유하는 조성물의 투여가 포함된다. 에어로졸 제형물, 예컨대 비강 분무 제형물에는 보존제 및 등장성 제제를 포함하는 활성제의 정제 수용액 또는 다른 용액이 포함된다. 이러한 제형물은 바람직하게는 비강 점막과 상용성인 pH 및 등장성 상태로 조정된다. 경구 투여를 위한 약학적 조성물, 예컨대 단일 도메인 항체 분자(예로, "nanobodies™") 등도 본 발명에서 고려된다. 이러한 경구 제형물은 정제, 캡슐, 분말, 액체 또는 반고체 형태일 수 있다. 정제는 고체 담체, 예컨대 젤라틴 또는 보강제를 포함할 수 있다. 직장 또는 질 투여를 위한 제형물은 적합한 담체를 포함하는 좌약으로 제공될 수 있다; 또한 [O'Hagan et al., *Nature Reviews, Drug Discovery* 2(9) (2003), 727-735]를 참고하라. 다양한 유형의 투여에 적합한 제형물에 대한 추가 지침은 [*Remington's Pharmaceutical Sciences*, Mace Publishing Company, Philadelphia, PA, 17th ed. (1985)] 및 대응하는 업데이트에서 확인될 수 있다. 약물 전달 방법의 간략한 리뷰에 대해서는 [Langer, *Science* 249 (1990), 1527-1533]을 참고하라.

[0338] 투여 방식:

[0339] 투여 방식은 주치의 및 임상적 요인에 의해 결정될 것이다. 의학 분야에서 널리 공지된 바와 같이, 임의의 한 환자에 대한 투여량은 환자의 체격, 체표면적, 연령, 투여될 특정 화합물, 성별, 투여 시간 및 경로, 일반 건강, 및 동시 투여되고 있는 다른 약물을 포함하는 여러 요인에 의존한다. 전형적인 용량은, 예를 들어 0.001 내지 1000  $\mu\text{g}$ (또는 상기 범위에서 발현을 위한 또는 발현을 억제하기 위한 핵산의)범위일 수 있다; 그러나, 상기 예시적 범위 초과 또는 미만 용량이, 특히 상기 언급된 요인을 고려하여 의도된다. 일반적으로, 약학적 조성물의 정기적 투여 방식은 1일 1  $\mu\text{g}$  내지 10 mg 단위 범위여야 한다. 방식이 연속 주입인 경우, 또한 각각 1  $\mu\text{g}$  내지 10 mg/체중 kg/분의 범위여야 한다. 진행은 주기적 평가에 의해 모니터링될 수 있다. 비경구 투여용 제조물에는 멸균 수용액 또는 비-수용액, 현탁액, 및 에멀션이 포함된다. 비수성 용매의 예는 프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜, 식물성 오일, 예컨대 올리브 오일 및 주사용 유기 에스테르, 예컨대 에틸 올레이트이다. 수성 담체에는 식염수 및 완충 매질을 포함하여, 물, 알코올/수용액, 에멀션 또는 현탁액이 포함된다. 비경구 비히클에는 염화나트륨 용액, 링거 텍스트로스, 텍스트로스 및 염화나트륨, 락테이트화 링거 또는 고정유가 포함된다. 정맥내 비히클에는 유체 및 영양 보충제, 전해질 보충제(예컨대 링거 텍스트로스 기반 보충제) 등이 포함된다. 보존제 및 다른 첨가제, 예컨대 항균제, 항산화제, 킬레이트화제 및 불활성 기체 등도 존재할 수 있다. 또한, 본 발명의 약학적 조성물은 약학적 조성물의 의도되는 용도에 따라 추가 제제, 예컨대 항-중양 제제 및 세포독성 약물을 추가로 포함할 수 있다.

[0340] 또한, 다른 제제의 공동-투여 또는 순차적 투여도 바람직할 수 있다. 치료적 유효 용량 또는 유효량은 증상 또는 상태를 개선하기 충분한 활성 성분의 양을 나타낸다. 이러한 화합물의 치료적 유효성 및 독성은 세포 배양 또는 실험 동물에서의 표준 약학 절차, 예로 ED50(모집단의 50%에서의 치료 유효 용량) 및 LD50(모집단의 50%에 대한 치사 용량)에 의해 결정될 수 있다. 치료 및 독성 효과 간 용량 비가 치료 지수이며, 비 LD50/ED50으로 표현될 수 있다.

[0341] 바람직하게는, 조성물 중 치료제는 염증을 예방하거나 면역 반응을 억제하기 충분한 양으로 존재한다.

[0342] 이들 및 다른 구현예는 본 발명의 기재 및 실시예에 개시되고 포괄된다. 본 발명에 따라 채용될 물질, 방법, 용도 및 화합물 중 임의 하나에 관한 추가 문헌은, 예를 들어 전자 장치를 이용하여 공개 라이브러리 및 데이터베이스에서 검색될 수 있다. 예를 들어 National Center for Biotechnology Information 및/또는 National Library of Medicine(National Institutes of Health)에서 호스팅하는 공개 데이터베이스 "Medline"을 이용할

수 있다. 추가 데이터베이스 및 웹 주소, 예컨대 EMBL(European Molecular Biology Laboratory)의 일부인 EBI(European Bioinformatics Institute)의 것은 당분야 숙련자에게 공지되어 있고 또한 인터넷 검색 엔진을 이용해서 입수될 수 있다. 후행 검색 및 현재 정보에 대해 유용한 생물공학 특허 정보 및 특허 정보의 관련 소스 조사에 대한 개요는 [Berks, *TIBTECH 12* (1994), 352-364]에 제공된다.

[0343] 상기 개시는 본 발명을 일반적으로 설명한다. 몇몇 문헌이 본 명세서의 텍스트에 걸쳐 언급된다. 전체 서지 인용은 청구범위 바로 앞의 명세서 말단에서 확인될 수 있다. 언급된 모든 참고문헌의 내용(본 출원 및 제조업체의 사양, 지침 등에 걸쳐 언급되는 문헌 참조, 허여된 특허, 공개 특허 출원 포함)은 본원에 명시적으로 참조로 포함된다; 그러나 언급된 임의의 문헌이 본 발명에 대해 실제 선행 기술임을 인정하는 것은 아니다. 본원에서 단지 예시 목적으로 제공되며 본 발명의 범위를 제한하려는 것이 아닌 하기 구체적 실시예를 참조하여 보다 완전한 이해가 획득될 수 있다.

[0344] **실시예**

[0345] 하기 실시예 1 내지 9 및 대응하는 도 1 내지 32는 본 발명을 추가 예시하지만, 어떠한 방식으로든 본 발명의 범위를 제한하는 것으로 간주되어서는 안 된다. 통상적 방법, 예컨대 본원에 채용된 것들의 상세한 설명은 언급된 문헌에서 확인될 수 있다; 또한 [*"The Merck Manual of Diagnosis and Therapy"* Seventeenth Ed. ed. by Beers and Berkow(Merck & Co., Inc., 2003)]을 참고하라.

[0346] 본 발명의 실시는 달리 나타내지 않는 한, 당분야의 기술 범위 내인 세포 생물학, 세포 배양, 분자 생물학, 트랜스제닉 생물학, 미생물학, 재조합 DNA 및 면역학의 통상적 기법을 채용할 것이다. 분자 유전학 및 유전자 조작 방법은 일반적으로 최근 판 [Molecular Cloning: A Laboratory Manual, (Sambrook *et al.*, (1989) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 2nd ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press); *DNA Cloning*, Volumes I and II(Glover ed., 1985); *Oligonucleotide Synthesis*(Gait ed., 1984); *Nucleic Acid Hybridization*(Hames and Higgins eds. 1984); *Transcription And Translation*(Hames and Higgins eds. 1984); *Culture Of Animal Cells*(Freshney and Alan, Liss, Inc., 1987); *Gene Transfer Vectors for Mammalian Cells*(Miller and Calos, eds.); *Current Protocols in Molecular Biology and Short Protocols in Molecular Biology*, 3rd Edition(Ausubel *et al.*, eds.); 및 *Recombinant DNA Methodology*(Wu, ed., Academic Press), *Gene Transfer Vectors For Mammalian Cells*(Miller and Calos, eds., 1987, Cold Spring Harbor Laboratory); *Methods In Enzymology*, Vols. 154 and 155(Wu *et al.*, eds.); *Immobilized Cells And Enzymes*(IRL Press, 1986); *Perbal, A Practical Guide To Molecular Cloning* (1984); *the treatise, Methods In Enzymology*(Academic Press, Inc., N.Y.); *Immunochemical Methods In Cell And Molecular Biology*(Mayer and Walker, eds., Academic Press, London, 1987); *Handbook Of Experimental Immunology*, Volumes I-IV(Weir and Blackwell, eds., 1986)]에 기재되어 있다. 본 개시에서 언급되는 유전자 조작을 위한 시약, 클로닝 벡터, 및 키트는 상업적 공급업체, 예컨대 BioRad, Stratagene, Invitrogen, 및 Clontech에서 입수 가능하다. 세포 배양 및 배지 수집에서의 일반적인 기법은 [Large Scale Mammalian Cell Culture(Hu *et al.*, *Curr. Opin. Biotechnol.* 8 (1997), 148); Serum-free Media(Kitano, *Biotechnology* 17 (1991), 73); Large Scale Mammalian Cell Culture(*Curr. Opin. Biotechnol.* 2 (1991), 375); 및 Suspension Culture of Mammalian Cells(Birch *et al.*, *Bioprocess Technol.* 19 (1990), 251]에 개요가 나타나 있다.

[0347] **재료 및 방법**

[0348] 환자 선택, APECED/APS1 환자 메모리 B 세포 배양으로부터의 말초혈 단핵구(PBMC) 분리 및 항체 분리는 국제 출원 WO2013/098419 및 WO2013/098420에 기재된 대로, 그러나 분리되고 분석된 항체의 특이성이 언급된 PCT 출원에서 구체적으로 사용된 IL-17 및 IL-22 대신 본원에서 위에서 그리고 아래에서 정의된 바와 같은 IFNA 서브타입에 대한 것임을 차이로 하여 수행되었다; 여기서 그 개시 내용이 본원에 참조로 도입되는 WO2013/098419의 실시예 섹션, 특히 실시예 1 및 2, 117 내지 120페이지 및 실시예 17, 168-171페이지 및 WO2013/098420, 실시예 1 내지 4, 27 내지 31페이지를 참고하라.

[0349] 본 발명의 인간 항체의 분자 클로닝 및 후속 항체 생산과 정제는 국제 출원 WO2013/098419에 기재된 바와 같이 수행되었으며, 그 개시 내용이 본원에 참조로 도입되는 그 출원의 실시예 섹션, 특히 여기서 실시예 1 내지 3, 117-120페이지를 참고하라. AIRE 유전자의 돌연변이 분석은 국제 출원 WO2013/098419에 기재된 바와 같이 수행되었다; 그 개시 내용이 본원에 참조로 도입되는 여기서의 실시예, 특히 특정 단계가 WO99/15559에 기재된 바와 같이 수행된, 실시예의 재료 및 방법에서 "AIRE 유전자의 돌연변이 분석" 섹션, 115-116페이지를 참고하라. 이에 관해, AIRE(APECED) 유전자에서 각 돌연변이의 유전형 분석은 그 개시 내용의 전문이 본원에 참조로 도입되

는 국제 출원 W099/15559, 실시예 2, 12 내지 13페이지에 기재된 바와 같이 수행되고; AIRE 유전자의 엑손 2 및 6에서 돌연변이의 확인은 국제 출원 W099/15559의 실시예 3, 13페이지, 5줄 ~ 14페이지, 13줄에 기재된 바와 같이 수행된다. 특히, 돌연변이 분석을 위해, DNA 표본은 APECED 환자 및 APECED의 추정 보인자 그리고 정상적인 건강한 대조군으로부터의 말초혈 단핵구에서 정제되고([Sambrook *et al.* 1989, *Molecular Cloning. A Laboratory Manual.* CSH Press]에 따라) 모든 확인된 엑손에 대해 특이적인 프라이머를 이용한 PCR을 거친다.

[0350] 실시예 1: 환자 혈청 중 사이토카인 특이적 항체의 검출

[0351] 유전적 상태 APECED(자가면역 다중내분비병 칸디다 표피 형성이상, 또한 자가면역 다중내분비병 1형(APS1))를 겪는 환자 혈청 중 다양한 사이토카인 및 질환 특이적 항체의 일반적 존재는 그 개시 내용이 본원에 참조로 도입되는 본 출원인의 국제 출원 W02013/098419의 실시예 7, 128페이지에 기재되고 표 1 및 2, 128-130페이지에 나타난 바와 같은 프로토아레이 분석에 의해 결정하였다. APS1-1부터 APS1-23의 코드로 나타내는 23명 환자로부터의 혈청을 함께, 분석에서 사용하였다. 환자와 연령 매치되고 C1-C8로 코드화된 8개의 대조군 혈청은 건강한 실험실 직원으로부터 수득하였다. 검사한 23명의 환자에서의 IFNA 서브타입 특이적 및 dsDNA-특이적 항체의 존재를 나타내는 도 4를 참고하라. 도 4에 나타난 혈청반응성에 부가하여, 환자 APS1-9 및 APS1-2는 IFNA1/13, IFNA5, IFNA6, IFNA10, IFNA14, IFNA16 및 IFNA21에 대한 혈청반응성을 나타내었다.

[0352] 항-dsDNA 항체는 SLE에 대해 고도로 특이적이며, 질환 진단에서 이용된다. 놀랍게도, APS1 환자는 항-dsDNA 항체의 빈번한 존재에도 불구하고 루푸스를 갖지 않는다. 그러나 APS1 환자는 여러 루푸스-시사 분자 기전에 관여된 임상적으로-관련된 약물 표적인 몇몇 인터페론- $\alpha$  서브타입에 대해 현저한 혈청반응성을 나타내어, SLE 치료에서 이들 항체의 가능한 적합성을 시사한다.

[0353] ELISA - IFN- $\alpha$

[0354] 96 웰 마이크로플레이트(Costar, USA)를 인간 IFNA1, IFNA2(ImmunoTools), IFNA4(SinoBiological), IFNA5, IFNA6, IFNA8, IFNA21(모두 PBL) 및 IFNA14(ATGen) 또는 IFNA8(Novus Biologicals)로 코팅하였다. 플레이트를 PBS-T로 세척하고, 2% BSA(Sigma, Buchs, Switzerland) 함유 PBS로 실온에서 1h 동안 차단하였다. 환자 혈청, B 세포 컨디셔닝 배지, 또는 재조합 항체 제조물을 실온에서 2h 동안 인큐베이션하였다. 인간 IgG의 관심 항원에 대한 결합을 홀스래디쉬 페록시다제 접합된 염소 항-인간 Fc-감마-특이적 항체(Jackson ImmunoResearch, Europe Ltd., Cambridgeshire, UK)를 이용하여 결정한 뒤 TMB 기질 용액(TMB, Sigma, Buchs, Switzerland)을 이용하여 HRP 활성을 측정하였다. 인간 Fc 융합 마우스 IFNA2, IFNA4, IFNA14(SinoBiological)에 대한 결합을 홀스래디쉬 페록시다제 접합된 항-F(ab')<sub>2</sub>-특이적 항체로 검출하였다(도 19a 참고).

[0355] 실시예 2: 본 발명의 항체의 EC50 ELISA 결정

[0356] 본 발명의 hMAB의 IFNA2(ImmunoTools), IFNA4(SinoBiological), IFNA14(ATGen)에 대한 EC50 결합을 ELISA로 결정하였다(또한 사용한 재조합 단백질에 대한 상세내용은 아래 표 3을 참고하라). MAB의 연속 희석물(1000 ng/ml 부터 0.0169 ng/ml까지)을 항원-코팅된 플레이트와 2시간 동안 인큐베이션하였다(PBS 중 1  $\mu$ g/ml로 하룻밤 동안 인큐베이션 후 세척하고 PBS 중 2% BSA로 차단함). 이어서 플레이트를 세척하고, 항-인간 HRP-접합된 이차 항체로 MAB의 결합을 검출하였다. 농도 로그값 대 OD 450 nm 측정을 도시하여 수득한 S자형 용량-반응 곡선(가변 기울기, 4 파라미터) 상에서 Prism 4 GraphPad 소프트웨어를 이용해서 각각의 항원에 대한 최대 결합의 절반을 일으키는 MAB의 농도(EC50, ng/ml)를 계산하였다; 아래 도 3 및 표 4를 참고하라.

**표 3**

[0357] Elisa 분석에서 사용된 재조합 단백질 목록

표적	공급업체	카탈로그 번호
IFN-알파 1 베타(IFNA1/13)	ImmunoTools	11343596
IFNA2	ImmunoTools	11343516
IFNA4	SinoBiological	10336-H08B
IFNA5	PBL	11135
IFNA6	PBL	11165
IFNA8	PBL	11115
IFNA21	PBL	11130
IFNA14	ATGen	ATGP1500
IFN-오메가 1	ProSpec	CYT-040

IFN. 감마	Immunotools	11343536
gIFNA1, 2, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 14, 16, 17, 21, B, W	내부 생산, Gaussia 루시페라제와의 융합 구축물	

**표 4**

[0358] ISRE 이중 루시페라제 리포터 분석에서 취득된 본 발명의 예시적인 항-IFN- $\alpha$  항체 19D11, 26B9, 8H1, 12H5 및 50E11의 IC50 중화 값 요약.

항원	IC50(ng/ml)				
	19D11	26B9	8H1	12H5	50E11
IFNA1	3.80	8.60	28.98	51.32	97.38
IFNA2	1.62	2.83	1039.0	10.66	158.6
IFNA4	0.95	2.07	5.43	0.48	20.25
IFNA5	0.85	3.74	1.78	22.61	0.91
IFNA6	0.79	3.16	77.70	3.55	39.30
IFNA7	0.37	1.57	0.90	0.64	1.90
IFNA8	27.69	205.0	571.0	0.86	4.02
IFNA10	0.72	1.84	2.69	0.66	3.63
IFNA14	0.31	2.01	784.6	2.15	9.20
IFNA16	1.86	4013.0	1.86	32.99	2.35
IFNA17	0.75	2.22	2.11	0.75	2.31
IFNA21	2.22	4.65	2.78	13.02	3.05
IFNW	-	0.50	2.13	-	113.2

[0359] 표 3에 나타난 상업적 공급업체에서 취득된 IFNA-단백질 및 본 발명에 따라 생성된 IFNA-단백질 gIFNA2/-4 및 -14를 이용하여 예시적인 항-IFN- $\alpha$  항체의 본 발명에 따라 수행된 이전 EC50 결합 대 IC50 중화 분석은 유사한 결과를 제공하였다.

[0360] 또한, 본 발명의 예시적인 MAB 19D11, 25C3, 26B9, 5D1 및 13B11의 IFNA1(ImmunoTools)에 대한 결합은 ELISA에 의해 이들 항체의 IFNA2(ImmunoTools)에 대한 결합과 비교하였다. 상기 실험에서, 검사된 MAB(300 ng/ml)를 항원-코팅된 플레이트(PBS 중 1  $\mu$ g/ml로 하룻밤 동안 코팅 후, 세척하고, PBS 중 2% BSA로 차단함)와 2시간 동안 인큐베이션하였다. 이어서 플레이트를 세척하고, MAB의 결합을 항-인간 HRP-접합된 이차 항체로 검출하였다. 예시적인 MAB 19D11, 25C3, 26B9 및 13B11은 IFNA1 및 IFNA2에 대해 필적하는 결합 친화도를 나타내었다(도 11a 참고). 그러나 예시적인 항-IFN- $\alpha$  MAB 5D1은 IFNA2와 결합하며, IFNA1과 교차반응하지 않는다(도 11a 참고). 추가 실험에서, 본 발명의 예시적인 MAB 19D11, 25C3, 26B9, 5D1 및 13B11의 IFNA8에 대한 결합을 이들 항체의 IFNA14에 대한 결합에 대해(둘 다 IFN-Gaussia 루시페라제 융합 단백질임) LIPS로 비교하였다. 여기서, 예시적인 MAB 13B11은 IFNA8과 교차반응성을 나타내지 않았다. 다른 예시적인 항체 19D11, 25C3, 26B9 및 5D1은 IFNA14에 비해 IFNA8의 더 강한 결합을 나타내었다(도 11b 참고). 추가 실험에서, 본 발명의 예시적인 MAB 5D1, 13B11 19D11, 25C3, 26B9 및 31B4의 IFNA5, IFNA6, IFNA8, IFNA21(모두 PBL) 및 IFNA14(ATGen)로의 결합을 결정하고 비교하였다. 예시적인 항-IFN- $\alpha$  항체 13B11은 IFNA8 및 IFNA21과 교차 반응하지 않았고, 항체 19D11은 다른 IFNA 서브타입에 비해 IFNA21과 더 낮은 친화도를 가지며 교차 반응하였다(도 11c 참고).

[0361] **실시예 3: 중화 분석**

[0362] 중화 분석을 연구된 사이토카인에 반응하는, 즉 필요한 수용체를 수반하는 세포주 상에서 수행한다. 수용체에 대한 리간드 결합은 대응하는 신호전달 경로, 전사 인자의 핵으로의 전위를 활성화하고, 반응물질 유전자의 전사, 번역, 및 해당되는 경우 산물 분비를 상향 조절한다. 사용된 사이토카인 농도는 분석의 민감성을 최대화하기 위해 용량-반응 곡선의 선형 부분의 시작부에서 선택된다. 항체의 중화능을 평가하기 위해, 표적 사이토카인의 최적 농도를 혈청, 상청액 또는 정제된 항체 표본의 일련의 희석물과 사전 인큐베이션한다. 결과를 양성 및 음성 대조군 간 절반 값을 나타내는 항체의 역가 또는 농도로 표시한다.

[0363] 인산화-STAT1 분석

[0364] 30,000개 HEK 293T 또는 HEK 293T MSR 세포를 폴리-L-라이신-코팅된 96-웰 플레이트(BD Biocoat, Bedford, MA,

USA) 내로 또는 정규 조직 배양-처리된 96-웰 플레이트(카탈로그 번호 3598, Corning Inc., Corning, NY, USA) 내로 각각 접종하였다. 다음 날, rhIFNA 또는 IFN-Gaussia 루시퍼라제 융합 단백질(g1 IFNs)을 일시적으로 발현하는 HEK 293T 세포의 상청액을 항-IFNA mAb 또는 대조군 IgG(5 µg/ml)와 혼합하고, 37°C에서 1시간 동안 사전 인큐베이션하였다. 사전 인큐베이션 후, 혼합물을 이용하여 HEK 293T 또는 HEK 293T MSR 세포를 37°C에서 10분 동안 자극하였다. 자극 후, 세포를 프로테아제 및 포스포타제 억제제(카탈로그 번호 C2978, P5726, P0044, P8340, SIGMA-ALDRICH, St. Louis, MO, USA)가 보강된 CelLytic™ M 용해 완충액으로 용해시키고, 수집한 용해물을 테이블탑 원심분리기에서 13,000 RPM, 4°C에서 세정하였다. 용해물을 환원 SDS-PAGE 처리하고 니트로셀룰로스 막 상에 블로팅하였다. 막을 실온에서 1 시간 동안 0.25% 소 젤라틴, 150 mM NaCl, 5 mM EDTA, 50 mM Tris/HCl pH 7.5, 0.05% Triton X-100 함유 완충액으로 차단한 뒤 하룻밤 동안 4°C에서 인산화된 STAT1(Tyr701, 차단 완충액 중 1:1000으로 희석됨, 카탈로그 번호 9167, Cell Signaling Technology, Danvers, MA, USA)에 대한 토끼 모노클로날 항체와 인큐베이션하였다. 다음 날, 블롯을 차단 완충액으로 3회 세척한 뒤 토끼 IgG(차단 완충액 중 1:20,000으로 희석됨, 카탈로그 번호 111-035-144, Jackson ImmunoResearch, West Grove, PA, USA)에 대한 홀스래디쉬 페록시다제-연관 이차 항체와 인큐베이션하였다. 3회 추가 세척 단계 후, ECL 기질을 첨가하고(카탈로그 번호 34087, Thermo Fisher Scientific, Rockford, IL, USA) 각각의 밴드를 자가방사선촬영에 의해 시각화하였다. 결합된 항체를 복원 웨스턴 블롯 박리 완충액(카탈로그 번호 21059, Thermo Fisher Scientific) 중 인큐베이션에 의해 제거하고, 토끼 폴리클로날 항-STAT1 혈청을 이용하여 전체 STAT1 수준을 가시화하였다(차단 완충액 중 1:1000으로 희석됨, 카탈로그 번호 9172, Cell Signaling Technology).

[0365] 하기에서는 예시적인 항-IFN-α 특이적 항체 5D1, 19D11, 25C3, 26B9, 31B4 및 13B11로 수행한 두 인산화-STAT1 분석 결과가 논의된다. 도 5b 및 5c에서 알 수 있듯이, 예시적인 항-IFN-α 특이적 항체 19D11, 25C3, 26B9, 31B4 및 13B11의 첨가는 STAT1의 IFNA2, IFNA4 및 IFNA14 의존적 인산화를 저해하여 본 발명의 항체의 IFN-α 중화능을 시사한다. 또한, 예시적인 항-IFN-α 특이적 항체 19D11, 26B9 및 31B4는 또한 STAT1의 IFNA1, g1 IFNA5 및 IFNA6 의존적 인산화를 저해하며, 항체 26B9의 중화능은 IFNA5에 대해 약간 감소된다. 항체 25C3은 IFNA2 및 IFNA4에 대한 그 중화능과 대비되어 IFNA6 및 IFNA14 활성화에 대해 약간 더 약한 중화능을 나타내었다. 본 발명의 예시적인 항-IFN-α 특이적 항체 5D1의 첨가는 IFNA2 및 IFNA4에 대한 상기 항체의 중화 활성을 나타내었으며, IFNA14 의존적 STAT1-인산화에 대해 매우 약한 중화를 관찰할 수 있거나 중화를 관찰할 수 없었으며(도 5c, 우측 패널), 약간 더 약한 IFNA6의 중화가 관찰되었다.

[0366] IFNA1b 또는 IFNA16 자극 후, 예시적인 항체 19D11, 25C3, 26B9, 31B4 및 13B11은 IFNA1b(IFNA1/13) 활성화에 대한 중화능을 나타내었고, 항체 5D1에 대한 중화는 관찰할 수 없었다(도 5b). IFNA16에 대해서는, 항체 19D11, 5D1 및 13B11만 중화능을 나타내었고, 예시적인 항체 25C3, 26B9 및 31B4는 IFNA16에 대해 적어도 심하게 감소된 중화능을 또는 심지어 중화능의 부재를 시사하였다(도 5c). 예시적인 항체 13B11은 IFNA1, IFNA2, IFNA4 및 g1 IFNA5를 강력히 중화시킨 반면, IFNA6 의존적 STAT1 인산화에 대해서는 매우 약한 중화를 관찰할 수 있었다. 사용된 rhIFNA 농도는 다음과 같았다: 10 ng/ml(IFNA1b), 2 ng/ml(IFNA2, IFNA4, IFNA6, IFNA16). g1 IFNA5 상청액은 그 EC 80 희석도로 사용하였다.

[0367] 13B11을 제외한 모든 예시적 항체는 상기 기능 분석에서 IFNA21을 중화시켰으나(도 5d), 예시적인 항체 25C3 및 13B11은 IFNA6을 중화시키지 않았다(도 5b). MAB 농도는 5 µg/ml였고, rhIFNA(PBL)는 2 ng/ml였다.

[0368] 모든 항체는 중화 IFNA5였다(g1IFNA5)(도 5b). 항체 25C3 및 13B11은 IFNA8을 중화시키지 않았다(g1IFNA8). 본 발명의 항체의 예시적인 항-IFN-α 항체 중 어느 것도 IFN-γ(IFN-감마/IFNG)를 중화시키지 않았다(도 5d). 상기 일반적인 실험 설명 이외에, 도 5d에 나타낸 바와 같이 여기서는 HEK 293T 세포를 미처리 상태로 놔두거나(-) 또는 항체의 부재 하에 또는 5 µg/ml 인간-유도된 예시적인 인간 MAB 또는 인간 대조군 IgG(huIgG)의 존재 하에 인간 IFN-Gaussia 루시퍼라제 융합 단백질을 일시적으로 발현하는 HEK 293T 세포의 상청액으로 자극하였다(+).

[0369] 두 번째 실험 라운드에서, 추가적인 IFNA 서브타입을 평가하였다. 이들 두 실험 라운드의 결과를 도 5에 조합하였다. IFNA7, g1 IFNA8, IFNA10, IFNA14 또는 IFNA16 자극 후, 예시적인 항체 19D11은 평가된 모든 IFN에 대해 중화능을 나타내었고, 예시적인 항체 26B9 및 31B4는 IFNA16을 중화시킬 수 없었다(도 5c). 예시적인 항체 25C3은 IFNA7을 완전 중화시켰으나, g1 IFNA8, IFNA10, IFNA14 및 IFNA16의 더 약한 중화를 나타내었다. 예시적인 항체 5D1은 IFNA7, g1 IFNA8, IFNA10 및 IFNA16을 중화시켰으나 IFNA14는 중화시키지 않았다. 예시적인 항체 13B11은 IFNA7, IFNA10, IFNA14 및 IFNA16에 대한 중화를 나타내었으나, g1 IFNA8에 대한 중화는 나타내지 않았다. 사용된 rhIFNA 농도는 2 ng/ml(IFNA7, IFNA10, IFNA14, IFNA16)였다. g1 IFNA8 상청액은 그 EC80 희석도

로 사용하였다.

[0370] 모든 예시적 항체는 상기 기능 분석에서 IFNA17을 중화시켰다(도 5d). 13B11을 제외한 모든 예시적 항체는 IFNA21을 중화시켰다. 두 예시적인 항체, 26B9 및 31B4만 상기 기능 분석에서 IFNW를 중화시킨 반면, 예시적인 항체는 어느 것도 IFNB 또는 g1 IFNG를 중화시키지 못했다. rhIFNA 농도는 2 ng/ml였고, g1 IFNG 상청액은 그 EC80 희석도로 사용하였다.

[0371] ISRE-루시페라제 리포터 분석

[0372] 20,000개 HEK 293T 또는 10,000개 HEK 293T MSR 세포를 폴리-L-라이신-코팅된 96-웰 플레이트(BD Biocoat)(백색 절반-면적 96-웰 플레이트(카탈로그 번호 3688, Corning Inc.) - 팔호 내의 값은 HEK 293 T MSR 세포를 이용한 제2 실험 옵션에서의 차이를 시사함)에 접종하고, 제조업체의 지침(Promega, Madison, WI, USA)에 따라 Eugene HD를 이용해서 100 ng(50 ng)의 사전 혼합된 ISRE-초파리 루시페라제 리포터 및 Renilla 루시페라제 구축물(카탈로그 번호 CCS-008L, Qiagen, Hilden, Germany)로 역-전달감염하였다(도 6a의 구축 방식을 참고하라). Renilla 루시페라제-발현 구축물은 내부 정상화 대조군으로 작용하였다. 세포를 가슴 분위기 중 37°C, 5% CO<sub>2</sub>에서 0.1 mM 비필수 아미노산, 1 mM 나트륨 피루베이트, 10%(0,5%) 소 태아 혈청(Life Technologies, Carlsbad, CA, USA)이 보강된 Opti-MEM® I 혈청 감소 배지 중에 하룻밤 동안 인큐베이션하였다. 하룻밤 동안 인큐베이션 후, 세포를 37°C에서 1 시간 동안 사전 인큐베이션한 대조군 IgG 또는 항-IFNA mAb를 포함하거나 포함하지 않는 rhIFNA 혼합물 함유 배지로 자극하였다. 24시간 자극 후, 이중 루시페라제 리포터 분석을 제조업체의 지침(Promega)에 따라 수행하였다.

[0373] 도 7에서 알 수 있듯이, 예시적인 항-IFN- $\alpha$  특이적 항체 19D11, 25C3, 26B9, 31B4(도 7a 및 b) 및 13B11(도 7c 및 d)의 첨가는 IFNA2, IFNA4 및 IFNA14 의존적 ISRE-루시페라제 리포터 활성화를 저해하여, 본 발명의 항체의 IFN- $\alpha$  중화능을 시사한다. 본 발명의 예시적인 항-IFN- $\alpha$  특이적 항체 5D1의 첨가는 IFNA2 및 IFNA4에 대한 상기 항체의 중화 활성을 나타내었고, IFNA14 의존적 ISRE-루시페라제 활성화에 대해 중화를 관찰할 수 없거나 매우 약한 중화를 관찰할 수 있었다(도 7c 및 d). 인산화-STAT1-분석에서 이미 나타났듯이, 항체 25C3는 IFNA2 및 IFNA4에 대한 그 중화능에 대비되어 IFNA14 활성화에 대해 약간 더 약한 중화능을 나타내었다. 유사하게, 예시적인 항-IFN- $\alpha$  특이적 항체 13B11은 IFNA14에 대해 약간 더 약한 중화능을 나타내었다(도 7c 및 d). 예시적인 항체 8H1은 IFNA1, A4, A5, A6, A7, A10, A16, A17 및 A21과 더불어 IFNW를 중화시키지만, IFNA2, A8 및 A14의 더 약한 중화를 나타낸다(도 7e). 예시적인 항체 12H5는 모든 알파 인터페론, 즉 IFNA1, A2, A4, A5, A6, A7, A8, A10, A14, A16, A17 및 A21에 의한 ISRE-루시페라제 리포터 유도를 강력히 억제하지만, IFNW-매개된 리포터 유도에는 실제로 영향을 미치지 않는다. 예시적인 항체 8H1와 12H5는 IFNB-매개된 리포터 유도를 방해하지 않는다(도 7e).

[0374] 도 8에 나타난 바와 같이, 예시적인 항체 26B9는 rhIFNA1, A2, A4, A5, A6, A8, A10, A14, A17, A21 및 rhIFNW를 강력히 중화시키는 반면, rhIFNA16을 약하게 중화시킨다. rhIFN 농도는 10 ng/ml(IFNA1), 1.3 ng/ml(IFNA16) 및 2 ng/ml(모든 다른 rhIFN)였다. ISRE-루시페라제 리포터 분석에서 결정된 IC50값의 요약을 표 4에 나타낸다.

[0375] 도 9에서 알 수 있듯이, 예시적인 항체 19D11은 모든 rhIFNA 분자, 즉 IFNA1, A2, A4, A5, A6, A7, A8, A10, A14, A16, A17 및 A21을 중화시킨다. rhIFN 농도는 10 ng/ml(IFNA1), 1.3 ng/ml(IFNA16) 및 2 ng/ml(모든 다른 rhIFN)였다. ISRE-루시페라제 리포터 분석에서 결정된 IC50값의 요약을 표 4에 나타낸다.

[0376] 화학발광 세포 결합 분석

[0377] 30,000개 HEK 293T MSR 세포를 백색 절반 면적 96-웰 조직 배양 플레이트(카탈로그 번호 3688, Corning Inc.)에 접종하였다. 다음 날, 인간 IFN-Gaussia 루시페라제 융합 단백질을 일시적으로 발현하는 HEK 293T 세포의 상청액을 항-IFN mAb, 대조군 IgG 또는 과량 농도의 표지되지 않은 제조합 IFNA2와 혼합하고, 37°C에서 1 시간 동안 사전 인큐베이션하였다. 사전 인큐베이션 후, 혼합물을 사용하여 HEK 293T MSR 세포를 37°C에서 40분 동안 자극하였다. 결합 시, 세포를 PBS로 3회 세척하고, 제조업체의 지침(카탈로그 번호 16159, Thermo Fisher Scientific)에 따라 Gaussia 순간 분석 키트를 이용해서 Gaussia 루시페라제 분석을 발색시켰다.

[0378] 도 10c에 나타난 바와 같이, 예시적인 항체 19D11은 IFN 수용체를 내인적으로 발현하는 HEK 293T MSR 세포에 대한 g1 IFNA2, A4, A5, A6, A7, A8, A10, A14, A16, A17 및 A21의 결합을 효율적으로 중화시킨다. 대조적으로, 예시적인 항체 19D11은 g1 IFNB 및 g1 IFNW의 결합을 실제로 방해하지 않는다. 본원에 나타난 모든 g1 IFN의 결

합은 명백히 대조군 인간 항체(huIgG)에 의해 영향을 받지 않는다. 항체 농도: 5  $\mu\text{g/ml}$ .

[0379] 도 10d에서 알 수 있듯이, HEK 293T MSR 세포에 대한 g1 IFNA16의 결합은 예시적인 항체 26B9에 비해 예시적인 항체 19D11에 의해 효율적으로 중화된다. 그러나 예시적인 항체 26B9는 g1 IFNW의 HEK 293T MSR 세포에 대한 결합을 강력히 중화시키는 반면, 예시적인 항체 19D11은 상기 리간드에 대해 명백한 중화능을 나타내지 않는다. g1 IFNA16 및 g1 IFNW 둘 다의 결합은 대조군 인간 항체(huIgG)에 의해 여전히 영향받지 않는다. 항체 농도: 10  $\mu\text{g/ml}$ .

[0380] **실시예 4: 대상 항체의 검증**

[0381] 본 발명에 의해 제공된 항체를 동물 질환 모델에서 인간 IFN- $\alpha$ 에 대한 이들의 중화 활성에 대해 평가한다. 이러한 실험을 수행할 때, 인간 IFN- $\alpha$  서브타입이 마우스에서 이환 표현형을 유도하며, 본 발명의 평가된 IFN- $\alpha$  항체 및 쥐과 IFN- $\alpha$  상동체 간 교차 반응이 일어나지 않음을 확실히 해야 한다. 선행 기술에서는 IFN-알파에 대한 적절한 모델 시스템을 이용할 수 없었으므로, 본 발명의 실시예는 마우스 IFN과 교차 반응하지 않는 IFN-알파 중화 항체를 평가하기 위한 이러한 시스템을 기재하고 제공한다. 먼저, 상이한 IFN- $\alpha$  서브타입의 효과를 귀 염증의 유도에 대해 생체내 평가하였다. 특히, 인간 서브타입 IFNA2a, IFNA2b, IFNA4 및 IFNA14의 친염증성 활성을 평가하였다. IFNA2a는 아미노산 23에 의해 IFNA2b와 상이하다(IFNA2a에서는 Lys 및 IFNA2b에서는 Arg).

[0382] 귀 염증 분석

[0383] 30-게이지 바늘을 이용해서 0일, 2일 및 4일에 이들 마다 각 귀 내로 20 $\mu\text{l}$  PBS 중 인간 IFNA2a, IFNA2b, IFNA4 및 IFNA14 또는 PBS 대조군의 피내 주사에 의해(20  $\mu\text{l}$ /귀, 500 ng/귀, 총 1  $\mu\text{g}$ /마우스/일) 8주령 C57BL/6J(WT; Charles River) 마우스에서 귀 염증 표현형을 유도하였다. 마우스를 6일에 희생시켰다; 실험 타임라인에 대해서는 아래 표 5 및 도 14a를 참고하라.

**표 5**

[0384] 평가된 상이한 사이토카인에 대한 동물의 군 배정. n - 군 당 동물의 수, ng/20 $\mu\text{l}$  - 귀 하나 당 주사된 사이토카인의 양

군	n	사이토카인	ng/20 $\mu\text{l}$
A	5	PBS	Na
B	5	IFNA2a	500
C	5	IFNA2b	500
D	5	IFNA4	500
E	5	IFNA14	500

[0385] 주사된 IFNA 서브타입의 친염증성 효과를 평가하기 위해, 0일에 사이토카인 주사 전에 그리고 1일, 3일, 5일에 이들 마다(도 14a에 대문자 M으로 나타냄) 그리고 대안적으로 또는 추가적으로 6일에 동물의 희생 후 귀 하나 당 2회 측정하여 사이토카인 투여 동안 Mitutoyo 디지털 마이크로미터로 동물의 귀 두께 측정을 수행하였다.

[0386] 또한, 체중을 치료 동안 모니터링하여, 염증 유도로 인한 임의의 가능한 체중 변화 또는 적용된 치료로 인한 각각의 감소를 관찰한다. 또한, 동물 희생 후, 귀의 H&E((헤마톡실린 및 에오신; [Harris, H.F., J. Appl. Microscopy III (1900), 777-781 및 Mallory, F.B.: Pathological technique. Philadelphia, Saunders, 1938.] 참고) 조직 염색을 수행한다.

[0387] 평가된 모든 4개 인간 IFNA 서브타입은 사이토카인 주사 후 귀 팽창을 유의미하게 유도할 수 있었다; 도 14-16 및 도 17의 표에 요약된 실험 결과를 참고하라. 모든 귀는 PBS 처리 귀에 비해 현저히 더 두꺼웠으며, 이는 2번째 피내 주사 후 3일부터 실험 말기까지 모든 군에서 유의미하였다. IFNA14가 특히 본 실험의 5일에 가장 강력하였다. IFNA2a 및 IFNA4는 유사한 수준의 귀 비후화를 유도하였다. IFNA2b는 IFNA4 및 IFNA14 유도된 팽창 모두와 가장 유사하였다. IFNA2b는 본 실험에서 IFNA2a 이소형에 비해 팽창을 더 유도하였다; 도 14-16 및 도 17의 표의 실험 결과 요약을 참고하라.

[0388] 본 실험의 결과는 본 발명의 항체의 치료적 적용 가능성 평가를 위한 귀 염증 분석의 적용 가능성을 나타낸다. 본 발명의 예시적인 항-IFN- $\alpha$  항체 19D11, 26B9, 31B4, 5D1 및 13B11이 적어도 쥐과 IFN- $\alpha$  서브타입 2, 4 및 14와 임의의 뚜렷한 교차 반응을 나타내지 않았으므로(도 19a 참고), 이들을 염증의 유도를 위해 사용된 인간 IFN- $\alpha$ 에 대한 이들의 중화 특성에 대해 상기 나타난 분석에서 평가한다. 본원에 기재된 생체내 CytoEar 중화

실험의 설계 시, 쥐과 INF $\alpha$ 에 대한 예시적인 항-IFN- $\alpha$  항체 25C3의 뚜렷한 결합 친화도 및 쥐과 INF $\alpha$ 에 대한 예시적인 항-IFN- $\alpha$  항체 5D1 및 19D11의 친화도를 고려한다.

[0389] 인간 IFN- $\alpha$ 에 의한 염증 유도를 평가하기 위해 상기 초안을 잡은 실험 타임라인 동안의 상이한 시점에 항체를 주사하여(또한 도 14a 참조) 본 발명의 예시적인 항-IFN- $\alpha$  항체로 상기 치료 평가를 수행한다. 예를 들어 예방 및/또는 치료 효과를 평가하기 위해 하나 이상의 본 발명의 예시적인 항체를 실험 0일에 INF $\alpha$  서브타입 또는 서브타입들과 함께 또는 별도로 주사한다. 추가적으로 또는 대안적으로, 하나 이상의 본 발명의 항체 또는 이들의 IFN- $\alpha$  결합 단편을 INF $\alpha$  서브타입 또는 서브타입들과 이틀 마다 주사한다. 예를 들어, INF $\alpha$  서브타입 또는 서브타입들을 위에 나타낸 바와 같이 0일, 2일 및 4일에 주사하는 경우(도 14a에서의 짧은 화살표), 항체는 1일, 3일 및/또는 5일에 이틀 마다 주사한다(도 14a에서의 긴 화살표).

[0390] 유도된 귀 염증 표현형을 감소시키고/시키거나 이러한 유도를 예방하기 위한 본 발명의 항체 또는 이들의 IFN- $\alpha$  결합 단편의 중화력을 항-IFN- $\alpha$  항체 치료를 받는 동물 및 인간 INF $\alpha$  서브타입 이외의 다른 분자에 대한 결합 특이성(IFN- $\alpha$  관련되지 않은 결합 특이성)을 갖는 인간 IgG 또는 PBS를 수여받은 대조군에서 관찰된 귀 팽창(두께)의 비교에 의해 검사한다.

[0391] 추가적으로 또는 대안적으로, 치료 동안 체중을 모니터링하여 염증 유도로 인한 임의의 가능한 체중 변화 또는 적용된 치료로 인한 그 각각의 감소를 관찰한다. 또한, 동물 희생 후, 귀의 H&E(헤마톡실린 및 에오신; 상기 참고) 조직 염색을 수행한다. 상기 분석은 바람직하게는 건선에 대한 대리 모델로 이용된다.

[0392] 두 번째 실험 라운드에서, 상기 나타낸 분석을 인간 INF $\alpha$ 14(도 28), INF $\alpha$ 5(도 29) 및 IFN $\omega$ (도 30)의 주사에 의해 마우스 귀에서 유도된 염증에 대한 본 발명의 예시적인 항체 26B9 및 19D11의 중화 특성을 평가하기 위한 일부 변경과 함께 이용하였다. 도 28a, 29a 및 30a에 나타낸 시간 방식에서 알 수 있듯이, 실험 타임라인은 여기서 실험 0일에 주사된 평가 항체 및 대조군(IP), 1일, 3일, 6일 및 8일의 피내 사이토카인 주사 및 10일의 평가 동물의 희생을 포함하는 10일로 연장되었다. 평가된 상이한 사이토카인에 대한 동물의 군 배정, 및 각각의 사이토카인의 농도 및 양, 평가된 각각의 항체를 각 도면의 패널 B의 표에 나타낸다. 두 항체, 26B9 및 19D11은 모두 IgG 대조군에 비해 INF $\alpha$ 14(도 28d 및 e) 및 INF $\alpha$ 5(도 29d 및 e)가 귀 염증을 유도한 몇 실험일 후, 귀 두께의 유의미한 감소로 인해 현저한 예방적 및/또는 치료적 잠재력을 나타내었다. 참조 IFN- $\alpha$  특이적 항체(도 28, 29, 특히 도 28f 및 29f에서의 Ref. A)를 이용한 치료도 INF $\alpha$ 14 치료 몇 실험일 후 귀 팽창의 유의미한 감소로 이어졌으나, 본 발명의 항체 26B9 및 19D11에 비해 10일에 약간 더 낮은 감소를 가졌다(도 28d에서 26B9에 대한 곡선 f 및 도 28e에서 19D11에 대한 곡선 g를 도 28f에서 Ref. A에 대한 곡선 H 및 IgG-대조군에 대한 각 도면의 곡선 E와 비교하라). 또한, 예시적인 항체 26B9는 실험일 9일에 IFN $\omega$  유도된 귀 팽창의 유의미한 감소를 나타내었으며(도 30d), 항체 19D11 및 Ref. A의 주사는 비-특이적 IgG 치료에 비해 귀 팽창의 어떠한 유의미한 감소도 나타내지 않았다. 따라서 본 발명으로 제공되는 항체는 증강된 INF $\alpha$  및/또는 IFN $\omega$  활성과 연관된 질환의 예방 및/또는 치료에 사용하기 위한 높은 잠재력을 갖는다.

[0393] CytoAnkle 분석:

[0394] 상기 분석에서, 마우스 코호트(c57/b16, 7-8주령)에 10 $\mu$ l PBS 중 62.5-1000 ng 사이토카인, 예로 적어도 하나의 INF $\alpha$  서브타입, 예컨대 INF $\alpha$ 2a, INF $\alpha$ 2b, INF $\alpha$ 4 또는 INF $\alpha$ 14 또는 몇몇 INF $\alpha$  서브타입의 혼합물(또는 PBS 대조군)을 발목 내로 48-72시간 마다 관절내(IA) 주사한다. 이어서 발목 축 두께 측정을 Mitutoyo 디지털 마이크로미터로 수행한다. 동물을 매일 측정하고, 마우스를 이소플루오란으로 마취하는 동안 각각의 INF $\alpha$  서브타입 또는 서브타입들을 투여한다. 실험 시간 프레임은 위에 나타낸 바와 같이 본 발명의 항-IFN- $\alpha$  항체 또는 항체들, PBS 또는 IFN- $\alpha$  관련되지 않은 결합 특이성을 갖는 인간 IgG를 수여받는 각각의 대조군을 포함하여 귀 염증 분석에 대해 위에 나타낸 바와 같이 설계한다. 발목 팽창의 감소를 본 발명의 항체의 치료 효과의 관측으로 이용한다. 상기 분석은 바람직하게는 관절염, 예로 류마티스성 관절염에 대한 대리 모델로 이용된다.

[0395] **실시예 5: 예시적인 IFN- $\alpha$  항체의 에피토프 맵핑**

[0396] 맵핑의 첫 번째 단계로, 구별되는 항원 결합 부위에 대한 본 발명의 항-IFN- $\alpha$  MAB의 차별적 결합을 조사하여 상이한 결합 부위의 수를 결정하였다.

[0397] 상기 목적을 위해, MAB를 인간(hMAB) 또는 마우스(mMAB) Fc와 함께 발현시키고, 플레이트 상에 항원을 코팅하고, 상당히 과량의 인간 MAB의 존재 하에 mMAB의 결합을 검출하여 교차-경쟁 실험을 수행하였다. 리간드에 결합된 mMAB의 검출을 일차 항체의 Fc 부분에 대한 HRP-접합된 이차 항체에 의해 수행하였다.

[0398] 아래 도 2a 및 표 6a에서 알 수 있듯이, 본 발명의 예시적인 항-IFN- $\alpha$  항체 19D11, 26B9, 31B4 및 13B11은

IFNA2의 결합에 대해 서로 경쟁하지만 항체 5D1 및 25C3과는 경쟁하지 않아, 5D1 및 25C3이 19D11, 26B9, 31B4 및 13B11과 다른 IFNA2 부위(들)에 결합함을 시사한다. 동일한 경쟁 패턴을 IFNA4 및 IFNA14에서 알 수 있으나, 13B11은 IFNA4의 결합에 대해 경쟁하지 않고 IFNA14의 결합에 대해서는 19D11, 26B9, 31B4와 약하게만 경쟁한다는 차이를 가져서, 항체가 결합하는 에피토프가 상기 IFN- $\alpha$  서브타입에서 보존되지 않을 수 있고, 특히 IFNA4에서 발산할 수 있음을 시사한다. 첫 번째 접근 결과는 또한 본 발명의 항-IFN- $\alpha$  항체 5D1 및 25C3의 IFNA2 및 IFNA4의 결합에 대한 서로 간의 약한 경쟁을 시사하여, 이들 항체의 부분적으로 중첩되는 에피토프 가능성을 시사한다; 도 2a, 2b 및 표 5a, 5b를 참고하라. 또한, IFNA14에서 발산하는 경쟁 패턴을 관찰할 수 있으며, 여기서 hMAB 25C3은 hmMAB 5D1과 강한 경쟁을 나타내지만, 반대 상황에서는(hmMAB 25C3 대비 hMAB 5D1) 약한 경쟁만을 관찰할 수 있어서, IFNA14-특이적 에피토프에 대한 25C3 항체의 선호 가능성을 시사한다; 아래 도 2c 및 표 6c를 참고하라.

표 6

본 발명의 예시적인 항체의 교차-경쟁 실험 결과. 마우스 Fc를 갖는 MAB(hmMAB)의 첨가 전에 인간 MAB(hMAB)를 각각의 항원으로 코팅된 플레이트에 매우 과량으로 첨가하였다.

A 인간 IFNA2		인간 MAB 경쟁물질					
		19D11	25C3	26B9	31B4	5D1	13B11
hmMAB의 결합 경쟁	19D11	++++	-	++++	++++	-	++++
	25C3	-	++++	-	-	+	-
	31B4	++++	-	++++	++++	(+)	++++
	5D1	-	(+)	-	-	+++(+)	-
	13B11	-	-	-	-	-	+++(+)
B 인간 IFNA4		인간 MAB 경쟁물질					
		19D11	25C3	26B9	31B4	5D1	13B11
hmMAB의 결합 경쟁	19D11	++++	-	++++	+++(+)	-	-
	25C3	-	++++	-	-	(+)	-
	31B4	++++	-	++++	++++	-	+++
	5D1	-	(+)	-	-	+++(+)	-
	13B11	-	-	-	-	-	+(+)
C 인간 IFNA14		인간 MAB 경쟁물질					
		19D11	25C3	26B9	31B4	5D1	13B11
hmMAB의 결합 경쟁	19D11	++++	-	++++	+++(+)	-	++
	25C3	(+)	++++	(+)	-	+++	(+)
	31B4	++++	-	++++	++++	++	+++(+)
	5D1	++++	++++	++++	++++	++++	(+)
	13B11	+++(+)	-	+++(+)	+++	-	++++

[0400] 이들의 각 항원에 대한 MAB의 결합 영역은, 예로 PepStar™ 분석에 의해 맵핑할 수 있다. 따라서, 중첩하는 20머 펩타이드(15개 아미노산 중첩)를 관심 IFNA- $\alpha$  서브타입, 예로 모든 공지된 변이체를 포함하는 IFNA2, IFNA4 및 IFNA14를 커버하도록 설계한다. 펩타이드 및 진장 항원(양성 대조군으로)을 마이크로어레이 상에 스폿팅하고, 펩타이드 마이크로어레이를 일차 항체와 인큐베이션한 뒤 일차 항체의 Fc 부분에 대한 형광 표지된 이차 항체와 인큐베이션한다. 입체 장애에 의해 유도되는 위양성을 배제하기 위해, 최적화된 친수성 링커 모이 어터를 유리 표면 및 항원 유도된 펩타이드 서열 사이에 삽입한다.

[0401] 이러한 펩타이드 맵핑은 인간 IFNA2, 각각의 인간 IFNA의 18머 펩타이드의 펩타이드 어레이 상에서 본 발명의 예시적인 항체 19D11 및 26B9에 대해 수행하였다. 분석 결과를 도 27에 나타낸다. 예시적인 항체 19D11은 IFNA2의 펩타이드 19(SAAWDETLKDFYTELYQ 서열번호: 99) 및 32(RITLYLKEKKYSPCAWEV 서열번호: 100)에 특이적으로 결합한다(도 27b). 항체 26B9는 IFNA2의 펩타이드 22(YTELYQQLNDLEACVIQG 서열번호: 101)(도 27c) 및 IFNA의 펩타이드 23(TGLHQLQHLETCLLQVV 서열번호: 102)(도 27d)에 특이적으로 결합한다.

[0402] 실시예 6: LIPS 분석에 의한 IFNA 서브타입으로의 MAB 결합 결정

[0403] ELISA 분석에 부가하여, 상이한 IFNA 서브타입에 대한 MAB의 결합을 LIPS 분석에 의해 결정하였다. 아래 표 8에 나타난 프라이머를 이용해서, 그 개시 내용이 본원에 참조로 도입되는 본 출원인의 국제 출원 WO2013/098419에서 실시예 10, 158페이지 및 실시예 15, 165-167페이지에 기재된 바와 같이 IFNA5-, IFNA6- 및 IFNA8-Gaussia 융합 단백질을 N-말단에 Gaussia 루시퍼라제와 각각 융합된 IFNA5, IFNA6 및 IFNA8을 클로닝하고, 이들을 HEK293 세포의 일시적 전달감염(2일 후 상청액 수확)에 의해 개별적으로 발현하여 생산하였다. MAB(4 µg/ml)를 완충액 A(50 mM Tris, pH 7.5, 100 mM NaCl, 5 mM MgCl<sub>2</sub>, 1% Triton X-100) 중에 희석하고, 회전 진탕기 상에서 MultiScreen HTS 필터 플레이트(Millipore)의 웰에 동량의 단백질 A 아가로스 비드(Exalpha)와 1시간 동안 인큐베이션하였다. 2배 부피의 IFNA5- 또는 IFNA6- 또는 IFNA8-Gaussia 융합 단백질(1백만 LU)을 첨가하고, 플레이트를 1시간 동안 인큐베이션하였다. 플레이트를 완충액 A로 5회 세척하고, 기질(Gaussia 루시퍼라제 순간 분석 키트, Pierce) 첨가 전에 PBS로 2회 더 세척하였다. 발광(CPS)을 EnSprire(Perkin Elmer)를 이용해서 판독하였다(도 11b, 12a-c 및 13 참고). 관련되지 않은 항원 인간 MAB에 결합하는 인간 항체를 음성 대조군으로 이용하였다.

[0404] 도 11 및 12에 나타난 결과에서 알 수 있듯이, 예시적인 MAB 13B11은 IFNA2, 4, 5, 6, 10 및 14에 결합하지만, IFNA1/13에는 더 약하게 결합하거나 결합하지 않으며 IFNA8에는 결합하지 않는다. 또한, 본원, 예로 실시예 2 및 3에 기재된 실험에서 제공된 결과는 예시적인 MAB 13B11이 IFNA2, 4, 5, 14를 중화시키지만 IFNA6, 8 및 IFNA21은 중화시키지 않음을 나타낸다. 실시예 2, 3 및 6에 기재된 실험에서 제공된 바와 같은 본 발명의 예시적인 항체의 결합 및 중화 특성에 대한 모든 결과는 아래 표 7에 요약된다.

표 7

[0405] 본원에 기재된 ELISA, LIPS 또는 중화 분석에서 수득된 바와 같은 본 발명의 예시적인 항체에 의한 상이한 IFN 서브타입의 결합(B) 및 중화(N).

항원	19D11		25C3		26B9		31B4		5D1		13B11	
	B	N	B	N	B	N	B	N	B	N	B	N
IFNA1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-	-	+++	+++
IFNA2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
IFNA4	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
IFNA5	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
IFNA6	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++	+
IFNA7	nd	+++	nd	+++	nd	+++	nd	+++	nd	+++	nd	+++
IFNA8	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-	-
IFNA10	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
IFNA14	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++	+++	+++	-	+++	+++
IFNA16	+++	+++	+++	+	+++	-	+++	-	+++	+++	+++	+++
IFNA17	nd	+++	nd	+++	nd	+++	nd	+++	nd	+++	nd	+++
IFNA21	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+
IFNW	-	-	nd	-	+++	+++	nd	+++	nd	-	nd	-

[0406] 본 발명의 예시적인 인간 항-IFN-α 항체 19D11은 모든 IFNA 서브타입을 중화시키지만 IFNW는 중화시키지 않는다. 예시적인 항체 26B9는 IFNW 및 IFNA16을 제외한 모든 IFNA 서브타입을 중화시킨다. +/+/+++ = 결합, 각각의 중화; - = 결합/중화의 부재. nd = 결정되지 않음; B = 결합, 시판 제조항 단백질을 이용한 ELISA에 의해 또는 자체 생산된 IFN-Gaussia 루시퍼라제 융합 단백질을 이용한 LIPS에 의해 결정됨; N = 중화, ISRE-루시퍼라제 리포터 분석 또는 인산화-STAT1 분석에 의해 결정됨.

[0407] ELISA, LIPS 및 중화 분석에서 본 발명의 예시적인 항체에 의한 상이한 IFNA 서브타입의 결합 및 중화에 대한 이전 실험은 유사한 결과를 제공하였다.

표 8

[0408]

Gaussia-루시퍼라제-IFN-융합 구축물의 클로닝을 위해 이용된 모든 IFN 단백질 및 이용 프라이머 서열의 개요.

유전자	AA	프라이머 명칭	서열 및 서열번호:
IFNA1	24-189	IFNA1F	TTTGGATCCTATGTGATCTCCCTGAGACCCACAGCCTGGA 서열번호:45
		IFNA1R	TTTGGCGCCGCGACCAGATGTTATTCCTTCCTCCTTAATCTTTC 서열번호:46
IFNA2	24-188	IFNA2F	TTTGGGATCCTCTGTGATCTGCCTCAAACCCACA 서열번호:47
		IFNA2R	TTTGGCGCCGCTTACTTCTTAAACTTTCTTGCA 서열번호:48
IFNA4	24-189	IFNA4F	TTTGGATCCTATGTGATCTGCCTCAGACCCACAGCCTGG 서열번호:49
		IFNA4R	TTTGGCGCCGCTCAATCCTTCCTCCTAATCTTTTTGCAAGTTGTGAAAAC 서열번호:50
IFNA5	22-189	IFNA5F	TTTGGATCCTACTGGGCTGTGATCTGCCTCAGACCCACAGCCTGAG 서열번호:51
		IFNA5R	TTTGGCGCCGCTCATTCTTCCTCCTAATCTTTCTTGCAAGTTGC 서열번호:52
IFNA6	21-189	IFNA6F	TTTGGATCCTATCTCTGGACTGTGATCTGCCTCAGACCCACAGCCTGGGTC 서열번호:53
		IFNA6R	TTTGGCGCCGCTTATTCCTTCCTCCTAACCTTTCTTGCAAGTTTC 서열번호:54
IFNA7	24-189	IFNA7F	TTTGGATCCTATGTGATCTGCCTCAGACCCACAGCCTGC 서열번호:55
		IFNA7R	TTTGGCGCCGCGAACAGTTTCAATCCTTCCTCCTAATCCTTTTTT 서열번호:56
IFNA8	23-189	IFNA8F	TTTGGGATCCTCTGTGATCTGCCTCAGACTCACA 서열번호:57
		IFNA8R	TTTGGCGCCGCTCATTCTTACTCTCAATCTT 서열번호:58
IFNA10	24-189	IFNA17F	TTTGGATCCTATGTGATCTGCCTCAGACCCACAGCCTGGG 서열번호:59
		IFNA4R	TTTGGCGCCGCTCAATCCTTCCTCCTAATCTTTTTGCAAGTTGTGAAAAC 서열번호:50
IFNA14	24-189	IFNA14F	TTTGGATCCTATGTAATCTGTCTCAAACCCACAGCCTGAA 서열번호:60
		IFNA14R	TTTGGCGCCGCTCAATCCTTCCTCCTAATCTTTTTGCAAGTTGT 서열번호:61
IFNA16	24-189	IFNA16F	TTTGGATCCTATGTGATCTGCCTCAGACT 서열번호:62
		IFNA16R	TTTGGCGCCGCTCAATCCTTCCTTCTTAATCC 서열번호:63
IFNA17	24-189	IFNA17F	TTTGGATCCTATGTGATCTGCCTCAGACCCACAGCCTGGG 서열번호:59
		IFNA17R	TTTGGCGCCGCGTTGAACCAGTTTCAATCCTTCCTCCTAATA 서열번호:64
IFNA21	24-189	IFNA21F	TTTGGATCCTATGTGATCTGCCTCAGACCCACAGCCT 서열번호:65
		IFNA21R	TTTGGCGCCGCTCATTCTTCCTCCTAATCTTTCTTGAAAAA 서열번호:66
IFNB	22-187	IFNB1F	TTTGGATCCTAATGAGCTACAACCTTGCTGGATTCTAC 서열번호:67
		IFNB1R	TTTGGCGCCGCTCAGTTTCGGAGGTAACCTGTAAGTCT 서열번호:68

IFNG	24-166	IFNGF	TTTGGATCCTACAGGACCCATATGTAAAAGAAGCAGAAAAC 서열번호:69
		IFNGR	TTTGCGGCCGCCATTACTGGGATGCTCTTCGACCT 서열번호:70

- [0409] Gaussia 루시퍼라제에 융합된 인간 IFN 서브타입의 클로닝
- [0410] 신호 펩타이드를 포함하지 않는 IFNA1, IFNA6, IFNA7, IFNA8, IFNA10, IFNA14, IFNA16, IFNA17, IFNA21, IFNW, IFNB, IFNG, IFNE 및 IFNK의 코딩 서열을 초파리 루시퍼라제 대신 플라스미드에 대체된 천연 분비된 Gaussia 루시퍼라제(Gluc)의 하류에 개질된 pPK-CMV-F4 융합 벡터(PromoCell GmbH, Heidelberg; Germany) 내로 클로닝하였다.
- [0411] **실시예 7: ISRE 루시퍼라제 리포터 중화 분석에 의한 예시적인 인간-유도된 IFNA mAb의 IC50 분석.**
- [0412] ISRE-초파리 루시퍼라제 리포터 및 Renilla 루시퍼라제 구축물(카탈로그 번호 CCS-008L, Quiagen, Hilden, Germany)을 일시적으로 발현하는 HEK 293T MSR 세포(카탈로그 번호 R79507, Invitrogen, Carlsbad, CA, USA)를 2 ng/ml rhIFNA2, rhIFNA4, rhIFNA14로 또는 인간 IFN-Gaussia 루시퍼라제 융합 단백질(IFNA5, IFNA8)을 일시적으로 발현하는 HEK 293T 세포의 상청액으로, 나타낸 바와 같이 인간-유도된 IFNA mAb 26B9(도 8a-e), 25C3(도 9a-e) 또는 19D11(도 10a-e)의 존재 하에 자극하였다. 24시간 자극 후, 이중 루시퍼라제 리포터 분석을 제조업체의 지침(Promega, Madison, WI, USA)에 따라 수행하였다.
- [0413] 확인 실험 라운드에서, 상술된 바와 같은 ISRE-초파리 루시퍼라제 리포터 및 Renilla 루시퍼라제 구축물을 일시적으로 발현하는 HEK 293T MSR 세포를 10 ng/ml rhIFNA1, 2 ng/ml rhIFNA2, rhIFNA4, rhIFNA5, rhIFNA6, rhIFNA8, rhIFNA10, rhIFNA14, rhIFNA17, rhIFNA21, 1.3 ng/ml rhIFNA16으로, 나타낸 바와 같이 인간-유도된 IFNA mAb 26B9(도 8f-r) 또는 19D11(도 10f-q)의 존재 하에 자극하였다. 24시간 자극 후, 이중 루시퍼라제 리포터 분석을 제조업체의 지침(Promega, Madison, WI, USA)에 따라 수행하였다. 동일한 실험 설정을 추가로 이용해서 인간-유도된 mAb 8H1(도 20), 12H5(도21) 및 50E11(도22)의 IC50 분석을 수행하였다. 분석 결과를 상기 표 4에 요약한다.
- [0414] **실시예 8: 표면 플라즈몬 공명(SPR) 기술을 이용한 항체 친화도 측정**
- [0415] 본 발명의 항체의 친화도 결정을 위해, 그 개시 내용이 본원에 참조로 도입되는 국제 출원 WO2013/098419, 163-165페이지의 실시예 14에 기재된 것과 유사한 실험 설정으로 본 발명의 관심 분자를 이용해서 제조업체(BIO-RAD; Hercules CA, USA)의 지침에 따라 ProteOn™ XPR36 기구를 이용하여 SPR 측정을 수행한다. 대안적으로 또는 추가적으로, 유사한 분석을 제조업체의 지침에 따라 Biacore SPR 기구를 이용하여 수행한다.
- [0416] 본 발명의 예시적인 항체 19D11 및 26B9 상에서 수행한 SPR 측정 결과를 도 26에 나타내며, IFNA2b, IFNA4, IFNA14에 대한 항체에 대해 그리고 또한 IFNW에 대한 항체 26B9에 대해 1:1 결합 역학이 관찰되었다. 인간 IFNA4 및 IFNA14에 대한 친화도는 피코몰 농도 미만 범위이며, IFNA2b에 대해서는 나노몰 농도 미만 범위이다. 26B9는 또한 피코몰 농도 미만 친화도로 인간 IFNW에 결합한다.
- [0417] **실시예 9: 화학발광 세포 결합 분석**
- [0418] *인터페론-Gaussia 루시퍼라제*
- [0419] 30,000개 HEK 293T MSR 세포를 백색 절반 면적 96-웰 조직 배양 플레이트(카탈로그 번호 3688, Corning Inc.)에 접종하였다. 다음 날, 인간 IFN-Gaussia 루시퍼라제 융합 단백질을 일시적으로 발현하는 HEK 293T 세포 상청액을 항-IFN mAb, 대조군 IgG 또는 과량 농도의 표지되지 않은 재조합 IFNA2와 혼합하고, 37°C에서 1시간 동안 사전 인큐베이션하였다. 사전 인큐베이션 후, 혼합물을 이용하여 HEK 293T MSR 세포를 37°C에서 40분 동안 자극하였다. 결합 시, 세포를 PBS로 3회 세척하고, Gaussia 루시퍼라제 분석을 제조업체의 지침에 따라 Gaussia 순간 분석 키트(카탈로그 번호 16159, Thermo Fisher Scientific)를 이용해서 발색시켰다.
- [0420] *막통과 항체에 대한 결합*
- [0421] 30,000개 HEK 293T MSR 세포를 백색 절반 면적 96-웰 조직 배양 플레이트(카탈로그 번호 3688, Corning Inc.)에 접종하였다. 접종 동안, 세포를 Fugene HD(카탈로그 번호 E2311, Promega, Madison, WI, USA)를 이용해서 항-IFN mAb 26B9의 막통과 버전(26B9-TM)을 인코딩하는 100 ng cDNA로 전달감염시켰다. 표면 항체(26B9-TM) 발

현을 세포-기반 ELISA에서 전달감염 48시간 후에 분석하였다(도 24a). 48시간 전달감염 후, 인간 IFNW-Gaussia 루시퍼라제 융합 단백질(g1 IFNW)을 일시적으로 발현하는 HEK 293T 세포의 상청액을 이용해서 전에 전달감염된 HEK 293T MSR 세포를 37°C에서 40분 동안 자극하였다. 대안적으로, g1 IFNW 상청액을 항-IFN mAb 또는 대조군 IgG와 혼합하고, 37°C에서 1시간 동안 사전 인큐베이션하였다. 사전 인큐베이션 후, 혼합물을 이용하여 26B9-TM을 일시적으로 발현하는 HEK 293T MSR 세포를 37°C에서 40분 동안 자극하였다. 결합 시, 세포를 PBS로 3회 세척하고, Gaussia 루시퍼라제 분석을 제조업체의 지침에 따라 Gaussia 순간 분석 키트(카탈로그 번호 16159, Thermo Fisher Scientific)를 이용하여 발색시켜, g1 IFNW가 26B9-TM을 발현하는 세포에 특이적으로 결합하고 있는 것으로 나타났다(도 24b).

[0422] 항-IFNW 항체의 교차경쟁 분석.

[0423] 상기 실험 설정을 또한 이용하여 본 발명의 예시적인 항체 26B9, 31B4 및 8H1 간 교차경쟁을 평가하였다(도 25 참고). HEK 293T MSR 세포를 26B9-TM을 인코딩하는 cDNA로 역-전달감염시켰다. 전달감염 48시간 후, g1 IFNW를 혼합하고, 가용성 항-IFNW 항체 26B9, 31B4, 8H1 또는 대조군 IgG(huIgG)와 1시간 동안 사전 인큐베이션하였다. 인큐베이션 후, 혼합물을 전달감염된 세포에 첨가하였고, 결합을 화학발광 세포 결합 분석에서 분석하였다. g1 IFNW의 26B9-TM에 대한 결합은 가용성 26B9에 대해 및 클론적으로 관련된 31B4 항체에 의해 용량-의존적으로 경쟁된다. 대조적으로, 결합은 대조군 IgG 또는 예시적인 항-IFNW 항체 8H1에 의해 영향받지 않는다. 이들 결과는 예시적인 항체 26B9 및 31B4가 유사한 에피토프를 공유하는 반면, 8H1은 구별되는 에피토프에 결합하는 것으로 나타남을 시사한다.

도면

도면1a

**A**                                    **5D1 (가변 중쇄 서열 VH) - 서열번호 : 2**  
 FR1-----CDR1-----FR2-----CDR2-----  
 EVQLVQAGAEVKAPGESLRISCKVSGYFTFSYWISWVRQIPGKGLEWMVKIDPRDSYTIYNPSFQG  
 FR3-----CDR3-----FR4-----  
 HVSISVDKSIITVYLQWSSLQASDTAIYYCVRHYLTQSLVDYFDHWGQGLVAVSS

**5D1 (가변 카파 사슬 서열 VL) - 서열번호 : 4**  
 FR1-----CDR1-----FR2-----CDR2-----  
 DIQMTQSPSSLSASVGDSTITTCRASQSVSNYFHWYRQKPGKAPELLIYSASNLOT  
 FR3-----CDR3-----FR4-----  
 GVPSRFTGSGSGTECTLTITSLQPDFFATYYCQQTHGYPFTFGQGTKLDVR

**B**                                    **13B11 (가변 중쇄 서열 VH) - 서열번호 : 10**  
 FR1-----CDR1-----FR2-----CDR2-----  
 DVQLLQSGGGLIQPGSLRLSCAASGFTFKDYAMSWVRQAPGKLEWVSVISRSGNIVDYVDSVKG  
 FR3-----CDR3-----FR4-----  
 RFTVSRDNNSNTLFLQMDGLRADDTAIYYCAKPKDMIVVVPAGFDSWGQGLVSVSS

**13B11 (가변 카파 사슬 서열 VL) - 서열번호 : 12**  
 FR1-----CDR1-----FR2-----CDR2-----  
 DIQMTQFPSTLSASVGDSTITTCRASQSISAWLAWYQQKPGKAPKLLIYKGSRLN  
 FR3-----CDR3-----FR4-----  
 GVPSRFSGSGSGTEFTLTIGSLQPDFFATYYCQQYKTWTFGQGTKVEIK

**C**                                    **19D11 (가변 중쇄 서열 VH) - 서열번호 : 18**  
 FR1-----CDR1-----FR2-----CDR2-----  
 EVQLLESGAEVKRPGSSVRVSCRASGDTFSSYPISWVRQAPGQLEWMGRILPALGVTNYAQNFRG  
 FR3-----CDR3-----FR4-----  
 RITITADKSPILTAYLELSSRFEDTAVYYCASPSADIIIPSILGTTLFAFWGQGLVTVSS

**19D11 (가변 카파 사슬 서열 VL) - 서열번호 : 20**  
 FR1-----CDR1-----FR2-----CDR2-----  
 EIVLTQSPGTLISLSPGEGATLSCRASQNVSRHYLTWYQQKPGQSPRLLIYGGSSRAT  
 FR3-----CDR3-----FR4-----  
 GVPDRFSGGGSGTDFTLTISRLEPEDFAVFYCQSYHSPPEVYTFGQGTKVEIK



도면1c

**G**                      **8H1 (가변 중쇄 서열 VH) - 서열번호 : 76**  
FR1-----CDR1-FR2-----CDR2-----  
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGQFTTSDDINWVRQAPGQGLEWMGWRNPNTQDTGYAQKFGH  
FR3-----FR4-----  
RLTLTNSSSISTSYLELSGLRSEDVAVYYCARAGTSTLTGHYFALGVWGQGTTVIVSS

**8H1 (가변 카파 사슬 서열 VL) - 서열번호 : 78**  
FR1-----CDR1-----FR2-----CDR2---  
DIQLTQSPSSLSASVGDRTITCQATQDISKYLNYQQKPGKVPKLLIYETSNLEV  
FR3-----FR4-----  
GVPSRFSGSGSGTHFTLTITSLQAEDFATYYCQOYENFPFTFGGGTKVEIK

**H**                      **12H5 (가변 중쇄 서열 VH) - 서열번호 : 84**  
FR1-----CDR1-FR2-----CDR2-----  
QVQLIQSGPEVKRPGASVKVSCKASENTFDTHYINWVRQAPGQGLTWLGLWLNPTTGKTGFPQKFKG  
FR3-----FR4-----  
RVILTSDTSLNATYMEVSRLTSEDVAVYFCARVLKLSDEYNYGFDVWGQGTTVIVSS

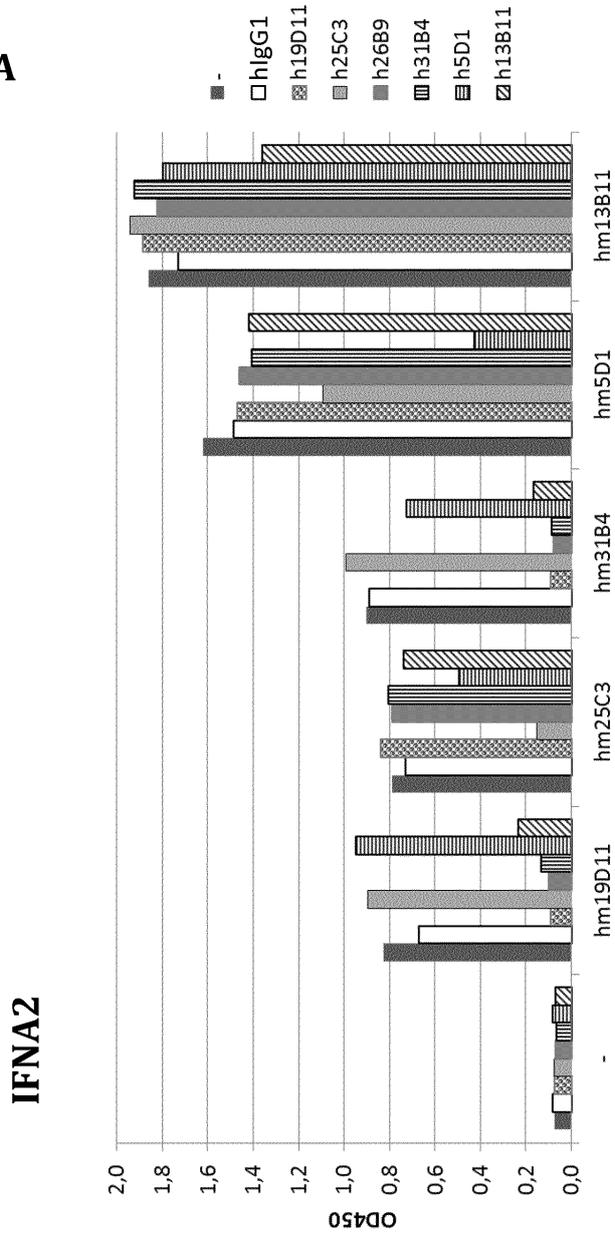
**12H5 (가변 카파 사슬 서열 VL) - 서열번호 : 86**  
FR1-----CDR1-----FR2-----CDR2---  
DIQVTSQSPSSLSASIGDRVTITCRASQNILTFINWYQHKPGKAPKLLIYAASVLQN  
FR3-----FR4-----  
EVPSRFSGSGSGTDFLTITISLQPDDFGTYYCQQTLYLTPQCSFGQGTKVEIK

**I**                      **50E11 (가변 중쇄 서열 VH) - 서열번호 : 92**  
FR1-----CDR1-FR2-----CDR2-----  
QVQLVQSGAEMKKPGSSVKVSCKDFGGTFSVYGVNWVRQAPGQGLEWMGGLIPVIGPANYAQKFQG  
FR3-----FR4-----  
RITITADESTSTAYMELSSLRFDDTAIYYCVRDDNEYWGQGTTLVTVSS

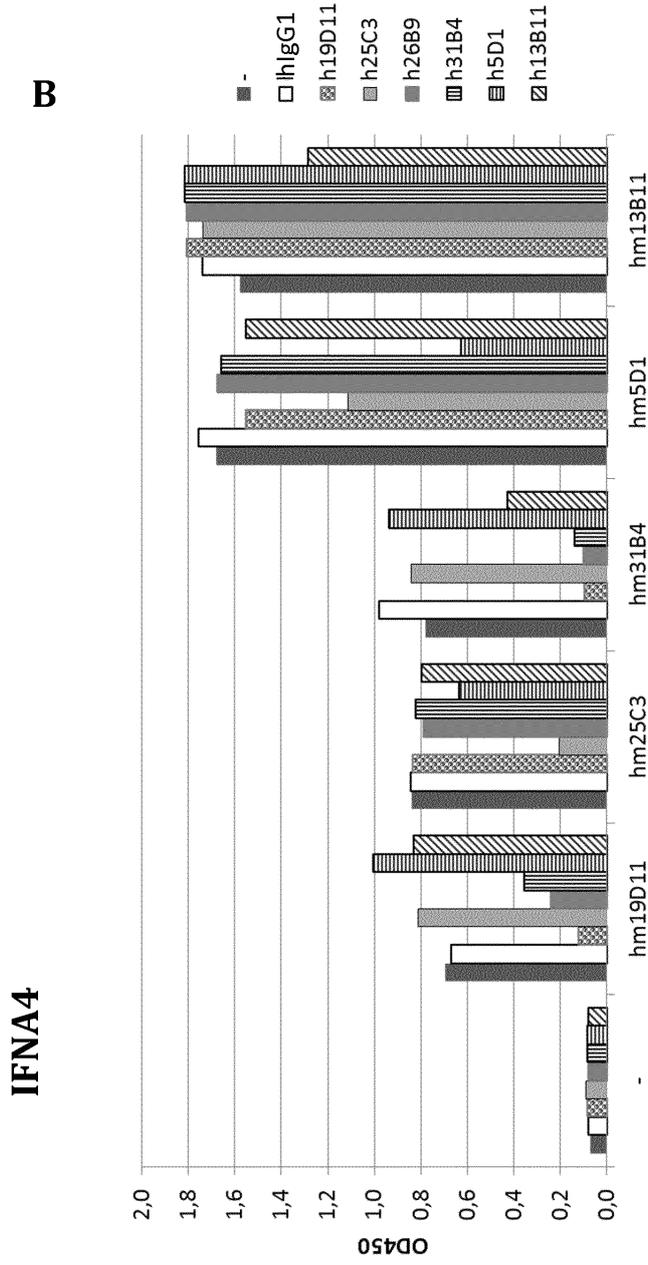
**50E11 (가변 카파 사슬 서열 VL) - 서열번호 : 94**  
FR1-----CDR1-----FR2-----CDR2---  
EMVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQTVSTFLAWYQQKPGQVPRLLVYDISSRAN  
FR3-----FR4-----  
GTPARFSGGSGTDFLTITISLELEDFAVYYCQWRSNWPPSLTFGGGTRVEIK

도면2a

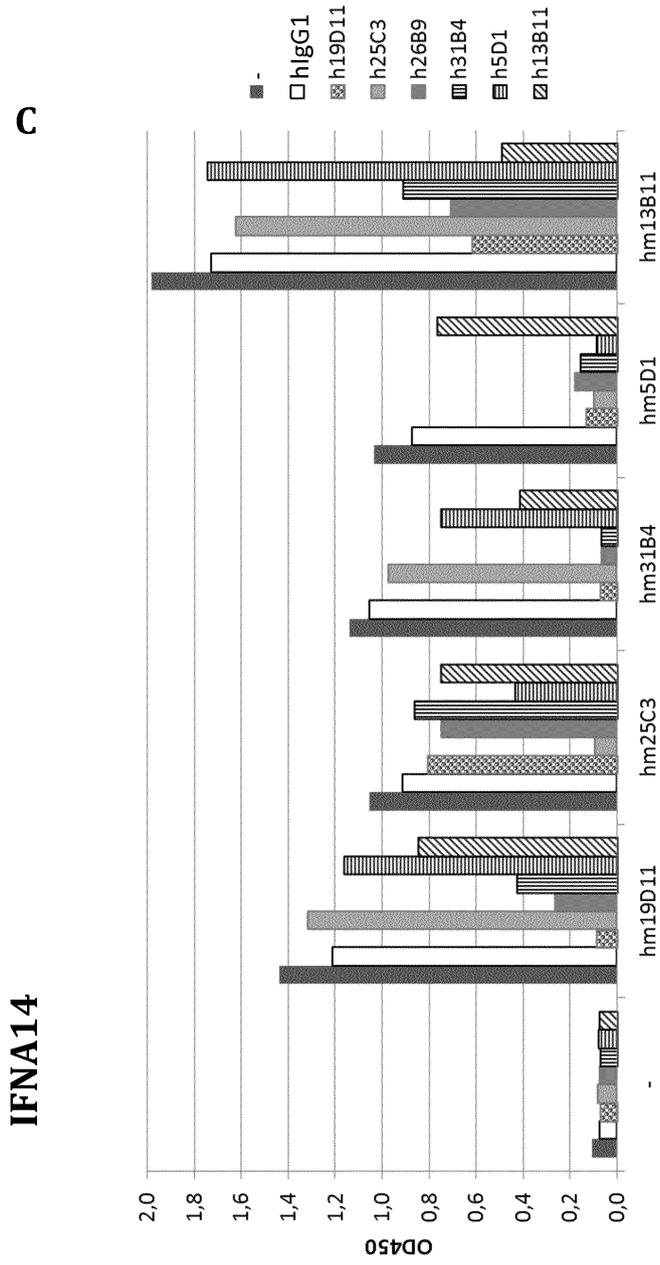
A



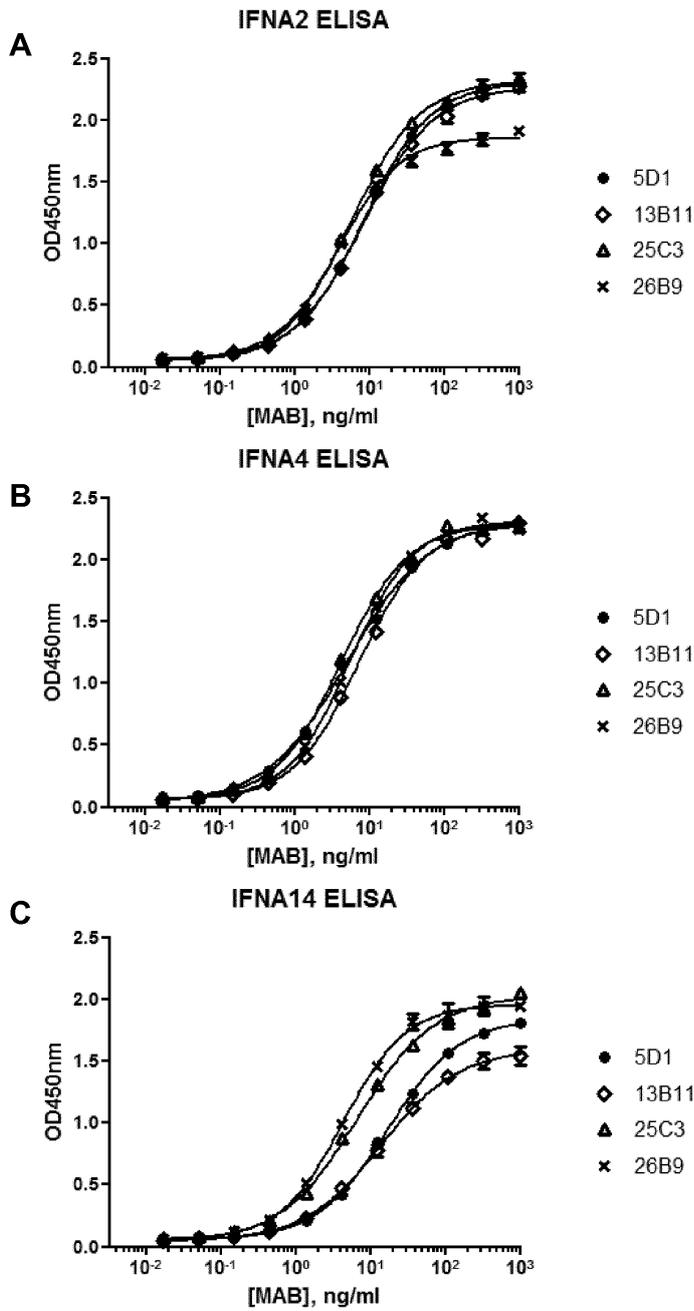
도면2b



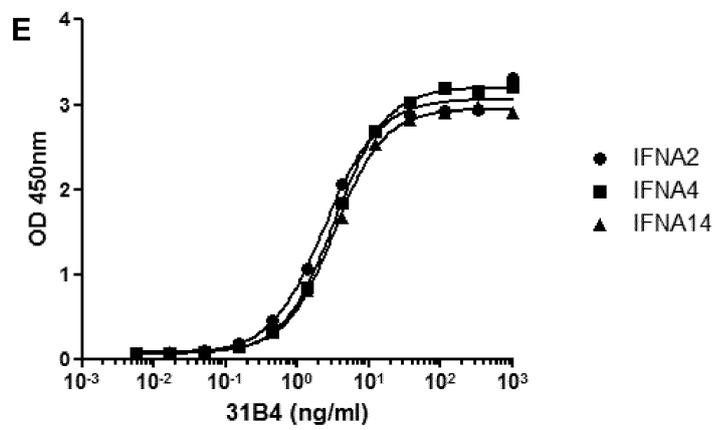
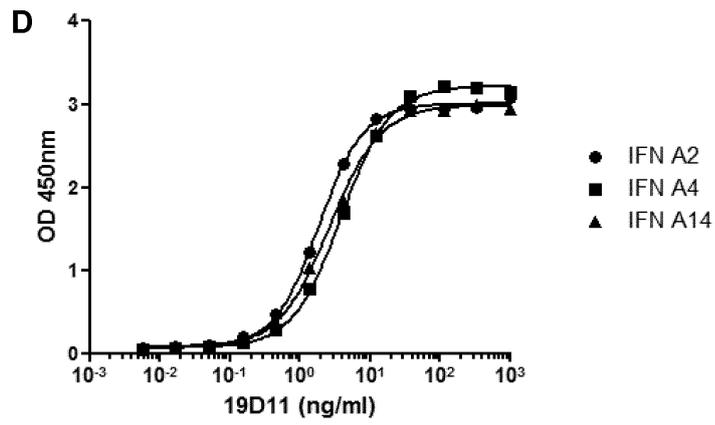
도면2c



도면3a



도면3b

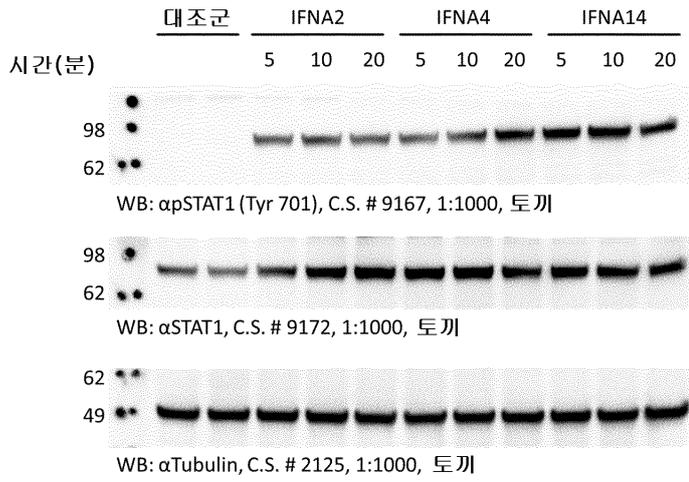


도면4

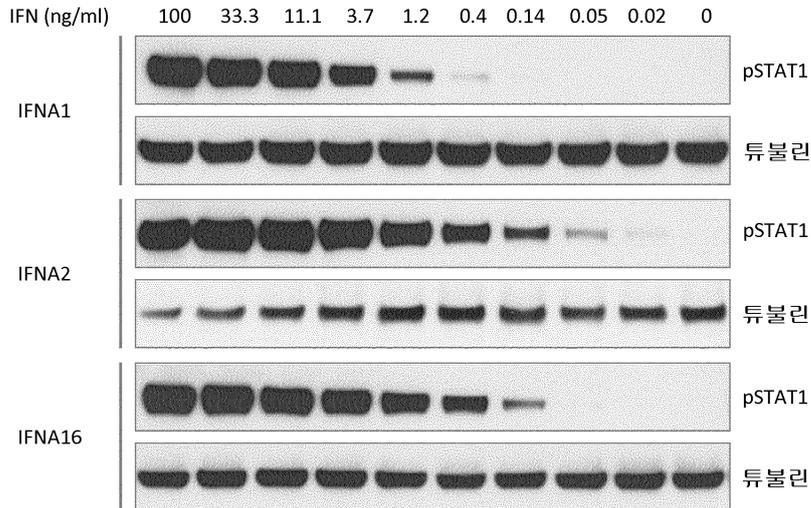
표적	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	
dsDNA	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
IFN-α8	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
IFN-α2	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
IFN-α4	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
IFN-α14	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
GAD1 뇌		○		○						○				○		○	○	○			○			
GAD2		○	○	○						○				○		○	○	○			○			
인슐린																								
IFN-α5	○		○		○	○	○	○	○	○				○	○	○	○	○	○	○		○	○	○
IFN-α6	○		○		○	○	○	○	○	○				○	○	○	○	○	○	○		○	○	○
IFN-α21	○		○		○	○	○	○	○	○				○	○	○	○	○	○	○		○	○	○

도면5a

A1

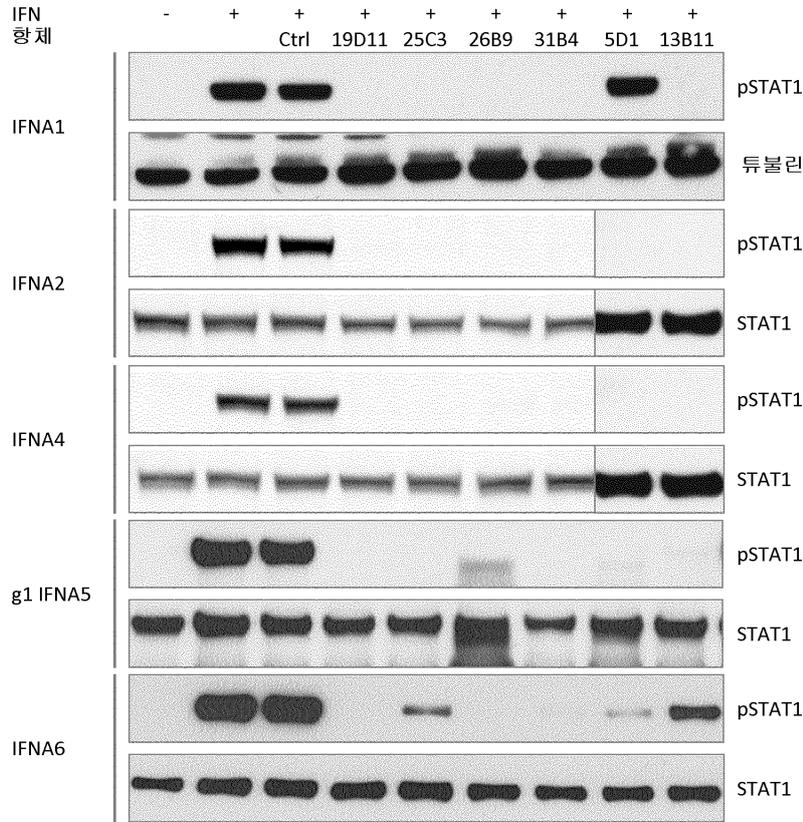


A2



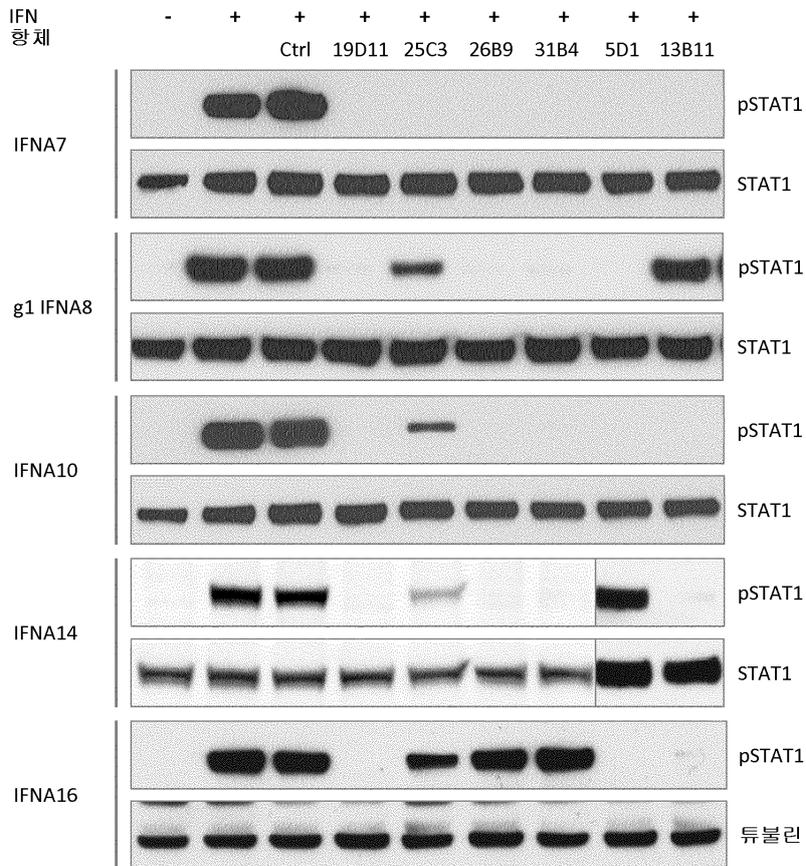
도면5b

**B**



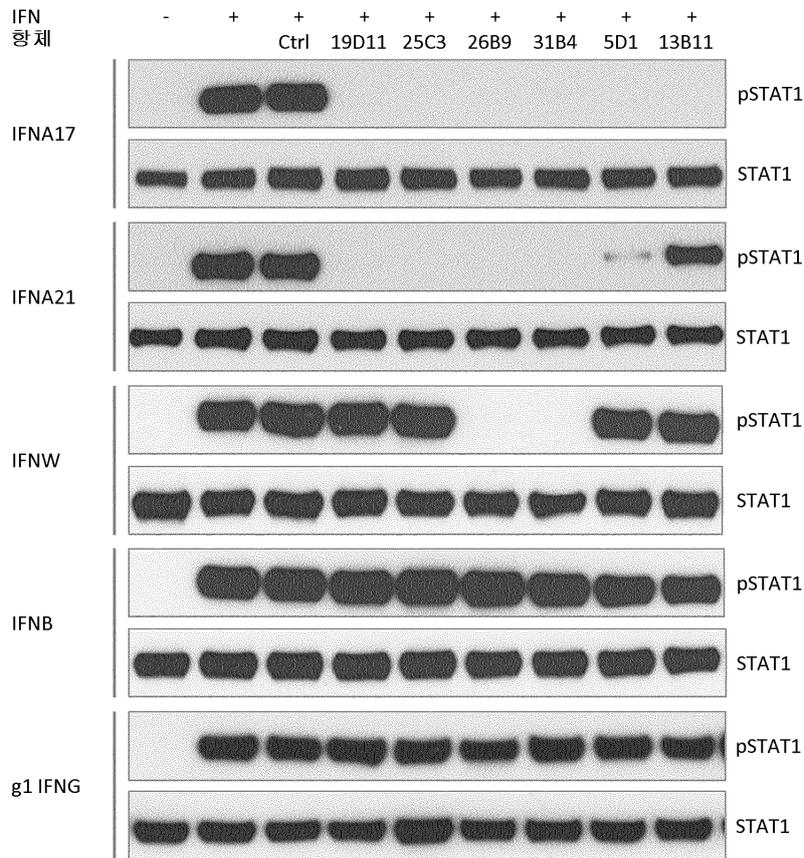
도면5c

C

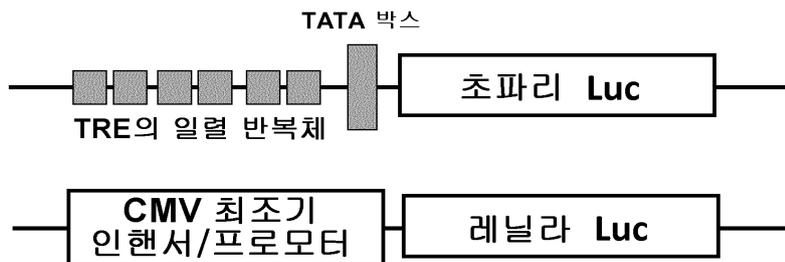


도면5d

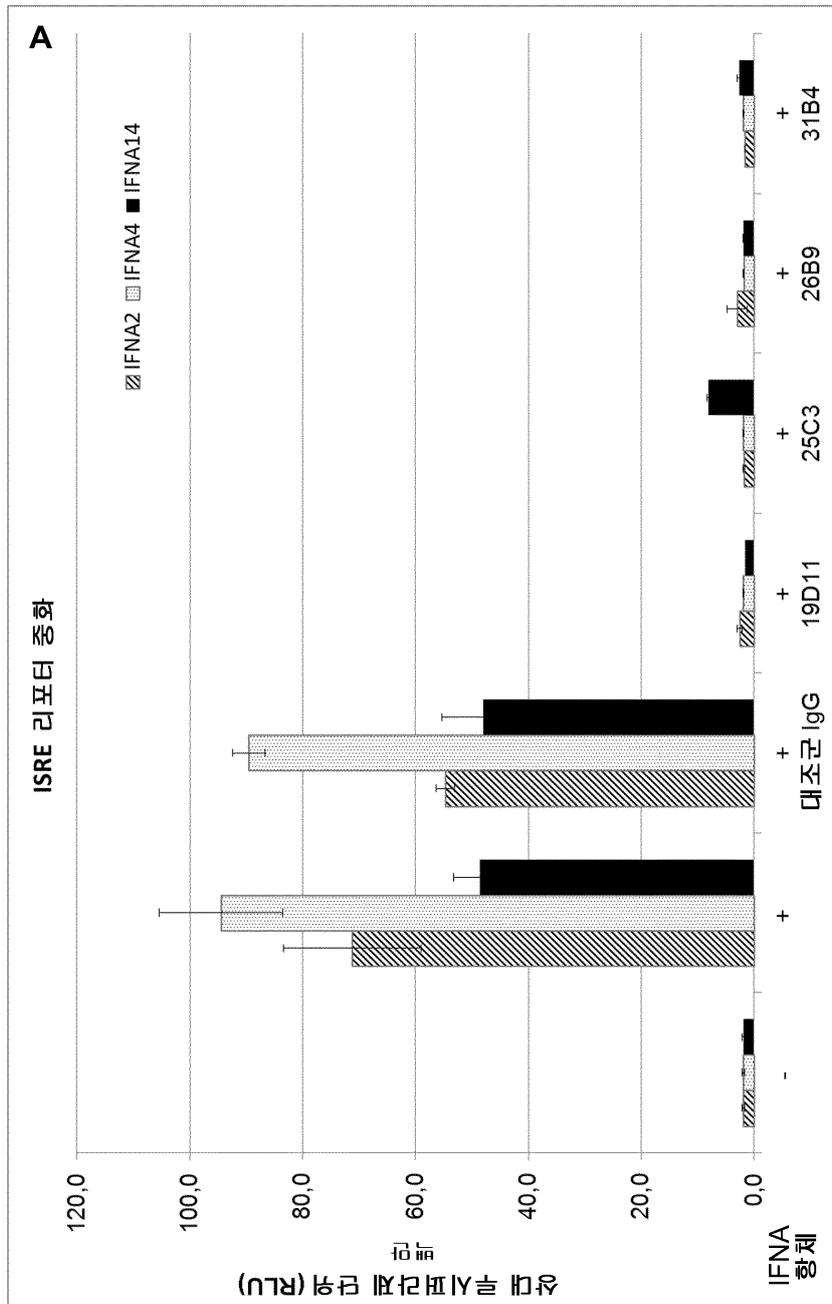
D



도면6

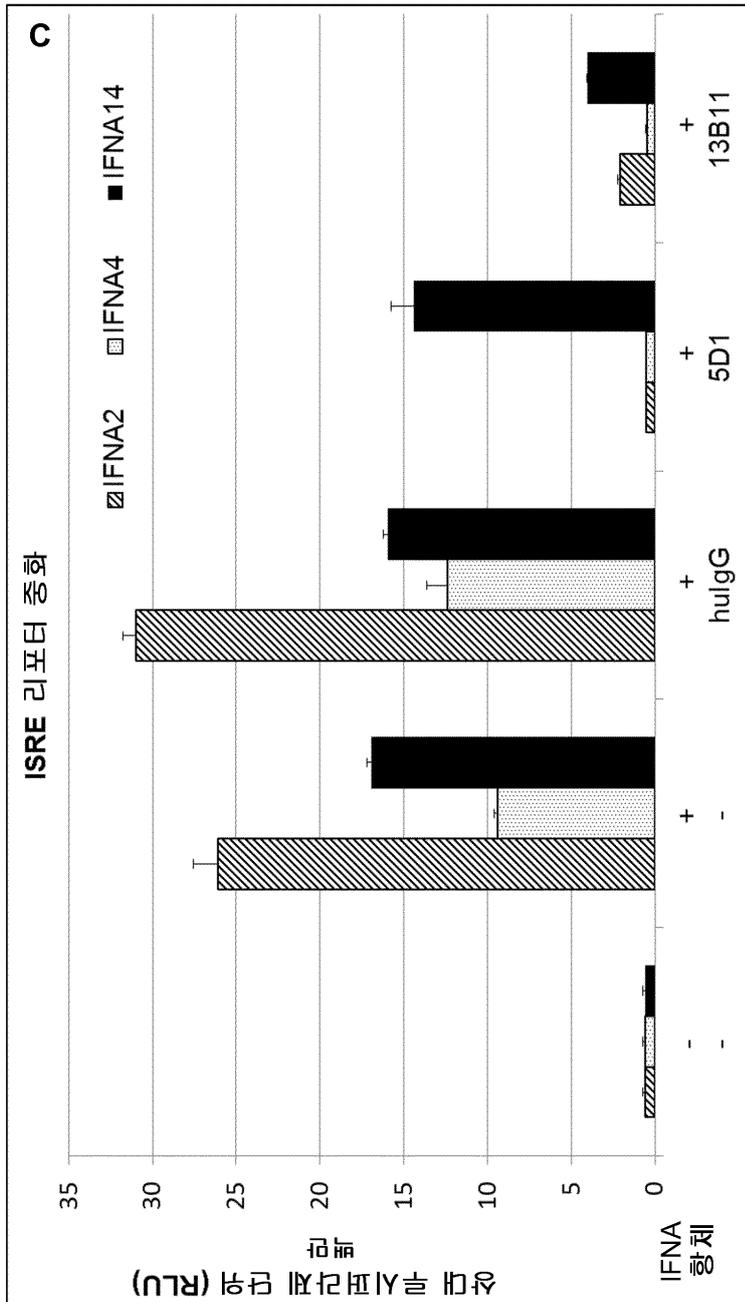


도면7a

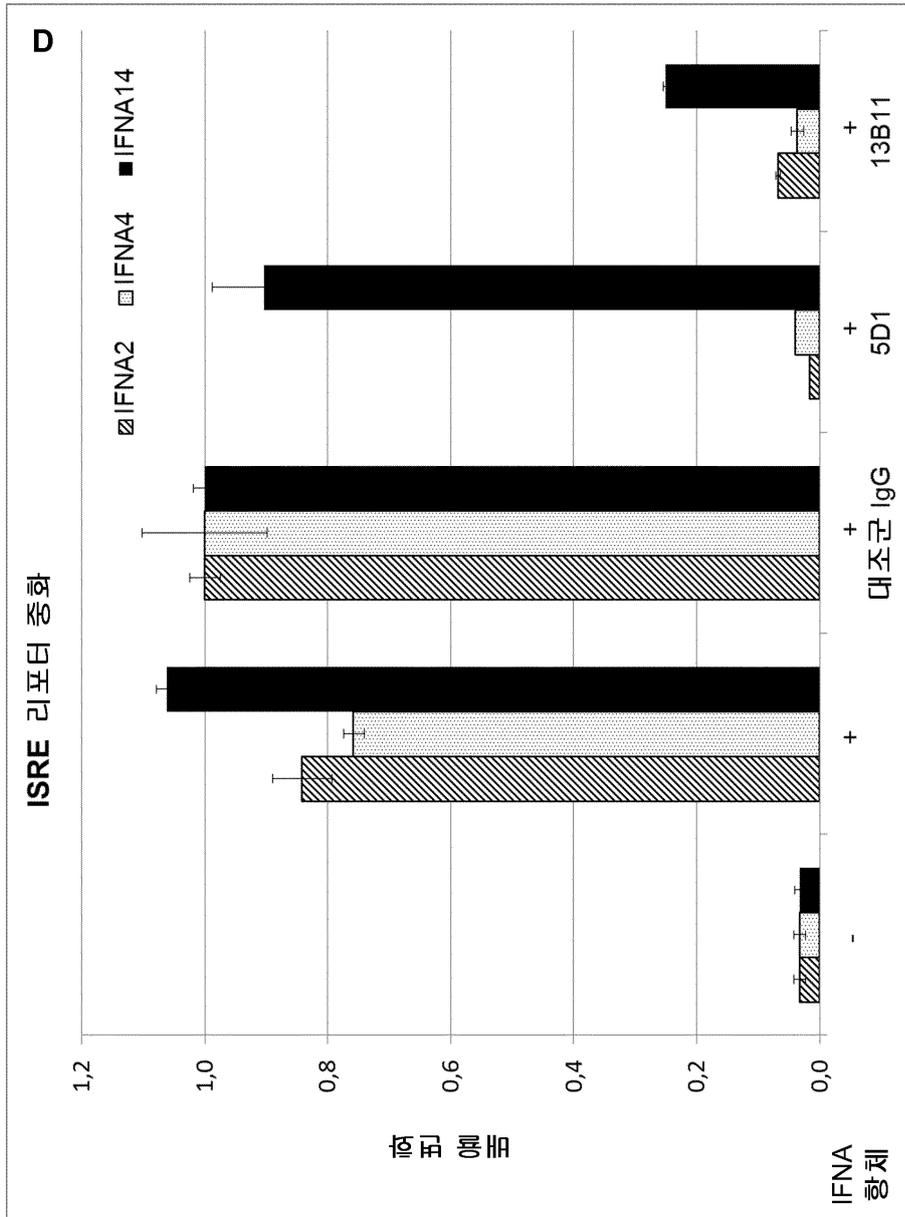




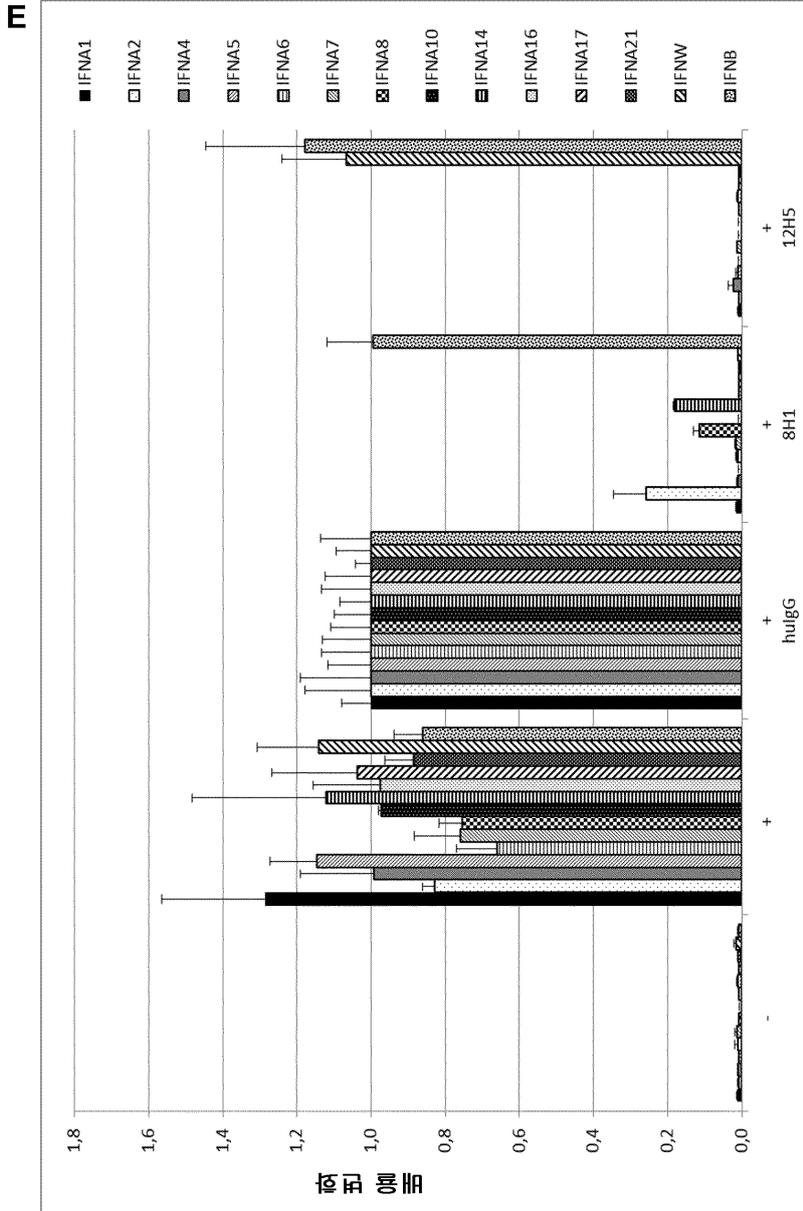
도면7c



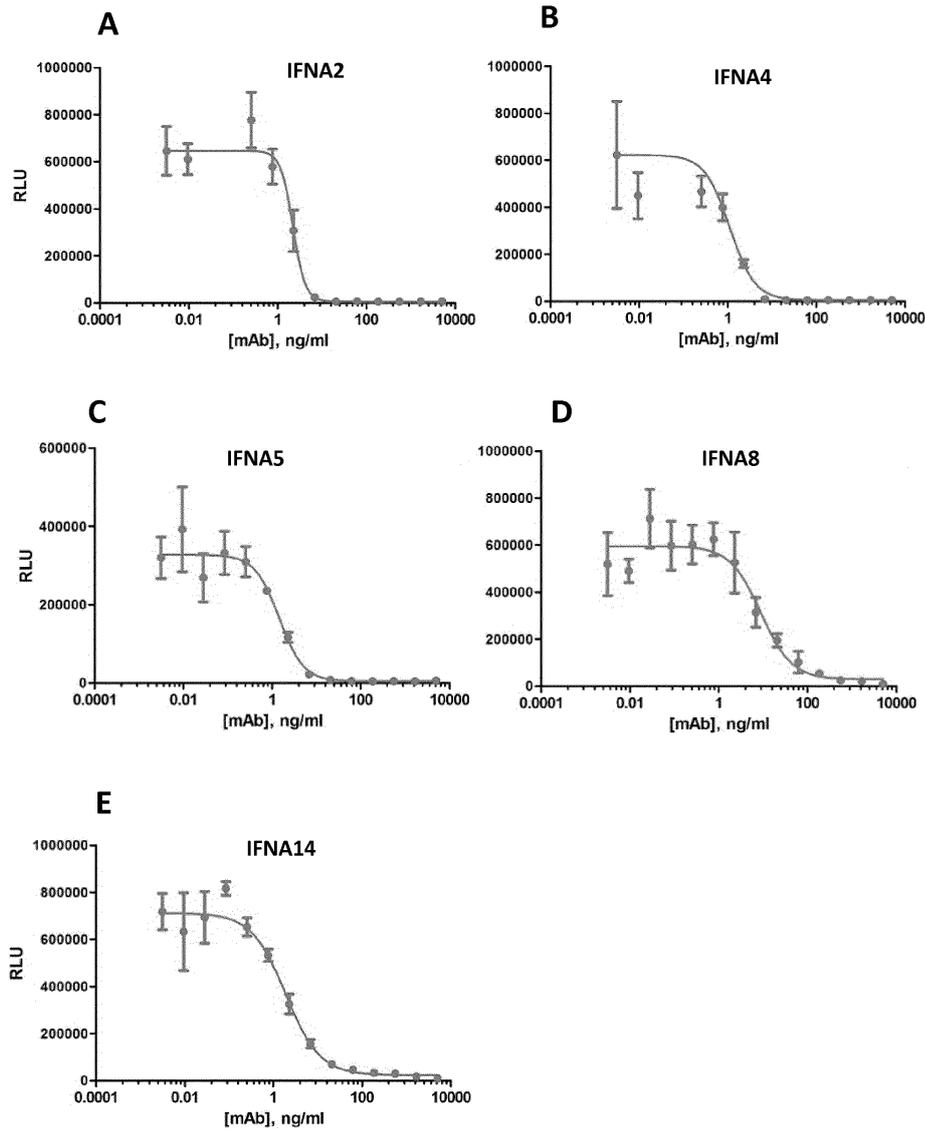
도면7d



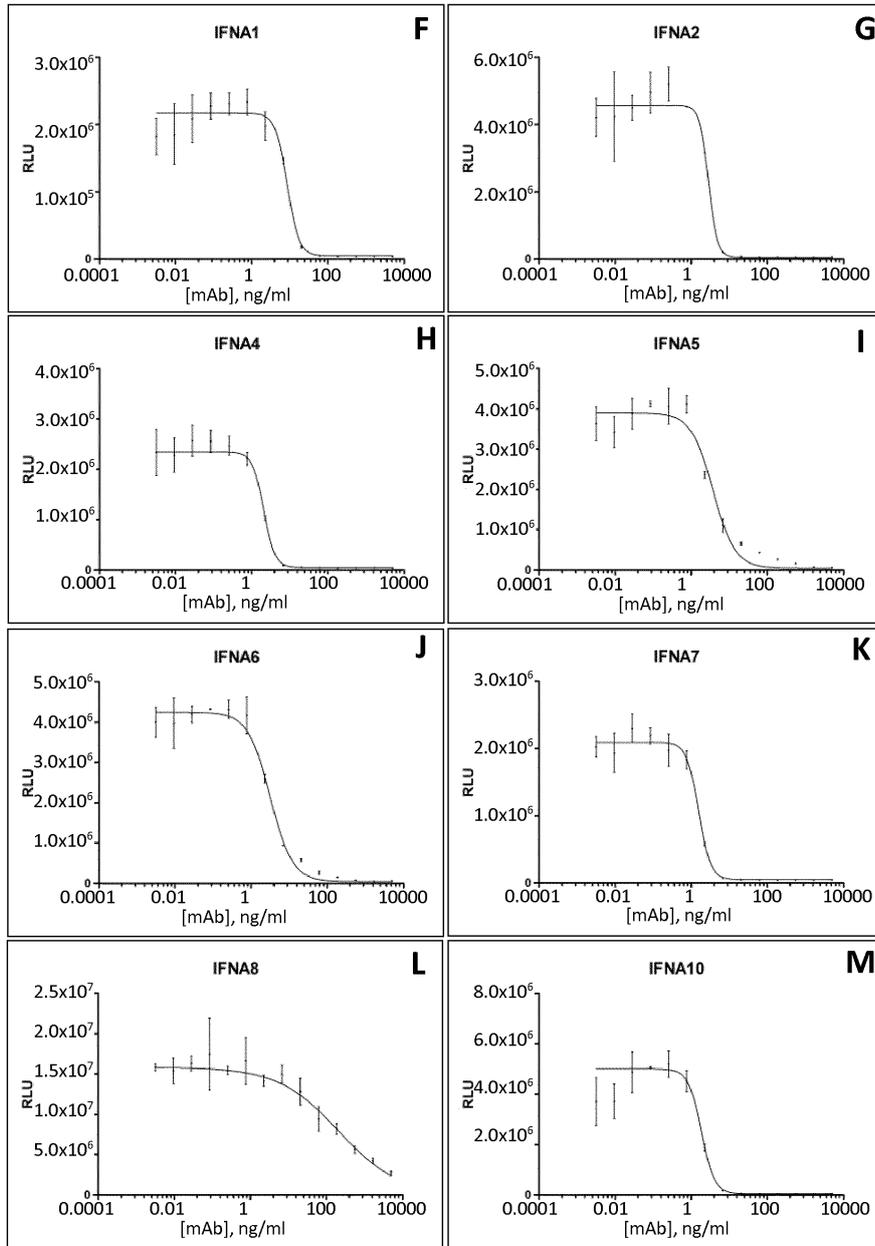
도면7e



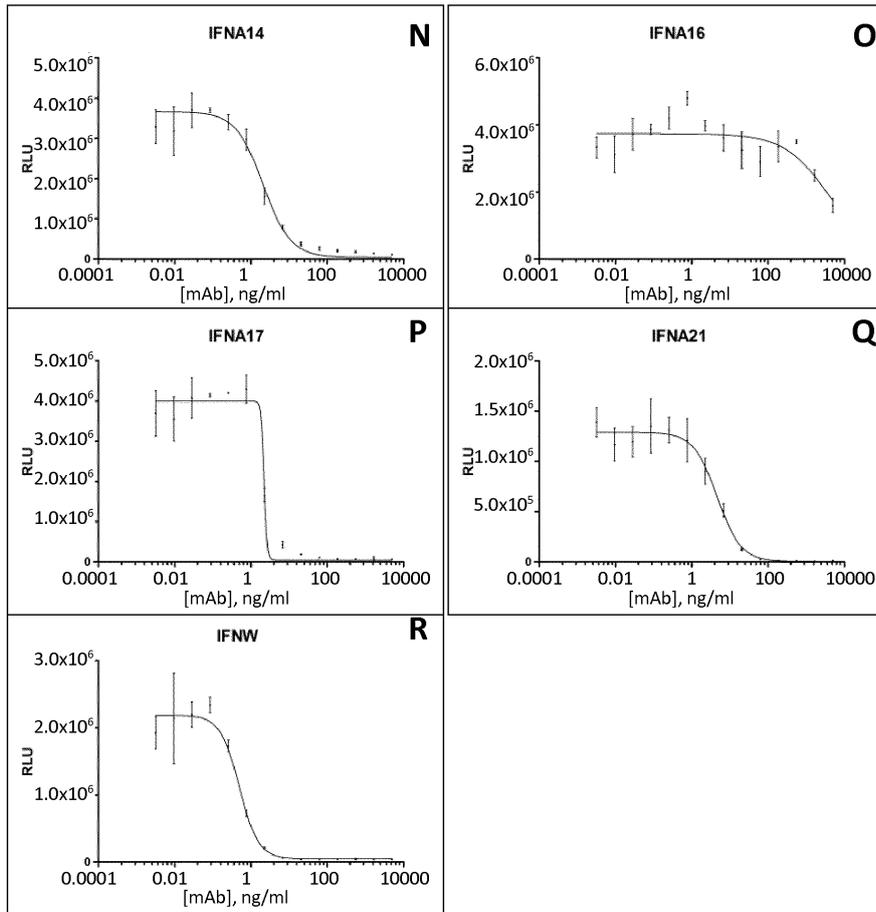
도면8a



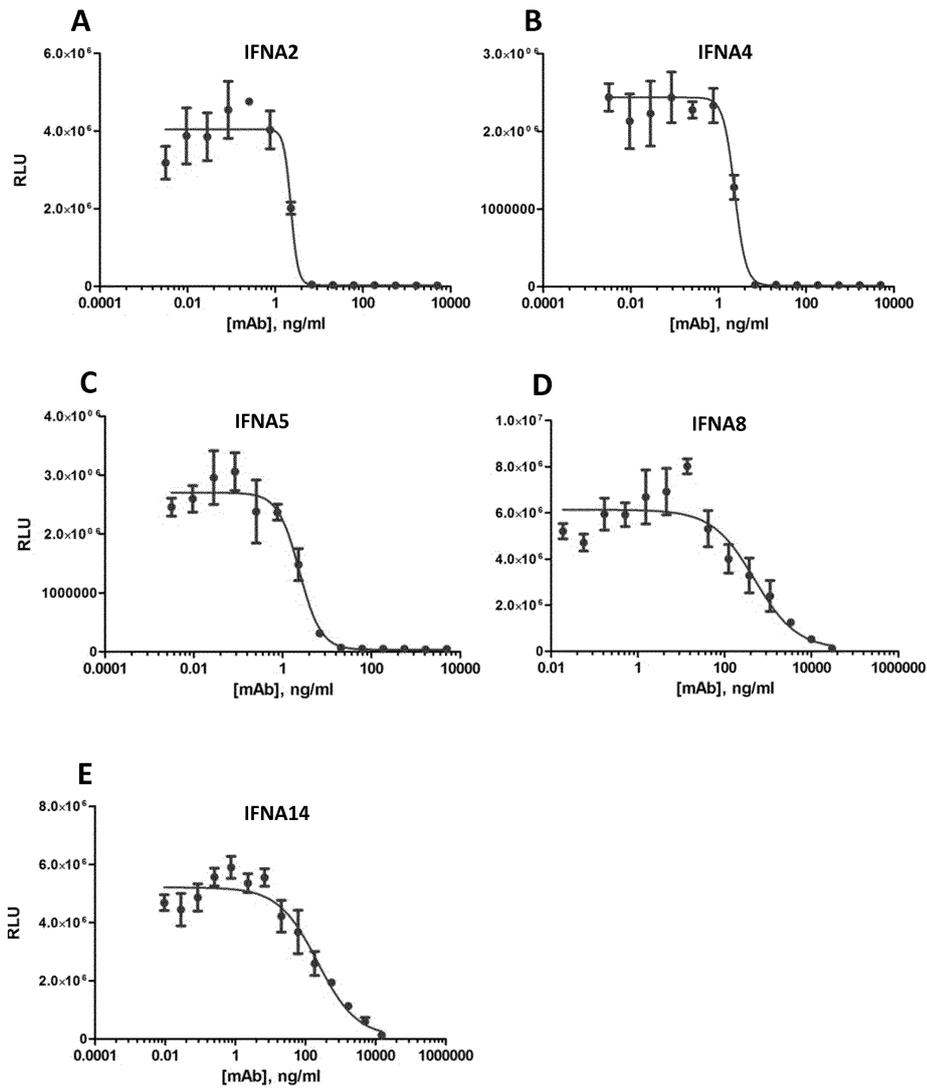
도면 8b



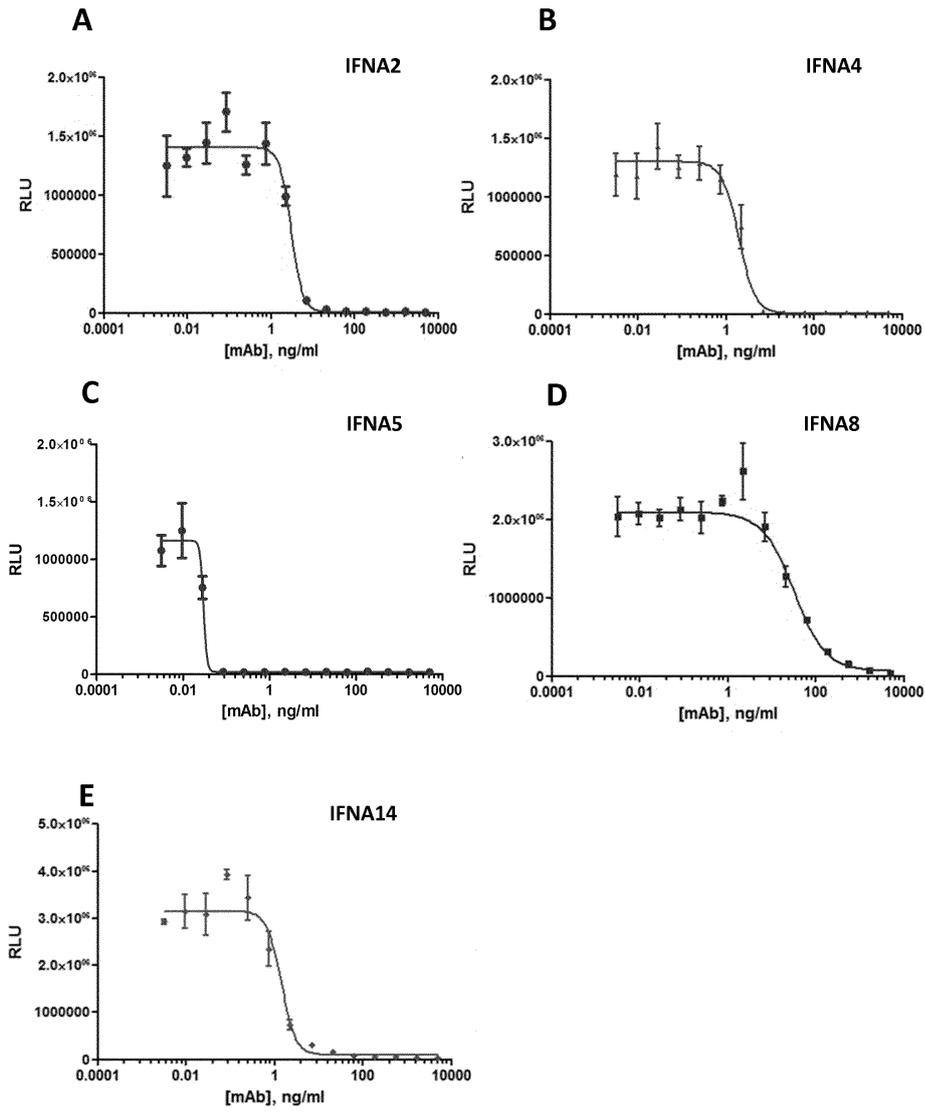
도면8c



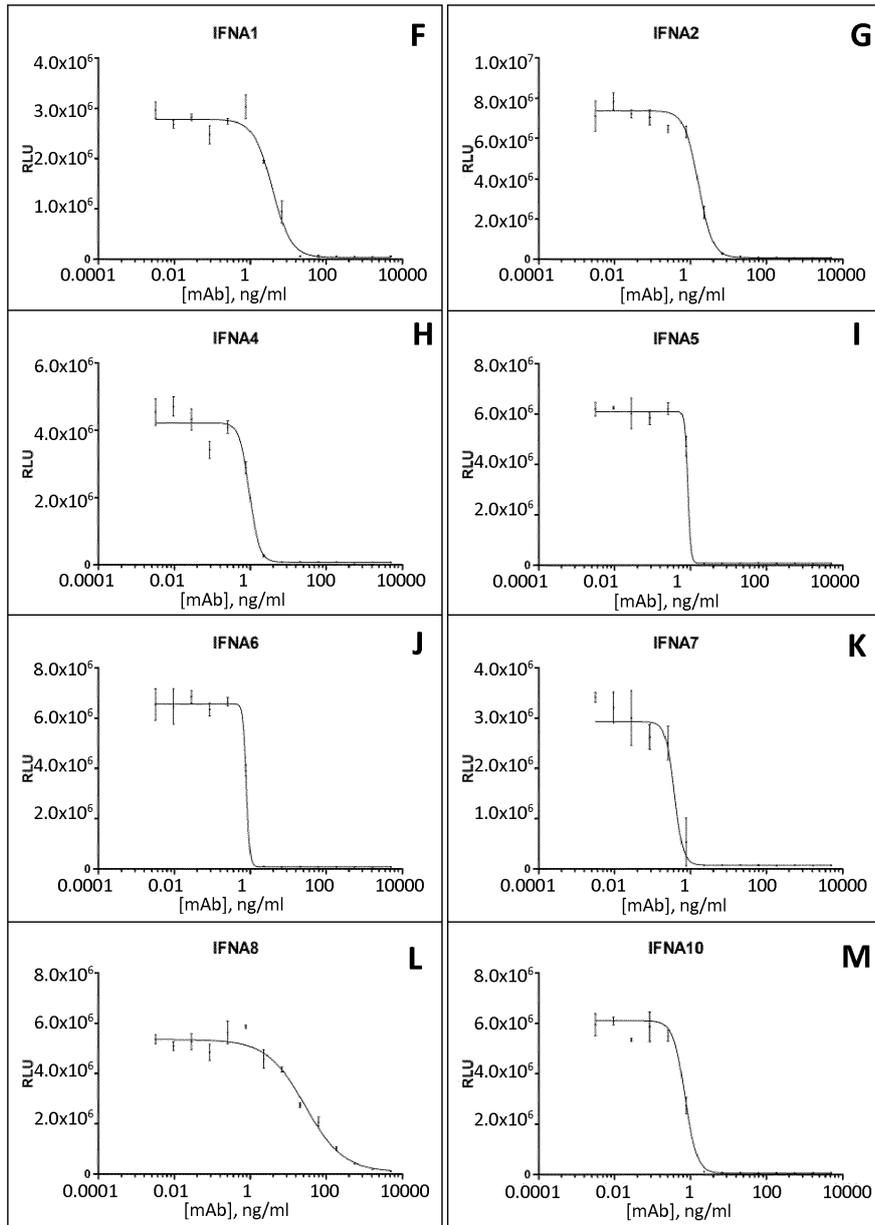
도면9



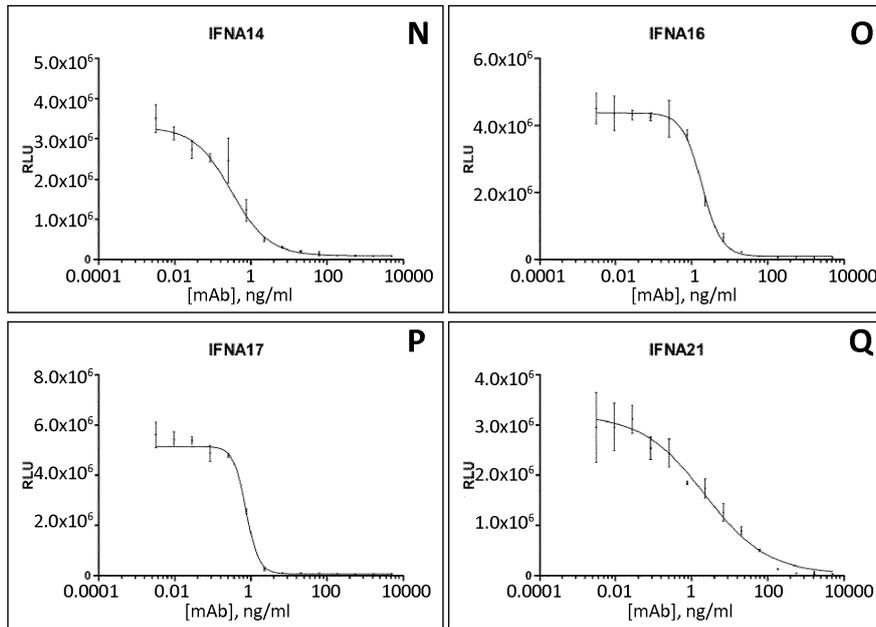
도면10a



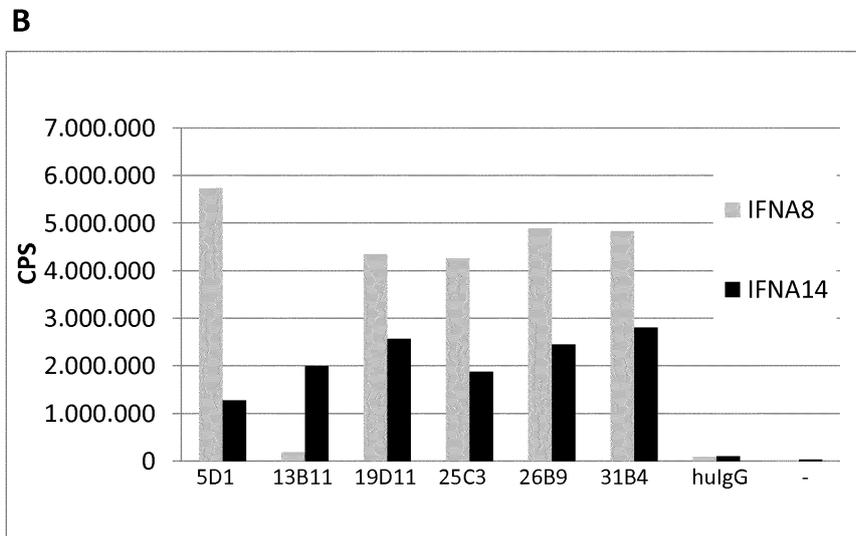
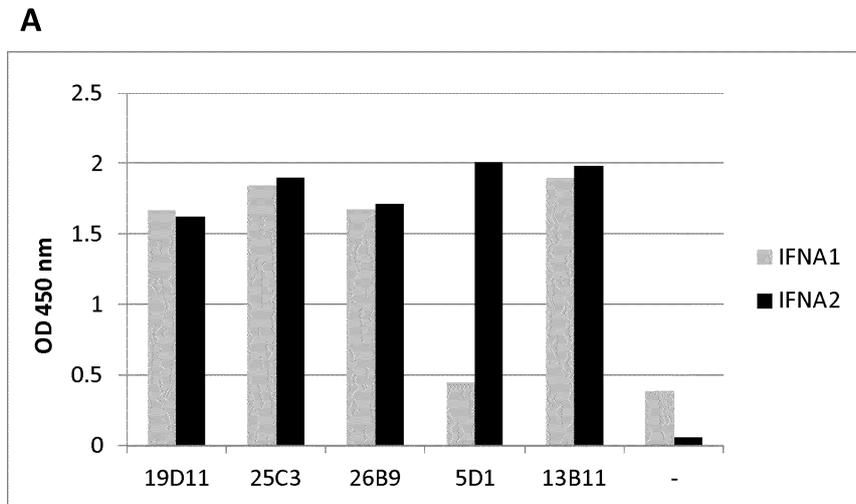
도면10b



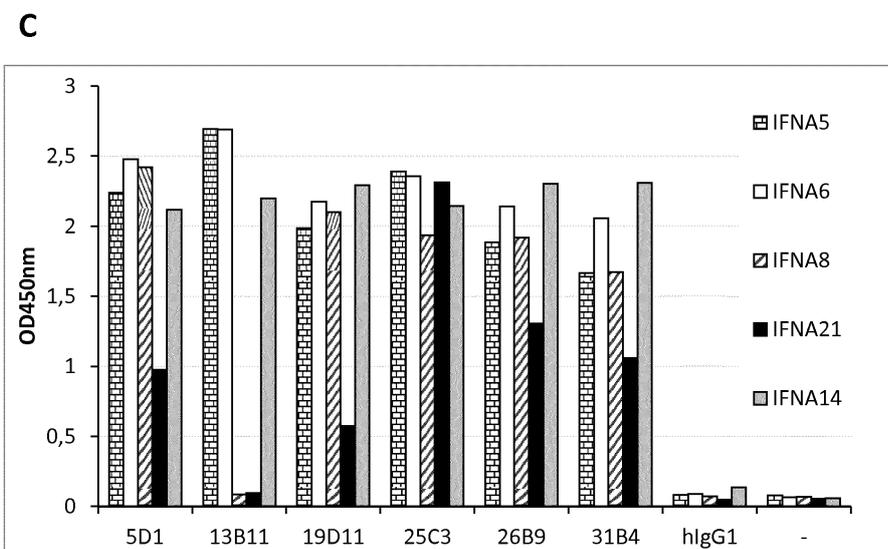
도면10c



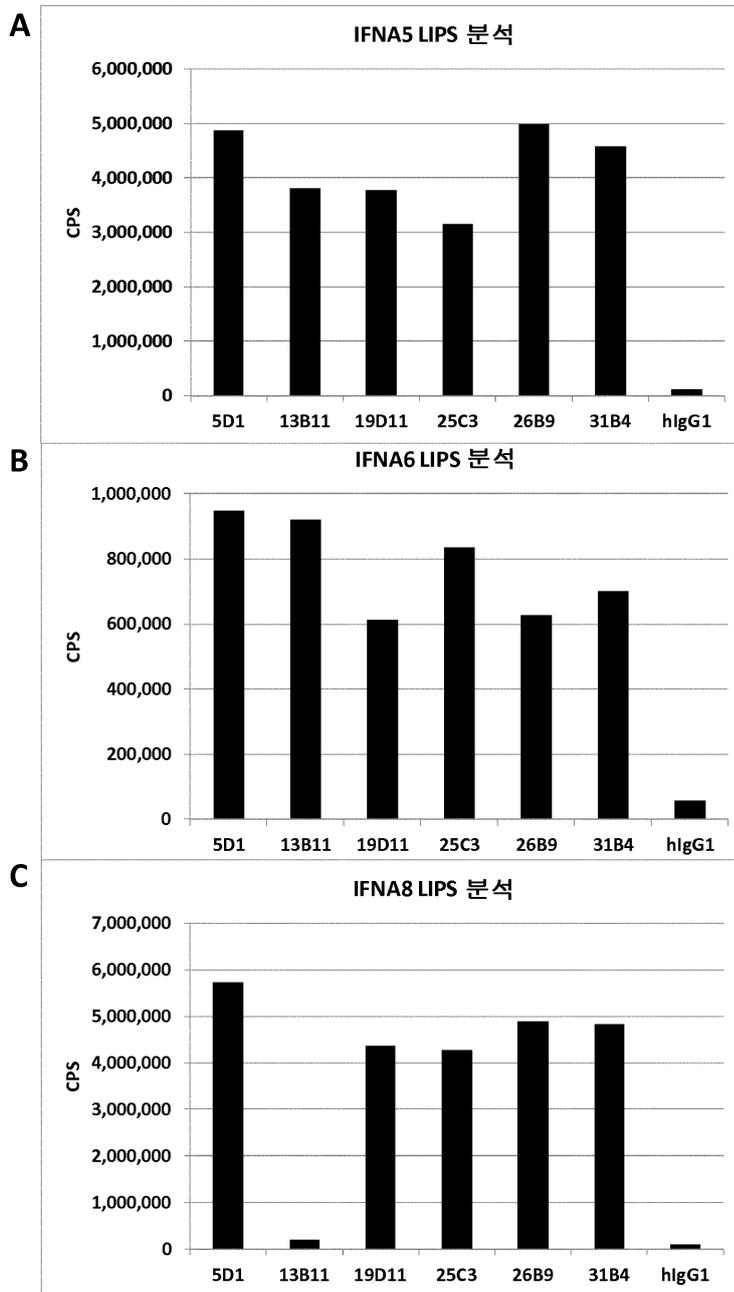
도면11a



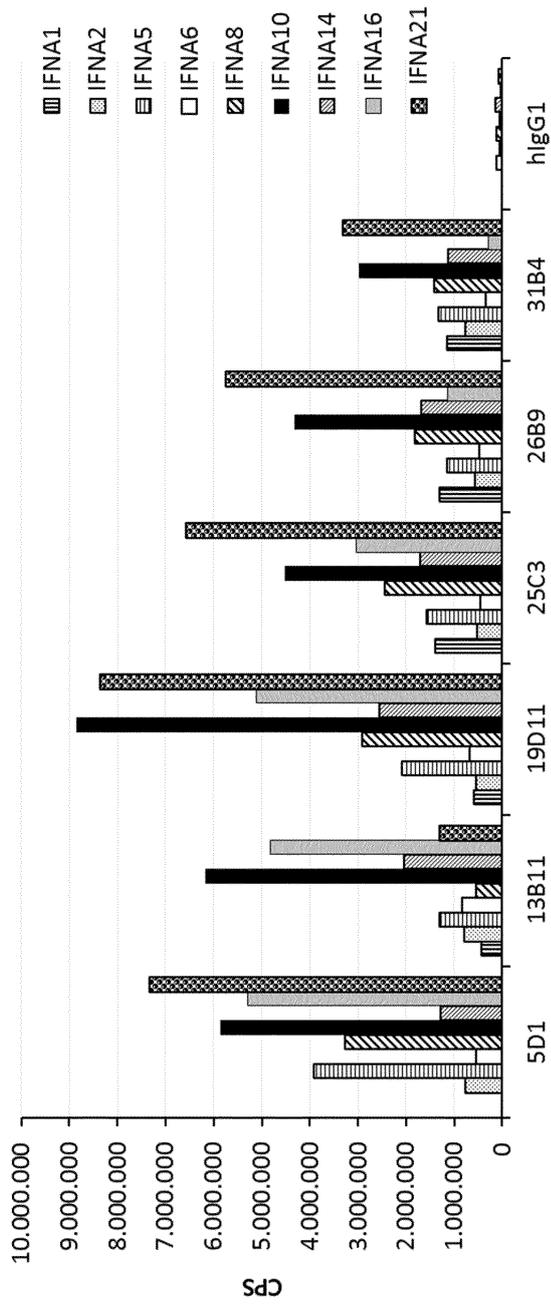
도면11b



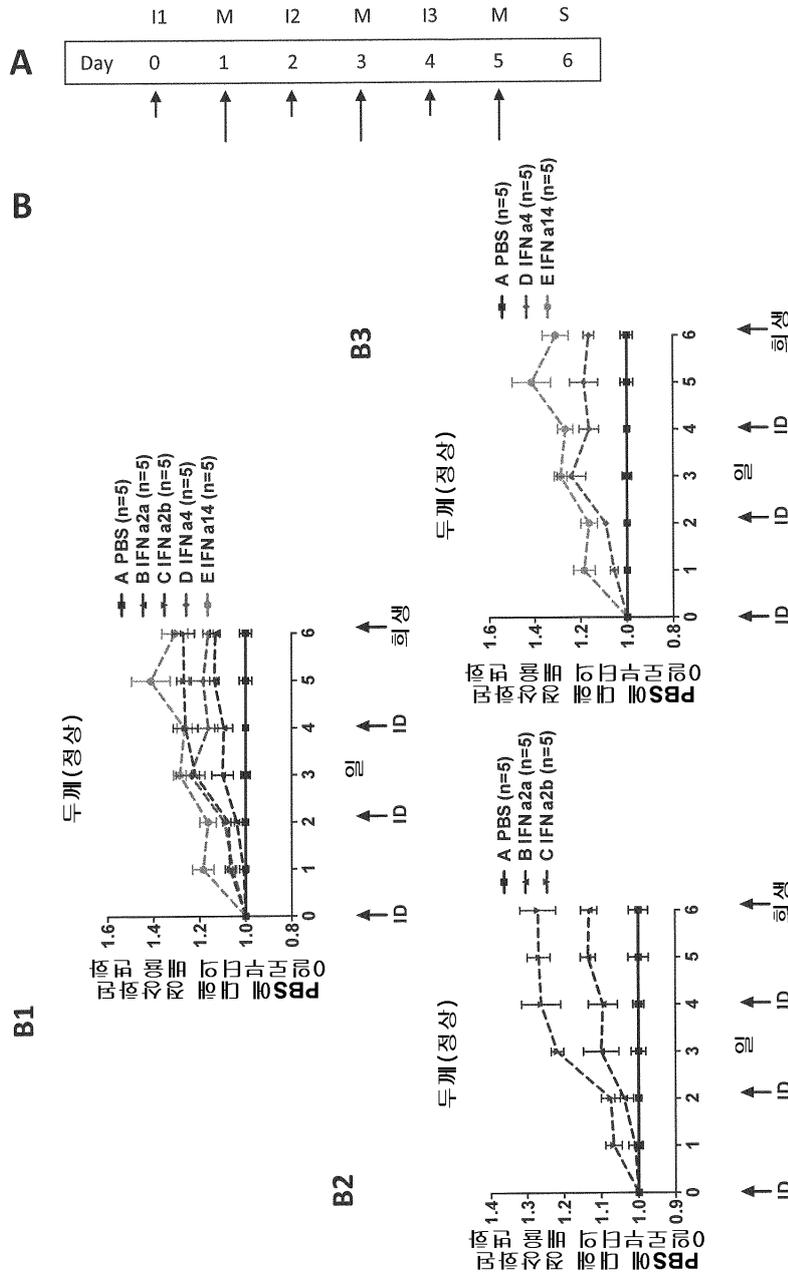
도면12



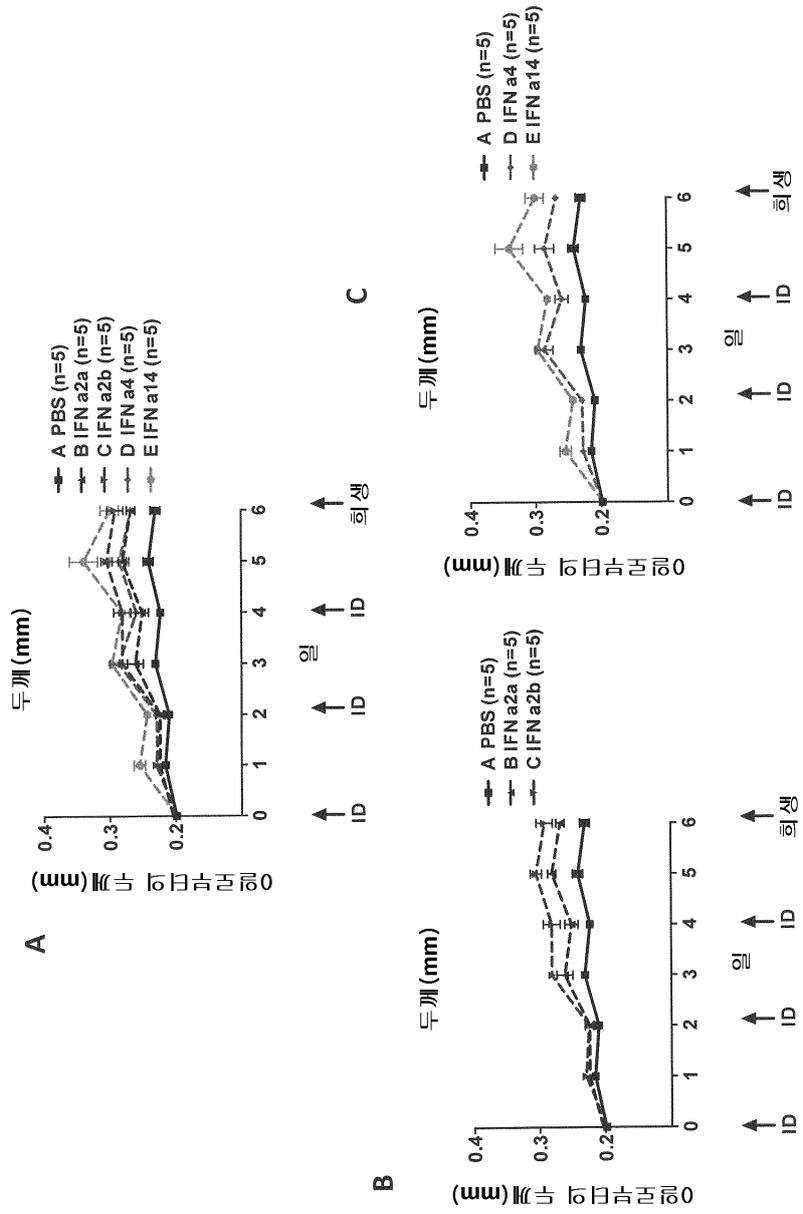
도면13



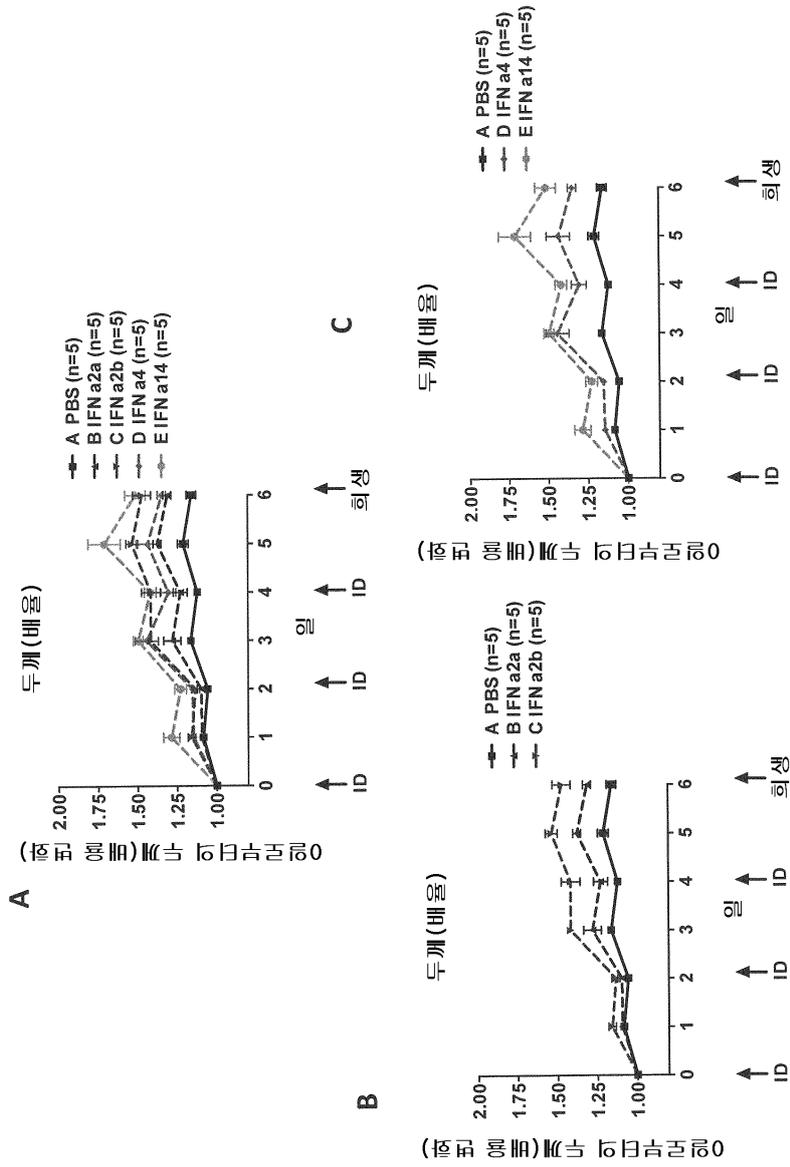
도면14



도면15



도면16

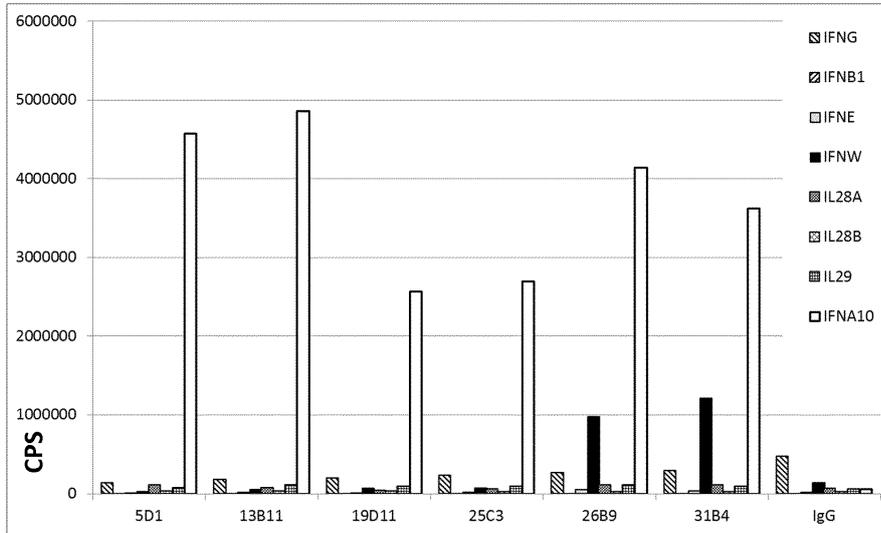


도면17

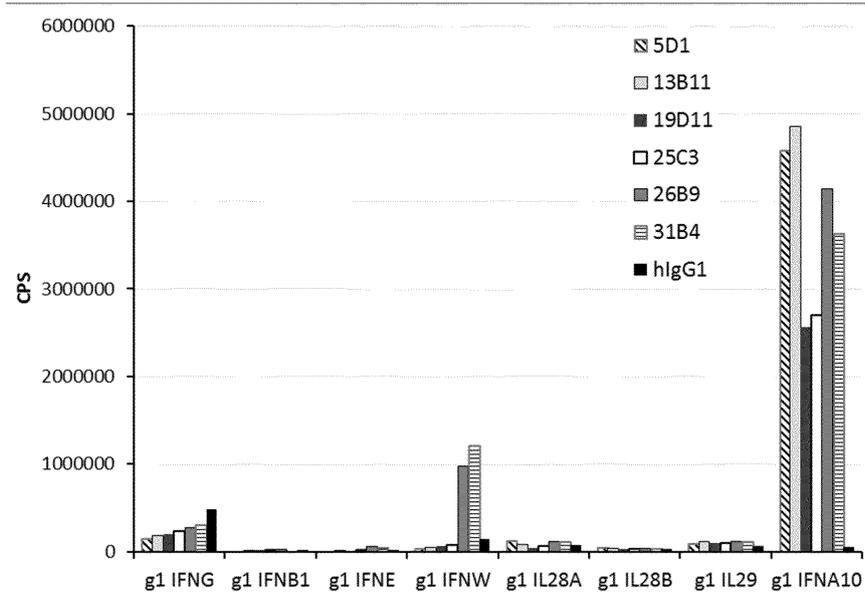
경상화		0	1	2	3	4	5	6
A PBS	B a2a	ns	ns	ns	*	*	**	**
A PBS	C a2b	ns	ns	ns	****	****	****	****
A PBS	D a4	ns	ns	ns	****	**	***	**
A PBS	E a14	ns	**	*	****	****	****	****
B a2a	C a2b	ns	ns	ns	ns	**	*	*
B a2a	D a4	ns	ns	ns	*	ns	ns	ns
B a2a	E a14	ns	*	ns	**	*	****	*
C a2b	D a4	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
C a2b	E a14	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
D a4	E a14	ns	ns	ns	ns	ns	**	ns

도면18

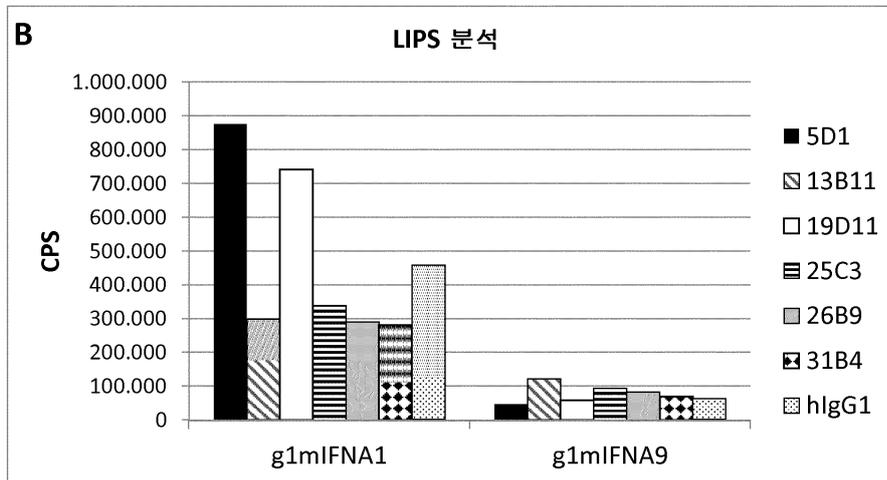
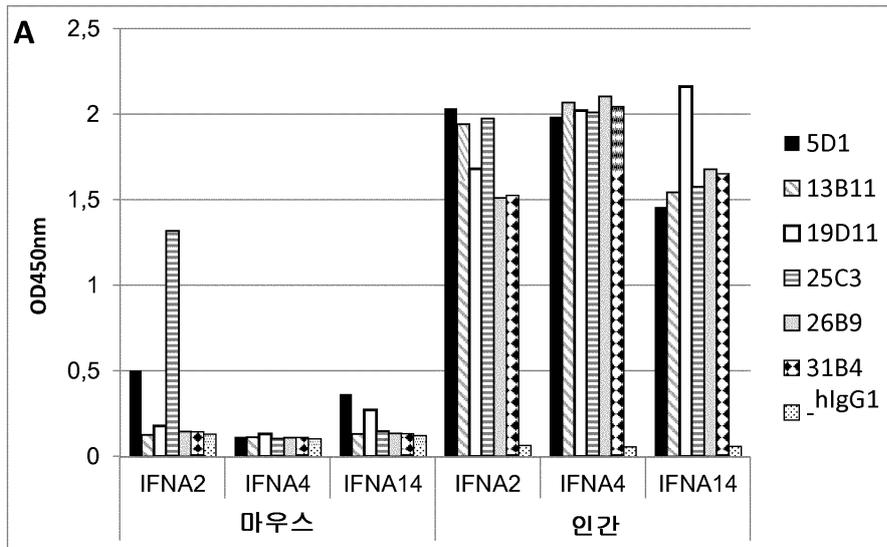
**A**



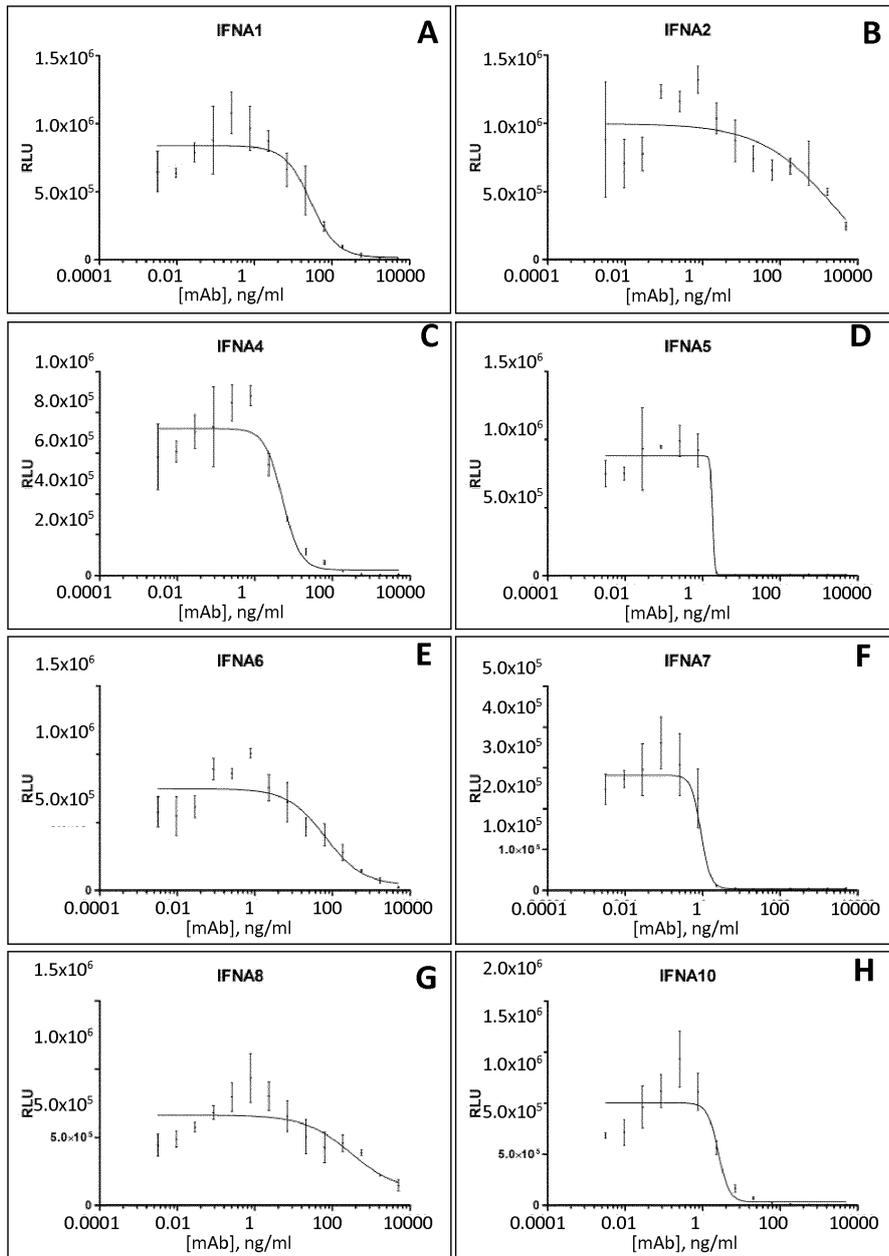
**B**



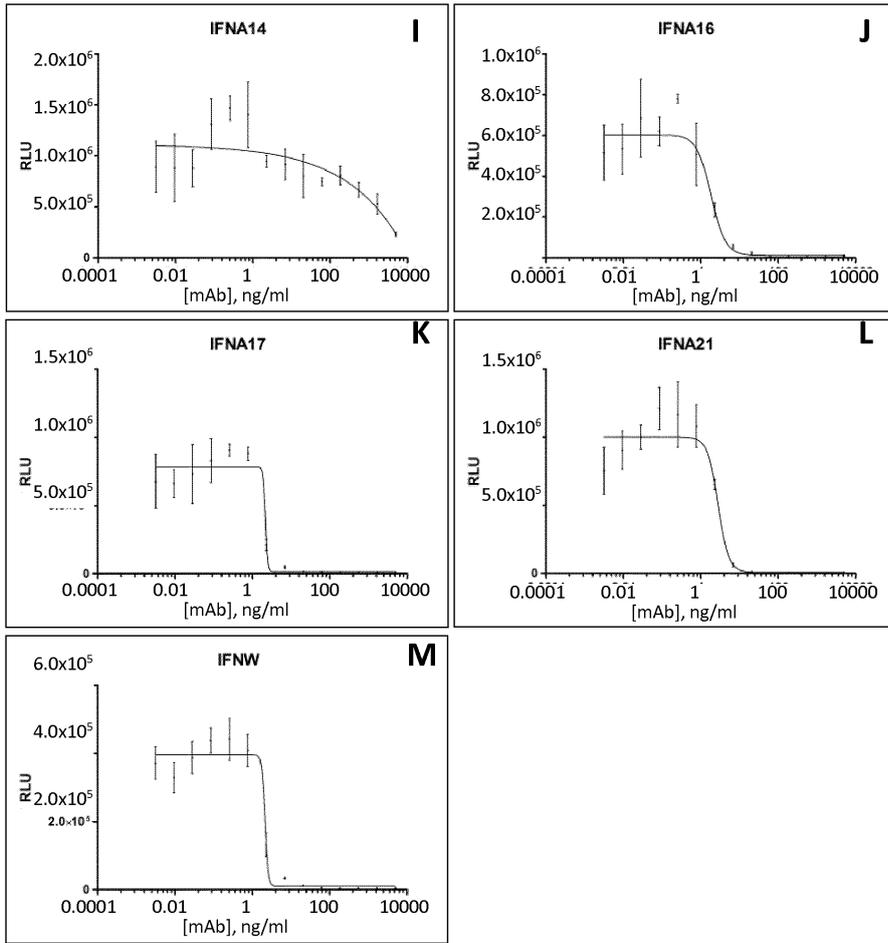
도면19



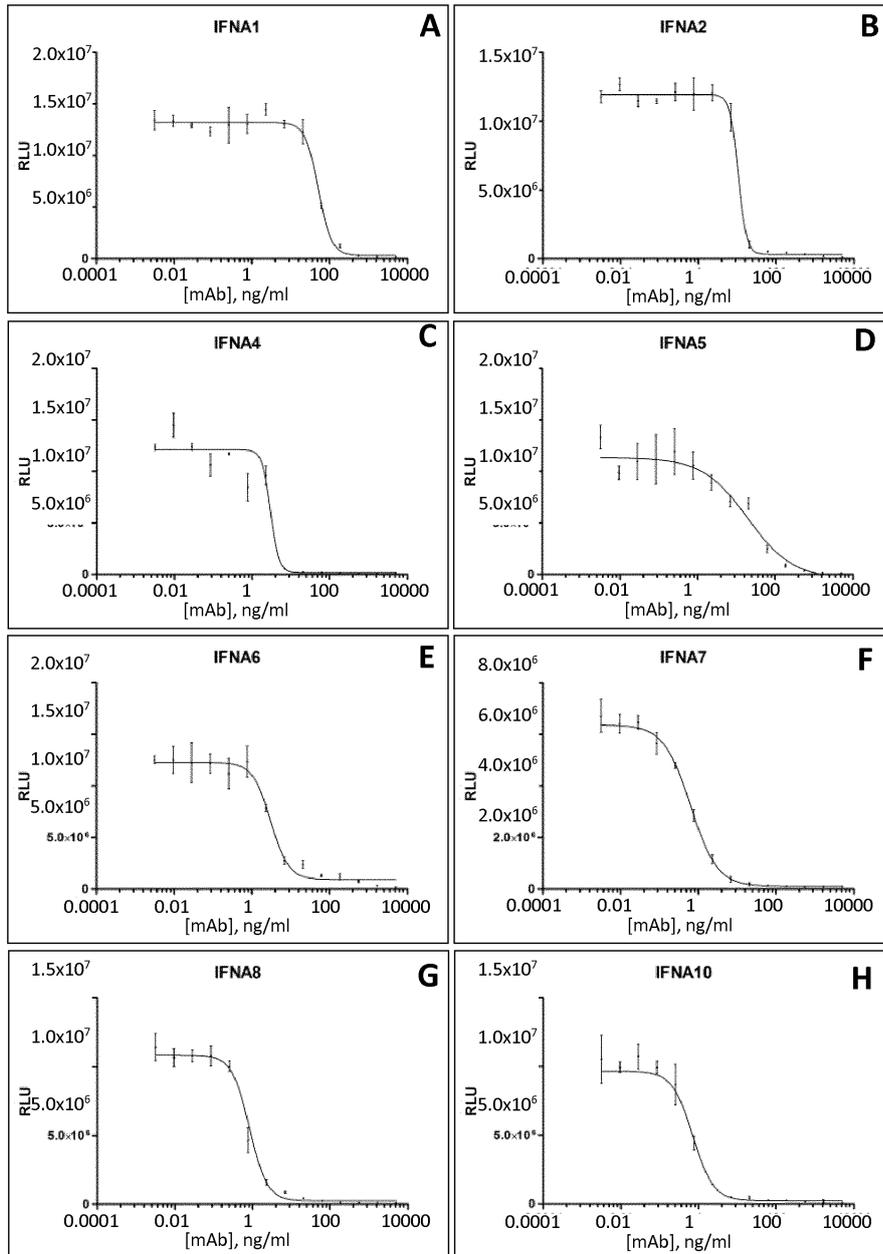
도면20a



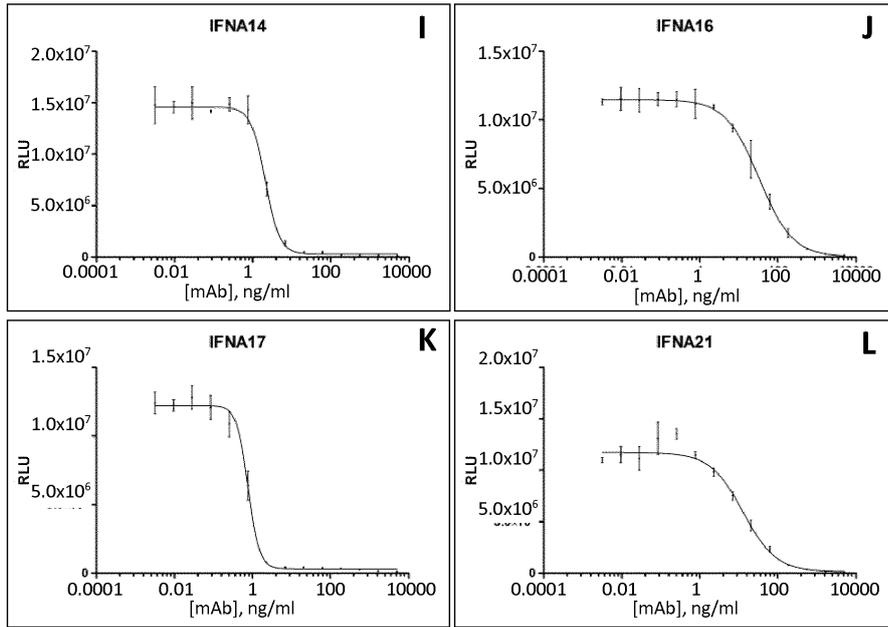
도면20b



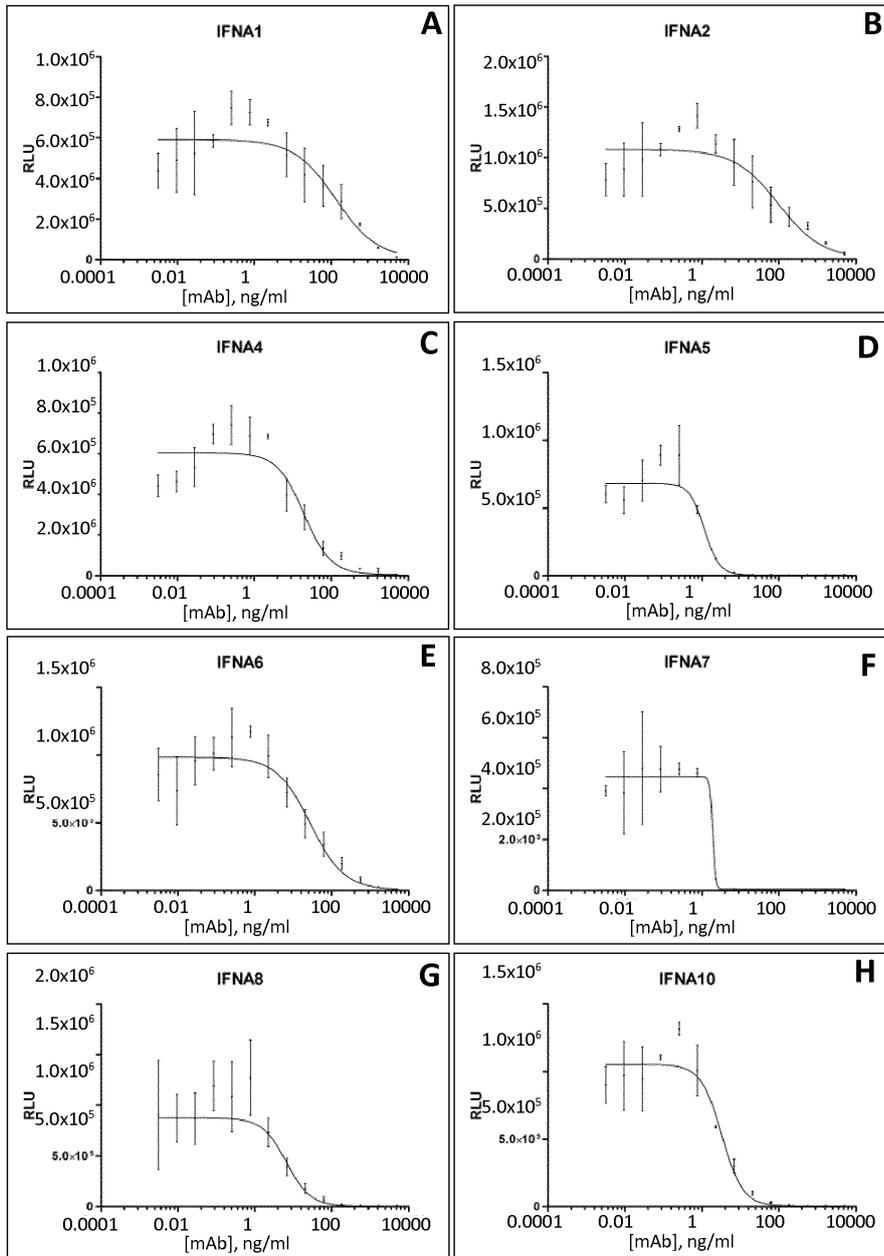
도면21a



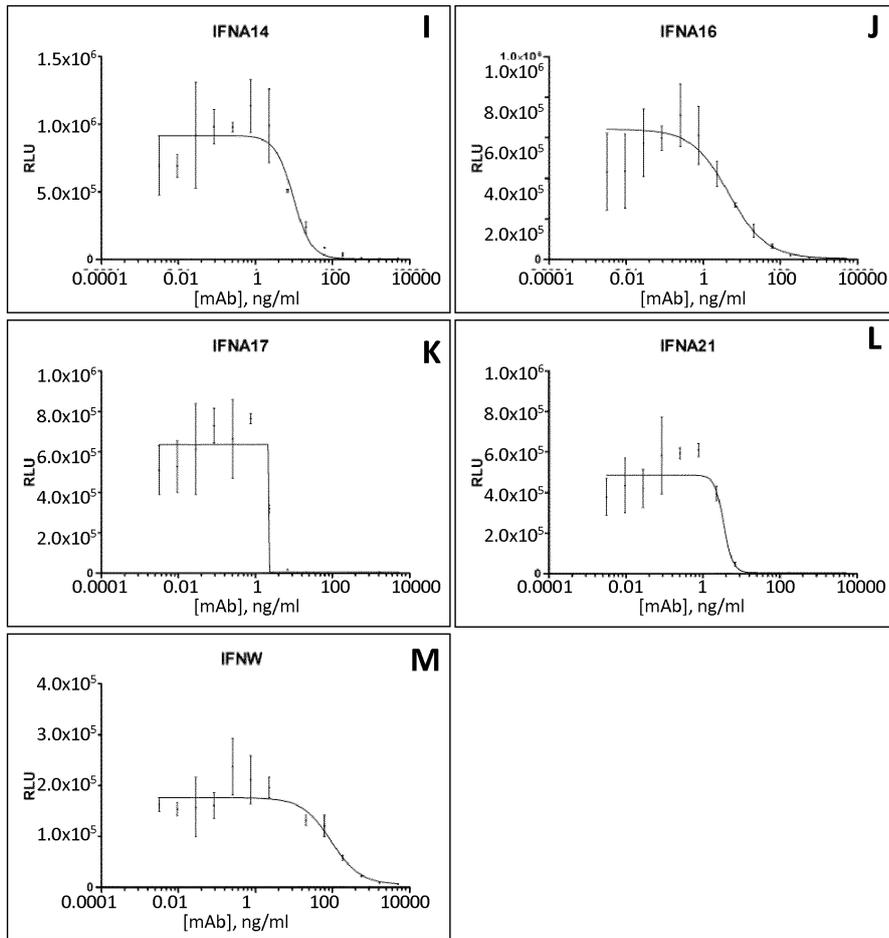
도면21b



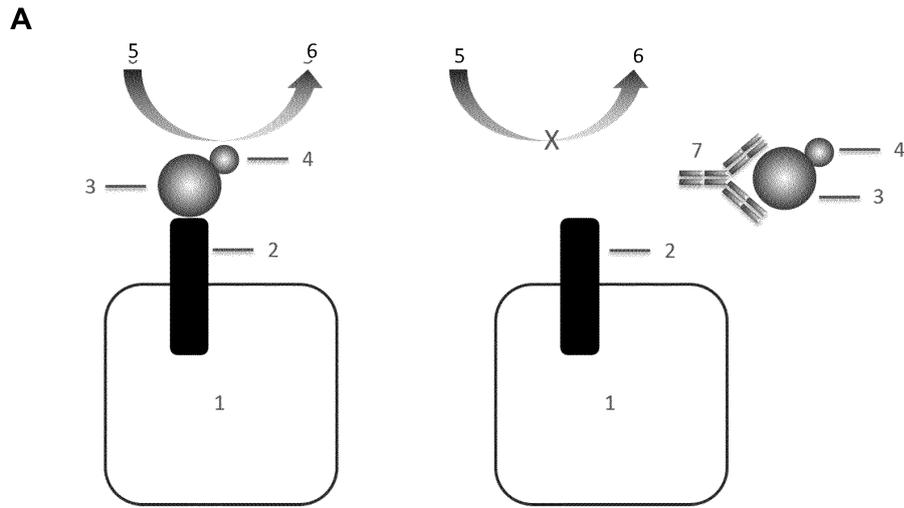
도면22a



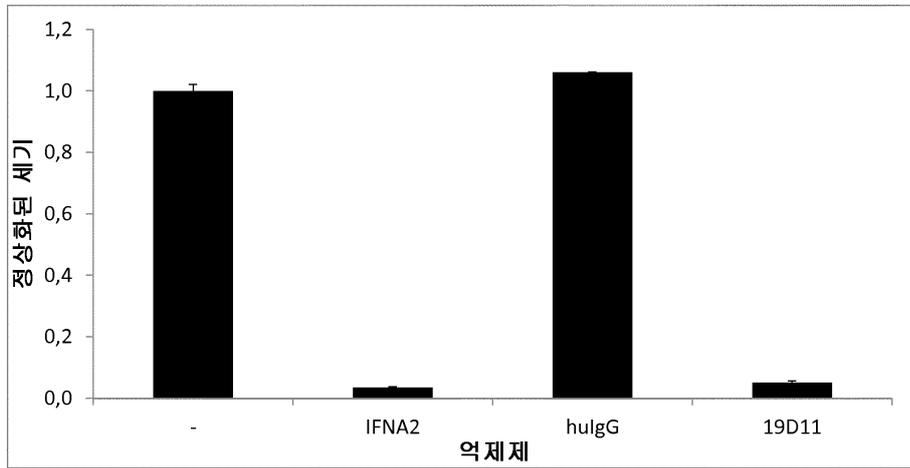
도면22b



도면23a

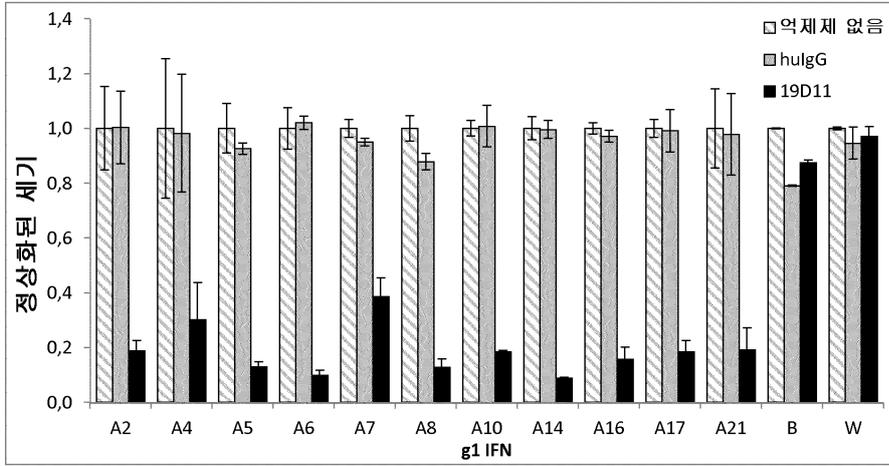


**B**

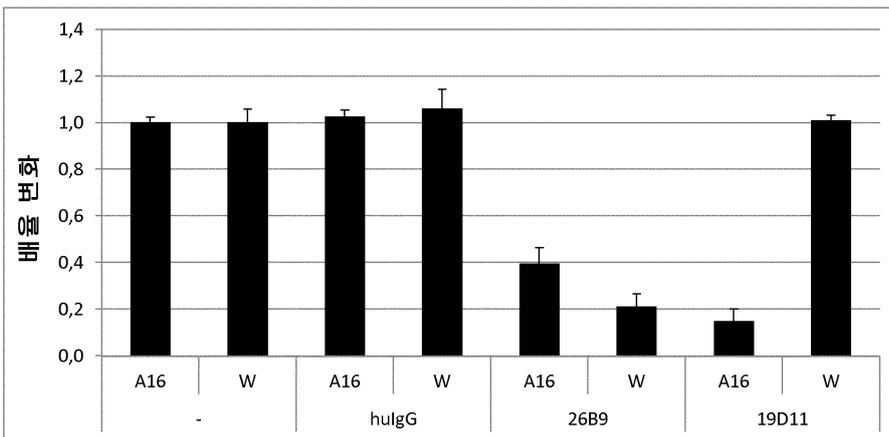


도면23b

C

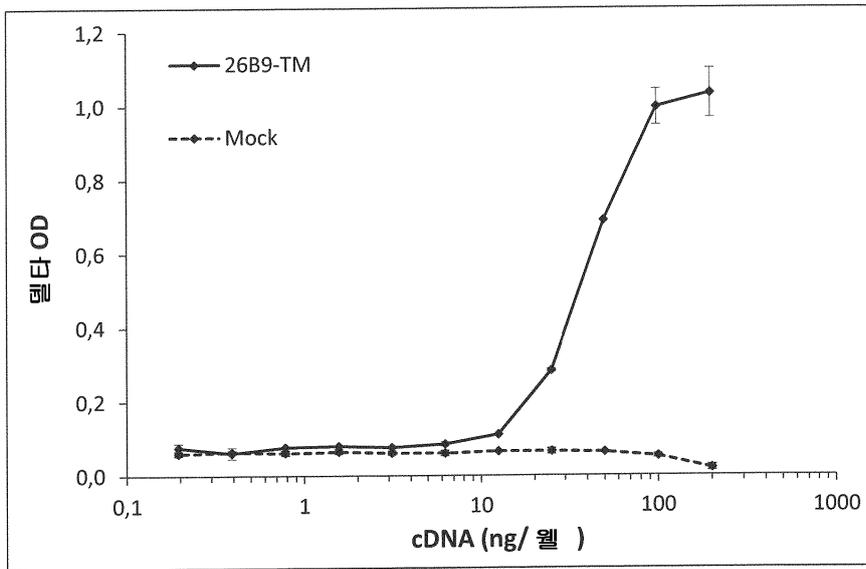


D

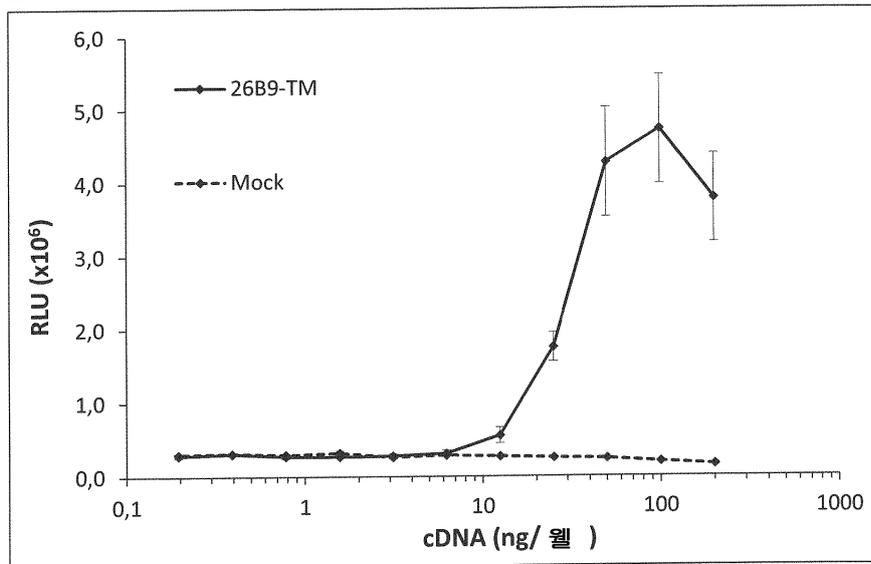


도면24

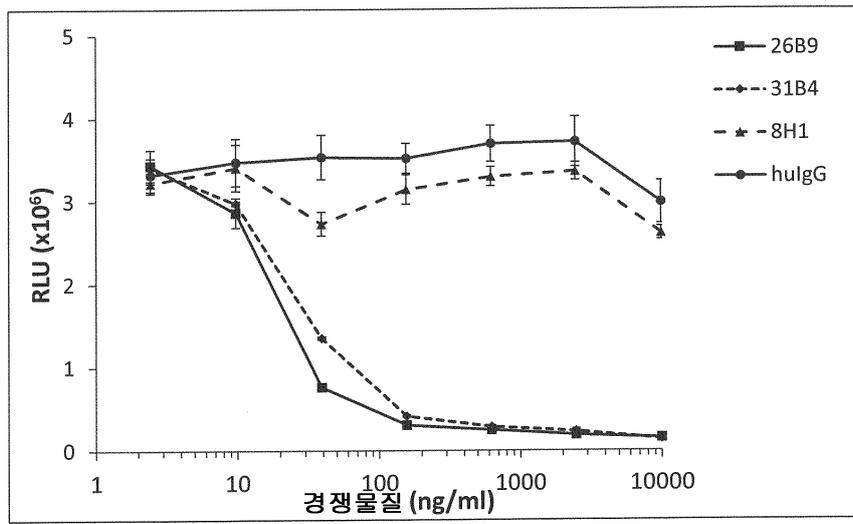
A



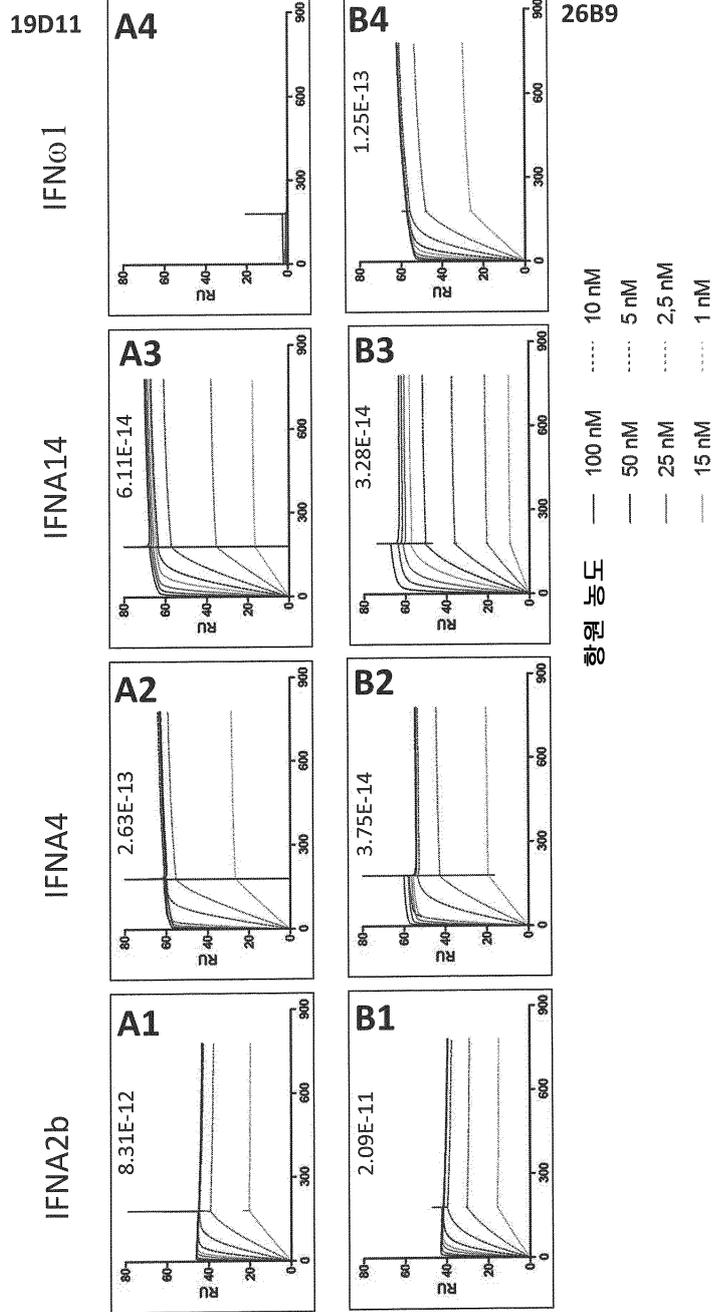
B



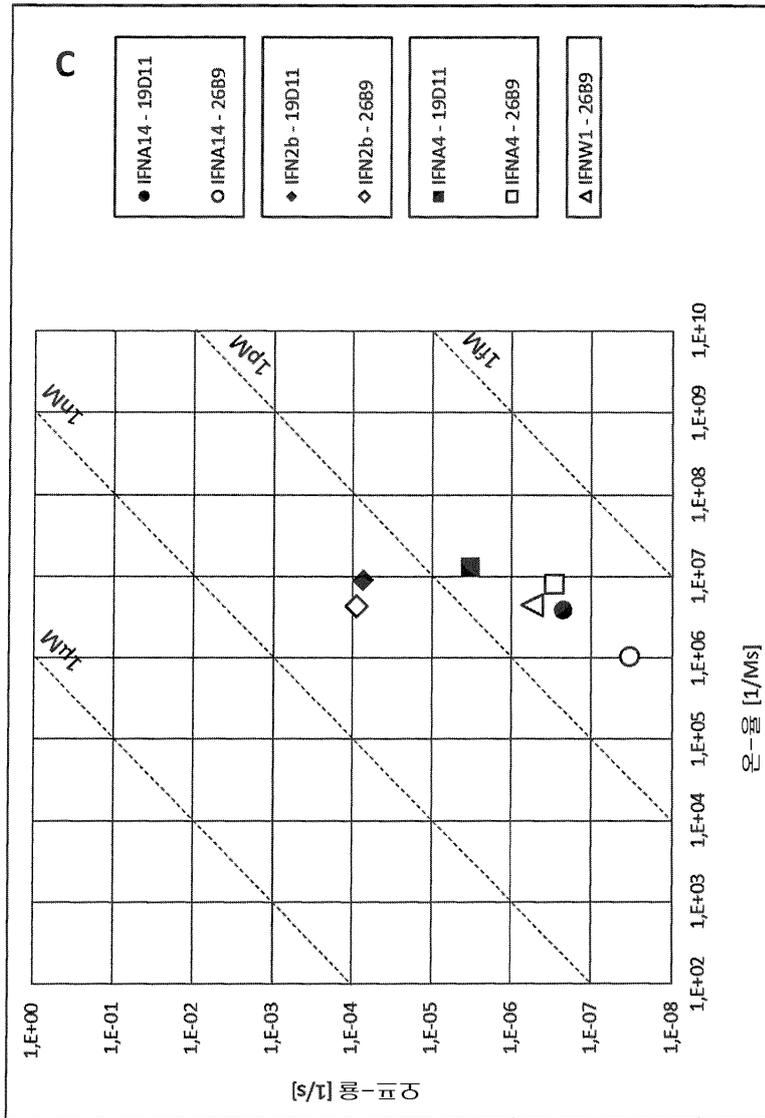
도면25



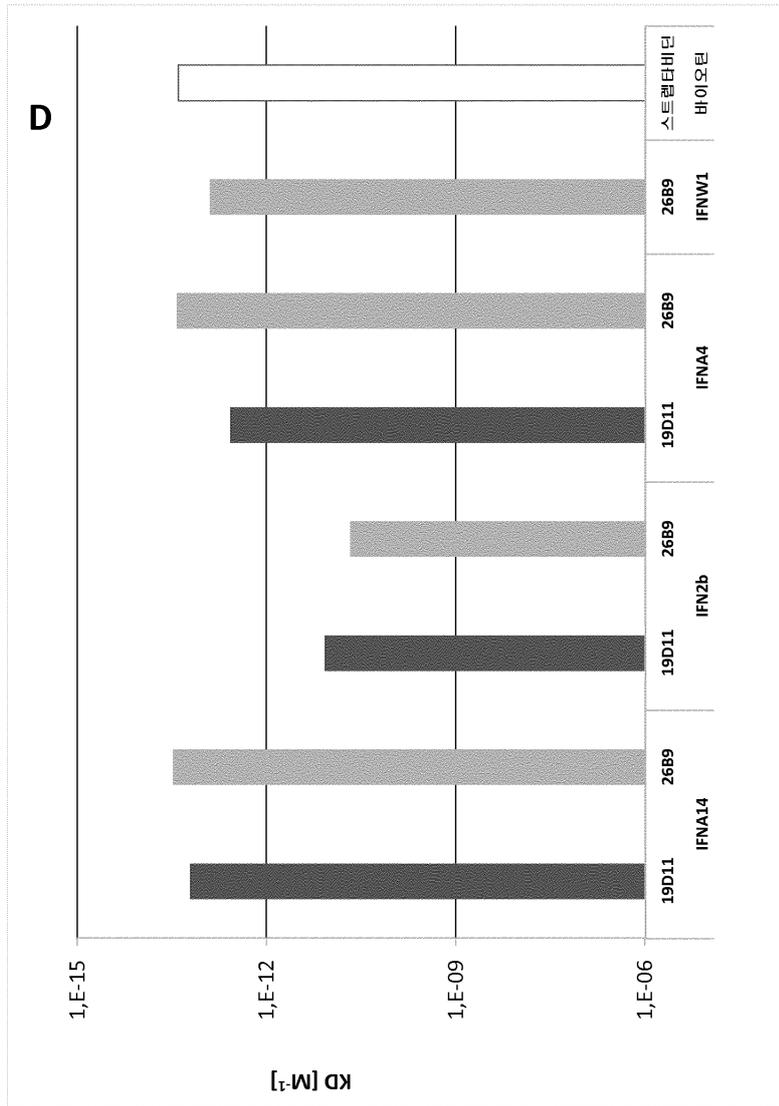
도면26a



도면26b

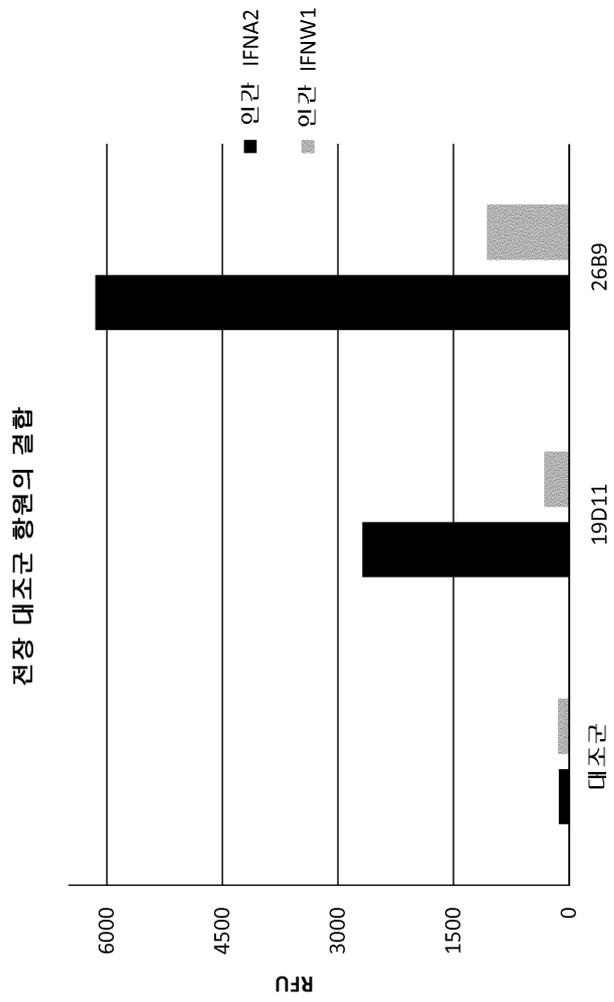


도면26c



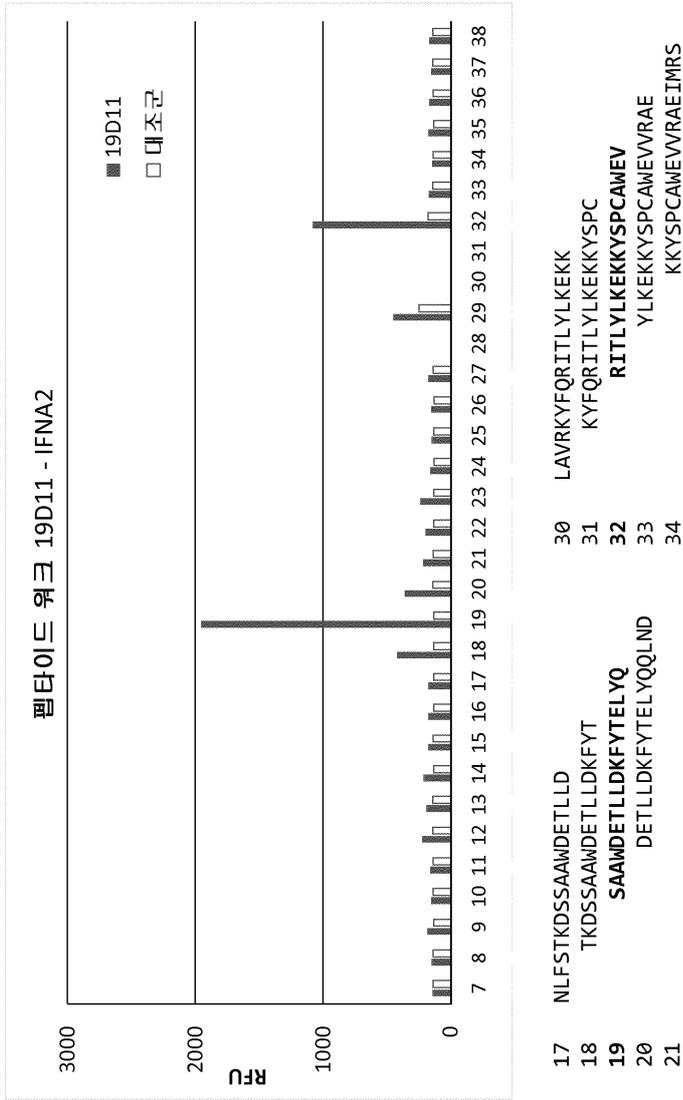
도면27a

A



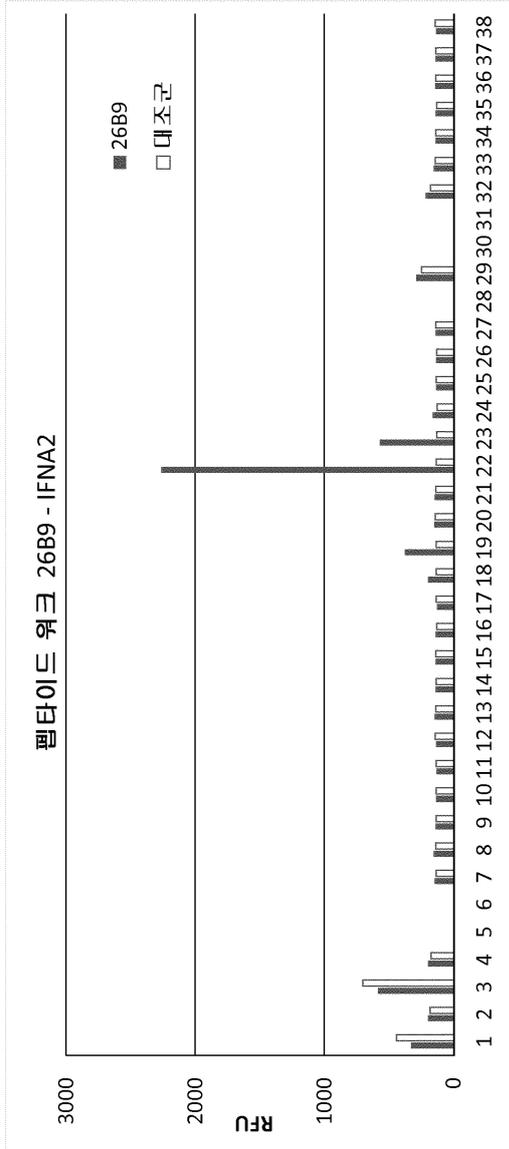
도면27b

B



도면27c

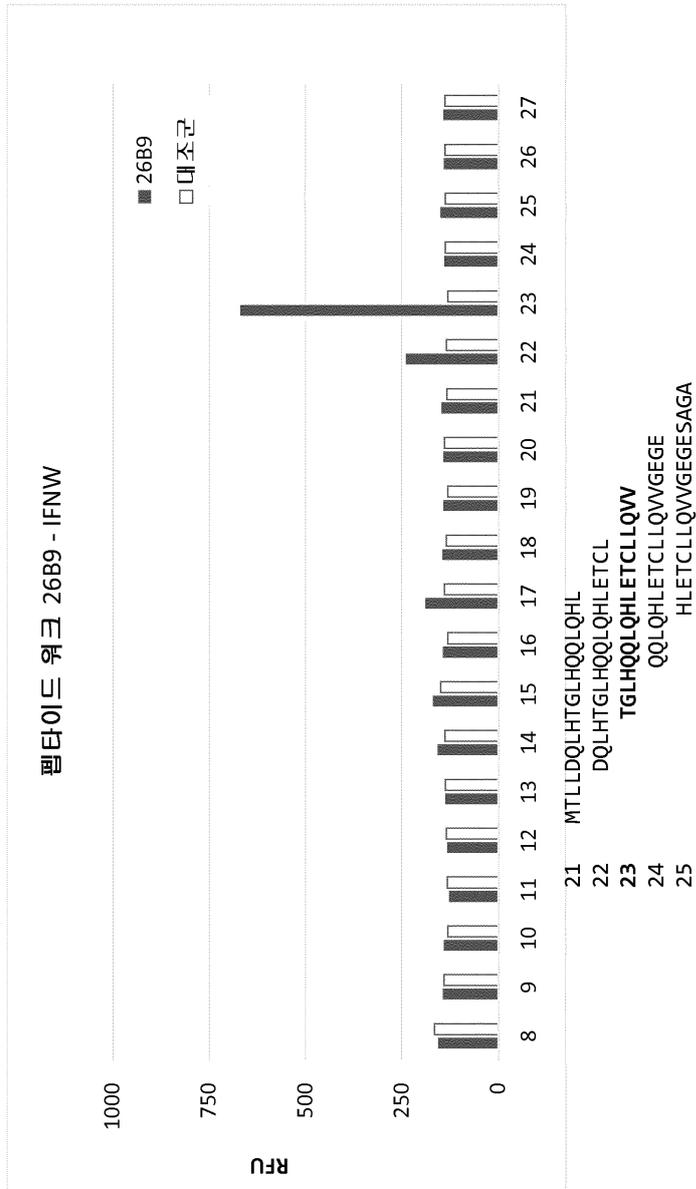
C



20 DETLLDKFYTELYQQQLND  
 21 LDKFYTELYQQQLNDLEAC  
 22 YTELYQQQLNDLEACVIQG  
 23 YQQQLNDLEACVIQGVGT  
 24 NDLEACVIQGVGTETPL

도면27d

D



도면28a

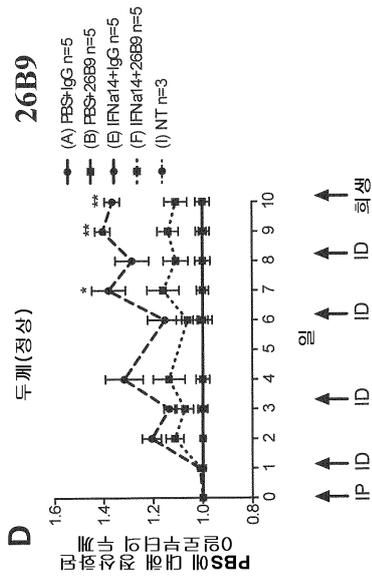
**A**

IP-1	ID-1	측정	ID-2	측정	x	측정	ID-3	측정	ID-4	회전
0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
↑	↑		↑			↑		↑		
IP	ID		ID			ID		ID		

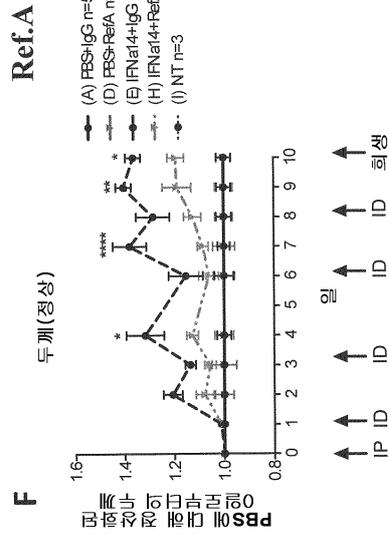
**B**

그룹	n	사이토카인	ng/20 $\mu$ l	Abs	[Abs] $\mu$ g
A	5	PBS	na	IgG	200
B	5	PBS	na	2689	200
C	5	PBS	na	Ref.2	200
D	5	PBS	na	SIFU	200
E	5	IFNA14	500	IgG	200
F	5	IFNA14	500	2689	200
G	5	IFNA14	500	Ref.2	200
H	5	IFNA14	500	SIFU	200
I	3	NT	x	x	200

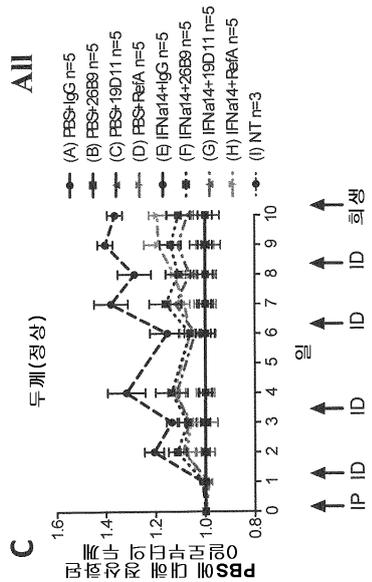
도면28b



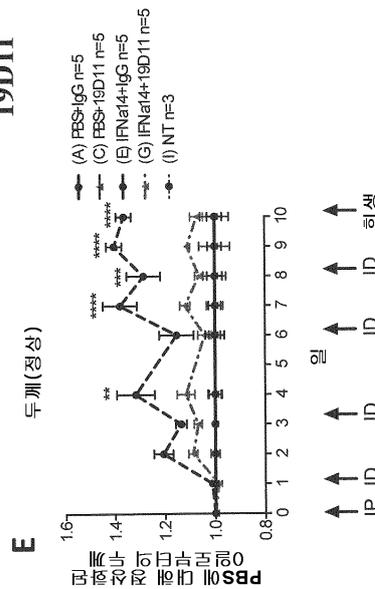
Ev F: D7\*, D9\*\*, D10\*\*



Ev H: D4\*, D7\*\*\*\*, D9\*\*, D10\*



19D11



Ev G: D4\*\*, D7\*\*\*\*, D8\*\*\*, D9\*\*\*\*, D10\*\*\*\*

도면29a

**A**

IP-1	ID-1	측정	ID-2	측정	x	측정	ID-3	측정	ID-4	회생
0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
↑	↑		↑			↑		↑		
IP	ID		ID			ID		ID		

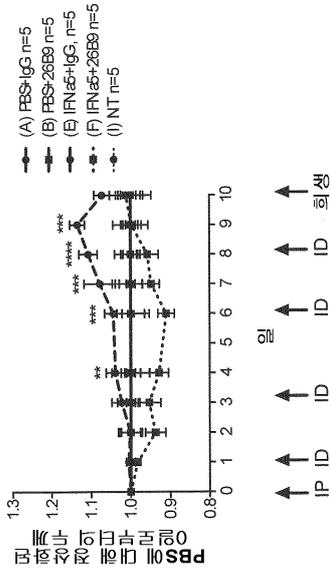
**B**

그룹	n	사이토카인	ng/20μl	Abs	[Abs] μg
A	5	PBS	na	IgG	200
B	5	PBS	na	26B9	200
C	5	PBS	na	Ref.2	200
D	5	PBS	na	SIFU	200
E	5	IFNA5	500	IgG	200
F	5	IFNA5	500	26B9	200
G	5	IFNA5	500	Ref.2	200
H	5	IFNA5	500	SIFU	200
I	5	NT	x	x	200

도면29b

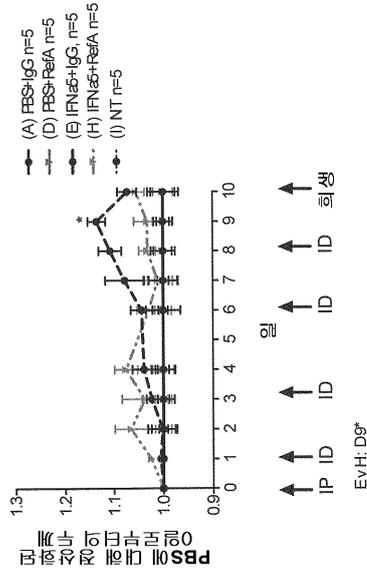
26B9

D 두께(정상)



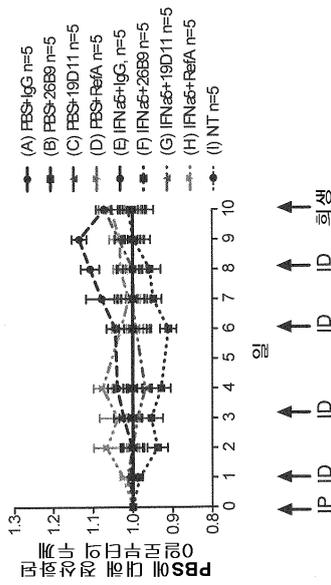
Ref.A

F 두께(정상)



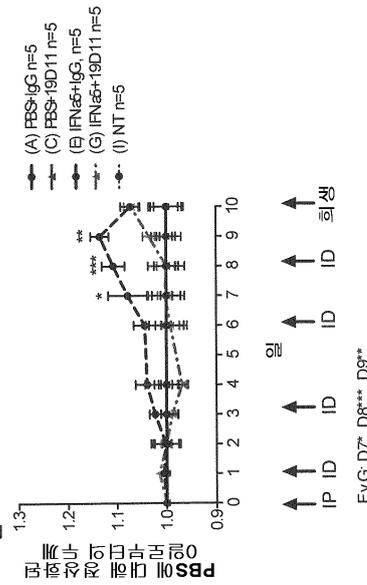
All

C 두께(정상)

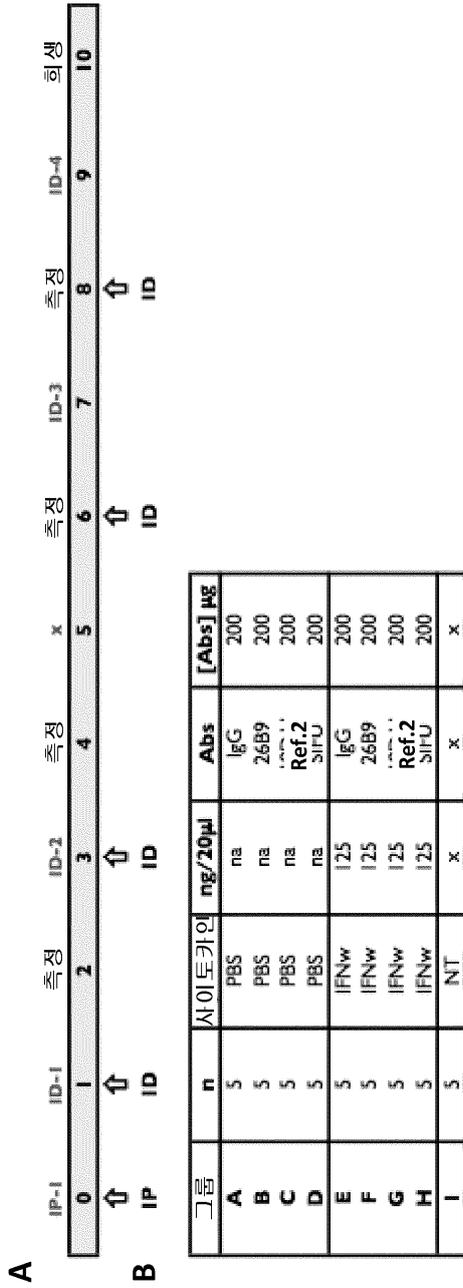


19D11

E 두께(정상)



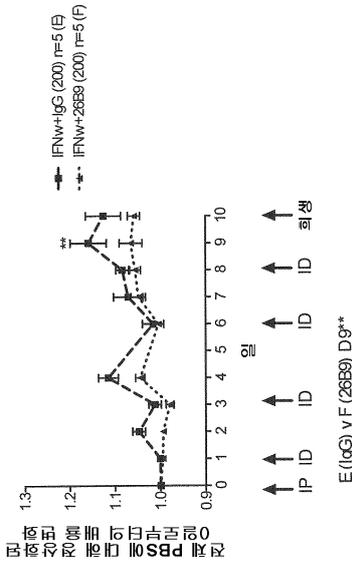
도면30a



도면30b

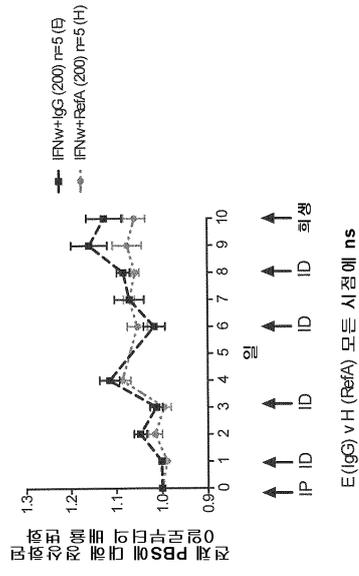
26B9

D PBS에 대해 정상화됨



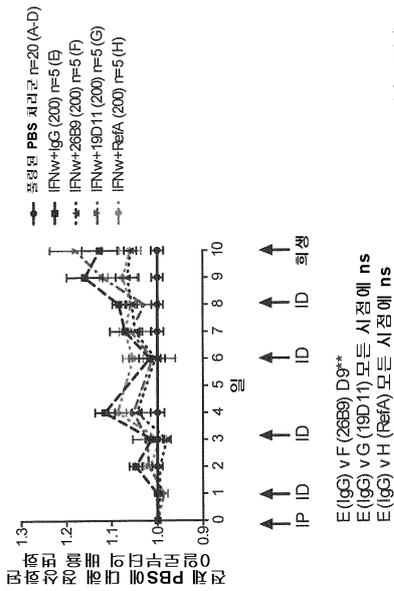
Ref.A

F PBS에 대해 정상화됨



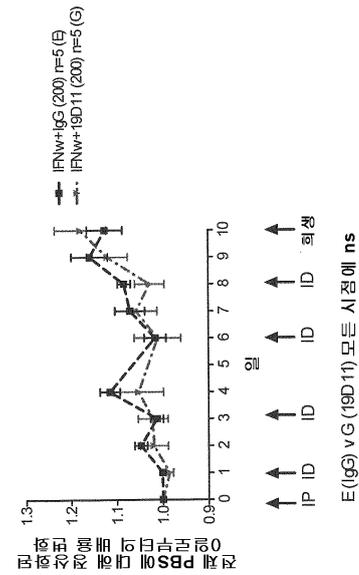
A11

C PBS에 대해 정상화됨

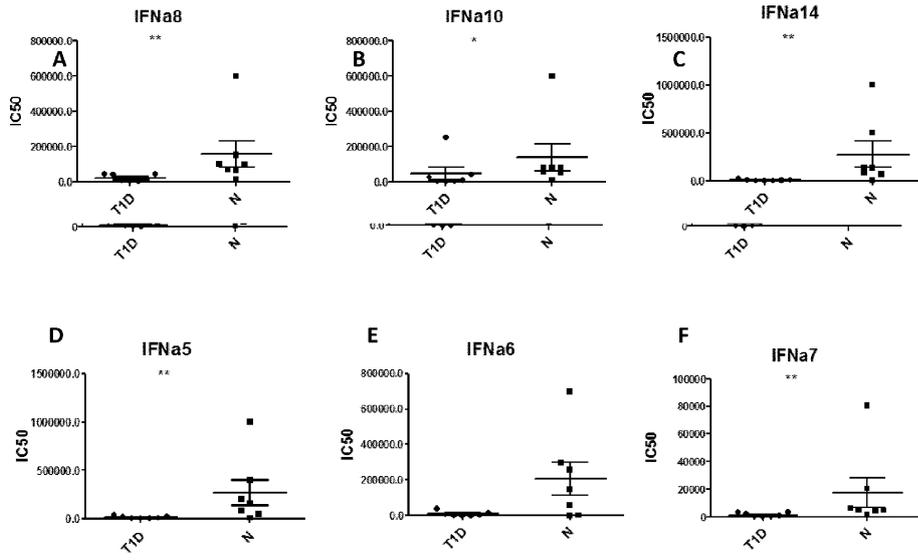


19D11

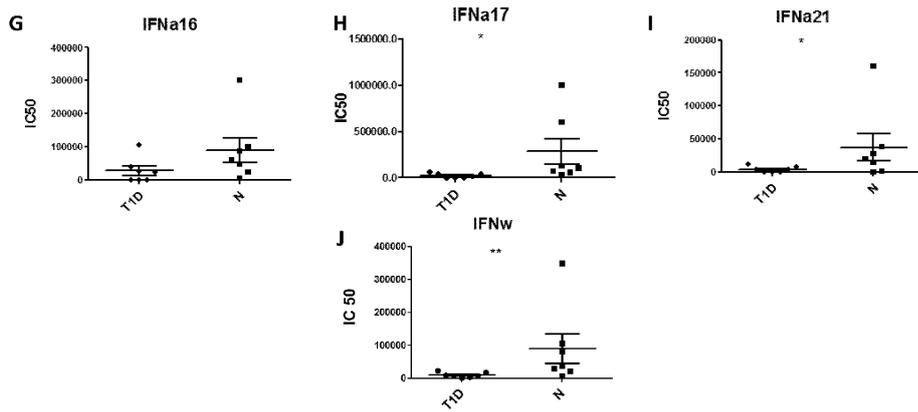
E PBS에 대해 정상화됨



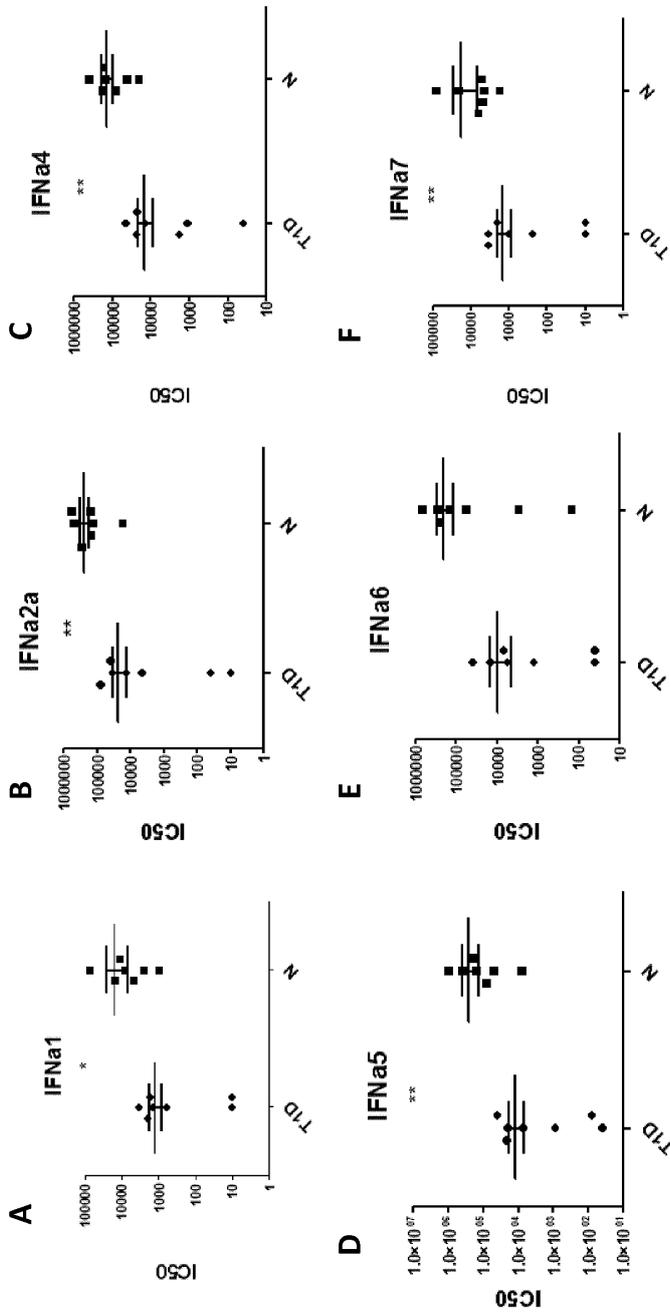
도면31a



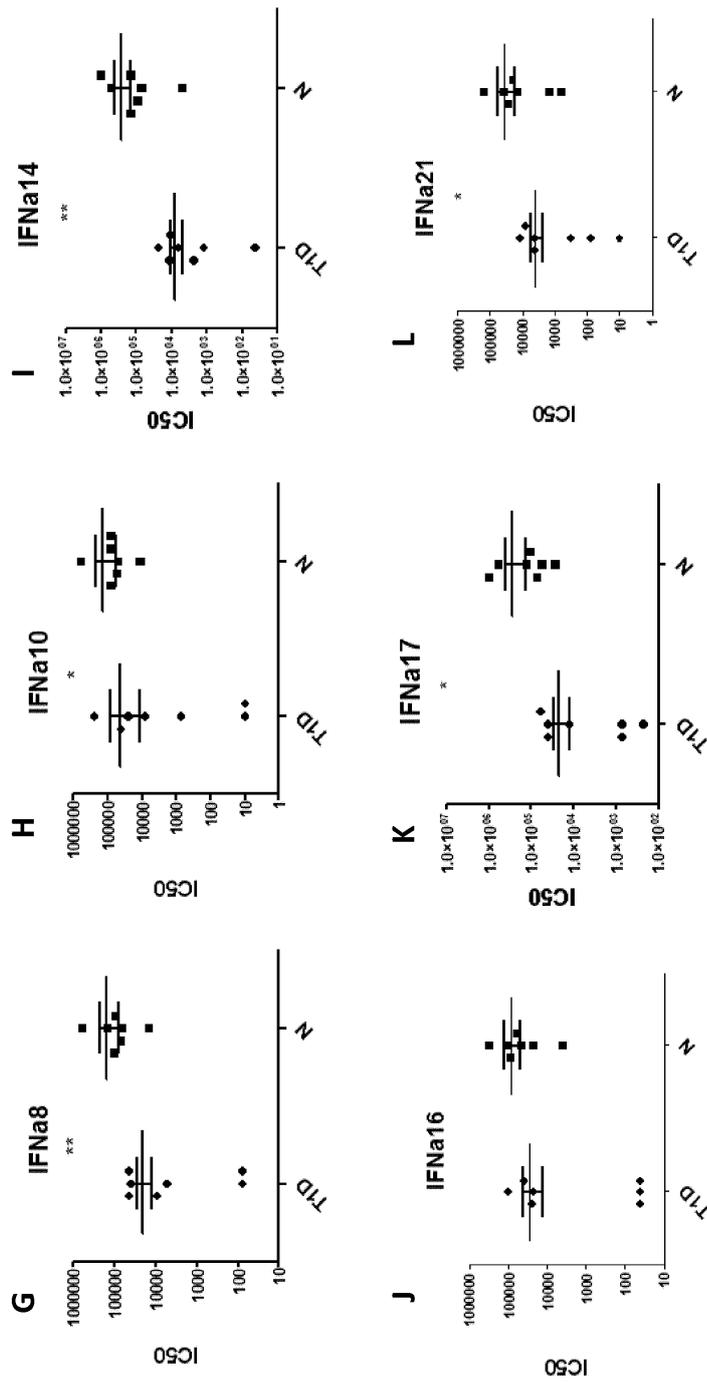
도면31b



도면32a



도면32b



서열목록

- <110> ImmunoQure AG
- <120> Human anti-IFN-alpha antibodies
- <130> 2015-FPA-7370
- <150> EP13174995.4
- <151> 2013-07-03
- <160> 101

<170> PatentIn version 3.5  
 <210> 1  
 <211> 366  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens  
 <220><221> CDS  
 <222> (1)..(366)  
 <223> 5D1-VH variable heavy chain (VH) sequence; 5D1: IgG1, kappa  
 <220><221> V\_region  
 <222> (91)..(105)  
 <223> complementarity determining region (CDR) VH-CDR1  
 <220><221> V\_region  
 <222> (148)..(198)  
  
 <223> complementarity determining region (CDR) VH-CDR2  
 <220><221> V\_region  
 <222> (295)..(333)  
 <223> complementarity determining region (CDR) VH-CDR3  
 <400> 1  
 gaa gtg caa ctg gtg cag gcc ggc gca gag gtg aaa gcg ccc ggg gag 48  
 Glu Val Gln Leu Val Gln Ala Gly Ala Glu Val Lys Ala Pro Gly Glu  
 1 5 10 15  
 tct ctg agg atc tcc tgt aag gtg tct gga tac acc ttt aca agt tat 96  
 Ser Leu Arg Ile Ser Cys Lys Val Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr  
 20 25 30  
 tgg atc agt tgg gtg cgc cag att ccc ggg aaa ggc ctg gag tgg atg 144  
 Trp Ile Ser Trp Val Arg Gln Ile Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met  
 35 40 45  
 gtg aaa att gat cct aga gac tct tat acc atc tac aac ccg tcc ttc 192  
 Val Lys Ile Asp Pro Arg Asp Ser Tyr Thr Ile Tyr Asn Pro Ser Phe  
 50 55 60  
 caa ggc cac gtc tcc atc tca gtt gac aag tcc atc acc act gtc tac 240  
 Gln Gly His Val Ser Ile Ser Val Asp Lys Ser Ile Thr Thr Val Tyr





35	40	45	
ggc gtg cac acc ttc ccg gct gtc cta cag tcc tca gga ctc tac tcc			192
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser			
50	55	60	
ctc agc agc gtg gtg acc gtg ccc tcc agc agc ttg ggc acc cag acc			240
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr			
65	70	75	80
tac atc tgc aac gtg aat cac aag ccc agc aac acc aag gtg gac aag			288
Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys			
85	90	95	
aaa gtt gag ccc aaa tct tgt gac aaa act cac aca tgc cca ccg tgc			336
Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys			
100	105	110	
cca gca cct gaa ctc ctg ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ecc cca			384
Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro			
115	120	125	
aaa ccc aag gac acc ctc atg atc tcc cgg acc cct gag gtc aca tgc			432
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys			
130	135	140	
gtg gtg gtg gac gtg agc cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg			480
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp			
145	150	155	160
tac gtg gac ggc gtg gag gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgg gag			528
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu			
165	170	175	
gag cag tac aac agc acg tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg			576
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu			
180	185	190	
cac cag gac tgg ctg aat ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac			624
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn			
195	200	205	

aaa gcc ctc cca gcc ccc atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg 672  
 Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly  
 210 215 220  
 cag ccc cga gaa cca cag gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgg gat gag 720  
  
 Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu  
 225 230 235 240  
 ctg acc aag aac cag gtc agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat 768  
 Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr  
 245 250 255  
 ccc agc gac atc gcc gtg gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac 816  
 Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn  
 260 265 270  
  
 aac tac aag acc acg cct ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc 864  
 Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe  
 275 280 285  
 ctc tac agc aag ctc acc gtg gac aag agc agg tgg cag cag ggg aac 912  
 Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn  
 290 295 300  
 gtc ttc tca tgc tcc gtg atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg 960  
  
 Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr  
 305 310 315 320  
 cag aag agc ctc tcc ctg tct ccg ggt aaa tga 993  
 Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 325 330  
  
 <210> 7  
 <211> 324  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens  
 <220><221> CDS  
 <222> (1)..(321)  
 <223> 5D1-CL constant kappa chain (CL) sequence

<220><221> misc\_feature  
 <222> (268)..(324)  
 <223> not sequenced but obtained from database  
 <400> 7  
 cga act gtg gct gca cca tct gtc ttc atc ttc ccg cca tct gat gag 48  
 Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu  
 1 5 10 15  
 cag ttg aaa tct gga act gcc tct gtt gtg tgc ctg ctg aat aac ttc 96  
 Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe  
 20 25 30  
 tat ccc aga gag gcc aaa gta cag tgg aag gtg gat aac gcc ctc caa 144  
 Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln  
 35 40 45  
 tcg ggt aac tcc cag gag agt gtc aca gag cag gac agc aag gac agc 192  
 Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser  
 50 55 60  
 acc tac agc ctc agc agc acc ctg acg ctg agc aaa gca gac tac gag 240  
 Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu  
 65 70 75 80  
 aaa cac aaa gtc tac gcc tgc gaa gtc acc cat cag ggc ctg agc tcg 288  
 Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser  
 85 90 95  
 ccc gtc aca aag agc ttc aac agg gga gag tgt tag 324  
 Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 100 105  
 <210> 9  
 <211> 369  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens  
 <220><221> CDS  
 <222> (1)..(369)  
 <223> 13B11-VH variable heavy chain (VH) sequence; 13B11: IgG1, kappa



tgg ggc cag gga acc ctt gtc tcc gtc tcc tca 369

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Ser Val Ser Ser

115 120

<210> 11

<211> 315

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><221> CDS

<222> (1)..(315)

<223> 13B11-VL variable light chain (VL) sequence, kappa type

<220><221> V\_region

<222> (70)..(102)

<223> complementarity determining region (CDR) VL-CDR1

<220><221> V\_region

<222> (148)..(168)

<223> complementarity determining region (CDR) VL-CDR2

<220><221> V\_region

<222> (265)..(285)

<223> complementarity determining region (CDR) VL-CDR3

<400> 11

gac atc cag atg acc cag ttt cca tcc acc ctg tct gca tct gtt gga 48

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

1 5 10 15

gac agc gtc acc atc act tgc cgg gcc agt cag agc att agt gcc tgg 96

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

20 25 30

ttg gcc tgg tat cag cag aaa cca ggg aaa gcc cct aaa ctc ctg atc 144

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

35 40 45

tat aag ggg tct aga tta gaa aac ggg gtc cca tcg agg ttc agc ggc 192

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

50 55 60

agt gga tct ggg aca gaa ttc act ctc acc atc ggc agc ctg cag cct 240  
  
 Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Gly Ser Leu Gln Pro  
 65 70 75 80  
 gat gat ttt gca act tat tac tgc caa caa tat aag act tgg acg ttc 288  
 Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Lys Thr Trp Thr Phe  
 85 90 95  
 ggc caa ggg acc aag gtg gaa atc aaa 315  
 Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
 100 105  
  
 <210> 13  
 <211> 993  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens  
 <220><221> CDS  
 <222> (1)..(990)  
 <223> 13B11-CH constant heavy chain (CH) sequence  
 <400> 13  
  
 gcc tcc acc aag ggc cca tcg gtc ttc ccc ctg gca ccc tcc tcc aag 48  
 Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys  
 1 5 10 15  
 agc acc tct ggg ggc aca gcg gcc ctg ggc tgc ctg gtc aag gac tac 96  
 Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr  
  
 20 25 30  
 ttc ccc gaa ccg gtg acg gtg tcg tgg aac tca ggc gcc ctg acc agc 144  
 Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser  
 35 40 45  
 ggc gtg cac acc ttc ccg gct gtc cta cag tcc tca gga ctc tac tcc 192  
 Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser  
 50 55 60  
 ctc agc agc gtg gtg acc gtg ccc tcc agc agc ttg ggc acc cag acc 240  
  
 Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr

65	70	75	80	
tac atc tgc aac gtg aat cac aag ccc agc aac acc aag gtg gac aag				288
Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys				
	85	90	95	
aaa gtt gag ccc aaa tct tgt gac aaa act cac aca tgc cca ccg tgc				336
Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys				
	100	105	110	
cca gca cct gaa ctc ctg ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca				384
Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro				
	115	120	125	
aaa ccc aag gac acc ctc atg atc tcc cgg acc cct gag gtc aca tgc				432
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys				
	130	135	140	
gtg gtg gtg gac gtg agc cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg				480
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp				
145	150	155	160	
tac gtg gac ggc gtg gag gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgg gag				528
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu				
	165	170	175	
gag cag tac aac agc acg tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg				576
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu				
	180	185	190	
cac cag gac tgg ctg aat ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac				624
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn				
	195	200	205	
aaa gcc ctc cca gcc ccc atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg				672
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly				
	210	215	220	
cag ccc cga gaa cca cag gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgg gat gag				720
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu				
225	230	235	240	

ctg acc aag aac cag gtc agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat 768  
 Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr  
 245 250 255

ccc agc gac atc gcc gtg gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac 816  
 Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn  
 260 265 270

aac tac aag acc acg cct ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc 864  
 Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe  
 275 280 285

ctc tac agc aag ctc acc gtg gac aag agc agg tgg cag cag ggg aac 912  
 Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn  
 290 295 300

gtc ttc tca tgc tcc gtg atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg 960

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

cag aag agc ctc tcc ctg tct ccg ggt aaa tga 993  
 Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 325 330

<210> 15  
 <211> 324  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens  
 <220><221> CDS  
 <222> (1)..(321)  
 <223> 13B11-CL constant kappa chain (CL) sequence

<400> 15

cga act gtg gct gca cca tct gtc ttc atc ttc ccg cca tct gat gag 48  
 Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu  
 1 5 10 15

cag ttg aaa tct gga act gcc tct gtt gtg tgc ctg ctg aat aac ttc 96  
 Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe  
 20 25 30

tat ccc aga gag gcc aaa gta cag tgg aag gtg gat aac gcc ctc caa 144

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

tcg ggt aac tcc cag gag agt gtc aca gag cag gac agc aag gac agc 192  
 Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser  
 50 55 60

acc tac agc ctc agc agc acc ctg acg ctg agc aaa gca gac tac gag 240  
 Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu  
 65 70 75 80

aaa cac aaa gtc tac gcc tgc gaa gtc acc cat cag ggc ctg agc tcg 288  
 Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser  
 85 90 95

ccc gtc aca aag agc ttc aac agg gga gag tgt tag 324  
 Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 100 105

<210> 17  
 <211> 378  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens  
 <220><221> CDS

<222> (1)..(378)  
 <223> 19D11-VH variable heavy chain (VH) sequence; 19D11: IgG1, kappa  
 <220><221> misc\_feature  
 <222> (1)..(18)  
 <223> not sequenced but obtained from database  
 <220><221> V\_region  
 <222> (91)..(105)  
 <223> complementarity determining region (CDR) VH-CDR1  
 <220><221> V\_region  
 <222> (148)..(198)  
 <223> complementarity determining region (CDR) VH-CDR2  
 <220><221> V\_region

<222> (295)..(345)

<223> complementarity determining region (CDR) VH-CDR3

<220><221> misc\_feature

<222> (361)..(378)

<223> not sequenced but obtained from database

<400> 17

gag gtg cag ctg ttg gag tct ggg gct gag gtg aag agg cct ggg tcg 48

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

1 5 10 15

tcg gtg agg gtc tcc tgc agg gct tct gga gac acc ttc agc agt tac 96

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

20 25 30

cct atc agt tgg gtg cga cag gcc cct gga caa ggc ctt gag tgg atg 144

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

35 40 45

gga agg atc ctc cct gcc ctt ggt gtc aca aac tac gct cag aac ttc 192

Gly Arg Ile Leu Pro Ala Leu Gly Val Thr Asn Tyr Ala Gln Asn Phe

50 55 60

cgg ggc aga atc acg att acc gcg gac aag tcg ccc ctc aca gcc tac 240

Arg Gly Arg Ile Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Pro Leu Thr Ala Tyr

65 70 75 80

ttg gaa ctg agt agc ctc aga ttt gag gac acg gcc gtg tat tac tgt 288

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

85 90 95

gcg agt ccc agt gcg gac ata att cct tcg att ttg ggg acg acc ctc 336

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

100 105 110

ttt gcc ttc tgg ggc cag gga agc ctg gtc acc gtc tcc tca 378

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

115 120 125

<210> 19

<211> 330  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens  
 <220><221> CDS  
 <222> (1)..(330)  
 <223> 19D11-VL variable light chain (VL) sequence, kappa type  
 <220><221> misc\_feature  
 <222> (1)..(18)  
 <223> not sequenced but obtained from database  
 <220><221> V\_region  
  
 <222> (70)..(105)  
 <223> complementarity determining region (CDR) VL-CDR1  
 <220><221> V\_region  
 <222> (151)..(171)  
 <223> complementarity determining region (CDR) VL-CDR2  
 <220><221> V\_region  
 <222> (268)..(300)  
 <223> complementarity determining region (CDR) VL-CDR3  
 <220><221> misc\_feature  
 <222> (312)..(330)  
 <223> not sequenced but obtained from database  
 <400> 19  
 gaa att gtg ttg acg cag tct cca ggc acc ctg tct ctg tct ccg ggg 48  
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
  
 1 5 10 15  
 gaa ggg gcc acc ctc tcc tgc agg gcc agt cag aat gtt agc aga cac 96  
 Glu Gly Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asn Val Ser Arg His  
 20 25 30  
 tac tta acc tgg tac cag cag aaa cct ggc cag tct ccc cgg ctc ctc 144  
 Tyr Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Arg Leu Leu  
 35 40 45  
 atc tat ggt ggc tcc agc agg gcc act ggc gtc cca gac agg ttc agt 192

Ile Tyr Gly Gly Ser Ser Arg Ala Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser  
 50 55 60  
 ggc ggt ggg tct ggg aca gac ttc act ctc acc atc agc agg ctg gag 240  
 Gly Gly Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu  
 65 70 75 80  
 cct gaa gac ttt gca gtg ttt tac tgc cag agc tat cat agc cca cct 288  
 Pro Glu Asp Phe Ala Val Phe Tyr Cys Gln Ser Tyr His Ser Pro Pro  
 85 90 95  
  
 cct gtg tac act ttc ggc cag ggg acc aag gtg gag atc aaa 330  
 Pro Val Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
 100 105 110  
 <210> 21  
 <211> 366  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens  
 <220><221> CDS  
 <222> (1)..(366)  
 <223> 25C3-VH variable heavy chain (VH) sequence; 25C3: IgG1, kappa  
 <220><221> V\_region  
 <222> (91)..(105)  
 <223> complementarity determining region (CDR) VH-CDR1  
 <220>  
 <221> V\_region  
 <222> (148)..(198)  
 <223> complementarity determining region (CDR) VH-CDR2  
 <220><221> V\_region  
 <222> (295)..(333)  
 <223> complementarity determining region (CDR) VH-CDR3  
 <400> 21  
 gag atg cag ctg atg gag tct ggg gga ggt ttg gta caa ccg ggg ggg 48  
 Glu Met Gln Leu Met Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 1 5 10 15  
 tcc ctg aga ctc tcc tgt gta gcc tct ggt ttc acc ttt aaa agt ttt 96

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Thr Phe Lys Ser Phe  
 20 25 30  
 gcg atg agt tgg gtc cgc cag gct cca ggg aag ggg ctg gag tgg gtc 144  
 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45  
 gct agt gtc ggc tct cag ggt ggc agc aaa tac tat gca ccc tcc gtg 192  
 Ala Ser Val Gly Ser Gln Gly Gly Ser Lys Tyr Tyr Ala Pro Ser Val  
 50 55 60  
 aag ggc cgg ttc tcc atc tcc aga gac aat tcc aac aac act ctc tat 240  
 Lys Gly Arg Phe Ser Ile Ser Arg Asp Asn Ser Asn Asn Thr Leu Tyr  
 65 70 75 80  
 gtg caa atg aac agc ctg gga gtc gag gac acg gcc ttt tat tat tgt 288  
 Val Gln Met Asn Ser Leu Gly Val Glu Asp Thr Ala Phe Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 gtt aaa gag acc gat gca gtg gcg acg atg gac gct ctt gac atg tgg 336  
 Val Lys Glu Thr Asp Ala Val Ala Thr Met Asp Ala Leu Asp Met Trp  
 100 105 110  
 ggc caa ggg acc ctg gtc atc gtc tct acc 366  
 Gly Gln Gly Thr Leu Val Ile Val Ser Thr  
 115 120  
 <210> 23  
 <211> 321  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens  
 <220><221> CDS  
 <222> (1)..(321)  
 <223> 25C3-VL variable light chain (VL) sequence, kappa type  
 <220><221> V\_region  
 <222> (70)..(102)  
 <223> complementarity determining region (CDR) VL-CDR1  
 <220><221> V\_region  
 <222> (148)..(168)

<223> complementarity determining region (CDR) VL-CDR2  
 <220><221> V\_region  
 <222> (265)..(291)  
 <223> complementarity determining region (CDR) VL-CDR3  
 <400> 23

gac atc cgg gtg acc cag tct cca tcc tcc ctg tct gca tct gtc gga 48  
 Asp Ile Arg Val Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly  
 1 5 10 15

gac agg gtc tcc atc tct tgc cag aca agt cag agt gtt aac ata tat 96  
 Asp Arg Val Ser Ile Ser Cys Gln Thr Ser Gln Ser Val Asn Ile Tyr  
 20 25 30

cta aat tgg tat caa cag aga cca ggg aaa ggc cct cag ctc ctg atc 144  
 Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Lys Gly Pro Gln Leu Leu Ile  
 35 40 45

tct gct gct tcc act ttg cag agt ggg gtc cca tca agg ttc agt ggc 192

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

agt gga tct ggg aca gac ttc atc ctc acc atc atc agt cta caa cct 240  
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Ile Leu Thr Ile Ile Ser Leu Gln Pro  
 65 70 75 80

gaa gat tct gca tcc tac tac tgt caa cag ggt tac att acc ccg tac 288  
 Glu Asp Ser Ala Ser Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Tyr Ile Thr Pro Tyr  
 85 90 95

act ttt ggc cag ggg acc aag gtg gag atc aaa 321  
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
 100 105

<210> 25  
 <211> 993  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens  
 <220><221> CDS  
 <222> (1)..(990)

<223> 25C3-constant heavy chain (CH) sequence  
 <400> 25  
 gcc tcc acc aag ggc cca tcg gtc ttc ccc ctg gca ccc tcc tcc aag 48  
 Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys  
 1 5 10 15  
 agc acc tet ggg ggc aca gcg gcc ctg ggc tgc ctg gtc aag gac tac 96  
 Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr  
 20 25 30  
 ttc ccc gaa ccg gtg acg gtg tcg tgg aac tca ggc gcc ctg acc agc 144  
 Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser  
 35 40 45  
 ggc gtg cac acc ttc ccg gct gtc cta cag tcc tca gga ctc tac tcc 192  
 Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser  
 50 55 60  
 ctc agc agc gtg gtg acc gtg ccc tcc agc agc ttg ggc acc cag acc 240  
 Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr  
 65 70 75 80  
 tac atc tgc aac gtg aat cac aag ccc agc aac acc aag gtg gac aag 288  
 Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys  
 85 90 95  
 aga gtt gag ccc aaa tct tgt gac aaa act cac aca tgc cca ccg tgc 336  
 Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys  
 100 105 110  
 cca gca cct gaa ctc ctg ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca 384  
 Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro  
 115 120 125  
 aaa ccc aag gac acc ctc atg atc tcc cgg acc cct gag gtc aca tgc 432  
 Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys  
 130 135 140  
 gtg gtg gtg gac gtg agc cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg 480  
 Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp

145	150	155	160	
tac gtg gac ggc gtg gag gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgg gag				528
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu				
	165	170	175	
gag cag tac aac agc acg tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg				576
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu				
	180	185	190	
cac cag gac tgg ctg aat ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac				624
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn				
	195	200	205	
aaa gcc ctc cca gcc ccc atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg				672
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly				
	210	215	220	
cag ccc cga gaa cca cag gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgg gag gag				720
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu				
	225	230	235	240
atg acc aag aac cag gtc agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat				768
Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr				
	245	250	255	
ccc agc gac atc gcc gtg gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac				816
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn				
	260	265	270	
aac tac aag acc acg cct ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc				864
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe				
	275	280	285	
ctc tat agc aag ctc acc gtg gac aag agc agg tgg cag cag ggg aac				912
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn				
	290	295	300	
gtc ttc tca tgc tcc gtg atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg				960
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr				
	305	310	315	320

cag aag agc ctc tcc ctg tcc ccg ggt aaa tga 993  
 Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
                   325                  330

<210> 27  
 <211> 324  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens  
 <220><221> CDS  
 <222> (1)..(321)  
 <223> 25C3-constant kappa chain (CL) sequence  
 <220><221> misc\_feature  
 <222> (268)..(324)  
 <223> not sequenced but obtained from database  
 <400> 27

cga act gtg gct gca cca tct gtc ttc atc ttc ccg cca tct gat gag 48  
 Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu  
   1                  5                  10                  15

cag ttg aaa tct gga act gcc tct gtt gtg tgc ctg ctg aat aac ctc 96

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

tat ccc aga gag gcc aaa gta cag tgg aag gtg gat aac gcc ctc caa 144  
 Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln  
                   35                  40                  45

tcg ggt aac tcc cag gag agt gtc aca gag cag gac agc aag gac agc 192  
 Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser  
                   50                  55                  60

acc tac agc ctc agc agc acc ctg acg ctg agc aaa gca gac tac gag 240  
 Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu  
   65                  70                  75                  80

aaa cac aaa gtc tac gcc tgc gaa gtc acc cat cag ggc ctg agc tcg 288  
 Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser  
                   85                  90                  95

ccc gtc aca aag agc ttc aac agg gga gag tgt tag 324

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

100 105

<210> 29  
 <211> 372  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens  
 <220><221> CDS  
 <222> (1)..(372)  
 <223> 26B9-VH variable heavy chain (VH) sequence; 26B9: IgG1, kappa  
 <220><221> V\_region  
 <222> (91)..(111)  
 <223> complementarity determining region (CDR) VH-CDR1  
 <220><221> V\_region  
 <222> (154)..(201)  
 <223> complementarity determining region (CDR) VH-CDR2

<220><221> V\_region  
 <222> (298)..(339)  
 <223> complementarity determining region (CDR) VH-CDR3  
 <400> 29

cag ata cta ctg cag gag tcg ggc cca gga ctg gtg aag ccc acg gag 48

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

1 5 10 15

acc ctg tcc ctc acc tgt agt gtc tct ggt gac tcc atc agt gat agt 96

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

20 25 30

agt cac tac tgg gcc tgg att cgc cag ccc cca ggg aag gga cca gag 144

Ser His Tyr Trp Ala Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Pro Glu

35 40 45

tgg att ggc agt gtc tat ttt agt tcg atg acc cac tac aac ccg tcc 192

Trp Ile Gly Ser Val Tyr Phe Ser Ser Met Thr His Tyr Asn Pro Ser

50 55 60

ctc aaa agt cgc gtc agc atc tcc gtt gac aag ccc aag aac cag ttc 240

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

tcc tta aaa gtg acc tct gtg act gtc gcc gac acg gcc aca tat tac 288

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

tgt gcg aga caa gcc ctt gcc cga gtc gga gcc atg aat tgg ttc gac 336

Cys Ala Arg Gln Ala Leu Ala Arg Val Gly Ala Met Asn Trp Phe Asp  
 100 105 110

ccc tgg ggc cag gga tct ctg gtc aca gtc tcc tca 372

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

<210> 31  
 <211> 339  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens  
 <220><221> CDS  
 <222> (1)..(339)  
 <223> 26B9-VL variable light chain (VL) sequence, kappa type  
 <220><221> V\_region  
 <222> (70)..(120)  
 <223> complementarity determining region (CDR) VL-CDR1  
 <220><221> V\_region  
 <222> (166)..(186)  
 <223> complementarity determining region (CDR) VL-CDR2  
 <220><221> V\_region  
 <222> (283)..(309)  
 <223> complementarity determining region (CDR) VL-CDR3  
 <400> 31

gac atc ata atg acc cag tct cca gac tcc ctg cct gtg tct ctg ggc 48

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

gag ggg gtc acc atc aac tgc aag tcc agc cag agc gtc ttt ttc acc 96  
 Glu Gly Val Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Phe Phe Thr

20 25 30

tcc agt aat aag agt tgt tta gct tgg tat cag cag aag cca gga aag 144  
 Ser Ser Asn Lys Ser Cys Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys

35 40 45

tct ccc aaa ttg ctc att tac tgg gca tca acc cgc caa tcc ggg gtc 192  
 Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Gln Ser Gly Val

50 55 60

cct gac cga ttc aga ggc agc ggg tct ggg aca gat ttc tct ctc acc 240

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

65 70 75 80

atc acc agt ctg cag gct gaa gat gtg gct gtt tat ttc tgt cag cag 288  
 Ile Thr Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Phe Cys Gln Gln

85 90 95

tgt cag aca tcc cct ccc act ttc ggc gga ggg acc agg ttg gag atc 336  
 Cys Gln Thr Ser Pro Pro Thr Phe Gly Gly Gly Thr Arg Leu Glu Ile

100 105 110

aaa 339

Lys

<210> 33

<211> 993

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><221> CDS

<222> (1)..(990)

<223> 26B9-CH constant heavy chain (CH) sequence

<400> 33

gcc tcc acc aag ggc cca tcg gtc ttc ccc ctg gca ccc tcc tcc aag 48  
 Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys

1 5 10 15

agc acc tct ggg ggc aca gcg gcc ctg ggc tgc ctg gtc aag gac tac 96  
 Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr  
                   20                                  25                                  30  
 ttc ccc gaa ccg gtg acg gtg tcg tgg aac tca ggc gcc ctg acc agc 144  
 Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser  
                   35                                  40                                  45  
 ggc gtg cac acc ttc ccg gct gtc cta cag tcc tca gga ctc tac tcc 192  
  
 Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser  
                   50                                  55                                  60  
 ctc agc agc gtg gtg acc gtg ccc tcc agc agc ttg ggc acc cag acc 240  
 Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr  
                   65                                  70                                  75                                  80  
 tac atc tgc aac gtg aat cac aag ccc agc aac acc aag gtg gac aag 288  
 Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys  
                                   85                                  90                                  95  
  
 aga gtt gag ccc aaa tct tgt gac aaa act cac aca tgc cca ccg tgc 336  
 Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys  
                   100                                  105                                  110  
 cca gca cct gaa ctc ctg ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca 384  
 Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro  
                   115                                  120                                  125  
 aaa ccc aag gac acc ctc atg atc tcc cgg acc cct gag gtc aca tgc 432  
  
 Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys  
                   130                                  135                                  140  
 gtg gtg gtg gac gtg agc cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg 480  
 Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp  
                   145                                  150                                  155                                  160  
 tac gtg gac ggc gtg gag gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgg gag 528  
 Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu  
                                   165                                  170                                  175  
  
 gag cag tac aac agc acg tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg 576

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu  
 180 185 190  
 cac cag gac tgg ctg aat ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac 624  
 His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn  
 195 200 205  
 aaa gcc ctc cca gcc ccc atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg 672

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly  
 210 215 220  
 cag ccc cga gaa cca cag gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgg gag gag 720  
 Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu  
 225 230 235 240  
 atg acc aag aac cag gtc agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat 768  
 Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr  
 245 250 255

ccc agc gac atc gcc gtg gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac 816  
 Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn  
 260 265 270  
 aac tac aag acc acg cct ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc 864  
 Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe  
 275 280 285  
 ctc tat agc aag ctc acc gtg gac aag agc agg tgg cag cag ggg aac 912

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn  
 290 295 300  
 gtc ttc tca tgc tcc gtg atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg 960  
 Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr  
 305 310 315 320  
 cag aag agc ctc tcc ctg tcc ccg ggt aaa tga 993  
 Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 325 330

<210> 35  
 <211> 324

<212> DNA  
 <213> Homo sapiens  
 <220><221> CDS  
 <222> (1)..(321)  
 <223> 26B9-CL constant kappa chain (CL) sequence  
 <400> 35

cga act gtg gct gca cca tct gtc ttc atc ttc ccg cca tct gat gag 48  
 Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu  
 1 5 10 15  
 cag ttg aaa tct gga act gcc tct gtt gtg tgc ctg ctg aat aac ttc 96  
 Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe  
 20 25 30  
 tat ccc aga gag gcc aaa gta cag tgg aag gtg gat aac gcc ctc caa 144  
 Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln  
 35 40 45  
 tcg ggt aac tcc cag gag agt gtc aca gag cag gac agc aag gac agc 192  
 Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser  
 50 55 60  
 acc tac agc ctc agc agc acc ctg acg ctg agc aaa gca gac tac gag 240  
 Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu  
 65 70 75 80  
 aaa cac aaa gtc tac gcc tgc gaa gtc acc cat cag ggc ctg agc tcg 288  
 Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser  
 85 90 95  
 ccc gtc aca aag agc ttc aac agg gga gag tgt tag 324  
 Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 100 105

<210> 37  
 <211> 372  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens  
 <220><221> CDS

<222> (1)..(372)  
 <223> 31B4-VH variable heavy chain (VH) sequence; 31B4: IgG1, kappa  
 <220><221> V\_region  
 <222> (91)..(111)  
 <223> complementarity determining region (CDR) VH-CDR1  
 <220><221> V\_region  
 <222> (154)..(201)  
 <223> complementarity determining region (CDR) VH-CDR2  
 <220><221> V\_region  
 <222> (298)..(339)  
 <223> complementarity determining region (CDR) VH-CDR3  
 <400  
 > 37  
 cag ata cag ctg cag gag tcg ggc cca gga ctg gtg agg ccc acg gag 48  
 Gln Ile Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Arg Pro Thr Glu  
 1 5 10 15  
 acc ctg tcc ctc act tgt agt gtc tct ggt gac tcc atc agt cag agt 96  
 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Val Ser Gly Asp Ser Ile Ser Gln Ser  
 20 25 30  
 agt cat tac tgg gcc tgg att cgc cag ccc cca ggg aag gga cca gaa 144  
  
 Ser His Tyr Trp Ala Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Pro Glu  
 35 40 45  
 tgg att ggc agt gtc tat ttt agc tcg atg acc cac tac aac ccg tcc 192  
 Trp Ile Gly Ser Val Tyr Phe Ser Ser Met Thr His Tyr Asn Pro Ser  
 50 55 60  
 ctc aca agt cgc gtc agc atc tcc att gac aag gcc atg aat aag ttc 240  
 Leu Thr Ser Arg Val Ser Ile Ser Ile Asp Lys Ala Met Asn Lys Phe  
 65 70 75 80  
  
 tcc tta aaa gtg acc tct gtg act gtc gcc gac acg gcc aca tat tac 288  
 Ser Leu Lys Val Thr Ser Val Thr Val Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr  
 85 90 95  
 tgt gcg aga cag gcc ctt gcc cga gtc gga gcc atg aat tgg ttc gac 336  
 Cys Ala Arg Gln Ala Leu Ala Arg Val Gly Ala Met Asn Trp Phe Asp

100 105 110  
ccc tgg ggc cag gga tct ctg gtc aca gtc tcc tca 372

Pro Trp Gly Gln Gly Ser Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120  
<210> 39  
<211> 339  
<212> DNA  
<213> Homo sapiens  
<220><221> CDS  
<222> (1)..(339)  
<223> 31B4-VL variable light chain (VL) sequence, kappa type  
<220><221> V\_region  
<222> (70)..(120)  
<223> complementarity determining region (CDR) VL-CDR1  
<220><221> V\_region  
<222> (166)..(186)  
<223> complementarity determining region (CDR) VL-CDR2

<220><221> V\_region  
<222> (283)..(309)  
<223> complementarity determining region (CDR) VL-CDR3  
<400> 39

gac atc ata atg acc cag tct cca gag tcc ctg cct gtg tct ctg ggc 48

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

1 5 10 15

gag ggg gtc acc atc aac tgc aag tcc agc cag agc gtc ttt ttc acc 96

Glu Gly Val Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Phe Phe Thr

20 25 30

tcc agt aat agg agt tgt tta gct tgg tat cag cag aag cca gga cag 144

Ser Ser Asn Arg Ser Cys Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln

35 40 45

tct ccc aaa ttg ctc att tac tgg gca tca acc cgc caa tcc ggg gtc 192

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



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

```

cag ccc cga gaa cca cag gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgg gag gag      720
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225          230          235          240
atg acc aag aac cag gtc agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat      768
Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
          245          250          255

ccc agc gac atc gcc gtg gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac      816
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
          260          265          270
aac tac aag acc acg cct ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc      864
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
          275          280          285
ctc tat agc aag ctc acc gtg gac aag agc agg tgg cag cag ggg aac      912

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
          290          295          300
gtc ttc tca tgc tcc gtg atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg      960
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305          310          315          320
cag aag agc ctc tcc ctg tcc ccg ggt aaa   tga      993
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
          325          330

```

```

<210> 43
<211> 324
<212> DNA
<213> Homo sapiens
<220><221> CDS
<222> (1)..(321)
<223> 31B4-CL constant kappa chain (CL) sequence
<220><221> misc_feature
<222> (268)..(324)
<223> not sequenced but obtained from database
<400> 43

```

cga act gtg gct gca cca tct gtc ttc atc ttc ccg cca tct gat gag 48  
 Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu  
           1                  5                  10                  15  
 cag ttg aaa tct gga act gcc tct gtt gtg tgc ctg ctg aat aac ttc 96  
  
 Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe  
                   20                  25                  30  
 tat ccc aga gag gcc aaa gta cag tgg aag gtg gat aac gcc ctc caa 144  
 Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln  
                   35                  40                  45  
 tcg ggt aac tcc cag gag agt gtc aca gag cag gac agc aag gac agc 192  
 Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser  
                   50                  55                  60  
  
 acc tac agc ctc agc agc acc ctg acg ctg agc aaa gca gac tac gag 240  
 Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu  
           65                  70                  75                  80  
 aaa cac aaa gtc tac gcc tgc gaa gtc acc cat cag ggc ctg agc tcg 288  
 Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser  
                   85                  90                  95  
 ccc gtc aca aag agc ttc aac agg gga gag tgt tag 324

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

<210> 45  
 <211> 40  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> Forward oligonucleotide/primer IFNA1F for amplification of a  
                   fragment encoding aa 24-189 of IFNA1

<400> 45  
 ttggatcct atgtgatctc cctgagacc acagcctgga 40

<210> 46  
 <211> 44  
 <212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223

> Reverse oligonucleotide/primer IFNA1R for amplification of a  
fragment encoding aa 24-189 of IFNA1

<400> 46

tttgcggccg cgaccagatg ttattccttc ctccttaac tttc 44

<210> 47

<211> 34

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Forward oligonucleotide/primer IFNA2F for amplification of a  
fragment encoding aa 24-188 of IFNA2

<400> 47

tttgggatcc tctgtgatct gcctcaaacc caca 34

<210> 48

<211> 33

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Reverse oligonucleotide/primer IFNA2R for amplification of a  
fragment encoding aa 24-188 of IFNA2

<400> 48

tttgcggccg cttacttctt aaactttctt gca 33

<210> 49

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Forward oligonucleotide/primer IFNA4F for amplification of a  
fragment encoding aa 24-189 of IFNA4

<400> 49

tttggatcct atgtgatctg cctcagacc acagcctgg 39

<210> 50

<211> 54

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Reverse oligonucleotide/primer IFNA4R for amplification of a  
 fragment encoding aa 24-189 of IFNA4 and for amplification of a  
 fragment encoding aa 24-189 of IFNA10

<400> 50

tttgcggcgc ctcaatcctt cctccttaat cttttttgca agtttggtga aaac 54

<210> 51

<211> 46

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Forward oligonucleotide/primer IFNA5F for amplification of a  
 fragment encoding aa 22-189 of IFNA5

<400> 51

tttgatcct actgggctgt gatctgcctc agaccacag cctgag 46

<210> 52

<211> 47

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Reverse oligonucleotide/primer IFNA5R for amplification of a  
 fragment encoding aa 22-189 of IFNA5

<400> 52

tttgcggcgc ctattcctt cctccttaat ctttcttgca agtttgc 47

<210> 53

<211> 51

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Forward oligonucleotide/primer IFNA6F for amplification of a  
 fragment encoding aa 21-189 of IFNA6

<400> 53

tttgatcct atctctggac tgtgatctgc ctcagacca cagcctgggt c 51

<210> 54

<211> 46

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Reverse oligonucleotide/primer IFNA6R for amplification of a  
fragment encoding aa 21-189 of IFNA6

<400> 54

tttgcggccg cttattcctt cctcctaac ctttcttgca agtttc 46

<210> 55

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Forward oligonucleotide/primer IFNA7F for amplification of a  
fragment encoding aa 24-189 of IFNA7

<400> 55

tttggatcct atgtgatctg cctcagacc acagcctgc 39

<210> 56

<211> 48

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Reverse oligonucleotide/primer IFNA7R for amplification of a  
fragment encoding aa 24-189 of IFNA7

<400> 56

tttgcggccg cgaaccagtt ttcaatcctt cctccttaat cctttttt 48

<210> 57

<211> 34

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Forward oligonucleotide/primer IFNA8F for amplification of a  
fragment encoding aa 23-189 of IFNA8

<400> 57

tttgggatcc tctgtgatct gcctcagact caca 34

<210> 58

<211> 33

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Reverse oligonucleotide/primer IFNA8R for amplification of a  
 fragment encoding aa 23-189 of IFNA8

<400> 58

tttgcgccg ctcattcctt actcttcaat ctt 33

<210> 59

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Forward oligonucleotide/primer IFNA17F for amplification of a  
 fragment encoding aa 24-189 of IFNA10 and for amplification of a  
 fragment encoding aa 24-189 of IFNA17

<400> 59

tttgatcct atgtgatctg cctcagacc acagcctggg 40

<210> 60

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Forward oligonucleotide/primer IFNA14F for amplification of a  
  
 fragment encoding aa 24-189 of IFNA14

<400> 60

tttgatcct atgtaatctg tctcaaacc acagcctgaa 40

<210> 61

<211> 47

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Reverse oligonucleotide/primer IFNA14R for amplification of a  
 fragment encoding aa 24-189 of IFNA14

<400> 61

tttgcgccg ctcaatcctt cctccttaat cttttttgca agtttgt 47

<210> 62

<211> 29

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220

><223> Forward oligonucleotide/primer IFNA16F for amplification of a  
fragment encoding aa 24-189 of IFNA16

<400> 62

tttggatcct atgtgatctg cctcagact 29

<210> 63

<211> 32

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Reverse oligonucleotide/primer IFNA16R for amplification of a  
fragment encoding aa 24-189 of IFNA16

<400> 63

tttgcggccg ctcaatcctt ctttcttaac cc 32

<210

> 64

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Reverse oligonucleotide/primer IFNA17R for amplification of a  
fragment encoding aa 24-189 of IFNA17

<400> 64

tttgcggccg cgttgaacca gttttcaatc cttcctcctt aata 44

<210> 65

<211> 37

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Forward oligonucleotide/primer IFNA21F for amplification of a  
fragment encoding aa 24-189 of IFNA21

<400> 65

tttggatcct atgtgatctg cctcagacc acagcct 37

<210> 66

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Reverse oligonucleotide/primer IFNA21R for amplification of a  
 fragment encoding aa 24-189 of IFNA21

<400> 66

tttgcggcgc ctcattcctt cctccttaat ctttcttgaa aaa 43

<210> 67

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Forward oligonucleotide/primer IFNB1F for amplification of a  
 fragment encoding aa 22-187 of IFN-Beta 1

<400> 67

tttggatcct aatgagctac aacttgcttg gattcctac 39

<210> 68

<211> 38

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Reverse oligonucleotide/primer IFNB1R for amplification of a  
 fragment encoding aa 22-187 of IFN-Beta 1

<400> 68

tttgcggcgc ctcagtttgc gaggtaacct gtaagtct 38

<210> 69

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Forward oligonucleotide/primer IFNGF for amplification of a  
 fragment encoding aa 24-166 of IFN-Gamma

<400> 69

tttggatcct acaggaccca tatgtaaaag aagcagaaaa c 41

<210> 70

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Reverse oligonucleotide/primer IFNGR for amplification of a

fragment encoding aa 24-166 of IFN-Gamma

<400> 70

tttgcggccg cccattactg ggatgctctt cgacct 36

<210> 71

<211> 993

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><221> CDS

<222> (1)..(990)

<223> 19D11-CH constant heavy chain (CH) sequence

<220><221> unsure

<222> (1)..(35)

<223> not sequenced but obtained from database

<220><221> misc\_feature

<222> (966)

<223> n is a, c, g, or t

<220><221> misc\_feature

<222> (968)

<223> n is a, c, g, or t

<400> 71

gcc tcc acc aag ggc cca tcg gtc ttc ccc ctg gca ccc tcc tcc aag 48

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

1 5 10 15

agc acc tct ggg ggc aca gcg gcc ctg ggc tgc ctg gtc aag gac tac 96

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

20 25 30

ttc ccc gaa ccg gtg acg gtg tcg tgg aac tca ggc gcc ctg acc agc 144

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35 40 45

ggc gtg cac acc ttc ccg gct gtc cta cag tcc tca gga ctc tac tcc 192

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

50 55 60

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



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

tat ccc aga gag gcc aaa gta cag tgg aag gtg gat aac gcc etc caa 144  
 Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln  
 35 40 45

tcg ggt aac tcc cag gag agt gtc aca gag cag gac agc aag gac agc 192  
 Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser  
 50 55 60

acc tac agc ctc agc agc acc ctg acg ctg agc aaa gca gac tac gag 240

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

aaa cac aaa gtc tac gcc tgc gaa gtc acc cat cag ggc ctg agc tcg 288  
 Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser  
 85 90 95

ccc gtc aca aag agc ttc aac agg gga gag tgt tag 324  
 Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 100 105

<210> 75  
 <211> 372  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens  
 <220><221> CDS  
 <222> (1)..(372)  
 <223> 8H1-VH variable heavy chain (VH) sequence; 8H1: kappa  
 <220><221> V\_region  
 <222> (91)..(105)  
 <223> complementarity determining region (CDR) VH-CDR1  
 <220><221> V\_region  
 <222> (148)..(198)  
 <223> complementarity determining region (CDR) VH-CDR2  
 <220><221> V\_region  
 <222> (295)..(339)

<223> complementarity determining region (CDR) VH-CDR3

<400> 75

cag gtg cag ctg gtg cag tct ggg gct gag gtg aag aag cct ggg gcc 48

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

1 5 10 15

tca gtg aag gtc tcc tgc aag gct tct gga cag acc ttc acc agt gat 96

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gln Thr Phe Thr Ser Asp

20 25 30

gat atc aac tgg gtg cga cag gcc cct gga cag ggg cta gag tgg atg 144

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

35 40 45

gga tgg agg aac cct aac act cag gac acg ggc tat gca cag aag ttc 192

Gly Trp Arg Asn Pro Asn Thr Gln Asp Thr Gly Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

cac ggc aga ctc acc ttg acc agc aac agt tcc ata agt aca tcc tat 240

His Gly Arg Leu Thr Leu Thr Ser Asn Ser Ser Ile Ser Thr Ser Tyr

65 70 75 80

ctg gag ttg agc ggc ctg aga tct gag gac acg gcc gtg tat tac tgt 288

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

85 90 95

gcg aga gcg ggg act tcg acc ttg acc ggc cac tac ttc gct ttg ggg 336

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

100 105 110

gtc tgg ggc cag ggg acc acg gtc atc gtc tcc tca 372

Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Ile Val Ser Ser

115 120

<210> 77

<211> 321

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><221> CDS

<222> (1)..(321)  
 <223> 8H1-VL variable light chain (VL) sequence, kappa type  
 <220><221> V\_region  
 <222> (70)..(102)  
 <223> complementarity determining region (CDR) VL-CDR1  
 <220><221> V\_region  
 <222> (148)..(165)  
 <223> complementarity determining region (CDR) VL-CDR2  
  
 <220><221> V\_region  
 <222> (265)..(291)  
 <223> complementarity determining region (CDR) VL-CDR3  
 <400> 77  
 gac atc cag ctg acc cag tct cca tcc tcc ctg tct gca tct gta gga 48  
 Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly  
 1 5 10 15  
 gac aga gtc acc atc act tgt cag gcg act cag gat att agc aaa tat 96  
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Thr Gln Asp Ile Ser Lys Tyr  
 20 25 30  
  
 tta aat tgg tat cag cag aaa cca ggg aaa gtc cct aaa ctc ctg atc 144  
 Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Leu Ile  
 35 40 45  
 tac gaa aca tcc aat ttg gaa gta ggg gtc cca tca agg ttc agt gga 192  
 Tyr Glu Thr Ser Asn Leu Glu Val Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60  
 agt ggg tct ggg aca cat ttt act ctc acc atc agc agc ctg cag gct 240  
  
 Ser Gly Ser Gly Thr His Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ala  
 65 70 75 80  
 gaa gat ttt gca aca tat tac tgt caa cag tat gag aat ttc ccg ttc 288  
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Glu Asn Phe Pro Phe  
 85 90 95  
 act ttc ggc gga ggg acc aag gtg gag atc aaa 321  
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 79  
 <211> 990  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens  
 <220><221> CDS  
 <222> (1)..(990)  
 <223> 8H1-CH constant heavy chain (CH) sequence  
 <400> 79

gcc tcc acc aag ggc cca tcg gtc ttc ccc ctg gca ccc tcc tcc aag 48  
 Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys  
 1 5 10 15  
 agc acc tct ggg ggc aca gcg gcc ctg ggc tgc ctg gtc aag gac tac 96  
 Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

20 25 30  
 ttc ccc gaa ccg gtg acg gtg tcg tgg aac tca ggc gcc ctg acc agc 144  
 Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser  
 35 40 45  
 ggc gtg cac acc ttc ccg gct gtc cta cag tcc tca gga ctc tac tcc 192  
 Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser  
 50 55 60  
 ctc agc agc gtg gtg acc gtg ccc tcc agc agc ttg ggc acc cag acc 240

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr  
 65 70 75 80  
 tac atc tgc aac gtg aat cac aag ccc agc aac acc aag gtg gac aag 288  
 Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys  
 85 90 95  
 aga gtt gag ccc aaa tct tgt gac aaa act cac aca tgc cca ccg tgc 336  
 Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys  
 100 105 110

cca gca cct gaa ctc ctg ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca 384

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro  
 115 120 125  
 aaa ccc aag gac acc ctc atg atc tcc cgg acc cct gag gtc aca tgc 432  
 Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys  
 130 135 140  
 gtg gtg gtg gac gtg agc cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg 480

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp  
 145 150 155 160  
 tac gtg gac ggc gtg gag gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgg gag 528  
 Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu  
 165 170 175  
 gag cag tac aac agc acg tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg 576  
 Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu  
 180 185 190

cac cag gac tgg ctg aat ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac 624  
 His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn  
 195 200 205  
 aaa gcc ctc cca gcc ccc atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg 672  
 Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly  
 210 215 220  
 cag ccc cga gaa cca cag gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgg gag gag 720

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu  
 225 230 235 240  
 atg acc aag aac cag gtc agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat 768  
 Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr  
 245 250 255  
 ccc agc gac atc gcc gtg gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac 816  
 Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn  
 260 265 270

aac tac aag acc acg cct ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc 864  
 Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe







<400> 85  
gac atc cag gtg acc cag tct cca tcc tcc ctg tct gca tct att ggg 48  
Asp Ile Gln Val Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Ile Gly

1 5 10 15  
gac aga gtc acc atc acg tgc cgg gca agt cag aac att ctc acc ttt 96  
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asn Ile Leu Thr Phe

20 25 30  
ata aat tgg tat cag cac aaa cca ggg aaa gcc cct aaa ctc ctg atc 144  
Ile Asn Trp Tyr Gln His Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45  
tat gct gca tcc gtt tta caa aat gaa gtc cca tca agg ttc agt ggc 192

Tyr Ala Ala Ser Val Leu Gln Asn Glu Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60  
agt gga tet ggg aca gat ttc act ctc acc atc acc agt ctg caa cct 240  
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Thr Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80  
gac gat ttt gga act tac tac tgt cag cag act tac ctt acc cct caa 288  
Asp Asp Phe Gly Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Thr Tyr Leu Thr Pro Gln

85 90 95

tgc agt ttt ggc cag ggg acc aag gtg gag atc aaa 324  
Cys Ser Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 87  
<211> 993  
<212> DNA  
<213> Homo sapiens  
<220><221> CDS  
<222> (1)..(990)  
<223> 12H5-CH constant heavy chain (CH) sequence  
<400> 87  
gcc tcc acc aag ggc cca tcg gtc ttc ccc ctg gca ccc tcc tcc aag 48

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

1 5 10 15

agc acc tet ggg ggc aca gcg gcc ctg ggc tgc ctg gtc aag gac tac 96

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

20 25 30

ttc ccc gaa ccg gtg acg gtg tgg aac tca ggc gcc ctg acc agc 144

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35 40 45

ggc gtg cac acc ttc ccg gct gtc cta cag tcc tca gga ctc tac tcc 192

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

50 55 60

ctc agc agc gtg gtg acc gtg ccc tcc agc agc ttg ggc acc cag acc 240

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

65 70 75 80

tac atc tgc aac gtg aat cac aag ccc agc aac acc aag gtg gac aag 288

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

85 90 95

aaa gtt gag ccc aaa tct tgt gac aaa act cac aca tgc cca ccg tgc 336

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys

100 105 110

cca gca cct gaa ctc ctg ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca 384

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

115 120 125

aaa ccc aag gac acc ctc atg atc tcc cgg acc cct gag gtc aca tgc 432

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

130 135 140

gtg gtg gtg gac gtg agc cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg 480

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp

145 150 155 160

tac gtg gac ggc gtg gag gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgg gag 528

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu

165	170	175	
gag cag tac aac agc acg tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg			576
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu			
180	185	190	
cac cag gac tgg ctg aat ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac			624
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn			
195	200	205	
aaa gcc ctc cca gcc ccc atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg			672
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly			
210	215	220	
cag ccc cga gaa cca cag gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgg gat gag			720
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu			
225	230	235	240
ctg acc aag aac cag gtc agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat			768
Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr			
245	250	255	
ccc agc gac atc gcc gtg gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac			816
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn			
260	265	270	
aac tac aag acc acg cct ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc			864
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe			
275	280	285	
ctc tac agc aag ctc acc gtg gac aag agc agg tgg cag cag ggg aac			912
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn			
290	295	300	
gtc ttc tca tgc tcc gtg atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg			960
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr			
305	310	315	320
cag aag agc ctc tcc ctg tct ccg ggt aaa tga			993
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys			

325

330

<210> 89  
 <211> 324  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens  
 <220><221> CDS  
 <222> (1)..(321)  
 <223> 12H5-CL variable light chain (VL) sequence, kappa type  
 <400> 89

cga act gtg gct gca cca tct gtc ttc atc ttc ccg cca tct gat gag 48  
 Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu  
 1 5 10 15  
 cag ttg aaa tct gga act gcc tct gtt gtg tgc ctg ctg aat aac ttc 96  
 Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe  
 20 25 30  
 tat ccc aga gag gcc aaa gta cag tgg aag gtg gat aac gcc ctc caa 144  
 Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln  
 35 40 45  
 tcg ggt aac tcc cag gag agt gtc aca gag cag gac agc aag gac agc 192  
 Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser  
 50 55 60  
 acc tac agc ctc agc agc acc ctg acg ctg agc aaa gca gac tac gag 240  
 Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu  
 65 70 75 80  
 aaa cac aaa gtc tac gcc tgc gaa gtc acc cat cag ggc ctg agc tcg 288  
 Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser  
 85 90 95  
 ccc gtc aca aag agc ttc aac agg gga gag tgt tag 324  
 Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 100 105

<210> 91

<211> 342  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens  
 <220><221> CDS  
 <222> (1)..(342)  
 <223> 50E11-VH variable heavy chain (VH) sequence; 50E1, kappa  
 <220><221> V\_region  
 <222> (91)..(105)  
 <223> complementarity determining region (CDR) VH-CDR1  
 <220><221> V\_region  
 <222> (148)..(198)  
 <223> complementarity determining region (CDR) VH-CDR2  
 <220><221> V\_region  
 <222> (295)..(309)  
 <223> complementarity determining region (CDR) VH-CDR3  
 <400> 91

cag gtg cag ctg gtg cag tct ggg gca gag atg aag aag cct ggg tcc	48
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Met Lys Lys Pro Gly Ser	
1                    5                    10                    15	
tcg gtg aag gtc tcc tgc aag gat ttt gga ggc acc ttc agc gtc tat	96
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Asp Phe Gly Gly Thr Phe Ser Val Tyr	
20                    25                    30	
ggg gtc aac tgg gtg cga cag gcc cct gga caa ggg ctt gag tgg atg	144
Gly Val Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met	
35                    40                    45	
ggg ggg ctc atc cct gtc att ggg cca gct aac tac gca cag aag ttc	192
Gly Gly Leu Ile Pro Val Ile Gly Pro Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe	
50                    55                    60	
cag ggc aga atc acc att act gcg gac gaa tcc acg agc aca gcc tat	240
Gln Gly Arg Ile Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr	
65                    70                    75                    80	
atg gag ttg agc agc ctg aga ttt gac gac acg gcc att tat tat tgt	288

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Phe Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys  
                           85                          90                          95  
 gtg aga gac gac aac gaa tat tgg ggc cag gga acc ctg gtc acc gtc          336  
 Val Arg Asp Asp Asn Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val  
                           100                          105                          110  
 tcc tcg  342

Ser Ser  
 <210> 93  
 <211> 327  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens  
 <220><221> CDS  
 <222> (1)..(327)  
 <223> 50E11-VL variable light chain (VL) sequence, kappa type  
 <220><221> V\_region  
 <222> (70)..(102)  
 <223> complementarity determining region (CDR) VL-CDR1  
 <220><221> V\_region  
 <222> (148)..(168)  
 <223> complementarity determining region (CDR) VL-CDR2  
 <220><221> V\_region  
 <222> (265)..(297)

<  
 223> complementarity determining region (CDR) VL-CDR3  
 <400> 93  
 gaa atg gtg ctg aca cag tct cca gcc acc ctg tct ttg tct cca gga          48  
 Glu Met Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
   1                  5                  10                  15  
 gaa aga gcc acc ctc tcc tgt agg gcc agt cag act gtt agc acc ttc          96  
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Thr Val Ser Thr Phe  
                   20                  25                  30  
 tta gcc tgg tac caa cag aaa cct ggc cag gtt ccc agg ctc ctc gtc          144

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





cag ccc cga gaa cca cag gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgg gat gag 720

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu  
 225 230 235 240

ctg acc aag aac cag gtc agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat 768

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

ccc agc gac atc gcc gtg gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac 816

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

aac tac aag acc acg cct ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc 864

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

ctc tac agc aag ctc acc gtg gac aag agc agg tgg cag cag ggg aac 912

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

gtc ttc tca tgc tcc gtg atg cat gag ggt ctg cac aac cac tac acg 960

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

cag aag agc ctc tcc ctg tct ccg ggt aaa tga 993

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

<210> 97  
 <211> 324  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens  
 <220><221> CDS  
 <222> (1)..(321)  
 <223> 50E11-CL constant kappa chain (CL) sequence

<400> 97

cga act gtg get gca cca tct gtc ttc atc ttc ccg cca tct gat gag 48

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu

1                    5                    10                    15  
 cag ttg aaa tct gga act gcc tct gtt gtg tgc ctg ctg aat aac ttc                    96  
 Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe

                  20                    25                    30  
 tat ccc aga gag gcc aaa gta cag tgg aag gtg gat aac gcc ctc caa                    144

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

tcg ggt aac tcc cag gag agt gtc aca gag cag gac agc aag gac agc                    192  
 Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser

                  50                    55                    60  
 acc tac agc ctc agc agc acc ctg acg ctg agc aaa gca gac tac gag                    240

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

aaa cac aaa gtc tac gcc tgc gaa gtc acc cat cag ggc ctg agc tcg                    288  
 Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser

                  85                    90                    95  
 ccc gtc aca aag agc ttc aac agg gga gag tgt tag                    324

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

                  100                    105

- <210> 99
- <211> 18
- <212> PRT
- <213> Homo sapiens
- <220><221> BINDING

<222> (1)..(18)

<223> IFNA2-peptide 32 bound specifically by mAB 19D11

<400> 99

Arg Ile Thr Leu Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp

1                    5                    10                    15

Glu Val

<210> 100

<211> 18  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 <220><221> BINDING  
 <222> (1)..(18)  
 <223> IFNA2-peptide 22 bound specifically by mAB 26B9  
 <400> 100  
 Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu Ala Cys Val Ile  
 1 5 10 15

Gln Gly

<210> 101  
 <211> 18  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 <220><221> BINDING  
 <222> (1)..(18)  
 <223> IFNW-peptide 23 bound specifically by mAB 26B9  
 <400> 101  
 Thr Gly Leu His Gln Gln Leu Gln His Leu Glu Thr Cys Leu Leu Gln  
 1 5 10 15  
 Val Val