

(12) PŘEKLAD EVROPSKÉHO PATENTOVÉHO SPISU

(10)
CZ/EP 2 780 373 T3

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

- (96) Datum podání evropské přihlášky: **14.11.2012**
- (96) Číslo evropské přihlášky: **EP 12788410.4**
- (97) Datum zveřejnění evropské přihlášky: **23.05.2013**
- (97) Číslo evropského patentu: **EP 2780373**
- (97) Datum oznámení o udělení evropského patentu: **21.08.2019**
- (30) Právo přednosti:
16.11.2011 US 201161560554 P
08.05.2012 US 201261644111 P
15.10.2012 US 201261713713 P
- (86) PCT číslo: **PCT/US2012/064933**
- (87) PCT číslo zveřejnění: **WO 2013/074569**
- (47) Datum zveřejnění překladu evropského patentového spisu: **27.11.2019**
(Věstník č. 48/2019)

(51) Int. Cl.:

C 07 K 16/28 (2006.01)
A 61 P 17/06 (2006.01)

(73) Majitel patentu:
Boehringer Ingelheim International GmbH, 55216 Ingelheim am Rhein, DE

(72) Původce:
BROWN, Su-Ellen, Ridgefield, Connecticut 06877-0368, US
CANADA, Keith, Ridgefield, Connecticut 06877-0368, US
CHLEWICKI, Lukasz, Ridgefield, Connecticut 06877-0368, US
HOWELL, Michael, Ridgefield, Connecticut 06877-0368, US
MENNERICH, Detlev, 55216 Ingelheim am Rhein, DE
WOSKA JR., Joseph Robert, Ridgefield, Connecticut 06877-0368, US

(74) Zástupce:
KOREJZOVA LEGAL v.o.s., JUDr. Petra Sauvage de Brantes, Korunní 810/104, 101 00 Praha 10, Vinohrady

(54) Název vynálezu:

Protilátky anti IL-36R

PROTILÁTKY ANTI IL-36R

Popis

Výpis sekvencí

5 [0001] Předkládaná přihláška obsahuje výpis sekvencí, který byl předložen ve formátu ASCII přes EFS-Web, a je tímto začleněn jako celek odkazem. Tato kopie ASCII, vytvořená 12. listopadu 2012, má název 09-0583WO.txt a má velikost 147,390 bajtů.

OBLAST TECHNIKY

10 [0002] Tento vynález se obecně týká protilátek anti-IL-36R pro diagnostické a terapeutické použití. Protilátky mohou být použity ve farmaceutických prostředcích a soupravách obsahujících takové sloučeniny. Protilátky jsou použitelné při léčení různých onemocnění nebo poruch, například imunologických, zánětlivých, autoimunitních, fibrotických a respiračních onemocnění u lidí.

15 STAV TECHNIKY

[0003] Rodina cytokinů IL-1 je složena z 11 různých ligandů, jmenovitě IL-1 α (také nazývaného IL-1F1), IL-1 β (IL-1F2), antagonisty receptoru IL-1 (IL-1Ra nebo IL-1F3), IL-18 (IL-1F4), IL-1F5 až IL-1F10 a IL-1F11 (nebo IL-33). Je známo, že IL-1 α a IL-1 β indukují prozánětlivé aktivity na navázání na receptor IL-1 typu I (IL-1RI) a migraci pomocného proteinu koreceptoru IL-1 (IL-1RAcP), zatímco IL-1Ra působí jako kompetitivní inhibitor vazby IL-1 na IL-1RI, a tak vykazuje protizánětlivou aktivitu. Četné studie uvádějí, že IL-18 je prozánětlivý cytokin, který je induktorem IFN- γ , zatímco IL-33 byl popisován jako imunoregulační cytokin zapojený zejména do kontroly odpovědi Th2. Noví členové rodiny IL-1, včetně IL-1F5, IL-1F6, IL-1F8 a IL-1F9, byli identifikováni prostřednictvím vyhledávání v databázích DNA na homology IL-1. U lidí a myší se všechny geny kódující tyto cytokiny mapují na méně než 300 kb chromozomu 2q, kde jsou obklopeny geny *IL1A*, *IL1B*, a *IL1RN*. IL-1 F6, IL-1F8 a IL-1F9 sdílejí homologii aminokyselinové sekvence 21 % až

20

25

30

37 % s IL-1 a IL-1Ra, zatímco IL-1F5 vykazuje 52% aminokyselinovou sekvenční homologii s IL-1Ra, což naznačuje, že IL-1F5 by mohl představovat antagonistu endogenního receptoru.

[0004] IL-1F6, IL-1F8 a IL-1F9 se vážou na IL-1Rrp2, receptor rodiny IL-1R, a používají IL-1RAcP jako koreceptor ke stimulaci intracelulárních signálů podobných těm, které jsou indukovány IL-1, zatímco se ukázalo, že IL-1F5 inhibuje v buňkách Jurkat T IL-1, které nadměrně exprimují IL-1Rrp2, F9-indukovanou aktivaci NF- κ B. Stejně jako IL-1 β , všechny tyto homology IL-1 postrádají vedoucí peptid a nemohou být uvolněny konvenční sekreční dráhou, i když studie naznačují, že uvolňování agonistů IL-1Rrp2 může být řízeno mechanismy odlišnými od mechanismů regulujících sekreci IL-1 β . Aby bylo možné potvrdit specifické biologické účinky těchto cytokinů a uznat, že se všechny vážou na stejný receptor, bylo nedávno navrženo změnit nomenklaturu homologů IL-1. IL-1Rrp2 je nyní označován jako IL-36R a jeho ligandy jsou pojmenovány IL-36 α (IL-1F6), IL-36 β (IL-1F8) a IL-36 γ (IL-1F9). Kromě toho byl IL-1F5, u kterého bylo prokázáno, že vykazuje antagonistické účinky na receptor, přejmenován na IL-36Ra.

[0005] Messengerové RNA pro IL-36 α , IL-36 β a IL-36 γ jsou vysoce exprimovány v několika tkáních, zejména ve vnitřních epiteliálních tkáních, které jsou vystaveny patogenům, a v kůži. Je zajímavé, že exprese IL-36Ra a IL-36 α je signifikantně upregulovaná u lidských keratinocytů stimulovaných IL-1 β /TNF- α a mRNA IL-36Ra a IL-36 γ jsou vysoce zvýšeny v psoriatické kůži s lézemi. Kromě toho je produkce proteinů IL-36 γ v lidských keratinocytech zvýšena po stimulaci TNF- α a IFN- γ . Zvýšená mRNA IL-36 α a exprese proteinu byla hlášena také u chronického onemocnění ledvin.

[0006] Transgenní myši nadměrně exprimující IL-36 α v keratinocytech vykazují zánětlivé kožní léze, které sdílejí některé rysy s psoriázou. Tento fenotyp byl závažnější, když byly transgenní myši kříženy s myši s deficitem IL-36Ra, což podporuje regulační funkci IL-36Ra *in vivo*. Zánětlivý kožní stav u keratinocytově specifického transgenu IL-36 α je dokonce podobnější lidské psoriáze, pokud jsou myši léčeny 12-O-

tetradekanoylforbol 13-acetátem, a připomíná lidské onemocnění histologicky, molekulárně a jeho odpovědí na léčiva. Kromě toho je lidská psoriatická kůže s lézemi transplantovaná imunodeficientním myším normalizována, když jsou myši léčeny protilátkou anti-IL-36R, přičemž se
5 tvrdí, že k udržení lézního fenotypu v lidské psoriatické kůži je nutná osa IL-36 (Blumberg H. et al., J. Immunol 2010; 185: 4354-4362). Celkově tato data naznačují, že ligandy IL-36R, včetně IL-36 α ., IL-36 β a IL-36 γ , vykazují prozánětlivé účinky *in vitro* a *in vivo*, a že IL-36Ra působí jako přirozený antagonist, a tak napodobuje systém IL-1/IL-1 Ra.

- 10 **[0007]** Existuje tedy důkaz, že ligandy IL-36R se podílejí na řadě chorobných stavů, a existuje potřeba nových terapeutických látek zaměřujících se na tuto dráhu, zejména pro použití při léčení zánětlivých onemocnění.

Shrnutí vynálezu

- 15 **[0008]** Rozsah vynálezu je definován připojenými nároky. Předkládaný vynález řeší výše uvedenou potřebu poskytnutím bioterapeutik, zejména protilátek, které se vážou na IL-36R. Protilátky podle předkládaného vynálezu blokují IL36 ligandem zprostředkovanou signalizací (α , β a/nebo γ). Protilátky podle předkládaného vynálezu jsou také použitelné
20 například pro léčení zánětu/fibrózy zprostředkované epitelem u nemocí, jako je psoriáza, zánětlivé onemocnění střev, sklerodermie, CHOPN a chronické onemocnění ledvin.

- [0009]** V jednom aspektu, předkládaný vynález poskytuje protilátku anti-IL-36R nebo její fragment vázající antigen obsahující variabilní oblast
25 lehkého řetězce obsahující aminokyselinovou sekvenci SEQ ID NO: 80; a variabilní oblast těžkého řetězce obsahující aminokyselinovou sekvenci SEQ ID NO: 87;

- variabilní oblast lehkého řetězce obsahující aminokyselinovou sekvenci SEQ ID NO: 80; a variabilní oblast těžkého řetězce obsahující
30 aminokyselinovou sekvenci SEQ ID NO: 88; nebo

variabilní oblast lehkého řetězce obsahující aminokyselinovou sekvenci SEQ ID NO: 80; a variabilní oblast těžkého řetězce obsahující aminokyselinovou sekvenci SEQ ID NO: 89.

5 [0010] V jednom aspektu má protilátka anti-IL-36R podle předkládaného vynálezu vysokou molekulární/buněčnou vazebnou účinnost. V jednom provedení se protilátka anti-IL-36R podle předkládaného vynálezu váže na lidský IL-36R při $K_D < 0,1 \text{ nM}$. V dalším aspektu se protilátka anti-IL-36R podle předkládaného vynálezu, zvláště humanizovaná protilátka anti-IL-36R, váže na lidský IL-36R při $K_D < 50 \text{ pM}$. V jednom aspektu, se 10 protilátka anti-IL-36R podle předkládaného vynálezu váže na buňky exprimující IL-36R při $EC_{90} < 5 \text{ nM}$.

[0011] V dalším aspektu má protilátka anti-IL-36R podle předkládaného vynálezu má vysokou na buňkách založenou účinnost funkčního blokování. V jednom aspektu, protilátka anti-IL-36R podle předkládaného 15 vynálezu blokuje všechny tři agonistické ligandy IL-36R (α , β , γ) při $IC_{90} \leq 5 \text{ nM}$, v buněčných liniích a primárních buňkách souvisejících s onemocněním.

[0012] V jednom aspektu má protilátka anti-IL-36R podle předkládaného vynálezu má molekulární/buněčnou vazebnou účinnost a na buňkách 20 založenou účinnost funkčního blokování uvedené výše.

[0013] V dalším aspektu, protilátka anti-IL-36R podle předkládaného vynálezu má vysokou selektivitu, například vyšší než 1000násobnou selektivitu proti lidským IL-1R1 nebo IL-36R negativním buněčným liniím. V dalším aspektu se protilátka anti-IL-36R podle předkládaného vynálezu 25 neváže na buněčné linie negativní na lidský IL-1 R1 nebo IL-36R.

[0014] V provedení jedna se protilátka anti-IL-36R, nebo její fragment vázající antigen, váže na lidský IL-36R při K_D stejné jako nebo $< 0,1 \text{ nM}$.

[0015] V provedení dva je protilátka anti-IL-36R nebo její fragment vázající antigen podle provedení jedna monoklonální protilátka nebo její 30 fragment vázající antigen.

[0016] V provedení tři je protilátka anti-IL-36R nebo její fragment vázající antigen podle provedení jeden nebo dva humanizovaná protilátka nebo její fragment vázající antigen.

[0017] V provedení čtyři se protilátka anti-IL-36R nebo její fragment vázající antigen podle provedení tři váže na lidský IL-36R při K_D stejné jako nebo $<50\text{pM}$.

[0018] V provedení pět se protilátka anti-IL-36R nebo její fragment vázající antigen podle kteréhokoli z provedení jedna až čtyři neváže na lidský IL-1R1.

10 **[0019]** Předkládaný vynález poskytuje protilátku anti-IL-36R nebo její fragment vázající antigen podle provedení šest, kde protilátka nebo její fragment vázající antigen obsahuje:

a) variabilní oblast lehkého řetězce obsahující aminokyselinovou sekvenci SEQ ID NO: 26 (L-CDR1); aminokyselinovou sekvenci SEQ ID NO: 104 (L-CDR2); aminokyselinovou sekvenci SEQ ID NO: 44 (L-CDR3); a

b) variabilní oblast těžkého řetězce obsahující aminokyselinovou sekvenci SEQ ID NO: 53 (H-CDR1); aminokyselinovou sekvenci SEQ ID NO: 62 (H-CDR2); aminokyselinovou sekvenci SEQ ID NO: 72 (H-CDR3), kde protilátka nebo její fragment vázající antigen obsahuje variabilní oblast lehkého řetězce obsahující aminokyselinovou sekvenci SEQ ID NO: 80; a variabilní oblast těžkého řetězce obsahující aminokyselinovou sekvenci z kterékoli ze SEQ ID NO: 87, 88, 89.

25 **[0020]** V jednom provedení předkládaný vynález poskytuje protilátku nebo její fragment vázající antigen obsahující variabilní oblast lehkého řetězce obsahující aminokyselinovou sekvenci SEQ ID NO: 80; a variabilní oblast těžkého řetězce obsahující aminokyselinovou sekvenci SEQ ID NO: 87; nebo

30 variabilní oblast lehkého řetězce obsahující aminokyselinovou sekvenci SEQ ID NO: 80; a variabilní oblast těžkého řetězce obsahující aminokyselinovou sekvenci SEQ ID NO: 88; nebo

variabilní oblast lehkého řetězce obsahující aminokyselinovou sekvenci SEQ ID NO: 80; a variabilní oblast těžkého řetězce obsahující aminokyselinovou sekvenci SEQ ID NO: 89.

5 **[0021]** V určitých provedeních předkládaný vynález poskytuje protilátku anti-IL-36R, kde tato protilátka obsahuje lehký řetězec obsahující aminokyselinovou sekvenci z kterékoli ze SEQ ID NO: 118; a těžký řetězec obsahující aminokyselinovou sekvenci z kterékoli ze SEQ ID NO: 125, 126 a 127.

10 **[0022]** V jednom provedení předkládaný vynález poskytuje protilátku anti-IL-36R, kde tato protilátka obsahuje lehký řetězec obsahující aminokyselinovou sekvenci SEQ ID NO: 118; a těžký řetězec obsahující aminokyselinovou sekvenci SEQ ID NO: 125.

15 **[0023]** V dalším provedení předkládaný vynález poskytuje protilátku anti-IL-36R, kde tato protilátka obsahuje lehký řetězec obsahující aminokyselinovou sekvenci SEQ ID NO: 118; a těžký řetězec obsahující aminokyselinovou sekvenci SEQ ID NO: 126.

20 **[0024]** V ještě dalším provedení předkládaný vynález poskytuje protilátku anti-IL-36R, kde tato protilátka obsahuje lehký řetězec obsahující aminokyselinovou sekvenci SEQ ID NO: 118; a těžký řetězec obsahující aminokyselinovou sekvenci SEQ ID NO: 127.

25 **[0025]** V jednom provedení je protilátka nebo její fragment vázající antigen podle vynálezu monoklonální protilátka. V jednom provedení je protilátka nebo její fragment vázající antigen podle vynálezu humanizovaná protilátka. V jednom provedení je protilátka nebo její fragment vázající antigen podle vynálezu monoklonální humanizovaná protilátka.

[0026] V dalším provedení předkládaný vynález poskytuje farmaceutický prostředek obsahující protilátku nebo fragment vázající antigen podle kteréhokoli z předchozích provedení a farmaceuticky přijatelný nosič.

30 **[0027]** V dalším provedení předkládaný vynález poskytuje protilátku nebo fragment vázající antigen nebo farmaceutický prostředek podle kteréhokoli z předchozích provedení, pro použití v lékařství.

[0028] V dalším provedení předkládaný vynález poskytuje protilátku nebo fragment vázající antigen nebo farmaceutický prostředek podle vynálezu pro použití při léčení zánětlivého onemocnění, autoimunitního onemocnění, respiračního onemocnění, metabolické poruchy, epiteliálně zprostředkované zánětlivé poruchy, fibrózy nebo zhoubného nádoru.

[0029] V dalším provedení předkládaný vynález poskytuje protilátku nebo fragment vázající antigen nebo farmaceutický prostředek pro použití podle vynálezu, kde použití je pro léčení lupénky, zánětlivého střevního onemocnění, psoriatické artritidy, roztroušené sklerózy, revmatoidní artritidy, COPD, chronického astmatu nebo ankylózující spondylitidy. V dalším provedení předkládaný vynález poskytuje protilátku nebo fragment vázající antigen nebo farmaceutický prostředek pro použití podle vynálezu, kde použití je pro léčení zánětlivého střevního onemocnění.

[0030] V ještě dalším provedení předkládaný vynález poskytuje protilátku nebo fragment vázající antigen nebo farmaceutický prostředek pro použití podle vynálezu, kde onemocnění je Crohnova nemoc.

[0031] Další provedení vynálezu zahrnují:

- izolovaný polynukleotid obsahující sekvenci kódující protilátku anti-IL-36R nebo fragment vázající antigen podle vynálezu, s výhodou sekvenci DNA nebo RNA;
- izolovaný polynukleotid podle vynálezu, kódující (a) variabilní oblast lehkého řetězce obsahující aminokyselinovou sekvenci SEQ ID NO: 80, a variabilní oblast těžkého řetězce obsahující aminokyselinovou sekvenci SEQ ID NO: 87, 88 nebo 89; nebo (b) lehký řetězec a těžký řetězec obsahující aminokyselinové sekvence SEQ ID NO:118 a popřípadě SEQ ID NO: 125; SEQ ID NO:118 a popřípadě SEQ ID NO: 126; nebo SEQ ID NO:118 a popřípadě SEQ ID NO: 127;
- vektor obsahující a polynukleotid podle vynálezu, s výhodou expresní vektor, výhodněji vektor obsahující polynukleotid podle vynálezu ve funkční asociaci s řídicí sekvencí exprese;

- hostitelskou buňku obsahující polynukleotid podle vynálezu a/nebo vektor podle vynálezu;
- způsob výroby protilátky anti-IL-36R nebo fragmentu vázajícího antigen podle vynálezu, s výhodou způsob rekombinantní produkce zahrnující použití polynukleotidu podle vynálezu, a/nebo vektoru podle vynálezu a/nebo hostitelské buňky podle vynálezu;
- 5 – takový způsob s výhodou zahrnuje kroky (a) kultivaci hostitelské buňky za podmínek umožňujících expresi protilátky anti-IL-36R nebo fragmentu vázajícího antigen a (b) izolaci protilátky anti-IL-36R nebo fragment vázajícího antigen;
- 10 – diagnostickou soupravu obsahující protilátku anti-IL-36R nebo fragment vázajícího antigen podle vynálezu;
- diagnostickou soupravu podle vynálezu, pro použití při způsobu *in vivo* diagnostiky zánětlivého onemocnění, autoimunitního onemocnění, respiračního onemocnění, metabolické poruchy, epiteliálně zprostředkované zánětlivé poruchy, fibrózy, zhoubného nádoru, lupénky, zánětlivého střevního onemocnění, psoriatické artritidy, roztroušené sklerózy, revmatoidní artritidy, COPD, chronického astmatu, ankylózuující spondylitidy, nebo Crohnovy nemoci;
- 15 – *ex vivo* diagnostický způsob zahrnující použití protilátky anti-IL-36R nebo fragmentu vázajícího antigen podle vynálezu;
- *ex vivo* diagnostický způsob podle vynálezu, pro diagnostiku zánětlivého onemocnění, autoimunitního onemocnění, respiračního onemocnění, metabolické poruchy, epiteliálně zprostředkované zánětlivé poruchy, fibrózy, zhoubného nádoru, lupénky, zánětlivého střevního onemocnění, psoriatické artritidy, roztroušené sklerózy, revmatoidní artritidy, COPD, chronického astmatu, ankylózuující spondylitidy, nebo Crohnovy nemoci.
- 20
- 25
- 30

Stručný popis obrázků

[0032]

Obr. 1: Antagonistické ligandy IL-36 (IL-36RA/IL1F5, IL-38/ILF10) inhibují kaskádu signalizace.

Obr. 2: Analýzy genových čipů ukazují, že ligandy IL-36R (IL-36 RA, IL-36 α a IL-36 γ) jsou upregulovány v psoriatické kůži

5 **Obr. 3:** Expresní profil využívající řezy lidské kůže. Formalinem fixované zalité v parafinu s titracemi protilátek použitím protilátky 33D10

Obr. 4: Metoda hodnocení epidermální tloušťky řezů lidské kůže

10 Popis vynálezu

[0033] Tento vynález se týká protilátek anti-IL-36R. V jednom aspektu jsou protilátky podle předkládaného vynálezu pro diagnostické a terapeutické použití, například u lidí.

15 **[0034]** Předkládaný vynález poskytuje protilátky, které se vážou na IL-36R, zejména na lidský IL-36R. Předkládaný vynález se také týká humanizovaných protilátek, které vážou IL-36R. Ve specifických provedeních byla sekvence těchto humanizovaných protilátek identifikována na základě sekvencí určitých vedoucích myších protilátek.

20 **[0035]** Aniž bychom si přáli být vázáni touto teorií, má se za to, že protilátky anti-IL-36R nebo jejich fragmenty vážající antigen se vážou na lidský IL-36R, a tak interferují s vazbou agonistů IL-36, a tím blokují alespoň částečně signální kaskádu z IL-36R k zánětlivým mediátorům. To je znázorněno na obrázku 1.

25 **[0036]** V jednom aspektu jsou protilátky podle předkládaného vynálezu pro použití v modelech lidského onemocnění. IL-36R je také známý jako IL-1RL2 a IL-1Rrp2. Bylo popsáno, že agonistické ligandy IL-36 (α , β , nebo γ) iniciují signální kaskádu zapojením receptoru IL-36, který pak tvoří heterodimer s pomocným proteinem IL-1 receptoru (IL-1 RAcP). Antagonistické ligandy IL-36 (IL-36RA/IL1F5, IL-38/ILF10) inhibují
30 signální kaskádu (viz obrázek 1).

[0037] V jednom aspektu má protilátka anti-IL-36R podle předkládaného vynálezu vysokou molekulární/buněčnou vazebnou účinnost. V jednom aspektu se protilátka anti-IL-36R podle předkládaného vynálezu váže na lidský IL-36R s $K_D < 0,1 \text{ nM}$. V dalším aspektu se protilátka anti-IL-36R podle předkládaného vynálezu, zejména humanizovaná protilátka anti-IL-36R, váže na lidský IL-36R s $K_D < 50 \text{ pM}$. V jednom aspektu se protilátka anti-IL-36R podle předkládaného vynálezu váže na buňky exprimující IL-36R s $EC_{90} < 5 \text{ nM}$.

[0038] V dalším aspektu má protilátka anti-IL-36R podle předkládaného vynálezu vysokou na buňkách založenou účinnost funkčního blokování. V jednom aspektu, protilátka anti-IL-36R podle předkládaného vynálezu blokuje všechny tři agonistické ligandy IL-36R (α , β , γ) při $IC_{90} \leq 5 \text{ nM}$, v buněčných liniích a primárních buňkách souvisejících s onemocněním.

[0039] V jednom aspektu má protilátka anti-IL-36R podle předkládaného vynálezu molekulární/buněčnou vazebnou účinnost a na buňkách založenou účinnost funkčního blokování uvedené výše.

[0040] V jednom aspektu je protilátka anti-IL-36R podle předkládaného vynálezu humanizovaná protilátka. V jednom aspektu je protilátka anti-IL-36R podle předkládaného vynálezu monoklonální protilátka. V jednom aspektu je protilátka anti-IL-36R podle předkládaného vynálezu úplná protilátka. V jednom aspektu je protilátka anti-IL-36R podle předkládaného vynálezu humanizovaná monoklonální protilátka, například úplná humanizovaná monoklonální protilátka.

[0041] Protilátka nebo její fragment vázající antigen podle předkládaného vynálezu rozpoznává specifický "epitop antigenu IL-36R" nebo "epitop IL-36R". Jak se zde používá, tyto termíny se týkají molekuly (např. peptidu) nebo fragmentu molekuly schopné imunoreaktivity s protilátkou anti-IL-36R.

[0042] Epitopy jsou nejčastěji proteiny, krátké oligopeptidy, mimetika oligopeptidů (tj. organické sloučeniny, které napodobují vazebné vlastnosti antigenu IL-36R na protilátky), nebo jejich kombinace. Má se za to, že minimální velikost epitopu peptidu nebo polypeptidu pro

protilátku je přibližně čtyři až pět aminokyselin. Peptidové nebo polypeptidové epitopy obsahují například alespoň sedm aminokyselin nebo například alespoň devět aminokyselin nebo například mezi přibližně 15 až přibližně 20 aminokyselinami. Protože protilátka může rozpoznávat antigenní peptid nebo polypeptid ve své terciární formě, aminokyseliny obsahující epitop nemusí být sousedící a v některých případech nemusí být dokonce na stejném peptidovém řetězci. Epitopy mohou být určeny různými technikami známými v oboru, jako je rentgenová krystalografie, výměnná hmotnostní spektrometrie s vodíkem/deuteriem (HXMS), místně zaměřená mutageneze, alaninová skenovací mutageneze a způsoby screeningu peptidů.

[0043] Obecná struktura protilátek nebo imunoglobulinu je odborníkům v oboru dobře známa. Tyto molekuly jsou heterotetramerní glykoproteiny, obvykle přibližně 150 000 daltonů, složené ze dvou identických lehkých (L) řetězců a dvou identických těžkých (H) řetězců, a obvykle se označují jako protilátky úplné délky. Každý lehký řetězec je kovalentně napojen na těžký řetězec jednou disulfidovou vazbou za vzniku heterodimeru, a heterotetramerní molekula je vytvořena kovalentní disulfidovou vazbou mezi dvěma identickými těžkými řetězci heterodimerů. Ačkoli jsou lehké a těžké řetězce spolu spojeny jednou disulfidovou vazbou, počet disulfidových vazeb mezi dvěma těžkými řetězci se liší podle izotypu imunoglobulinu. Každý těžký a lehký řetězec má také pravidelně rozložené disulfidové můstky uvnitř řetězce. Každý těžký řetězec má na aminokonci variabilní doménu (V_H), následovanou třemi nebo čtyřmi konstantními doménami (C_{H1} , C_{H2} , C_{H3} a C_{H4}), stejně jako oblast pantu mezi C_{H1} a C_{H2} . Každý lehký řetězec má dvě domény, aminokoncovou variabilní doménu (V_L) a karboxykoncovou konstantní doména (C_L). V_L doména se nekovalentně asociuje s V_H doménou, zatímco C_L doména je obvykle kovalentně navázána na C_{H1} doménu prostřednictvím disulfidové vazby. Předpokládá se, že rozhraní mezi variabilními doménami lehkého a těžkého řetězce tvoří konkrétní aminokyselinové zbytky (Chothia et al., 1985, J. Mol. Biol. 186: 651-663). Variabilní domény jsou zde také označovány jako variabilní oblasti.

- [0044]** Některé domény v rámci variabilních domén se mezi různými protilátkami značně liší, tj. jsou “hypervariabilní“. Tyto hypervariabilní domény obsahují zbytky, které jsou přímo zapojeny do vazby a specifity každé konkrétní protilátky pro její specifickou antigenní determinantu. Hypervariabilita, ve variabilních doménách jak lehkého řetězce, tak těžkého řetězce, je koncentrována do tří segmentů známých jako oblasti určující komplementaritu (CDR) nebo hypervariabilní smyčky (HVL). CDR jsou definovány porovnáním sekvencí v Kabat et al., 1991, In: Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md., zatímco HVL (zde také označované jako CDR) jsou strukturálně definovány podle trojrozměrné struktury variabilní domény, jak je popsáno v Chothia and Lesk, 1987, J. Mol. Biol. 196: 901-917. Výsledkem těchto dvou metod je mírně odlišná identifikace CDR. Jak je definováno Kabatem, CDR-L1 je umístěna na přibližně zbytcích 24-34, CDR-L2 na přibližně zbytcích 50-56, a CDR-L3 na přibližně zbytcích 89-97 ve variabilní doméně lehkého řetězce; CDR-H1 je umístěna na přibližně zbytcích 31-35, CDR-H2 na přibližně zbytcích 50-65 a CDR-H3 na přibližně zbytcích 95-102 ve variabilní doméně těžkého řetězce. Přesná čísla zbytků, které zahrnují konkrétní CDR, se budou lišit v závislosti na sekvenci a velikosti CDR. Odborníci v oboru mohou rutinně určit, které zbytky obsahují konkrétní CDR vzhledem k aminokyselinové sekvenci variabilní oblasti protilátky. CDR1, CDR2, CDR3 těžkých a lehkých řetězců proto definují jedinečné a funkční vlastnosti specifické pro danou protilátku.
- [0045]** Tyto tři CDR v každém z těžkých a lehkých řetězců jsou odděleny oblastmi základní struktury (FR), které obsahují sekvence, které mají sklon být méně variabilní. Od aminového konce po karboxylový konec variabilních domén těžkého a lehkého řetězce jsou FR a CDR uspořádány v pořadí: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 a FR4. Konfigurace FR ve velké míře β -listu přivede CDR v každém z řetězců do vzájemné těsné blízkosti, stejně jako k CDR z druhého řetězce. Výsledná konformace přispívá k vazebnému místu pro antigen (viz Kabat et al.,

1991, NIH Publ. No. 91-3242, Vol. I, pages 647-669), ačkoli ne všechny zbytky CDR se nutně přímo podílejí na vazbě antigenu.

[0046] Zbytky FR a konstantní domény Ig se přímo nepodílejí na vazbě antigenu, ale přispívají k vázání antigenu a/nebo zprostředkují efektorovou funkci protilátky. Má se za to, že některé zbytky FR mají významný účinek na vazbu antigenu alespoň třemi způsoby: nekovalentní vazbou přímo na epitop, interakcí s jedním nebo více zbytky CDR, a ovlivněním rozhraní mezi těžkými a lehkými řetězci. Konstantní domény se přímo nepodílejí na vázání antigenu, ale zprostředkují různé efektorové funkce Ig, jako je účast protilátky na buněčné cytotoxicitě závislé na protilátce (ADCC), cytotoxicitě závislé na komplementu (CDC) a buněčné fagocytóze závislé na protilátce (ADCP).

[0047] Lehké řetězce imunoglobulinů obratlovců jsou přiřazeny k jedné ze dvou jasně odlišných tříd, kappa (κ) a lambda (λ), na základě aminokyselinové sekvence konstantní domény. Pro srovnání, těžké řetězce savčích imunoglobulinů jsou zařazeny do jedné z pěti hlavních tříd podle sekvence konstantních domén: IgA, IgD, IgE, IgG a IgM. IgG a IgA se dále dělí na podtřídy (izotypy), např. IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄, IgA₁ a IgA₂. Konstantní domény těžkého řetězce, které odpovídají různým třídám imunoglobulinů, se nazývají α , δ , ϵ , γ , a μ . Struktury podjednotek a trojrozměrné konfigurace tříd nativních imunoglobulinů jsou dobře známy.

[0048] Termíny "protilátka", "protilátka anti-IL-36R", "humanizovaná protilátka anti-IL-36R", "humanizovaná epitopová protilátka anti-IL-36R" a "variantní humanizovaná epitopová protilátka anti-IL-36R" konkrétně zahrnují monoklonální protilátky (včetně úplných monoklonálních protilátek), polyklonální protilátky, multispecifické protilátky (např. bispecifické protilátky) a fragmenty protilátek, jako jsou variabilní domény a další části protilátek, které vykazují požadovanou biologickou aktivitu, např. vazbu IL-36R. Termín "monoklonální protilátka" (mAb) označuje protilátku, která je vysoce specifická, zaměřená proti jediné antigenní determinantě, "epitopu". Modifikátor "monoklonální" tedy označuje protilátky zaměřené proti identickému epitopu, a není třeba jej chápat

tak, že by vyžadoval produkci protilátky jakýmkoli konkrétním způsobem. Mělo by být zřejmé, že monoklonální protilátky mohou být vyrobeny jakoukoli technikou nebo metodologií známou v oboru; včetně např. hybridomové metody (Kohler et al., 1975, Nature 256:495) nebo metodami rekombinantní DNA známými v oboru (viz např. US pat. č. 4,816,567), nebo způsoby izolace monoklonálních protilátek rekombinantně produkovaných za použití fágových knihoven protilátek při použití technik popsanych v Clackson et al., 1991, Nature 352: 624-628, a Marks et al., 1991, J. Mol. Biol. 222: 581-597.

10 **[0049]** Termín “monomer“ označuje homogenní formu protilátky. Například pro protilátku plné délky znamená monomer monomerní protilátku, která má dva identické těžké řetězce a dva identické lehké řetězce.

15 **[0050]** Chimerní protilátky se skládají z variabilních oblastí těžkého a lehkého řetězce protilátky z jednoho druhu (např. savce jiného než člověk, jako je myš) a konstantních oblastí těžkého a lehkého řetězce protilátky z jiného duhu (např. lidské) a mohou být získané napojením sekvencí DNA kódujících variabilní oblasti protilátky z prvního druhu (např. myši) na sekvence DNA pro konstantní oblasti protilátky z druhého (např. lidského) druhu, a transformací hostitele expresním vektorem obsahujícím tyto spojené sekvence za účelem umožnění produkce chimerní protilátky. Alternativně by chimerní protilátka mohla být také ta, ve které je jedna nebo více oblastí nebo domén těžkého a/nebo lehkého řetězce identická s, homologní s, nebo varianta odpovídající sekvence v monoklonální protilátce z jiné třídy nebo izotypu imunoglobulinu, nebo z konvenční nebo zárodečné sekvence. Chimerní protilátky mohou zahrnovat fragmenty takových protilátek, za předpokladu, že fragment protilátky vykazuje požadovanou biologickou aktivitu své výchozí protilátky, například se váže na stejný epitop (viz např. US pat. č. 20 4,816,567; a Morrison et al., 1984, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81: 6851-6855).

30 **[0051]** Termíny “fragment protilátky“, “fragment protilátky anti-IL-36R“, “fragment epitopové protilátky anti-IL-36R“, “humanizovaný fragment

protilátky anti-IL-36R“, “humanizovaný fragment epitopové protilátky anti-IL-36R“, “variantní humanizovaný fragment epitopové protilátky anti-IL-36R“ označuje část úplné protilátky anti-IL-36R, ve které je zachována variabilní oblast nebo funkční schopnost, například specifická vazba epitopu IL-36R. Příklady fragmentů protilátek zahrnují, bez omezení, fragment Fab, Fab', F(ab')₂, Fd, Fv, scFv a scFv-Fc, protilátku typu diabody, lineární protilátku, jednořetězcovou protilátku, minibody, protilátku diabody vytvořenou z fragmentů protilátky a multispecifické protilátky vytvořené z fragmentů protilátky.

10 **[0052]** Protilátky plné délky mohou být ošetřeny enzymy, jako je papain nebo pepsin, za vytvoření použitelných fragmentů protilátek. Štěpení papainem se používá k produkci dvou identických fragmentů protilátky vzájemných antigen nazývaných fragmenty “Fab“, každý s jediným místem vzájemným antigen, a zbytkového fragmentu “Fc“. Fragment Fab také
15 obsahuje konstantní doménu lehkého řetězce a doménu C_{H1} těžkého řetězce. Ošetření pepsinem poskytne fragment F(ab')₂, který má dvě místa vzájemný antigen a je stále schopen zesíťovat antigen.

[0053] Fragmenty Fab'se liší od fragmentů Fab přítomností dalších zbytků zahrnujících jeden nebo více cysteinů z pantové oblasti protilátky
20 na C-konci domény C_{H1}. Fragmenty protilátky F(ab')₂ jsou páry Fab'fragmentů spojených cysteinovými zbytky v pantové oblasti. Jsou také známy jiné chemické vazby fragmentů protilátek.

[0054] Fragment“Fv“ obsahuje kompletní antigen-rozpoznávací a vazebné místo sestávající z dimeru variabilní domény jednoho těžkého a
25 jednoho lehkého řetězce v těsném nekovalentním spojení. V této konfiguraci interagují tři CDR každé variabilní domény, aby definovaly místo vzájemný antigen na povrchu dimeru V_H-V_L. Souhrnně uděluje protilátce specifitu vzájemný antigen šest CDR.

[0055] Fragment protilátky “jednořetězcový Fv“ nebo “scFv“ je
30 jednořetězcovou variantou Fv, obsahující domény V_H a V_L protilátky, kde domény jsou přítomny v jediném polypeptidovém řetězci. Jednořetězcový Fv je schopen rozpoznávat a vázat antigen. Polypeptid scFv může případně také obsahovat polypeptidový linker umístěný mezi doménami

V_H a V_L , aby se usnadnila tvorba požadované trojrozměrné struktury pro vazbu antigenu fragmentem scFv (viz např. Puckthun, 1994, In The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, Vol. 113, Rosenberg and Moore eds., Springer-Verlag, New York, pp. 269-315).

5 **[0056]** “Diabody“ označuje malé fragmentůy protilátek se dvěma místy vázajícími antigen, přičemž tyto fragmenty obsahují variabilní doménu těžkého řetězce (V_{HH}) připojenou na variabilní doménu lehkého řetězce (V_L) ve stejném polypeptidovém řetězci (V_H-V_L nebo V_L-V_H). Diabody jsou podrobněji popsány např. v Holliger et al. (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 6444-6448.

10 **[0057]** Mezi další uznávané fragmenty protilátek patří fragmenty, které obsahují pár tandemových segmentů Fd ($V_H-C_{H1}-V_H-C_{H1}$) za vzniku páru oblastí vázajících antigen. Tyto “lineární protilátky“ mohou být bispecifické nebo monospecifické, jak je popsáno například v Zapata et al. 1995, Protein Eng. 8 (10): 1057-1062.

15 **[0058]** “Humanizovaná protilátka“ nebo “fragment humanizované protilátky“ je specifický typ chimérické protilátky, která obsahuje variantu aminokyselinové sekvence imunoglobulinu nebo její fragment, která je schopná vázat se na předem určený antigen, a která obsahuje jednu nebo více FR, které mají v podstatě aminokyselinovou sekvenci lidského imunoglobulinu a jednu nebo více CDR majících v podstatě aminokyselinovou sekvenci imunoglobulinu odlišného od člověka. Tato aminokyselinová sekvence odlišná od člověka často označovaná jako “importovaná“ sekvence je typicky převzata z “importované“ domény protilátky, zejména variabilní domény. Humanizovaná protilátka obecně zahrnuje alespoň CDR nebo HVL protilátky odlišné od člověka, vložené mezi oblasti FR variabilní domény lidského těžkého nebo lehkého řetězce. Předkládaný vynález popisuje specifické humanizované protilátky anti-IL-36R, které obsahují CDR odvozené z myších monoklonálních protilátek nebo humanizované CDR vložené mezi oblasti FR variabilních domén těžkého a lehkého řetězce lidské zárodečné sekvence. Rozumí se, že určité myší zbytky FR mohou být důležité pro funkci humanizovaných protilátek, a proto určité zbytky variabilních

20

25

30

domén těžkého a lehkého řetězce lidské zárodečné linie jsou modifikovány tak, aby byly stejné jako zbytky odpovídající myší sekvence.

[0059] V dalším aspektu humanizovaná protilátka anti-IL-36R obsahuje v
5 podstatě všechny z alespoň jedné, a obvykle dvou variabilních domén (jako jsou obsaženy například ve fragmentech Fab, Fab', F(ab')₂, Fabc a Fv), ve kterých všechny nebo v podstatě všechny CDR odpovídají fragmentům imunoglobulinu odlišného od člověka, a konkrétně v tomto dokumentu, všechny CDR jsou myší nebo humanizované sekvence, jak
10 je podrobně popsáno zde níže, a všechny nebo v podstatě všechny FR jsou ty z konvenčního lidského imunoglobulinu nebo zárodečné sekvence. V dalším aspektu humanizovaná protilátka anti-IL-36R také zahrnuje alespoň část imunoglobulinové oblasti Fc, obvykle oblasti lidského imunoglobulinu. Obvykle bude protilátka obsahovat jak lehký
15 řetězec, tak alespoň variabilní doménu těžkého řetězce. Protilátka může také zahrnovat podle potřeby jednu nebo více oblastí C_{H1}, pantu, C_{H2}, C_{H3} a/nebo C_{H4} těžkého řetězce.

[0060] Humanizovaná protilátka anti-IL-36R může být vybrána z jakékoli třídy imunoglobulinů, včetně IgM, IgG, IgD, IgA a IgE, a jakéhokoli
20 izotypu, včetně IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄, IgA₁ a IgA₂. Konstantní doména může být například konstantní doména fixující komplement, kde je žádoucí, aby humanizovaná protilátka vykazovala cytotoxickou aktivitu, a izotyp je typicky IgG₁. Pokud taková cytotoxická aktivita není žádoucí, může být konstantní doména jiného izotypu, např. IgG₂. Alternativní
25 humanizovaná protilátka anti-IL-36R může zahrnovat sekvence z více než jedné třídy nebo izotypu imunoglobulinu, a výběr konkrétních konstantních domén pro optimalizaci požadovaných efektorových funkcí spadá do běžných znalostí v oboru. Ve specifických provedeních předkládaný vynález poskytuje protilátky, kterými jsou protilátky IgG₁, a
30 konkrétněji jsou to protilátky IgG₁, ve kterých dochází k vyřazení efektorových funkcí.

[0061] Oblasti FR a CDR nebo HVL humanizované protilátky anti-IL-36R nemusí přesně odpovídat výchozím sekvencím. Například jeden nebo

více zbytků v importované CDR nebo HVL nebo konvenční nebo zárodečné sekvenci FR mohou být změněny (např. mutagenizovány) substitucí, inzercí nebo delecí tak, že výsledný aminokyselinový zbytek již není identický s původním zbytkem v odpovídající poloze ve výchozí sekvenci, ale protilátka si přesto zachovává funkci vazby na IL-36R.

5 Taková změna obvykle nebude rozsáhlá, a bude to konzervativní změna. Obvykle alespoň 75 % zbytků humanizované protilátky bude odpovídat zbytkům sekvence výchozí FR konvenční nebo zárodečné linie a importované CDR, častěji alespoň 90 % a nejčastěji více než 95 % nebo

10 více než 98 % nebo více než 99 %.

[0062] Imunoglobulinové zbytky, které ovlivňují rozhraní mezi variabilními oblastmi těžkého a lehkého řetězce („rozhraní V_L - V_H “) jsou ty, které ovlivňují vzájemnou blízkost nebo orientaci dvou řetězců. Některé zbytky, které mohou být zapojeny do meziřetězcových interakcí,

15 zahrnují zbytky V_L 34, 36, 38, 44, 46, 87, 89, 91, 96 a 98 a zbytky V_H 35, 37, 39, 45, 47, 91, 93, 95, 100 a 103 (s použitím systému číslování uvedeného v Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest (National Institutes of Health, Bethesda, Md., 1987)). US pat. č. 6,407,213 také diskutuje, že do této interakce mohou být také zapojeny

20 zbytky jako zbytky V_L 43 a 85 a zbytky V_H 43 a 60. I když jsou tyto zbytky ukázány pouze pro lidský IgG, jsou použitelné pro různé druhy. Důležité zbytky protilátek, u kterých se důvodně očekává, že budou zapojeny do meziřetězcových interakcí, jsou vybrány pro substituci do konvenční sekvence.

25 **[0063]** Termíny “konvenční sekvence“ a “konvenční protilátka“ se týkají aminokyselinové sekvence, která obsahuje nejčastěji se vyskytující aminokyselinový zbytek na každém místě ve všech imunoglobulinech jakékoli konkrétní třídy, izotypu nebo podjednotkové struktury, např. variabilní doméně lidského imunoglobulinu. Konvenční sekvence může

30 být založena na imunoglobulinech konkrétního druhu nebo mnoha druhů. Pod pojmem “konvenční“ sekvence, struktura nebo protilátka se rozumí konvenční lidská sekvence, jak je popsána v určitých provedeních, a odkazuje na aminokyselinovou sekvenci, která obsahuje nejčastěji se

vyskytující aminokyselinové zbytky na každém místě ve všech lidských imunoglobulinech jakéhokoli konkrétní třídy, izotypu nebo podjednotkové struktury. Konvenční sekvence tedy obsahuje aminokyselinovou sekvenci, který má v každé poloze aminokyselinu, která je přítomna v
5 jednom nebo více známých imunoglobulinech, ale která nemusí přesně duplikovat celou aminokyselinovou sekvenci nějakého jednotlivého imunoglobulinu. Konvenční sekvence variabilní oblasti není získána z žádné přirozeně produkované protilátky nebo imunoglobulinu. Kabat et al., 1991, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed.
10 Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md., a její varianty.

[0064] Lidské zárodečné sekvence se přirozeně nacházejí v lidské populaci. Kombinace těchto zárodečných genů vytváří rozmanitost protilátek. Zárodečné protilátkové sekvence lehkého řetězce protilátky
15 pocházejí z konzervovaných lidských zárodečných kappa nebo lambda v-genů a j-genů. Podobně sekvence těžkého řetězce pocházejí z zárodečných v-, d- a j-genů (LeFranc, M-P and LeFranc, G, "The Immunoglobulin Facts Book" Academic Press, 2001).

[0065] Jak se zde používá, "varianta", "variantní anti-IL-36R",
20 "humanizovaná variantní anti-IL-36R" nebo "variantní humanizovaná anti-IL-36R" se každá týká humanizované protilátky anti-IL-36R, která má na alespoň lehkém řetězci variabilní myší CDR. Varianty zahrnují ty, které mají jednu nebo více aminokyselinových změn v jedné nebo obou variabilních doménách lehkého řetězce nebo těžkého řetězce, za
25 předpokladu, že změna aminokyseliny podstatně neovlivňuje vazbu protilátky na IL-36R.

[0066] "Izolovaná" protilátka je protilátka, která byla identifikována a separována a/nebo izolována ze složky svého přirozeného prostředí. Kontaminujícími složkami přirozeného prostředí protilátky jsou ty
30 materiály, které mohou interferovat s diagnostickým nebo terapeutickým použitím protilátky, a mohou to být enzymy, hormony nebo jiné proteinové nebo neproteinové rozpuštěné látky. V jednom aspektu bude

protilátka vyčištěná alespoň na více než 95 % hmotnostních izolace protilátky.

[0067] Izolovaná protilátka zahrnuje protilátku in situ v rekombinantních buňkách, ve kterých je produkována, protože alespoň jedna složka 5 přirozeného prostředí protilátky nebude přítomna. Obvykle však bude izolovaná protilátka připravena alespoň jedním purifikačním krokem, ve kterém je odstraněn rekombinantní buněčný materiál.

[0068] Výraz “účinnost protilátky“ označuje faktory, které přispívají k rozpoznávání antigenu protilátkou nebo k účinnosti protilátky in vivo. 10 Změny v aminokyselinové sekvenci protilátky mohou ovlivnit vlastnosti protilátky, jako je poskládání, a mohou ovlivnit fyzikální faktory, jako jsou počáteční rychlost vazby protilátky na antigen (k_A), disociační konstanta protilátky z antigenu (k_d), afinitní konstanta protilátky pro antigen (K_d), konformace protilátky, stabilita proteinu a poločas protilátky.

[0069] Termín “epitopově značený“, jak je používán v tomto dokumentu, se týká protilátky anti-IL-36R fúzované s “epitopovou značkou“. “Epitopová značka“ je polypeptid, který má dostatečný počet aminokyselin pro poskytnutí epitopu pro produkci protilátky, avšak je navržen tak, že neinterferuje s požadovanou aktivitou humanizované 20 protilátky anti-IL-36R. Epitopová značka je obvykle dostatečně jedinečná, takže protilátka vytvořená proti epitopové značce v podstatě zkříženě nereaguje s jinými epitopy. Vhodné polypeptidy značek obecně obsahují alespoň 6 aminokyselinových zbytků a obvykle obsahují přibližně 8 až 50 aminokyselinových zbytků nebo přibližně 9 až 30 zbytků. Příklad 25 epitopových značek a protilátky, která se váže na epitop, zahrnují polypeptid HA značek chřipky a jeho protilátku 12CA5 (Field et al., 1988 Mol. Cell. Biol. 8: 2159-2165; značku c-myc a protilátky proti ní 8F9, 3C7, 6E10, G4, B7 a 9E10 (Evan et al., 1985, Mol. Cell. Biol. 5 (12): 3610-3616; a glykoprotein D (gD) viru Herpes simplex a jeho protilátku 30 (Paborsky et al. 1990, Protein Engineering 3 (6): 547-553). V některých provedeních je epitopovou značkou “epitop vázající se na záchranný (salvage) receptor“. Jak se zde používá, výraz “epitop vázající se na záchranný receptor“ označuje epitop oblasti Fc molekuly IgG (jako je

IgG₁, IgG₂, IgG₃ nebo IgG₄), který je zodpovědný za prodloužení sérového poločasu molekuly IgG in vivo.

[0070] V některých provedeních mohou být protilátky podle předkládaného vynálezu konjugovány s cytotoxickým činidlem. To je jakákoli látka, která inhibuje nebo zabraňuje funkci buněk a/nebo způsobuje destrukci buněk. Tento termín má zahrnovat radioaktivní izotopy (jako je I¹³¹, I¹²⁵, Y⁹⁰ a Re¹⁸⁶), chemoterapeutická látky a toxiny, jako jsou enzymaticky aktivní toxiny bakteriálního, houbového, rostlinného nebo živočišného původu, a jejich fragmenty. Takové cytotoxická látky mohou být spojeny s humanizovanými protilátkami podle předkládaného vynálezu za použití standardních postupů a použity například k léčení pacienta indikovaného k terapii protilátkou.

[0071] "Chemoterapeutická látka" je chemická sloučenina použitelná při léčení zhoubných nádorů. Existuje mnoho příkladů chemoterapeutických látek, které by mohly být konjugovány s terapeutickými protilátkami podle předkládaného vynálezu. Příklady takových chemoterapeutických látek zahrnují alkylační látky, jako je thiotepa a cyklofosfamid; alkylsulfonáty, jako je busulfan, improsulfan a piposulfan; aziridiny jako benzodopa, karboquon, meturedopa a uredopa; ethyleniminy a methylamelaminy včetně altretaminu, triethylenemelaminu, trietylenfosforamidu, triethylenethiofosforamidu a trimethylolomelaminu; acetogeniny (zejména bullatacin a bullatacinon); kamptothecin (včetně syntetického analogu topotekanu); bryostatin; callystatin; CC-1065 (včetně jeho syntetických analogů adozelesinu, karzelesinu a bizelesinu); kryptofyciny (zejména kryptofycin 1 a kryptofycin 8); dolastatin, auristatiny (včetně analogů monomethyl-auristatinu E a monomethyl-auristatinu F); duokarmycin (včetně syntetických analogů, KW-2189 a CBI-TMI); eleutherobin; pankratiastatin; sarcodictyin; spongistatin; dusíkaté yperity, jako je chlorambucil, chlomafozin, cholofosfamid, estramustin, ifosfamid, mechlorethamin, hydrochlorid mechlorethamin oxid, melfalan, novembichin, fenesterin, prednimustin; trofosfamid, uramustin; nitrosomočoviny jako karmustin, chlorozotocin, fotemustin, lomustin, nimustin, ranimustin; antibiotika, jako jsou enediynová antibiotika (např.

calicheamicin, zejména calicheamicin gamma1I a calicheamicin phil1, viz například Agnew, Chem. Intl. Ed. Engl., 33: 183-186; dynemicin, včetně dynemicinu A; bisfosfonáty, jako je klodronát; esperamicin; stejně jako neokarzinostatinový chromofor a příbuzné chromoproteinové enedinové antibiotické chromofory), aclacinomysiny, aktinomycin, aauthramycin, azaserin, bleomyciny, kaktinomycin, chromomycin, dactinomycin, carabycin, kaminomycin, karzinofilin, chromomyciny, daktinomycin, daunorubicin, detorubicin, 6-diazo-5-oxo-L-norleucine, doxorubicin (Adriamycin™) (včetně morfolino-doxorubicinu, kyanomorfolino-doxorubicinu, 2-pyrrolino-doxorubicinu a deoxydoxorubicinu), epirubicin, esorubicin, idarubicin, marcellomycin, mitomycininy, jako mitomycin C, mykofenolová kyselina, nogalamycin, olivomyciny, peplomycin, potfiromycin, puromycin, quelamycin, rodorubicin, streptonigrin, streptozocin, tubercidin, ubenimex, zinostatin, zorubicin; antimetabolity, jako je methotrexát a 5-fluorouracil (5-FU); analogy kyseliny listové jako je denopterin, methotrexát, pteropterin, trimetrexát; analogy purinu, jako je fludarabin, 6-merkaptopurin, thiamiprin, thioguanin; analogy pyrimidinů jako ancitabin, azacitidin, 6-azauridin, karmofur, cytarabin, dideoxyuridin, doxifluridin, enocitabin, floxuridin; androgeny, jako je kalusteron, dromostanolon propionát, epitiostanol, mepitiostan, testolakton; antiadrenální látky, jako je aminoglutethimid, mitotan, trilostan; doplňovač kyseliny listové, jako je kyselina frolinová; aceglaton; aldofosfamidový glykosid; kyselina aminolevulinová; eniluracil; amsakrin; bestrabucil; bisantren; edatraxát; defofamin; demokolcin; diaziqun; elfomithin; eliptinium acetát; epothilon; etoglucid; dusičnan gallitý; hydroxymočovina; lentinan; lonidamin; maytansinoidy, jako je maytansin a ansamitociny; mitoguazon, mitoxantron; mopidamol; nitracrine; pentostatin; fenamet; pirarubicin; losoxantron; kyselina podofylinová; 2-ethylhydrazid; prokarbazin; PSK®; razoxan; rhizoxin; sizofuran; spirogermanium; kyselina tenuazonová; triaziqun; 2,2',2"-trichlorotriethylamin; trichotheceny (zejména toxin T-2, verracurin A, roridin A a anguidin); urethan; vindesin; dakarbazin; mannomustin; mitabronitol; mitolactol; pipobroman; gacytosin; arabinosid („Ara-C“); cyklofosfamid; thiotepa; taxoidy, např. paklitaxel (TAXOL®, Bristol-Myers

- Squibb Oncology, Princeton, NJ) a docetaxel (TAXOTERE®, Rhone-Poulenc Rorer, Antony, Francie); chlorambucil; gemcitabin (Gemzar™); 6-thioguanin; merkaptopurin; methotrexát; analogy platiny, jako je cisplatina a karboplatina; vinblastin; platina; etoposid (VP-16); ifosfamid;
- 5 mitoxantron; vincristin; vinorelbin Navelbine™); novantron; teniposid; edatrexate; daunomycin; aminopterin; xeloda; ibandronát; CPT-11; inhibitor topoisomerázy RFS 2000; difluormethylornitin (DMFO); retinoidy, jako je kyselina retinová, kapecitabin, a farmaceuticky přijatelné soli, kyseliny nebo deriváty kterékoli z výše uvedených látek.
- 10 Do této definice jsou také zahrnuty antihormonální látky, které působí regulaci nebo inhibici hormonálního působení na nádory, jako jsou antiestrogeny a selektivní modulátory receptoru estrogenu (SERM), včetně například tamoxifenu (včetně Nolvadex™), raloxifenu, droloxifenu, 4-hydroxytamoxifenu, trioxifenu, keoxifenu, LY117018,
- 15 onapristonu a toremifenu (Fareston™); inhibitory aromatázy, které inhibují enzym aromatázu, která reguluje produkci estrogenu v nadledvinách, jako například 4(5)-imidazoly, aminoglutethimid, megestrol acetát (Megace™), exemestan, formestan, fadrozol, vorozol (Rivisor™), letrozol (Femara™) a anastrozol (Arimidex™); a antiandrogeny, jako je
- 20 flutamid, nilutamid, bicalutamid, leuprolid a goserelin; a farmaceuticky přijatelné soli, kyseliny nebo deriváty kterékoli z výše uvedených. Jakákoli jedna nebo více z těchto látek může být konjugována s humanizovanými protilátkami podle předkládaného vynálezu za poskytnutí použitelné terapeutické látky pro léčení různých poruch.
- 25 **[0072]** Protilátky mohou také být konjugovány na proléčiva. "Proléčivo" je prekurzorová nebo derivátová forma farmaceuticky účinné látky, která je méně cytotoxická pro nádorové buňky ve srovnání s výchozím léčivem, a je schopna být enzymaticky aktivována nebo převédena na aktivnější formu. Viz například Wilman, 1986, "Prodrugs in Cancer Chemotherapy",
- 30 In Biochemical Society Transactions, 14, pp. 375-382, 615th Meeting Belfast and Stella et al., 1985, "Prodrugs: A Chemical Approach to Targeted Drug Delivery, In: "Directed Drug Delivery, Borchardt et al., (ed.), pp. 247-267, Humana Press. Použitelná proléčiva zahrnují, bez

omezení, proléčiva obsahující fosfát, proléčiva obsahující thiofosfát, proléčiva obsahující sulfát, proléčiva obsahující peptidy, proléčiva modifikovaná D-aminokyselinami, glykosylovaná proléčiva, proléčiva obsahující β -laktam, případně substituovaná proléčiva obsahující fenoxycetamid a případně substituovaná proléčiva obsahující fenylacetamid, 5-fluorocytosin a jiná proléčiva s obsahem 5-fluorouridinu, která mohou být přeměněna na aktivnější cytotoxické volné léčivo. Příklady cytotoxických léčiv, která mohou být derivatizována do formy proléčiv, zahrnují, bez omezení, chemoterapeutické látky popsané výše.

- 10 **[0073]** Pro diagnostické i terapeutické monitorovací účely mohou být protilátky podle vynálezu také konjugovány k značce, buď samotné značce nebo značce a dalšímu druhému činidlu (proléčivo, chemoterapeutické látka a podobně). Značka, na rozdíl od ostatních druhých látek, označuje látku, která je detekovatelnou sloučeninou nebo směsí, a může být konjugována přímo nebo nepřímo s humanizovanou protilátkou podle předkládaného vynálezu. Značka může být sama detekovatelná (např. radioizotopové značky nebo fluorescenční značky) nebo, v případě enzymatické značky, může katalyzovat chemickou změnu substrátové sloučeniny nebo směsi, která je detekovatelná.
- 15 Značená humanizovaná protilátka anti-IL-36R může být připravena a použita v různých aplikacích, včetně in vitro a in vivo diagnostiky.

[0074] Protilátky podle předkládaného vynálezu mohou být formulovány jako součást lipozomálního přípravku, aby se ovlivnilo jejich dodání in vivo. "Lipozom" je malý váček složený z různých typů lipidů, fosfolipidů a/nebo povrchově aktivních látek. Lipozomy jsou použitelné pro dodávání savci sloučeniny nebo formulace, jako je zde popsaná humanizovaná protilátka anti-IL-36R, volitelně vázaná na nebo v kombinaci s jedním nebo více farmaceuticky aktivními činidly a/nebo značkami. Složky lipozomu jsou obvykle uspořádány ve dvouvrstvé formaci podobné lipidovému uspořádání biologických membrán.

[0075] Některé aspekty předkládaného vynálezu se týkají izolovaných nukleových kyselin, které kódují humanizované protilátky nebo fragmenty vázající antigen podle předkládaného vynálezu. "Izolovaná" molekula

nukleové kyseliny je molekula nukleové kyseliny, která je identifikována a separována od alespoň jedné kontaminující molekuly nukleové kyseliny, se kterou je obvykle spojena v přírodním zdroji nukleové kyseliny protilátky. Izolovaná molekula nukleové kyseliny se odlišuje od molekuly nukleové kyseliny, tak jak existuje v přírodních buňkách.

[0076] V různých aspektech předkládaného vynálezu bude jedna nebo více domén humanizovaných protilátek rekombinantně exprimována. Taková rekombinantní exprese může využívat jednu nebo více kontrolních sekvencí, tj. polynukleotidových sekvencí nezbytných pro expresi operativně spojené kódující sekvence v konkrétním hostitelském organismu. Kontrolní sekvence vhodné pro použití v prokaryotních buňkách zahrnují například sekvence promotoru, operátoru a vazebného místa ribozomu. Eukaryotní kontrolní sekvence zahrnují, ale nejsou omezeny na promotory, polyadenylační signály a enhancery (zesilovače). Tyto kontrolní sekvence mohou být použity pro expresi a produkci humanizované protilátky anti-IL-36R v prokaryotních a eukaryotních hostitelských buňkách.

[0077] Sekvence nukleové kyseliny je “operativně spojena“, když je umístěna do funkčního vztahu s jinou sekvencí nukleové kyseliny. Například presekvence nebo sekreční vedoucí sekvence nukleové kyseliny je operativně spojena s nukleovou kyselinou kódující polypeptid, pokud je exprimován jako preprotein, který se účastní sekrece polypeptidu; promotor nebo enhancer je operativně spojen s kódující sekvencí, pokud ovlivňuje transkripci sekvence; nebo vazebné místo pro ribozom je operativně spojeno s kódující sekvencí, pokud je umístěno tak, aby usnadnilo translaci. Obecně “operabilně spojená“ znamená, že spojované sekvence DNA jsou sousedící a v případě sekreční vedoucí sekvence sousedící a ve čtecím rámci. Enhancery jsou však volitelně sousedící. Propojení lze provést ligací na vhodných restričních místech. Pokud taková místa neexistují, lze použít syntetické oligonukleotidové adaptéry nebo linkery.

[0078] Jak se zde používá, výrazy “buňka“, “buněčná linie“ a “buněčná kultura“ se používají zaměnitelně, a všechna taková označení zahrnují

jejich potomstvo. "Transformanty" a "transformované buňky" tedy zahrnují primární předmětnou buňku a kultury z ní odvozené bez ohledu na počet přenosů.

5 **[0079]** Termín "savec" pro účely léčení se vztahuje na jakékoli živočicha klasifikovaného jako savec, včetně lidí, domácích a hospodářských zvířat a zvířat v zoo, sportovních nebo mazlíčků, jako jsou psi, koně, kočky, krávy a podobně. Výhodně je savec člověk.

10 **[0080]** "Porucha", jak se zde používá, je jakýkoli stav, který by měl prospěch z léčení zde popsanou humanizovanou protilátkou anti-IL-36R. To zahrnuje chronické a akutní poruchy nebo nemoci, včetně těch patologických stavů, které předurčují savce k dané poruše. Neomezující příklady nebo poruchy, které se zde mají léčit, zahrnují zánětlivé, angiogenní, autoimunitní a imunologické poruchy, respirační poruchy, zhoubné nádory, hematologické malignity, benigní a maligní nádory, 15 leukémie a lymfoidní malignity.

[0081] Pojmy "zhoubný nádor" a "kancerózní" označují nebo popisují fyziologický stav u savců, který je typicky charakterizován neregulovaným buněčným růstem. Příklady zhoubných nádorů zahrnují, bez omezení, karcinom, lymfom, blastom, sarkom a leukémii.

20 **[0082]** Porucha spojená s IL-36R zahrnuje onemocnění a poruchy imunitního systému, jako jsou autoimunitní poruchy a zánětlivé poruchy. Takové stavy zahrnují, ale bez omezení, revmatoidní artritidu (RA), systémový lupus erythematoses (SLE), sklerodermii, Sjogrenův syndrom, roztroušenou sklerózu, psoriázu, psoriatickou artritidu, zánětlivé střevní 25 onemocnění (např. ulcerativní kolitidu a Crohnovu chorobu), plicní zánět, astma, idiopatickou trombocytopenickou purpuru (ITP), epiteliální zánětlivé poruchy, fibrózu a ankylozující spondylitidu.

[0083] Pojem "intravenózní infuze" se týká zavedení látky do žíly pacienta zvířete nebo člověka po dobu delší než přibližně 15 minut, 30 obvykle mezi přibližně 30 až 90 minutami.

[0084] Termín “intravenózní bolus“ nebo “intravenózní vstřík“ se týká podávání léčiva do žíly zvířete nebo člověka tak, že tělo dostane léčivo přibližně za 15 minut nebo méně, obvykle za 5 minut nebo méně.

5 **[0085]** Termín “subkutánní podávání“ označuje zavedení látky pod kůži zvířete nebo člověka, výhodně do kapsy mezi kůží a základní tkání, relativně pomalým a proslouženým dodáváním z lékové nádoby. Kapsu může vytvořit sevření nebo natažení kůže nahoru a směrem od podkladové tkáně.

10 **[0086]** Termín “subkutánní infuze“ se týká zavedení léčiva pod kůži pacienta zvířete nebo člověka, s výhodou do kapsy mezi kůží a základní tkání, relativně pomalým, prodlouženým dodáváním z lékové nádoby po dobu, včetně ale bez omezení 30 minut nebo méně, nebo 90 minut nebo méně. Případně může být infuze provedena subkutánní implantací dodávací pumpy léčiva implantované pod kůži pacienta zvířete nebo
15 člověka, přičemž pumpa dodává předem stanovené množství léčiva po předem určenou dobu, například 30 minut, 90 minut, nebo časové období v rozpětí délky léčebného režimu.

[0087] Pod pojmem “subkutánní bolus“ se rozumí podávání léčiva pod kůži zvířete nebo člověka, kde bolusové dodání léčiva je kratší než
20 přibližně 15 minut; v jiném aspektu méně než 5 minut a v ještě dalším aspektu méně než 60 sekund. V ještě dalším aspektu je podávání dovnitř kapsy mezi kůží a podkladovou tkání, kde kapsa může být vytvořena sevřením nebo natažením kůže nahoru a směrem od podkladové tkáně.

[0088] Výraz “terapeuticky účinné množství“ se používá k označení
25 množství účinné látky, které zmírňuje nebo zlepšuje jeden nebo více symptomů léčené poruchy. V dalším aspektu se terapeuticky účinné množství týká cílové koncentrace v séru, která se ukázala jako účinná například při zpomalení progresu onemocnění. Účinnost může být měřena obvyklými způsoby, v závislosti na stavu, který má být léčen.

30 **[0089]** Termíny “léčení“ a “terapie“ a podobně, jak se zde používají, mají zahrnovat terapeutická, stejně jako profylaktická nebo supresivní opatření pro onemocnění nebo poruchu, vedoucí k jakémukoli klinicky

žádoucím nebo prospěšnému účinku, včetně, ale bez omezení, zmírnění nebo úlevu od jednoho nebo více symptomů, regrese, zpomalení nebo zastavení progresu onemocnění nebo poruchy. Tak například zahrnuje termín léčení podávání látky před nebo po nástupu 5 symptomu onemocnění nebo poruchy, čímž se zabrání nebo odstraní jeden nebo více příznaků choroby nebo poruchy. Jako další příklad tento termín zahrnuje podávání látky po klinickém projevu nemoci k potlačení symptomů nemoci. Dále zahrnuje "léčení" nebo "terapie", jak se zde používá, podávání látky po nástupu a po objevení se se klinických 10 příznaků, kdy podávání ovlivňuje klinické parametry nemoci nebo poruchy, jako je stupeň poškození tkáně nebo množství nebo rozsah metastáz, bez ohledu na to, zda léčení vede nebo nevede ke zlepšení onemocnění. Kromě toho, pokud směsi podle vynálezu buď samotné nebo v kombinaci s jiným terapeutickým činidlem zmírní nebo zlepší 15 alespoň jeden symptom léčené poruchy ve srovnání s tímto symptomem v nepřítomnosti použití směsi humanizované protilátky anti-IL-36R, měl by být výsledek považován za účinné léčení základní poruchy bez ohledu na to, zda jsou nebo nejsou zmírněny všechny symptomy poruchy.

[0090] Termín "příbalová informace" se používá k označení pokynů 20 obvykle zahrnutých do komerčních balení terapeutických přípravků, které obsahují informace o indikacích, použití, podávání, kontraindikacích a/nebo varováních týkajících se používání těchto terapeutických přípravků.

25 **Protilátky**

[0091] V jednom aspektu jsou zde popsány a zveřejněny protilátky anti-IL-36R, zejména humanizované protilátky anti-IL-36R, a směs a výrobky obsahující jednu nebo více protilátek anti-IL-36R, zejména jednu nebo 30 více humanizovaných protilátek anti-IL-36R podle předkládaného vynálezu. Popsány jsou také vazebná látka, která zahrnují fragment vazající antigen protilátky anti-IL-36, zejména humanizované protilátky anti-IL-36R.

[0092] Variabilní oblasti a CDR reprezentativních protilátek podle předkládaného vynálezu a referenční protilátky jsou popsány níže:

Sekvence myších protilátek anti-IL-36R

[0093] Variabilní oblasti a CDR referenčních protilátek a myší vedoucí 5 protilátka protilátek podle předkládaného vynálezu (myší vedoucí; protilátka 81B4) jsou ukázány níže:

Aminokyselinové sekvence s variabilní oblastí lehkého řetězce (VK)

>33D10B12vK protein (protilátka 33D10)
QIVLTQSPAIMASASLGERVTMTCTASSSVSSSYLIHWYQKKPGSSPKLWVYSTSNLASGV PVRFSGSGSGTSSYSLTISSMEAEDAATYYCHQHHRSPVTFGSGTKLEMK (SEQ ID NO: 1)
>172C8B12 vK protein (protilátka 172C8)
DIQMTQSPASQSASLGESVTFTCLASQTIGTWLAWYQQRPGKSPQLLIYAATSLADGVPS RFSGSGSGTQFSFNIRSLQAEDFASYCQQVYTTPLTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 2)
>67E7E8 vK protein (protilátka 67E7)
DIQMTQSPASQSASLGESVTFTCLASQTIGTWLWYQQKPGKSPQLLIYRSTTLADGVPS RFSGSGSGTKFSEFKISSLQAADFASYCQQQLYSAPYTFGGGTKLEIR (SEQ ID NO: 3)
>78C8D1 vK Protein (protilátka 78C8)
DVLLTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQNIHNSNGNTYLQWYLQKPGQSPKLLIYKVSNRF SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYYCFQGSHPVTFGAGTKLELK (SEQ ID NO: 4)
>81A1D1 vK Protein (protilátka 81A1)
DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDIYKYNWYQQKPDGTLKLLIYYTSGLHSGVPS RFSGSGSGTDFSLTIISNLEPEDIAITYFCQQDSKIPWTFGGDTKLEIK (SEQ ID NO: 5)
>81B4E11 vK Protein (protilátka 81B4)

QIVLTQSPAIMASASLGERVTMTCTASSSVSSSYFHWYQQKPGSSPKLWIYRTSNLASGVP GRFSGSGSGTYSYSLTISSMEAEDAATYYCHQFHRSPLTFGAGTKLELK (SEQ ID NO: 6)
>73C5C10 vK protein (protilátka 73C5)
DIVMTQSQKFLSTSVGVRVSVTCKASQDVGTVNLWYQQKIGQSPKPLIYSASYRHSGVP DRFIFSGSGTDFITLIISNVQSEDLAEYFCQQYSRYPLTFGPGTKLELK (SEQ ID NO: 7)
>73F6F8 vK protein (protilátka 73F6)
DIVMTQSQKFLSTSVGVRVSVTCKASQDVGTVNLWYQQKIGQSPKALIYSASYRHSGVP DRFIFSGSGTDFITLIITNVQSEDLAEYFCQQYSRYPLTFGPGTKLELK (SEQ ID NO: 8)
>76E10E8 vK protein (protilátka 76E10)
DIVMTQSQKFMSATVGGRVNITCKASQNVGRAVAWYQQKPGQSPKLI.THSASNRYTG VPDRFIFSGSGTDFITLITINMQSEDLADYFCQQYSSYPLTFGAGTKLDLK (SEQ ID NO: 9)
>89A12B8 vK protein (protilátka 89A12)
DIQMTQSPASQSASLGESVTFSCLASQTIGTWLGWYQQKPGKSPQLLIYRATSLADGVPS RFSGSGSGTINFSFKISSIQAEDLASYYCQQLYSGPYTFGGGTKLEIR (SEQ ID NO: 10)

Aminokyselinové sekvence variabilní oblasti těžkého řetězce (VH)

>33D10B12vH Protein (protilátka 33D10)
QVQLQQSGTELLKPGASVKLSCKASGNTVTSYWMHWVKQRPQGGLIEWIGEILPSTGRT NYNENFKGKAMLTVDKSSSTAYMQLSSLASEDSAVYYC*TIIVYFGNPWFAYWGQGLV TVSA (SEQ ID NO: 11)
>172C8B12 vH protein (protilátka 172C8)
EVQLQQSGPELVKPGASVKLSCKASGYTFDNYMNVWRQSHGKSLEWIGRVNPSNGD TKYNQNFKGKATLTVDKSLSTAYMQLNGLTSEDSAVYYCGRTKNIFYSSYSYDDAMDY WGQGTSVTVSS (SEQ ID NO: 12)

>67E7E8 vH protein (protilátka 67E7)
EVQLQQSGAEFVRPGASVKFSC TASGFNIKDDYIHWVRQRPEQGLEWVGRIDPANGNT KYAPKFQDKATITADTSSNTAYLQLSSLTSED TAVYYCAKSPNNYYSYDDAFAYWGQ GTLVTVSA (SEQ ID NO: 13)
>78C8D1 vH Protein (protilátka 78C8)
QVQLKESGPVLVAPSQSL SITCTVSGFSLTKFGVHWIRQTPGKGLEWLGVIWAGGPTNY NSALMSRLTISKDISQSQVFLRIDL QTDDTAMYYCAKQIYYSTLV D YWGQGTSVTVSS (SEQ ID NO: 14)
>81A1D1 vH Protein (protilátka 81A1)
QVQLKESGPGLVAPSQSLFITCTVSGFSLSSYEINWVRQVPGKLEWLGVIWTGITTNYN SALISRLSISKDNSKSLVFLKMNSLQTDDTAIYYCARGTGTGFYYAMDYWGQGISVTVS S (SEQ ID NO: 15)
>81B4E11 vH Protein (protilátka 81B4)
QVQLQQPGADFVRPGASMRI.SCKASGYSFTSSWIHWVKQRPGQGLEWIGVINPGNVRT NYNENFRNKATLTVDKSSTAYMQLRSLTSADSAVYYCTVVFYGEPIFPYWGQGITLV VSA (SEQ ID NO: 16)
>73C5C10 vH Protein (protilátka 73C5)
QVQLKESGPGLVAPSQSL.SITCTVSGFSLTNYAVHWVRQFPKGLEWLGVIWSDGSTDF NAPFKSRI.SINKDNSKSQVFFKMNSI.QIDDTAIYYCARKGGYSGSWFAYWGQGITLV VSA (SEQ ID NO: 17)
>73F6F8 vH protein (protilátka 73F6)
QVQLKESGPGLVAPSQSL.SITCTVSGFSLTNYAVHWVRQFPKGLEWLGVIWSDGSTDY NAPFKSRI.SINKDNSKSQVFFKMNSI.QTDDTAIYYCARKGGYSGSWFAYWGQGITLV VSA (SEQ ID NO: 18)

>76E10E8 vH protein (protilátka 76E10)
QVQLKESGPVILVAPSQSLITCTVSGFSLTNYGVHWVRQPPGKGLEWLGVIWVPGSTNY NSALMSRLSIHKDNSKSKVFLRMNSLQITDDTAIYYCAKMDWDDFFDYWGQGITLTVSS (SEQ ID NO: 19)
>89A12B8 vH Protein (protilátka 89A12)
EVQLQQSGAELVRPGASVRLSCTASGIFNIKDDYIIHWVRQRPKQGLEWLGRI DPANGNI KYDPRFQDKATITADTSSNTAYLHLSLTS EDTAVYYCAKSFDPNYYSYDDAFAYWGQ GITLTVSA (SEQ ID NO: 20)

Aminokyselinové sekvence CDR-1 lehkého řetězce (L-CDR1)

>33D10G1 L-CDR1

TASSSVSSSYLH (SEQ ID NO: 21)

>172C8B 12 L-CDR1

LASQTIGTWLA (SEQ ID NO: 22)

>67E7E8 L-CDR1

LASQTIGTWLG (SEQ ID NO: 23)

>78C8D1 L-CDR1

RSSQNIVHSNGNTYLQ (SEQ ID NO: 24)

>81A1D1 L-CDR1

RASQDIYKYLN (SEQ ID NO: 25)

>81B4E11 L-CDR1

TASSSVSSSYFH (SEQ ID NO: 26)

>73C5C10 L-CDR1

KASQDVGTNVL (SEQ ID NO: 27)

>73F6F8 L-CDR1

KASQDVGTNVL (SEQ ID NO: 27)

>76E10E8 L-CDR1

KASQNVGRAVA (SEQ ID NO: 28)

>89A12B8 L-CDR1

LASQTIGTWLG (SEQ ID NO: 29)

Aminokyselinové sekvence CDR-2 lehkého řetězce (L-CDR2)

>33D10B12 L-CDR2

STSNLAS (SEQ ID NO: 30)

>172C8B 12 L-CDR2

AATSLAD (SEQ ID NO: 31)

>67E7E8 L-CDR2

RSTTLAD (SEQ ID NO: 32)

>78C8D1 L-CDR2

KVSNRFS (SEQ ID NO: 33)

>81A1D1 L-CDR2

YTSGlhs (SEQ ID NO: 34)

>81B4E11 L-CDR2

RTSNLAS (SEQ ID NO: 35)

>73C5C10 L-CDR2

SASYRHS (SEQ ID NO: 36)

>73F6F8 L-CDR2

SASYRHS (SEQ ID NO: 36)

>76E10E8 L-CDR2

SASNRYT (SEQ ID NO: 37)

>89A12B8 L-CDR2

RATSLAD (SEQ ID NO: 38)

Aminokyselinové sekvence CDR-3 lehkého řetězce (L-CDR3)

>33D10B12 L-CDR3

HQHHRSPVT (SEQ ID NO: 39)

>172C8B 12 L-CDR3

QQVYTTPLT (SEQ ID NO: 40)

>67E7E8 L-CDR3

QQLYSAPYT (SEQ ID NO: 41)

>78C8D1 L-CDR3

FQGSHPFT (SEQ ID NO: 42)

>81A1D1 L-CDR3

QQDSKFPWT (SEQ ID NO: 43)

>81B4E11 L-CDR3

HQFHRSPLT (SEQ ID NO: 44)

>73C5C10 L-CDR3

QQYSRYPLT (SEQ ID NO: 45)

>73F6F8 L-CDR3

QQYSRYPLT (SEQ ID NO: 45)

>76E10E8 L-CDR3

QQYSSYPLT (SEQ ID NO: 46)

>89A12B8 L-CDR3

QQLYSGPYT (SEQ ID NO: 47)

Aminokyselinové sekvence CDR-1 těžkého řetězce (H-CDR1)

>33D10B12 H-CDR1

GNTVTSYWMH (SEQ ID NO: 48)

>172C8B 12 H-CDR1

GYTFTDNYMN (SEQ ID NO: 49)

>67E7E8 H-CDR1

GFNIKDDYIH (SEQ ID NO: 50)

>78C8D1 H-CDR1

GFSLTKFGVH (SEQ ID NO: 51)

>81A1D1 H-CDR1

GFSLSSYEIN (SEQ ID NO: 52)

>81B4E11 H-CDR1

GYSFTSSWIH (SEQ ID NO: 53)

>73C5C10 H-CDR1

GFSLTNYAVH (SEQ ID NO: 54)

>73F6F8 H-CDR1

GFSLTNYAVH (SEQ ID NO: 54)

>76E10E8 H-CDR1

GFSLTNYGVH (SEQ ID NO: 55)

>89A12B8 H-CDR1

GFNIKDDYIH (SEQ ID NO: 56)

Aminokyselinové sekvence CDR-2 těžkého řetězce (H-CDR2)

>33D10B12 H-CDR2

EILPSTGRNTYNNENFKG (SEQ ID NO: 57)

>172C8B 12 H-CDR2

RVNPSNGDTKYNQNFVKG (SEQ ID NO: 58)

>67E7E8 H-CDR2

RIDPANGNTKYAPKFQD (SEQ ID NO: 59)

>78C8D1 H-CDR2

VIWAGGPTNYNSALMS (SEQ ID NO: 60)

>81A1D1 H-CDR2

VIWTGITTYNSALIS (SEQ ID NO: 61)

>81B4E11 H-CDR2

EINPGNVRTNYNENF (SEQ ID NO: 62)

>73C5C10 H-CDR2

VIWSDGSTDFNAPFKS (SEQ ID NO: 63)

>73F6F8 H-CDR2

VIWSDGSTDYNAPFKS (SEQ ID NO: 64)

>76E10E8 H-CDR2

VIWPGSTNYNSALMS (SEQ ID NO: 65)

>89A12B8 H-CDR2

RIDPANGNTKYDPRFQD (SEQ ID NO: 66)

Aminokyselinové sekvence CDR-3 těžkého řetězce (H-CDR3)

>33D10B12 H-CDR3

VYFGNPWFAY (SEQ ID NO: 67)

>172C8B 12 H-CDR3

TKNFYSSYSYDDAMDY (SEQ ID NO: 68)

>67E7E8 H-CDR3

SFPNNYYSYDDAFAY (SEQ ID NO: 69)

>78C8D1 H-CDR3

QIYYSTLVDY (SEQ ID NO: 70)

>81A1D1 H-CDR3

GTGTGFYYAMDY (SEQ ID NO: 71)

>81B4E11 H-CDR3

VFYGEPYFPY (SEQ ID NO: 72)

>73C5C10 H-CDR3

KGGYSGSWFAY (SEQ ID NO: 73)

>73F6F8 H-CDR3

KGGYSGSWFAY (SEQ ID NO: 73)

>76E10E8 H-CDR3

MDWDDFFDY (SEQ ID NO: 74)

>89A12B8 H-CDR3

SFPDNYSYDDAFAY (SEQ ID NO: 75)

Myší sekvence CDR anti-IL-36R

Přehled sekvencí CDR referenčních protilátek a vedoucí myší protilátka (protilátka 81B4) protilátek podle vynálezu je uveden níže:

[0094]

Protilátka	Sekvence H-CDR	Sekvence L-CDR
33D10	GNTVTSYWMH (H-CDR1) SEQ ID No: 48 EILPSTGRNTYNNENFKG (H-CDR2) SEQ ID No: 57 VYFGNPWFAY (H-CDR3) SEQ ID No: 67	TASSSVSSSYLH (L-CDR1) SEQ ID No: 21 STSNLAS (L-CDR2) SEQ ID No: 30 HQHHRSPVT (L-CDR3) SEQ ID No: 39
172C8	GYTFTDNYMN (H-CDR1) SEQ ID No: 49 RVNPSNGDTKYNQNFKG (H-CDR2) SEQ ID No: 58 TKNFYSSYSYDDAMDY (H-CDR3) SEQ ID No: 68	LASQTIGTWLA (L-CDR1) SEQ ID No: 22 AATSLAD (L-CDR2) SEQ ID No: 31 QQVYTTPLT (L-CDR3) SEQ ID No: 40
67E7	GFNIKDDYIH (H-CDR1) SEQ ID No: 50 RIDPANGNTKYAPKFQD (H-CDR2) SEQ ID No: 59 SFPNNYYSYDDAFAY (H-CDR3) SEQ ID No: 69	LASQTIGTWLG (L-CDR1) SEQ ID No: 23 RSTTLAD (L-CDR2) SEQ ID No: 32 QQLYSAPYT (L-CDR3) SEQ ID No: 41
78C8	GFSLTKFGVH (H-CDR1) SEQ ID No: 51 VIWAGGPTNYNSALMS (H-CDR2) SEQ ID No: 60 QIYYSTLVDY (H-CDR3) SEQ ID No: 70	RSSQNIVHNSGNTYLQ (L-CDR1) SEQ ID No: 24 KVSNRFS (L-CDR2) SEQ ID No: 33 FQGSHVPFT (L-CDR3) SEQ ID No: 42

81A1	GFSLSSYEIN (H-CDR1) SEQ ID No: 52 VIWTGITTNYSALIS (H-CDR2) SEQ ID No: 61 GTGTGFYYAMDY (H-CDR3) SEQ ID No: 71	RASQDIYKYLN (L-CDR1) SEQ ID No: 25 YTSSLHS (L-CDR2) SEQ ID No: 34 QQDSKFPWT (L-CDR3) SEQ ID No: 43
81B4	GYSFTSSWIH (H-CDR1) SEQ ID No: 53 EINPGNVRTNYNENF (H-CDR2) SEQ ID No: 62 VFYGEPPYFPY (H-CDR3) SEQ ID No: 72	TASSSVSSSYFH (L-CDR1) SEQ ID No: 26 RTSNLAS (L-CDR2) SEQ ID No: 35 HQFHRSPLT (L-CDR3) SEQ ID No: 44
73C5	GFSLTNYAVH (H-CDR1) SEQ ID No: 54 VIWSDGSTDFNAPFKS (H-CDR2) SEQ ID No: 63 KGGYSGSWFAY (H-CDR3) SEQ ID No: 73	KASQDVGTNVL (L-CDR1) SEQ ID No: 27 SASYRHS (L-CDR2) SEQ ID No: 36 QQYSRYPLT (L-CDR3) SEQ ID No: 45
73F6	GFSLTNYAVH (H-CDR1) SEQ ID No: 54 VIWSDGSTDYNAPFKS (H-CDR2) SEQ ID No: 64 KGGYSGSWFAY (H-CDR3) SEQ ID No: 73	KASQDVGTNVL (L-CDR1) SEQ ID No: 27 SASYRHS (L-CDR2) SEQ ID No: 36 QQYSRYPLT (L-CDR3) SEQ ID No: 45
76E10	GFSLTNYGVH (H-CDR1) SEQ ID No: 55 VIWPGSTNYSALMS (H-CDR2) SEQ ID No: 65 MDWDDFFDY (H-CDR3) SEQ ID No: 74	KASQNVGRAVA (L-CDR1) SEQ ID No: 28 SASNRYT (L-CDR2) SEQ ID No: 37 QQYSSYPLT (L-CDR3) SEQ ID No: 46

89A12	GFNIKDDYIH (H-CDR1) SEQ ID No: 56	LASQTIGTWLG (L-CDR1) SEQ ID No: 29
	RIDPANGNTKYDPRFQD (H-CDR2) SEQ ID No: 66	RATSLAD (L-CDR2) SEQ ID No: 38
	SFPDNYYSYDDAFAY (H-CDR3) SEQ ID No: 75	QQLYSGPYT (L-CDR3) SEQ ID No: 47

Sekvence humanizované protilátky anti-IL-36R

[0095] Lidské sekvence základní struktura byly vybrány pro myší vedoucí sekvence na základě základní struktury, struktury CDR, konzervovaných kanonických zbytků, konzervovaných zbytků na tvořících rozhraní a dalších parametrů za vzniku humanizovaných variabilních oblastí (viz příklad 5).

[0096] Reprezentativní humanizované variabilní oblasti odvozené od protilátek 81B4 (vedoucí myší protilátek podle vynálezu) a 73C5 (referenční protilátka) jsou uvedeny níže.

Aminokyselinové sekvence variabilní oblasti lehkého řetězce (VK)

>81B4vK32_3 vK protein
EIVLTQSPGTLSPGERATMSCTASSSVSSSYFIHWYQQKPGQAPRLLIYRTSTLASGIPD RFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDAATYYCHQFHRSPITFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 76)
>81B4vK32_105 vK protein
EIVLTQSPGTLSPGERATMSCTASSSVSSSYFHWYQQKPGQAPRLLIYRTSILASGVPD RFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFATYYCHIQFIRSPITFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 77)
>81B4vK32_116 vK protein
EIVLTQSPGTLSPGERATMSCTASSSVSSSYFIHWYQQKPGQAPRLWIYRTSRLASGVP DRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDAATYYCHQFHRSPITFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 78)

>81B4vK32_127 vK protein
EIVLTQSPGTLSPGERATMTCTASSSVSSSYFHWYQQKPGQAPRLLIYRTSRLASGVP DRFSGSGSGTDFLTISRLEPEDFAVYYCHQFHRSPLTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 79)
>81B4vK32_138 vK protein
QIVLTQSPGTLSPGERATMTCTASSSVSSSYFIHWYQQKPGQAPRLWIYRTSRLASGVP DRFSGSGSGTDFLTISRLEPEDAATYYCHQFHRSPLTFGAGTKLEIK (SEQ ID NO: 80)
>81B4vK32_140 vK protein
QIVLTQSPGTLSPGERVTMSTASSSVSSSYFHWYQQKPGQAPRLLIYRTSQLASGIPD RFSGSGSGTDFLTISRLEPEDAATYYCHQFHRSPLTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 81)
>81B4vK32_141 vK protein
QIVLTQSPGTLSPGERATMTCTASSSVSSSYFHWYQQKPGQAPRLLIYRTSKLASGVP DRFSGSGSGTDFLTISRLEPEDFATYYCHQFHRSPLTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 82)
>81B4vK32_147 vK protein
EIVLTQSPGTLSPGERATMSTASSSVSSSYFHWYQQKPGQAPRLLIYRTSHLASGIPG RFSGSGSGTDFLTISRLEPEDAAVYYCHQFHRSPLTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 83)
>73C5vK39_2 vK protein
EIVMTQSPATLSVSPGVRATLSCKASQDVGTVNLWYQQKPGQAPRPLIYSASYRHISGIP DRFSGSGSGTEFTLTISSIQSEDFAEYFCQQYSRYPLTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 84)
>73C5vK39_7 vK protein
EIVMTQSPATLSVSPGVRATLSCKASQDVGTVNLWYQQKPGQAPRPLIYSASYRHISGIP DRFSGSGSGTEFTLTISSIQSEDFAVYYCQQYSRYPLTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 85)
>73C5vK39_15 vK protein
EIVMTQSPATLSVSPGVRATLSCKASQDVGTVNLWYQQKPGQAPRPLIYSASYRHISGIP ARFSGSGSGTEFTLTISSIQSEDFAEYYCQQYSRYPLTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 86)

Aminokyselinové sekvence variabilní oblasti těžkého řetězce (VH)

>81B4vH33_49 vH protein
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFTSSWIHWVRQAPGQGLEWIGEINPGNVRT NYNENFRNKATMTVDTSISTAYMELSRRLRSDDTAVYYCAVVFYGEPIFPYWGQGLVT VSS (SEQ ID NO: 87)
>81B4vH33_85T vH protein
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFTSSWIHWVRQRPQGLEWIGEINPGNVRT NYNENFRNRVTMTVDTSISTAYMEI.SRI.RSDDTAVYYCTVVFYGEPIFPYWGQGLVT VSS (SEQ ID NO: 88)
>81B4vH33_90 vH protein
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFTSSWIIWVKQAPGQGLEWMGEINPGNVR TNYNENFRNKVTMTVDTSISTAYMELSRRLRSDDTAVYYCTVVFYGEPIFPYWGQGLV TVSS (SEQ ID NO: 89)
>81B4vH33_93 vH protein
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFTSSWIIWVRQRPQGLEWMGEINPGNVR TNYNENFRNRATLTRDTSISTAYMEL.SRI.RSDDTAVYYCAVVFYGEPIFPYWGQGLV TVSS (SEQ ID NO: 90)
>81B4vH50_22 vH protein
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFTSSWIHWVRQRPQGLEWMGEILPGVVR TNYNENFRNKVTMTVDTSISTAYMELSRRLRSDDTAVYYCTVVFYGEPIFPYWGQGLV TVSS (SEQ ID NO: 91)
>81B4vH50_30 vH protein
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFTSSWIHWVRQRPQGLEWIGEINPGAVRT NYNENFRNRVTMTVDTSISTAYMELSRRLRSDDTAVYYCTVVFYGEPIFPYWGQGLVT VSS (SEQ ID NO: 92)
>81B4vH51_13 vH protein
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFTSSWIHWVRQAPGQGLEWIGEINPGLVRT NYNENFRNKVTMTVDTSISTAYMELSRRLRSDDTAVYYCAVVFYGEPIFPYWGQGLVT VSS (SEQ ID NO: 93)

>81B4vH51_15 vH protein
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFTSSWIHWVRQAPGQGLEWIGEINPGAVRT NYNENFRNKVTMTVDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCAVVFYGEPIFPYWGQGLT VSS (SEQ ID NO: 94)
>81B4vH52_83 vH protein
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFTSSWIHWVRQAPGQGLEWIGEINPGSVRT NYNENFRNKATMTVDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCAVVFYGEPIFPYWGQGLT VSS (SEQ ID NO: 95)

>73C5vH46_4 vH protein
QVQLQESGPGLVKPSSETLSITCTVSGFSLTDYAVHWIRQPPGKGLEWIGVIWSDGSTDYN APFKSRVTINKDTSKQVSKMSSVQAADTAVYYCARKGGYSGSWFAYWGQGLT VTVSS (SEQ ID NO: 96)
>73C5vH46_19 vH protein
QVQLQESGPGLVKPSSETLSITCTVSGFSLTDYAVHWIRQPPGKGLEWIGVIWSDGSTDYN APFKSRVTISKDTSKNQVSLKMNSLTDDTAVYYCARKGGYSGSWFAYWGQGLT VTVSS (SEQ ID NO: 97)
>73C5vH46_40 vH protein
QVQLQESGPGLVKPSSETLSITCTVSGFSLTDYAVHWIRQPPGKGLEWIGVIWSDGSTDYN APFKSRVTISKDNSKQVSLKMNSVTVADTAVYYCARKGGYSGSWFAYWGQGLT VTVSS (SEQ ID NO: 98)
>73C5vH47_65 vH protein
QVQLQESGPGLVKPSSETLSITCTVSGFSLTDYAVHWVRQPPGKGLEWIGVIWSDGSTDY NAPFKSRVTISKDTSKNQVSIKLSVTVDDTAVYYCARKGGYSGSWFAYWGQGLT VTVSS (SEQ ID NO: 99)
>73C5vH47_77 vH protein
QVQLQESGPGLVAPSETLSLTCTVSGFSLTDYAVHWIRQPPGKGLEWIGVIWSDGSTDY NAPFKSRVTISKDTSKNQVSIKLSVTVDDTAVYYCARKGGYSGSWFAYWGQGLT VTVSS (SEQ ID NO: 100)

>73C5vH58_91 vH protein
QVQLQESGPGGLVKPSETLSITCTVSGFSLTDYAVHWIRQPPGKGLEWIGVIWSDGSTDYN APFKSRVTISKDNSKSKVQVSKMSSVTADDTAVYYCARKGGYSGSWFAYWGQGLVTVS S (SEQ ID NO: 101)

[0097] sekvence CDR z humanizovaných variabilních oblastí odvozených od protilátek 81B4 a 73C5 ukázaných výše jsou znázorněny níže.

5 Aminokyselinové sekvence L-CDR1

>81B4vK32_3 L-CDR1

TASSSVSSSYFH (SEQ ID NO: 26)

>81B4vK32_105 L-CDR1

TASSSVSSSYFH (SEQ ID NO: 26)

>81B4vK32_116 L-CDR1

TASSSVSSSYFH (SEQ ID NO: 26)

>81B4vK32_127 L-CDR1

TASSSVSSSYFH (SEQ ID NO: 26)

>81B4vK32_138 L-CDR1

TASSSVSSSYFH (SEQ ID NO: 26)

>81B4vK32_140 L-CDR1

TASSSVSSSYFH (SEQ ID NO: 26)

>81B4vK32_141 L-CDR1

TASSSVSSSYFH (SEQ ID NO: 26)

>81B4vK32_147 L-CDR1

TASSSVSSSYFH (SEQ ID NO: 26)

>73C5vK39_2 L-CDR1

KASQDVGTNVL (SEQ ID NO: 27)

>73C5vK39_7 L-CDR1

KASQDVGTNVL (SEQ ID NO: 27)

>73C5vK39_15 L-CDR1

KASQDVGTNVL (SEQ ID NO: 27)

Aminokyselinové sekvence L-CDR2

>81B4vK32_3 L-CDR2 (SEQ ID 102)

RTSTLAS

>81B4vK32_105 L-CDR2 (SEQ ID 103)

RTSILAS

>81B4vK32_116 L-CDR2 (SEQ ID 104)

RTSRLAS

>81B4vK32_127 L-CDR2 (SEQ ID 104)

RTSRLAS

>81B4vK32_138 L-CDR2 (SEQ ID 104)

RTSRLAS

>81B4vK32_140 L-CDR2 (SEQ ID 105)

RTSQLAS

>81B4vK32_141 L-CDR2 (SEQ ID 106)

RTSKLAS

>81B4vK32_147 L-CDR2 (SEQ ID 140)

>73C5vK39_2 L-CDR2

SASYRHS (SEQ ID NO: 36)

>73C5vK39_7 L-CDR2

SASYRHS (SEQ ID NO: 36)

>73C5vK39_15 L-CDR2

SASYRHS (SEQ ID NO: 36)

Aminokyselinové sekvence L-CDR3

>81B4vK32_3 L-CDR3

HQFHRSPLT (SEQ ID NO: 44)

>81B4vK32_105 L-CDR3

HQFHRSPLT (SEQ ID NO: 44)

>81B4vK32_116 L-CDR3

HQFHRSPLT (SEQ ID NO: 44)

>81B4vK32_127 L-CDR3

HQFHRSPLT (SEQ ID NO: 44)

>81B4vK32_138 L-CDR3

HQFHRSPLT (SEQ ID NO: 44)

>81B4vK32_140 L-CDR3

HQFHRSPLT (SEQ ID NO: 44)

>81B4vK32_141 L-CDR3

HQFHRSPLT (SEQ ID NO: 44)

>81B4vK32_147 L-CDR3

HQFHRSPLT (SEQ ID NO: 44)

>73C5vK39_2 L-CDR3

QQYSRYPLT (SEQ ID NO: 45)

>73C5vK39_7 L-CDR3

QQYSRYPLT (SEQ ID NO: 45)

>73C5vK39_15 L-CDR3

QQYSRYPLT (SEQ ID NO: 45)

Aminokyselinové sekvence H-CDR1

>81B4vH33_49 H-CDR1

GYSFTSSWIH (SEQ ID NO: 53)

>81B4vH33_85T H-CDR1

GYSFTSSWIH (SEQ ID NO: 53)

>81B4vH33_90 H-CDR1

GYSFTSSWIH (SEQ ID NO: 53)

>81B4vH33_93 H-CDR1

GYSFTSSWIH (SEQ ID NO: 53)

>81B4vH50_22 H-CDR1

GYSFTSSWIH (SEQ ID NO: 53)

>81B4vH50_30 H-CDR1

GYSFTSSWIH (SEQ ID NO: 53)

>81B4vH51_13 H-CDR1

GYSFTSSWIH (SEQ ID NO: 53)

>81B4vH51_15 H-CDR1

GYSFTSSWIH (SEQ ID NO: 53)

>81B4vH52_83 H-CDR1

GYSFTSSWIH (SEQ ID NO: 53)

>73C5vH46_4 H-CDR1

GFSLTDYAVH (SEQ ID NO: 107)

>73C5vH46_19 H-CDR1

GFSLTDYAVH (SEQ ID NO: 107)

>73C5vH46_40 H-CDR1

GFSLTDYAVH (SEQ ID NO: 107)

>73C5vH47_65 H-CDR1

GFSLTDYAVH (SEQ ID NO: 107)

>73C5vH47_77 H-CDR1

GFSLTDYAVH (SEQ ID NO: 107)

>73C5vH58_91 H-CDR1

GFSLTDYAVH (SEQ ID NO: 107)

Aminokyselinové sekvence H-CDR2

>81B4vH33_49 H-CDR2

EINPGNVRTNYNENF (SEQ ID NO: 62)

>81B4vH33_85T H-CDR2

EINPGNVRTNYNENF (SEQ ID NO: 62)

>81B4vH33_90 H-CDR2

EINPGNVRTNYNENF (SEQ ID NO: 62)

>81B4vH33_93 H-CDR2

EINPGNVRTNYNENF (SEQ ID NO: 62)

>81B4vH50_22 H-CDR2

EILPGVVRTNYNENF (SEQ ID NO: 108)

>81B4vH50_30 H-CDR2

EINPGAVVRTNYNENF (SEQ ID NO: 109)

>81B4vH51_13 H-CDR2

EINPGLVRTNYNENF (SEQ ID NO: 110)

>81B4vH51_15 H-CDR2

EINPGAVRTNYNENF (SEQ ID NO: 109)

>81B4vH52_83 H-CDR2

EINPGSVRTNYNENF (SEQ ID NO: 111)

>73C5vH46_4 H-CDR2

VIWSDGSTDYNAPFKS (SEQ ID NO: 64)

>73C5vH46_19 H-CDR2

VIWSDGSTDYNAPFKS (SEQ ID NO: 64)

>73C5vH46_40 H-CDR2

VIWSDGSTDYNAPFKS (SEQ ID NO: 64)

>73C5vH47_65 H-CDR2

VIWSDGSTDYNAPFKS (SEQ ID NO: 64)

>73C5vH47_77 H-CDR2

VIWSDGSTDFNAPFKS (SEQ ID NO: 63)

>73C5vH58_91 H-CDR2

VIWSDGSTDYNAPFKS (SEQ ID NO: 64)

Aminokyselinové sekvence H-CDR3

>81B4vH33_49 H-CDR3

VFYGEPLYFPY (SEQ ID NO: 72)

>81B4vH33_85T H-CDR3

VFYGEPLYFPY (SEQ ID NO: 72)

>81B4vH33_90 H-CDR3

VFYGEPLYFPY (SEQ ID NO: 72)

>81B4vH33_93 H-CDR3

VFYGEPLYFPY (SEQ ID NO: 72)

>81B4vH50_22 H-CDR3

VFYGEPLYFPY (SEQ ID NO: 72)

>81B4vH50_30 H-CDR3

VFYGEPLYFPY (SEQ ID NO: 72)

>81B4vH51_13 H-CDR3

VFYGEPLYFPY (SEQ ID NO: 72)

>81B4vH51_15 H-CDR3

VFYGEPLYFPY (SEQ ID NO: 72)

>81B4vH52_83 H-CDR3

VFYGEPLYFPY (SEQ ID NO: 72)

>73C5vH46_4 H-CDR3

KGGYSGSWFAY (SEQ ID NO: 73)

>73C5vH46_19 H-CDR3

KGGYSGSWFAY (SEQ ID NO: 73)

>73C5vH46_40 H-CDR3

KGGYSGSWFAY (SEQ ID NO: 73)

>73C5vH47_65 H-CDR3

KGGYSGSWFAY (SEQ ID NO: 73)

>73C5vH47_77 H-CDR3

KGGYSGSWFAY (SEQ ID NO: 73)

>73C5vH58_91 H-CDR3

KGGYSGSWFAY (SEQ ID NO: 73)

- [0098]** V jednom aspektu je variabilní oblast podle předkládaného vynálezu navázaná na konstantní oblast. Například variabilní oblast podle předkládaného vynálezu je navázaná konstantní oblast ukázanou níže za vytvoření těžkého řetězce nebo a lehkého řetězce protilátky.

Konstantní oblast těžkého řetězce navázaná za humanizovanou variabilní těžkou

oblastí:

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVITFPAVLQSS
GLYSISSVVTVPSSSLGTQTYICNVNIHKPSNTRKVDKRVKPKSCDKTIITCPPCPAPEAAGG
PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVIINAKTKPREEQY
NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYITLPPSR
EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDK
SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 112)

Konstantní oblast lehkého řetězce navázaná downstream za humanizovanou variabilní lehkou oblastí:

RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ
DSKDYESTYLSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:113)

- [0099]** Reprezentativní sekvence lehkého řetězce a těžkého řetězce podle předkládaného vynálezu (lehký řetězec: SEQ ID NO: 118; těžký řetězec: SEQ ID NO: 125, 126 a 127) a referenční sekvence jsou ukázané níže (humanizované variabilní oblasti odvozené od protilátek 81B4 a 73C5 navázané na konstantní oblasti).

Aminokyselinové sekvence lehkého řetězce

>81B4vK32_3 lehký řetězec

EIVLTQSPGTLSLSPGERATMSCTASSSVSSSYFHWYQQKPGQAPRLLIYRTSTLASGIPD
RFSGSGSGTDFLTISRLEPEDAATYYCHQFHRSPITFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSD
EQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYESTYLSSTLTLS
SKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 114)

>81B4vK32_105 lehký řetězec

EIVLTQSPGTLSLSPGERATMSCTASSSVSSSYFHWYQQKPGQAPRLLIYRTSILASGVPD
RFSGSGSGTDFLTISRLEPEDFATYYCHQFHRSPITFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSD
EQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYESTYLSSTLTLS
SKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 115)

>81B4vK32_116 lehký řetězec

EIVLTQSPGTLSLSPGERATMSCTASSSVSSSYFHWYQQKPGQAPRLWIYRTSRLASGVP
DRFSGSGSGTDFLTISRLEPEDAATYYCHQFHRSPITFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPS
DEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYESTYLSSTL
TLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 116)

>81B4vK32_127 lehký řetězec

EIVLTQSPGTLSLSPGERATMTCTASSSVSSSYFHWYQQKPGQAPRLLIYRTSRLASGVP
DRFSGSGSGTDFLTISRLEPEDFAVYYCIHQFHRSPITFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPS
DEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYESTYLSSTL
TLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 117)

>81B4vK32_138 lehký řetězec

QIVLTQSPGTLSLSPGERATMTCTASSSVSSSYFHWYQQKPGQAPRLWIYRTSRLASGVP
DRFSGSGSGTDFLTISRLEPEDAATYYCHQFHRSPITFGAGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPS
DEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYESTYLSSTL
TLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 118)

>81B4vK32_140 lehký řetězec

<p>QIVI.TQSPGTL.SI.SPGERVTMSCTASSSVSSSYFHWYQQKPGQAPRI.IYRTSQA.SGIPD RFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDAATYYCHQFIIRSPLTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSD EQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTL SKADYEKIIKVYACEVTHQGL.SSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 119)</p>
>81B4vK32_141 lehký řetězec
<p>QIVI.TQSPGTL.SI.SPGERATMTCTASSSVSSSYFHWYQQKPGQAPRI.IYRTSKLA.SGVP DRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFATYYCHQFHRSPLETFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSD DEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTL TLISKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 120)</p>
>81B4vK32_147 lehký řetězec
<p>EIVI.TQSPGTL.SI.SPGERATMSCTASSSVSSSYFHWYQQKPGQAPRI.IYRTSHLA.SGIPG RFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDAAVYYCHQFHRSPLETFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSD EQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTL SKADYEKHKVYACEVTHQGL.SSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 121)</p>
>73C5vK39_2 lehký řetězec
<p>EIVMTQSPATLSVSPGVRATLSCKASQDVGTVNLWYQQKPGQAPRPLIYSASYRHSGIP DRFSGSGSGTEFTLTISLQSEDFAEYFCQQYSRYPLTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPS DEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTL TLISKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 122)</p>
>73C5vK39_7 lehký řetězec
<p>EIVMTQSPATLSVSPGVRATLSCKASQDVGTVNVI.WYQQKPGQAPRPLIYSASYRHSGIP DRFSGSGSGTEFTLTISLQSEDFAVYYCQQYSRYPLTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPS DEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTL TLISKADYEKHKVYACEVTHQGL.SSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 123)</p>
>73C5vK39_15 lehký řetězec
<p>EIVMTQSPATLSVSPGVRATLSCKASQDVGTVNLWYQQKPGQAPRPLIYSASYRHSGIP ARFSGSGSGTEFTLTISSI.QSEDFAEYCYCQQYSRYPLTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPS DEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTL TLISKADYEKIIKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 124)</p>

Aminokyselinové sekvence těžkého řetězce

>81B4vH33_49 těžký řetězec
<p>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFTSSWIIHWVRQAPGQGLEWIGEINPQNVRT NYNENFRNKATMTVDTISITAYMELSRLESDDTAVYYCAVVFYGEPIFYWGQGILVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKHTHTCPPCPAPEA AGGSPSVFLFPPKPKDITLMSRTPETVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVITVLIHQDWI.NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYTI PPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 125)</p>
>81B4vH33_85T těžký řetězec

<p>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFTSSWIIHWVRQRPGQGLEWIGEINPGNVRT NYNENFRNRVTMTVDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCTVVFYGEPIYFPYWGQGITLV VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPEA AGGPSVFLFPPKPKDITLMISRTPPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLIIQDWINGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 126)</p>
>81B4vH33_90 těžký řetězec
<p>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFTSSWIIHWVKQAPGQGLEWMGEINPGNVR TNYNENFRNKVTMTVDTSISTAYMEI.SRLRSDDTAVYYCTVVFYGEPIYFPYWGQGITLV TVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVIITFAV LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPE AAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVIINAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY</p>
<p>TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSK LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 127)</p>
>81B4vH33_93 těžký řetězec
<p>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFTSSWIIHWVRQRPGQGLEWMGEINPGNVR TNYNENFRNRATLTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCAVVFYGEPIYFPYWGQGITLV TVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPE AAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSK LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 128)</p>
>81B4vH50_22 těžký řetězec
<p>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFTSSWIIHWVRQRPGQGLEWMGEILPGVVR TNYNENFRNKVTMTVDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCTVVFYGEPIYFPYWGQGITLV TVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPE AAGGPSVFLFPPKPKDITLMISRTPPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSK LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 129)</p>
>81B4vH50_30 těžký řetězec

<p>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSTSSWIIWVRQAPGQGLEWIGEINPGAVRT NYNENFRNRVTMTVDTSISTAYMEI.SRI.RSDDTAVYYCTVVFYGEPTFPYWGQGLVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL.TSGVIITFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNIKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPEA AGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKLSLSLSPGK (SEQ ID NO: 130)</p>
>81B4vH51_13 těžký řetězec
<p>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSTSSWIIWVRQAPGQGLEWIGEINPGLVRT NYNENFRNKVTMTVDTSISTAYMEL.SRLRSDDTAVYYCAVVFYGEPTFPYWGQGLVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL.TSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPEA AGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKLSLSLSPGK (SEQ ID NO: 131)</p>
>81B4vH51_15 těžký řetězec
<p>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSTSSWIIWVRQAPGQGLEWIGEINPGAVRT NYNENFRNKVTMTVDTSISTAYMEI.SRI.RSDDTAVYYCAVVFYGEPTFPYWGQGLVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL.TSGVIITFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPEA AGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKLSLSLSPGK (SEQ ID NO: 132)</p>
>81B4vH52_83 těžký řetězec
<p>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSTSSWIIWVRQAPGQGLEWIGEINPGSVRT NYNENFRNKATMTVDTSISTAYMEL.SRLRSDDTAVYYCAVVFYGEPTFPYWGQGLVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL.TSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPEA AGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKLSLSLSPGK (SEQ ID NO: 133)</p>
>73C5vH46_4 těžký řetězec

<p>QVQLQESGPGLVKPSSETLSITCTVSGFSLTDYAVHWIRQPPGKGLEWIGVIWSDGSTDYN APFKSRVTINKDTSKQVSVFKMSSVQAADTAVYYCARKGGYSGSWFAYWGQGLVTV SSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHITFPAVLQ SSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKHTHTCPPCPAPEAA GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKLSLSLSPGK (SEQ ID NO: 134)</p>
>73C5vH46_19 těžký řetězec
<p>QVQLQESGPGLVKPSSETLSITCTVSGFSLTDYAVHWIRQPPGKGLEWIGVIWSDGSTDYN APFKSRVTISKDTSKNQVSLKMNSLTIIDDTAVYYCARKGGYSGSWFAYWGQGLVTV SSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHITFPAVLQ SSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKHTHTCPPCPAPEAA GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKLSLSLSPGK (SEQ ID NO: 135)</p>
>73C5vH46_40 těžký řetězec
<p>QVQLQESGPGLVKPSSETLSITCTVSGFSLTDYAVHWIRQPPGKGLEWIGVIWSDGSTDYN APFKSRVTISKDNSKQVSLKMNSVTVADTAVYYCARKGGYSGSWFAYWGQGLVTV SSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHITFPAVLQ SSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKHTHTCPPCPAPEAA GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKLSLSLSPGK (SEQ ID NO: 136)</p>
>73C5vH47_65 těžký řetězec
<p>QVQLQESGPGLVKPSSETLSITCTVSGFSLTDYAVHWVRQPPGKGLEWIGVIWSDGSTDY NAPFKSRVTISKDTSKNQVSVFKLSSVTVDDTAVYYCARKGGYSGSWFAYWGQGLVTV SSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHITFPAVLQ SSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKHTHTCPPCPAPEAA GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKLSLSLSPGK (SEQ ID NO: 137)</p>
>73C5vH47_77 těžký řetězec

<p>QVQLQESGPGLVAPSETLSITCTVSGFSLTDYAVIHWIRQFPGKGLEWIGVIWSDGSTDF NAPFKSRVTISKDTSKNQVSFKLSSVTTDDTAVYYCARKGGYSGSWFAYWGQGITLVTV SSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALISGVHTFPAVLQ SSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPEAA GGPSVFLFPPKPKDITLMISRTPPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLIIQDWINGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 138)</p>
>73C5vH58_91 těžký řetězec
<p>QVQLQESGPGLVKPSSETLSITCTVSGFSLTDYAVIHWIRQPPGKGLEWIGVIWSDGSTDYN APFKSRVTISKDNSKQVSFKMSSVTADDTAVYYCARKGGYSGSWFAYWGQGITLVTVS SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALISGVHTFPAVLQS SGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPEAAG GPSVFLFPPKPKDITLMISRTPPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLIIQDWINGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS REEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 139)</p>

[0100] CDR uvedené výše jsou definovány použitím systému číslování Chothia (Al-Lazikani et al., (1997) JMB 273, 927-948).

[0101] V jednom aspektu protilátka podle předkládaného vynálezu
5 obsahuje lehký řetězec obsahující aminokyselinovou sekvenci SEQ ID
NO: 80 a variabilní oblast těžkého řetězce obsahující aminokyselinovou
sekvenci SEQ ID NO: 87, 88 a 89. V jednom aspektu je variabilní oblast
lehkého řetězce podle vynálezu fúzovaná na konstantní oblast lehkého
řetězce, například konstantní oblast kappa nebo lambda. V jednom
10 aspektu je variabilní oblast těžkého řetězce podle vynálezu fúzovaná na
konstantní oblast těžkého řetězce, například IgA, IgD, IgE, IgG nebo IgM,
zvláště, IgG₁, IgG₂, IgG₃ nebo IgG₄.

[0102] Popisuje se zde protilátka anti-IL-36R obsahující lehký řetězec
obsahující aminokyselinovou sekvenci SEQ ID NO: 115; a těžký řetězec
15 obsahující aminokyselinovou sekvenci SEQ ID NO: 125 (Protilátka B1).

[0103] Popisuje se zde také protilátka anti-IL-36R obsahující lehký
řetězec obsahující aminokyselinovou sekvenci SEQ ID NO: 115; a těžký
řetězec obsahující aminokyselinovou sekvenci SEQ ID NO: 126
(Protilátka B2).

[0104] Popisuje se zde také protilátka anti-IL-36R obsahující lehký řetězec obsahující aminokyselinovou sekvenci SEQ ID NO: 115; a těžký řetězec obsahující aminokyselinovou sekvenci SEQ ID NO: 127 (Protilátka B3).

5 **[0105]** Předkládaný vynález poskytuje protilátku anti-IL-36R obsahující lehký řetězec obsahující aminokyselinovou sekvenci SEQ ID NO: 118; a těžký řetězec obsahující aminokyselinovou sekvenci SEQ ID NO: 125 (Protilátka B4).

10 **[0106]** Předkládaný vynález poskytuje protilátku anti-IL-36R obsahující lehký řetězec obsahující aminokyselinovou sekvenci SEQ ID NO: 118; a těžký řetězec obsahující aminokyselinovou sekvenci SEQ ID NO: 126 (Protilátka B5).

15 **[0107]** Předkládaný vynález poskytuje protilátku anti-IL-36R obsahující lehký řetězec obsahující aminokyselinovou sekvenci SEQ ID NO: 118; a těžký řetězec obsahující aminokyselinovou sekvenci SEQ ID NO: 127 (Protilátka B6).

[0108] Popisuje se zde protilátka anti-IL-36R obsahující lehký řetězec obsahující aminokyselinovou sekvenci SEQ ID NO: 123; a těžký řetězec obsahující aminokyselinovou sekvenci SEQ ID NO: 138 (Protilátka C3).

20 **[0109]** Popisuje se zde také protilátka anti-IL-36R obsahující lehký řetězec obsahující aminokyselinovou sekvenci SEQ ID NO: 123; a těžký řetězec obsahující aminokyselinovou sekvenci SEQ ID NO: 139 (Protilátka C2).

25 **[0110]** Popisuje se zde také protilátka anti-IL-36R obsahující lehký řetězec obsahující aminokyselinovou sekvenci SEQ ID NO: 124; a těžký řetězec obsahující aminokyselinovou sekvenci SEQ ID NO: 138 (Protilátka C1)

30 **[0111]** Reprezentativní protilátky podle předkládaného vynálezu (protilátka B4, B5 a B6) a referenční protilátky (B1-3 a C1-3) jsou ukázané níže.

Tabulka A.

Proti-látka	Sekvence lehkého řetězce	Sekvence těžkého řetězce
B1	EIVLTQSPGTLSPGERATMSCTASSS VSSSYFHWYQQKPGQAPRLLIYRTSIL ASGVPDFRFGSGSGTDFTLTISRLEPED FATYYCHQFHRSPLTFGQGTKLEIKRT VAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQE SVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYE KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGE C (SEQ ID NO: 115)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFTS SWIIWVRQAPGQGLEWIGEINPGNVRTNYNE NFRNKATMTVDTSISTAYMELSRRLSDDTAV YYCAVVFYGEYPFYWGQGLVTVSSASTKG PSVIPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYIPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEK SCDKTHITCPPCPAPEAAGGPSVFLPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNQKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQP REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKLSLSLSPGK (SEQ ID NO: 125)
B2	EIVLTQSPGTLSPGERATMSCTASSS VSSSYHWWYQQKPGQAPRLLIYRTSIL ASGVPDFRFGSGSGTDFTLTISRLEPED FATYYCHQFHRSPLTFGQGTKLEIKRT VAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQE SVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYE KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGE C (SEQ ID NO: 115)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFTS SWIIWVRQAPGQGLEWIGEINPGNVRTNYNE NFRNRVTMTVDTSISTAYMELSRRLSDDTAV YYCTVVFYGEYPFYWGQGLVTVSSASTKG PSVIPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYIPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEK SCDKTHITCPPCPAPEAAGGPSVFLPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNQKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQP REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNIHYT QKLSLSLSPGK (SEQ ID NO: 126)
B3	EIVLTQSPGTLSPGERATMSCTASSS VSSSYFHWYQQKPGQAPRLLIYRTSIL ASGVPDFRFGSGSGTDFTLTISRLEPED FATYYCHQFHRSPLTFGQGTKLEIKRT VAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQE SVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYE KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGE C (SEQ ID NO: 115)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFTS SWIIWVKQAPGQGLEWMGEINPGNVRTNYN ENFRNKVTMTVDTSISTAYMELSRRLSDDTA VYYCTVVFYGEYPFYWGQGLVTVSSASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHITPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNIKPSNTKVDKRVPEK KSCDKTHITCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVIHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNQKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPS SDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLY YSKLTVDKSRWQQGNVFCSCSVMHEALHNIHY TQKLSLSLSPGK (SEQ ID NO: 127)

Proti- látka	Sekvence lehkého řetězce	Sekvence těžkého řetězce
B4	QIVLTQSPGTLISLSPGERATMTCTASSS VSSSYFHQYQKPGQAPRIWIYR'ISR LASGVPDRFSGSGSGTDFLTISRLEPE DAATYYCHQFHRSPLTFGAGTKLEIKR TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCL LNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ ESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADY EKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG EC (SEQ ID NO: 118)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVCSKASGYSFTS SWIHWVRQAPGQGLEWIGEPGNVTRTYNE NFRNKATMTVDTISISTAYMELSRRLSDDTAV YYCAVVFYGEPIFYWGQGLVTVSSASTKG PSVIPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEK SCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNQKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQP RFPQVYTLPPSRREEMTKNQVSLTCLVKGIYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNIHYT QKLSLSLSPGK (SEQ ID NO: 125)
B5	QIVLTQSPGTLISLSPGERATMTCTASSS VSSSYFHQYQKPGQAPRIWIYR'ISR LASGVPDRFSGSGSGTDFLTISRLEPE DAATYYCHQFHRSPLTFGAGTKLEIKR TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCL LNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ ESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADY EKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG EC (SEQ ID NO: 118)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVCSKASGYSFTS SWIHWVRQAPGQGLEWIGEPGNVTRTYNE NFRNRVTMTVDTISISTAYMELSRRLSDDTAV YYCAVVFYGEPIFYWGQGLVTVSSASTKG PSVIPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEK SCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNQKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQP RFPQVYTLPPSRREEMTKNQVSLTCLVKGIYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNIHYT QKLSLSLSPGK (SEQ ID NO: 126)
B6	QIVLTQSPGTLISLSPGERATMTCTASSS VSSSYFHQYQKPGQAPRLWIYR'ISR LASGVPDRFSGSGSGTDFLTISRLEPE DAATYYCHQFHRSPLTFGAGTKLEIKR TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCL LNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ ESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADY EKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG EC (SEQ ID NO: 118)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVCSKASGYSFTS SWIHWVRQAPGQGLEWIGEPGNVTRTYNE NFRNKATMTVDTISISTAYMELSRRLSDDTAV YYCAVVFYGEPIFYWGQGLVTVSSASTKG PSVIPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEK SCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNQKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQP RFPQVYTLPPSRREEMTKNQVSLTCLVKGIYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNIHYT QKLSLSLSPGK (SEQ ID NO: 127)

Tabulka B

Proti- látka	<u>Sekvence lehkého řetězce</u>	<u>Sekvence těžkého řetězce</u>
-----------------	---------------------------------	---------------------------------

C1	EIVMTQSPATLSVSPGVRATLSCKASQ DVGITNVI.WYQKPGQAPRPLIYSASY RHSGIPARFSGSGSGTEFTLTISLQSE DFAVYYCQQYSRYPLTFGQGTKLEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC LLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS QESVTEQDSKDYSLSSITLTLKADY EKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG EC (SEQ ID NO: 124)	QVQLQESGPGLVAPSETLSLTCTVSGFSLTDY AVHWIRQFPGKGLEWIGVIWSDGSDFNAPF KSRVTISKDTSKNQVSKLSSVTTDDTAVYYC ARKGGYSGSWFAYWGQGLVTVSSASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSKVHFTPAVLQSSGLYSLSSV TVPSSTLGTQTYICNVNHNKPSNTKVDKRVPEK SCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLIIQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYITLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPVI.DSDGSFTL YSKLTVDKSRWQQGNVSCFVMSHHEALIIHNY TQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 138)
C2	EIVMTQSPATLSVSPGVRATLSCKASQ DVGITNVI.WYQKPGQAPRPLIYSASY RHSGIPDRFSGSGSGTEFTLTISLQSE DFAVYYCQQYSRYPLTFGQGTKLEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC LLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS QESVTEQDSKDYSLSSITLTLKADY EKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG EC (SEQ ID NO: 123)	QVQLQESGPGLVKPSSETLSITCTVSGFSLTDY AVHWIRQPPGKGLEWIGVIWSDGSDYDAPF KSRVTISKDNSKQVSEKMSVTTADDTAVYY CARKGGYSGSWFAYWGQGLVTVSSASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSKVHFTPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSTLGTQTYICNVNHNKPSNTKVDKRVPEK KSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLII QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYITLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPVI.DSDGSFTL FLYSKLTVDKSRWQQGNVSCFVMSHHEALIIH IHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 139)
C3	EIVMTQSPATLSVSPGVRATLSCKASQ DVGITNVI.WYQKPGQAPRPLIYSASY RHSGIPDRFSGSGSGTEFTLTISLQSE DFAVYYCQQYSRYPLTFGQGTKLEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC LLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS QESVTEQDSKDYSLSSITLTLKADY EKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG EC (SEQ ID NO: 123)	QVQLQESGPGLVAPSETLSLTCTVSGFSLTDY AVHWIRQFPGKGLEWIGVIWSDGSDFNAPF KSRVTISKDTSKNQVSKLSSVTTDDTAVYYC ARKGGYSGSWFAYWGQGLVTVSSASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSKVHFTPAVLQSSGLYSLSSV TVPSSTLGTQTYICNVNHNKPSNTKVDKRVPEK SCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLIIQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYITLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPVI.DSDGSFTL YSKLTVDKSRWQQGNVSCFVMSHHEALIIHNY TQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 138)

- [0112] Protilátky podle předkládaného vynálezu jsou použitelné při způsobech léčení různých onemocnění nebo poruch, například imunologických, zánětlivých, autoimunitních onemocnění a respiračních onemocnění u lidí. Protilátky podle předkládaného vynálezu jsou použitelné například při způsobech léčení například lupénky, revmatoidní artritidy, zánětlivého střevního onemocnění nebo psoriatické artritidy. Protilátky podle předkládaného vynálezu jsou použitelné například při způsobech léčení chronické obstruktivní plicní poruchy (COPD) nebo

astmatu. Protilátky podle předkládaného vynálezu jsou použitelné například při způsobech léčení sklerodermie, palmoplantární pustulózy, generalizované pustulární psoriázy, diabetické nefropatie, lupusové nefritidy, sklerodermie, ankylozující spondylitidy, autoimunitního onemocnění s deficiencí antagonisty receptoru IL-36 (DITRA), autoimunitního onemocnění s deficiencí antagonisty receptoru IL-1 (DIRA) nebo periodických syndromů asociovaných s kryopyrinem (CAPS).

[0113] V některých aspektech humanizovaná protilátka vykazuje blokující aktivitu, čímž snižuje vazbu ligandu IL-36 na receptor IL-36 o alespoň 45 %, o alespoň 50 %, o alespoň 55 %, o alespoň 60 %, o alespoň 65 %, o alespoň 70 %, o alespoň 75 %, o alespoň 80 %, o alespoň 85 %, o alespoň 90 %, nebo o alespoň 95 %. Schopnost protilátky blokovat vazbu ligandu IL-36 k receptoru IL-36 může být měřena pomocí kompetitivních vazebných testů známých v oboru. Alternativně může být blokovácí aktivita protilátky měřena hodnocením biologických účinků IL-36, jako je produkce IL-8, IL-6 a GM-CSF, aby se určilo, zda je inhibovaná signalizace zprostředkovaná receptorem IL-36.

[0114] V dalším aspektu předkládaný vynález poskytuje humanizovanou protilátku anti-IL-36R, která má příznivé biofyzikální vlastnosti. V jednom aspektu je humanizovaná protilátka anti-IL-36R podle předkládaného vynálezu v pufru přítomna v alespoň 90% monomerní formě nebo v alespoň 92% monomerní formě nebo alespoň v 95% monomerní formě. V dalším aspektu humanizovaná protilátka anti-IL-36R podle předkládaného vynálezu zůstává v pufru v alespoň 90% monomerní formě nebo v alespoň 92% monomerní formě nebo alespoň v 95% monomerní formě po dobu jednoho měsíce nebo po dobu čtyř měsíců.

[0115] V jednom aspektu je humanizovaná protilátka podle předkládaného vynálezu Protilátka B4, Protilátka B5 nebo Protilátka B6. V souladu s tím obsahuje v jednom provedení humanizovaná protilátka podle předkládaného vynálezu sekvenci lehkého řetězce SEQ ID NO: 118 a sekvenci těžkého řetězce SEQ ID NO: 125 (Protilátka B4). V dalším provedení humanizovaná protilátka podle předkládaného

vynálezu obsahuje sekvenci lehkého řetězce SEQ ID NO: 118 a sekvenci těžkého řetězce SEQ ID NO: 126 (Protilátka B5). V dalším provedení humanizovaná protilátka podle předkládaného vynálezu obsahuje sekvenci lehkého řetězce SEQ ID NO: 118 a sekvenci těžkého řetězce SEQ ID NO: 127 (Protilátka B6).

V dalším provedení humanizovaná protilátka podle předkládaného vynálezu sestává ze sekvence lehkého řetězce SEQ ID NO: 118 a sekvence těžkého řetězce SEQ ID NO: 125 (Protilátka B4). V dalším provedení humanizovaná protilátka podle předkládaného vynálezu sestává ze sekvence lehkého řetězce SEQ ID NO: 118 a sekvence těžkého řetězce SEQ ID NO: 126 (Protilátka B5). V dalším provedení humanizovaná protilátka podle předkládaného vynálezu sestává ze sekvence lehkého řetězce SEQ ID NO: 118 a sekvence těžkého řetězce SEQ ID NO: 127 (Protilátka B6).

[0116] V některých provedeních obsahují humanizované protilátky anti-IL-36R, včetně jejich fragmentů vázajících antigen, jako jsou variabilní oblasti těžkého a lehkého řetězce, aminokyselinovou sekvenci zbytků odvozených od Protilátky B4, Protilátky B5 nebo Protilátky B6.

[0117] Humanizované protilátky anti-IL-36R mohou zahrnovat specifické aminokyselinové substituce v konvenčních nebo zárodečných oblastech základní struktury. Specifická substituce aminokyselinových zbytků v těchto pozicích oblastí základní struktury může zlepšit různé aspekty účinnosti protilátek, včetně vazebné afinity a/nebo stability, oproti těm, které byly prokázány u humanizovaných protilátek vytvořených "přímým přesunem (swap)" oblastí CDR nebo HVL do oblastí lidské zárodečné základní struktury.

[0118] V některých provedeních předkládaný vynález poskytuje monoklonální protilátky s kombinacemi variabilních oblastí lehkého řetězce a variabilních oblastí těžkého řetězce SEQ ID NO: 80/88, 80/89 nebo 80/87. Tyto variabilní oblasti mohou být kombinovány s lidskými konstantními oblastmi.

[0119] V tomto dokumentu je popsána protilátka anti-IL-36R nebo její fragment vázající antigen, obsahující:

- a) sekvenci L-CDR1, L-CDR2, L-CDR3, H-CDR1, H-CDR2 a H-CDR3 se SEQ ID NO:21, 30, 39, 48, 57 a popřípadě 67; nebo
- b) sekvenci L-CDR1, L-CDR2, L-CDR3, H-CDR1, H-CDR2 a H-CDR3 se SEQ ID NO:22, 31, 40, 49, 58 a popřípadě 68; nebo
- 5 c) sekvenci L-CDR1, L-CDR2, L-CDR3, H-CDR1, H-CDR2 a H-CDR3 se SEQ ID NO:23, 32, 41, 50, 59 a popřípadě 69; nebo
- d) sekvenci L-CDR1, L-CDR2, L-CDR3, H-CDR1, H-CDR2 a H-CDR3 se SEQ ID NO:24, 33, 42, 51, 60 a popřípadě 70; nebo
- e) sekvenci L-CDR1, L-CDR2, L-CDR3, H-CDR1, H-CDR2 a H-CDR3 se SEQ ID NO:25, 34, 43, 52, 61 a popřípadě 71; nebo
- 10 f) sekvenci L-CDR1, L-CDR2, L-CDR3, H-CDR1, H-CDR2 a H-CDR3 se SEQ ID NO:26, 35, 44, 53, 62 a popřípadě 72; nebo
- g) sekvenci L-CDR1, L-CDR2, L-CDR3, H-CDR1, H-CDR2 a H-CDR3 se SEQ ID NO:27, 36, 45, 54, 63 a popřípadě 73; nebo
- 15 h) sekvenci L-CDR1, L-CDR2, L-CDR3, H-CDR1, H-CDR2 a H-CDR3 se SEQ ID NO:27, 36, 45, 54, 64 a popřípadě 74; nebo
- i) sekvenci L-CDR1, L-CDR2, L-CDR3, H-CDR1, H-CDR2 a H-CDR3 se SEQ ID NO:27, 36, 45, 54, 64 a popřípadě 73; nebo
- j) sekvenci L-CDR1, L-CDR2, L-CDR3, H-CDR1, H-CDR2 a H-CDR3 se SEQ ID NO:28, 37, 46, 55, 65 a popřípadě 74; nebo
- 20 k) sekvenci L-CDR1, L-CDR2, L-CDR3, H-CDR1, H-CDR2 a H-CDR3 se SEQ ID NO:29, 38, 47, 56, 66 a popřípadě 75.

[0120] Protilátka anti-IL-36R nebo její fragment vázající antigen podle předkládaného vynálezu obsahují: sekvence L-CDR1, L-CDR2, L-CDR3, H-CDR1, H-CDR2 a H-CDR3 se SEQ ID NO:26, 104, 44, 53, 62 a 72, v tomto pořadí.

25

[0121] V některých provedeních je humanizovaná protilátka anti-IL-36R fragment protilátky. Různé fragmenty protilátek byly obecně diskutovány výše a existují techniky, které byly vyvinuty pro produkci fragmentů protilátek. Fragmenty mohou být odvozeny proteolytickým štěpením

30

intaktních protilátek (viz např. Morimoto et al., 1992, Journal of Biochemical and Biophysical Methods 24: 107-117; a Brennan et al., 1985, Science 229:81). Alternativně mohou být fragmenty produkovány přímo v rekombinantních hostitelských buňkách. Například fragmenty Fab'-SH mohou být přímo získány z E. coli a chemicky spojeny za vzniku fragmentů F(ab')₂ (viz např. Carter et al., 1992, Bio/Technology 10:163-167). Podle jiného přístupu, fragmenty F(ab')₂ mohou být izolovány přímo z kultury rekombinantní hostitelské buňky. Odborníkovi v oboru budou zřejmé další techniky produkce fragmentů protilátek. V souladu s tím v jednom aspektu předkládaný vynález poskytuje fragmenty protilátek obsahující jednu z kombinací variabilních oblastí lehkého řetězce a variabilních oblastí těžkého řetězce, obsahující aminokyselinovou sekvenci SEQ ID NO: 80 a SEQ ID NO: 87, 88 nebo popř. 89.

[0122] Některá provedení zahrnují fragment F(ab')₂ humanizované protilátky anti-IL-36R obsahující sekvenci lehkého řetězce SEQ ID NO: 118 v kombinaci se sekvencí těžkého řetězce SEQ ID NO: 125, 126 nebo 127. Taková provedení mohou zahrnovat intaktní protilátku obsahující takový F(ab')₂.

[0123] V některých provedeních protilátka nebo fragment protilátky obsahuje konstantní oblast, která zprostředkuje efektorovou funkci. Konstantní oblast může poskytovat reakce na protilátce závislé buněčné cytotoxicity (ADCC), na protilátce závislé buněčné fagocytózy (ADCP) a/nebo na komplementu závislé cytotoxicity (CDC) proti cílové buňce exprimující IL-36R. Efektorovou doménou (doménami) může být například oblast Fc molekuly Ig.

[0124] Efektorová doména protilátky může být z jakýchkoli vhodných druhů obratlovců a izotypů. Izotypy různých živočišných druhů se liší ve schopnostech zprostředkovat efektorové funkce. Například schopnost lidského imunoglobulinu zprostředkovat CDC a ADCC/ADCP je obecně v pořadí IgM≈IgG₁>IgG₃>IgG₂>IgG₄, resp. IgG₁>IgG₃>IgG₂/IgM/IgG₄. Myší imunoglobuliny zprostředkovávají CDC a ADCC/ADCP obecně v pořadí myší IgM≈IgG₃>>IgG_{2b}>IgG_{2a}>>IgG₁, resp. IgG_{2b}>IgG_{2a}>IgG₁>>IgG₃. V

dalším příkladu myší IgG_{2a} zprostředkuje ADCC, zatímco oba myší IgG_{2a} i IgM zprostředkují CDC.

Modifikace protilátek

[0125] Humanizované protilátky a činidla anti-IL-36R mohou zahrnovat modifikace humanizované protilátky anti-IL-36R nebo jejího fragmentu vázajícího antigen. Například může být žádoucí modifikovat protilátku s ohledem na efektorovou funkci, aby se zvýšila účinnost protilátky při 5 léčení zhoubných nádorů. Jednou takovou modifikací je zavedení cysteinového zbytku (zbytků) do oblasti Fc, čímž se v této oblasti umožní vytvoření disulfidové vazby mezi řetězci. Takto vytvořená homodimerní 10 protilátka může mít zlepšenou internalizační schopnost a/nebo zvýšené zabíjení buněk zprostředkované komplementem a/nebo na protilátce závislou buněčnou cytotoxicitu (ADCC). Viz například Caron et al., 1992, J. Exp Med. 176: 1191-1195; a Shopes, 1992, J. Immunol. 148: 2918-15 2922. Homodimerní protilátky se zvýšenou protinádorovou aktivitou mohou být také připraveny za použití heterobifunkčních zesíťovacích látek, jak je popsáno ve Wolff et al., 1993, Cancer Research 53: 2560-2565. Alternativně může být protilátka zkonstruována tak, aby obsahovala duální oblasti Fc, zvyšující lyzi komplementu a schopnosti 20 ADCC protilátky. Viz Stevenson et al., 1989, Anti-Cancer Drug Design 3: 219-230.

[0126] Protilátky se zlepšenou schopností podporovat ADCC byly vytvořeny úpravou rozložení glykosylace jejich oblasti Fc. To je možné, protože glykosylace protilátky na asparaginovém zbytku, N297 v doméně 25 C_{H2} je zapojena do interakce mezi IgG a Fcγ receptory, která je předpokladem ADCC. Hostitelské buněčné linie byly inženýrsky zkonstruovány tak, aby exprimovaly protilátky se změnou glykosylací, jako je zvýšený rozdělující N-acetylglukosamin nebo snížená fukóza. Snížení fukózy poskytuje větší vylepšení aktivity ADCC než zvýšení 30 přítomnosti rozdělujícího N-acetylglukosaminu. Kromě toho je zvýšení ADCC protilátkami s nízkou fukózou nezávislé na polymorfismu FcγR11a V/F.

- [0127]** Alternativou ke glykosylačnímu inženýrství pro zvýšení ADCC je modifikace aminokyselinové sekvence oblasti Fc protilátek. Vazebné místo na lidském IgG₁ pro receptory Fcγ bylo určeno rozsáhlou mutační analýzou. To vedlo k vytvoření humanizované protilátky IgG₁ s mutacemi
- 5 Fc, které zvyšují vazebnou afinitu pro FcγRIIIa a zvyšují ADCC in vitro. Kromě toho byly získány varianty Fc s mnoha různými permutacemi vazebných vlastností, např. zlepšenou vazbou ke specifickým receptorům FcγR s nezměněnou nebo sníženou vazbou k jiným receptorům FcγR.
- 10 **[0128]** Další aspekt zahrnuje imunokonjugáty obsahující humanizovanou protilátku nebo její fragmenty konjugované s cytotoxickým činidlem, jako je chemoterapeutická látka, toxin (např. enzymaticky aktivní toxin bakteriálního, houbového, rostlinného nebo živočišného původu, nebo jejich fragmenty), nebo radioaktivní izotop (tj. radiokonjugát).
- 15 **[0129]** Chemoterapeutické látky použitelné při vytváření takových imunokonjugátů byla popsány výše. Enzymaticky aktivní toxiny a jejich fragmenty, které mohou být použity k vytvoření použitelných imunokonjugátů, zahrnují řetězec A záškrtu A, nevázející aktivní fragmenty difterického toxinu, řetězec A exotoxinu (z *Pseudomonas aeruginosa*), řetězec A ricinu, řetězec A abrinu, řetězec A modeccinu,
- 20 alfa-sarcin, proteiny *Aleurites fordii*, proteiny *dianthinu*, proteiny *Phytolaca americana* (PAPI, PAPII a PAP-S), inhibitor *Mamordica charantia*, kurcin, krotin, inhibitor *Saponaria officinalis*, gelonin, mitogellin, restriktocin, fenomycin, enomycin, trikoteceny a podobně. Pro
- 25 produkci radiokonjugovaných humanizovaných protilátek anti-IL-36R je k dispozici celá řada radionuklidů. Příklady zahrnují ²¹²Bi, ¹³¹I, ¹³¹V, ⁹⁰Y, a ¹⁸⁶Re.
- [0130]** Konjugáty humanizované protilátky anti-IL-36R a cytotoxického nebo chemoterapeutického činidla mohou být připraveny známými
- 30 způsoby, za použití různých bifunkčních proteinových vazebných látek, jako je N-sukcinimidyl-3-(2-pyridyldithiol)propionát (SPDP), iminothiolan (IT), bifunkční deriváty imidoesterů (jako je dimethyladipimidát HCl), aktivní estery (jako je disukcinimidyl suberát), aldehydy (jako

glutaraldehyd), bis-azidosloučeniny (jako je bis (p-azidobenzoyl)hexandiamin), bis-diazoniové deriváty (jako je bis-(p-diazoniumbenzoyl)-ethylendiamin), diisokyanáty (jako je toluen 2,6-diisokyanát) a bis-aktivní sloučeniny fluoru (jako je 1,5-difluor-2,4-dinitrobenzen). Například imunotoxin ricinu může být připraven jak
5 popsáno v Vitetta et al., 1987, Science 238:1098. Kyselina 1-isothiokyanatobenzyl-3-methyldiethylentriaminpentaoctová značená uhlíkem-14 (MX-DTPA) je příkladem chelatační látky pro konjugaci radionukleotidu s protilátkou. Konjugáty mohou být také tvořeny
10 štěpitelným linkerem.

[0131] Humanizované protilátky anti-IL-36R popsané v tomto dokumentu mohou být také formulovány jako imunolipozomy. Lipozomy obsahující protilátku se připravují způsoby známými v oboru, jako jsou například
15 popsané v Epstein et al., 1985, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82:3688; Hwang et al., 1980, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4030; a US pat. č. 4,485,045 a 4,544,545. Lipozomy, které mají zvýšenou dobu v oběhu, jsou popsány například v US pat. č. 5,013,556.

[0132] Obzvláště užitečné lipozomy mohou být vytvořeny metodou odpařování v reverzních fázích s lipidovou směsí obsahující
20 fosfatidylcholin, cholesterol a PEG-derivatizovaný fosfatidylethanolamin (PEG-PE). Lipozomy jsou extrudovány přes filtry s definovanou velikostí pórů za vzniku lipozomů s požadovaným průměrem. Fragmenty Fab' zde popsané protilátky mohou být konjugovány s lipozomy, jak je popsáno v
25 Martin et al., 1982, J. Biol. Chem. 257: 286-288, prostřednictvím disulfidové výměnné reakce. V lipozomu je případně obsažena chemoterapeutická látka (jako je doxorubicin). Viz např. Gabizon et al., 1989, J. National Cancer Inst. 81 (19):1484.

[0133] Protilátky popsané a zveřejněné v tomto dokumentu mohou být také použity v postupech ADEPT (Protilátkami řízené enzymové terapie
30 proléčiv, (Anibody-Directed Enzyme Prodrug Therapy) konjugací protilátky s enzymem aktivujícím proléčivo, který převádí proléčivo (např. peptidyl-chemoterapeutickou látku), na aktivní protinádorový lék. Viz například WO 81/01145, WO 88/07378, a US pat. č. 4,975,278.

Enzymatická složka imunokonjugátu použitelného pro ADEPT je enzym schopný působit na proléčivo takovým způsobem, aby ho převedl na jeho aktivnější, cytotoxickou formu. Specifické enzymy, které jsou použitelné v ADEPT, zahrnují, bez omezení, alkalickou fosfatázu pro přeměnu 5 proléčiv obsahujících fosfáty na volná léčiva; arylsulfatázu pro přeměnu prekurzorů obsahujících sulfát na volná léčiva; cytosindeaminázu pro přeměnu netoxického 5-fluorocytosinu na protinádorové léčivo, 5-fluorouracil; proteázy, jako je proteáza serratia, termolysin, subtilisin, karboxypeptidázy a katepsiny (jako jsou katepsiny B a L), pro přeměnu 10 proléčiv obsahujících peptid na volná léčiva; D-alanylkarboxypeptidázy, pro konverzi proléčiv obsahujících D-aminokyselinové substituenty; enzymy štěpící sacharidy, jako je p-galaktosidáza a neuraminidáza, pro přeměnu glykosylovaných proléčiv na volná léčiva; β -laktamáza pro přeměnu léčiv derivatizovaných β -laktamy na volná léčiva; a penicilin 15 amidázy, jako je penicilin V amidáza nebo penicilin G amidáza, pro konverzi léčiv derivatizovaných na jejich aminových dusících fenoxycetylovými nebo fenylacetylovými skupinami na volná léčiva. Alternativně mohou být použity k přeměně proléčiv na volná aktivní léčiva protilátky, které mají enzymatickou aktivitu („abzymy“), (viz 20 například Massey, 1987, Nature 328: 457-458). Konjugáty protilátka-abzym mohou být připraveny známými způsoby pro dodávání abzymu do populace nádorových buněk, například kovalentní vazbou enzymu na humanizovanou protilátku anti-IL-36R/heterobifunkční zesilující látky diskutované výše. Alternativně mohou být fúzní proteiny obsahující 25 alespoň oblast vázající antigen protilátky popsané v tomto dokumentu navázané na alespoň funkčně aktivní část enzymu, jak je popsáno výše, konstruovány pomocí technik rekombinantní DNA (viz např. Neuberger et al., 1984, Nature 312: 604-608).

[0134] V určitých provedeních může být žádoucí použít například 30 fragment humanizované protilátky anti-IL-36R, spíše než intaktní protilátku, ke zvýšení penetrace tkáně. Může být žádoucí modifikovat fragment protilátky, aby se zvýšil jeho poločas v séru. Toho lze dosáhnout například inkorporací do fragmentu protilátky epitopu

vázajícího salvage receptor. V jednom způsobu může být příslušná oblast fragmentu protilátky změněna (např. mutována) nebo může být epitop začleněn do peptidové značky, která je pak fúzována s fragmentem protilátky na jakémkoli konci nebo uprostřed, například pomocí DNA nebo peptidové syntézy, viz např. WO 96/32478.

[0135] V dalších provedeních jsou také zahrnuty kovalentní modifikace humanizované protilátky anti-IL-36R. Kovalentní modifikace zahrnují modifikaci cysteinylových zbytků, histidylových zbytků, lysinylových a amino-koncových zbytků, arginylových zbytků, tyrosylových zbytků, karboxylových postranních skupin (aspartylové nebo glutamylové), glutaminylových a asparaginylových zbytků nebo serylových nebo threonylových zbytků. Jiný typ kovalentní modifikace zahrnuje chemickou nebo enzymatickou vazbu glykosidů na protilátku. Takové modifikace mohou být provedeny chemickou syntézou nebo enzymatickým nebo chemickým štěpením protilátky, pokud je to použitelné. Jiné typy kovalentních modifikací protilátky mohou být zavedeny do molekuly reakcí cílených aminokyselinových zbytků protilátky s organickým derivatizačním činidlem, které je schopné reagovat s vybranými postranními řetězci nebo amino- nebo karboxykoncovými zbytky.

[0136] Odstranění jakýchkoli uhlovodíkových skupin přítomných na protilátce může být provedeno chemicky nebo enzymaticky. Chemická deglykosylace je popsána v Hakimuddin et al., 1987, Arch. Biochem. Biophys. 259:52 a autory Edge et al., 1981, Anal. Biochem., 118:131. Enzymatického štěpení sacharidových skupin na protilátkách lze dosáhnout použitím různých endo- a exoglykosidáz, jak je popsáno v Thotakura et al., 1987, Meth. Enzymol 138:350.

[0137] Jiný typ použitelné kovalentní modifikace zahrnuje navázání protilátky k jednomu z řady neproteinových polymerů, např. polyethylenglykolu, polypropylenglykolu nebo polyoxyalkylenům, způsobem uvedeným v jednom nebo více z US pat. č. 4,640,835, US pat. č. 4,496,689, US pat. č. 4,301,144, US pat. č. 4,670,417, US pat. č. 4,791,192 a US pat. č. 4,179,337.

Humanizace a varianty aminokyselinových sekvencí

[0138] Varianty aminokyselinové sekvence protilátky anti-IL-36R mohou být připraveny zavedením vhodných nukleotidových změn do DNA protilátky anti-IL-36R nebo syntézou peptidů. Takové varianty zahrnují
5 například delece z a/nebo inserce do a/nebo substituce zbytků v aminokyselinových sekvencích protilátek anti-IL-36R z příkladů zde uvedených. POro dosažení konečného konstruktu je provedena jakákoli kombinace delecí, inzercí a substitucí, za předpokladu, že finální konstrukt má požadované charakteristiky. Aminokyselinové změny
10 mohou také změnit posttranslační procesy humanizované nebo variantní protilátky anti-IL-36R, jako je změna počtu nebo polohy glykosylačních míst.

[0139] Použitelný způsob identifikace určitých zbytků nebo oblastí protilátky anti-IL-36R, které jsou výhodnými místy pro mutagenezi, se
15 nazývá "alaninová skenovací mutageneze", jak je popsáno v Cunningham and Wells (Science, 244: 1081-1085 (1989)). Zde je identifikován zbytek nebo skupina cílových zbytků (např. nabitě zbytky jako arg, asp, his, lys a glu), a jsou nahrazeny neutrální nebo záporně nabitou aminokyselinou (obvykle alanin), aby se ovlivnila interakce
20 aminokyselin s antigenem IL-36R. Ta místa aminokyselin, která prokazují funkční citlivost na substituce, se pak zpřesní zavedením dalších nebo jiných variant na místa substituce nebo za místa substituce. Zatímco místo pro zavedení variace aminokyselinové sekvence je tedy předem určeno, povaha mutace sama o sobě nemusí být předem stanovena.
25 Například za účelem analýzy chování mutace v daném místě se provádí v cílovém kodonu nebo oblasti alaninové skenování nebo náhodná mutageneze, a exprimované varianty protilátek anti-IL-36R se podrobí screeningu na požadovanou aktivitu.

[0140] Inserce aminokyselinových sekvencí zahrnují amino- a/nebo
30 karboxykoncové fúze v délce od jednoho zbytku po polypeptidů obsahujících sto nebo více zbytků, stejně jako intrasekvenční inserce jednoho nebo více aminokyselinových zbytků. Příklady terminálních inzercí zahrnují protilátku anti-IL-36R fúzovanou s epitopovou značkou.

Jiné inzerční varianty molekuly protilátky anti-IL-36R zahrnují fúzi enzymu nebo polypeptidu na N- nebo C-konec protilátky anti-IL-36R, což zvyšuje poločas protilátky v séru.

- [0141]** Jiným typem varianty je varianta substituce aminokyseliny. Tyto varianty mají alespoň jeden aminokyselinový zbytek v molekule protilátky anti-IL-36R odstraněn, a na jeho místo je vložen jiný zbytek. Místa největšího zájmu pro substituční mutagenезi zahrnují hypervariabilní oblasti, ale uvažuje se také o změnách FR. Konzervativní substituce jsou uvedeny v tabulce 5 pod hlavičkou “preferované substituce”. Pokud takové substituce vedou ke změně biologické aktivity, pak mohou být zavedeny podstatnější změny, označované jako “příkladné substituce”, nebo jak je dále popsáno s odkazem na třídy aminokyselin, a produkty mohou být podrobeny screeningu.

TABULKA C:

Původní zbytek	Příkladné substituce	Preferované substituce
Ala (A)	val; leu; ile	val
Arg (R)	lys; gln; asn	lys
Asn (N)	gin; his; asp, lys; arg	gln
Asp (D)	glu; asn	glu
Cys (C)	ser; ala	ser
Gln (Q)	asn; glu	asn
Glu (E)	asp; gln	asp
Gly (G)	ala	ala
His (H)	arg; asn; gln; lys;	arg
Ile (I)	leu; val; met; ala; phe; norleucin	leu
Leu (L)	ile; norleucin; val; met; ala; phe	ile
Lys (K)	arg; gln; asn	arg
Met (M)	leu; phe; ile	leu
Phe (F)	tyr; leu; val; ile; ala;	tyr
Pro (P)	ala	ala

Ser (S)	thr	thr
Thr (T)	ser	ser
Trp (W)	tyr; phe	tyr
Tyr (Y)	phe; trp; thr; ser	phe
Val (V)	leu; ile; met; phe ala; norleucin;	leu

[0142] V proteinové chemii se obecně uznává, že biologické vlastnosti protilátky lze dosáhnout výběrem substitucí, které se výrazně liší svým účinkem na udržení (a) struktury hlavního řetězce polypeptidu v oblasti substituce, například jako list nebo helikální konformace, (b) náboje nebo hydrofobnosti molekuly v cílovém místě nebo (c) objemu postranního řetězce. Přirozeně se vyskytující zbytky jsou rozděleny do skupin na základě společných vlastností postranního řetězce:

(1) hydrofobní: norleucin, met, ala, val, leu, ile;

10 (2) neutrální hydrofilní: cys, ser, thr;

(3) kyselý: asp, glu;

(4) bazické: asn, gln, his, lys, arg;

(5) zbytky, které ovlivňují orientaci řetězce: gly, pro; a

(6) aromatické: trp, tyr, phe.

15 **[0143]** Nekonzervativní substituce budou vyžadovat výměnu člena jedné z těchto tříd za jinou třídu.

[0144] Jakýkoli cysteinový zbytek, který se nepodílí na udržování správné konformace humanizované nebo variantní protilátky anti-IL-36R, může být také substituován, obecně serinem, za účelem zlepšení oxidační stability molekuly, zabránění odchylného zesílení, nebo zajištění ustavených bodů konjugace na cytotoxickou nebo cytostatickou sloučeninu. Naopak, cysteinová vazba (vazby) mohou být k protilátce

přidány, aby se zlepšila její stabilita (zejména pokud protilátka je fragment protilátky, jako je fragment Fv).

[0145] Typ substituční varianty zahrnuje substituci jednoho nebo více zbytků hypervariabilní oblasti výchozí protilátky (např. humanizované nebo lidské protilátky). Výsledná varianta (varianty) vybrané pro další 5 vývoj budou mít obecně lepší biologické vlastnosti ve srovnání s výchozí protilátkou, ze které jsou generovány. Výhodným způsobem generování takových substitučních variant je afinitní zrání (maturace) pomocí prezentace na fágu. Stručně řečeno, několik míst hypervariabilní oblasti 10 (např. 6 až 7 míst) je mutováno za účelem generování všech možných substitucí aminokyselin v každém místě. Takto vytvořené varianty protilátek jsou prezentovány monovalentním způsobem z částic vláknitých fágů jako fúze s produktem genu III M13 sbalovaným v každé částici. Varianty prezentované na fágu jsou poté testovány screeningem 15 na jejich biologickou aktivitu (např. vazebnou afinitu). Za účelem identifikace kandidátních míst hypervariabilní oblasti pro modifikaci lze provést alaninovou skenovací mutagenezi pro identifikaci zbytků hypervariabilní oblasti, které významně přispívají k vazbě antigenu. Alternativně nebo navíc může být výhodné analyzovat krystalovou 20 strukturu komplexu antigen-protilátka pro identifikaci kontaktních bodů mezi protilátkou a lidským IL-36R. Takové kontaktní zbytky a sousední zbytky jsou kandidáty na substituci podle zde popsaných technik. Jakmile jsou takové varianty vygenerovány, panel variant je podroben screeningu, jak je zde popsáno, a protilátky s vynikajícími vlastnostmi v 25 jednom nebo více relevantních testech mohou být vybrány pro další vývoj.

[0146] Jiný typ aminokyselinové varianty protilátky mění původní rozložení glykosylace protilátky. "Změnou" se rozumí odstranění jedné nebo více uhlovodíkových skupin nacházejících se v protilátce a/nebo 30 přidání jednoho nebo více míst glykosylace, která v protilátce nejsou přítomna.

[0147] V některých provedeních může být žádoucí modifikovat protilátky podle vynálezu tak, aby byla přidána glykosylační místa. Glykosylace

protilátek je typicky buď N-vázaná nebo O-vázaná. N-vázaný znamená připojení uhlovodíkové skupiny k postrannímu řetězci asparaginového zbytku. Tripeptidové sekvence asparagin-X-serin a asparagin-X-threonin, kde X je jakákoli aminokyselina s výjimkou prolinu, jsou rozpoznávacími sekvencemi pro enzymatické navázání sacharidové části na postranní řetězec asparaginu. Přítomnost jedné z těchto tripeptidových sekvencí v polypeptidu tedy vytváří potenciální glykosylační místo. O-vázaná glykosylace označuje připojení jednoho z cukrů N-acetylgalaktosaminu, galaktózy nebo xylózy k hydroxyaminokyselině, nejčastěji serinu nebo threoninu, ačkoliv lze také použít 5-hydroxyprolin nebo 5-hydroxylysin. Aby se tedy daný protein, např. protilátka glykosyloval, je aminokyselinová sekvence tohoto proteinu upravena tak, aby obsahovala jednu nebo více výše popsaných tripeptidových sekvencí (pro N-vázaná glykosylační místa). Změna může být také provedena adicí nebo substitucí jednoho nebo více serinových nebo threoninových zbytků k sekvenci původní protilátky (pro O-vázaná glykosylační místa).

[0148] Molekuly nukleové kyseliny kódující varianty aminokyselinové sekvence protilátky anti-IL-36R se připravují řadou metod známých v oboru. Tyto metody zahrnují, ale nejsou omezeny na uvedené, izolaci z přírodního zdroje (v případě přirozeně se vyskytujících variant aminokyselinových sekvencí) nebo přípravu oligonukleotidem zprostředkovanou (nebo místně zaměřenou) mutagenezí, PCR mutagenezí a kazetovou mutagenezí dříve připravené variantní nebo nevariantní verze protilátky anti-IL-36R.

25 **Polynukleotidy, vektory, hostitelské buňky a rekombinantní metody**

[0149] Další provedení zahrnují izolované polynukleotidy, které obsahují sekvenci kódující humanizovanou protilátku anti-IL-36R, vektory a hostitelské buňky obsahující tyto polynukleotidy, a rekombinantní techniky pro produkci humanizované protilátky. Izolované polynukleotidy mohou kódovat jakoukoli požadovanou formu protilátky anti-IL-36R, zahrnující například monoklonální protilátky plné délky, fragmenty Fab,

Fab', F(ab')₂ a Fv, diabody, lineární protilátky, jednořetězcové molekuly protilátek a multispecifické protilátky vytvořené z fragmentů protilátek.

[0150] Některá provedení zahrnují izolované polynukleotidy obsahující sekvence, které kódují variabilní oblast lehkého řetězce protilátky nebo fragment protilátky, které mají aminokyselinovou sekvenci kterékoli ze SEQ ID NO: 80, a variabilní oblast těžkého řetězce protilátky nebo fragment protilátky, které mají aminokyselinovou sekvenci SEQ ID NO: 87-89. Některá provedení zahrnují izolované polynukleotidy obsahující sekvence, které kódují lehký řetězec protilátky, který má aminokyselinovou sekvenci kterékoli ze SEQ ID NO: 118 a těžký řetězec protilátky, který má aminokyselinovou sekvenci SEQ ID NO: 125-127.

[0151] V jednom aspektu izolovaná polynukleotidová sekvence (polynukleotidové sekvence) kódují protilátku nebo fragment protilátky, které mají lehký řetězec a variabilní oblast těžkého řetězce obsahující aminokyselinové sekvence SEQ ID NO: 118, resp. SEQ ID NO: 126; SEQ ID NO: 118, resp. SEQ ID NO: 127; nebo SEQ ID NO: 118 a SEQ ID NO: 125.

[0152] Polynukleotid (polynukleotidy), které obsahují sekvenci kódující humanizovanou protilátku anti-IL-36R nebo její fragment nebo řetězec, mohou být fúzovány s jednou nebo více regulačních nebo kontrolních sekvencí, jak je známo v oboru, a mohou být obsaženy ve vhodných expresních vektorech nebo hostitelských buňkách známých v oboru. Každá z polynukleotidových molekul kódujících variabilní domény těžkého nebo lehkého řetězce může být nezávisle fúzována s polynukleotidovou sekvencí kódující konstantní doménu, jako lidskou konstantní doménu, což umožňuje produkci intaktních protilátek. Alternativně mohou být spolu fúzovány polynukleotidy nebo jejich části, což poskytuje templát pro produkci jednořetězcové protilátky.

[0153] Pro rekombinantní produkci je polynukleotid kódující protilátku vložen do replikovatelného vektoru pro klonování (amplifikaci DNA) nebo pro expresi. K dispozici je mnoho vhodných vektorů pro expresi rekombinantní protilátky. Složky vektoru obecně zahrnují, bez omezení, jednu nebo více z následujících: signální sekvence, počátek replikace,

jeden nebo více markerových genů, enhancerový prvek, promotor a terminační sekvence transkripce.

[0154] Humanizované protilátky anti-IL-36R mohou být také produkovány jako fúzní polypeptidy, ve kterých je protilátka fúzována s heterologním polypeptidem, jako je signální sekvence nebo jiný polypeptid, který má specifické místo štěpení na aminokonci zralého proteinu nebo polypeptidu. Vybraná heterologní signální sekvence je typicky ta, která je hostitelskou buňkou rozpoznávána a zpracovávána (tj. štěpena signální peptidázou). Pro prokaryotní hostitelské buňky, které nerozpoznávají a nezpracovávají humanizovanou signální sekvenci protilátky anti-IL-36R, může být signální sekvence nahrazena prokaryotní signální sekvencí. Signální sekvence může být například alkalická fosfatáza, penicilináza, lipoprotein, tepelně stabilní vedoucí sekvence enterotoxinu II a podobně. Pro sekreci kvasinek může být nativní signální sekvence nahrazena například vedoucí sekvencí získanou z alfa-faktoru invertázy kvasinek (včetně vedoucích sekvencí α -faktoru *Saccharomyces* a *Kluyveromyces*), kyselá fosfatáza, glukosamyláza *C. albicans* nebo signálem popsaným ve WO90/13646. V savčích buňkách lze použít savčí signální sekvence stejně jako virové sekreční vedoucí sekvence, například signál gD herpes simplex. DNA pro takovou prekurzorovou oblast je ligována ve čtecím rámci k DNA kódující humanizovanou protilátku anti-IL-36R.

[0155] Expresní a klonovací vektory obsahují sekvenci nukleových kyselin, která umožňuje vektoru replikovat se v jedné nebo více vybraných hostitelských buňkách. Obecně je v klonovacích vektorech tato sekvence taková, která umožňuje vektoru replikovat se nezávisle na hostitelské chromozomální DNA, a zahrnuje počátky replikace nebo autonomně se replikující sekvence. Takové sekvence jsou dobře známy pro různé bakterie, kvasinky a viry. Počátek replikace z plazmidu pBR322 je vhodný pro většinu gramnegativních bakterií, 2-u plasmidový počátek je vhodný pro kvasinky, a různé virové původy (SV40, polyoma, adenovirus, VSV a BPV) jsou použitelné pro klonování vektorů v savčích buňkách. Obecně není složka počátku replikace u savčích expresních

vektorů potřebná (počátek SV40 lze obvykle použít pouze proto, že obsahuje raný promotor).

[0156] Expresní a klonovací vektory mohou obsahovat gen, který kóduje selektovatelný marker pro usnadnění identifikace exprese. Typické selektovatelné markerové geny kódují proteiny, které propůjčují rezistenci na antibiotika nebo jiné toxiny, např. ampicilin, neomycin, methotrexát nebo tetracyklin, nebo alternativně komplementují auxotrofní deficity, nebo v jiných alternativách dodávají specifické živiny, které nejsou přítomny v komplexním médiu, např., gen kódující D-alanin racemázu pro Bacilli.

[0157] Jeden příklad schématu selekce používá léčivo k zastavení růstu hostitelské buňky. Ty buňky, které jsou úspěšně transformovány heterologním genem, produkují protein, který propůjčuje rezistenci vůči lékům, a tak přežívají selekční režim. Příklady takové dominantní selekce používají léky neomycin, kyselina mykofenolovou a hygromycin. Společné selektovatelné markery pro savčí buňky jsou takové, které umožňují identifikaci buněk kompetentních k přijetí nukleové kyseliny kódující humanizovanou protilátku anti-IL-36R, jako je DHFR (dihydrofolát reduktáza), thymidinkináza, metalothionein-I a -II (jako geny metalothioneinu primátů), adenosindeaminázy, ornitin dekarboxylázy a podobně. Buňky transformované selekčním genem DHFR se nejprve identifikují kultivací všech transformantů v kultivačním médiu, které obsahuje methotrexát (Mtx), kompetitivního antagonisty DHFR. Vhodnou hostitelskou buňkou, když je použit DHFR standardního typu, je buněčná linie vaječníků čínského křečka (CHO), která nemá aktivitu DHFR (např. dG44).

[0158] Alternativně mohou být hostitelské buňky (zejména hostitelé standardního typu, které obsahují endogenní DHFR) transformované nebo kotransformované sekvencemi DNA kódujícími protilátku anti-IL-36R, protein DHFR standardního typu a další selektovatelné markery, jako je aminoglykosid 3'-fosfotransferáza (APH)), vybrány buněčným růstem v médiu obsahujícím selekční látku pro selektovatelný marker,

jako je aminoglykosidové antibiotikum, např. kanamycin, neomycin nebo G418, viz např. US pat. č. 4,965,199.

[0159] Pokud se rekombinantní produkce provádí v kvasinkové buňce jako hostitelské buňce, lze použít jako volitelný marker gen TRP1
5 přítomný v kvasinkovém plazmidu YRp7 (Stinchcomb et al., 1979, Nature 282: 39). Gen TRP1 poskytuje selekční marker pro mutantní kmen kvasinek postrádající schopnost růst v tryptofanu, například ATCC č. 44076 nebo PEP4-1 (Jones, 1977, Genetics 85:12). Přítomnost léze *trp1* v genomu kvasinkové hostitelské buňky potom poskytuje účinné
10 prostředí pro detekci transformace růstem v nepřítomnosti tryptofanu. Podobně jsou kmeny kvasinek s deficitem *Leu2p*, jako jsou ATCC 20,622 a 38,626, komplementovány známými plazmidy nesoucími gen *LEU2*.

[0160] Pro transformaci kvasinek *Kluyveromyces* lze dále použít vektory odvozené od 1,6 μ m kruhového plasmidu pKD1. Alternativně byl pro *K.*
15 *lactis* ohlášen expresní systém pro produkci rekombinantního telecího chymosinu ve velkém měřítku (Van den Berg, 1990, Bio/Technology 8:135). Byly také popsány stabilní expresní vektory s větším počtem kopií pro sekreci zralého rekombinantního lidského sérového albuminu průmyslovými kmeny *Kluyveromyces* (Fleer et al., 1991, Bio/Technology
20 9: 968-975).

[0161] Expresní a klonovací vektory obvykle obsahují promotor, který je rozpoznáván hostitelským organismem, a je operativně navázán na molekulu nukleové kyseliny kódující protilátku anti-IL-36R nebo její polypeptidový řetězec. Mezi promotory vhodné pro použití s
25 prokaryotními hostiteli patří promotor *phoA*, promotorové systémy β -laktamázy a laktózy, alkalická fosfatáza, systém promotoru tryptofanu (*trp*) a hybridní promotory, jako je promotor *tac*. Vhodné jsou také jiné známé bakteriální promotory. Promotory pro použití v bakteriálních systémech budou také obsahovat Shine-Dalgarnovu (S.D.) sekvenci
30 operativně spojenou s DNA kódující humanizovanou protilátku anti-IL-36R.

[0162] Je známo mnoho eukaryotních promotorových sekvencí. Prakticky všechny eukaryotní geny mají oblast bohatou na AT

lokalizovanou přibližně 25 až 30 bází upstream od místa, kde je zahájena transkripce. Další sekvence nacházející se 70 až 80 bází upstream od začátku transkripce mnoha genů je oblast CNCAAT, kde N může být jakýkoli nukleotid. Na 3'-konci většiny eukaryotních genů je sekvence AATAAA, která může být signálem pro přidání konce poly A k 3'-konci kódující sekvence. Všechny tyto sekvence jsou vhodně vloženy do eukaryotních expresních vektorů.

[0163] Příklady vhodných podpůrných sekvencí pro použití s kvasinkovými hostiteli zahrnují promotory pro 3-fosfoglycerátkinázu nebo jiné glykolytické enzymy, jako je enoláza, glyceraldehyd-3-fosfátdehydrogenáza, hexokináza, pyruvátdekarboxyláza, fosfofruktokináza, glukóza-6-fosfátizomeráza, 3-fosfoglycerátmutáza, pyruvátkináza, triózafosfátizomeráza, fosfoglukózaizomeráza a glukokináza.

[0164] Indukovatelné promotory mají další výhodu transkripce řízené růstovými podmínkami. Patří sem oblasti kvasinkového promotoru pro alkoholdehydrogenázu 2, isocytochrom C, kyselou fosfatázu, derivátové enzymy spojené s metabolismem dusíku, metalothionein, glyceraldehyd-3-fosfátdehydrogenázu a enzymy odpovědné za využití maltózy a galaktózy. Vhodné vektory a promotory pro použití při expresi kvasinek jsou dále popsány v EP 73,657. S kvasinkovými promotory se také výhodně používají kvasinkové enhancery.

[0165] Transkripce humanizované protilátky anti-IL-36R z vektorů v savčích hostitelských buňkách je řízena například promotory získanými z genomů virů, jako je polyomavirus, virus drůbežích neštovic, adenovirus (jako je adenovirus 2), hovězího papillomavirus, virus ptačího sarkomu, cytomegalovirus, retrovirus, virus hepatitidy-B a opičí virus 40 (SV40), z heterologních savčích promotorů, např. aktinový promotor nebo imunoglobulinový promotoru, nebo z teplem indukovatelných promotorů, za předpokladu, že tyto promotory jsou kompatibilní se systémy hostitelské buňky.

[0166] Rané a pozdní promotory viru SV40 se obvykle získají jako restriční fragment SV40, který také obsahuje virový počátek replikace

SV40. Bezprostředně raný promotor lidského cytomegaloviru se obvykle získá jako restriční fragment HindIII E. Systém pro expresi DNA v savčích hostitelích využívajících jako vektor hovězí papillomavirus je popsán v US pat. č. 4,419,446. Úpravy tohoto systému jsou popsány v
 5 US pat. č. 4,601,978, viz také Reyes et al., 1982, Nature 297: 598-601, popisující expresi cDNA lidského p-interferonu v myších buňkách pod kontrolou promotoru thymidinkinázy z viru herpes simplex. Alternativně lze jako promotor použít dlouhou terminální repetici viru Rousova sarkomu.

10 **[0167]** Dalším použitelným prvkem, který lze použít v rekombinantním expresním vektoru, je enhancerová sekvence, která se používá ke zvýšení transkripce DNA kódující humanizovanou protilátku anti-IL-36R vyššími eukaryoty. Ze savčích genů je nyní známo mnoho enhancerových sekvencí (např. globin, elastáza, albumin, α -fetoprotein a
 15 inzulin). Obvykle se však používá enhancer z viru eukaryotních buněk. Příklady zahrnují enhancer SV40 na pozdní straně počátku replikace (bp 100-270), enhancer raného promotoru cytomegaloviru, enhancer polyoma na pozdní straně počátku replikace, a adenovirové enhancery, viz také Yaniv, 1982, Nature 297: 17-18 pro popis zesilujících prvků pro
 20 aktivaci eukaryotních promotorů. Enhancer může být sestřižen do vektoru v poloze 5' nebo 3' vzhledem k sekvenci kódující humanizovanou protilátku anti-IL-36R, ale je výhodně umístěn v místě 5' od promotoru.

[0168] Expresní vektory používané v eukaryotních hostitelských buňkách (kvasinky, houby, hmyz, rostliny, živočišné, lidské nebo nukleované
 25 buňky z jiných mnohobuněčných organismů) mohou také obsahovat sekvence nezbytné pro ukončení transkripce a pro stabilizaci mRNA. Takové sekvence jsou běžně dostupné z 5', a příležitostně 3' nepřekládaných oblastí eukaryotních nebo virových DNA nebo cDNA. Tyto oblasti obsahují nukleotidové segmenty transkribované jako
 30 polyadenylované fragmenty v nepřekládané části mRNA kódující protilátku anti-IL-36R. Jednou použitelnou komponentou pro trminaci transkripce je polyadenylační oblast bovinního růstového hormonu, viz WO94/11026 a zde popsany expresní vektor. V některých provedeních

mohou být humanizované protilátky anti-IL-36R exprimovány pomocí systému CHEF. (Viz např. US pat. č. 5,888,809)

[0169] Vhodné hostitelské buňky pro klonování nebo expresi DNA ve vektorech zde uvedených jsou prokaryotní, kvasinkové nebo vyšší eukaryotní buňky popsané výše. Mezi vhodné prokaryoty pro tento účel patří eubakterie, jako jsou gramnegativní nebo grampozitivní organismy, například Enterobacteriaceae, jako je Escherichia, např. E. coli, Enterobacter, Erwinia, Klebsiella, Proteus, Salmonella, např. Salmonella typhimurium, Serratia, např. Serratia marcescans a Shigella, stejně jako Bacilli, jako je B. subtilis a B. licheniformis (např. B. licheniformis 41 P popsaný v DD 266,710 zveřejněné 12.4.1989), Pseudomonas, jako je P. aeruginosa a Streptomyces. Jedním výhodným klonovacím hostitelem E. coli je E. coli 294 (ATCC 31,446), ačkoli jsou vhodné i jiné kmeny, jako je E. coli B, E. coli X1776 (ATCC 31,537) a E. coli W3110 (ATCC 27,325). Tyto příklady jsou spíše ilustrativní než omezující.

[0170] Kromě prokaryot jsou vhodnými klonovacími nebo expresními hostiteli pro humanizované vektory kódující protilátky anti-IL-36 také eukaryotní mikroby, jako jsou vláknité houby nebo kvasinky. Saccharomyces cerevisiae neboli běžné pekařské kvasnice jsou nejčastěji používány mezi nižšími eukaryotními hostitelskými mikroorganismy. V tomto dokumentu je však běžně dostupných a použitelných mnoho dalších rodů, druhů a kmenů, jako je Schizosaccharomyces pombe; hostitelé Kluyveromyces jako např. K. lactis, K. fragilis (ATCC 12 424), K. bulgaricus (ATCC 16 045), K. wickerhamii (ATCC 24,178), K. waltii (ATCC 56 500), K. drosophilarum (ATCC 36 906) K. K. thermotolerans a K. marxianus; Yarrowia (EP 402,226); Pichia pastoris (EP 183,070); Candida; Trichoderma reesia (EP 244,234); Neurospora crassa; Schwanniomyces jako Schwanniomyces occidentalis; a vláknité houby, jako například hostitelé Neurospora, Penicillium, Tolypocladium a Aspergillus, jako jsou A. nidulans a A. niger.

[0171] Vhodné hostitelské buňky pro expresi glykosylované humanizované protilátky anti-IL-36R jsou odvozeny od mnohobuněčných

organismů. Příklady buněk bezobratlých zahrnují rostlinné a hmyzí buňky, včetně např. četných bakulovirových kmenů a variant a odpovídajících permisivních hmyzích hostitelských buněk z hostitelů, jako je *Spodoptera frugiperda* (housesenka), *Aedes aegypti* (komár), *Aedes albopictus* (komár), *Drosophila melanogaster* (ovocná muška) a *Bombyx mori* (bourec morušový). Veřejně je k dispozici řada virových kmenů pro transfekci, např. varianta L-1 *Autographa californica* NPV a kmen Bm-5 NPV *Bombyx mori*, a takové viry mohou být použity, zejména pro transfekci buněk *Spodoptera frugiperda*.

10 **[0172]** Jako hostitelé mohou být také použity rostlinné buněčné kultury bavlny, kukuřice, brambor, sóji, petúnie, rajčat a tabáku.

[0173] V dalším aspektu je exprese humanizované anti-IL-36R prováděna v buňkách obratlovců. Pomnožení buněk obratlovců v kultuře (tkáňová kultura) se stalo rutinním postupem, a techniky jsou široce dostupné. Příklady použitelných savčích hostitelských buněčných linií jsou linie opičích ledvin CV1 transformované SV40 (COS-7, ATCC CRL 1651), linie lidských embryonálních ledvin (buňky 293 nebo 293 subklonované pro růst v suspenzní kultuře, (Graham et al., 1977, J. Gen Virol. 36: 59), ledvinové buňky mláďat křečka (BHK, ATCC CCL 10), 15 ovariální buňky čínského křečka/-DHFR1 (CHO, Urlaub et al., 1980, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77: 4216; např. DG44), myší Sertoliho buňky (TM4, Mather, 1980, Biol. Reprod. 23: 243-251), ledvinové buňky opice (CV1 ATCC CCL 70), ledvinové buňky kočkodana zeleného (VERO-76, ATCC CRL-1587), buňky lidského karcinomu děložního hrdla (HELA, 25 ATCC CCL 2), psí ledvinové buňky (MDCK, ATCC CCL 34) , jaterní buňky potkana Buffalo (BRL 3A, ATCC CRL 1442), lidské plicní buňky (W138, ATCC CCL 75), lidské jaterní buňky (Hep G2, HB 8065), myší nádor mléčné žlázy (MMT 060562, ATCC CCL51), buňky TR1 (Mather et al., 1982, Annals N.Y. Acad. Sci. 383: 44-68), buňky MRC 5, buňky FS4 30 a linie lidského hepatomu (Hep G2).

[0174] Hostitelské buňky jsou transformovány výše popsanými expresními nebo klonovacími vektory pro produkci humanizované protilátky anti-IL-36R a kultivovány v konvenčním živném médiu

modifikovaném podle potřeby pro indukci promotorů, selekci transformantů nebo amplifikaci genů kódujících požadované sekvence.

[0175] Hostitelské buňky použité k produkci humanizované protilátky anti-IL-36R popsané v tomto dokumentu mohou být kultivovány v různých médiích. Pro kultivaci hostitelských buněk jsou vhodná komerčně dostupná média, jako je Ham's F10 (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO), minimální esenciální médium (MEM), (Sigma-Aldrich Co.), RPMI-1640 (Sigma-Aldrich Co.) a Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM), Sigma-Aldrich Co.) Kromě toho může být použito jako kultivační médium pro hostitelské buňky jakékoli médium popsané v jednom nebo více z Ham et al., 1979, Meth. Enz. 58: 44, Barnes et al., 1980, Anal. Biochem. 102: 255, US pat. č. 4,767,704, US pat. č. 4,657,866, US pat. č. 4,927,762, US pat. č. 4,560,655, US pat. č. 5,122,469, WO 90/103430, a WO 87/00195. Kterákoli z těchto médií mohou být podle potřeby doplněna hormony a/nebo jinými růstovými faktory (jako je inzulin, transferrin nebo epidermální růstový faktor), solemi (jako je chlorid sodný, vápník, hořčík a fosfát), puřry (jako HEPES), nukleotidy (jako je adenosin a thymidin), antibiotiky (jako je gentamycin), stopovými prvky (definované jako anorganické sloučeniny obvykle přítomné ve finálních koncentracích v mikromolárním rozmezí) a glukózou nebo ekvivalentním zdrojem energie. Další doplňky mohou být také zahrnuty ve vhodných koncentracích, které by byly známé odborníkům v oboru. Kultivační podmínky, jako je teplota, pH a podobně, jsou podmínky, které byly dříve používány s hostitelskou buňkou vybranou pro expresi, a budou zřejmé běžnému odborníkovi v oboru.

[0176] Při použití rekombinantních technik může být protilátka produkována intracelulárně, v periplazmatickém prostoru nebo přímo sekrenována do média. Pokud je protilátka produkována intracelulárně, buňky mohou být jako první krok narušeny, aby se uvolnil protein. Zbytky částic, buď hostitelské buňky nebo lyzované fragmenty, mohou být odstraněny například odstředěním nebo ultrafiltrací. Carter et al., 1992, Bio/Technology 10: 163-167 popisuje postup pro izolaci protilátek, které jsou sekrenovány do periplazmatického prostoru E. coli. Stručně,

buněčná pasta se nechá roztát v přítomnosti octanu sodného (pH 3,5), EDTA a fenylmethylsulfonylfluoridu (PMSF) během přibližně 30 minut. Buněčný debris může být odstraněn odstředěním. Tam, kde je protilátka sekrenována do média, jsou supernatanty z takových expresních systémů obecně nejprve zakoncentrovány za použití komerčně dostupného filtru pro koncentraci proteinů, například ultrafiltrační jednotky Amicon nebo Millipore Pellicon. Inhibitor proteázy, jako je PMSF, může být zahrnut v kterémkoli z předchozích kroků pro inhibici proteolýzy, a mohou být zahrnuta antibiotika pro zabránění růstu náhodných kontaminantů. K izolaci protilátky z hostitelské buňky lze použít řadu metod.

[0177] Protilátková směs připravená z buněk může být čištěna například pomocí hydroxylapatitové chromatografie, gelové elektroforézy, dialýzy a afinní chromatografie, přičemž typickou purifikační technikou je afinní chromatografie. Vhodnost proteinu A jako afinního ligandu závisí na druhu a izotypu jakékoli imunoglobulinové domény Fc, která je přítomna v protilátce. Protein A lze použít k čištění protilátek, které jsou založeny na těžkých řetězcích gama1, gama2 nebo gama4 (viz např. Lindmark et al., 1983 J. Immunol. Meth. 62: 1-13). Protein G se doporučuje pro všechny myší izotypy a pro lidský gama3 (viz např. Guss et al., 1986 EMBO J. 5: 1567-1575). Matrice, na které je navázán afinní ligand, je nejčastěji agaróza, ale jsou dostupné i jiné matrice. Mechanicky stabilní matrice, jako je sklo s kontrolovanými póry nebo poly(styrendivinyl)benzen, umožňují rychlejší průtoky a kratší doby zpracování, než jaké lze dosáhnout s agarózou. Kde protilátka obsahuje doménu C_{H3}, pro purifikaci je použitelná pryskyřice Bakerbond ABX™ (J. T. Baker, Phillipsburg, N.J.). Jsou také dostupné další techniky čištění proteinů, jako je frakcionace na iontoměničové koloně, srážení ethanolem, HPLC s reverzními fázemi, chromatografie na silikagelu, chromatografie na heparin SEPHAROSE™, chromatografie na aniontové nebo kationtoměničové pryskyřici (jako je kolona polyasparagové kyseliny), chromatografická fokusace, SDS-PAGE a srážení síranem amonným, v závislosti na protilátce, která má být izolována.

[0178] Po jakémkoli předběžném purifikačním kroku (krocích) může být směs obsahující protilátku, která je předmětem zájmu, a kontaminanty, podrobena chromatografii s hydrofobní interakcí s nízkým pH za použití elučního pufru při pH mezi přibližně 2,5-4,5, obvykle prováděnou při 5 nízkých koncentracích soli (např. od přibližně 0-0,25M soli).

[0179] V tomto dokumentu jsou také popsány nukleové kyseliny, které hybridizují za podmínek nízké, střední a vysoké stringentnosti, jak je zde definováno, se všemi nebo částí (např. částí kódující variabilní oblast) nukleotidové sekvence představovanou izolovanou polynukleotidovou 10 sekvencí (sekvencemi), které kódující protilátku nebo fragment protilátky podle předkládaného vynálezu. Hybridizační část hybridizující nukleové kyseliny je obvykle dlouhá alespoň 15 (např. 20, 25, 30 nebo 50) nukleotidů. Hybridizující část hybridizující nukleové kyseliny je z alespoň 80 %, např. alespoň 90 %, alespoň 95 % nebo alespoň 98 % identická se 15 sekvencí části nebo celé nukleové kyseliny kódující polypeptid anti-IL-36R (např. variabilní oblast těžkého řetězce nebo lehkého řetězce) nebo jejím komplementem. Hybridizující nukleové kyseliny typu popsaného v tomto dokumentu mohou být použity například jako klonovací sonda, primer, např. PCR primer, nebo diagnostická sonda.

20 **Neterapeutická použití**

[0180] Protilátky popsané v tomto dokumentu jsou použitelné jako afinitní purifikační látky. V tomto procesu jsou protilátky imobilizovány na pevné fázi, jako je pryskyřice s Proteinem A, za použití metod dobře známých v oboru. Imobilizovaná protilátka je uvedena do kontaktu se 25 vzorkem obsahujícím protein IL-36R (nebo jeho fragment), který má být čištěn, a poté je nosič promyt vhodným rozpouštědlem, které odstraní v podstatě veškerý materiál ve vzorku kromě proteinu IL-36R, který je vázán na imobilizovanou protilátku. Nakonec se nosič promyje dalším vhodným rozpouštědlem, které uvolní protein IL-36R z protilátky.

30 **[0181]** Protilátky anti-IL-36R, například humanizované protilátky anti-IL-36R, jsou také použitelné v diagnostických testech k detekci a/nebo kvantifikaci proteinu IL-36R, například k detekci exprese IL-36R ve

specifických buňkách, tkáních nebo séru. Protilátky anti-IL-36R mohou být použity diagnosticky například k monitorování vývoje nebo progresu nemoci jako součást postupu klinického testování, např. stanovení účinnosti daného léčebného a/nebo preventivního režimu. Detekce může
5 být usnadněna spojením protilátky anti-IL-36R. Příklady detekovatelných látek zahrnují různé enzymy, prostetické skupiny, fluorescenční materiály, luminiscenční materiály, bioluminiscenční materiály, radioaktivní materiály, pozitron emitující kovy využívající různé pozitronové emisní tomografie a neradioaktivní paramagnetické kovové
10 ionty, viz například US patent č. 4,741,900 pro kovové ionty, které mohou být konjugovány s protilátkami pro použití jako diagnostika podle předkládaného vynálezu.

[0182] Protilátky anti-IL-36R mohou být použity ve způsobech *ex vivo* pro diagnostiku poruchy spojené s IL-36R (např. porucha
15 charakterizovaná abnormální expresí IL-36R) nebo určení, zda má subjekt zvýšené riziko rozvoje poruchy spojené s IL-36R. Tyto způsoby zahrnují kontakt biologického vzorku ze subjektu s protilátkou IL-36R, a detekci vazby protilátky na IL-36R. "Biologickým vzorkem" se rozumí jakýkoli biologický vzorek získaný z jednice, buněčné linie, tkáňové
20 kultury nebo jiného zdroje buněk potenciálně exprimujících IL-36R. Způsoby získání tkáňových biopsií a tělesných tekutin od savců jsou v oboru dobře známy.

[0183] V některých provedeních může způsob dále zahrnovat porovnání hladiny IL-36R ve vzorku pacienta s kontrolním vzorkem (např. subjekt,
25 který nemá poruchu spojenou s IL-36R), aby se určilo, zda má pacient poruchu spojenou s IL-36R, nebo je u něj riziko vzniku poruchy spojené s IL-36R.

[0184] V některých provedeních, například pro diagnostické účely, bude výhodné označit protilátku detekovatelnou částí. K dispozici je mnoho detekovatelných značek, včetně radioizotopů, fluorescenčních značek,
30 značek enzymových substrátů a podobně. Značka může být nepřímo konjugována s protilátkou pomocí různých známých technik. Protilátka může být například konjugována s biotinem a jakákoli ze tří širokých

kategorií značek uvedených výše může být konjugována s avidinem nebo naopak. Biotin se váže selektivně na avidin, a tak může být značka konjugována s protilátkou tímto nepřímým způsobem. Alternativně, pro dosažení nepřímé konjugace značky s protilátkou, může být protilátka konjugována s malým haptenem (jako je digoxin), a jeden z různých typů značek uvedených výše je konjugován s protilátkou proti haptenu (např. protilátka proti digoxinu). Lze tak dosáhnout nepřímé konjugace značky s protilátkou.

10 **[0185]** Mezi příklady radioizotopových značek patří ^{35}S , ^{14}C , ^{125}I , ^3H a ^{131}I . Protilátka může být značena radioizotopem za použití technik popsaných například v Current Protocols in Immunology, svazky 1 a 2, 1991, Coligen et al., Ed. Wiley-Interscience, New York, N.Y., Pubs. Radioaktivita může být měřena například scintilačním počítáním.

15 **[0186]** Příklady fluorescenčních značek zahrnují značky odvozené od chelátů vzácných zemin (cheláty europia) nebo fluorescein a jeho deriváty, rhodamin a jeho deriváty, dansyl, lissamin, fykoerythrin a Texas Red. Fluorescenční značky lze konjugovat s protilátkou známými technikami, jako jsou například techniky popsané v Current Protocols in
20 Immunology. Fluorescenci lze kvantifikovat pomocí fluorimetru.

[0187] V oboru jsou známy různé dobře charakterizované značky enzym-substrát (pro přehled viz např. US pat. č. 4,275,149). Enzym obecně katalyzuje chemickou změnu chromogenního substrátu, kterou lze měřit pomocí různých technik. Například změna může být změna barvy v substrátu, která může být měřena spektrofotometricky. Alternativně může enzym změnit fluorescenci nebo chemiluminiscenci substrátu. Techniky pro kvantifikaci změny fluorescence jsou popsány výše. Chemiluminiscenční substrát se elektronicky excituje chemickou reakcí a může pak emitovat světlo, které lze měřit například pomocí chemiluminometru, nebo daruje energii fluorescenčnímu akceptoru.
25
30

[0188] Příklady enzymatických značek zahrnují luciferázy, jako je luciferáza světlušky a bakteriální luciferáza (US pat. č. 4,737,456),

luciferin, 2,3-dihydroftalaziniony, malát dehydrogenáza, ureáza, peroxidáza, jako je křenová peroxidáza (HRPO), alkalická fosfatáza, β -galaktosidáza, glukoamyláza, lysozym, oxidázy sacharidů (jako glukózaoxidáza, galaktózaoxidáza, a glukóza-6-fosfátdehydrogenáza),
5 heterocyklické oxidázy (jako je urikáza a xanthinoxidáza), laktoperoxidáza, mikroperoxidáza a podobně. Techniky konjugace enzymů na protilátky jsou popsány například v publikaci O'Sullivan et al., 1981, Methods for the Preparation of Enzyme-Antibody Conjugates for use in Enzyme Immunoassay, in Methods in Enzym. (J. Langone & H. Van Vunakis, eds.), Academic press, N.Y., 73: 147-166.
10

[0189] Příklady kombinací enzym-substrát zahrnují například: křenová peroxidáza (HRPO) s peroxidem vodíku jako substrátem, kde peroxid vodíku oxiduje prekurzor barviva, jako je ortofenylendiamin (OPD) nebo 3,3',5,5'-tetramethylbenzidin hydrochlorid (TMB); alkalická fosfatáza (AP)
15 s para-nitrofenylfosfátem jako chromogenním substrátem; a β -D-galaktosidáza (β -D-Gal) s chromogenním substrátem, jako je p-nitrofenyl- β -D-galaktosidáza nebo fluorogenní substrát 4-methylumbelliferyl- β -D-galaktosidáza.

[0190] Odborníkům v oboru je k dispozici řada dalších kombinací enzym-substrát. Jejich obecný přehled viz US pat. č. 4,275,149 a US pat. č. 4,318,980.
20

[0191] V dalším provedení se humanizovaná protilátka anti-IL-36R používá bez značení a detekuje se značenou protilátkou, která váže humanizovanou protilátku anti-IL-36R.

25 **[0192]** Protilátky popsané v tomto dokumentu mohou být použity v jakémkoli známém testovacím způsobu, jako jsou kompetitivní vazebné testy, přímé a nepřímé sendvičové testy a imunoprecipitační testy, viz např. Zola, Monoclonal Antibodies: A Manual of Techniques, pp. 147-158 (CRC Press, Inc. 1987).

30 **[0193]** Protilátka anti-IL-36R nebo její fragment vázající antigen lze použít k inhibici vazby ligandu k receptoru IL-36. Takové způsoby zahrnují podávání protilátky anti-IL-36R nebo jejího fragmentu vázajícího

antigen do buňky (např. savčí buňky) nebo buněčného prostředí, čímž je inhibována signalizace zprostředkovaná receptorem IL-36. Tyto metody lze provádět *in vitro* nebo *in vivo*. Výrazem “buněčné prostředí” se rozumí tkáň, médium nebo extracelulární matrice obklopující buňku.

- 5 Protilátka anti-IL-36R nebo její fragment vázající antigen se podává do buněčného prostředí buňky takovým způsobem, že protilátka nebo fragment jsou schopny vázat se na molekuly IL-36R mimo buňku a obklopující buňku, čímž brání vazbě ligandu IL-36 na jeho receptor.

Diagnostické soupravy

- 10 **[0194]** Protilátka anti-IL-36R může být použita v diagnostické soupravě, tj. v zabalené kombinaci reagensů ve předem stanovených množstvích s pokyny pro provedení diagnostického testu. Pokud je protilátka značena enzymem, může souprava obsahovat substráty a kofaktory vyžadované enzymem, jako je substrátový prekurzor, který poskytuje detekovatelný
- 15 chromofor nebo fluorofor. Kromě toho mohou být zahrnuty další přísady, jako jsou stabilizátory, pufrů (například blokovací pufr nebo lyzační pufr) a podobně. Relativní množství různých látek se mohou široce měnit, aby se zajistily koncentrace v roztoku látek, které podstatně optimalizují citlivost testu. Látky mohou být poskytovány jako suché prášky, obvykle
- 20 lyofilizované, včetně pomocných látek, které po rozpuštění poskytnou roztok látky s odpovídající koncentrací.

Terapeutická Použití

- [0195]** V dalším provedení je zde popsána humanizovaná protilátka anti-IL-36R použitelná při léčení různých poruch spojených s expresí IL-36R,
- 25 jak je zde popsáno. Humanizovaná protilátka anti-IL36R pro použití při léčení poruchy spojené s IL-36R zahrnuje terapeuticky účinné množství humanizované protilátky anti-IL-36R, které má být podáno subjektu, který to potřebuje.

- [0196]** Humanizovaná protilátka anti-IL-36R nebo látka se podává
- 30 jakýmkoli vhodným způsobem, včetně parenterálního, subkutánního, intraperitoneálního, intrapulmonálního a intranazálního, a pokud je to žádoucí pro lokální imunosupresivní ošetření, intralézním podáním

(včetně perfúze nebo jiného kontaktu štěpu s protilátkou před transplantací). Humanizovaná protilátka anti-IL-36R nebo činidlo mohou být podávány například jako infuze nebo jako bolus. Parenterální infuze zahrnují intramuskulární, intravenózní, intraarteriální, intraperitoneální
5 nebo subkutánní podání. Humanizovaná protilátka anti-IL-36R se dále vhodně podává pulzní infuzí, zejména při klesajících dávkách protilátky. V jednom aspektu je dávkování podáváno injekcemi, nejvýhodněji intravenózními nebo subkutánními injekcemi, částečně v závislosti na tom, zda je podávání krátké nebo chronické.

10 **[0197]** Pro prevenci nebo léčení onemocnění bude příslušná dávka protilátky záviset na řadě faktorů, jako je typ onemocnění, které má být léčeno, jak je definováno výše, závažnosti a průběhu onemocnění, ať už je protilátka podávána jako preventivní nebo terapeutické účely, předchozí terapie, klinická anamnéza pacienta a odpověď na protilátku, a
15 uvážení ošetřujícího lékaře. Protilátka se vhodně podává pacientovi najednou nebo v průběhu série ošetření.

[0198] V závislosti na typu a závažnosti onemocnění je počáteční dávkou pro podání pacientovi přibližně 1 µg/kg až 20 mg/kg (např. 0,1-15 mg/kg) protilátky, ať už například jedním nebo více samostatnými
20 podáními nebo kontinuální infuzí. Typická denní dávka by se mohla pohybovat od přibližně 1 µg/kg do 100 mg/kg nebo více, v závislosti na výše uvedených faktorech. Pro opakovaná podávání po dobu několika dnů nebo déle, v závislosti na stavu, je léčení udržováno, dokud nenastane požadované potlačení symptomů onemocnění. Použitelné
25 však mohou být i jiné dávkovací režimy. Průběh této terapie lze snadno sledovat konvenčními technikami a testy. Příkladem dávkovacího režimu je režim popsáný ve WO 94/04188.

[0199] Pojem “potlačení” se zde používá ve stejném kontextu jako “zmírnění” a “zlepšení”, což znamená zmírnění jedné nebo více
30 charakteristik onemocnění.

[0200] Prostředek s protilátkou bude formulován, dávkován a podáván způsobem odpovídajícím dobré lékařské praxi. Faktory, které je třeba v této souvislosti brát v úvahu, zahrnují konkrétní léčenou poruchu,

konkrétního léčeného savce, klinický stav jednotlivého pacienta, příčinu poruchy, místo dodání látky, způsob podání, rozvrhnutí podávání a další faktory, které jsou odborníkům známy. “Terapeuticky účinné množství” protilátky, která má být podávána, se bude takovými úvahami řídit, a je

5 minimálním množstvím nezbytným pro prevenci, zmírnění nebo léčení poruchy spojené s expresí IL-36R.

[0201] Protilátka nemusí být, ale je volitelně, formulována s jedním nebo více činidly v současné době používanými k prevenci nebo léčení dané poruchy. Účinné množství takových dalších látek závisí na množství

10 humanizované protilátky anti-IL-36R přítomné ve formulaci, typu poruchy nebo léčení, a dalších faktorech diskutovaných výše. Obvykle se tyto používají ve stejných dávkách a způsoby podávání, jaké byly použity výše nebo přibližně od 1 do 99 % dříve použitých dávek.

Farmaceutické prostředky a jejich podávání

15 **[0202]** Směs obsahující látku vázající IL-36R (např. protilátku anti-IL-36R) může být podávána subjektu, který má, nebo je u něj riziko imunologické poruchy, respirační poruchy nebo zhoubných nádorů. Vynález dále poskytuje použití látky vázající IL-36R (např. protilátky anti-

20 IL-36R) při výrobě léčiva pro prevenci nebo léčení zhoubných nádorů, respirační poruchy nebo imunologické poruchy. Termín “subjekt“, jak je používán v tomto dokumentu, znamená libovolného savčího pacienta, kterému může být podáváno látka vázající IL-36R, včetně například lidí a savců jiného než lidského původu, jako jsou primáti, hlodavci a psi. Mezi subjekty konkrétně určené k léčení patří lidé. Protilátky nebo látky mohou

25 být podávány buď samotné nebo v kombinaci s jinými směsmi při prevenci nebo léčení imunologické poruchy, respirační poruchy nebo zhoubných nádorů. Takové směsi, které mohou být podávány v kombinaci s protilátkami nebo látkami, zahrnují methotrexát (MTX) a imunomodulátory, např. protilátky nebo malé molekuly.

30 **[0203]** Příklady protilátek pro použití v takových farmaceutických prostředcích jsou ty, které obsahují protilátku nebo fragment protilátky, který má aminokyselinovou sekvenci variabilní oblasti lehkého řetězce

SEQ ID NO: 80; a aminokyselinovou sekvenci variabilní oblasti těžkého řetězce podle kterékoli ze SEQ ID NO: 87-89.

[0204] Další příklady protilátek pro použití v takových farmaceutických prostředcích jsou také ty, které obsahují humanizovanou protilátku nebo fragment protilátky, který má variabilní oblast lehkého řetězce a variabilní oblast těžkého řetězce kterékoli ze SEQ ID NO: 80 a 88, SEQ ID NO: 80 a 89 nebo SEQ ID NO: 80 a 87.

[0205] Další příklady protilátek pro použití v takových farmaceutických prostředcích jsou také ty, které obsahují humanizovanou protilátku, který má aminokyselinovou sekvenci oblasti lehkého řetězce SEQ ID NO: 118; a aminokyselinovou sekvenci variabilní oblasti těžkého řetězce podle kterékoli ze SEQ ID NO: 125, 126 nebo 127.

[0206] Další příklady protilátek pro použití v takových farmaceutických prostředcích jsou také ty, které obsahují protilátku B4, protilátku B5 nebo protilátku B6.

[0207] Jsou známy různé dodávací systémy, a lze je použít k podávání vazebné látky IL-36R. Způsoby zavedení zahrnují, bez omezení, intradermální, intramuskulární, intraperitoneální, intravenózní, subkutánní, intranazální, epidurální a orální cesty. Vazebné látka IL-36R může být podávána například infuzí, bolusem nebo injekcí, a může být podávána společně s dalšími biologicky aktivními činidly, jako jsou chemoterapeutické látky. Podávání může být systémové nebo lokální. Ve výhodných provedeních se podávání provádí subkutánní injekcí. Formulace pro takové injekce mohou být připraveny například v předplněných injekčních stříkačkách, které mohou být podávány jednou za dva týdny.

[0208] V konkrétních provedeních je prostředek obsahující vazebnou látku IL-36R podáván injekcí, pomocí katétru, pomocí čípku nebo pomocí implantátu, přičemž implantát je z porézního, neporézního nebo želatinového materiálu, včetně membrány, jako je sialastická membrána nebo vlákno. Typicky se při podávání směsi používají materiály, na které se protilátka anti-IL-36R nebo činidlo neabsorbují.

[0209] V dalších provedeních jsou protilátka anti-IL-36R nebo činidlo dodány v systému s řízeným uvolňováním. V jednom provedení může být použita pumpa (viz např. Langer, 1990, Science 249: 1527-1533; Sefton, 1989, CRC Crit. Ref. Biomed. Eng. 14:201; Buchwald et al., 1980, Surgery 88:507; Saudek et al., 1989, N. Engl. J. Med. 321:574). V dalším provedení mohou být použity polymerní materiály, viz např. Medical Applications of Controlled Release (Langer and Wise eds., CRC Press, Boca Raton, Fla., 1974); Controlled Drug Bioavailability, Drug Product Design and Performance (Smolen and Ball eds., Wiley, New York, 1984); Ranger and Peppas, 1983, Macromol. Sci. Rev. Macromol. Chem. 23:61, viz také Levy et al., 1985, Science 228:190; During et al., 1989, Ann. Neurol. 25:351; Howard et al., 1989, J. Neurosurg. 71:105). Další systémy s řízeným uvolňováním jsou diskutovány například v Langer, výše.

15 **[0210]** Vazebná látka IL-36R (např. protilátka anti-IL-36R) může být podávána jako farmaceutické prostředky obsahující terapeuticky účinné množství vazebné látky a jednu nebo více farmaceuticky kompatibilních složek.

[0211] V typických provedeních je farmaceutický prostředek formulován v souladu s rutinními postupy jako farmaceutický prostředek přizpůsobený pro intravenózní nebo subkutánní podávání lidem. Typicky jsou směsi pro podávání injekcí roztoky ve sterilním izotonickém vodném pufru. V případě potřeby může farmaceutický prostředek také obsahovat solubilizační látku a lokální anestetikum, jako je lignocain, aby zmírnil bolest v místě injekce. Obecně se složky dodávají buď samostatně nebo ve směsi v jednotkové dávkové formě, například jako suchý lyofilizovaný prášek nebo bezvodý koncentrát v hermeticky uzavřené nádobě, jako je ampule nebo sáček, indikujících množství účinné látky. Pokud má být farmaceutický prostředek podáván infuzí, může být vydán do infuzní láhve obsahující sterilní vodu nebo fyziologický roztok farmaceutické kvality. Pokud je farmaceutický prostředek podáván injekcí, může být poskytnuta ampule sterilní vody pro injekce nebo fyziologický roztok, takže složky mohou být před podáním smíchány.

[0212] Dále může být farmaceutický prostředek poskytován jako farmaceutická souprava obsahující (a) nádobku obsahující vazebnou látku IL-36R (např. protilátku anti-IL-36R) v lyofilizované formě a (b) druhou nádobku obsahující farmaceuticky přijatelnou ředidlo (např. sterilní vodu) pro injekce. Farmaceuticky přijatelné ředidlo může být použito pro rekonstituci nebo ředění lyofilizované protilátky anti-IL-36R nebo činidla. Případně může být k takové nádobce (nádobkám) přiloženo oznámení ve formě předepsané vládní agenturou regulující výrobu, použití nebo prodej léčiv nebo biologických produktů, které odráží schválení agentury pro výrobu, použití nebo prodej pro podávání člověku.

[0213] Množství vazebné látky IL-36R (např. protilátky anti-IL-36R), které je účinné při léčení nebo prevenci imunologické poruchy nebo zhoubného nádoru, může být stanoveno standardními klinickými technikami. Kromě toho mohou být volitelně použity testy in vitro, které pomohou identifikovat optimální rozmezí dávek. Přesná dávka, která má být použita ve formulaci, bude také záviset na cestě podání a stadiu imunologické poruchy nebo zhoubného nádoru, a měla by být rozhodnuta podle úsudku lékaře a okolností každého pacienta. Účinné dávky mohou být extrapolovány z křivek závislosti odpovědi na dávce odvozených z testovacích systémů in vitro nebo modelů na zvířatech.

[0214] Obecně je dávka protilátky anti-IL-36R nebo vazebné látky IL-36R podaná pacientovi s imunologickou poruchou nebo zhoubným nádorem exprimujícím IL-36R typicky přibližně 0,1 mg/kg až přibližně 100 mg/kg těla subjektu hmotnost. Dávka podávaná subjektu je přibližně 0,1 mg/kg až přibližně 50 mg/kg, přibližně 1 mg/kg až přibližně 30 mg/kg, přibližně 1 mg/kg až přibližně 20 mg/kg, přibližně 1 mg/kg až přibližně 15 mg/kg nebo přibližně 1 mg/kg až přibližně 10 mg/kg tělesné hmotnosti subjektu.

[0215] Příkladné dávky zahrnují, ale nejsou omezeny na, od 1 ng/kg do 100 mg/kg. V některých provedeních je dávka přibližně 0,5 mg/kg, přibližně 1 mg/kg, přibližně 2 mg/kg, přibližně 3 mg/kg, přibližně 4 mg/kg, přibližně 5 mg/kg, přibližně 6 mg/kg, přibližně 7 mg/kg, přibližně 8 mg/kg, přibližně 9 mg/kg, přibližně 10 mg/kg, přibližně 11 mg/kg, přibližně 12

mg/kg, přibližně 13 mg/kg, přibližně 14 mg/kg, přibližně 15 mg/kg nebo přibližně 16 mg/kg. Dávka může být podávána například denně, jednou za týden (týdně), dvakrát týdně, třikrát týdně, čtyřikrát týdně, pětikrát týdně, šestkrát týdně, jednou za dva týdny nebo měsíčně, každé dva měsíce, nebo každé tři měsíce. V konkrétních provedeních je dávka přibližně 0,5 mg/kg/týden, přibližně 1 mg/kg/týden, přibližně 2 mg/kg/týden, přibližně 3 mg/kg/týden, přibližně 4 mg/kg/týden, přibližně 5 mg/kg/týden, přibližně 6 mg/kg/týden, přibližně 7 mg/kg/týden, přibližně 8 mg/kg/týden, přibližně 9 mg/kg/týden, přibližně 10 mg/kg/týden, přibližně 11 mg/kg/týden, přibližně 12 mg/kg/týden, přibližně 13 mg/kg/týden, přibližně 14 mg/kg/týden, přibližně 15 mg/kg/týden nebo přibližně 16 mg/kg/týden. V některých provedeních se dávka pohybuje od přibližně 1 mg/kg/týden do přibližně 15 mg/kg/týden.

[0216] V některých provedeních mohou farmaceutické prostředky obsahující vazebnou látku IL-36R dále obsahovat terapeutickou látku, buď konjugovanou nebo nekonjugovanou s vazebnou látkou. Protilátka anti-IL-36R nebo vazebné látky IL-36R mohou být podávány v kombinaci s jednou nebo více terapeutickými látkami pro použití při léčení nebo prevenci imunologických poruch nebo zhoubných nádorů.

[0217] Takové podávání kombinované terapie může mít aditivní nebo synergický účinek na parametry onemocnění (např. závažnost symptomu, počet symptomů nebo četnost relapsů).

[0218] Pokud jde o terapeutické režimy pro kombinované podávání, v konkrétním provedení se protilátka anti-IL-36R nebo vazebné látky IL-36R podává současně s terapeutickou látkou. V dalším specifickém provedení je terapeutická látka podávána před nebo po podání protilátky anti-IL-36R nebo vazebné látky IL-36R, alespoň hodinu a až několik měsíců, například alespoň hodinu, pět hodin, 12 hodin, den, týden, měsíc nebo tři měsíce, před nebo po podání protilátky anti-IL-36R nebo vazebné látky IL-36R.

Výrobky

[0219] V dalším aspektu je zahrnut výrobek obsahující materiály použitelné pro léčení výše popsaných poruch. Výrobek obsahuje nádobku a štítek. Mezi vhodné nádobky patří například lahve, lahvičky, stříkačky a zkumavky. Nádobky mohou být vytvořeny z různých materiálů, jako je sklo nebo plast. Nádobka obsahuje prostředek, který je účinný pro léčení stavu a může mít sterilní přístupový port. Například nádobkou může být vak pro intravenózní roztok nebo lahvička, která má zátku propíchnutelnou injekční jehlou. Aktivní látkou ve směsi je humanizovaná protilátka anti-IL-36R. Štítek na nádobce nebo přiložený k nádobce uvádí, že se směs používá k léčení zvoleného stavu. Výrobek může dále zahrnovat druhou nádobku obsahující farmaceuticky přijatelný pufr, jako je fosfátem pufovaný solný roztok, Ringerův roztok a roztok dextrózy. Může dále zahrnovat další materiály žádoucí z komerčního a uživatelského hlediska, včetně dalších pufrů, ředidel, filtrů, jehel, stříkaček a příbalových letáků s návodem k použití.

[0220] Vynález je dále popsán v následujících příkladech, které nejsou určeny k omezení rozsahu vynálezu.

[0221] Protilátky podle předkládaného vynálezu (humanizované protilátky B4, B5 a B6 na bázi myší vedoucí protilátky 81B4) jsou dále popsány v příkladech níže.

Příklady

Příklad 1: Identifikace protilátek proti lidskému IL-36R

[0222] Několik myších kmenů bylo imunizováno rekombinantně produkovaným lidským proteinem IL-36R (ECD - extracelulární doména: aminokyseliny 20-332 Přístupové číslo Genbank NP_003845) a ty, které generovaly silnou odpověď titrů, byly převedeny do tradiční tvorby hybridomů. Fúzní produkty vyvolávající silnou vazbu k lidskému IL-36R (ECD), ale bez vazby k lidskému IL-1R1 (nejbližší příbuzný člen rodiny IL-1R), byly subklonovány a znovu podrobeny screeningu. Bylo identifikováno více hybridomů za vzniku monoklonálních protilátek, které vážaly a neutralizovaly signalizaci z IL-36R (viz příklady 2, 3 a 4).

Variabilní domény byly klonovány z hybridomů pomocí standardních sad primerů PCR. Variabilní domény a specifické CDR reprezentativních monoklonálních protilátek jsou popsány výše. Všechny myší protilátky byly převedeny na chiméřní protilátky sestávající z myších variabilních domén na lidských konstantních doménách (hu IgG1KO/kappa). Hu IgG1KO (knock ot) má dvě substituční mutace (Leu234Ala a Leu235Ala), které eliminují aktivitu ADCC a CDC snížením efektorových funkcí, jako je FcγR a vazba komplementu. Variabilní domény myší a chiméřních protilátek jsou identické. Chiméřní protilátky jsou vytvářeny pro potvrzení funkce protilátky a pro zajištění, že byla vytvořena správná sekvence variabilní domény.

Příklad 2: Molekulární vazebné afinity identifikovaných myších protilátek proti lidskému IL-36R

[0223]

A) Kinetiky a vazebné afinity protilátek anti-IL-36R vázajících se na rekombinantní lidský IL-36R byly měřeny za použití systému Proteon (Bio-Rad, Hercules, CA) s použitím materiálu vytvořeného z hybridomu po přečištění na jedné koloně. Vazebné afinity všech myších vedoucích (leads) pro lidský IL-36R analyzovaných při jediné koncentraci povrchového povlaku IL-36R byly odhadnuty na <100pM. Vazebné afinity myších protilátek pro lidský IL-36R analyzované při 7 různých povrchových hustotách (globální proložení) jsou uvedeny v tabulce 1. Vazba chiméřních IgG anti-IL36R je ekvivalentní příslušným myším vedoucím.

25

Tabulka 1: Vazebná afinita myších protilátek proti lidskému IL-36R.

Vedoucí	Vazebná K_D (pM)
Myší 73C5	57
Myší 73F6	25

Myší 78C8	63
Myší 81A1	16
Myší 81B4	24
Myší 33D10	9

B) Molekulární selektivita vůči myším IL-36R a lidskému IL-1R1

[0224] Myší a chimérické protilátky anti-IL-36R byly také injikovány buď na povrch s myším IL-36R nebo lidským IL-1R1 při koncentraci 100nM.

- 5 Vazebný signál pro myší IL-36R a lidský IL-1R1 pro tyto protilátky měřený pomocí ForteBio Octet (ForteBio, Menlo Park, CA) je nula, což naznačuje, že se tyto protilátky selektivně vážou na lidský IL-36R. Vazba protilátek anti-IL-36R na lidský IL-36R byla také analyzována v přítomnosti 50% lidského séra, a nebyl pozorován žádný významný
- 10 účinek séra na rychlost asociace vazby, což prokazuje vysokou specifitu.

Příklad 3: Účinnost myších a chimérických protilátek proti lidskému IL-36R ve funkčních testech na člověku a opici cynomolgus

- 15 **Protokoly: Lidské buňky NCI/ADR-RES pNFκB/testy uvolňování cytokinů**

Reagencie:

[0225]

R&D Systems: zkrácený rh IL36β

- 20 R&D Systems: zkrácený rh IL36γ

Systems: zkrácený rh IL36α:

MA6000 Phospho-NFκB (Ser536) Souprava celobuněčných lyzátů

Meso Scale Diagnostics, LLC

MSD ELISA zákaznický lidský 96-jamkový 4-bodový test

Meso Scale Diagnostics, LLC

[0226] Buňky NCI/ADR-RES byly vysety v množství 45 000 buněk/jamku, v médiu RPMI s 0,25 % séra v 96jamkové destičce. Jedna destička byla
5 použita pro analýzu pNFkB a druhá pro uvolňování cytokinů. Destičky byly poté inkubovány přes noc při 37° C, 5 % CO₂. Ligandy (IL36 α , β nebo γ) a protilátky byly zředěny na 4x požadovanou koncentraci v médiu bez séra (serum starved, SS). Antagonisté (protilátky) byly přidány k buňkám před ligandem. Pro pNFkB: buňky NCI +/- ligand a antagonist
10 byly inkubovány po dobu 1 hodiny, 37° C, 5 % CO₂. Médium pak bylo odsáto a buňky byly lyzovány při 100 μ l/jamku kompletního lyzačního pufru na ledu 30 minut. Lyzát byl poté odstředěn při 2500 ot/min, 20 minut, 4° C, a přenesen na destičku MSD ELISA a testován na pNFkB podle protokolu výrobce. Pro uvolnění cytokinů: 18-24 hodin po stimulaci
15 byly supernatanty přeneseny na destičku MSD ELISA a testovány na cytokin podle protokolu výrobce.

Protokol: pNFkB (S536) MSD ELISA pro Buňky BaF/3 cynomolgus IL-36R

[0227] Buňky BaF/3 cynomolgus IL-36R byly vysety při koncentraci
20 90 000 buněk/jamku v SS médiu na 96jamkové destičce. 100 μ l média bylo přidáno do kontrolních jamek. Antagonisté (protilátky) byly zředěny na 4x požadovanou koncentraci a do každé jamky bylo přidáno 50 μ l. Ligandy (IL36 α , β nebo γ) byly zředěny na 4x požadovanou koncentraci v SS médiu a do každé jamky bylo přidáno 50 μ l (pro konečný objem 200
25 μ l). Destičky byly inkubovány po dobu 15 minut, 37° C, 5 % CO₂. Destičky byly krátce odstředěny, médium bylo odsáto a buňky byly lyzovány při 100 μ l/jamku kompletního lyzačního pufru (viz protokol MSD pNFkB) a inkubovány na ledu 30 minut. Lyzáty byly poté odstředěny při
30 2500 ot/min, 20 minut, 4° C, a přeneseny na destičku MSD ELISA. Lyzáty pak byly hodnoceny na aktivitu pNFkB s použitím soupravy MSD, jak je popsáno výše.

[0228] Výsledky: výsledky IC₉₀ myších protilátek proti lidskému IL-36R v lidských funkčních testech (pNFκB a uvolňování cytokinů) a funkčním testu cynomolgus (pNFκB) s lidskými ligandy IL-36 jsou uvedeny v tabulce 2. Výsledky IC₉₀ chimérních protilátek proti lidskému IL-36R v lidských funkčních testech (uvolňování pNFκB a cytokinů) a funkčním testu cynomolgus (pNFκB) s lidskými ligandy IL-36 jsou uvedeny v tabulce 3.

Tabulka 2: Účinnost myších protilátek ve funkčních buněčných testech (izotypové kontroly neprokázaly žádnou inhibici aktivity při nejvyšší koncentraci testované pro vzorky)

NCI/ADR-RES		33 D10	73 C5	73 F6F8	76 E10E8	78 C8D1	81 A1D1	81 B4E11	89 A12B8	172 C8B12	67 E7E8
pNFκB	trun-IL36a IC90 (nM)	1,7	3,4	2,8	ND	5,8	2,7	1,7	ND	ND	ND
	trun-IL36b IC90 (nM)	1,3	3,4	3	ND	6,8	4,2	1,4	ND	ND	ND
	trun-IL36g IC90 (nM)	1,1	2,5	1,5	1,9	4,6	2,2	1,2	145	3,8	>67
GM-CSF	trun-IL36a IC90 (nM)	0,8	4,8	5,9	ND	7,1	1,2	0,8	ND	ND	ND
	trun-IL36b IC90 (nM)	0,6	1,4	1,7	ND	2	1,2	0,3	ND	ND	ND
	trun-IL36g IC90 (nM)	0,5	2	1,4	ND	1,7	0,7	0,4	ND	ND	ND
IL-6	trun-IL36a IC90 (nM)	0,8	19	19	ND	14	17	0,8	ND	ND	ND

	trun-IL36b IC90 (nM)	0,5	3,8	5,1	ND	5,8	5,3	0,3	ND	ND	ND
	trun-IL36g IC90 (nM)	0,3	1,9	2,2	ND	1,3	0,8	0,2	ND	ND	ND
IL-8	trun-IL36a IC90 (nM)	0,6	3,3	3,2	ND	4,7	1,9	0,7	ND	ND	ND
	trun-IL36b IC90 (nM)	0,6	0,6	0,8	ND	1,1	0,5	0,2	ND	ND	ND
	trun-IL36g IC90 (nM)	0,5	1,4	0,9	ND	1,4	0,5	0,3	ND	ND	ND
BaF cyto											
pNFκB	trun-IL36a IC90 (nM)	>4000	0,2	0,5	>4000	1	0,6	2,4	>4000	>4000	>4000
	trun-IL36b IC90 (nM)	>333	1,6	0,7	>333	2,1	0,9	3,5	>333	>333	>333
	trun-IL36g IC90 (nM)	>333	1,5	0,8	>333	1,5	1	5,1	>333	>333	>333

Tabulka 3: Účinnost chimérních protilátek ve funkčních buněčných testech (izotypové kontroly neprokázaly žádnou inhibici aktivity při nejvyšší koncentraci testované pro vzorky)

NCI/ADR-RES		C33D10	C73C5	C81B4
pNFκB	trun-IL36a IC90 (nM)	1,9	2,1	1,3
	trun-IL36b IC90 (nM)	2	0,9	0,9
	trun-IL36g IC90 (nM)	1,3	1,8	0,4

GM-CSF	trun-IL36a IC90 (nM)	0,3	0,9	ND
	trun-IL36b IC90 (nM)	0,3	1,1	ND
	trun-IL36g IC90 (nM)	0,3	0,7	ND
IL-6	trun-IL36a IC90 (nM)	0,4	2,1	ND
	trun-IL36b IC90 (nM)	0,6	6,7	ND
	trun-IL36g IC90 (nM)	0,7	6	ND
IL-8	trun-IL36a IC90 (nM)	0,4	0,7	0,4
	trun-IL36b IC90 (nM)	0,3	0,4	0,1
	trun-IL36g IC90 (nM)	0,2	0,4	0,1
TNFα	trun-IL36a IC90 (nM)	2,4	2,5	ND
	trun-IL36b IC90 (nM)	0,9	7,9	ND
	trun-IL36g IC90 (nM)	0,6	1,3	ND
BaF cyno				-
pNFκB	trun-IL36a IC90 (nM)	ND	1,2	42
	trun-IL36b IC90 (nM)	ND	4,1	48
	trun-IL36g IC90 (nM)	ND	4,3	28

Příklad 4: Vazba myších protilátek proti lidskému IL-36R na buňky exprimující lidský IL-36R

Protokol pro vazbu protilátek průtokovou cytometrií

- 5 [0229] Buňky HEK293 transfekované buňkami s lidským IL-36R o plné délce nebo NCI/ADR-RES byly hodin před barvením pasážovány po dobu 24. Buňky byly vyjmuty z baněk propláchnutím 10 ml 5mM EDTA v PBS a pak inkubovány při 37° C po dobu 10 minut s dalšími 10 ml 5mM EDTA a 2,5 ml Accumaxu, aby se shluky buněk rozpadly/dispergovaly.
- 10 Protilátky byly poté zředěny na specifické koncentrace v PBS + 2 % BSA a buňky byly inkubovány po dobu 20 minut při teplotě laboratoře. Přebytek protilátky byl poté promyt přidáním 200 μ l PBS a poté odstředěn. Potom byla přidána sekundární látka v množství 50 μ l na jamku a buňky byly inkubovány po dobu 15 minut při teplotě laboratoře a

poté promyty výše uvedeným způsobem. Buňky byly resuspendovány ve 200 μ l PBS a analyzovány průtokovou cytometrií. Vazebné EC₅₀ pro myší protilátky proti lidskému IL-36R vázající se na lidské transfektanty IL-36R HEK jsou uvedeny v tabulce 4.

5

Tabulka 4

Klon	EC ₅₀ (M) vazby na buňky HEK-IL-36R
33D10	4,748e-010
67E7	5,321e-010
73F6	7,456e-010
76E10	4,257e-010
78C8	5,289e-010
81A1	2,795e-010
81B4	3,016e-010
89A12	6,089e-010

Příklad 5: Produkce humanizovaných protilátek proti IL-36R

[0230] Za účelem snížení potenciální imunogenicity po podání u člověka byly myší monoklonální protilátky proti lidskému IL-36R, 81B4 a 73C5, "humanizovány" prostřednictvím procesu navrhování a screeningu. Lidské sekvence základní struktury byly vybrány pro myší vedoucí na základě homologie základní struktury, struktury CDR, konzervovaných kanonických zbytků, konzervovaných sbalovacích zbytků a dalších parametrů. Specifická substituce aminokyselinových zbytků v těchto pozicích základní struktury může zlepšit různé aspekty chování protilátek, včetně vazebné afinity a/nebo stability, oproti těm, které byly prokázány u humanizovaných protilátek vytvořených "přímým překlopením" CDR nebo HVL do oblastí lidské zárodečné základní

struktury. Fab, které vykazovaly lepší nebo stejnou vazbu a zlepšenou expresi ve srovnání s chimérním výchozím Fab, byly vybrány pro další charakterizaci. Reprezentativní humanizované variabilní oblasti pro protilátku 81B4 a 73C5 jak ukázány jsou znázorněny v čísti popisu.

- 5 Tímto způsobem byly Protilátka B1 až Protilátka B6 humanizované protilátky odvozené od myší protilátky 81B4 (klonované do kostry lidského IgG1 KO (KO = knock-out)/kappa. Protilátky B1 až B6 jsou ukázány v tabulce A. Protilátka C1 až Protilátka C3 byly humanizované
- 10 lidského IgG1-KO (KO = knock-out)/kappa. Protilátky C1 až C3 jsou ukázány v tabulce C.

Příklad 6: Vazba humanizovaných protilátek IL-36R

- [0231]** Kinetika a vazebné afinity humanizovaných protilátek anti-IL-36R
- vázajících se na rekombinantní lidský IL-36R byly měřeny pomocí
- 15 Proteon (Bio-Rad, Hercules, CA). Lidský IL-36R byl imobilizován při 5 různých povrchových hustotách a výsledky byly analyzovány za použití globálního proložení (viz tabulka 5 ukazující výsledky tří experimentů). Vazba humanizovaných protilátek na buňky NCI/ADR-RES pomocí průtokové cytometrie byla měřena pomocí protokolu popsaného v
- 20 příkladu 4 (pro hodnoty EC_{90} viz tabulka 5).

Tabulka 5 - Molekulární a buněčné vazebné afinity humanizovaných protilátek proti lidskému IL-36R.

Protilátka (LC + HC)	$K_D \pm$ směrodatná odchylka (pM)	EC_{90} (nM)
B1 - 32_138 + 33_49	$27 \pm 2,5$	2,0
B2 - 32_138 + 33_85	$32 \pm 5,4$	2,3
B3 - 32_138 + 33_90	$20 \pm 2,2$	1,4
B4 - 32_105 + 33_85	$35 \pm 3,7$	1,5
B5 - 32_105 + 33_90	$24 \pm 7,6$	1,7

B6 - 32_105 + 33_49	41 ± 4,9	1,7
----------------------------	-----------------	------------

Příklad 7: Účinnost humanizovaných protilátek proti lidskému IL-36R ve funkčních testech na lidech

[0232] Funkční blokáda signalizace humanizovanými variantami IL-36R z lidských buněk NCI/ADR-RES byla testována, jak popsáno v příkladu 3. Výsledky IC₉₀ humanizovaných protilátek proti lidskému IL-36R ve funkčních testech na lidech (uvolňování pNFκB a cytokinů) s lidskými ligandy IL-36 jsou uvedeny v tabulce 6.

10 Tabulka 6: Účinnost [IC₉₀ (nM)] humanizovaných protilátek v funkčních testech na lidech buněk NCI/ADR-RES

(Výsledky se rovnají průměrům alespoň 2 experimentů. Izotypové kontroly neprokázaly žádnou inhibiční aktivitu při nejvyšší koncentraci testované u vzorků)

	Ligand	B1	B2	B3	B4	B5	B6	C1	C2	C3
pNFκ B	trun-IL36a	3,9	5,3	2,3	1,7	2,6	1,8	4,6	9,7	9,8
	trun-IL36b	3,4	3,4	2,9	2,2	2,8	2,4	5,5	8,6	5,6
	trun-IL36g	2,5	2,3	2,1	1,5	1,5	1,5	3,4	6,1	5,1
IL-8	trun-IL36a	4,0	2,8	2,3	2,6	2,6	2,2	NA	NA	NA
	trun-IL36b	3,2	2,9	2,7	2,9	2,5	2,3	NA	NA	NA
	trun-IL36g	4,2	3,5	3,4	3,2	2,8	2,4	NA	NA	NA

15

Příklad 8: Účinnost protilátek anti-IL-36R ve funkčních testech lidských primárních keratinocytů

Protokoly: Humánní primární epidermální keratinocyty pNFκB/testy uvolňování cytokinů

[0233] Buňky byly vysety v množství 30 000 buněk/jamku do kultivačního média na 96-jamkové destičky a inkubovány přes noc při 37° C, 5 % CO₂. Testy byly poté provedeny, jak je popsáno v příkladu 3. Výsledky: IC₉₀ výsledky pro myší, chimérní a humanizované protilátky anti-IL-36R v testech lidských primárních keratinocytů (uvolňování pNFκB a IL-8) stimulovaných lidskými ligandy IL-36 jsou uvedeny v tabulce 7, v tabulce 8, respektive v tabulce 9.

10 **Tabulka 7 (izotypové kontroly neprokázaly žádnou inhibiči aktivity při nejvyšší koncentraci testované pro vzorky)**

NHK		33D10	73C5	73F6	78C8	81A1	81B4
pNFκB	trun-IL36a IC90 (nM)	1,8	10,7	8,2	11,6	ND	1,3
	trun-IL36b IC90 (nM)	2,3	14,4	5,2	14,2	ND	1,1
	trun-IL36g IC90 (nM)	0,8	1,7	1,3	10,6	ND	0,5
IL-8	trun-IL36a IC90 (nM)	1,5	20,8	17,8	19,3	ND	0,7
	trun-IL36b IC90 (nM)	3,0	46	26	34	ND	1,2
	trun-IL36g IC90 (nM)	0,8	2,4	2,1	3,6	ND	0,5

Tabulka 8: Účinnost chimérních protilátek anti-IL-36R v testech primárních lidských keratinocytů

15 **(izotypové kontroly neprokázaly žádnou inhibiči aktivity při nejvyšší koncentraci testované na vzorky)**

NHK		C73C5	C81A1	C81B4
pNFκB	trun-IL36a IC90 (nM)	20,5	ND	1,4
	trun-IL36b IC90 (nM)	8,3	7,1	1,8
	trun-IL36g IC90 (nM)	1,4	ND	0,5
IL-8	trun-IL36a IC90 (nM)	29,7	23,4	1,2
	trun-IL36b IC90 (nM)	49,3	87	11,1
	trun-IL36g IC90 (nM)	3,6	1,2	0,3

Tabulka 9: Účinnost humanizovaných protilátek anti-IL-36R v testech primárních lidských keratinocytů

(izotypové kontroly neprokázaly žádnou inhibiční aktivitu při nejvyšší koncentraci testované na vzorky)

NHK		BI 1	BI 2	BI 3
pNFκB	trun-IL36a IC90 (nM)	2,9	2,1	2,2
	trun-IL36b IC90 (nM)	3,6	2,9	1,9
	trun-IL36g IC90 (nM)	1,0	1,3	0,7
IL-8	trun-IL36a IC90 (nM)	2,3	2,8	1,8
	trun-IL36b IC90 (nM)	3,9	4,1	3,5
	trun-IL36g IC90 (nM)	0,8	0,8	0,8

5

Příklad 9 Účinnost protilátek anti-IL-36R ve funkčních testech lidských primárních buněk střevního epitelu

Protokoly: Lidská primární střevní epitelální buňka oNFκB/testy uvolňování cytokinů

10 **[0234]** Buňky byly vysety v množství 30 000 buněk/jamku do kultivačního média na 96jamkové destičce a inkubovány přes noc při 37° C, 5 % CO₂. Testy byly poté provedeny, jak popsáno v příkladu 3.

[0235] Výsledky: IC₉₀ výsledky myších protilátek anti-IL-36R v testech na lidských primárních střevních epitelových buňkách (uvolňování pNFκB a
15 IL-8) stimulovaných lidskými ligandy IL-36 jsou uvedeny v tabulce 10.

Tabulka 10: Účinnost myších protilátek anti-IL-36R testech lidských primárních buněk střevního epitelu

(izotypové kontroly neprokázaly žádnou inhibiční aktivitu při nejvyšší koncentraci testované na vzorky)

HIE		73C5	81B4
pNFκB	trun-IL36a IC90 (nM)	21	1,3
	trun-IL36b IC90 (nM)	20	7,4
	trun-IL36g IC90 (nM)	32	9,5
IL-8	trun-IL36a IC90 (nM)	123	5,8
	trun-IL36b IC90 (nM)	154	9,8
	trun-IL36g IC90 (nM)	ND	16

5

Příklad 10: Účinnost protilátek anti-IL-36R ve funkčních testech lidských primárních střevních myofibroblastů

Protokoly: Lidský primární střevní myofibroblast pNFκB/testy uvolňování cytokinů

10 **[0236]** Buňky byly vysety v množství 30 000 buněk/jamku do kultivačního média na 96jamkové destičce a inkubovány při 37° C, 5 % CO₂. Testy byly poté provedeny, jak je popsáno v příkladu 3.

[0237] Výsledky: Výsledky IC₉₀ pro protilátky anti-IL-36R v testech lidských primárních střevních myofibroblastů (uvolňování pNFκB a IL-8) 15 stimulovaných lidskými ligandy IL-36 jsou ukázané v tabulce 11 a tabulce 12.

Tabulka 11: Účinnost myších a chimérních protilátek anti-IL-36R v testech lidských primárních střevních myofibroblastů

(izotypové kontroly neprokázaly žádnou inhibici aktivity při nejvyšší koncentraci testované na vzorky)

HIM		81B4	C81B4
pNFκB	trun-IL36a IC90 (nM)	7	6,2
	trun-IL36b IC90 (nM)	4	2,3
	trun-IL36g IC90 (nM)	3,6	0,9
IL-8	trun-IL36a IC90 (nM)	2	2,3
	trun-IL36b IC90 (nM)	2,3	1,4
	trun-IL36g IC90 (nM)	2,9	2

5

Tabulka 12: Účinnost humanizovaných protilátek anti-IL-36R v testech primárních myofibroblastů lidského střeva

(izotypové kontroly neprokázaly žádnou inhibici aktivity při nejvyšší koncentraci testované na vzorky)

MU		B3	B5	B6
pNFκB	trun-IL36a IC90 (nM)	9,8	5,4	3,2
	trun-IL36b IC90 (nM)	3,7	1,7	2,8
	trun-IL36g IC90 (nM)	2,6	1,7	3,7
IL-8	trun-IL36a IC90 (nM)	4,4	3,8	2,1
	trun-IL36b IC90 (nM)	2,8	2,6	2,0
	trun-IL36g IC90 (nM)	5,8	6,7	5,2

10

Příklad 11: Účinnost protilátek anti-IL-36R ve funkčních testech lidských primárních dermálních fibroblastů

Protokoly: Lidský primární dermální fibroblast pNFκB/testy uvolňování cytokinů

5 [0238] Buňky byly vysety v množství 30 000 buněk/jamku do kultivačního média na 96jamkové destičce a inkubovány přes noc při 37° C, 5 % CO₂. Testy byly poté provedeny, jak popsáno v příkladu 3.

[0239] Výsledky: Výsledky IC₉₀ protilátek anti-IL-36R v testech lidských primárních dermálních fibroblastů (uvolňování pNFκB a IL-8) 10 stimulovaných lidskými ligandy IL-36 jsou uvedeny v tabulce 13 a tabulce 14.

Tabulka 13: Účinnost myších a chimérických protilátek anti-IL-36R v testech lidských primárních dermálních fibroblastů

15 ***(izotypové kontroly neprokázaly žádnou inhibiční aktivitu při nejvyšší koncentraci testované na vzorky)***

HDF		81B4	C81B4
pNFκB	trun-IL36a IC90 (nM)	1,9	1,8
	trun-IL36b IC90 (nM)	4,9	3,4
	trun-IL36g IC90 (nM)	3,9	7,4
IL-8	trun-IL36a IC90 (nM)	0,9	0,6
	trun-IL36b IC90 (nM)	0,4	0,5
	trun-IL36g IC90 (nM)	0,4	0,3

Tabulka 14: Účinnost humanizovaných protilátek anti-IL-36R v testech lidských primárních dermálních fibroblastů

(izotypové kontroly neprokázaly žádnou inhibici aktivity při nejvyšší koncentraci testované na vzorky)

HDF		B3	B5	B6
pNFκB	trun-IL36a IC90 (nM)	6,4	10,2	3,8
	trun-IL36b IC90 (nM)	13,5	9,9	9
	trun-IL36g IC90 (nM)	10	8,6	16,8
IL-8	trun-IL36a IC90 (nM)	2,1	1,5	1,4
	trun-IL36b IC90 (nM)	1,3	1,2	1
	trun-IL36g IC90 (nM)	1,1	1,1	0,7

5

Příklad 12: Účinnost myších protilátek anti-IL-36R ve funkčních testech lidských primárních buněk proximálních tubulů

Protokol: Lidské primární buňky proximálních tubulů pNFκB/testy uvolňování cytokinů.

10 **[0240]** Buňky byly vysety při 5000 buněk/jamku do kultivačního média na 96jamkové destičce a inkubovány přes noc při 37° C, 5 % CO₂. Testy byly prováděny tak, jak je popsáno v příkladu 3.

15 **[0241]** Výsledky: Výsledky IC₉₀ pro myší, chimerní a humanizované protilátky anti-IL-36R testech lidských primárních buněk proximálních tubulů (uvolňování IL-8) stimulovaných lidskými ligandy IL-36 jsou uvedeny v tabulce 15.

Tabulka 15: Účinnost myších a lidských protilátek anti-IL-36R v testech lidských primárních buněk proximálních tubulů

(izotypové kontroly neprokázaly žádnou inhibiční aktivitu při nejvyšší koncentraci testované na vzorky)

HPT		81B4	B3	B5	B6
IL-8	trun-IL36a IC90 (nM)	,04	ND	5	ND
	trun-IL36b IC90 (nM)	,01	ND	5	ND
	trun-IL36g IC90 (nM)	,04	ND	3	ND

5

Příklad 13: Inhibice produkce IL-8 z IL-36 γ -stimulované rekonstruované lidské epidermis

Protokol rekonstruované epidermis

[0242] Protilátky anti-IL-36R (1,5 μ g/ml) byly předinkubovány s rekonstruovanou lidskou epidermis a stimulovány lidským rekombinantním IL-36 γ (20 ng/ml). Jako pozitivní kontrola byl použit rekombinantní lidský IL-1 β (20 ng/ml; R & D Systems). Po 24 hodinách v kultuře byly buněčné supernatanty izolovány a testovány na IL-8 (testy na IL-8 jsou popsány v příkladu 3). Vzorky byly testovány trojmo a průměrná hodnota pg/ml \pm standardní chyba je uvedena v tabulce níže (tabulka 16).

Tabulka 16

Protilátka	Cytokinová stimulace	Průměrná koncentrace IL-8 (pg/ml) +/- standardní chyba
Žádná protilátka	Žádná	57,3 \pm 15,3
33D10	Žádná	15,8 \pm 0,7
Žádná protilátka	20 ng/ml IL-1 β	158,9 \pm 13,3
33D10	20 ng/ml IL-1 β	168,5 \pm 22,6
Žádná protilátka	20 ng/ml IL-36 γ	142,1 \pm 22,2
33D10	20 ng/ml IL-36 γ	38,63 \pm 6,7

Příklad 14: Inhibice exprese genů S100A7 a S100A12 indukovaných ligandem IL-36 v rekonstruované lidské epidermis

[0243] Stimulace rekonstruované lidské epidermis agonistickými ligandy IL-36 indukuje expresi genů S100A7 a S100A12. S100A7 a S100A12 jsou geny umístěné v komplexu epidermální diferenciace.

[0244] Protokol: Rekonstruovaná lidská epidermis byla inkubována s protilátkami anti-IL-36R (1,5 µg/ml) a stimulována lidským rekombinantním IL-36γ (20 ng/ml). Jako pozitivní kontrola byl použit rekombinantní lidský IL-1β (20 ng/ml; R & D Systems). Po 24 hodinách v kultuře při 5 % CO₂ a 37° C byla RNA z rekonstruované lidské epidermis izolována a testována na genovou expresi reverzní transkriptázovou polymerázovou řetězovou reakcí v reálném čase. Relativní exprese byla vypočtena pomocí metody 2^{-ΔΔCt}. Vzorke byly testovány trojmo a průměrná exprese ± standardní chyba je uvedena v tabulce níže (Tabulka 17).

Tabulka 17

Protilátka	Cytokinová stimulace	Průměrná exprese S100A7 +/- Standardní chyba	Průměrná exprese S100A12 +/- standardní chyba
Žádná protilátka	Žádná	1,00 ± 0,79	1,00 ± 0,47
33D10	Žádná	3,92 ± 0,36	1,93 ± 0,02
Žádná protilátka	20 ng/ml IL-1β	76,03 ± 24,66	47,84 ± 9,24
33D10	20 ng/ml IL-1β	95,83 ± 11,83	76,41 ± 6,92
Žádná protilátka	20 ng/ml IL-36γ	19,57 ± 3,26	20,53 ± 5,21
33D10	20 ng/ml IL-36γ	3,47 ± 1,37	2,01 ± 0,35

Příklad 15: Účinnost protilátky anti-IL-36R v xenotransplantátovém modelu psoriázy

[0245] Protokol: Krev a nelézní kožní biopsie byly získány od 24 pacientů s psoriázou, kteří byli klinicky diagnostikováni dermatologem.

5 Biopsie kůže byly transplantovány imunitně deficientním myším NIH-III a ponechány vrůstat po dobu čtyř až pěti týdnů.

[0246] Mononukleární buňky periferní krve (PBMC) byly izolovány z krve odebrané od každého dárce v době biopsie pro intradermální injekci do transplantované kůže. Před injekcí byly PBMC stimulovány 1 µg/ml stafylokokového enterotoxinu B (Toxin Technologies, Florida, USA) a 80 U/ml lidského rekombinantního IL-2 (Peprotech Inc., Oosterhout, Nizozemsko). Autologní PBMC byly intradermálně injikovány v množství 7,5 x 10⁵ buněk v PBS pro synchronizaci indukce zánětu kůže a fenotypu psoriázy. Tři týdny po injekci buněk byly biopsie získány z myši zpět a
10
15 analyzovány histologicky.

[0247] Histologické barvení bylo provedeno na kryokonzervované tkáni kůže všech skupin. Diagonální příčné řezy (8 µm) pokrývající všechny kožní vrstvy byly připraveny tak, jak je popsáno na obrázku 4. Pro hodnocení tloušťky epidermis byly náhodně vybrány dva nesériové řezy ze středu biopsie a obarveny hematoxylinem-eosinem. Následně byly řezy vyhodnoceny při 100násobném zvětšení. Po celé délce biopsie byly v obou řezech měřeny délky hřebenů (ridge) pomocí fotoaparátu Olympus DP71 a zobrazovacího softwaru Cell[^]D (V2.7, Munster, Německo). Délka hřebene je definována jako: vzdálenost mezi horním
20
25 okrajem vrstvy stratum granulosum ke dnu hřebene. Biopsie byly hodnoceny způsobem náhodně a naslepo.

[0248] Výsledky průměrné tloušťky epidermis a maximální tloušťky epidermis pro každou léčenou skupinu jsou uvedeny v tabulce 18. Výsledky pro celkovou změnu tloušťky epidermis v každé skupině ošetření jsou uvedeny v tabulce 19.
30

Tabulka 18

Ošetření	Průměrná tloušťka epidermis (μM)				Maximální tloušťka epidermis (μM)			
	průměr	SD	N	SEM	průměr	SD	N	SEM
Neošetřeno	101,4	34,4	16	8,6	147,1	35,0	16	8,7
Vehikulum	106,0	31,9	9	10,6	151,6	48,9	9	16,3
33D10	93,4	24,1	10	7,6	130,9	30,8	10	9,7

Tabulka 19

Ošetření	Průměrná tloušťka epidermis (μM)				Maximální tloušťka epidermis (μM)			
	průměr	SD	N	SEM	průměr	SD	N	SEM
Neošetřeno	36,2	31,9	32	5,6	52,6	40,0	32	7,1
Vehikulum	43,5	30,9	18	7,3	63,4	52,0	18	12,2
33D10	27,8	26,6	20	5,9	35,1	34,1	20	7,6

5 Příklad 16: Subchronický plicní zánět po 3 týdnech expozice cigaretovému kouři u knockout myši standardního typu a homozygotních knockout na interleukin-1-podobný receptor 2

[0249] Protokol: Myši standardního typu nebo interleukin-1-podobný receptor 2 byly vystaveny cigaretovému kouři po dobu 3 týdnů, aby se vyvolala plicní tíseň. Týdny 1 a 2 sestávaly z 5 po sobě následujících expozičních dnů, zatímco během týdne 3 byly myši vystaveny expozici 4 po sobě následující dny. Myši byly vystaveny 5 cigaretám každý den s 24minutovými intervaly expozice cigaretám (16 minut) a čerstvému vzduchu (8 minut). Osmnáct hodin po konečné expozici byl myším proveden výplach 2 x 0,8 ml Hankova solného roztoku (0,6mM EDTA). Supernatant a buněčná peleta byly z bronchiálních alveolárních výplachů izolovány po centrifugaci po dobu 10 minut. Celkový počet makrofágů a neutrofilních buněk v bronchiálním alveolárním výplachu pro každou expoziční skupinu je uveden v tabulce 20.

Tabulka 20

Celkem buněk	Počet buněk x 10⁵			
Myš	průměr	SD	N	SEM
Standardní	2,21	1,47	9	0,49
IL1 RL2 KO	2,45	0,87	6	0,36
Standardní + CS	9,07	2,83	10	0,90
IL-1RL2 KO + CS	5,32	1,03	10	0,32
Makrofágy	Počet buněk x 10⁵			
Myš	průměr	SD	N	SEM
Standardní	2,08	1,62	9	0,54
IL1 RL2 KO	2,40	0,86	6	0,35
Standardní + CS	3,36	1,46	10	0,46
IL-1RL2 KO + CS	3,22	0,86	10	0,27
Neutrofily	Počet buněk x 10⁵			
Myš	průměr	SD	N	SEM
Standardní	0,002	0,004	9	0,001
IL1 RL2 KO	0,013	0,016	6	0,007
Standardní + CS	5,698	2,751	10	0,870
IL-1RL2 KO + CS	2,083	0,749	10	0,237

VÝPIS SEKVENCÍ

SEQUENCE LISTING

5 [0250]

<110> BROWN, SU-ELLEN
CANADA, KEITH
CHLEWICKI, LUKASZ
10 HOWELL, MICHAEL
MENNERICH, DETLEV
WOSKA JR., JOSEPH R.

<120> ANTI IL-36R ANTIBODIES
15

<130> 09-0583
<140>
<141>

20 <150> 61/713,713
<151> 2012-10-15

<150> 61/644,111
<151> 2012-05-08
25

<150> 61/560,554
<151> 2011-11-16

<160> 140
30

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1
<211> 108
35 <212> PRT
<213> Mus sp.

<400> 1

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

Glu Arg Val Thr Met Thr Cys Thr Ala Ser Ser Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

Tyr Leu His Trp Tyr Gln Lys Lys Pro Gly Ser Ser Pro Lys Leu Trp
35 40 45

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

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu
65 70 75 80

Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys His Gln His His Arg Ser Pro
85 90 95

Val Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Met Lys
100 105

<210> 2

5 <211> 107

<212> PRT

<213> Mus sp.

<400> 2

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

Glu Ser Val Thr Phe Thr Cys Leu Ala Ser Gln Thr Ile Gly Thr Trp
20 25 30

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

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

Ser Gly Ser Gly Thr Gln Phe Ser Phe Asn Ile Arg Ser Leu Gln Ala
65 70 75 80

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

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

<210> 3

<211> 107

<212> PRT

15 <213> Mus sp.

<400> 3

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

Glu Ser Val Thr Phe Thr Cys Leu Ala Ser Gln Thr Ile Gly Thr Trp
 20 25 30

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

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

Ser Gly Ser Gly Thr Lys Phe Ser Phe Lys Ile Ser Ser Leu Gln Ala
 65 70 75 80

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

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

5

<210> 4

<211> 112

<212> PRT

<213> Mus sp.

10

<400> 4

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

Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Asn Ile Val His Ser
 20 25 30

Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Gln Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 35 40 45

Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
 50 55 60

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly
 85 90 95

Ser His Val Pro Phe Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
 100 105 110

<210> 5

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

15

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

5 <400> 5

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

Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Tyr Lys Tyr
 20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Leu Lys Leu Leu Ile
 35 40 45

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

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

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Asp Ser Lys Phe Pro Trp
 85 90 95

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

10 <210> 6

<211> 108

<212> PRT

<213> Mus sp.

15 <400> 6

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

Glu Arg Val Thr Met Thr Cys Thr Ala Ser Ser Ser Val Ser Ser Ser
 20 25 30

Tyr Phe His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Ser Ser Pro Lys Leu Trp
 35 40 45

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

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu
 65 70 75 80

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

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

<210> 7

<211> 107

<212> PRT

<213> Mus sp.

<400> 7

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

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

5 Val Leu Trp Tyr Gln Gln Lys Ile Gly Gln Ser Pro Lys Pro Leu Ile
 35 40 45

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

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

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

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

<210> 8

10 <211> 107

<212> PRT

<213> Mus sp.

<400> 8

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

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

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

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

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

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

15 Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
 100 105

<210> 9

<211> 107

<212> PRT

<213> Mus sp.

<400> 9

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

<210> 10

10 <211> 107

<212> PRT

<213> Mus sp.

<400> 10

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

<210> 11

<211> 119

<212> PRT

<213> Mus sp.

<400> 11

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

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

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

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

Lys Gly Lys Ala Met Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

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

Thr Ile Val Tyr Phe Gly Asn Pro Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

5 Thr Leu Val Thr Val Ser Ala
 115

<210> 12

<211> 125

<212> PRT

10 <213> Mus sp.

<400> 12

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

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

Tyr Met Asn Trp Val Arg Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

Gly Arg Val Asn Pro Ser Asn Gly Asp Thr Lys Tyr Asn Gln Asn Phe
 50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Leu Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

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

Gly Arg Thr Lys Asn Phe Tyr Ser Ser Tyr Ser Tyr Asp Asp Ala Met
 100 105 110

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

- 5 <210> 13
 <211> 124
 <212> PRT
 <213> Mus sp.

<400> 13
 Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Phe Val Arg Pro Gly Ala
 1 5 10 15

Ser Val Lys Phe Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Asp
 20 25 30

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

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

Gln Asp Lys Ala Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asn Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

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

Ala Lys Ser Phe Pro Asn Asn Tyr Tyr Ser Tyr Asp Asp Ala Phe Ala
 100 105 110

- 10 Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala
 115 120

- <210> 14
 <211> 118
 <212> PRT
 15 <213> Mus sp.

<400> 14
 Gln Val Gln Leu Lys Glu Ser Gly Pro Val Leu Val Ala Pro Ser Gln
 1 5 10 15

Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Lys Phe
 20 25 30

Gly Val His Trp Ile Arg Gln Thr Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu
 35 40 45

Gly Val Ile Trp Ala Gly Gly Pro Thr Asn Tyr Asn Ser Ala Leu Met
50 55 60

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

Arg Ile Asp Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

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

Ser Val Thr Val Ser Ser
115

5 <210> 15
<211> 120
<212> PRT
<213> Mus sp.

<400> 15
Gln Val Gln Leu Lys Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln
1 5 10 15

Ser Leu Phe Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Ser Tyr
20 25 30

Glu Ile Asn Trp Val Arg Gln Val Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu
35 40 45

Gly Val Ile Trp Thr Gly Ile Thr Thr Asn Tyr Asn Ser Ala Leu Ile
50 55 60

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

Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Gly Thr Gly Thr Gly Phe Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

10 Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 16
<211> 119
<212> PRT
15 <213> Mus sp.

<400> 16

Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ala Asp Phe Val Arg Pro Gly Ala
1 5 10 15

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

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

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

Arg Asn Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Thr Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Thr Val Val Phe Tyr Gly Glu Pro Tyr Phe Pro Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ala
115

<210> 17

5 <211> 119

<212> PRT

<213> Mus sp.

<400> 17

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

Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Asn Tyr
20 25 30

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

Gly Val Ile Trp Ser Asp Gly Ser Thr Asp Phe Asn Ala Pro Phe Lys
50 55 60

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

10

Lys Met Asn Ser Leu Gln Ile Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Lys Gly Gly Tyr Ser Gly Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ala
115

<210> 18
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> Mus sp.

5

<400> 18

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

Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Asn Tyr
 20 25 30

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

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

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

Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95

Arg Lys Gly Gly Tyr Ser Gly Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ala
 115

<210> 19
 <211> 117
 <212> PRT
 <213> Mus sp.

10

<400> 19

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

Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Asn Tyr
 20 25 30

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

15

Gly Val Ile Trp Pro Val Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Ser Ala Leu Met
50 55 60

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

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

Lys Met Asp Trp Asp Asp Phe Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr
100 105 110

Leu Thr Val Ser Ser
115

5 <210> 20
<211> 124
<212> PRT
<213> Mus sp.

<400> 20
Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Arg Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Asp
20 25 30

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

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

Gln Asp Lys Ala Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Lys Ser Phe Pro Asp Asn Tyr Tyr Ser Tyr Asp Asp Ala Phe Ala
100 105 110

10 Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala
115 120

<210> 21
<211> 12
<212> PRT
15 <213> Mus sp.

<400> 21
Thr Ala Ser Ser Ser Val Ser Ser Ser Tyr Leu His
1 5 10

<210> 22
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Mus sp.
 5
 <400> 22
 Leu Ala Ser Gln Thr Ile Gly Thr Trp Leu Ala
 1 5 10
 <210> 23
 10 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Mus sp.
 <400> 23
 15 Leu Ala Ser Gln Thr Ile Gly Thr Trp Leu Gly
 1 5 10
 <210> 24
 <211> 16
 <212> PRT
 20 <213> Mus sp.
 <400> 24
 Arg Ser Ser Gln Asn Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Gln
 1 5 10 15
 25 <210> 25
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Mus sp.
 30 <400> 25
 Arg Ala Ser Gln Asp Ile Tyr Lys Tyr Leu Asn
 1 5 10
 <210> 26
 <211> 12
 35 <212> PRT
 <213> Mus sp.
 <400> 26
 Thr Ala Ser Ser Ser Val Ser Ser Ser Tyr Phe His
 1 5 10
 40 <210> 27
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Mus sp.
 45 <400> 27
 Lys Ala Ser Gln Asp Val Gly Thr Asn Val Leu
 1 5 10

<210> 28
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Mus sp.
 5
 <400> 28
 Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Arg Ala Val Ala
 1 5 10
 <210> 29
 10 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Mus sp.
 <400> 29
 15 Leu Ala Ser Gln Thr Ile Gly Thr Trp Leu Gly
 1 5 10
 <210> 30
 <211> 7
 <212> PRT
 20 <213> Mus sp.
 <400> 30
 Ser Thr Ser Asn Leu Ala Ser
 1 5
 25 <210> 31
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Mus sp.
 30 <400> 31
 Ala Ala Thr Ser Leu Ala Asp
 1 5
 <210> 32
 <211> 7
 35 <212> PRT
 <213> Mus sp.
 <400> 32
 Arg Ser Thr Thr Leu Ala Asp
 1 5
 40 <210> 33
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Mus sp.
 45 <400> 33
 Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser
 1 5

<210> 34
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Mus sp.
 5
 <400> 34
 Tyr Thr Ser Gly Leu His Ser
 1 5

<210> 35
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Mus sp.
 10
 <400> 35
 Arg Thr Ser Asn Leu Ala Ser
 1 5

<210> 36
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Mus sp.
 20
 <400> 36
 Ser Ala Ser Tyr Arg His Ser
 1 5

<210> 37
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Mus sp.
 25
 <400> 37
 Ser Ala Ser Asn Arg Tyr Thr
 1 5

<210> 38
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Mus sp.
 35
 <400> 38
 Arg Ala Thr Ser Leu Ala Asp
 1 5

<210> 39
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Mus sp.
 40
 <400> 39
 His Gln His His Arg Ser Pro Val Thr
 1 5

45

<210> 40
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 5 <220>
 <223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide

 <400> 40
 Gln Gln Val Tyr Thr Thr Pro Leu Thr
 10 1 5

 <210> 41
 <211> 9
 <212> PRT
 15 <213> Mus sp.

 <400> 41
 Gln Gln Leu Tyr Ser Ala Pro Tyr Thr
 1 5

 20 <210> 42
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Mus sp.

 25 <400> 42
 Phe Gln Gly Ser His Val Pro Phe Thr
 1 5

 <210> 43
 <211> 9
 30 <212> PRT
 <213> Mus sp.

 <400> 43
 Gln Gln Asp Ser Lys Phe Pro Trp Thr
 1 5
 35
 <210> 44
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Mus sp.
 40
 <400> 44
 His Gln Phe His Arg Ser Pro Leu Thr
 1 5

 <210> 45
 45 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Mus sp.

<400> 45
 Gln Gln Tyr Ser Arg Tyr Pro Leu Thr
 1 5

5 <210> 46
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Mus sp.

10 <400> 46
 Gln Gln Tyr Ser Ser Tyr Pro Leu Thr
 1 5

15 <210> 47
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Mus sp.

20 <400> 47
 Gln Gln Leu Tyr Ser Gly Pro Tyr Thr
 1 5

25 <210> 48
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Mus sp.

30 <400> 48
 Gly Asn Thr Val Thr Ser Tyr Trp Met His
 1 5 10

35 <210> 49
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Mus sp.

40 <400> 49
 Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Asn Tyr Met Asn
 1 5 10

45 <210> 50
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Mus sp.

50 <400> 50
 Gly Phe Asn Ile Lys Asp Asp Tyr Ile His
 1 5 10

55 <210> 51
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Mus sp.

<400> 51
 Gly Phe Ser Leu Thr Lys Phe Gly Val His
 1 5 10

5 <210> 52
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Mus sp.

10 <400> 52
 Gly Phe Ser Leu Ser Ser Tyr Glu Ile Asn
 1 5 10

15 <210> 53
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Mus sp.

20 <400> 53
 Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Ser Trp Ile His
 1 5 10

25 <210> 54
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Mus sp.

30 <400> 54
 Gly Phe Ser Leu Thr Asn Tyr Ala Val His
 1 5 10

35 <210> 55
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Mus sp.

40 <400> 55
 Gly Phe Ser Leu Thr Asn Tyr Gly Val His
 1 5 10

45 <210> 56
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Mus sp.

50 <400> 56
 Gly Phe Asn Ile Lys Asp Asp Tyr Ile His
 1 5 10

55 <210> 57
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Mus sp.

<400> 57
 Glu Ile Leu Pro Ser Thr Gly Arg Thr Asn Tyr Asn Glu Asn Phe Lys
 1 5 10 15
 Gly

5 <210> 58
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Mus sp.

10 <400> 58
 Arg Val Asn Pro Ser Asn Gly Asp Thr Lys Tyr Asn Gln Asn Phe Lys
 1 5 10 15
 Gly

15 <210> 59
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Mus sp.

20 <400> 59
 Arg Ile Asp Pro Ala Asn Gly Asn Thr Lys Tyr Ala Pro Lys Phe Gln
 1 5 10 15
 Asp

25 <210> 60
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Mus sp.

30 <400> 60
 Val Ile Trp Ala Gly Gly Pro Thr Asn Tyr Asn Ser Ala Leu Met Ser
 1 5 10 15

35 <210> 61
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Mus sp.

40 <400> 61
 Val Ile Trp Thr Gly Ile Thr Thr Asn Tyr Asn Ser Ala Leu Ile Ser
 1 5 10 15

45 <210> 62
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Mus sp.

<400> 62
 Glu Ile Asn Pro Gly Asn Val Arg Thr Asn Tyr Asn Glu Asn Phe
 1 5 10 15

<210> 63
 <211> 16

<212> PRT

<213> Mus sp.

<400> 63

5 Val Ile Trp Ser Asp Gly Ser Thr Asp Phe Asn Ala Pro Phe Lys Ser
1 5 10 15

<210> 64

<211> 16

<212> PRT

10 <213> Mus sp.

<400> 64

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

15 <210> 65

<211> 16

<212> PRT

<213> Mus sp.

20 <400> 65

Val Ile Trp Pro Val Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Ser Ala Leu Met Ser
1 5 10 15

<210> 66

<211> 17

25 <212> PRT

<213> Mus sp.

<400> 66

30 Arg Ile Asp Pro Ala Asn Gly Asn Thr Lys Tyr Asp Pro Arg Phe Gln
1 5 10 15
Asp

<210> 67

<211> 10

<212> PRT

35 <213> Mus sp.

<400> 67

Val Tyr Phe Gly Asn Pro Trp Phe Ala Tyr
1 5 10

40 <210> 68

<211> 16

<212> PRT

<213> Mus sp.

45 <400> 68

Thr Lys Asn Phe Tyr Ser Ser Tyr Ser Tyr Asp Asp Ala Met Asp Tyr
1 5 10 15

<210> 69
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Mus sp.
 5
 <400> 69
 Ser Phe Pro Asn Asn Tyr Tyr Ser Tyr Asp Asp Ala Phe Ala Tyr
 1 5 10 15
 10
 <210> 70
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Mus sp.
 15
 <400> 70
 Gln Ile Tyr Tyr Ser Thr Leu Val Asp Tyr
 1 5 10
 20
 <210> 71
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Mus sp.
 25
 <400> 71
 Gly Thr Gly Thr Gly Phe Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr
 1 5 10
 30
 <210> 72
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Mus sp.
 35
 <400> 72
 Val Phe Tyr Gly Glu Pro Tyr Phe Pro Tyr
 1 5 10
 40
 <210> 73
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Mus sp.
 45
 <400> 73
 Lys Gly Gly Tyr Ser Gly Ser Trp Phe Ala Tyr
 1 5 10
 <210> 74
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Mus sp.
 <400> 74
 Met Asp Trp Asp Asp Phe Phe Asp Tyr
 1 5

<210> 75
 <211> 15
 <212> PRT
 5 <213> Mus sp.

 <400> 75
 Ser Phe Pro Asp Asn Tyr Tyr Ser Tyr Asp Asp Ala Phe Ala Tyr
 1 5 10 15

 10 <210> 76
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 15 <221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence:
 Synthetic polypeptide"

 <400> 76
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1 5 10 15

 Glu Arg Ala Thr Met Ser Cys Thr Ala Ser Ser Ser Val Ser Ser Ser
 20 25 30

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

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

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

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

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

 <210> 77
 <211> 108
 <212> PRT
 25 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence:
 Synthetic polypeptide"
 30

<400> 77

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

Glu Arg Ala Thr Met Ser Cys Thr Ala Ser Ser Ser Val Ser Ser Ser
 20 25 30

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

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

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

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

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

5

<210> 78

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

10

<220>

<221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence:
 Synthetic polypeptide"

15

<400> 78

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

Glu Arg Ala Thr Met Ser Cys Thr Ala Ser Ser Ser Val Ser Ser Ser
 20 25 30

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

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

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

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

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

<210> 79
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 5 <220>
 <221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence:
 Synthetic polypeptide"

10 <400> 79
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1 5 10 15

 Glu Arg Ala Thr Met Thr Cys Thr Ala Ser Ser Ser Val Ser Ser Ser
 20 25 30

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

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

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

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

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

<210> 80
 <211> 108
 15 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence:
 20 Synthetic polypeptide"

<400> 80

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

Glu Arg Ala Thr Met Thr Cys Thr Ala Ser Ser Ser Val Ser Ser Ser
 20 25 30

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

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

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

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

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

5

<210> 81

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

10

<220>

<221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence:
 Synthetic polypeptide"

15

<400> 81

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

Glu Arg Val Thr Met Ser Cys Thr Ala Ser Ser Ser Val Ser Ser Ser
 20 25 30

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

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

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

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

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

<210> 82

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<221> source

5 <223> /note="Description of Artificial Sequence:
Synthetic polypeptide"

<400> 82

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

Glu Arg Ala Thr Met Thr Cys Thr Ala Ser Ser Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

10

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

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

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

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

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

<210> 83

<211> 108

15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<221> source

20 <223> /note="Description of Artificial Sequence:
Synthetic polypeptide"

<400> 83

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

Glu Arg Ala Thr Met Ser Cys Thr Ala Ser Ser Ser Val Ser Ser Ser
 20 25 30

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

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

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

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

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

<210> 84

5 <211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<221> source

10 <223> /note="Description of Artificial Sequence:
 Synthetic polypeptide"

<400> 84

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

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

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

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

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

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

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

15

<210> 85

<211> 107

<212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <221> source
 5 <223> /note="Description of Artificial Sequence:
 Synthetic polypeptide"

<400> 85

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

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

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

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

10

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

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

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

<210> 86

<211> 107

15

<212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence:
 20 Synthetic polypeptide"

<400> 86

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

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

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

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

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

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

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

<210> 87

5 <211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<221> source

10 <223> /note="Description of Artificial Sequence:
Synthetic polypeptide"

<400> 87

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

<400> 90

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Ser
20 25 30

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

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

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

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

Ala Val Val Phe Tyr Gly Glu Pro Tyr Phe Pro Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 91

5 <211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<221> source

10 <223> /note="Description of Artificial Sequence:
Synthetic polypeptide"

<400> 91

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Ser
20 25 30

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

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

Arg Asn Lys Val Thr Met Thr Val Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Thr Val Val Phe Tyr Gly Glu Pro Tyr Phe Pro Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 92

5 <211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<221> source

10 <223> /note="Description of Artificial Sequence:
Synthetic polypeptide"

<400> 92

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Ser
20 25 30

Trp Ile His Trp Val Arg Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

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

Arg Asn Arg Val Thr Met Thr Val Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Thr Val Val Phe Tyr Gly Glu Pro Tyr Phe Pro Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

15

<210> 93

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<221> source

20 <223> /note="Description of Artificial Sequence:
Synthetic polypeptide"

<400> 93

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Ser
 20 25 30

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

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

Arg Asn Lys Val Thr Met Thr Val Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

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

Ala Val Val Phe Tyr Gly Glu Pro Tyr Phe Pro Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 94

5 <211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<221> source

10 <223> /note="Description of Artificial Sequence:
 Synthetic polypeptide"

<400> 94

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Ser
 20 25 30

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

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

Arg Asn Lys Val Thr Met Thr Val Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Val Val Phe Tyr Gly Glu Pro Tyr Phe Pro Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 95

5 <211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<221> source

10 <223> /note="Description of Artificial Sequence:
Synthetic polypeptide"

<400> 95

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Ser
20 25 30

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

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

Arg Asn Lys Ala Thr Met Thr Val Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Val Val Phe Tyr Gly Glu Pro Tyr Phe Pro Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

15

<210> 96

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<221> source

20 <223> /note="Description of Artificial Sequence:
Synthetic polypeptide"

<400> 96

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

Thr Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Asp Tyr
 20 25 30

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

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

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

Lys Met Ser Ser Val Gln Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95

Arg Lys Gly Gly Tyr Ser Gly Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

5

<210> 97

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

10

<221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence:
 Synthetic polypeptide"

<400> 97

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

Thr Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Asp Tyr
 20 25 30

15

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

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

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

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

Arg Lys Gly Gly Tyr Ser Gly Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 98

5 <211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<221> source

10 <223> /note="Description of Artificial Sequence:
Synthetic polypeptide"

<400> 98

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

Thr Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Asp Tyr
20 25 30

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

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

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

Lys Met Asn Ser Val Thr Val Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Lys Gly Gly Tyr Ser Gly Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

15

<210> 99

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence:
Synthetic polypeptide"

5

<400> 99

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15Thr Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Asp Tyr
20 25 30Ala Val His Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45Gly Val Ile Trp Ser Asp Gly Ser Thr Asp Tyr Asn Ala Pro Phe Lys
50 55 60Ser Arg Val Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val Ser Phe
65 70 75 80Lys Leu Ser Ser Val Thr Val Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95Arg Lys Gly Gly Tyr Ser Gly Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 100

10

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<221> source

15

<223> /note="Description of Artificial Sequence:
Synthetic polypeptide"

<400> 100

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

Ala Val His Trp Ile Arg Gln Phe Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile

```

          35              40              45

Gly Val Ile Trp Ser Asp Gly Ser Thr Asp Phe Asn Ala Pro Phe Lys
  50              55              60

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

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

Arg Lys Gly Gly Tyr Ser Gly Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
          100              105              110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
          115

5 <210> 101
  <211> 119
  <212> PRT
  <213> Artificial Sequence
  <220>
  <221> source
10 <223> /note="Description of Artificial Sequence:
    Synthetic polypeptide"

<400> 101
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
  1              5              10              15

Thr Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Asp Tyr
          20              25              30

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

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

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

Lys Met Ser Ser Val Thr Ala Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
          85              90              95

Arg Lys Gly Gly Tyr Ser Gly Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
          100              105              110

15 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
          115

```

<210> 102
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Mus sp.
 5
 <400> 102
 Arg Thr Ser Thr Leu Ala Ser
 1 5

<210> 103
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Mus sp.
 10
 <400> 103
 Arg Thr Ser Ile Leu Ala Ser
 1 5

<210> 104
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Mus sp.
 20
 <400> 104
 Arg Thr Ser Arg Leu Ala Ser
 1 5

<210> 105
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Mus sp.
 25
 <400> 105
 Arg Thr Ser Gln Leu Ala Ser
 1 5

<210> 106
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Mus sp.
 35
 <400> 106
 Arg Thr Ser Lys Leu Ala Ser
 1 5

<210> 107
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Mus sp.
 40
 <400> 107
 Gly Phe Ser Leu Thr Asp Tyr Ala Val His
 1 5 10

<210> 108
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Mus sp.
 5

<400> 108
 Glu Ile Leu Pro Gly Val Val Arg Thr Asn Tyr Asn Glu Asn Phe
 1 5 10 15

<210> 109
 10 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Mus sp.

<400> 109
 15 Glu Ile Asn Pro Gly Ala Val Arg Thr Asn Tyr Asn Glu Asn Phe
 1 5 10 15

<210> 110
 <211> 15
 <212> PRT
 20 <213> Mus sp.

<400> 110
 Glu Ile Asn Pro Gly Leu Val Arg Thr Asn Tyr Asn Glu Asn Phe
 1 5 10 15

25 <210> 111
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Mus sp.

30 <400> 111
 Glu Ile Asn Pro Gly Ser Val Arg Thr Asn Tyr Asn Glu Asn Phe
 1 5 10 15

35 <210> 112
 <211> 330
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence:
 40 Synthetic polypeptide"

<400> 112
 Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
 1 5 10 15
 Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
 20 25 30
 Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 35 40 45

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

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
 65 70 75 80

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

Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
 100 105 110

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

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

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
 145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
 165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
 180 185 190

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

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
 210 215 220

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

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

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

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

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

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

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

5

<210> 113

<211> 107

<212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <221> source
 5 <223> /note="Description of Artificial Sequence:
 Synthetic polypeptide"

<400> 113

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
 1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

10

<210> 114

<211> 215

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

15 <220>

<221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence:
 Synthetic polypeptide"

20 <400> 114

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

Glu Arg Ala Thr Met Ser Cys Thr Ala Ser Ser Ser Val Ser Ser Ser
 20 25 30

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215

- 5 <210> 115
 <211> 215
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <221> source
 10 <223> /note="Description of Artificial Sequence:
 Synthetic polypeptide"

<400> 115

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

Glu Arg Ala Thr Met Ser Cys Thr Ala Ser Ser Ser Val Ser Ser Ser
 20 25 30

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215

<210> 116

5 <211> 215

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<221> source

10 <223> /note="Description of Artificial Sequence:
 Synthetic polypeptide"

<400> 116

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

Glu Arg Ala Thr Met Ser Cys Thr Ala Ser Ser Ser Val Ser Ser Ser
 20 25 30

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215

<210> 117

5 <211> 215

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<221> source

10 <223> /note="Description of Artificial Sequence:
 Synthetic polypeptide"

<400> 117

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

Glu Arg Ala Thr Met Thr Cys Thr Ala Ser Ser Ser Val Ser Ser Ser
 20 25 30

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215

<210> 118

5 <211> 215

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<221> source

10 <223> /note="Description of Artificial Sequence:
 Synthetic polypeptide"

<400> 118

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

Glu Arg Ala Thr Met Thr Cys Thr Ala Ser Ser Ser Val Ser Ser Ser
 20 25 30

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215

5

<210> 119

<211> 215

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

10

<220>

<221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence:
 Synthetic polypeptide"

<400> 119

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

Glu Arg Val Thr Met Ser Cys Thr Ala Ser Ser Ser Val Ser Ser Ser
 20 25 30

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215

5

<210> 120

<211> 215

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

10

<220>

<221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence:
 Synthetic polypeptide"

<400> 120

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

Glu Arg Ala Thr Met Thr Cys Thr Ala Ser Ser Ser Val Ser Ser Ser
 20 25 30

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215

5

<210> 121

<211> 215

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

10

<220>

<221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence:
 Synthetic polypeptide"

<400> 121

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

Glu Arg Ala Thr Met Ser Cys Thr Ala Ser Ser Ser Val Ser Ser Ser
 20 25 30

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215

5

<210> 122

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

10

<220>

<221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence:
 Synthetic polypeptide"

<400> 122

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210

5

<210> 123

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

10

<220>

<221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence:
 Synthetic polypeptide"

<400> 123

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210

5

<210> 124

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

10

<220>

<221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence:
 Synthetic polypeptide"

<400> 124

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210

5

<210> 125

<211> 449

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

10

<220>

<221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence:
 Synthetic polypeptide"

<400> 125

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Ser
 20 25 30

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

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

Arg Asn Lys Ala Thr Met Thr Val Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

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

Ala Val Val Phe Tyr Gly Glu Pro Tyr Phe Pro Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

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

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

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

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

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

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

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro
225 230 235 240

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Lys

<210> 126

<211> 449

5 <212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<221> source

10 <223> /note="Description of Artificial Sequence:
 Synthetic polypeptide"

<400> 126

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Ser
 20 25 30

Trp Ile His Trp Val Arg Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

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

Arg Asn Arg Val Thr Met Thr Val Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

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

Thr Val Val Phe Tyr Gly Glu Pro Tyr Phe Pro Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
 115 120 125

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

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

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

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

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

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

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro
 225 230 235 240

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Lys

<210> 128

<211> 449

5 <212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<221> source

10 <223> /note="Description of Artificial Sequence:
 Synthetic polypeptide"

<400> 128

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Ser
 20 25 30

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

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

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

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

Ala Val Val Phe Tyr Gly Glu Pro Tyr Phe Pro Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
 115 120 125

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

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

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

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

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

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

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro
 225 230 235 240

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Lys

<210> 129

<211> 449

5 <212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<221> source

10 <223> /note="Description of Artificial Sequence:
 Synthetic polypeptide"

<400> 129

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Ser
 20 25 30

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

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

Arg Asn Lys Val Thr Met Thr Val Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

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

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

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

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

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

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

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

Lys

<210> 130

<211> 449

5 <212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<221> source

10 <223> /note="Description of Artificial Sequence:
 Synthetic polypeptide"

<400> 130

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Ser
 20 25 30

Trp Ile His Trp Val Arg Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

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

Arg Asn Arg Val Thr Met Thr Val Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

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

Thr Val Val Phe Tyr Gly Glu Pro Tyr Phe Pro Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
 115 120 125

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

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

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

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

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

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

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro
 225 230 235 240

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

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

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

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

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

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys

```

          325              330              335

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

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

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

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

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

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
      420              425              430              435

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

```

Lys

<210> 131

<211> 449

5 <212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<221> source

10 <223> /note="Description of Artificial Sequence:
Synthetic polypeptide"

<400> 131

```

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

```

```

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Ser
      20          25          30

```

```

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

```

```

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

```

```

Arg Asn Lys Val Thr Met Thr Val Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr

```


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

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

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

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

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

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

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

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

Lys

<210> 132

<211> 449

5 <212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<221> source

10 <223> /note="Description of Artificial Sequence:
 Synthetic polypeptide"

<400> 132

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Ser
 20 25 30

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

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

Arg Asn Lys Val Thr Met Thr Val Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

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

Ala Val Val Phe Tyr Gly Glu Pro Tyr Phe Pro Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
 115 120 125

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

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

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

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

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

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

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro
 225 230 235 240

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Lys

<210> 133

<211> 449

5 <212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<221> source

10 <223> /note="Description of Artificial Sequence:
 Synthetic polypeptide"

<400> 133

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Ser
 20 25 30

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

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

Arg Asn Lys Ala Thr Met Thr Val Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

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

Ala Val Val Phe Tyr Gly Glu Pro Tyr Phe Pro Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
 115 120 125

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

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

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

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

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

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

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro
 225 230 235 240

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Lys

<210> 134

<211> 449

5 <212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<221> source

10 <223> /note="Description of Artificial Sequence:
 Synthetic polypeptide"

<400> 134

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

Thr Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Asp Tyr
 20 25 30

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

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

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

Lys Met Ser Ser Val Gln Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95

Arg Lys Gly Gly Tyr Ser Gly Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
 115 120 125

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

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

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

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

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

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

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro
 225 230 235 240

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

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

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

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

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

50						55										60
Ser	Arg	Val	Thr	Ile	Ser	Lys	Asp	Thr	Ser	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	
65					70					75					80	
Lys	Met	Asn	Ser	Leu	Thr	Thr	Asp	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala	
				85					90					95		
Arg	Lys	Gly	Gly	Tyr	Ser	Gly	Ser	Trp	Phe	Ala	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	
			100					105					110			
Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	
		115					120					125				
Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	
	130					135					140					
Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	
145					150					155					160	
Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	
				165					170					175		
Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	
			180					185					190			
Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	
		195					200					205				
Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	
	210					215					220					
Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Gly	Pro	
225					230					235					240	
Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	
				245					250					255		
Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	
			260					265					270			
Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	
		275					280					285				
Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	
	290					295					300					

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Lys

<210> 136

<211> 449

5 <212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<221> source

10 <223> /note="Description of Artificial Sequence:
Synthetic polypeptide"

<400> 136

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

Thr Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Asp Tyr
20 25 30

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

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

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

Lys Met Asn Ser Val Thr Val Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95

Arg Lys Gly Gly Tyr Ser Gly Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
 115 120 125

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

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

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

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

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

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

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro
 225 230 235 240

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Lys

<210> 137

<211> 449

5 <212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<221> source

10 <223> /note="Description of Artificial Sequence:
Synthetic polypeptide"

<400> 137

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

Thr Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Asp Tyr
20 25 30

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

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

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

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

Arg Lys Gly Gly Tyr Ser Gly Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
 115 120 125

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

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

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

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

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

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

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro
 225 230 235 240

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Lys

<210> 138

<211> 449

5 <212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<221> source

10 <223> /note="Description of Artificial Sequence:
Synthetic polypeptide"

<400> 138

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Asp Tyr
20 25 30

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

Gly Val Ile Trp Ser Asp Gly Ser Thr Asp Phe Asn Ala Pro Phe Lys
 50 55 60

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

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

Arg Lys Gly Gly Tyr Ser Gly Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
 115 120 125

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

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

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

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

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

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

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro
 225 230 235 240

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Lys

<210> 140

<211> 7

5 <212> PRT

<213> Mus sp.

<400> 140

Arg Thr Ser His Leu Ala Ser
 1 5

10

Patentové nároky

1. Protilátka anti-IL-36R nebo její fragment vázající antigen obsahující:
 - 5 a) variabilní oblast lehkého řetězce obsahující aminokyselinovou sekvenci SEQ ID NO: 80; a
 - b) variabilní oblast těžkého řetězce obsahující aminokyselinovou sekvenci SEQ ID NO: 87, SEQ ID NO: 88 nebo SEQ ID NO: 89.
- 10 2. Protilátka anti-IL-36R podle nároku 1, kde protilátka obsahuje lehký řetězec obsahující aminokyselinovou sekvenci SEQ ID NO: 118 a těžký řetězec obsahující aminokyselinovou sekvenci SEQ ID NO: 125.
- 15 3. Protilátka anti-IL-36R podle nároku 1, kde protilátka obsahuje lehký řetězec obsahující aminokyselinovou sekvenci SEQ ID NO: 118 a těžký řetězec obsahující aminokyselinovou sekvenci SEQ ID NO: 126.
- 20 4. Protilátka anti-IL-36R podle nároku 1, kde protilátka obsahuje lehký řetězec obsahující aminokyselinovou sekvenci SEQ ID NO: 118 a těžký řetězec obsahující aminokyselinovou sekvenci SEQ ID NO: 127.
- 25 5. Farmaceutický prostředek obsahující protilátku nebo fragment vázající antigen podle kteréhokoli z nároků 1 až 4 a farmaceuticky přijatelný nosič.

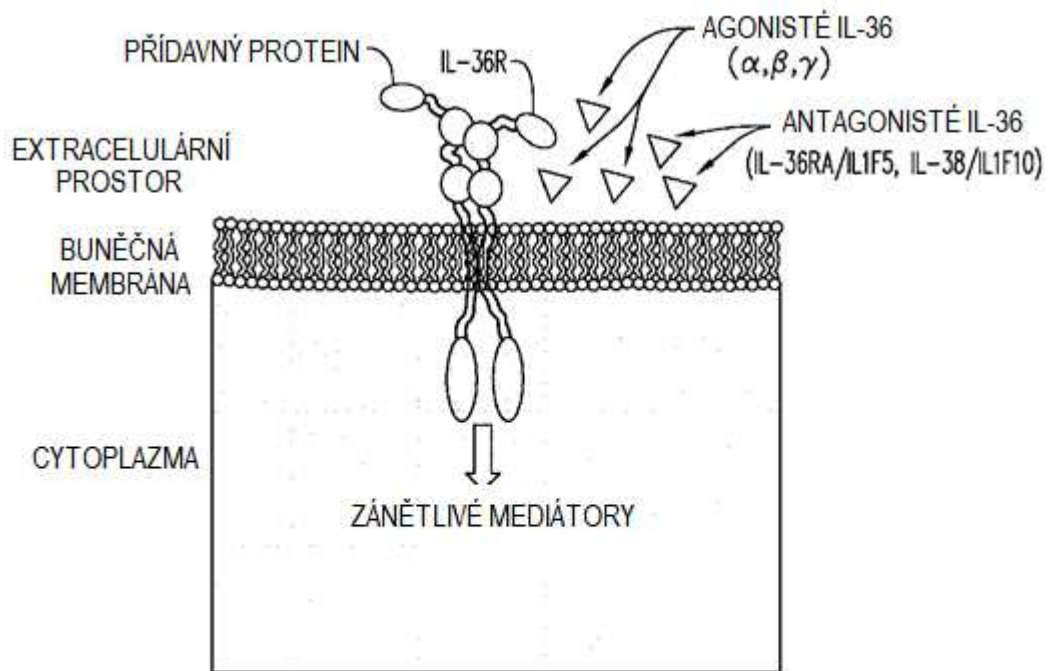
- 6.** Protilátka nebo fragment vázající antigen podle kteréhokoli z nároků 1 až 4 nebo farmaceutický prostředek podle nároku 5, pro použití v lékařství.
- 5 **7.** Protilátka nebo fragment vázající antigen nebo farmaceutický prostředek pro použití podle nároku 6, kde použití v lékařství je použití při způsobu léčení zánětlivého onemocnění, autoimunitního onemocnění, respiračního onemocnění, metabolické poruchy, epiteliálně zprostředkované zánětlivé poruchy, fibrózy nebo
- 10 zhubného nádoru.
- 8.** Protilátka nebo fragment vázající antigen nebo farmaceutický prostředek pro použití podle nároku 6 nebo 7, kde použití v lékařství je použití při způsobu léčení lupénky, zánětlivého
- 15 střevního onemocnění, psoriatické artritidy, roztroušené sklerózy, revmatoidní artritidy, COPD, chronického astmatu nebo ankylozující spondylitidy.
- 9.** Protilátka nebo fragment vázající antigen nebo farmaceutický prostředek pro použití podle kteréhokoli z nároků 6 až 8, kde
- 20 použití v lékařství je použití při způsobu léčení zánětlivého střevního onemocnění.
- 10.** Protilátka nebo fragment vázající antigen nebo farmaceutický prostředek pro použití podle kteréhokoli z nároků 6 až 9, kde
- 25 použití v lékařství je použití při způsobu léčení Crohnovy nemoci.
- 11.** Protilátka nebo fragment vázající antigen nebo farmaceutický prostředek pro použití podle kteréhokoli z nároků 6 až 9, kde
- 30 použití v lékařství je použití při způsobu léčení ulcerativní kolitidy.

- 5
- 12.** Protilátka nebo fragment vázající antigen nebo farmaceutický prostředek pro použití podle kteréhokoli z nároků 6 až 8, kde použití v lékařství je použití při způsobu léčení palmoplantární pustulózy.
- 10
- 13.** Protilátka nebo fragment vázající antigen nebo farmaceutický prostředek pro použití podle kteréhokoli z nároků 6 až 8, kde použití v lékařství je použití při způsobu léčení generalizované pustulární lupénky.
- 15
- 14.** Izolovaný polynukleotid obsahující sekvenci kódující protilátku anti-IL-36R nebo fragment vázající antigen podle kteréhokoli z nároků 1 až 4, s výhodou sekvence DNA nebo RNA.
- 20
- 15.** Izolovaný polynukleotid podle nároku 14, kódující
- (a) variabilní oblast lehkého řetězce obsahující aminokyselinovou sekvenci SEQ ID NO: 80, a variabilní oblast těžkého řetězce obsahující aminokyselinovou sekvenci SEQ ID NO: 87, 88 nebo 89; nebo
- (b) lehký řetězec a těžký řetězec obsahující aminokyselinové sekvence SEQ ID NO: 118 a popřípadě SEQ ID NO: 125; SEQ ID NO:118 a popřípadě SEQ ID NO: 126; nebo SEQ ID NO:118 a popřípadě SEQ ID NO: 127.
- 25
- 16.** Vektor obsahující polynukleotid podle nároku 14 nebo 15, s výhodou expresní vektor, výhodněji vektor obsahující polynukleotid podle vynálezu ve funkčním spojení s řídicí sekvencí exprese.

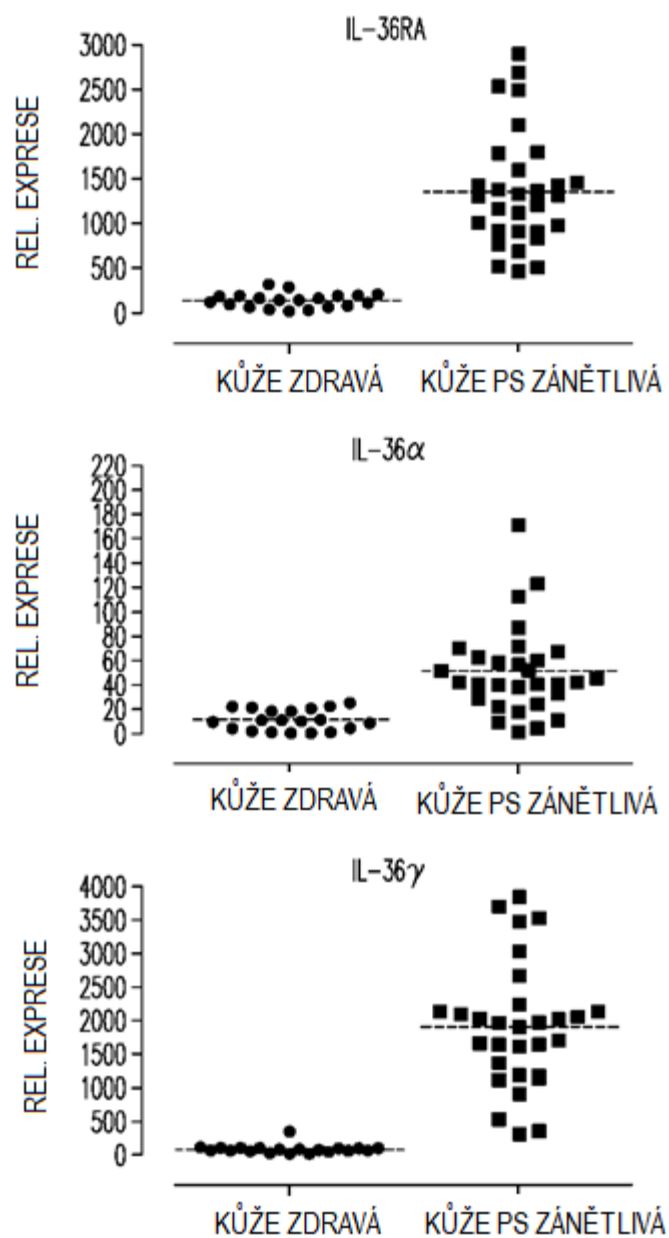
17. Hostitelská buňka obsahující polynukleotid podle nároku 14 nebo 15, a/nebo vektor podle nároku 16.
- 5 18. Způsob produkce protilátky anti-IL-36R nebo fragmentu vázajícího antigen podle kteréhokoli z nároků 1 až 4, zahrnující použití polynukleotidu podle nároku 14 nebo 15, a/nebo vektoru podle nároku 16 a/nebo hostitelské buňky podle nároku 17.
- 10 19. Způsob podle nároku 18, zahrnující kroky (a) kultivace hostitelské buňky za podmínek umožňujících expresi protilátky anti-IL-36R nebo fragmentu vázajícího antigen a (b) izolace protilátky anti-IL-36R nebo fragmentu vázajícího antigen.
- 15 20. Diagnostická souprava obsahující protilátku anti-IL-36R nebo fragment vázajícího antigen podle kteréhokoli z nároků 1 až 4.
- 20 21. Diagnostická souprava podle nároku 20, pro použití při způsob *in vivo* diagnostiky zánětlivého onemocnění, autoimunitního onemocnění, respiračního onemocnění, metabolické poruchy, epiteliálně zprostředkované zánětlivé poruchy, fibrózy, zhoubného nádoru, lupénky, zánětlivého střevního onemocnění, psoriatické artritidy, roztroušené sklerózy, revmatoidní artritidy, COPD, chronického astmatu, ankylozující spondylitidy, Crohnovy nemoci, nebo ulcerativní kolitidy.
- 25 22. Diagnostický způsob *ex vivo* zahrnující použití protilátky anti-IL-36R nebo fragmentu vázajícího antigen podle kteréhokoli z nároků 1 až 4.

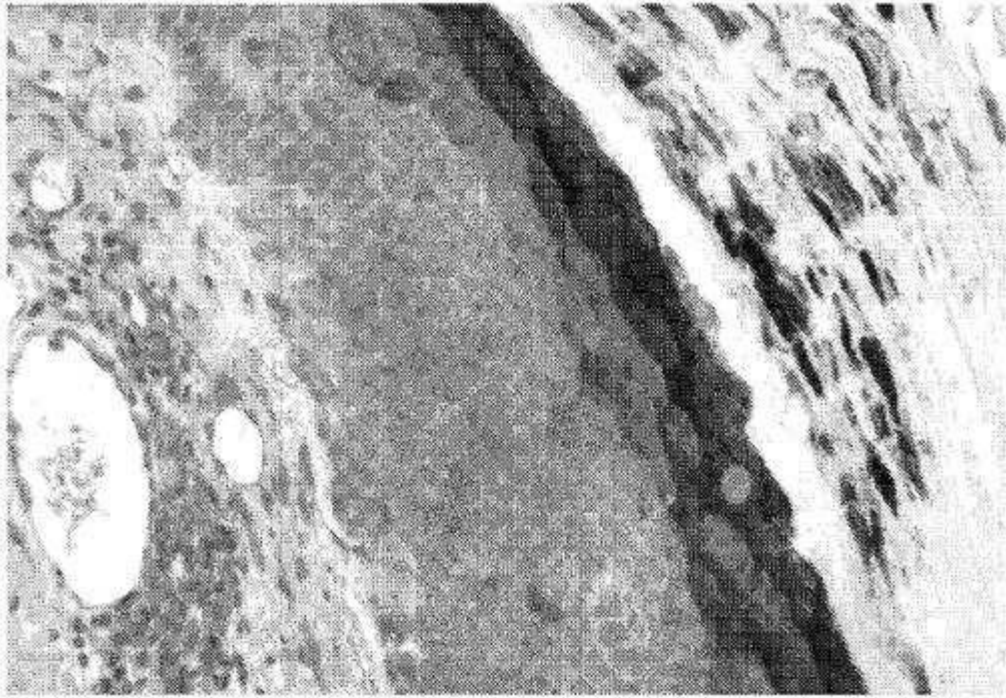
- 23.** Diagnostický způsob *ex vivo* podle nároku 22, pro diagnostiku zánětlivého onemocnění, autoimunitního onemocnění, respiračního onemocnění, metabolické poruchy, epiteliálně zprostředkované zánětlivé poruchy, fibrózy, zhoubného nádoru, lupénky, zánětlivého střevního onemocnění, psoriatické artritidy, roztroušené sklerózy, revmatoidní artritidy, COPD, chronického astmatu, ankylózuující spondylitidy, Crohnovy nemoci, nebo ulcerativní kolitidy.

Výkresy

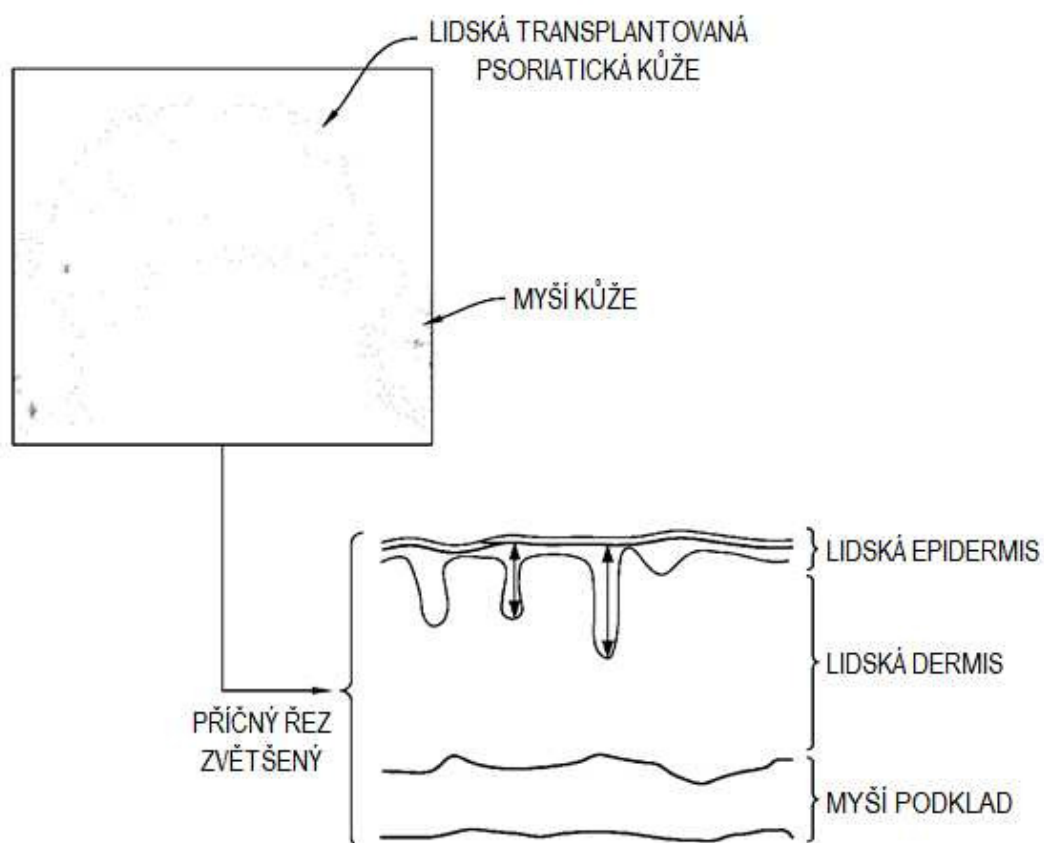


Obr. 1

**Obr. 2**



Obr. 3

**Obr. 4**