201930343

(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本 (11)公開編號：TW 201930343 A

(43)公開日： 中華民國 108 (2019) 年 08 月 01 日

(21)申請案號：108100731 (22)申請日： 中華民國 108 (2019) 年 01 月 08 日

(51)Int. Cl.： *C07K14/705 (2006.01)* *A61K38/16 (2006.01)*

A61P37/08 (2006.01) *A23L33/18 (2016.01)*

(30)優先權：2018/01/08 南韓 10-2018-0002262

(71)申請人：南韓商普羅根有限公司 (南韓) PROGEN CO., LTD. (KR)
南韓

(72)發明人：成永哲 SUNG, YOUNG CHUL (KR) ；梁禎允 YANG, ZUNGYOON (KR)

(74)代理人：劉法正；尹重君

申請實體審查：有 申請專利範圍項數：11 項 圖式數：9 共 76 頁

(54)名稱

包含 IgE 受體之重組型胞外區域的藥學組成物

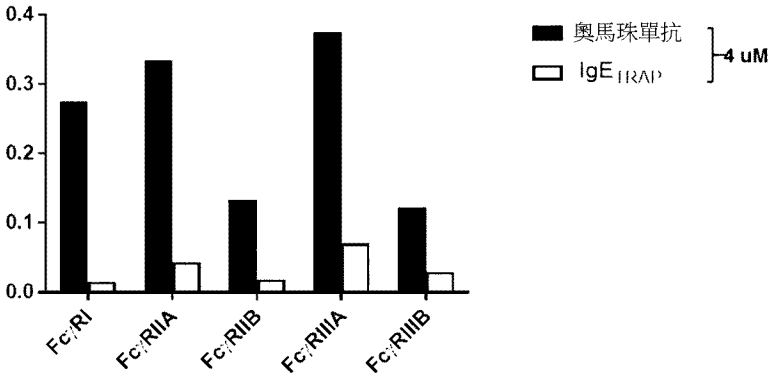
PHARMACEUTICAL COMPOSITION COMPRISING RECOMBINANT EXTRACELLULAR DOMAIN OF IGE RECEPTOR

(57)摘要

本發明提供一種含有二個單體之多肽二聚蛋白之用途，該單體各含有 IgE Fc 受體之 a 次單元的胞外區域(FcεRIa-ECD)。根據本發明之融合蛋白的優點在於，相較於含有抗 IgE 抗體之習用治療劑，表現出極佳的 IgE 結合能力，以及由於無 ADCC 與 CDC 之功能，故表現出較少的其它副作用。因此，該融合蛋白可應用於醫療產品，用於治療或預防 IgE 介導的過敏性疾病。

The present invention provides uses of a polypeptide dimeric protein containing two monomers, each of which contains an extracellular domain (FcεRIa-ECD) of an alpha subunit of an IgE Fc receptor. The fusion protein according to the present invention has advantages that an excellent binding ability to IgE is exhibited as compared with a conventional therapeutic agent containing an anti-IgE antibody, and less other side effects are exhibited due to lack of ADCC and CDC functions. Thus, the fusion protein can be applied to a medical product for treating or preventing an IgE-mediated allergic disease.

指定代表圖：



【圖6】

【發明說明書】

【中文發明名稱】

包含IgE受體之重組型胞外區域的藥學組成物

【英文發明名稱】

PHARMACEUTICAL COMPOSITION COMPRISING RECOMBINANT EXTRACELLULAR DOMAIN OF IgE RECEPTOR

【技術領域】

【0001】 發明領域

本發明有關經修飾的IgE Fc受體之用途。

【先前技術】

【0002】 發明背景

過敏性疾病，如過敏性鼻炎、異位性皮膚炎及食物過敏，包括氣喘，在工業化和西化的現代社會中快速蔓延，且全身性過敏反應(anaphylaxis)，一種嚴重的過敏疾病，之發生亦漸增。此等慢性的免疫疾病嚴重地妨害個人的生活品質，且社會經濟成本相應的飆升。因此，迫切需要採取措施克服這些疾病。

【0003】 大部分的過敏性疾病是因免疫球蛋白E(IgE)過度的免疫反應引起。IgE是一種抗體，其在一般情況下以極低的濃度存在於血清中。IgE通常也是由無害的抗原產生。有一種情況是IgE的數目在無任何特定刺激之情況下增加。此種情況可能引起過敏性疾病。數目異常增加的IgE會結合至表現在肥大細胞、嗜鹼性球等等表面上的高親和性IgE Fc受體(FcεRIs)。此結合導致肥大細胞或

嗜鹼性球釋出化學介導物，如組織胺、白三烯、前列腺素、緩激肽及血小板活性因子。此等化學介導物之釋出導致過敏症狀。特別是，過敏性疾病可能因IgE與FcεRI間之結合而表現出更惡化的症狀。已知FcεRI表現細胞在過敏病患中會增加。

【0004】 目前，已經有多方面用於治療過敏性疾病之方法被提出，例如避開過敏原、投與抗過敏藥物、調整體內IgE的合成及開發抗IgE抗體。然而，目前為止已知的治療方法具有許多的缺點，如無法治療過敏的根本病因、藥效不足及嚴重副作用的發生。

【0005】 此外，已研究出能夠以高親和力結合IgE及FcεRIIb且抑制表現IgE之細胞的免疫球蛋白組成物(KR10-1783272B1)。此組成物據報導可用於治療IgE介導的病症，包括過敏及氣喘。此外，奧馬珠單抗(omalizumab)(商品名：Xolair)，其會標靶IgE抗體之Fc部分，已開發用作為頑固性重症氣喘及頑固性蕁麻疹之治療劑。

【0006】 然而，投與高劑量的奧馬珠單抗來維持治療效果，會導致高成本負擔以及諸如血管性水腫及全身性過敏反應之副作用(The Journal of Clinical Investigation Volume 99, Number 5, March 1997, 915-925)。除此之外，上市後的結果已經有過敏性肉芽腫血管炎及特發性血小板減少之報告。據此，越來越需要開發能夠有效治療過敏性疾病而沒有副作用的治療劑。

【發明內容】

【0007】 技術問題

本發明之一目的係提供一種藥學組成物及食品組成物，其包含多肽二聚蛋白作為活性成份，供用於治療IgE介導的過敏性疾病。

解決問題之方法

【0008】 在本發明之一態樣中，提供一種用於治療或預防過敏性疾病之藥學組成物，其包含一多肽二聚體，該多肽二聚體含有二個單體，其各含有IgE Fc受體之α次單元的胞外區域，其中該單體含有一經修飾的Fc區，及該經修飾的Fc區與該IgE Fc受體之α次單元的胞外區域透過IgD抗體之鉸鏈(hinge)連接。在另一態樣中，提供一種用於改善或緩解過敏症狀之食品組成物，其包含該多肽二聚體作為活性成份。

本發明之有利效果

【0009】 相較於習用的抗IgE抗體，根據本發明之多肽二聚蛋白不僅在體內具有極佳的安全性及持續性，且由於具有IgE結合能力比習用抗IgE抗體，奧馬珠單抗，大70倍，所以會與IgE強力結合，此容許延長投藥周期。此外，根據本發明之多肽二聚蛋白是一種通過採用經修飾的Fc獲得之物質，其僅以IgE作為單一標靶，而不會結合至Fcγ受體，因此沒有抗體依賴性細胞毒性(ADCC)及補體依賴性細胞毒性(CDC)之功能。因此，不同於含有IgG1 Fc區之習用抗IgE抗體，該多肽二聚蛋白不會結合至Fcγ受體，因此可抑制因結合至肥大細胞表面上之Fcγ受體而引起之

介導物的釋出，如此可使諸如因IgG1與肥大細胞上之Fcγ受體III間之結合而導致全身性過敏反應之嚴重副作用的發生減低至最小限度。因此，根據本發明之多肽二聚蛋白可用作為取代含有習用抗IgE抗體之治療劑之新的藥學組成物。

【圖式簡單說明】

【0010】 圖1顯示各細胞株中所產生之蛋白的SDS-PAGE及凝膠等電聚焦(IEF)結果。在此可看出在還原及非還原二者條件下沒有產生截短型，及酸性蛋白之含量由於引入唾液酸轉移酶基因引起的唾液酸含量增加而增加。

【0011】 圖2顯示根據本發明之實施例之多肽二聚蛋白於非還原及還原形式下之SDS-PAGE結果。特別是，可看出即使在對應於輸入的培養上清液中，該多肽二聚體均具有高純度。

【0012】 圖3顯示奧馬珠單抗與IgE的結合能力之圖。該圖顯示固定奧馬珠單抗及分析其依處理的IgE濃度之結合能力所獲得的結果。

【0013】 圖4描述顯示根據本發明之實施例之多肽二聚蛋白之IgE結合能力之圖。該圖顯示固定該二聚蛋白及分析其依處理的IgE濃度之結合能力所獲得的結果。

【0014】 圖5描述通過生物膜干涉技術(BLI)分析鑑定本發明之實施例之多肽二聚蛋白(IgE_{TRAP})及奧馬珠單抗與IgG受體FcγRI (圖5A)、FcγRIIA (圖5B)、FcγRIIB

(圖5C)、FcγRIIIA (圖5D)及FcγRIIIB (圖5E)之交互反應所獲得的結果。

【0015】 圖6描述量化IgE_{TRAP}與IgG受體及奧馬珠單抗與IgG受體之間之結合能力所獲得的圖。

【0016】 圖7描述顯示根據本發明之實施例之多肽二聚蛋白(IgE_{TRAP})依其濃度在小鼠來源肥大細胞活性上的抑制能力之圖。

【0017】 圖8描述顯示根據本發明之實施例之多肽二聚蛋白(IgE_{TRAP})及Xolair (奧馬珠單抗)依其等之濃度，在人FcεRI表現小鼠來源肥大細胞活性上的抑制能力之比較圖。

【0018】 圖9描述顯示根據本發明之實施例之多肽二聚蛋白在食物過敏模型中的投藥效果之圖。

【實施方式】

【0019】 本發明之詳細說明

本發明提供一種用於治療或預防過敏性疾病之藥學組成物，其包含一多肽二聚體，該多肽二聚體含有二個單體，其各含有IgE Fc受體之α次單元的胞外區域(FcεRIa-ECD)，其中該單體含有一經修飾的Fc區，及該經修飾的Fc區與該FcεRIa-ECD透過IgD抗體之鉸鏈連接。

【0020】 本文中所使用之術語"IgE"意指稱作免疫球蛋白E之抗體蛋白。IgE對肥大細胞、血液嗜鹼性球等具親和力。此外，IgE抗體與其對應的抗原(過敏原)間之反應會

引起發炎反應。此外，已知IgE是一種會因肥大細胞或嗜鹼性球發生突然的分泌而引起全身性過敏反應之抗體。

【0021】 本文中所使用之術語"IgE Fc受體"亦稱作Fcε受體，會結合IgE之Fc部分。受體有二種類型。具高IgE Fc親和力之受體稱作Fcε受體I (FcεRI)。具低IgE Fc親和力之受體稱作Fcε受體II (FcεRII)。FcεRI在肥大細胞及嗜鹼性球中表現。在IgE抗體與FcεRI之結合是經由多價抗原交聯之情況下，肥大細胞或嗜鹼性球會發生去顆粒反應，從而釋出各種化學傳遞物質，包括組織胺。此釋出會引起立即的過敏反應。

【0022】 FcεRI是一種由一個α鏈、一個β鏈及二個以雙硫鍵連接之γ鏈構成的膜蛋白。此等鏈中，IgE結合的部分是α鏈(FcεRIα)。FcεRIα約60kDa大，且由存在於細胞膜內側之疏水性區域及存在於細胞膜外側之親水性區域構成。特別是，IgE會結合至α鏈的胞外區域。

【0023】 具體地，IgE Fc受體之α次單元可具有NP_001992.1中所述之胺基酸序列。此外，IgE Fc受體之α次單元的胞外區域(FcεRIa-ECD)可具有序列辨識編號1之胺基酸序列。在本說明書中，該IgE Fc受體之α次單元的胞外區域可為IgE Fc受體之α次單元的胞外區域的片段或變體，只要該片段或變體能夠結合IgE即可。

【0024】 該變體可透過於野生型FcεIa-ECD (胞外區域)中取代、刪除或加入一或多種蛋白製得，只要該方法不會改變FcεRI之α鏈的功能即可。此各種蛋白或胜肽可與序

列辨識編號1之胺基酸序列具有90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高的一致性。此外，序列辨識編號1之FcεRIa-ECD可由具有序列辨識編號5之多核苷酸編碼。

【0025】 此外，本文中所使用之術語"經修飾的Fc區"意指其中抗體之Fc部分的一部分經過修飾之區。在此，術語"Fc區"意指含有免疫球蛋白之重鏈恆定區2 (CH2)及重鏈恆定區3 (CH3)，但不含免疫球蛋白之重鏈與輕鏈之可變區與輕鏈恆定區1 (CH1)之部分。特別是，該經修飾的Fc區意指通過取代Fc區中之一些胺基酸或通過結合不同類型的Fc區而獲得之區。具體地，該經修飾的Fc區可具有序列辨識編號2之胺基酸序列。此外，具有序列辨識編號2之經修飾的Fc區，可由具有序列辨識編號6之序列的多核苷酸編碼。

【0026】 此外，本發明之"經修飾的Fc區"可為具有天然形式的糖鏈、相對於天然形式糖鏈增加或相對於天然形式糖鏈減少之形式，或可為去除糖鏈之形式。免疫球蛋白Fc糖鏈可通過習用方法，如化學方法、酵素方法及使用微生物之基因工程方法修飾。

【0027】 在此，本發明之"經修飾的Fc區"由於沒有FcγR或C1q之結合位置，可為無抗體依賴性細胞毒性(ADCC)及補體依賴性細胞毒性(CDC)功能之區。此外，該經修飾的Fc區及該FcεRIa-ECD可透過IgD抗體之鉸鏈連接。IgD抗體之鉸鏈由64個胺基酸構成，且可選擇性地

含有20至60個連續胺基酸、25至50個連續胺基酸或30至40個胺基酸。在一實施例中，IgD抗體之鉸鏈可由30或49個胺基酸構成，如下文所述。在此，該鉸鏈可為通過修飾該鉸鏈區而獲得之變體，其中該鉸鏈可含有至少一個半胱胺酸。在此，為了使蛋白生產過程期間截短型的產生最小化，該鉸鏈變體可通過修飾IgD抗體中之一些鉸鏈序列獲得。

【0028】 在一實施例中，該鉸鏈可含有下列序列：

Arg Asn Thr Gly Arg Gly Gly Glu Glu Lys Lys Xaa1 Xaa2 Lys Glu Lys Glu Glu Gln Glu Glu Arg Glu Thr Lys Thr Pro Glu Cys Pro (序列辨識編號17)，其中Xaa1可為Lys或Gly，而Xaa2可為Glu、Gly或Ser。具體地，該鉸鏈可具有序列辨識編號3或序列辨識編號19之胺基酸序列，從而使蛋白生產過程期間截短型的產生最小化。

【0029】 在另一實施例中，該鉸鏈可含有下列序列

Ala Gln Pro Gln Ala Glu Gly Ser Leu Ala Lys Ala Thr Thr Ala Pro Ala Thr Thr Arg Asn Thr Gly Arg Gly Gly Glu Glu Lys Lys Xaa3 Xaa4 Lys Glu Lys Glu Glu Gln Glu Glu Arg Glu Thr Lys Thr Pro Glu Cys Pro (序列辨識編號18)，其中Xaa3可為Lys或Gly，而Xaa4可為Glu、Gly或Ser。具體地，該鉸鏈可具有序列辨識編號4之胺基酸序列，從而使蛋白生產過程期間截短型的產生最小化。

【0030】 特別是，在具有序列辨識編號4之鉸鏈中，

至少一個Thr可為糖基化的。具體地，在序列辨識編號18之胺基酸中，第13個、第14個、第18個或第19個Thr可為糖基化的。較佳地，全部四個胺基酸均為糖基化的。在此，糖基化可為O糖基化的。

【0031】 此外，如上所述，本發明所提供之多肽二聚體可為其中二個單體彼此結合且各單體可通過IgE Fc受體之α次單元之胞外區域與經修飾的Fc區之間的結合而獲得之形式。該多肽二聚體可為其中相同的二個單體彼此通過位在鉸鏈處之半胱胺酸結合之形式。此外，該多肽二聚體可為其中二個不同的單體彼此結合之形式。例如，在該二個單體彼此不同之情況下，該多肽二聚體可為其中一個單體含有IgE Fc受體之α次單元的胞外區域，而另一個含有IgE Fc受體之α次單元的胞外區域之片段之形式。在此，該單體之實施例可具有序列辨識編號20、序列辨識編號21或序列辨識編號22之胺基酸序列。

【0032】 此外，本發明所提供之多肽二聚體表現出比奧馬珠單抗，一種抗IgE抗體，高10至100倍、20至90倍、20至70倍、30至70倍或40至70倍之IgE結合能力，較佳地表現出比奧馬珠單抗高70倍之IgE結合能力。

【0033】 此外，在本說明書中，術語"過敏性疾病"意指由肥大細胞活化作用，如肥大細胞去顆粒反應介導之過敏反應引起的病理症狀。此過敏性疾病包括食物過敏、異位性皮膚炎、氣喘、過敏性鼻炎、過敏性結膜炎、過敏性皮膚炎、過敏性接觸性皮膚炎、全身性過敏反應、蕁麻疹、

瘙癢症、昆蟲過敏、慢性自發性蕁麻疹、藥物過敏等等。特別是，該過敏性疾病可為IgE介導的。

【0034】 在本發明之用於治療或預防過敏性疾病之組成物中，可視用途、配方、摻合目的等等而包含任何數量的活性成份(有效量)，只要該活性成份可表現出抗過敏活性即可。以該組成物之重量計，該活性成份一般的有效量測定在0.001重量%至20.0重量%之範圍內。在此，"有效量"意指活性成份能夠誘導抗過敏作用之數量。此一有效量可由熟悉此技術領域之人士實驗決定。

【0035】 在此，該藥學組成物可進一步含有一藥學上可接受之載劑。對於該藥學上可接受之載劑，可使用任何載劑，只要該載劑為適合遞送給病患之無毒物質即可。可包含蒸餾水、酒精、脂肪、蠟及惰性固體作為載劑。在該藥學組成物中亦可包含藥學上可接受之佐劑(緩衝劑及分散劑)。

【0036】 具體地，除了活性成份外，本發明之藥學組成物亦含有一藥學上可接受之載劑，且可視投藥途徑，以此技術領域中已知之慣用方法製成口服或非口服配方。在此，術語"藥學上可接受"意指具有不超過施用(處方)的受試者可接受之毒性且不會抑制活性成份之活性。

【0037】 在本發明之藥學組成物是製成口服配方之情況，可依照此技術領域中已知之方法，將該藥學組成物與適合的載劑配在一起製成如粉劑、顆粒、錠劑、丸劑、糖衣錠、膠囊、液體、凝膠、糖漿、懸浮液及薄片之配方。

在此，適合的藥學上可接受之載劑的例子可包括糖類，如乳糖、葡萄糖、蔗糖、右旋糖、山梨糖醇、甘露糖及木糖醇；澱粉類，如玉米澱粉、馬鈴薯澱粉及小麥澱粉；纖維素類，如纖維素、甲基纖維素、乙基纖維素、羧甲基纖維素鈉及羥丙基甲基纖維素；聚乙烯吡咯烷酮、水、羥基苯甲酸甲酯、羥基苯甲酸丙酯、硬脂酸鎂、礦物油、麥芽、明膠、滑石、多元醇、植物油等等。在製成製劑之情況，必要時，該製劑可透過包括稀釋劑和/或賦形劑，如填料、增量劑、粘合劑、潤濕劑、崩解劑及界面活性劑進行。

【0038】 在本發明之藥學組成物是製成非口服配方之情況，可依照此技術領域已知之方法，將該藥學組成物與適合的載劑一起製成注射劑、穿皮藥物、鼻吸入劑及栓劑形式之製劑。在製成注射劑之情況，可使用無菌水、乙醇、多元醇，如甘油及丙二醇，或其混合物作為適合的載劑。至於該載劑，較佳地可使用等張溶液，如林格氏溶液、含三乙醇胺之磷酸鹽緩衝食鹽水(PBS)、注射用無菌水及5%右旋糖等等。

【0039】 該藥學組成物之製備是此技術領域已知的，具體地可參考Remington's Pharmaceutical Sciences (第19版，1995)等等。該文獻視為本發明之一部分。

【0040】 本發明之藥學組成物的較佳每日劑量範圍從0.01ug/kg至10g/kg，較佳地從0.01mg/kg至1g/kg，取決於患者的病況、體重、性別、年齡、疾病嚴重性或投藥途徑。一天可投藥一次或數次。此一劑量決不應被解釋為

本發明之範圍的限制。

【0041】 本發明之組成物可施用(處方)之受試者為哺乳動物及人，人是最適合的。除了該活性成份外，本發明之用於抗過敏的組成物可進一步包含安全性已經過認證且已知具有抗過敏活性之任何的化合物或天然萃出物，目的用於提升及強化抗過敏活性。

【0042】 在本發明之另一態樣中，提供一種用於改善及緩解過敏症狀之食品組成物，其包含該多肽二聚體作為活性成份。

【0043】 在此，該多肽二聚體可結合至適當的遞送單元，供有效的遞送至腸子。本發明之食品組成物可製成任何形式，例如可製成飲料形式，如茶、果汁、碳酸飲料及離子飲料、加工乳製品，如牛奶及優格、保健功能性食品製劑，如錠劑、膠囊、丸劑、顆粒、液體、粉末、薄片、糊劑、糖漿、凝膠、膠凍及棒等等。此外，本發明之食品組成物可歸在任何合法的產品類別或功能分類，只要該食品組成物在製造及分銷時符合執法規定即可。例如，該食品組成物可為根據保健功能食品法之保健功能性食品，或屬於根據食品衛生法之食品法典(食品藥品管理局通報的食品標準和規範)中的每種食品類型之糖果甜點、豆類、茶、飲料、特殊用途食品等。至於其它可包含在本發明之食品組成物中之食品添加物，可參考根據食品衛生法之食品法典或食品添加物法典。

【0044】 在本發明之又另一態樣中，提供一種編碼一

單體之多核苷酸，其含有與一經修飾的Fc區結合之IgE Fc受體之α次單元的胞外區域。

【0045】 同時，該多核苷酸可額外地含有一訊息序列或一前導序列。本文中所使用之術語"訊息序列"意指編碼能指導目標蛋白的分泌之訊息肽的核苷酸。該訊息肽在宿主細胞中轉譯，然後切割。具體地，本發明之訊息序列是編碼能起動橫跨內質網(ER)膜之蛋白轉位的胺基酸序列之核苷酸。本發明之有用的訊息序列包括抗體輕鏈訊息序列，例如，抗體14.18 (Gillies et al., J. Immunol. Meth 1989. 125:191-202)、抗體重鏈訊息序列，例如MOPC141抗體重鏈訊息序列(Sakano et al., Nature, 1980. 286:676-683)及其它此技術領域中已知的訊息序列(見，列如，Watson et al., Nucleic Acid Research, 1984. 12:5145-5164)。

【0046】 訊息序列之特徵是此技術領域熟知的。訊息序列典型地含有16至30個胺基酸殘基，且可含更多或更少的胺基酸殘基。典型的訊息肽由三個區構成，其等為鹼性N端區、中央疏水區及極性較高的C端區。中央疏水區含有4至12個疏水性殘基，其在未成熟的多肽轉位期間固定訊息序列通過膜脂質雙層。

【0047】 起動之後，訊息序列會在內質網內腔中被稱作訊息肽酶之細胞酵素切斷。在此，訊息序列可為組織纖維蛋白溶解酶原活化因子(tPA)、單純皰疹病毒糖蛋白D (HSV gD)或生長激素之分泌訊息序列。較佳地，可使用

高等真核細胞，包括哺乳動物等等使用之分泌訊息序列。此外，可以用在宿主細胞中具有高表現頻率之密碼子取代該分泌訊息序列，並使用之。

【0048】 同時，訊息序列及經修飾的Fc區結合的IgE Fc受體之α次單元的胞外區域單體，可具有序列辨識編號11或序列辨識編號13之胺基酸序列。序列辨識編號11及序列辨識編號13之蛋白，可分別由具有序列辨識編號12及序列辨識編號14之序列之多核苷酸編碼。

【0049】 在本發明之又另一態樣中，提供一種加載編碼該單體之多核苷酸之表現載體。在此，該多核苷酸可具有序列辨識編號12或序列辨識編號14之序列。

【0050】 本文中所使用之術語"載體"，旨在被引入宿主細胞中且能夠與宿主細胞基因組重組並插入其中。選擇性地，載體是一種游離基因組，且被理解為含有可自動複製之核苷酸序列的核酸單元。載體包括線性核酸、質體、噬菌粒(phagemids)、黏接質體、RNA載體、病毒載體及其類似物。病毒載體之例子包括，但不限於，逆轉錄病毒、腺病毒及腺相關病毒。此外，質體可含一選擇性標記，如抗生素抗性基因，因此可在選擇性條件下培養攜帶該質體之宿主細胞。

【0051】 本文中所使用之術語目標蛋白之"基因表現"或"表現"，應理解為意指DNA序列之轉錄、mRNA轉錄本之轉譯及融合蛋白產物或其片段之分泌。可用的表現載體可為RcCMV (Invitrogen, Carlsbad)或其變體。表現載體

可含有用於促進哺乳動物細胞中之目標基因的連續轉錄之人類巨大細胞病毒(CMV)啟動子，及用於增加轉錄後RNA之安定性位準之牛生長激素多腺苷酸化訊息序列。

【0052】 在本發明之又另一態樣中，提供一種其中引入了表現載體之宿主細胞。本文中所使用之術語"宿主細胞"意指可於其中引入重組表現載體之原核或真核細胞。本文中所使用之術語"轉導"、"轉型"及"轉染"，意指使用此技術領域中已知的技術，將核酸(例如，載體)引入細胞中。

【0053】 可用於本發明之較佳的宿主細胞包括永生融合瘤細胞、NS/0骨髓瘤細胞、293細胞、中國倉鼠卵巢細胞(CHO細胞)、HeLa細胞、人羊水來源細胞(CapT細胞)或COS細胞。較佳地，該宿主細胞可為CHO細胞。另一方面，該宿主細胞可為一種其中引入了該載體及加載唾液酸轉移酶基因之載體之宿主細胞。在此，該唾液酸轉移酶可為2,3-唾液酸轉移酶或2,6-唾液酸轉移酶。在此，該2,6-唾液酸轉移酶可具有序列辨識編號15之胺基酸序列。

【0054】 在本發明之又另一態樣中，提供一種用於治療或預防過敏性疾病之藥學組成物，其包含一多肽二聚體作為活性成份，該多肽二聚體含有二個單體，其各含有IgE Fc受體之α次單元的胞外區域(FcεRIa-ECD)，該多肽二聚體是通過下列獲得：1)培養其中引入了編碼多肽單體之多核苷酸及涎液酸轉移酶基因之細胞之步驟；及2)回收多肽二聚體之步驟。

【0055】 在本發明之又另一態樣中，提供一種用於改

善或緩解過敏症狀之食品組成物，其包含由上文所述用於產生二聚體之方法產生的多肽二聚體作為活性成份。

【0056】 在本發明之又另一態樣中，提供一種用於治療或預防過敏性疾病之方法，其包含對一受試者投與含有二個單體之多肽二聚體之步驟，各單體含有IgE Fc受體之α次單元的胞外區域(FcεRIa-ECD)。

【0057】 該受試者可為哺乳動物，較佳地人。在此，投藥可以口服或非口服方式達成。在此，非口服投與可通過如皮下投與、靜脈投與、黏膜投與及肌肉投與之方法進行。

【0058】 於下文中，將參考下列範例詳細說明本發明。然而，下列範例僅旨在說明本發明，本發明之範疇不是只受其限制。

範例1，含FcεRIα-ECD及經修飾的Fc區之多肽的製備

【0059】 IgE Fc受體之α次單元的胞外區域(FcεRIα-ECD)之C端經修飾的多肽係依照美國專利案第7,867,491號中所揭示之方法製備。

【0060】 首先，為了表現蛋白(FcεRIαECD-Fc1)、蛋白(FcεRIαECD-Fc2)及蛋白(FcεR1αECD-Fc3)，其中具有序列辨識編號1之胺基酸序列之FcεRI的α鏈之胞外區域及序列辨識編號2之經修飾的免疫球蛋白Fc係分別透過序列辨識編號19之鉸鏈、序列辨識編號3之鉸鏈及序列辨識編號4之絞鏈連接，將連接編碼各蛋白之基因所獲得的盒

選殖進入pAD15載體(Genexin, Inc.)中，建構FcεRIαECD-Fc蛋白表現載體。之後，將各表現載體轉染進入CHO DG44細胞(來自Dr. Chasin, Columbia University, USA)中。

【0061】 在此，在轉染進入細胞株之時，同時將通過選殖α-2,6-唾液酸轉移酶基因進入pCI Hygro載體(Invitrogen)所獲得之表現載體，轉染進入分開準備之能夠表現FcεRIαECD-Fc2ST及FcεRIαECD-Fc3ST蛋白(其中加入唾液酸)的細胞株中。

【0062】 使用5-羥色胺(HT)-無10% dFBS培養基(Gibco, USA, 30067-334)、MEMα培養基(Gibco, 12561, USA, Cat No. 12561-049)及HT+培養基(Gibco, USA, 11067-030)進行HT選擇，作為主要篩選程序。之後，使用HT選擇的選殖株進行胺甲喋呤(MTX)擴增，以便放大使用二氫葉酸還原酶(DHFR)系統之產率。

【0063】 在MTX擴增完成後，進行繼代培養約1至5次 以穩定細胞，供產率之評估。之後，進行MTX擴增的細胞之單位產率的評估。結果顯示於下表1中。

[表1]

版本	培養基	MTX濃度	產率		
			培養3天		批次培養(mg/ml)
			ug/mL	ug/10^6細胞	
FcεRIαECD-Fc2	Ex-cellDHFR	500nM	37.23	20.9	225
FcεRIαECD-Fc2 + a2,6-ST		100nM	45.4	25.1	338.2
FcεRIαECD-Fc3		2uM	27.0	16.9	180.4
FcεRIαECD-Fc3 + a2,6-ST		1uM	17.5	10.2	101.7

【0064】 如表1所示，FcεRIαECD-Fc3細胞株在2uM胺甲喋呤擴增後，表現出16.9ug/10^6個細胞之產率。另一方面，與2,6-唾液酸轉移酶共轉染之FcεRIαECD-Fc3細胞株(FcεRIαECD-Fc3ST)，在1uM胺甲喋呤擴增後，表現出17.5ug/10^6個細胞之產率。此外，FcεRIαECD-Fc2細胞株在0.5uM胺甲喋呤擴增下表現出20.9ug/10^6個細胞之產率。此外，與2,6-唾液酸轉移酶共轉染之FcεRIαECD-Fc2細胞株(FcεRIαECD-Fc2ST)，在1uM胺甲喋呤擴增後，表現出25.1ug/10^6個細胞之產率。即，確定了與2,6-唾液酸轉移酶共轉染之FcεRIαECD-Fc2細胞株，其已經過在1uM胺甲喋呤擴增條件下之選擇，表現出最好的產率。

範例2，FcεRIαECD融合蛋白之純化及其純度之鑑定

【0065】 針對以上範例1中選擇的細胞株，利用批次培養方法，以60ml的規模培養i) FcεRIαECD-Fc3、ii) FcεRIαECD-Fc3ST及iii) FcεRIαECD-Fc2ST。使用蛋白A親和性管柱純化所產生的培養物，然後對純化的蛋白進行SDS-PAGE及粒徑篩析HPLC (SE-HPLC)之處理，以鑑定蛋白之純度。

【0066】 如圖1所示，所有各別通過SE-HPLC方法純化之蛋白經鑑定均具有93%或更高之純度。此外，根據SDS-PAGE分析之結果，確定檢測到具有約150kDa及約75kDa大小之蛋白(圖1，第1至6道)。從這裡發現，Fc結合FcεRIαECD形成二聚體。此外，在SDS-PAGE結果中沒有觀察到諸如截短型的雜質。特別是，即使在解凍/冷凍之

製程後(圖1，第7至8道)，全部的蛋白經鑑定均具有93%或更高的純度且沒有雜質。從這裡發現，相對於使用野生型IgD鉸鏈之FcεRIαECD-Fc1，截短蛋白型之產量減少。

【0067】 在此，在下列測試條件下進行Gel-IEF，以鑑定在引入唾液酸轉移酶後的蛋白中唾液酸含量之程度。從這裡確定了酸性蛋白之含量由於唾液酸含量之增加而增加。

[表2]

測試條件	
凝膠	pH3-10 IEF 凝膠 1.0mm
樣本緩衝液	IEF 樣本緩衝液(2X)
裝載條件	100 V 1 小時、200 V 1 小時、500 V 2 小時

【0068】 為了確定純化產率之再現性，將FcεRIαECD-Fc2ST細胞株以250ml之規模批次培養於1L燒瓶中，然後使用蛋白A親和性管柱純化。之後，使培養上清液及純化的產物在4%至15% TGX™凝膠(Bio-Rad Laboratories, Inc.)上，於Tris-甘胺酸SDS (TGS)緩衝液及200V條件下電泳30分鐘，然後進行SDS PAGE分析之處理。結果確定了不僅純化出具有非常高純度(98%或更高)的蛋白(即使僅通過第一步驟之純化)，且在培養上清液中亦表現出非常高純度的蛋白。此指出，在開發已經於所討論的細胞系中表現之FcεRIαECD-Fc蛋白成為醫療產品時，可簡化製程開發步驟，因此，極有可能顯著降低醫療產品的開發成本。

範例3，FcεRIαECD融合蛋白之IgE結合能力的鑑定

【0069】 比較測量下列四種蛋白及市售抗IgE抗體，

奧馬珠單抗(商品名：Xolair)之IgE結合能力：i) FcεRIαECD-Fc2、ii) FcεRIαECD-Fc2ST、iii) FcεRIαECD-Fc3及iv) FcεRIαECD-Fc3ST，其等已經過以上範例2中之方法純化。具體地，將IgE塗佈在蛋白GLC感測晶片(Bio-Rad Laboratories, Inc., Cat # 176-5011)之管道上，然後使奧馬珠單抗或不同濃度之各個FcεR1αECD-Fc蛋白以30μl/分之速率流過以測量IgE之結合能力。

【0070】 實驗之進行是使用25mM NaOH作為再生緩衝液，確定零基線，然後重複以上步驟。之後，使用蛋白結合分析器(ProteOn XPR36, Bio-Rad Laboratories, Inc., USA)確定結合曲線。結果示於表3及圖3與4中。

[表3]

樣本項目		FcεRIa ECD-Fc		奧馬珠單抗	標記
藥物類型		Fc 融合蛋白		抗 IgE Ab	
結合親和力	ka(結合速率)	Fc2	2.14×10^{5}	4.05×10^{5}	比奧馬珠單抗弱 1.9 倍
		Fc2ST	2.64×10^{5}		比奧馬珠單抗弱 1.5 倍
		Fc3	1.98×10^{5}		比奧馬珠單抗弱 2.0 倍
		Fc3ST	2.40×10^{5}		比奧馬珠單抗弱 1.7 倍
	kd(解離速率)	Fc2	8.29×10^{-5}	6.02×10^{-3}	比奧馬珠單抗高 73 倍
		Fc2ST	5.69×10^{-5}		比奧馬珠單抗高 106 倍
		Fc3	1.33×10^{-4}		比奧馬珠單抗高 45 倍
		Fc3ST	1.49×10^{-4}		比奧馬珠單抗高 40 倍
	KD (kd/ka)	Fc2	3.88×10^{-10}	1.49×10^{-8}	比奧馬珠單抗高 38 倍

		Fc2ST	2.16×10^{-10}		比奧馬珠單抗高 69 倍
		Fc3	6.72×10^{-10}		比奧馬珠單抗高 22 倍
		Fc3ST	6.21×10^{-10}		比奧馬珠單抗高 24 倍

【0071】 如表3所示，根據本發明之一實施例之多肽二聚體測得之結合速率(ka)值比奧馬珠單抗低1.5至2.0倍。即，發現其對IgE以外的物質之結合能力比奧馬珠單抗低1.5至2.0倍。此外，根據本發明之一實施例之多肽二聚體測得之解離速率(kd)值比奧馬珠單抗高40至106倍。此外，如圖3及4所示，能夠確定奧馬珠單抗在結合後經過一段時間之情況下會喪失其對IgE之結合，然而本發明之FcεRIαECD融合蛋白之多肽二聚體一旦結合至IgE，該多肽二聚體不會與IgE分開。

【0072】 即，可看出本發明之多肽二聚體不容易和IgE分開，且維持其結合狀態的能力比奧馬珠單抗好很多。結果可看出根據本發明之一實施例之多肽二聚體具有比奧馬珠單抗高22至69倍之平衡解離常數(KD <kd/ka>)值。從這裡可確定，相較於奧馬珠單抗，本發明之FcεRIαECD融合蛋白之IgE結合能力顯著的增加。特別是可確定其中添加溼液酸之FcεRIαECD-Fc2(FcεRIαECD-Fc2ST)表現出最高的IgE結合能力，其比奧馬珠單抗高69倍。

範例4，FcεRIαECD融合蛋白之IgG受體結合能力的鑑定

【0073】 使用Octet RED384系統(ForteBio, CA,

USA)鑑定IgE_{TRAP}及奧馬珠單抗之IgG受體結合程度。將FcγRI、FcγRIIA、FcγRIIB、FcγRIIIA及FcγRIIIB重組蛋白(R & D Systems Inc., 5 μ g/ml)固定在300mM醋酸鹽緩衝液(pH5)下之激活AR2G生物感測器上。使用含有0.1% Tween-20及1%牛血清之PBS作為電泳緩衝液。所有的實驗在30℃下，以1,000rpm速率之樣本盤振盪器進行。結果示於圖5A至5E中，定量奧馬珠單抗及IgE_{TRAP}之IgG受體結合能力，並示於圖6中。

範例5，透過β-己糖胺酶分析法，鑑定FcεRIαECD 融合蛋白在小鼠骨髓來源肥大細胞中之活性

【0074】 進行β-己糖胺酶分析來分析本發明之FcεRIαECD融合蛋白的體外活性。具體地，將各個濃度之根據本發明之一實施例之FcεRIαECD-Fc2融合蛋白與小鼠IgE (1ug/mL)混合，於室溫下(20℃)培育30分鐘，製備樣本。用Hank平衡鹽溶液(HBSS)緩衝液清洗培養供肥大細胞活化之小鼠骨髓來源肥大細胞，除去培養基，然後測量細胞數目。之後，調整細胞數目，以便以5×10^5個細胞之數目注入40μL之HBSS緩衝液中。

【0075】 之後，將50uL通過預培育製得的樣本溶液加至活化的肥大細胞中。然後，令產物在5% CO_2、37℃培育箱中培育30分鐘。各添加10μ L外來抗原DNP (2,4-二硝基苯，100ng/mL)後，再次於5% CO_2、37℃下培育30分鐘，然後分開30μ L的上清液。使30uL分開的上清液與30uL基質(4-硝基苯N-乙醯基-β -D-葡萄糖苷，5.84mM)

充分混合， 然後於5% CO_2、37℃下培育20分鐘。之後，添加140μ L作為終止溶液之0.1M碳酸鈉緩衝液(pH10)，終止該反應。之後，測量在405nm下之吸收度，以鑑定活化的肥大細胞中因外來抗原而分泌的β -己糖胺酶之分泌量。結果示於圖7中。

【0076】 如圖7所示，本發明之一實施例之多肽二聚體在一半濃度的小鼠IgE (0.5ug/mL)之情況下表現出約49.4%的肥大細胞抑制率，及在具有相同濃度的小鼠IgE (1ug/mL)之情況下表現出約99.4%的肥大細胞抑制率。即，可看出IgE誘導骨髓來源肥大細胞之活性大幅地受到本發明之FceRIa-ECD多肽二聚體的抑制。

範例6，使用β -己糖胺酶分析法，比較FcεRIαECD融合蛋白與抗人IgE抗體在FcεRI骨髓來源肥大細胞中之活性

【0077】 進行β -己糖胺酶分析法，透過體外活性分析確定FcεRIαECD融合蛋白相對於Xolair之優勢。製備各別藥物，FcεRIαECD-Fc2ST (IgETRAP)及Xolair之各個濃度，然後與人IgE (1ug/mL)混合。之後，在室溫下培育30分鐘。在藥物之預培育期間，引入人FcεRI基因及製備從小鼠骨髓衍生及分化而來之肥大細胞(其中已移除小鼠FcεRI基因)。用HBSS緩衝液清洗製得的肥大細胞，然後將5×10^5個細胞注入60μ L之HBSS緩衝液中。於製得的肥大細胞中添加20μ L之預培育的樣本，然後在5% CO_2、37℃培育箱中培育30分鐘。

【0078】隨後，在添加20uL之抗人IgE抗體(BioLegend, Cat No. 325502, 0.5 ug/mL)後，再次於5% CO_2、37℃培育箱中培育產物30分鐘。之後，在1,500rpm、4℃下離心後，分開30uL之上清液。使30uL分開的上清液與30uL基質(4-硝基苯N-乙醯基-β -葡萄糖苷，5.84mM)充分混合，然後於5% CO_2、37℃培育箱中培育25分鐘。之後，添加140uL之0.1M碳酸鈉緩衝液(pH 10)結束反應。

【0079】之後，測量在405nm下之吸收度，比較分泌的β-己糖胺酶之相對量，並確定依各藥物濃度之肥大細胞的抑制作用。結果示於圖8中。如圖8所示，FcεRIαECD融合蛋白之IC_{50}經測量大約為11.16ng/mL，而Xolair蛋白之IC_{50}經測量大約為649.8ng/mL。因此，確定了FcεRIαECD融合蛋白在肥大細胞活性上之抑制能力比Xolair大58倍。

範例7，FcεRIαECD融合蛋白之活體內分析(食物過敏模型)

【0080】以14天的間隔，經腹腔對Balb/c小鼠(Orientbio Inc.)投與50ug之卵白蛋白(OVA)及1mg之氫氧化鋁二次，用以誘發致敏。之後，在第28、30、32、34及36天經口投與50mg的OVA五次，用以誘發腸道食物過敏。

【0081】在經口投與OVA二次後，即在第31天，將小鼠分成三群，各有7隻小鼠。被分開的三群如下：第一群接受高濃度(200ug)之FcεRIαECD-Fc2ST融合蛋白，第二

群接受低濃度(20ug)之FcεRIαECD-Fc2ST融合蛋白，而第三群沒有接受任何東西。在經口投與OVA的同時，鑑定是否因食物過敏誘導而發生腹瀉。在第37天犧牲小鼠，分析各群之小鼠的小腸中肥大細胞的數目、血液中IgE濃度及血液中肥大細胞去顆粒產生的酵素(肥大細胞蛋白酶-1(MCPT-1))之濃度。

【0082】 如圖9所示，相較於屬於沒有接受任何東西之小鼠群，確定了接受高濃度FcεRIαECD-Fc2ST (其是多肽二聚體)之小鼠群，表現出呈濃度依賴性方式緩和食物過敏。

【0083】

序列辨識編號 1

VPQKPKVSLN PPWNRIFKGE NVTLTCNGNN FEVSSTKWF
HNGSLSEETN SSLNIVNAKFEDSGEYKCQH QQVNESEPVY
LEVFSDWLLL QASAEVVMEG QPLFLRCHGW
RNWDVYKVIY
YKDGEALKYW YENHNISITN ATVEDSGTYY
CTGKVWQLDY ESEPLNITVI KAPREKYWLQ

序列辨識編號 2

SHTQPLGVFL FPPKPKDTLM ISRTPEVTCV VVDVSQEDPE
VQFNWYVDGV EVHNAKTKPR
EEQFNSTYRV VSVLTVLHQD WLNGKEYKCK
VSNKGLPSSI EKTISKAKGQ PREPQVYTLP
PSQEEMTKNQ VSLTCLVKGF YPSDIAVEWE
SNGQPENNYK TTPPVLDSDG SFFLYSRLTV
DKSRWQEGNV FSCSVMHEAL HNHYTQKSLS LSLGK

序列辨識編號 3

RNTGRGGEEK KGSKEKEEQE ERETKTPECP

序列辨識編號 4

AQPQAEGSLA KATTAPATTR NTGRGGEEKK GSKEKEEQEE RETKTPECP

序列辨識編號 5

gtgccccaga agcccaaggt gagcctgaac cctccctgga acagaatctt caagggcgag

aacgtgaccc tgacctgcaa cggcaacaac ttcttcgagg tgagcagcac caagtggttc

cacaatggca gcctgagcga ggagaccaac agctccctga acatcgtgaa cgccaagttc

gaggacagcg gcgagtacaa gtgccagcac cagcaggtga acgagagcga gcccgtgtac

ctggaggtgt tcagcgactg gctgctgctg caggccagcg ccgaggtggt gatggagggc

cagcccctgt tcctgagatg ccacggctgg agaaactggg acgtgtacaa ggtgatctac

tacaaggatg gcgaggccct gaagtactgg tacgagaacc acaacatctc catcaccaac

gccaccgtgg aggacagcgg cacctactac tgcacaggca aggtgtggca gctggactac

gagagcgagc ccctgaacat caccgtgatc aaggctccca gagagaagta ctggctgcag

序列辨識編號 6

tgcgtggtcg tggatgtgag ccaggaagat cccgaagtgc agttcaactg gtacgtggat

ggcgtggaag tgcacaacgc caagaccaag cccagagaag agcagttcaa ctccacctac

agagtggtga gcgtgctgac cgtgctgcac caggactggc tgaacggcaa ggagtacaag

tgcaaggtgt ccaacaaagg cctgcccagc tccatcgaga agaccatcag caaagccaaa

ggccagccca gagaacccca ggtgtacacc ctgcctccca gccaggaaga gatgaccaag

aaccaggtgt ccctgacctg cctggtgaaa ggcttctacc ccagcgacat cgccgtggag

tgggaaagca acggccagcc cgagaacaat tacaagacaa cccctcccgt gctggatagc

gatggcagct tctttctgta cagcagactg accgtggaca agagcagatg gcaggaaggc

aacgtgttca gctgcagcgt gatgcacgaa gccctgcaca accactacac ccagaagagc

ctgtccctga gcctgggcaa g

序列辨識編號 7

aggaacaccg gcagaggagg cgaggaaaag aaaggaagca aggagaagga ggagcaggag

gaaagagaaa ccaagacccc cgagtgcccc agccacaccc agcccctggg cgtgttcctg

ttcccccca agcccaagga caccctgatg atcagcagaa cccccgaggt gacc

序列辨識編號 8

gcccagcccc aggccgaggg cagcctggct aaggccacca cagctcccgc caccaccagg

aacaccggca gaggaggcga ggaaaagaaa ggaagcaagg agaaggagga gcaggaggaa

agagaaacca agacccccga gtgccccagc cacacccagc ccctgggcgt gttcctgttc

ccccccaagc ccaaggacac cctgatgatc agcagaaccc ccgaggtgac c

序列辨識編號 9

MDAMLRGLCC VLLLCGAVFV SPSHA

序列辨識編號 10

atggacgcca tgctgagagg cctgtgctgt gtgctgctgc tgtgcggcgc cgtgttcgtg

tcccctagcc acgcc

序列辨識編號 11

MDAMLRGLCC VLLLCGAVFV SPSHAVPQKP

KVSLNPPWNR IFKGENVTLT CNGNNFFEVS

STKWFHNGSL SEETNSSLNI VNAKFEDSGE YKCQHQQVNE

SEPVYLEVFS DWLLLQASAE

VVMEGQPLFL RCHGWRNWDV YKVIYYKDGE

ALKYWYENHN ISITNATVED SGTYYCTGKV

WQLDYESEPL NITVIKAPRE KYWLQRNTGR

GGEEKKGSKE KEEQEERETK TPECPSHTQP

LGVFLFPPKP KDTLMISRTP EVTCVVVDVS QEDPEVQFNW

YVDGVEVHNA KTKPREEQFN

STYRVVSVLT VLHQDWLNGK EYKCKVSNKG LPSSIEKTIS

KAKGQPREPQ VYTLPPSQEE

MTKNQVSLTC LVKGFYPSDI AVEWESNGQP

ENNYKTTPPV LDSDGSFFLY SRLTVDKSRW

QEGNVFSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSLGK

序列辨識編號 12

atggacgcca tgctgagagg cctgtgctgt gtgctgctgc tgtgcggcgc cgtgttcgtg

tcccctagcc acgccgtgcc ccagaagccc aaggtgagcc tgaaccctcc ctggaacaga

atcttcaagg gcgagaacgt gaccctgacc tgcaacggca acaacttctt cgaggtgagc

agcaccaagt ggttccacaa tggcagcctg agcgaggaga ccaacagctc cctgaacatc

gtgaacgcca agttcgagga cagcggcgag tacaagtgcc agcaccagca ggtgaacgag

agcgagcccg tgtacctgga ggtgttcagc gactggctgc tgctgcaggc cagcgccgag

gtggtgatgg agggccagcc cctgttcctg agatgccacg gctggagaaa ctgggacgtg

tacaaggtga tctactacaa ggatggcgag gccctgaagt actggtacga gaaccacaac

atctccatca ccaacgccac cgtggaggac agcggcacct actactgcac aggcaaggtg

tggcagctgg actacgagag cgagcccctg aacatcaccg tgatcaaggc tcccagagag

aagtactggc tgcagaggaa caccggcaga ggaggcgagg aaaagaaagg aagcaaggag

aaggaggagc aggaggaaag agaaaccaag acccccgagt gccccagcca cacccagccc

ctgggcgtgt tcctgttccc ccccaagccc aaggacaccc tgatgatcag cagaacccccc

gaggtgacct gcgtggtcgt ggatgtgagc caggaagatc ccgaagtgca gttcaactgg

tacgtggatg gcgtggaagt gcacaacgcc aagaccaagc ccagagaaga gcagttcaac

tccacctaca gagtggtgag cgtgctgacc gtgctgcacc aggactggct gaacggcaag

gagtacaagt gcaaggtgtc caacaaaggc ctgcccagct ccatcgagaa gaccatcagc

aaagccaaag gccagcccag agaaccccag gtgtacaccc tgcctcccag ccaggaagag

atgaccaaga accaggtgtc cctgacctgc ctggtgaaag gcttctaccc cagcgacatc

gccgtggagt gggaaagcaa cggccagccc gagaacaatt acaagacaac ccctcccgtg

ctggatagcg atggcagctt ctttctgtac agcagactga ccgtggacaa gagcagatgg

caggaaggca acgtgttcag ctgcagcgtg atgcacgaag ccctgcacaa ccactacacc

cagaagagcc tgtccctgag cctgggcaag

序列辨識編號 13

MDAMLRGLCC VLLLCGAVFV SPSHAVPQKP

KVSLNPPWNR IFKGENVTLT CNGNNFFEVS

STKWFHNGSL SEETNSSLNI VNAKFEDSGE YKCQHQQVNE

SEPVYLEVFS DWLLLQASAE

VVMEGQPLFL RCHGWRNWDV YKVIYYKDGE

ALKYWYENHN ISITNATVED SGTYYCTGKV

WQLDYESEPL NITVIKAPRE KYWLQAQPQA

EGSLAKATTA PATTRNTGRG GEEKKGSKEK

EEQEERETKT PECPSHTQPL GVFLFPPKPK DTLMISRTPE

VTCVVVDVSQ EDPEVQFNWY

VDGVEVHNAK TKPREEQFNS TYRVVSVLTV

LHQDWLNGKE YKCKVSNKGL PSSIEKTISK

AKGQPREPQV YTLPPSQEEM TKNQVSLTCL VKGFYPSDIA

VEWESNGQPE NNYKTTPPVL

DSDGSFFLYS RLTVDKSRWQ EGNVFSCSVM

HEALHNHYTQ KSLSLSLGK

序列辨識編號 14

atggacgcca tgctgagagg cctgtgctgt gtgctgctgc tgtgcggcgc

cgtgttcgtg

tcccctagcc acgccgtgcc ccagaagccc aaggtgagcc tgaaccctcc

ctggaacaga

atcttcaagg gcgagaacgt gaccctgacc tgcaacggca acaacttctt

cgaggtgagc

agcaccaagt ggttccacaa tggcagcctg agcgaggaga ccaacagctc

cctgaacatc

gtgaacgcca agttcgagga cagcggcgag tacaagtgcc agcaccagca

ggtgaacgag

agcgagcccg tgtacctgga ggtgttcagc gactggctgc tgctgcaggc

cagcgccgag

gtggtgatgg agggccagcc cctgttcctg agatgccacg gctggagaaa

ctgggacgtg

tacaaggtga tctactacaa ggatggcgag gccctgaagt actggtacga

gaaccacaac

atctccatca ccaacgccac cgtggaggac agcggcacct actactgcac

aggcaaggtg

tggcagctgg actacgagag cgagcccctg aacatcaccg tgatcaaggc

tcccagagag

aagtactggc tgcaggccca gccccaggcc gagggcagcc tggctaaggc

caccacagct

cccgccacca ccaggaacac cggcagagga ggcgaggaaa agaaaggaag

caaggagaag

gaggagcagg aggaaagaga aaccaagacc cccgagtgcc ccagccacac

ccagcccctg

ggcgtgttcc tgttcccccc caagcccaag gacaccctga tgatcagcag aacccccgag

gtgacctgcg tggtcgtgga tgtgagccag gaagatcccg aagtgcagtt caactggtac

gtggatggcg tggaagtgca caacgccaag accaagccca gagaagagca gttcaactcc

acctacagag tggtgagcgt gctgaccgtg ctgcaccagg actggctgaa cggcaaggag

tacaagtgca aggtgtccaa caaaggcctg cccagctcca tcgagaagac catcagcaaa

gccaaaggcc agcccagaga accccaggtg tacaccctgc ctcccagcca ggaagagatg

accaagaacc aggtgtccct gacctgcctg gtgaaaggct tctaccccag cgacatcgcc

gtggagtggg aaagcaacgg ccagcccgag aacaattaca agacaacccc tcccgtgctg

gatagcgatg gcagcttctt tctgtacagc agactgaccg tggacaagag cagatggcag

gaaggcaacg tgttcagctg cagcgtgatg cacgaagccc tgcacaacca ctacacccag

aagagcctgt ccctgagcct gggcaag

序列辨識編號 15

MIHTNLKKKF SCCVLVFLLF AVICVWKEKK KGSYYDSFKL QTKEFQVLKS LGKLAMGSDS

QSVSSSSTQD PHRGRQTLGS LRGLAKAKPE ASFQVWNKDS SSKNLIPRLQ KIWKNYLSMN

KYKVSYKGPG PGIKFSAEAL RCHLRDHVNV SMVEVTDFPF NTSEWEGYLP KESIRTKAGP

WGRCAVVSSA GSLKSSQLGR EIDDHDAVLR FNGAPTANFQ QDVGTKTTIR LMNSQLVTTE

KRFLKDSLYN EGILIVWDPS VYHSDIPKWY QNPDYNFFNN
YKTYRKLHPN QPFYILKPQM
PWELWDILQE ISPEEIQPNP PSSGMLGIII MMTLCDQVDI
YEFLPSKRKT DVCYYYQKFF
DSACTMGAYH PLLYEKNLVK HLNQGTDEDI
YLLGKATLPG FRTIHC

序列辨識編號 16

atgatccaca ccaacctgaa gaagaagttc agctgctgcg tgctggtgtt
cctgctgttc
gccgtgatct gcgtgtggaa ggagaagaag aaaggcagct actacgacag
cttcaagctg
cagaccaagg agttccaggt gctgaagagc ctgggcaagc tggccatggg
cagcgacagc
cagagcgtgt ccagctcctc cacccaggat ccccacagag gcagacagac
cctgggcagc
ctgagaggcc tggccaaggc caagcccgag gccagcttcc aggtgtggaa
caaggacagc
agcagcaaga acctgatccc cagactgcag aagatctgga agaactacct
gagcatgaac
aagtacaagg tgagctacaa aggacccgga cccggcatca agttcagcgc
cgaggccctg
aggtgccacc tgagagacca cgtgaacgtg agcatggtgg aagtgaccga
cttccccttc
aacaccagcg agtgggaagg ctacctgccc aaggagagca tcaggaccaa
ggctggcccc
tggggcagat gcgccgtggt gagcagcgct ggcagcctga agagctccca
gctgggcaga
gagatcgacg accacgatgc cgtgctgagg ttcaatggcg ctcccaccgc
caacttccag

caggacgtgg gcaccaagac cacaatccgg ctgatgaaca gccagctggt gacaaccgag

aagcggttcc tgaaggacag cctgtacaac gagggcatcc tgatcgtgtg ggatcccagc

gtgtaccaca gcgacatccc caagtggtac cagaatcccg actacaactt cttcaacaac

tacaagacct atagaaagct gcaccccaac cagcccttct acatcctgaa gccccagatg

ccctgggagc tgtgggacat cctgcaggag atcagccctg aagagatcca gcccaaccct

ccctccagcg gcatgctggg cattatcatc atgatgaccc tgtgcgacca ggtggacatc

tacgagttcc tgcccagcaa gagaaagacc gacgtgtgct actactatca gaagttcttc

gacagcgcct gcaccatggg cgcctaccac cccctgctgt acgagaagaa cctggtgaag

cacctgaacc agggcaccga cgaggacatc tacctgctgg gcaaagccac cctgcccggc

ttcagaacca tccactgc

序列辨識編號 17

RNTGRGGEEK KXXKEKEEQE ERETKTPECP

序列辨識編號 18

AQPQAEGSLA KATTAPATTR NTGRGGEEKK XXKEKEEQEE RETKTPECP

序列辨識編號 19

RNTGRGGEEK KKEKEKEEQE ERETKTPECP

序列辨識編號 20

VPQKPKVSLN PPWNRIFKGE NVTLTCNGNN FFEVSSTKWF
HNGSLSEETN SSLNIVNAKF
EDSGEYKCQH QQVNESEPVY LEVFSDWLLL
QASAEVVMEG QPLFLRCHGW RNWDVYKVIY
YKDGEALKYW YENHNISITN ATVEDSGTYY
CTGKVWQLDY ESEPLNITVI KAPREKYWLQ
RNTGRGGEEK KKEKEKEEQE ERETKTPECP SHTQPLGVFL
FPPKPKDTLM ISRTPEVTCV
VVDVSQEDPE VQFNWYVDGV EVHNAKTKPR
EEQFNSTYRV VSVLTVLHQD WLNGKEYKCK
VSNKGLPSSI EKTISKAKGQ PREPQVYTLP PSQEEMTKNQ
VSLTCLVKGF YPSDIAVEWE
SNGQPENNYK TTPPVLDSDG SFFLYSRLTV
DKSRWQEGNV FSCSVMHEAL HNHYTQKSLS
LSLGK

序列辨識編號 21

VPQKPKVSLN PPWNRIFKGE NVTLTCNGNN FFEVSSTKWF
HNGSLSEETN SSLNIVNAKF
EDSGEYKCQH QQVNESEPVY LEVFSDWLLL
QASAEVVMEG QPLFLRCHGW RNWDVYKVIY
YKDGEALKYW YENHNISITN ATVEDSGTYY
CTGKVWQLDY ESEPLNITVI KAPREKYWLQ
RNTGRGGEEK KGSKEKEEQE ERETKTPECP SHTQPLGVFL
FPPKPKDTLM ISRTPEVTCV
VVDVSQEDPE VQFNWYVDGV EVHNAKTKPR
EEQFNSTYRV VSVLTVLHQD WLNGKEYKCK
VSNKGLPSSI EKTISKAKGQ PREPQVYTLP PSQEEMTKNQ
VSLTCLVKGF YPSDIAVEWE
SNGQPENNYK TTPPVLDSDG SFFLYSRLTV
DKSRWQEGNV FSCSVMHEAL HNHYTQKSLS

LSLGK

序列辨識編號 22

VPQKPKVSLN PPWNRIFKGE NVTLTCNGNN FFEVSSTKWF

HNGSLSEETN SSLNIVNAKF

EDSGEYKCQH QQVNESEPVY LEVFSDWLLL

QASAEVVMEG QPLFLRCHGW RNWDVYKVIY

YKDGEALKYW YENHNISITN ATVEDSGTYY

CTGKVWQLDY ESEPLNITVI KAPREKYWLQ

AQPQAEGSLA KATTAPATTR NTGRGGEEKK

GSKEKEEQEE RETKTPECPS HTQPLGVFLF

PPKPKDTLMI SRTPEVTCVV VDVSQEDPEV

QFNWYVDGVE VHNAKTKPRE EQFNSTYRVV

SVLTVLHQDW LNGKEYKCKV SNKGLPSSIE KTISKAKGQP

REPQVYTLPP SQEEMTKNQV

SLTCLVKGFY PSDIAVEWES NGQPENNYKT TPPVLDSDGS

FFLYSRLTVD KSRWQEGNVF

SCSVMHEALH NHYTQKSLSL SLGK

<110> 南韓商普羅根有限公司 (PROGEN CO., LTD.)

<120> 包含IgE受體之重組型胞外區域的藥學組成物

<140> TW 108100731
<141> 2019-01-08

<150> KR 10-2018-0002262
<151> 2018-01-08

<160> 22

<170> KopatentIn 2.0

<210> 1
<211> 180
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> FCeRI1 ECD

<400> 1

Val Pro Gln Lys Pro Lys Val Ser Leu Asn Pro Pro Trp Asn Arg Ile
1 5 10 15

Phe Lys Gly Glu Asn Val Thr Leu Thr Cys Asn Gly Asn Asn Phe Phe
20 25 30

Glu Val Ser Ser Thr Lys Trp Phe His Asn Gly Ser Leu Ser Glu Glu
35 40 45

Thr Asn Ser Ser Leu Asn Ile Val Asn Ala Lys Phe Glu Asp Ser Gly
50 55 60

Glu Tyr Lys Cys Gln His Gln Gln Val Asn Glu Ser Glu Pro Val Tyr
65 70 75 80

Leu Glu Val Phe Ser Asp Trp Leu Leu Leu Gln Ala Ser Ala Glu Val
85 90 95

Val Met Glu Gly Gln Pro Leu Phe Leu Arg Cys His Gly Trp Arg Asn
100 105 110

Trp Asp Val Tyr Lys Val Ile Tyr Tyr Lys Asp Gly Glu Ala Leu Lys
115 120 125

Tyr Trp Tyr Glu Asn His Asn Ile Ser Ile Thr Asn Ala Thr Val Glu

130 135 140

Asp Ser Gly Thr Tyr Tyr Cys Thr Gly Lys Val Trp Gln Leu Asp Tyr
145 150 155 160

Glu Ser Glu Pro Leu Asn Ile Thr Val Ile Lys Ala Pro Arg Glu Lys
165 170 175

Tyr Trp Leu Gln
180

<210> 2
<211> 215
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 修飾的Fc

<400> 2
Ser His Thr Gln Pro Leu Gly Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
1 5 10 15

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
20 25 30

Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
35 40 45

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe
50 55 60

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
65 70 75 80

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
85 90 95

Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
100 105 110

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys
115 120 125

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
130 135 140

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys

145 150 155 160

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
165 170 175

Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser
180 185 190

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
195 200 205

Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
210 215

<210> 3
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IgD鉸鏈變體

<400> 3
Arg Asn Thr Gly Arg Gly Gly Glu Glu Lys Lys Gly Ser Lys Glu Lys
1 5 10 15

Glu Glu Gln Glu Glu Arg Glu Thr Lys Thr Pro Glu Cys Pro
20 25 30

<210> 4
<211> 49
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IgD鉸鏈變體

<400> 4
Ala Gln Pro Gln Ala Glu Gly Ser Leu Ala Lys Ala Thr Thr Ala Pro
1 5 10 15

Ala Thr Thr Arg Asn Thr Gly Arg Gly Gly Glu Glu Lys Lys Gly Ser
20 25 30

Lys Glu Lys Glu Glu Gln Glu Glu Arg Glu Thr Lys Thr Pro Glu Cys
35 40 45

Pro

<210> 5
<211> 540
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> FCeRI1 ECD之核苷酸序列

<400> 5
gtgccccaga agcccaaggt gagcctgaac cctccctgga acagaatctt caagggcgag 60

aacgtgaccc tgacctgcaa cggcaacaac ttcttcgagg tgagcagcac caagtggttc 120

cacaatggca gcctgagcga ggagaccaac agctccctga acatcgtgaa cgccaagttc 180

gaggacagcg gcgagtacaa gtgccagcac cagcaggtga acgagagcga gcccgtgtac 240

ctggaggtgt tcagcgactg gctgctgctg caggccagcg ccgaggtggt gatggagggc 300

cagcccctgt tcctgagatg ccacggctgg agaaactggg acgtgtacaa ggtgatctac 360

tacaaggatg gcgaggccct gaagtactgg tacgagaacc acaacatctc catcaccaac 420

gccaccgtgg aggacagcgg cacctactac tgcacaggca aggtgtggca gctggactac 480

gagagcgagc ccctgaacat caccgtgatc aaggctccca gagagaagta ctggctgcag 540

540

<210> 6
<211> 561
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 修飾的Fc之核苷酸序列

<400> 6
tgcgtggtcg tggatgtgag ccaggaagat cccgaagtgc agttcaactg gtacgtggat 60

ggcgtggaag tgcacaacgc caagaccaag cccagagaag agcagttcaa ctccacctac 120

agagtggtga gcgtgctgac cgtgctgcac caggactggc tgaacggcaa ggagtacaag 180

tgcaaggtgt ccaacaaagg cctgcccagc tccatcgaga agaccatcag caaagccaaa 240

ggccagccca gagaacccca ggtgtacacc ctgcctccca gccaggaaga gatgaccaag 300

aaccaggtgt ccctgacctg cctggtgaaa ggcttctacc ccagcgacat cgccgtggag 360

tgggaaagca acggccagcc cgagaacaat tacaagacaa cccctcccgt gctggatagc 420

gatggcagct tctttctgta cagcagactg accgtggaca agagcagatg gcaggaaggc 480

aacgtgttca gctgcagcgt gatgcacgaa gccctgcaca accactacac ccagaagagc 540

ctgtccctga gcctgggcaa g 561

<210> 7
<211> 174
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> IgD鉸鏈變體之核苷酸序列

<400> 7
aggaacaccg gcagaggagg cgaggaaaag aaaggaagca aggagaagga ggagcaggag 60

gaaagagaaa ccaagacccc cgagtgcccc agccacaccc agcccctggg cgtgttcctg 120

ttcccccca agcccaagga caccctgatg atcagcagaa cccccgaggt gacc 174

<210> 8
<211> 231
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> IgD鉸鏈變體之核苷酸序列

<400> 8
gcccagcccc aggccgaggg cagcctggct aaggccacca cagctcccgc caccaccagg 60

aacaccggca gaggaggcga ggaaaagaaa ggaagcaagg agaaggagga gcaggaggaa 120

agagaaacca agacccccga gtgccccagc cacacccagc ccctgggcgt gttcctgttc 180

ccccccaagc ccaaggacac cctgatgatc agcagaaccc ccgaggtgac c 231

<210> 9
<211> 25
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 訊息肽

<400> 9
Met Asp Ala Met Leu Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly
1 5 10 15

Ala Val Phe Val Ser Pro Ser His Ala
20 25

<210> 10
<211> 75
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 訊息肽之核苷酸序列

<400> 10
atggacgcca tgctgagagg cctgtgctgt gtgctgctgc tgtgcggcgc cgtgttcgtg 60

tcccctagcc acgcc 75

<210> 11
<211> 450
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> FceRIa ECD-鉸鏈-Fc2

<400> 11
Met Asp Ala Met Leu Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly
1 5 10 15

Ala Val Phe Val Ser Pro Ser His Ala Val Pro Gln Lys Pro Lys Val
20 25 30

```
Ser Leu Asn Pro Pro Trp Asn Arg Ile Phe Lys Gly Glu Asn Val Thr
         35                  40                  45

Leu Thr Cys Asn Gly Asn Asn Phe Phe Glu Val Ser Ser Thr Lys Trp
     50                  55                  60

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

Val Asn Ala Lys Phe Glu Asp Ser Gly Glu Tyr Lys Cys Gln His Gln
                 85                  90                  95

Gln Val Asn Glu Ser Glu Pro Val Tyr Leu Glu Val Phe Ser Asp Trp
            100                 105                 110

Leu Leu Leu Gln Ala Ser Ala Glu Val Val Met Glu Gly Gln Pro Leu
        115                 120                 125

Phe Leu Arg Cys His Gly Trp Arg Asn Trp Asp Val Tyr Lys Val Ile
    130                 135                 140

Tyr Tyr Lys Asp Gly Glu Ala Leu Lys Tyr Trp Tyr Glu Asn His Asn
145                 150                 155                 160

Ile Ser Ile Thr Asn Ala Thr Val Glu Asp Ser Gly Thr Tyr Tyr Cys
                165                 170                 175

Thr Gly Lys Val Trp Gln Leu Asp Tyr Glu Ser Glu Pro Leu Asn Ile
            180                 185                 190

Thr Val Ile Lys Ala Pro Arg Glu Lys Tyr Trp Leu Gln Arg Asn Thr
        195                 200                 205

Gly Arg Gly Gly Glu Glu Lys Lys Gly Ser Lys Glu Lys Glu Glu Gln
    210                 215                 220

Glu Glu Arg Glu Thr Lys Thr Pro Glu Cys Pro Ser His Thr Gln Pro
225                 230                 235                 240

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

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

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

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg
```

290 295 300

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Gly Lys
450

<210> 12
<211> 1350
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> FceRIa ECD-鉸鏈-Fc2之核苷酸序列

<400> 12
atggacgcca tgctgagagg cctgtgctgt gtgctgctgc tgtgcggcgc cgtgttcgtg 60

tcccctagcc acgccgtgcc ccagaagccc aaggtgagcc tgaaccctcc ctggaacaga 120

atcttcaagg gcgagaacgt gaccctgacc tgcaacggca acaacttctt cgaggtgagc 180

agcaccaagt ggttccacaa tggcagcctg agcgaggaga ccaacagctc cctgaacatc 240

gtgaacgcca agttcgagga cagcggcgag tacaagtgcc agcaccagca ggtgaacgag 300

agcgagcccg tgtacctgga ggtgttcagc gactggctgc tgctgcaggc cagcgccgag 360

gtggtgatgg agggccagcc cctgttcctg agatgccacg gctggagaaa ctgggacgtg 420

tacaaggtga tctactacaa ggatggcgag gccctgaagt actggtacga gaaccacaac 480

atctccatca ccaacgccac cgtggaggac agcggcacct actactgcac aggcaaggtg 540

tggcagctgg actacgagag cgagcccctg aacatcaccg tgatcaaggc tcccagagag 600

aagtactggc tgcagaggaa caccggcaga ggaggcgagg aaaagaaagg aagcaaggag 660

aaggaggagc aggaggaaag agaaaccaag acccccgagt gccccagcca cacccagccc 720

ctgggcgtgt tcctgttccc ccccaagccc aaggacaccc tgatgatcag cagaaccccc 780

gaggtgacct gcgtggtcgt ggatgtgagc caggaagatc ccgaagtgca gttcaactgg 840

tacgtggatg gcgtggaagt gcacaacgcc aagaccaagc ccagagaaga gcagttcaac 900

tccacctaca gagtggtgag cgtgctgacc gtgctgcacc aggactggct gaacggcaag 960

gagtacaagt gcaaggtgtc caacaaaggc ctgcccagct ccatcgagaa gaccatcagc 1020

aaagccaaag gccagcccag agaaccccag gtgtacaccc tgcctcccag ccaggaagag 1080

atgaccaaga accaggtgtc cctgacctgc ctggtgaaag gcttctaccc cagcgacatc 1140

gccgtggagt gggaaagcaa cggccagccc gagaacaatt acaagacaac ccctcccgtg 1200

ctggatagcg atggcagctt ctttctgtac agcagactga ccgtggacaa gagcagatgg 1260

caggaaggca acgtgttcag ctgcagcgtg atgcacgaag ccctgcacaa ccactacacc 1320

cagaagagcc tgtccctgag cctgggcaag 1350

<210> 13
<211> 469
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> FceRIa ECD-鉸鏈-Fc3

<400> 13

```
Met Asp Ala Met Leu Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly
 1               5                  10                  15

Ala Val Phe Val Ser Pro Ser His Ala Val Pro Gln Lys Pro Lys Val
            20                  25                  30

Ser Leu Asn Pro Pro Trp Asn Arg Ile Phe Lys Gly Glu Asn Val Thr
        35                  40                  45

Leu Thr Cys Asn Gly Asn Asn Phe Phe Glu Val Ser Ser Thr Lys Trp
    50                  55                  60

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

Val Asn Ala Lys Phe Glu Asp Ser Gly Glu Tyr Lys Cys Gln His Gln
                85                  90                  95

Gln Val Asn Glu Ser Glu Pro Val Tyr Leu Glu Val Phe Ser Asp Trp
            100                 105                 110

Leu Leu Leu Gln Ala Ser Ala Glu Val Val Met Glu Gly Gln Pro Leu
        115                 120                 125

Phe Leu Arg Cys His Gly Trp Arg Asn Trp Asp Val Tyr Lys Val Ile
    130                 135                 140

Tyr Tyr Lys Asp Gly Glu Ala Leu Lys Tyr Trp Tyr Glu Asn His Asn
145                 150                 155                 160

Ile Ser Ile Thr Asn Ala Thr Val Glu Asp Ser Gly Thr Tyr Tyr Cys
                165                 170                 175

Thr Gly Lys Val Trp Gln Leu Asp Tyr Glu Ser Glu Pro Leu Asn Ile
            180                 185                 190

Thr Val Ile Lys Ala Pro Arg Glu Lys Tyr Trp Leu Gln Ala Gln Pro
        195                 200                 205

Gln Ala Glu Gly Ser Leu Ala Lys Ala Thr Thr Ala Pro Ala Thr Thr
    210                 215                 220

Arg Asn Thr Gly Arg Gly Gly Glu Glu Lys Lys Gly Ser Lys Glu Lys
225                 230                 235                 240

Glu Glu Gln Glu Glu Arg Glu Thr Lys Thr Pro Glu Cys Pro Ser His
                245                 250                 255

Thr Gln Pro Leu Gly Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
            260                 265                 270
```

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Leu Ser Leu Gly Lys
465

<210> 14
<211> 1407
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> FceRIa ECD-鉸鏈-Fc3之核苷酸序列

<400> 14

atggacgcca tgctgagagg cctgtgctgt gtgctgctgc tgtgcggcgc cgtgttcgtg 60

tcccctagcc acgccgtgcc ccagaagccc aaggtgagcc tgaaccctcc ctggaacaga 120

atcttcaagg gcgagaacgt gaccctgacc tgcaacggca acaacttctt cgaggtgagc 180

agcaccaagt ggttccacaa tggcagcctg agcgaggaga ccaacagctc cctgaacatc 240

gtgaacgcca agttcgagga cagcggcgag tacaagtgcc agcaccagca ggtgaacgag 300

agcgagcccg tgtacctgga ggtgttcagc gactggctgc tgctgcaggc cagcgccgag 360

gtggtgatgg agggccagcc cctgttcctg agatgccacg gctggagaaa ctgggacgtg 420

tacaaggtga tctactacaa ggatggcgag gccctgaagt actggtacga gaaccacaac 480

atctccatca ccaacgccac cgtggaggac agcggcacct actactgcac aggcaaggtg 540

tggcagctgg actacgagag cgagcccctg aacatcaccg tgatcaaggc tcccagagag 600

aagtactggc tgcaggccca gccccaggcc gagggcagcc tggctaaggc caccacagct 660

cccgccacca ccaggaacac cggcagagga ggcgaggaaa agaaaggaag caaggagaag 720

gaggagcagg aggaaagaga aaccaagacc cccgagtgcc ccagccacac ccagcccctg 780

ggcgtgttcc tgttcccccc caagcccaag gacaccctga tgatcagcag aacccccgag 840

gtgacctgcg tggtcgtgga tgtgagccag gaagatcccg aagtgcagtt caactggtac 900

gtggatggcg tggaagtgca caacgccaag accaagccca gagaagagca gttcaactcc 960

acctacagag tggtgagcgt gctgaccgtg ctgcaccagg actggctgaa cggcaaggag 1020

tacaagtgca aggtgtccaa caaaggcctg cccagctcca tcgagaagac catcagcaaa 1080

gccaaaggcc agcccagaga accccaggtg tacaccctgc ctcccagcca ggaagagatg 1140

accaagaacc aggtgtccct gacctgcctg gtgaaaggct tctaccccag cgacatcgcc 1200

gtggagtggg aaagcaacgg ccagcccgag aacaattaca agacaacccc tcccgtgctg 1260

gatagcgatg gcagcttctt tctgtacagc agactgaccg tggacaagag cagatggcag 1320

gaaggcaacg tgttcagctg cagcgtgatg cacgaagccc tgcacaacca ctacacccag 1380

aagagcctgt ccctgagcct gggcaag 1407

<210> 15
<211> 406
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人a-2,6涎液酸轉移酶

<400> 15

```
Met Ile His Thr Asn Leu Lys Lys Lys Phe Ser Cys Cys Val Leu Val
  1               5                  10                  15

Phe Leu Leu Phe Ala Val Ile Cys Val Trp Lys Glu Lys Lys Lys Gly
             20                  25                  30

Ser Tyr Tyr Asp Ser Phe Lys Leu Gln Thr Lys Glu Phe Gln Val Leu
         35                  40                  45

Lys Ser Leu Gly Lys Leu Ala Met Gly Ser Asp Ser Gln Ser Val Ser
     50                  55                  60

Ser Ser Ser Thr Gln Asp Pro His Arg Gly Arg Gln Thr Leu Gly Ser
 65                  70                  75                  80

Leu Arg Gly Leu Ala Lys Ala Lys Pro Glu Ala Ser Phe Gln Val Trp
                 85                  90                  95

Asn Lys Asp Ser Ser Ser Lys Asn Leu Ile Pro Arg Leu Gln Lys Ile
            100                 105                 110

Trp Lys Asn Tyr Leu Ser Met Asn Lys Tyr Lys Val Ser Tyr Lys Gly
        115                 120                 125

Pro Gly Pro Gly Ile Lys Phe Ser Ala Glu Ala Leu Arg Cys His Leu
    130                 135                 140

Arg Asp His Val Asn Val Ser Met Val Glu Val Thr Asp Phe Pro Phe
145                 150                 155                 160

Asn Thr Ser Glu Trp Glu Gly Tyr Leu Pro Lys Glu Ser Ile Arg Thr
                165                 170                 175

Lys Ala Gly Pro Trp Gly Arg Cys Ala Val Val Ser Ser Ala Gly Ser
            180                 185                 190

Leu Lys Ser Ser Gln Leu Gly Arg Glu Ile Asp Asp His Asp Ala Val
        195                 200                 205

Leu Arg Phe Asn Gly Ala Pro Thr Ala Asn Phe Gln Gln Asp Val Gly
```

210 215 220

Thr Lys Thr Thr Ile Arg Leu Met Asn Ser Gln Leu Val Thr Thr Glu
225 230 235 240

Lys Arg Phe Leu Lys Asp Ser Leu Tyr Asn Glu Gly Ile Leu Ile Val
245 250 255

Trp Asp Pro Ser Val Tyr His Ser Asp Ile Pro Lys Trp Tyr Gln Asn
260 265 270

Pro Asp Tyr Asn Phe Phe Asn Asn Tyr Lys Thr Tyr Arg Lys Leu His
275 280 285

Pro Asn Gln Pro Phe Tyr Ile Leu Lys Pro Gln Met Pro Trp Glu Leu
290 295 300

Trp Asp Ile Leu Gln Glu Ile Ser Pro Glu Glu Ile Gln Pro Asn Pro
305 310 315 320

Pro Ser Ser Gly Met Leu Gly Ile Ile Ile Met Met Thr Leu Cys Asp
325 330 335

Gln Val Asp Ile Tyr Glu Phe Leu Pro Ser Lys Arg Lys Thr Asp Val
340 345 350

Cys Tyr Tyr Tyr Gln Lys Phe Phe Asp Ser Ala Cys Thr Met Gly Ala
355 360 365

Tyr His Pro Leu Leu Tyr Glu Lys Asn Leu Val Lys His Leu Asn Gln
370 375 380

Gly Thr Asp Glu Asp Ile Tyr Leu Leu Gly Lys Ala Thr Leu Pro Gly
385 390 395 400

Phe Arg Thr Ile His Cys
405

<210> 16
<211> 1218
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人a-2,6涎液酸轉移酶之核苷酸序列

<400> 16
atgatccaca ccaacctgaa gaagaagttc agctgctgcg tgctggtgtt cctgctgttc 60

gccgtgatct gcgtgtggaa ggagaagaag aaaggcagct actacgacag cttcaagctg 120

cagaccaagg agttccaggt gctgaagagc ctgggcaagc tggccatggg cagcgacagc 180

cagagcgtgt ccagctcctc cacccaggat ccccacagag gcagacagac cctgggcagc 240

ctgagaggcc tggccaaggc caagcccgag gccagcttcc aggtgtggaa caaggacagc 300

agcagcaaga acctgatccc cagactgcag aagatctgga agaactacct gagcatgaac 360

aagtacaagg tgagctacaa aggacccgga cccggcatca agttcagcgc cgaggccctg 420

aggtgccacc tgagagacca cgtgaacgtg agcatggtgg aagtgaccga cttcccccttc 480

aacaccagcg agtgggaagg ctacctgccc aaggagagca tcaggaccaa ggctggcccc 540

tggggcagat gcgccgtggt gagcagcgct ggcagcctga agagctccca gctgggcaga 600

gagatcgacg accacgatgc cgtgctgagg ttcaatggcg ctcccaccgc caacttccag 660

caggacgtgg gcaccaagac cacaatccgg ctgatgaaca gccagctggt gacaaccgag 720

aagcggttcc tgaaggacag cctgtacaac gagggcatcc tgatcgtgtg ggatcccagc 780

gtgtaccaca gcgacatccc caagtggtac cagaatcccg actacaactt cttcaacaac 840

tacaagacct atagaaagct gcaccccaac cagcccttct acatcctgaa gccccagatg 900

ccctgggagc tgtgggacat cctgcaggag atcagccctg aagagatcca gcccaaccct 960

ccctccagcg gcatgctggg cattatcatc atgatgaccc tgtgcgacca ggtggacatc 1020

tacgagttcc tgcccagcaa gagaaagacc gacgtgtgct actactatca gaagttcttc 1080

gacagcgcct gcaccatggg cgcctaccac cccctgctgt acgagaagaa cctggtgaag 1140

cacctgaacc agggcaccga cgaggacatc tacctgctgg gcaaagccac cctgcccggc 1200

ttcagaacca tccactgc 1218

<210> 17
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IgD鉸鏈變體

<400> 17
Arg Asn Thr Gly Arg Gly Gly Glu Glu Lys Lys Xaa Xaa Lys Glu Lys
1 5 10 15

Glu Glu Gln Glu Glu Arg Glu Thr Lys Thr Pro Glu Cys Pro
20 25 30

<210> 18
<211> 49
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IgD鉸鏈變體

<400> 18
Ala Gln Pro Gln Ala Glu Gly Ser Leu Ala Lys Ala Thr Thr Ala Pro
1 5 10 15

Ala Thr Thr Arg Asn Thr Gly Arg Gly Gly Glu Glu Lys Lys Xaa Xaa
20 25 30

Lys Glu Lys Glu Glu Gln Glu Glu Arg Glu Thr Lys Thr Pro Glu Cys
35 40 45

Pro

<210> 19
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IgD鉸鏈

<400> 19
Arg Asn Thr Gly Arg Gly Gly Glu Glu Lys Lys Lys Glu Lys Glu Lys
1 5 10 15

Glu Glu Gln Glu Glu Arg Glu Thr Lys Thr Pro Glu Cys Pro
20 25 30

<210> 20

<211> 425
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> FceRIa ECD-鉸鏈-Fc1

<400> 20

```
Val Pro Gln Lys Pro Lys Val Ser Leu Asn Pro Pro Trp Asn Arg Ile
  1               5                  10                  15

Phe Lys Gly Glu Asn Val Thr Leu Thr Cys Asn Gly Asn Asn Phe Phe
             20                  25                  30

Glu Val Ser Ser Thr Lys Trp Phe His Asn Gly Ser Leu Ser Glu Glu
         35                  40                  45

Thr Asn Ser Ser Leu Asn Ile Val Asn Ala Lys Phe Glu Asp Ser Gly
     50                  55                  60

Glu Tyr Lys Cys Gln His Gln Gln Val Asn Glu Ser Glu Pro Val Tyr
 65                  70                  75                  80

Leu Glu Val Phe Ser Asp Trp Leu Leu Leu Gln Ala Ser Ala Glu Val
                 85                  90                  95

Val Met Glu Gly Gln Pro Leu Phe Leu Arg Cys His Gly Trp Arg Asn
            100                 105                 110

Trp Asp Val Tyr Lys Val Ile Tyr Tyr Lys Asp Gly Glu Ala Leu Lys
        115                 120                 125

Tyr Trp Tyr Glu Asn His Asn Ile Ser Ile Thr Asn Ala Thr Val Glu
    130                 135                 140

Asp Ser Gly Thr Tyr Tyr Cys Thr Gly Lys Val Trp Gln Leu Asp Tyr
145                 150                 155                 160

Glu Ser Glu Pro Leu Asn Ile Thr Val Ile Lys Ala Pro Arg Glu Lys
                165                 170                 175

Tyr Trp Leu Gln Arg Asn Thr Gly Arg Gly Gly Glu Glu Lys Lys Lys
            180                 185                 190

Glu Lys Glu Lys Glu Glu Gln Glu Glu Arg Glu Thr Lys Thr Pro Glu
        195                 200                 205

Cys Pro Ser His Thr Gln Pro Leu Gly Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
    210                 215                 220
```

```
Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
225                 230                 235                 240

Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr
                245                 250                 255

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
            260                 265                 270

Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
        275                 280                 285

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
    290                 295                 300

Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
305                 310                 315                 320

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met
                325                 330                 335

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
            340                 345                 350

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
        355                 360                 365

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
    370                 375                 380

Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val
385                 390                 395                 400

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
                405                 410                 415

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
            420                 425
```

<210> 21
<211> 425
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> FceRIa ECD-鉸鏈-Fc2

<400> 21

Val Pro Gln Lys Pro Lys Val Ser Leu Asn Pro Pro Trp Asn Arg Ile
1 5 10 15

Phe Lys Gly Glu Asn Val Thr Leu Thr Cys Asn Gly Asn Asn Phe Phe
20 25 30

Glu Val Ser Ser Thr Lys Trp Phe His Asn Gly Ser Leu Ser Glu Glu
35 40 45

Thr Asn Ser Ser Leu Asn Ile Val Asn Ala Lys Phe Glu Asp Ser Gly
50 55 60

Glu Tyr Lys Cys Gln His Gln Gln Val Asn Glu Ser Glu Pro Val Tyr
65 70 75 80

Leu Glu Val Phe Ser Asp Trp Leu Leu Leu Gln Ala Ser Ala Glu Val
85 90 95

Val Met Glu Gly Gln Pro Leu Phe Leu Arg Cys His Gly Trp Arg Asn
100 105 110

Trp Asp Val Tyr Lys Val Ile Tyr Tyr Lys Asp Gly Glu Ala Leu Lys
115 120 125

Tyr Trp Tyr Glu Asn His Asn Ile Ser Ile Thr Asn Ala Thr Val Glu
130 135 140

Asp Ser Gly Thr Tyr Tyr Cys Thr Gly Lys Val Trp Gln Leu Asp Tyr
145 150 155 160

Glu Ser Glu Pro Leu Asn Ile Thr Val Ile Lys Ala Pro Arg Glu Lys
165 170 175

Tyr Trp Leu Gln Arg Asn Thr Gly Arg Gly Gly Glu Glu Lys Lys Gly
180 185 190

Ser Lys Glu Lys Glu Glu Gln Glu Glu Arg Glu Thr Lys Thr Pro Glu
195 200 205

Cys Pro Ser His Thr Gln Pro Leu Gly Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
210 215 220

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
225 230 235 240

Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr
245 250 255

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

260 265 270

Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
275 280 285

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
290 295 300

Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
305 310 315 320

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met
325 330 335

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
340 345 350

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
355 360 365

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
370 375 380

Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val
385 390 395 400

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
405 410 415

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
420 425

<210> 22
<211> 444
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> FceRIa ECD-鉸鏈-Fc3

<400> 22
Val Pro Gln Lys Pro Lys Val Ser Leu Asn Pro Pro Trp Asn Arg Ile
1 5 10 15

Phe Lys Gly Glu Asn Val Thr Leu Thr Cys Asn Gly Asn Asn Phe Phe
20 25 30

Glu Val Ser Ser Thr Lys Trp Phe His Asn Gly Ser Leu Ser Glu Glu

35 40 45

Thr Asn Ser Ser Leu Asn Ile Val Asn Ala Lys Phe Glu Asp Ser Gly
50 55 60

Glu Tyr Lys Cys Gln His Gln Gln Val Asn Glu Ser Glu Pro Val Tyr
65 70 75 80

Leu Glu Val Phe Ser Asp Trp Leu Leu Leu Gln Ala Ser Ala Glu Val
85 90 95

Val Met Glu Gly Gln Pro Leu Phe Leu Arg Cys His Gly Trp Arg Asn
100 105 110

Trp Asp Val Tyr Lys Val Ile Tyr Tyr Lys Asp Gly Glu Ala Leu Lys
115 120 125

Tyr Trp Tyr Glu Asn His Asn Ile Ser Ile Thr Asn Ala Thr Val Glu
130 135 140

Asp Ser Gly Thr Tyr Tyr Cys Thr Gly Lys Val Trp Gln Leu Asp Tyr
145 150 155 160

Glu Ser Glu Pro Leu Asn Ile Thr Val Ile Lys Ala Pro Arg Glu Lys
165 170 175

Tyr Trp Leu Gln Ala Gln Pro Gln Ala Glu Gly Ser Leu Ala Lys Ala
180 185 190

Thr Thr Ala Pro Ala Thr Thr Arg Asn Thr Gly Arg Gly Gly Glu Glu
195 200 205

Lys Lys Gly Ser Lys Glu Lys Glu Glu Gln Glu Glu Arg Glu Thr Lys
210 215 220

Thr Pro Glu Cys Pro Ser His Thr Gln Pro Leu Gly Val Phe Leu Phe
225 230 235 240

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

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

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
275 280 285

Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
290 295 300

```
Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
305                 310                 315                 320

Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
                325                 330                 335

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

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

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
    370                 375                 380

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

Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu
                405                 410                 415

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
            420                 425                 430

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
        435                 440
```

201930343

【發明摘要】

【中文發明名稱】

包含IgE受體之重組型胞外區域的藥學組成物

【英文發明名稱】

PHARMACEUTICAL COMPOSITION COMPRISING RECOMBINANT EXTRACELLULAR DOMAIN OF IgE RECEPTOR

【中文】

本發明提供一種含有二個單體之多肽二聚蛋白之用途，該單體各含有IgE Fc受體之α次單元的胞外區域(FcεRIa-ECD)。根據本發明之融合蛋白的優點在於，相較於含有抗IgE抗體之習用治療劑，表現出極佳的IgE結合能力，以及由於無ADCC與CDC之功能，故表現出較少的其它副作用。因此，該融合蛋白可應用於醫療產品，用於治療或預防IgE介導的過敏性疾病。

【英文】

The present invention provides uses of a polypeptide dimeric protein containing two monomers, each of which contains an extracellular domain (FcεRIa-ECD) of an alpha subunit of an IgE Fc receptor. The fusion protein according to the present invention has advantages that an excellent binding ability to IgE is exhibited as compared with a conventional therapeutic agent containing an anti-IgE antibody, and less other side effects are exhibited due to lack of ADCC and CDC functions. Thus, the fusion protein can be applied to a medical product for treating or preventing an IgE-mediated allergic disease.

【指定代表圖】　圖6

【代表圖之符號簡單說明】

(無)

【特徵化學式】

(無)

【發明申請專利範圍】

【第1項】　一種用於治療或預防過敏性疾病之藥學組成物，其包含一多肽二聚體作為活性成份，該多肽二聚體含有二個單體，其各含有IgE Fc受體之α次單元的胞外區域(FcεRIa-ECD)，

其中該單體含有一經修飾的Fc區，及

該經修飾的Fc區與該FcεRIa-ECD透過一鉸鏈(hinge)連接。

【第2項】　如請求項1之藥學組成物，其中該IgE Fc受體之α次單元的胞外區域是序列辨識編號1之胺基酸序列或其片段。

【第3項】　如請求項1之藥學組成物，其中該經修飾的Fc區是序列辨識編號2。

【第4項】　如請求項1之藥學組成物，其中該鉸鏈是衍生自免疫球蛋白IgD之鉸鏈區或其變體。

【第5項】　如請求項4之藥學組成物，其中該衍生自免疫球蛋白IgD之鉸鏈區或其變體含有至少一個半胱胺酸。

【第6項】　如請求項4之藥學組成物，其中該衍生自免疫球蛋白IgD之鉸鏈區或其變體是Arg Asn Thr Gly Arg Gly Gly Glu Glu Lys Lys Xaa1 Xaa2 Lys Glu Lys Glu Glu Gln Glu Glu Arg Glu Thr Lys Thr Pro Glu Cys Pro (序列辨識編號17)，

Xaa1是Lys或Gly，及

Xaa2是Glu、Gly或Ser。

【第7項】　如請求項4之藥學組成物，其中該衍生自免疫球蛋白IgD之鉸鏈區或其變體是Ala Gln Pro Gln Ala Glu Gly Ser Leu Ala Lys Ala Thr Thr Ala Pro Ala Thr Thr Arg Asn Thr Gly Arg Gly Gly Glu Glu Lys Lys Xaa3 Xaa4 Lys Glu Lys Glu Glu Gln Glu Glu Arg Glu Thr Lys Thr Pro Glu Cys Pro (序列辨識編號18)，

Xaa1是Lys或Gly，及

Xaa2是Glu、Gly或Ser。

【第8項】　如請求項1之藥學組成物，其中該鉸鏈具有選自於序列辨識編號3、序列辨識編號4及序列辨識編號19中任一個之胺基酸序列。

【第9項】　如請求項1之藥學組成物，其中該過敏性疾病是選自於由下列所構成之群組之任一個：食物過敏、異位性皮膚炎、氣喘、過敏性鼻炎、過敏性結膜炎、過敏性皮膚炎、慢性自發性蕁麻疹及過敏性接觸性皮膚炎。

【第10項】　一種用於改善或緩解過敏症狀之食品組成物，其包含一多肽二聚體作為活性成份，該多肽二聚體含有二個單體，其各含有IgE Fc受體之α次單元的胞外區域(FcεRIa-ECD)，

其中該單體含有一經修飾的Fc區，及

該經修飾的Fc區與該FcεRIa-ECD透過一鉸鏈連接。

【第11項】　一種用於治療或預防過敏性疾病之藥學組成物，其包含一多肽二聚體作為活性成份，該多肽二聚體

含有二個單體，其各含有IgE Fc受體之α次單元的胞外區域(FcεRIa-ECD)，該多肽二聚體是通過下列獲得：

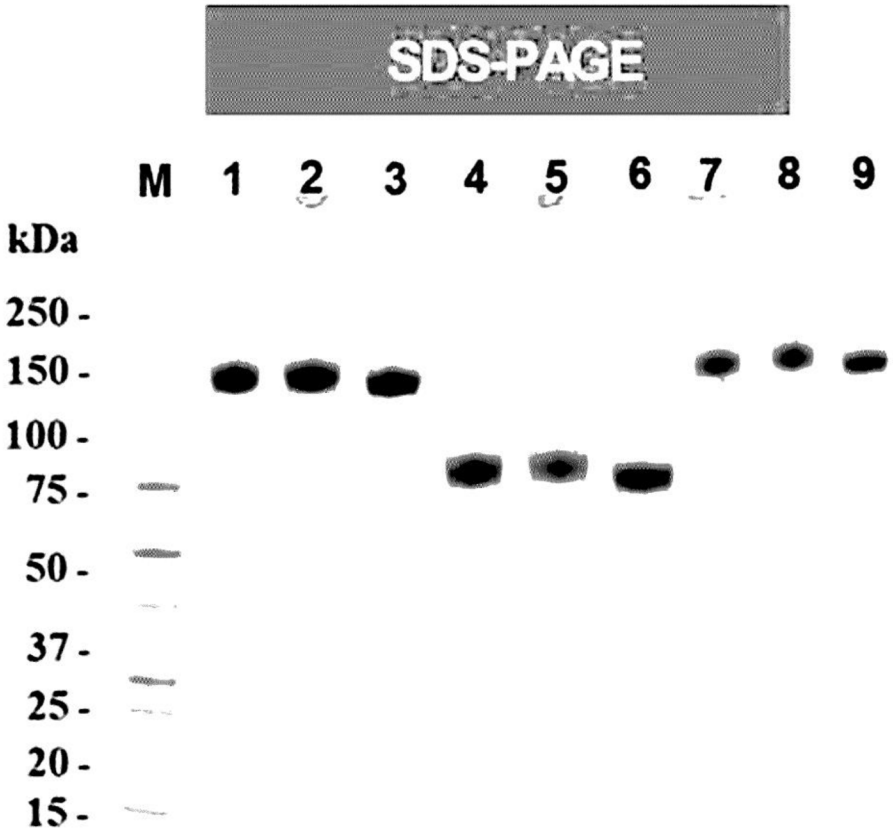
1)培養其中引入了編碼多肽單體之多核苷酸及湩液酸轉移酶基因之細胞之步驟；及

2)回收多肽二聚體之步驟，

其中該單體含有一經修飾的Fc區，及

該經修飾的Fc區及該FcεRIa-ECD透過一鉸鏈連接。

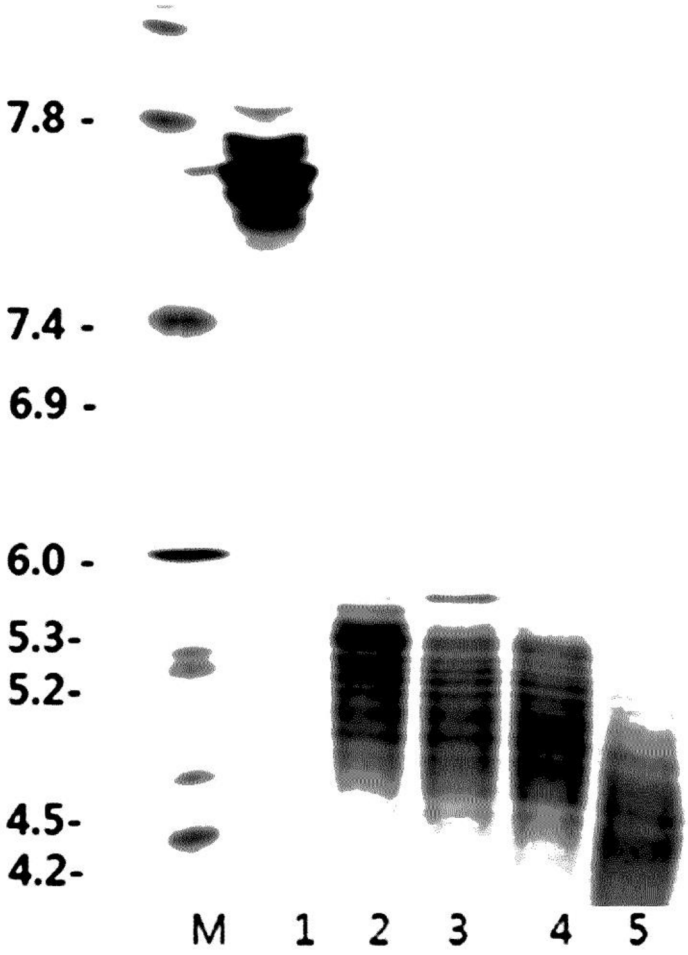
【發明圖式】



【圖1A】

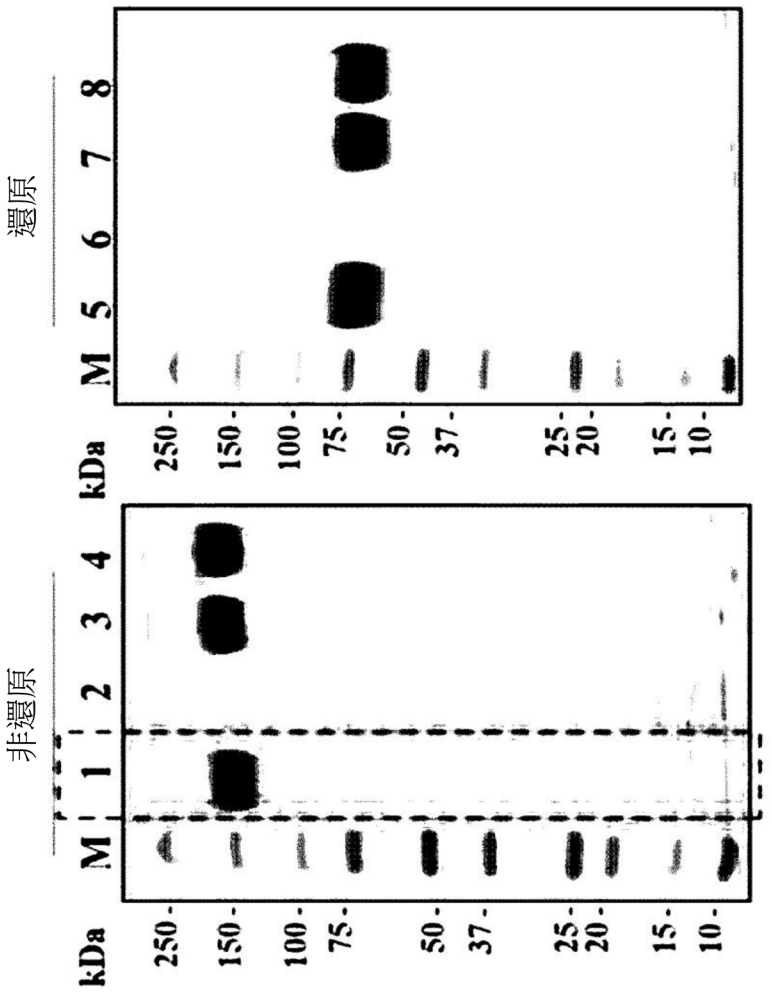
道 #	樣本	純化	純度 (SE-HPLC)	樣本條件	
M	蛋白質標準品	一步驟 (蛋白A 管柱純化)	.	.	.
1	FcεR1α ECD-Fc3		94.5%	.	非還原
2	FcεR1α ECD-Fc3+2,6 ST		93.7%		
3	FcεR1α ECD-Fc2+2,6 ST		93.2%		
4	FcεR1α ECD-Fc3		94.5%	.	還原
5	FcεR1α ECD-Fc3+2,6 ST		93.7%		
6	FcεR1α ECD-Fc2+2,6 ST		93.2%		
7	FcεR1α ECD-Fc3		94.5%	冷凍/解凍測試	非還原
8	FcεR1α ECD-Fc3+2,6 ST		93.7%		
9	FcεR1α ECD-Fc3+2,6 ST		93.2%		

【圖1B】



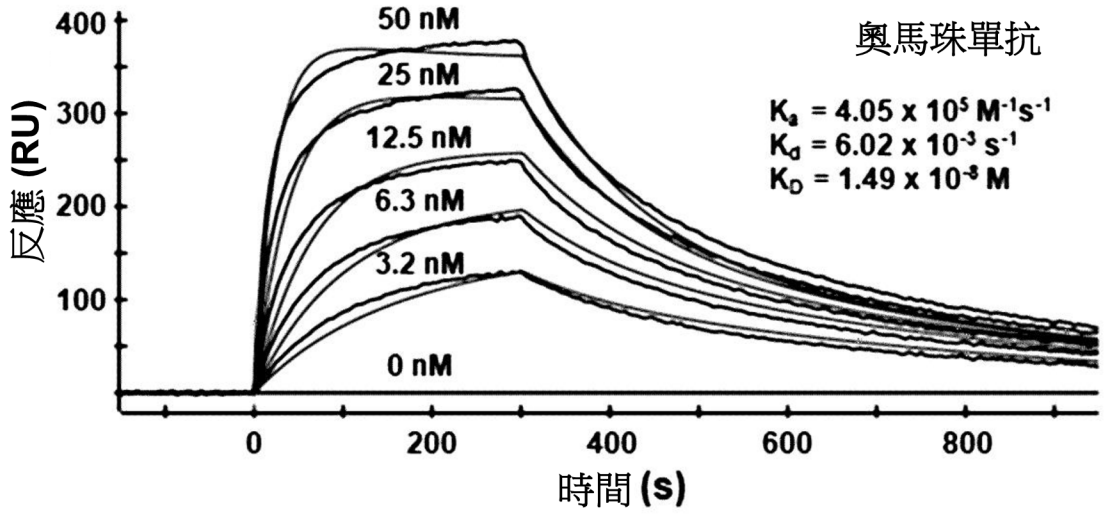
道	裝載樣本	理論pI
M	標記 (SERVA pH3-10, 5uL)	
1	Xolair	7.03
2	FcεRIα ECD-FC2	5.62
3	FcεRIα ECD-FC2+2,6 ST	5.62
4	FcεRIα ECD-FC3	5.63
5	FcεRIα ECD-FC3+2,6 ST	5.63

【圖1C】

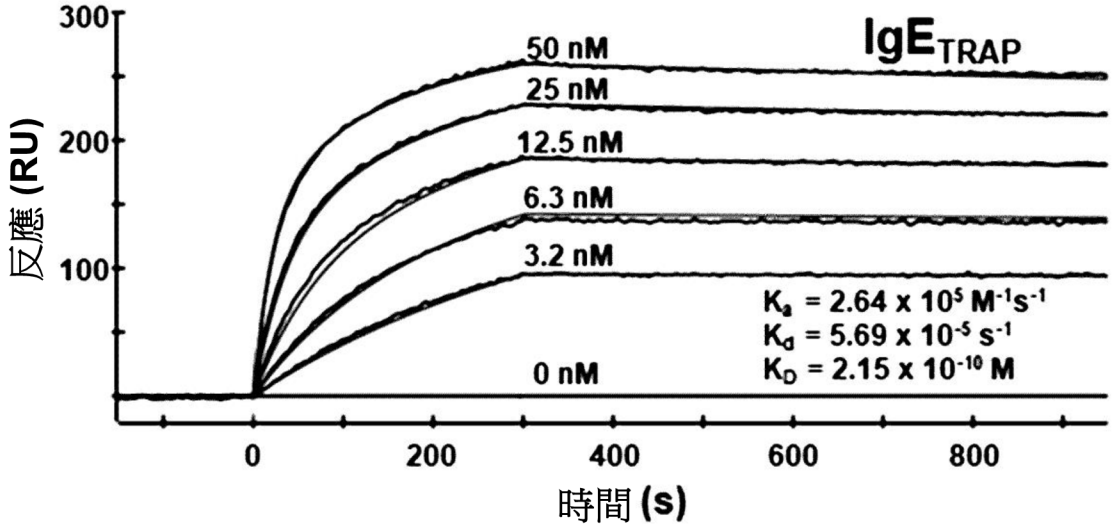


道	樣本名稱	裝載量
M	大小標記	3ul
1	輸入	最大
2	FT	最大
3	洗提物	3 ug
4	洗提物_N	3 ug
M	大小標記	3ul
5	輸入	最大
6	FT	最大
7	洗提物	3 ug
8	洗提物_N	3 ug

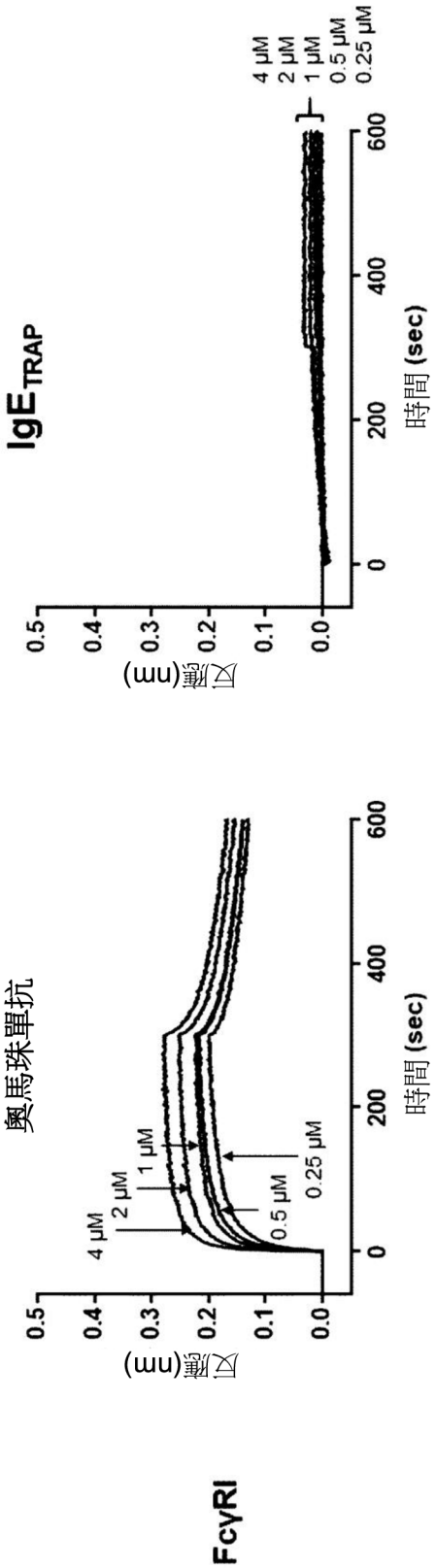
【圖2】


奧馬珠單抗
50 nM
25 nM
12.5 nM
6.3 nM
3.2 nM
0 nM
K_a = 4.05 x 10^5 $M^{-1}s^{-1}$
K_d = 6.02 x 10^{-3} s^{-1}
K_D = 1.49 x 10^{-8} M
反應 (RU)
400
300
200
100
0
200
400
600
800
時間 (s)

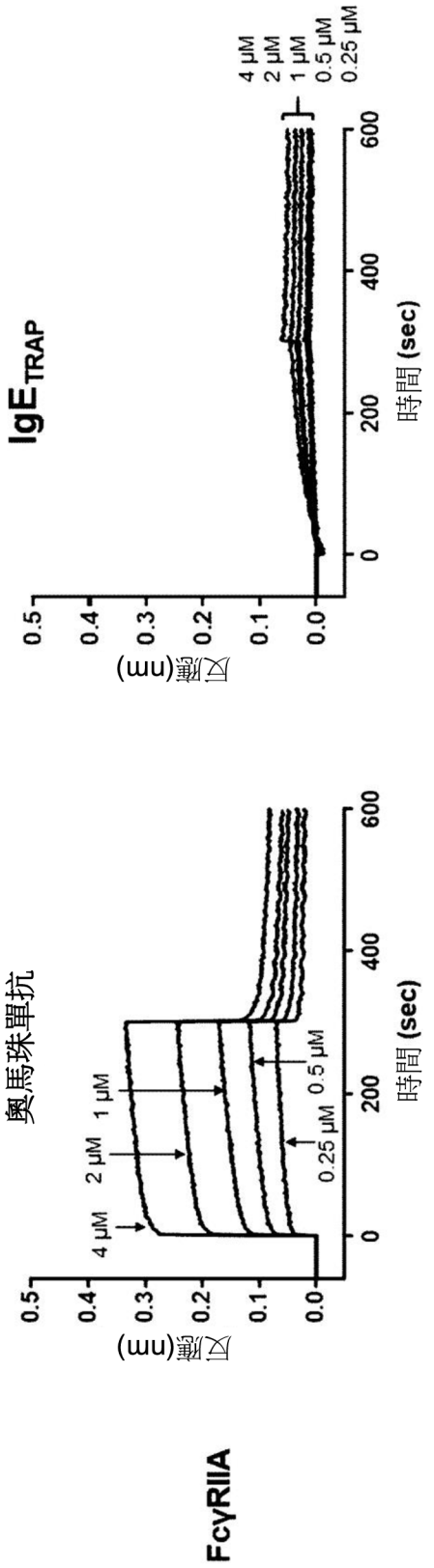
【圖3】


IgE_{TRAP}
50 nM
25 nM
12.5 nM
6.3 nM
3.2 nM
0 nM
K_a = 2.64 x 10^5 $M^{-1}s^{-1}$
K_d = 5.69 x 10^{-5} s^{-1}
K_D = 2.15 x 10^{-10} M
反應 (RU)
300
200
100
0
200
400
600
800
時間 (s)

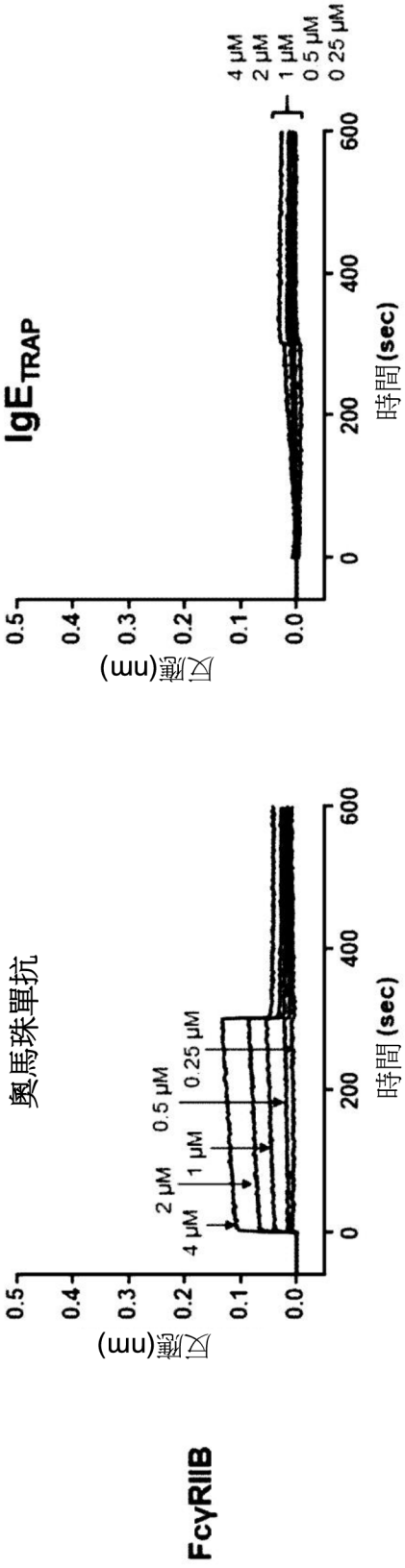
【圖4】


FcγRI
奧馬珠單抗
反應(nm)
時間 (sec)
4 μM
2 μM
1 μM
0.5 μM
0.25 μM
IgE TRAP
反應(nm)
時間 (sec)
4 μM
2 μM
1 μM
0.5 μM
0.25 μM

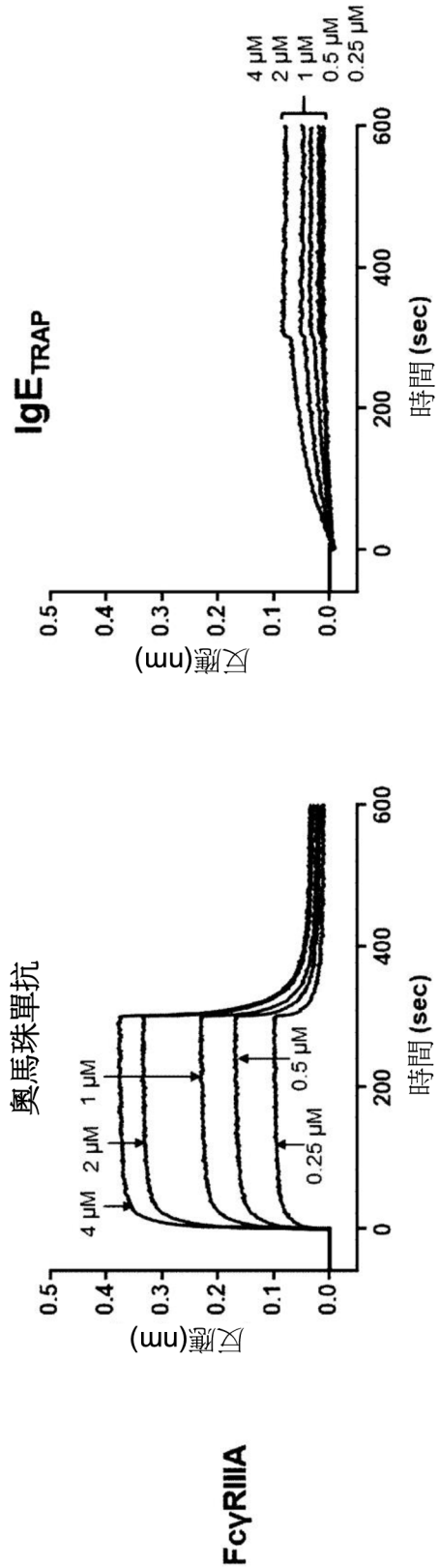
【圖5A】


FcγRIIA
奧馬珠單抗
反應(nm)
時間 (sec)
4 μM
2 μM
1 μM
0.5 μM
0.25 μM
IgE TRAP
反應(nm)
時間 (sec)
4 μM
2 μM
1 μM
0.5 μM
0.25 μM

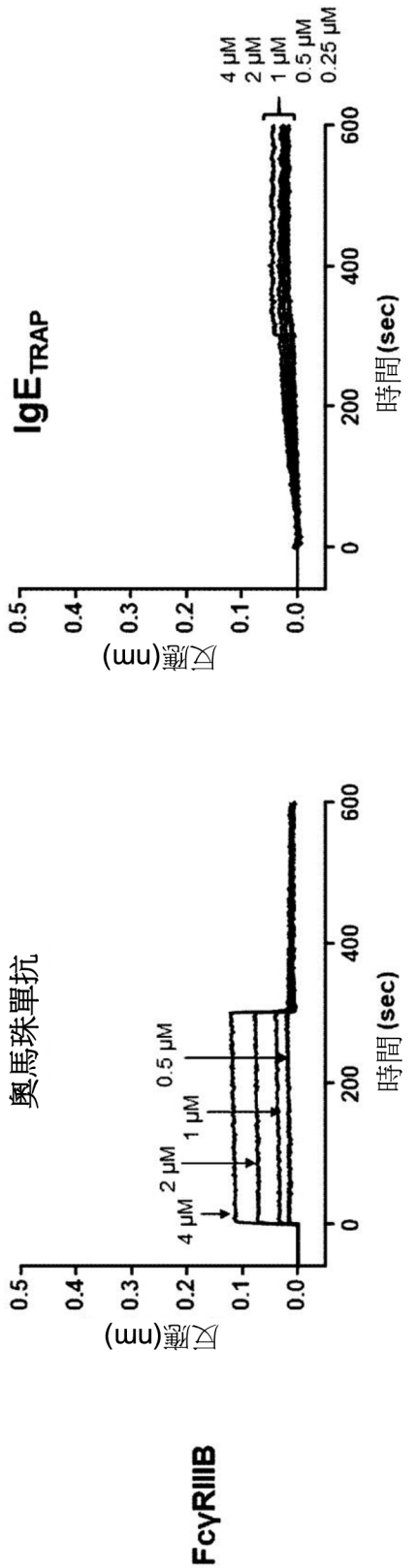
【圖5B】


FcγRIIB
奧馬珠單抗
反應(nm)
時間(sec)
4 μM
2 μM
1 μM
0.5 μM
0.25 μM
IgE TRAP
反應(nm)
時間(sec)
4 μM
2 μM
1 μM
0.5 μM
0.25 μM

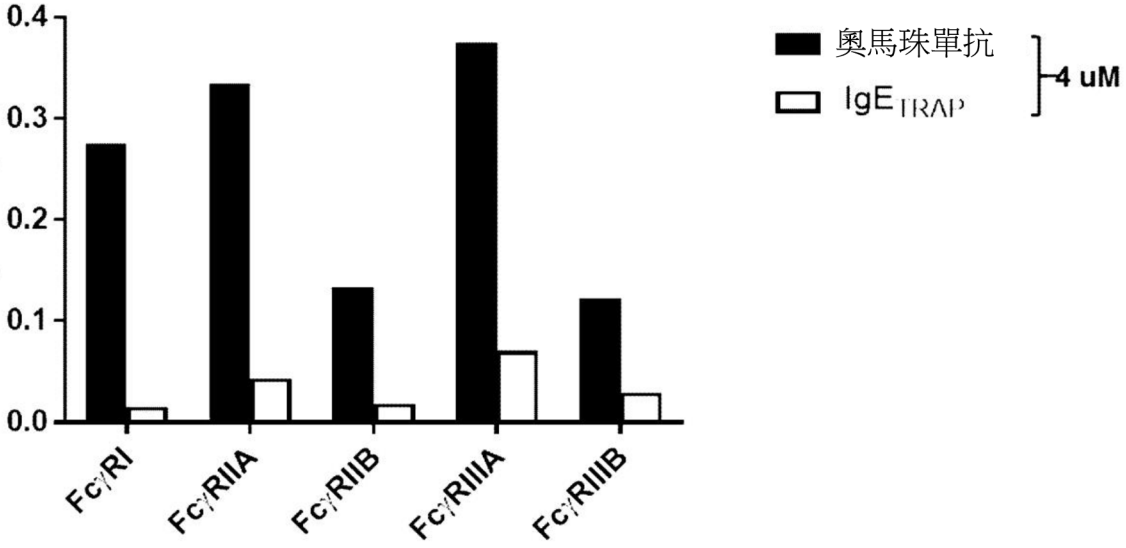
【圖5C】


FcγRIIIA
奧馬珠單抗
反應(nm)
時間 (sec)
4 μM
2 μM
1 μM
0.5 μM
0.25 μM
IgE$_{TRAP}$
反應(nm)
時間 (sec)
4 μM
2 μM
1 μM
0.5 μM
0.25 μM

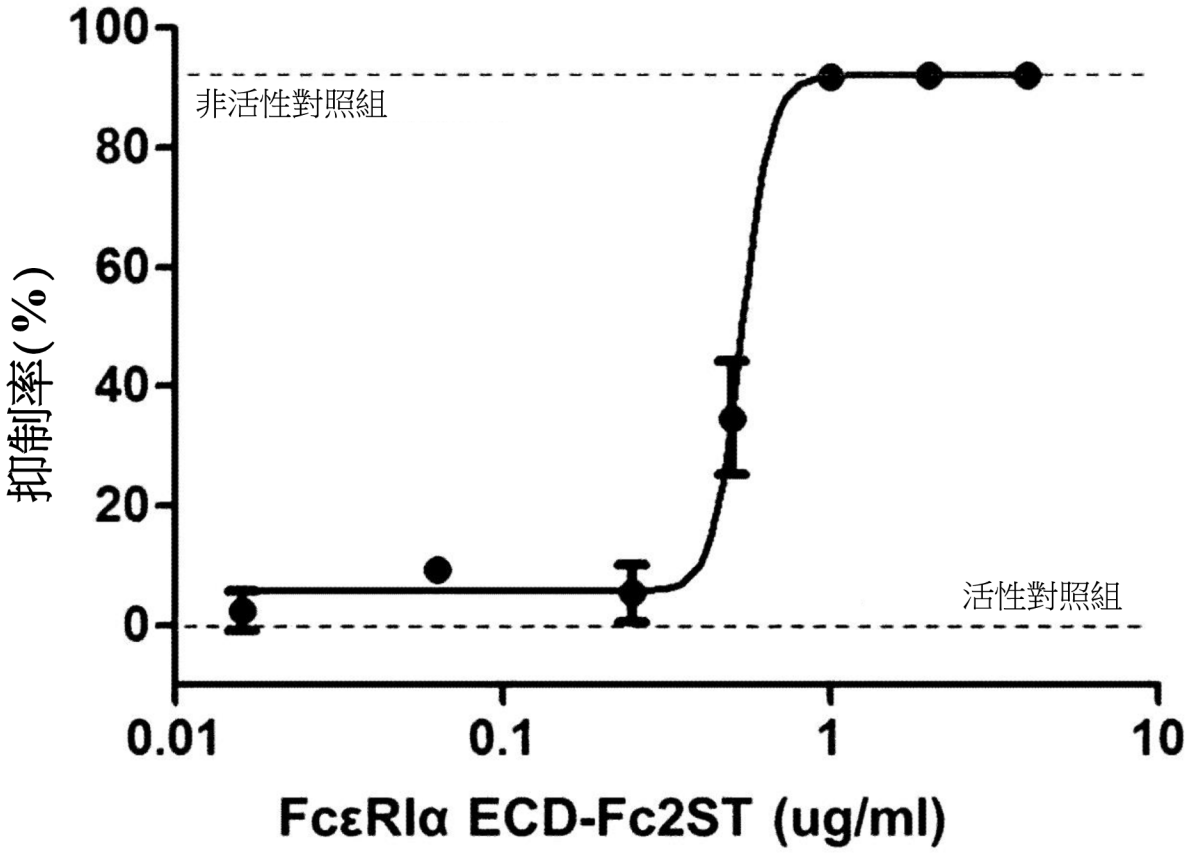
【圖5D】


FcγRIIIB
奧馬珠單抗
反應(nm)
時間(sec)
4 μM
2 μM
1 μM
0.5 μM
IgE TRAP
反應(nm)
時間(sec)
4 μM
2 μM
1 μM
0.5 μM
0.25 μM

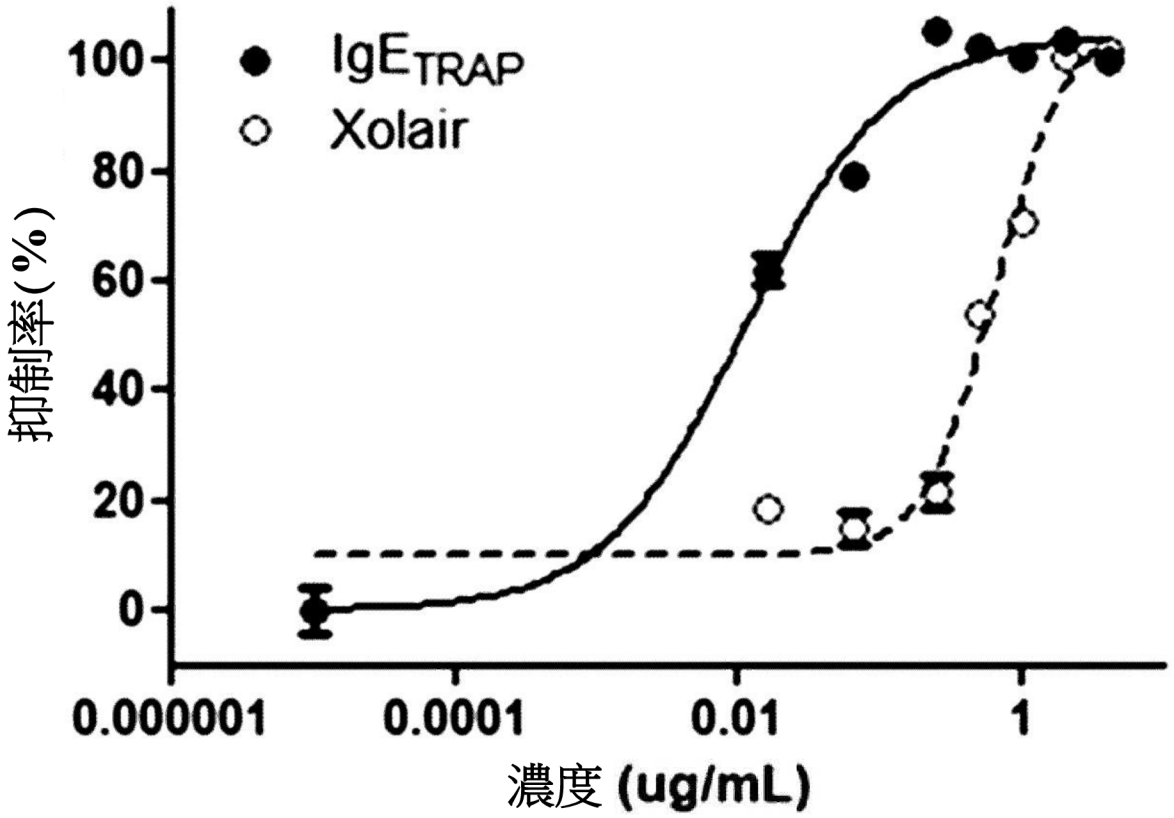
【圖5E】


0.4
0.3
0.2
0.1
0.0
奧馬珠單抗
IgE TRAP
4 uM
FcγRI
FcγRIIA
FcγRIIB
FcγRIIIA
FcγRIIIB

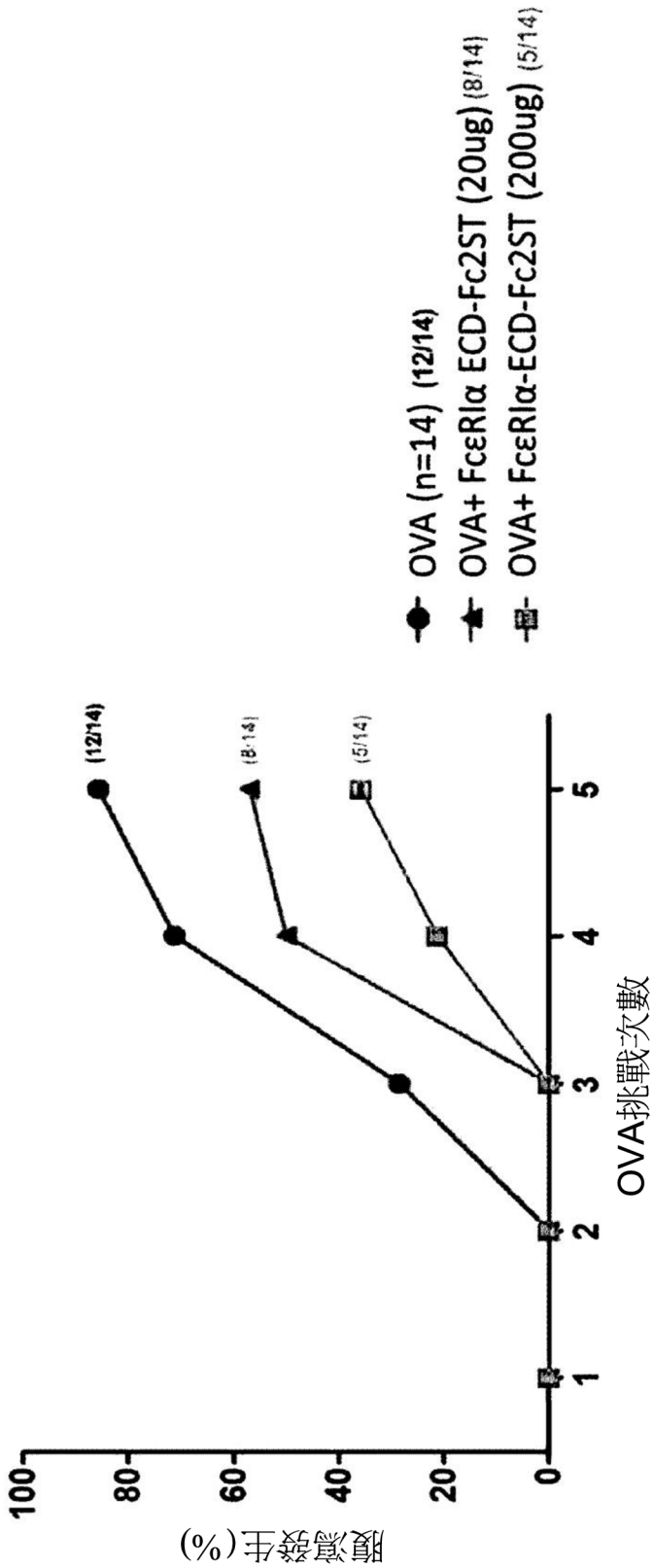
【圖6】


100
80
60
40
20
0
抑制率(%)
非活性對照組
活性對照組
0.01
0.1
1
10
FcεRIα ECD-Fc2ST (ug/ml)

【圖7】


IgE TRAP
Xolair
100
80
60
40
20
0
抑制率(%)
0.000001
0.0001
0.01
1
濃度 (ug/mL)

【圖8】


OVA (n=14) (12/14)
OVA+ FcεRIα ECD-Fc2ST (20ug) (8/14)
OVA+ FcεRIα-ECD-Fc2ST (200ug) (5/14)
(12/14)
(8/14)
(5/14)
腹瀉發生(%)
0
20
40
60
80
100
1
2
3
4
5
OVA挑戰次數

【圖9】