



(21)申請案號：113129415

(22)申請日：中華民國 104 (2015) 年 03 月 06 日

(51)Int. Cl. :

C07K16/18 (2006.01)A61K39/395 (2006.01)

C07H21/04 (2006.01)A61P37/00 (2006.01)

(30)優先權：2014/03/07美國61/949,932

(71)申請人：美商阿雷希昂製藥公司 (美國) ALEXION PHARMACEUTICALS, INC. (US)  
美國

(72)發明人：安德連 布魯斯 A ANDRIEN, BRUCE A. (US)；喜來丹 道格拉斯 L  
SHERIDAN, DOUGLAS L. (US)；坦布里尼 保羅 P TAMBURINI, PAUL P. (US)

(74)代理人：閻啓泰；林景郁

申請實體審查：有 申請專利範圍項數：20 項 圖式數：29 共 202 頁

(54)名稱  
具有改善的藥物動力學的抗 C5 抗體

(57)摘要

本發明提供尤其適用於抑制末端補體（例如 C5b-9 TCC 之組裝及/或活性）及 C5a 過敏毒素介導性發炎且從而治療補體相關性病症的抗體。相對於艾庫組單抗（eculizumab），該等抗體的多種特性改善，包括例如在人體中之血清半衰期延長。

The disclosure provides antibodies that are useful for, among other things, inhibiting terminal complement (e.g., the assembly and/or activity of the C5b-9 TCC) and C5a anaphylatoxin-mediated inflammation and, thus, treating complement-associated disorders. The antibodies have a number of improved properties relative to eculizumab, including, e.g., increased serum half-life in a human.

指定代表圖：

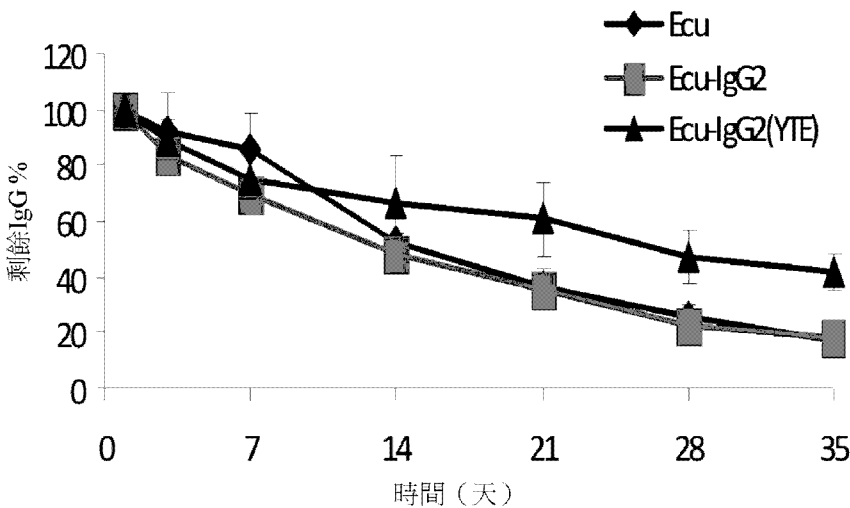


圖2

## 【發明摘要】

【中文發明名稱】 具有改善的藥物動力學的抗C5抗體

【英文發明名稱】 ANTI-C5 ANTIBODIES HAVING IMPROVED  
PHARMACOKINETICS

### 【中文】

本發明提供尤其適用於抑制末端補體（例如C5b-9 TCC之組裝及/或活性）及C5a過敏毒素介導性發炎且從而治療補體相關性病症的抗體。相對於艾庫組單抗（eculizumab），該等抗體的多種特性改善，包括例如在人體中之血清半衰期延長。

### 【英文】

The disclosure provides antibodies that are useful for, among other things, inhibiting terminal complement (e.g., the assembly and/or activity of the C5b-9 TCC) and C5a anaphylatoxin-mediated inflammation and, thus, treating complement-associated disorders. The antibodies have a number of improved properties relative to eculizumab, including, e.g., increased serum half-life in a human.

【指定代表圖】 圖2

【代表圖之符號簡單說明】

無

【特徵化學式】

無

## 【發明說明書】

【中文發明名稱】 具有改善的藥物動力學的抗C5抗體

【英文發明名稱】 ANTI-C5 ANTIBODIES HAVING IMPROVED  
PHARMACOKINETICS

### 【技術領域】

【0001】 本發明之領域為醫學、免疫學、分子生物學及蛋白質化學。

### 〔相關申請案〕

【0002】 本案主張美國臨時專利申請案第61/949,932號（2014年3月7日提申）的優先權及權益，該申請案之揭示內容以全文引用之方式併入本文中。

### 【先前技術】

【0003】 補體系統聯合身體之其他免疫系統發揮作用以防禦細胞及病毒病原體之侵入。存在至少25種補體蛋白質，發現此等蛋白質為一組複雜的血漿蛋白質及膜輔因子。血漿蛋白質在脊椎動物血清之球蛋白中佔約10%。補體組分藉由與一系列交錯但精密的裂解及膜結合事件相互作用來達成其免疫防禦功能。所得補體級聯引起具有調理素、免疫調節及溶胞功能之產物的產生。與補體活化有關之生物活性的簡明概述提供於例如Merck Manual第16版中。

【0004】 補體級聯可經由經典路徑（CP）、凝集素路徑或替代路徑（AP）進展。凝集素路徑典型地經由甘露糖結合型凝集素（MBL）結合至高甘露糖受質來起始。AP可不依賴於抗體，且可由病原體表面上的某些分子起始。CP典型地藉由抗體識別及結合至靶細胞上之抗原性位點起始。此等路徑會合於C3轉化酶（補體組分C3藉由活性蛋白酶裂解而產生C3a及C3b的位點）。

【0005】 AP C3轉化酶係藉由血液之血漿部分中豐裕之補體組分C3之自發性水解而起始。此過程（亦稱為「空轉」）係經由C3中之硫酯鍵之自發性裂解而發生，從而形成C3i或C3(H<sub>2</sub>O)。支持活化C3之結合且/或具有中性或正電荷特徵之表面（例如細菌性細胞表面）的存在有助於空轉。C3(H<sub>2</sub>O)之此形成允許血漿蛋白質因子B之結合，血漿蛋白質因子B之結合又允許因子D使因子B裂解成Ba及Bb。Bb片段保持結合至C3以形成含有C3(H<sub>2</sub>O)Bb之複合物（「流體相」或「起始」C3轉化酶）。儘管僅少量產生，但流體相C3轉化酶可使多種C3蛋白質裂解成C3a及C3b且引起C3b產生及其隨後共價結合至表面（例如細菌性表面）。與表面所結合C3b結合的因子B藉由因子D裂解，從而形成表面所結合之含有C3b,Bb的AP C3轉化酶複合物。（參見例如Müller-Eberhard (1988) *Ann Rev Biochem* 57:321-347.）。

【0006】 第二C3b單體添加至AP C3轉化酶中時，形成AP C5轉化酶（(C3b)<sub>2</sub>,Bb）。（參見例如Medicus等人 (1976) *J Exp Med* 144:1076-1093及Fearon等人 (1975) *J Exp Med* 142:856-863.）。第二C3b分子之作用為結合C5且呈遞其供Bb裂解。（參見例如Isenman等人 (1980) *J Immunol* 124:326-331.）。AP C3及C5轉化酶藉由添加三聚體蛋白質備解素(properdin)而穩定化，如例如Medicus等人 (1976)(同上)中所述。然而，備解素結合並非形成功能性替代路徑C3或C5轉化酶所必需。（參見例如Schreiber等人(1978) *Proc Natl Acad Sci USA* 75: 3948-3952及Sissons等人(1980) *Proc Natl Acad Sci USA* 77: 559-562）。

【0007】 作為C1q、C1r及C1s之複合物的補體組分C1與結合至靶抗原（例如微生物抗原）的抗體相互作用時，形成CP C3轉化酶。C1之C1q部分結合至抗體-抗原複合物引起C1發生構形變化，從而活化C1r。活性C1r接著使C1相關性C1s發生裂解，藉此產生活性絲胺酸蛋白酶。活性C1s使補體組分C4裂解成C4b及C4a。如同C3b，新產生的C4b片段含有高度反應性硫醇，其容易與標靶表面（例

如微生物細胞表面)上的適合分子形成醯胺或酯鍵。C1s亦使補體組分C2裂解成C2b及C2a。由C4b及C2a形成的複合物為CP C3轉化酶，其能夠將C3加工成C3a及C3b。C3b單體添加至CP C3轉化酶中時，形成CP C5轉化酶(C4b,C2a,C3b)。(參見例如Müller-Eberhard (1988), 同上；及Cooper等人(1970) *J Exp Med* 132:775-793.)。

**【0008】** C3b除其在C3及C5轉化酶中之作用之外，亦經由其與存在於抗原呈遞細胞(諸如巨噬細胞及樹突狀細胞)上之補體受體的相互作用而起調理素作用。C3b之調理素功能通常視為補體系統之最重要抗感染功能之一。患有阻礙C3b功能之遺傳性病變的患者傾向於被廣泛多種病原性生物體感染，而後來補體級聯順序產生病變的患者(亦即患有阻礙C5功能之病變的患者)發現僅更傾向於發生奈瑟氏菌感染(*Neisseria infection*)，接著僅在某種程度上更具傾向性。

**【0009】** AP及CP C5轉化酶使C5裂解成C5a及C5b。C5裂解而釋放C5a(一種強過敏毒素及趨化因子)及C5b(允許形成溶胞性末端補體複合物C5b-9)。C5b與C6、C7及C8組合而在靶細胞表面上形成C5b-8複合物。若干個C9分子結合時，形成攻膜複合物(MAC、C5b-9、末端補體複合物-TCC)。當足夠數目個MAC嵌入靶細胞膜時，其形成的開孔(MAC孔隙)介導靶細胞發生快速滲透性溶解。

**【0010】** 雖然恰當發揮功能的補體系統提供針對感染性微生物的穩固性防禦，但補體路徑之不當調控或活化已牽涉多種病症之發病機制，包括例如類風濕性關節炎(RA)；狼瘡腎炎；哮喘；局部缺血再灌注損傷；非典型性溶血性尿毒症候群(aHUS)；緻密沈積物疾病(DDD)；陣發性夜間血紅素尿症(PNH)；黃斑變性(例如老年性黃斑變性(AMD))；溶血、肝酶提高及低血小板(HELLP)症候群；血栓性血小板減少性紫癜症(TTP)；自發性流產；少免疫性血管炎(Pauci-immune vasculitis)；水疱性表皮鬆懈；復發性流產；多發性硬化(MS)；創傷性腦損傷；及由心肌梗塞、心肺繞通及血液透析所致的損傷。(參見例如

Holers等人(2008) *Immunological Reviews* 223:300-316.)。補體活化之下調已證明可有效治療多種動物模型中之若干疾病適應症。參見例如Rother等人(2007) *Nature Biotechnology* 25(11):1256-1264；Wang等人(1996) *Proc Natl Acad Sci USA* 93:8563-8568；Wang等人(1995) *Proc Natl Acad Sci USA* 92:8955-8959；Rinder等人(1995) *J Clin Invest* 96:1564-1572；Kroshus等人(1995) *Transplantation* 60:1194-1202；Homeister等人(1993) *J Immunol* 150:1055-1064；Weisman等人(1990) *Science* 249:146-151；Amsterdam等人(1995) *Am J Physiol* 268:H448-H457；及Rabinovici等人(1992) *J Immunol* 149:1744-1750。

### 【發明內容】

【0011】 本發明係關於具有較大改善(例如相對於用於治療目的的已知抗C5抗體)之特徵之一的抗C5抗體。舉例而言，相對於艾庫組單抗之血清排除半衰期，本文所述之抗C5抗體展現延長的血清半衰期。本文所述之抗體因其藥物動力學特性改善而提供多種優勢，例如優於結合至全長或成熟C5且抑制其裂解之其他抗C5抗體的優勢。如同此等抗C5抗體，本文所述之抗體可抑制C5a介導性發炎反應及因C5裂解所致之C5b (MAC) 依賴性細胞溶解。然而，由於C5在人類血漿中之濃度為約 0.37  $\mu\text{M}$  (Rawal 及 Pangburn (2001) *J Immunol* 166(4):2635-2642)，因此有效抑制人體中之C5通常需要使用高濃度之抗C5抗體且/或頻繁投予抗C5抗體，諸如艾庫組單抗。本發明在實施例中闡述的實驗性資料證明，雖然抗C5抗體在試管內及活體內高效抑制補體(參見例如Hillmen等人(2004) *N Engl J Med* 350(6):552)，但抗體因C5在血液中之濃度高而對標靶介導性清除特別敏感。本發明亦顯示本文所述之新穎抗體對於標靶介導性清除的敏感性降低且因此在血液中具有比先前已知之抗C5抗體更長的血清排除半衰期(半衰期)。

【0012】 本文所述之抗體鑒於其半衰期更長，因此可以比先前已知之抗C5抗體（諸如艾庫組單抗）低得多的劑量及/或更低的頻率投予人類且對人體中之C5有效提供相同或更大的抑制作用。相較於例如艾庫組單抗劑量，能夠投予更低劑量的抗體亦允許其他遞送途徑，諸如皮下投藥、肌內投藥、肺內遞送，及經由使用生物可降解微球粒投藥。

【0013】 因此，在一個態樣中，本發明提供相對於艾庫組單抗具有一或多種改善之特性（例如改善之藥物動力學特性）的抗C5抗體。該抗體或其C5結合片段為（a）結合至補體組分C5；（b）抑制C5裂解成片段C5a及C5b；及（c）包含以下之抗體或其C5結合片段：（i）包含SEQ ID NO: 1中所述之胺基酸序列的重鏈CDR1，（ii）包含SEQ ID NO: 2中所述之胺基酸序列的重鏈CDR2，（iii）包含SEQ ID NO: 3中所述之胺基酸序列的重鏈CDR3，（iv）包含SEQ ID NO: 4中所述之胺基酸序列的輕鏈CDR1，（v）包含SEQ ID NO: 5中所述之胺基酸序列的輕鏈CDR2，及（vi）包含SEQ ID NO: 6中所述之胺基酸序列的輕鏈CDR3，其中（i）至（vi）中之至少一個（例如至少兩個、至少三個、至少四個、至少五個、至少六個、至少七個或至少八個）胺基酸係經不同胺基酸取代。在一些具體實例中，C5為人類C5。

【0014】 在本文所述抗體或片段中之任一者的一些具體實例中，重鏈CDR1中之至少一個胺基酸經不同胺基酸取代。在本文所述抗體或片段中之任一者的一些具體實例中，重鏈CDR2中之至少一個胺基酸係經不同胺基酸取代。在本文所述抗體或片段中之任一者的一些具體實例中，重鏈CDR3中之至少一個胺基酸經不同胺基酸取代。

【0015】 在本文所述抗體或片段中之任一者的一些具體實例中，輕鏈CDR1中之至少一個胺基酸經不同胺基酸取代。在本文所述抗體或片段中之任一者的一些具體實例中，相對於SEQ ID NO: 4而言位於位置8之甘胺酸經不同胺基

酸（例如組胺酸）取代。

【0016】 在本文所述抗體或片段中之任一者的一些具體實例中，輕鏈 CDR2中之至少一個胺基酸經不同胺基酸取代。在本文所述抗體或片段中之任一者的一些具體實例中，輕鏈CDR3中之至少一個胺基酸經不同胺基酸取代。

【0017】 在本文所述抗體或片段中之任一者的一些具體實例中，取代係在選自由以下組成之群的胺基酸位置發生：相對於SEQ ID NO: 1而言位於位置1之甘胺酸；相對於SEQ ID NO: 1而言位於位置2之酪胺酸；相對於SEQ ID NO: 1而言位於位置3之異白胺酸；相對於SEQ ID NO: 1而言位於位置4之苯丙胺酸；相對於SEQ ID NO: 1而言位於位置5之絲胺酸；相對於SEQ ID NO: 1而言位於位置6之天冬醯胺酸；相對於SEQ ID NO: 1而言位於位置7之酪胺酸；相對於SEQ ID NO: 1而言位於位置8之色胺酸、相對於SEQ ID NO: 1而言位於位置9之異白胺酸、相對於SEQ ID NO: 1而言位於位置10之麩醯胺酸、相對於SEQ ID NO: 2而言位於位置1之麩胺酸、相對於SEQ ID NO: 2而言位於位置2之異白胺酸、相對於SEQ ID NO: 2而言位於位置3之白胺酸、相對於SEQ ID NO: 2而言位於位置4之脯胺酸、相對於SEQ ID NO: 2而言位於位置5之甘胺酸、相對於SEQ ID NO: 2而言位於位置6之絲胺酸、相對於SEQ ID NO: 2而言位於位置7之甘胺酸、相對於SEQ ID NO: 2而言位於位置8之絲胺酸、相對於SEQ ID NO: 2而言位於位置9之蘇胺酸、相對於SEQ ID NO: 2而言位於位置10之麩胺酸、相對於SEQ ID NO: 2而言位於位置11之酪胺酸、相對於SEQ ID NO: 2而言位於位置12之蘇胺酸、相對於SEQ ID NO: 2而言位於位置13之麩胺酸、相對於SEQ ID NO: 2而言位於位置14之天冬醯胺酸、相對於SEQ ID NO: 2而言位於位置15之苯丙胺酸、相對於SEQ ID NO: 2而言位於位置16之離胺酸、相對於SEQ ID NO: 2而言位於位置17之天冬胺酸、相對於SEQ ID NO: 3而言位於位置1之酪胺酸、相對於SEQ ID NO: 3而言位於位置2之苯丙胺酸、相對於SEQ ID NO: 3而言位於位置3之苯丙胺酸、相對於SEQ ID

NO: 3而言位於位置4之甘胺酸、相對於SEQ ID NO: 3而言位於位置5之絲胺酸、相對於SEQ ID NO: 3而言位於位置6之絲胺酸、相對於SEQ ID NO: 3而言位於位置7之脯胺酸、相對於SEQ ID NO: 3而言位於位置8之天冬醯胺酸、相對於SEQ ID NO: 3而言位於位置9之色胺酸、相對於SEQ ID NO: 3而言位於位置10之酪胺酸、相對於SEQ ID NO: 3而言位於位置11之苯丙胺酸、相對於SEQ ID NO: 3而言位於位置12之天冬胺酸，及相對於SEQ ID NO: 3而言位於位置13之纈胺酸。

【0018】 在本文所述抗體或片段中之任一者的一些具體實例中，取代係在選自由以下組成之群的胺基酸位置發生：相對於SEQ ID NO: 4而言位於位置8之甘胺酸、相對於SEQ ID NO: 4而言位於位置10之白胺酸、相對於SEQ ID NO: 6而言位於位置3之纈胺酸，及相對於SEQ ID NO: 6而言位於位置6之蘇胺酸。

【0019】 在本文所述抗體或片段中之任一者的一些具體實例中，取代係在選自由以下組成之群的胺基酸位置發生：相對於SEQ ID NO: 1而言位於位置2之酪胺酸、相對於SEQ ID NO: 1而言位於位置9之異白胺酸、相對於SEQ ID NO: 2而言位於位置3之白胺酸，及相對於SEQ ID NO: 2而言位於位置8之絲胺酸。

【0020】 在本文所述抗體或片段中之任一者的一些具體實例中，相對於SEQ ID NO: 1而言位於位置2之酪胺酸與相對於SEQ ID NO: 2而言位於位置3之白胺酸均經不同胺基酸取代。在本文所述抗體或片段中之任一者的一些具體實例中，該不同胺基酸為組胺酸。

【0021】 在本文所述抗體或片段中之任一者的一些具體實例中，相對於SEQ ID NO: 1而言位於位置9之異白胺酸與相對於SEQ ID NO: 2而言位於位置8之絲胺酸均經不同胺基酸取代。在本文所述抗體或片段中之任一者的一些具體實例中，相對於SEQ ID NO: 1而言位於位置9之異白胺酸與相對於SEQ ID NO: 2而言位於位置3之白胺酸均經不同胺基酸取代。在本文所述抗體或片段中之任一者的一些具體實例中，該不同胺基酸為組胺酸。

【0022】 在本文所述抗體或片段中之任一者的一些具體實例中，相對於SEQ ID NO: 1而言位於位置2之酪胺酸與相對於SEQ ID NO: 2而言位於位置8之絲胺酸均經不同胺基酸取代。在本文所述抗體或片段中之任一者的一些具體實例中，抗體或抗原結合片段包含選自表1之胺基酸取代之組合。在本文所述抗體或片段中之任一者的一些具體實例中，該不同胺基酸為組胺酸。

【0023】 在本文所述抗體或片段中之任一者的一些具體實例中，胺基酸取代之組合包含：(i) 抗體或其抗原結合片段之輕鏈多肽中之相對於SEQ ID NO: 4而言位於位置8之甘胺酸經不同胺基酸取代；(ii) 抗體或其抗原結合片段之重鏈多肽中之相對於SEQ ID NO: 1而言位於位置2之甘胺酸經不同胺基酸取代；及(iii) 抗體或其抗原結合片段之重鏈多肽中之相對於SEQ ID NO: 2而言位於位置8之絲胺酸經不同胺基酸取代。在本文所述抗體或片段中之任一者的一些具體實例中，該不同胺基酸為組胺酸。

【0024】 在本文所述抗體或片段中之任一者的一些具體實例中，相對於SEQ ID NO: 1而言位於位置2之酪胺酸與相對於SEQ ID NO: 2而言位於位置8之絲胺酸係經組胺酸取代。在本文所述抗體或片段中之任一者的一些具體實例中，該不同胺基酸為組胺酸。

【0025】 在一些具體實例中，本文所述抗體或片段中之任一者在pH 7.4及25°C下、以 $0.1\text{ nM} \leq K_D \leq 1\text{ nM}$ 範圍內之親和性解離常數( $K_D$ )結合至C5。在一些具體實例中，本文所述抗體或片段中之任一者在pH 7.4及25°C下、以 $0.2\text{ nM} \leq K_D \leq 1\text{ nM}$ 範圍內之 $K_D$ 結合至C5。在一些具體實例中，本文所述抗體或片段中之任一者在pH 7.4及25°C下、以 $0.5\text{ nM} \leq K_D \leq 1\text{ nM}$ 範圍內之 $K_D$ 結合至C5。

【0026】 在一些具體實例中，本文所述抗體或片段中之任一者在pH 6.0及25°C下、以 $\geq 1\text{ nM}$ （例如 $\geq 50\text{ nM}$ 、 $\geq 100\text{ nM}$ 或 $\geq 1\text{ }\mu\text{M}$ ）之 $K_D$ 結合至C5。

【0027】 在本文所述抗體或片段中之任一者的一些具體實例中，[(抗體或

其抗原結合片段在pH 6.0及25°C 針對C5之 $K_D$ )/(抗體或其抗原結合片段在pH 7.4及25°C 針對C5之 $K_D$ )]大於25。在本文所述抗體或片段之一些具體實例中，[(抗體或其抗原結合片段在pH 6.0及25°C 針對C5之 $K_D$ )/(抗體或其抗原結合片段在pH 7.4及25°C 針對C5之 $K_D$ )]大於100 (例如大於200、300、400、500、600、700、800、900、1000、1200、1400、1500、1600、1800、2000、2500、3000、3500、4000、4500、5000、5500、6000、6500、7000、7500、8000或8500)。

【0028】 在本文所述抗體或片段中之任一者的一些具體實例中，抗體或其抗原結合片段在pH 7.4及25°C 針對C5之 $K_D$ 小於1 (例如小於0.9、0.8、0.7、0.6、0.5、0.4、0.3、0.2或0.1) nM。

【0029】 依據如實施例中所述之若干變異型艾庫組單抗分子之特性化，本發明人發現相較於艾庫組單抗具有改善之藥物動力學特性的一類新穎抗體。屬於此類別範圍內之抗體在pH 7.4針對C5的親和力比艾庫組單抗在pH 7.4針對C5之親和力弱。然而此等抗體在pH 7.4針對C5的親和性解離常數 ( $K_D$ ) 等於或低於1 nM。雖然本發明不受任何特定理論或作用機制束縛，但本發明人認為，艾庫組單抗在pH 7.4針對C5之親和力稍微降低及其隨後對於抗體在pH 6.0針對C5之親和力的影響、同時在pH7.4及pH 6.0維持相同/相似的親和力比率將實質上減少C5介導性抗體清除，而對所得抗體在患者中之補體抑制性功能無實質上影響。因此，本發明人已定義產生改善之藥物動力學特性、同時保持必需藥效學特性之抗C5抗體的最佳親和力範圍 (各相對於艾庫組單抗而言)。因此，在另一態樣中，本發明提供經分離的抗體或其抗原結合片段，其 (a) 在pH 7.4及25°C 下、以 $\leq 1$  nM之親和性解離常數 ( $K_D$ ) 結合至補體組分C5；(b) 在pH 6.0及25°C 下、以不低於10 nM之 $K_D$ 結合至C5；(c) 抑制C5裂解成片段C5a及C5b，其中 [(抗體或其抗原結合片段在pH 6.0及25°C 針對C5之 $K_D$ )/(抗體或其抗原結合片段在pH 7.4及25°C 針對C5之 $K_D$ )]大於或等於25。

【0030】 在一些具體實例中，抗體或其抗原結合片段在pH 7.4及25°C下、以 $0.1 \text{ nM} \leq K_D \leq 1 \text{ nM}$ 範圍內之親和性解離常數 ( $K_D$ ) 結合至C5。在一些具體實例中，抗體或其抗原結合片段在pH 7.4及25°C下、以 $0.2 \text{ nM} \leq K_D \leq 1 \text{ nM}$ 範圍內之 $K_D$ 結合至C5。在一些具體實例中，抗體或其抗原結合片段在pH 7.4及25°C下、以 $0.5 \text{ nM} \leq K_D \leq 1 \text{ nM}$ 範圍內之 $K_D$ 結合至C5。在一些具體實例中，抗體或其抗原結合片段在pH 6.0及25°C下、以 $\geq 1 \text{ nM}$ 之 $K_D$ 結合至C5。在一些具體實例中，抗體或其抗原結合片段在pH 6.0及25°C下、以 $\geq 50 \text{ nM}$ 之 $K_D$ 結合至C5。在一些具體實例中，抗體或其抗原結合片段在pH 6.0及25°C下、以 $\geq 100 \text{ nM}$ 之 $K_D$ 結合至C5。在一些具體實例中，抗體或其抗原結合片段在pH 6.0及25°C下、以 $\geq 1 \text{ }\mu\text{M}$ 之 $K_D$ 結合至C5。

【0031】 在一些具體實例中，[(抗體或其抗原結合片段在pH 6.0及25°C針對C5之 $K_D$ )/(抗體或其抗原結合片段在pH 7.4及25°C針對C5之 $K_D$ )]大於50（例如大於60、70、80、90、100、150、200、250、300、350、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1500、2000、2500、3000、3500、4000、4500、5000、5500、6000、6500、7000、7500、8000或8500）。

【0032】 在一些具體實例中，抗體或其抗原結合片段在pH 7.4及25°C下、以 $< 1 \text{ nM}$ 之 $K_D$ 結合至C5。在一些具體實例中，抗體或其抗原結合片段在pH 7.4及25°C下、以 $< 0.8 \text{ nM}$ 之 $K_D$ 結合至C5。在一些具體實例中，抗體或其抗原結合片段在pH 7.4及25°C下、以 $< 0.5 \text{ nM}$ 之 $K_D$ 結合至C5。在一些具體實例中，抗體或其抗原結合片段在pH 7.4及25°C下、以 $< 0.2 \text{ nM}$ 之 $K_D$ 結合至C5。

【0033】 在一些具體實例中，抗體或其抗原結合片段包含：(i) 包含SEQ ID NO: 1中所述之胺基酸序列的重鏈CDR1；(ii) 包含SEQ ID NO: 2中所述之胺基酸序列的重鏈CDR2；(iii) 包含SEQ ID NO: 3中所述之胺基酸序列的重鏈CDR3；(iv) 包含SEQ ID NO: 4中所述之胺基酸序列的輕鏈CDR1；(v) 包含SEQ ID NO: 5中所述之胺基酸序列的輕鏈CDR2；及(vi) 包含SEQ ID NO: 6中所述

之胺基酸序列的輕鏈CDR3，其中(i)至(vi)中之至少一個胺基酸經不同胺基酸取代。該不同胺基酸可為任何胺基酸(例如組胺酸)。在一些具體實例中，重鏈CDR1中之至少一個胺基酸經不同胺基酸取代。在一些具體實例中，重鏈CDR2中之至少一個胺基酸經不同胺基酸取代。在一些具體實例中，重鏈CDR3中之至少一個胺基酸經不同胺基酸取代。在一些具體實例中，輕鏈CDR1中之至少一個胺基酸經不同胺基酸取代。在一些具體實例中，輕鏈CDR2中之至少一個胺基酸經不同胺基酸取代。在一些具體實例中，輕鏈CDR3中之至少一個胺基酸經不同胺基酸取代。

【0034】 在一些具體實例中，取代係在選自由以下組成之群的胺基酸位置發生：相對於SEQ ID NO: 4而言位於位置8之甘胺酸、相對於SEQ ID NO: 4而言位於位置10之白胺酸、相對於SEQ ID NO: 6而言位於位置3之纈胺酸及相對於SEQ ID NO: 6而言位於位置6之蘇胺酸。在一些具體實例中，取代係選自由以下組成之群的胺基酸位置發生：相對於SEQ ID NO: 1而言位於位置2之酪胺酸、相對於SEQ ID NO: 1而言位於位置9之異白胺酸、相對於SEQ ID NO: 2而言位於位置3之白胺酸及相對於SEQ ID NO: 2而言位於位置8之酪胺酸。在一些具體實例中，抗體或抗原結合片段包含選自表1之胺基酸取代之組合。

【0035】 在一些具體實例中，引入CDR中之胺基酸取代之組合包含：(i) 抗體或其抗原結合片段之輕鏈多肽中之相對於SEQ ID NO: 4而言位於位置8之甘胺酸經不同胺基酸取代；(ii) 抗體或其抗原結合片段之重鏈多肽中之相對於SEQ ID NO: 1而言位於位置2之甘胺酸經不同胺基酸取代；及(iii) 抗體或其抗原結合片段之重鏈多肽中之相對於SEQ ID NO: 2而言位於位置8之絲胺酸經不同胺基酸取代。

【0036】 在一些具體實例中，胺基酸取代之組合包含：(i) 抗體或其抗原結合片段之重鏈多肽中之相對於SEQ ID NO: 1而言位於位置2之甘胺酸經不同胺

基酸取代；及(ii)抗體或其抗原結合片段之重鏈多肽中之相對於SEQ ID NO: 2而言位於位置8之絲胺酸經不同胺基酸取代。

【0037】 在一些具體實例中，相對於SEQ ID NO: 1而言位於位置2之酪胺酸與相對於SEQ ID NO: 2而言位於位置8之絲胺酸係經取代（例如經組胺酸取代）。

【0038】 在一些具體實例中，抗體或其片段中之任一者包含變異型人類Fc恆定區（例如變異型人類IgG Fc恆定區），其結合人類新生兒Fc受體（FcRn）的親和力大於變異型人類Fc恆定區所來源之原生人類Fc恆定區。相對於變異型人類Fc恆定區所來源之原生人類Fc恆定區，變異型Fc恆定區可包含一或多個（例如兩個、三個、四個或五個或超過五個）胺基酸取代。相對於原生人類Fc恆定區，取代可位於例如胺基酸位置237、238、239、248、250、252、254、255、256、257、258、265、270、286、289、297、298、303、305、307、308、309、311、312、314、315、317、325、332、334、360、376、380、382、384、385、386、387、389、424、428、433、434、或436（EU編號）。取代可為選自由以下組成之群的取代：位置237之甘胺酸經甲硫胺酸取代；位置238之脯胺酸經丙胺酸取代；位置239之絲胺酸經離胺酸取代；位置248之離胺酸經異白胺酸取代；位置250之蘇胺酸經丙胺酸、苯丙胺酸、異白胺酸、甲硫胺酸、麩醯胺酸、絲胺酸、纈胺酸、色胺酸或酪胺酸取代；位置252之甲硫胺酸經苯丙胺酸、色胺酸或酪胺酸取代；位置254之絲胺酸經蘇胺酸取代；位置255之精胺酸經麩胺酸取代；位置256之蘇胺酸經天冬胺酸、麩胺酸或麩醯胺酸取代；位置257之脯胺酸經丙胺酸、甘胺酸、異白胺酸、白胺酸、甲硫胺酸、天冬醯胺酸、絲胺酸、蘇胺酸或纈胺酸取代；位置258之麩胺酸經組胺酸取代；位置265之天冬胺酸經丙胺酸取代；位置270之天冬胺酸經苯丙胺酸取代；位置286之天冬醯胺酸經丙胺酸或麩胺酸取代；位置289之蘇胺酸經組胺酸取代；位置297之天冬醯胺酸經丙胺酸

取代；位置298之絲胺酸經甘胺酸取代；位置303之纈胺酸經丙胺酸取代；位置305之纈胺酸經丙胺酸取代；位置307之蘇胺酸經丙胺酸、天冬胺酸、苯丙胺酸、甘胺酸、組胺酸、異白胺酸、離胺酸、白胺酸、甲硫胺酸、天冬醯胺酸、脯胺酸、麩醯胺酸、精胺酸、絲胺酸、纈胺酸、色胺酸或酪胺酸取代；位置308之纈胺酸經丙胺酸、苯丙胺酸、異白胺酸、白胺酸、甲硫胺酸、脯胺酸、麩醯胺酸或蘇胺酸取代；位置309之白胺酸或纈胺酸經丙胺酸、天冬胺酸、麩胺酸、脯胺酸或精胺酸取代；位置311之麩醯胺酸經丙胺酸、組胺酸或異白胺酸取代；位置312之天冬胺酸經丙胺酸或組胺酸取代；位置314之白胺酸經離胺酸或精胺酸取代；位置315之天冬醯胺酸經丙胺酸或組胺酸取代；位置317之離胺酸經丙胺酸取代；位置325之天冬醯胺酸經甘胺酸取代；位置332之異白胺酸經纈胺酸取代；位置334之離胺酸經白胺酸取代；位置360之離胺酸經組胺酸取代；位置376之天冬胺酸經丙胺酸取代；位置380之麩胺酸經丙胺酸取代；位置382之麩胺酸經丙胺酸取代；位置384之天冬醯胺酸或絲胺酸經丙胺酸取代；位置385之甘胺酸經天冬胺酸或組胺酸取代；位置386之麩醯胺酸經脯胺酸取代；位置387之脯胺酸經麩胺酸取代；位置389之天冬醯胺酸經丙胺酸或絲胺酸取代；位置424之絲胺酸經丙胺酸取代；位置428之甲硫胺酸經丙胺酸、天冬胺酸、苯丙胺酸、甘胺酸、組胺酸、異白胺酸、離胺酸、白胺酸、天冬醯胺酸、脯胺酸、麩醯胺酸、絲胺酸、蘇胺酸、纈胺酸、色胺酸或酪胺酸取代；位置433之組胺酸經離胺酸取代；位置434之天冬醯胺酸經丙胺酸、苯丙胺酸、組胺酸、絲胺酸、色胺酸或酪胺酸取代；及位置436之酪胺酸或苯丙胺酸經組胺酸取代，所有位置均使用EU編號。

**【0039】** 在本文所述抗體或抗原結合片段中之任一者的一些具體實例中，變異型人類Fc恆定區包含位置428之甲硫胺酸及位置434之天冬醯胺酸，各使用EU編號。

**【0040】** 在一些具體實例中，抗體或其抗原結合片段中之任一者可包含以

下或由以下組成：包含SEQ ID NO: 12中所述之胺基酸序列的重鏈多肽及包含SEQ ID NO: 8或11中所述之胺基酸序列的輕鏈多肽。

【0041】 本發明亦提供包含以下之抗體：艾庫組單抗之重鏈可變區(SEQ ID NO: 7)或艾庫組單抗重鏈區之CDR (SEQ ID NO: 1-3) 及本文所述之變異型人類Fc恆定區中之任一者，例如包含位置428之甲硫胺酸及位置434之天冬醯胺酸的變異型人類Fc恆定區，各使用EU編號。

【0042】 在一個具體實例中，相對於艾庫組單抗在血清中之半衰期，抗體或抗原結合片段在人體中的半衰期延長。如本文所用之半衰期定義為抗體藥物在體內之血漿濃度降低一半或50%所花費之時間。血清濃度之此50%降幅反映循環且未藉由抗體清除之天然方法移除的藥物之量。艾庫組單抗半衰期已測定在PNH患者中為272+82小時或11.3天且在aHUS患者中為12.1天（參見Soliris處方資訊）。本文所述之抗體或片段在人體中之半衰期相對於艾庫組單抗在人體中之半衰期而言延長。半衰期相對於艾庫組單抗而言之延長可為艾庫組單抗半衰期之至少1.5倍、艾庫組單抗半衰期之至少2倍、艾庫組單抗半衰期之至少2.5倍或艾庫組單抗半衰期之至少3倍。

【0043】 在本文所述抗體或片段中之任一者的一些具體實例中，抗體在人體中的血清半衰期大於或為至少10（例如大於或至少11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39或40）天。在一些具體實例中，此半衰期（或相對於艾庫組單抗而言延長之半衰期）可藉由含有天然產生之人類Fc恆定區的本文所述抗體達成。在一些具體實例中，相對於包含本文所述之變異型人類Fc恆定區的抗體而言量測半衰期。本文所述之抗體或片段在人體中之半衰期相對於艾庫組單抗在人體中之半衰期而言可延長。本文所述之抗體在人體中之半衰期為至少25天、至少26天、至少27天、至少28天、至少29天、至少30天、至少31天、

至少32天、至少33天、至少34天或至少35天。

【0044】 在一些具體實例中，本文所述之抗體或片段中之任一者為人類化、完全人類、去免疫或嵌合的。在一些具體實例中，本文所述之抗體或其片段可為例如重組抗體、單鏈抗體、雙功能抗體、胞內抗體、Fv片段、Fd片段、Fab片段、Fab'片段及F(ab')<sub>2</sub>片段。

【0045】 在一些具體實例中，本文所述之抗體或其片段中之任一者可包含異質部分，例如糖。舉例而言，抗體或其片段可經糖基化。異質部分亦可為可偵測標記，例如螢光標記、發光標記、重金屬標記、放射性標記或酶標記。

【0046】 在一些具體實例中，本文所述之抗體或其抗原結合片段中之任一者可經改善以下中之一或兩者的部分修飾：(a) 抗體或其抗原結合片段在循環中之穩定化及(b) 抗體或其抗原結合片段在循環中之保持。此部分可為PEG（聚乙二醇化）。

【0047】 在又一態樣中，本發明提供編碼本文所述抗體或抗原結合片段中之任一者之重鏈及輕鏈多肽中之一或兩者的核酸。亦提供一種包含該核酸的載體（例如選殖或表現載體）及包含該載體的細胞（例如昆蟲細胞、細菌細胞、真菌細胞或哺乳動物細胞）。本發明進一步提供一種製備本文所述抗體或其抗原結合片段中之任一者的方法。方法包括視情況提供含有表現載體（整合式或染色體外）的上述細胞（或細胞培養物），該載體含有編碼本文所述抗體或抗原結合片段中之任一者之重鏈及輕鏈多肽中之一或兩者的核酸。細胞或細胞培養物係藉由足以允許細胞（或細胞培養物）表現由核酸編碼之抗體或其抗原結合片段的條件及時間培養。方法亦可包括自細胞（培養之細胞）或自培養細胞之培養基中分離抗體或其抗原結合片段。

【0048】 在另一態樣中，本發明提供包含醫藥學上可接受之載劑及本文所述抗體或其抗原結合片段中之任何一者或多者的醫藥組成物。

【0049】 在另一態樣中，本發明提供一種治療性套組，其包含：(i) 本文所述抗體或其抗原結合片段中之任一者或多者及(ii) 用於遞送抗體或其抗原結合片段至人類之工具。工具可為例如注射器或泵浦。

【0050】 在又一態樣中，本發明提供一種製品，其包含：包含標籤及本文所述抗體或其抗原結合片段之任一者或多者的容器，其中標籤指示組成物欲投予患有、懷疑患有或處於發展補體相關病狀之風險中的人類。製品可進一步包含一或多種其他活性治療劑用於治療患有、懷疑患有或處於發展補體相關病狀之風險中的人類。

【0051】 在另一態樣中，本發明提供一種治療罹患補體相關病狀之患者的方法，該方法包含將本文所述抗體或其抗原結合片段中之任一者或多者以有效治療補體相關病狀之量投予該個體。補體相關病狀可為例如選自由以下組成之群的補體相關病狀：類風濕性關節炎、抗磷脂抗體症候群、狼瘡腎炎、局部缺血再灌注損傷、非典型性溶血性尿毒症候群、典型溶血性尿毒症候群、陣發性夜間血紅素尿症、緻密沈積物疾病、視神經脊髓炎、多灶性運動神經病變、多發性硬化、黃斑變性、HELLP症候群、自發性流產、血栓性血小板減少性紫癜症、少免疫性血管炎、水疱性表皮鬆解、復發性流產、創傷性腦損傷、心肌炎、腦血管病症、周邊血管病症、腎血管病症、腸系膜/腸血管病症、血管炎、亨諾-施恩萊茵氏紫癜病腎炎 (Henoch-Schönlein purpura nephritis)、全身性紅斑狼瘡相關性血管炎、類風濕性關節炎相關性血管炎、免疫複合物血管炎、高安氏疾病 (Takayasu's disease)、擴張型心肌症、糖尿病性血管病變、川崎氏疾病 (Kawasaki's disease)、靜脈氣體血栓、支架置入術後之再狹窄、旋轉性斑塊切除術 (rotational atherectomy)、經皮經管腔冠狀血管成形術、重症肌無力、冷凝集素病、皮肌炎、陣發性冷血紅素尿症、抗磷脂症候群、格雷夫氏疾病 (Graves' disease)、動脈粥樣硬化、阿茲海默氏病 (Alzheimer's disease)、全身性發炎反應

敗血症、敗血性休克、脊髓損傷、絲球體腎炎、移植排斥（例如腎臟移植）、橋本氏甲狀腺炎（Hashimoto's thyroiditis）、I型糖尿病、牛皮癬、天庖瘡、自體免疫性溶血性貧血、特發性血小板減少性紫癜、古巴士德氏症候群（Goodpasture's syndrome）、德戈斯疾病（Degos disease）及嚴重抗磷脂症候群。

【0052】 如本文所使用，術語「抗體」係指包含兩個輕鏈多肽及兩個重鏈多肽的全抗體。全抗體包括不同抗體同型，包括IgM、IgG、IgA、IgD及IgE抗體。術語「抗體」包括多株抗體、單株抗體、經嵌合之抗體或嵌合抗體、人類化抗體、靈長類化抗體、去免疫型抗體及完全人類抗體。抗體可產生於或可來源於多種物種中之任一者，例如哺乳動物，諸如人類、非人類靈長類動物（例如猩猩、狒狒或黑猩猩）、馬、牛、豬、綿羊、山羊、狗、貓、兔、豚鼠、沙鼠、倉鼠、大鼠及小鼠。抗體可為純化抗體或重組抗體。

【0053】 如本文所使用，術語「抗體片段」、「抗原結合片段」或類似術語係指保持結合至靶抗原（例如人類C5）之能力且抑制靶抗原活性的抗體片段。此等片段包括例如單鏈抗體、單鏈Fv片段（scFv）、Fd片段、Fab片段、Fab'片段或F(ab')<sub>2</sub>片段。scFv片段為包括scFv所來源之抗體之重鏈與輕鏈可變區的單一多肽鏈。另外，胞內抗體、微型抗體、三功能抗體及雙功能抗體亦包括於抗體定義中且適宜用於本文所述之方法中。參見例如Todorovska等人(2001) *J Immunol Methods* 248(1):47-66；Hudson及Kortt (1999) *J Immunol Methods* 231(1):177-189；Poljak (1994) *Structure* 2(12):1121-1123；Rondon及Marasco (1997) *Annual Review of Microbiology* 51:257-283，各文獻之揭示內容以全文引用的方式併入本文中。

【0054】 如本文所使用，術語「抗體片段」亦包括例如單域抗體，諸如駱駝化單域抗體。參見例如Muyldermans等人(2001) *Trends Biochem Sci* 26:230-235；Nuttall等人(2000) *Curr Pharm Biotech* 1:253-263；Reichmann等人(1999) *J Immunol Meth* 231:25-38；PCT申請公開案第WO 94/04678號及第WO

94/25591號；及美國專利第6,005,079號，以上所有文獻均以全文引用的方式併入本文中。在一些具體實例中，本發明提供單域抗體，其包含兩個經修飾從而形成單域抗體之VH域。

**【0055】** 在一些具體實例中抗原結合片段包括重鏈多肽之可變區及輕鏈多肽之可變區。在一些具體實例中，本文所述之抗原結合片段包含抗體之輕鏈及重鏈多肽之CDR。

**【0056】** 除非另外定義，否則本文所用之全部科學及技術術語具有與一般熟習本發明所屬技術者通常所理解相同的含義。雖然下文描述較佳方法及材料，但在實施或測試本發明揭示之方法及組成物時亦可使用與本文所述者相似或等效之方法及材料。本文中所提及之所有公開案、專利申請案、專利及其他參考文獻均以全文引用的方式併入本文中。

**【0057】** 本發明之其他特徵及優勢（例如治療或預防補體相關病狀的方法）自以下實施方式、實例及申請專利範圍將顯而易見。

#### 序列之簡單說明

**SEQ ID NO: 1**描述艾庫組單抗之重鏈CDR1之胺基酸序列（如根據組合之Kabat-Chothia定義所定義）。

**SEQ ID NO: 2**描述艾庫組單抗之重鏈CDR2之胺基酸序列（如根據Kabat定義所定義）。

**SEQ ID NO: 3**描述艾庫組單抗之重鏈CDR3之胺基酸序列（如根據組合之Kabat定義所定義）。

**SEQ ID NO: 4**描述艾庫組單抗之輕鏈CDR1之胺基酸序列（如根據Kabat定義所定義）。

**SEQ ID NO: 5**描述艾庫組單抗之輕鏈CDR2之胺基酸序列（如根據Kabat定義所定義）。

**SEQ ID NO: 6**描述艾庫組單抗之輕鏈CDR3之胺基酸序列（如根據Kabat定義所定義）。

**SEQ ID NO: 7**描述艾庫組單抗之重鏈可變區之胺基酸序列。

**SEQ ID NO: 8**描述艾庫組單抗及BNJ441抗體之輕鏈可變區之胺基酸序列。

**SEQ ID NO: 9**描述艾庫組單抗之重鏈可變區之胺基酸序列。

**SEQ ID NO: 10**描述艾庫組單抗之整個重鏈之胺基酸序列。

**SEQ ID NO: 11**描述艾庫組單抗及BNJ441抗體之整個輕鏈之胺基酸序列。

**SEQ ID NO: 12**描述BNJ441抗體之重鏈可變區之胺基酸序列。

**SEQ ID NO: 13**描述BNJ441抗體之重鏈恆定區之胺基酸序列。

**SEQ ID NO: 14**描述BNJ441抗體之整個重鏈之胺基酸序列。

**SEQ ID NO: 15**描述包含YTE取代之IgG2重鏈恆定區變異體之胺基酸序列。

**SEQ ID NO: 16**描述包含SEQ ID NO: 15（上文）所述之重鏈恆定區的艾庫組單抗變異體之整個重鏈之胺基酸序列。

**SEQ ID NO: 17**描述艾庫組單抗之輕鏈CDR1之胺基酸序列（如根據Kabat定義所定義），其中相對於SEQ ID NO: 4而言位於位置8之甘胺酸經組胺酸取代。

**SEQ ID NO: 18**描述BNJ423抗體之輕鏈之胺基酸序列。

**SEQ ID NO: 19**描述艾庫組單抗之重鏈CDR2之胺基酸序列，其中相對於SEQ ID NO: 2而言位於位置8之絲胺酸經組胺酸取代。

**SEQ ID NO: 20**描述所謂「FLAG」標記之胺基酸序列。

**SEQ ID NO: 21**描述常用作抗原標記的聚組胺酸序列。

**SEQ ID NO: 22**描述所謂紅血球凝集素標記之胺基酸序列。

**SEQ ID NO: 23**描述艾庫組單抗之重鏈CDR1之胺基酸序列，其中位置2（相對於SEQ ID NO: 1而言）之酪胺酸經組胺酸取代。

**SEQ ID NO: 24**描述EHG303抗體之重鏈多肽胺基酸序列。

- SEQ ID NO: 25**描述EHG303抗體之輕鏈多肽胺基酸序列。
- SEQ ID NO: 26**描述EHL049抗體之重鏈多肽之胺基酸序列。
- SEQ ID NO: 27**描述EHL049抗體之輕鏈多肽之胺基酸序列。
- SEQ ID NO: 28**描述EHL000重鏈多肽胺基酸序列。
- SEQ ID NO: 29**描述EHL000抗體之輕鏈多肽之胺基酸序列。
- SEQ ID NO: 30**描述BHL006之輕鏈多肽胺基酸序列。
- SEQ ID NO: 31**描述BHL006抗體之重鏈多肽之胺基酸序列。
- SEQ ID NO: 32**描述BHL009抗體之輕鏈多肽之胺基酸序列。
- SEQ ID NO: 33**描述BHL009抗體重鏈之胺基酸序列。
- SEQ ID NO: 34**描述BHL0011抗體輕鏈之胺基酸序列。
- SEQ ID NO: 35**描述BHL011抗體重鏈之胺基酸序列。

**【圖式簡單說明】**

**【0058】**

[圖1]為描繪艾庫組單抗在外源性人類C5存在或不存在下自人類FcRn轉殖基因小鼠血清中清除的線圖。Y軸表示血清中剩餘抗體之百分比且X軸表示時間（天數）。

[圖2]為描繪具有IgG2恆定區之艾庫組單抗變異體（Ecu-IgG2）及含有YTE取代之Ecu-IgG2抗體（Ecu-IgG2(YTE)）自小鼠血清中清除的線圖。Y軸表示血清中剩餘抗體之百分比且X軸表示時間（天數）。

[圖3]為具有IgG2恆定區之艾庫組單抗變異體（Ecu-IgG2）及含有YTE取代之Ecu-IgG2抗體（Ecu-IgG2(YTE)）自小鼠血清中清除的線圖。實驗係在外源性人類C5存在或不存在下進行。Y軸表示血清中剩餘抗體之百分比且X軸表示時間（天數）。

**[圖4]**為描繪三種抗C5抗體：EHL000、EHG303及EHL049之結合（pH 7.4）及解離（pH 7.4及pH 6.0）動力學的感應圖譜。Y軸為任意單位，而X軸表示時間（秒）。

**[圖5A]**為描繪EHG303（Y27H-S57H雙取代）抗體、艾庫組單抗之Y27H單取代變異體及艾庫組單抗（ecu；Ec293F）在pH 7.4及pH 6.0之解離動力學的感應圖譜。Y軸為奈米（nm），而X軸表示時間（秒）。

**[圖5B]**為描繪EHG304（I34H-L52H雙取代）抗體、艾庫組單抗之I34H單取代變異體及艾庫組單抗（ecu；Ec293F）在pH 7.4及pH 6.0之解離動力學的感應圖譜。Y軸為奈米（nm），而X軸表示時間（秒）。EHG304抗體不符合供選擇用的第二臨限值，亦即其在pH7.4之解離超過最大容許方差（得自艾庫組單抗）。

**[圖5C]**為描繪EHG303（Y27H-S57H雙取代）抗體及艾庫組單抗（ecu；Ec293F）在pH 7.4及pH 6.0解離之動力學的感應圖譜。Y軸為奈米（nm），而X軸表示時間（秒）。

**[圖5D]**為描繪EHL049 [G31H（輕鏈）/Y27H-S57H雙取代（重鏈）]抗體、艾庫組單抗之Y27H-S57H（EHG303）雙取代變異體及艾庫組單抗（ecu）在pH 7.4及pH 6.0解離之動力學的感應圖譜。Y軸為奈米（nm），而X軸表示時間（秒）。

**[圖5E]**為描繪EHL058[G31H（輕鏈）/L52H-S57H雙取代（重鏈）]抗體、艾庫組單抗之L52H-S57H雙取代（重鏈）變異體及艾庫組單抗（ecu）在pH 7.4及pH 6.0解離之動力學的感應圖譜。Y軸為奈米（nm），而X軸表示時間（秒）。EHL058抗體不符合供選擇用的第二臨限值，亦即其在pH7.4之解離超過最大容許方差（得自艾庫組單抗）。

**[圖6]**為描繪EHL000、BNJ421及BNJ423自NOD/錫特（scid）/C5缺乏性小鼠血清中清除的線圖。Y軸表示血清中剩餘抗體之百分比且X軸表示時間（天數）。

**[圖7]**為描繪EHL000、BNJ421及BNJ423在人類C5存在或不存在下自NOD/

錫特/C5缺乏性小鼠血清中清除的線圖。Y軸表示血清中剩餘抗體之百分比且X軸表示時間（天數）。

[圖8]為描繪EHL000、BNJ423及BNJ421抗體在活體外溶血性分析中之活性的線圖。Y軸表示溶血百分比且X軸表示時間（天數）。

[圖9A]為描繪BHL011抗體在hFcRn轉殖基因小鼠中之藥物動力學的線圖。每條線表示不同動物。Y軸表示抗體濃度（ $\mu\text{g/mL}$ ）。X軸表示時間（天數）。

[圖9B]為描繪BHL011抗體在hFcRn轉殖基因小鼠中之藥物動力學的線圖。每條線表示不同動物。Y軸表示第1天血清中剩餘抗體在各時間點之濃度%。X軸表示時間（天數）。

[圖10A]為描繪BHL006抗體在hFcRn轉殖基因小鼠中之藥物動力學的線圖。每條線表示不同動物。Y軸表示抗體濃度（ $\mu\text{g/mL}$ ）。X軸表示時間（天數）。

[圖10B]為描繪BHL006抗體在hFcRn轉殖基因小鼠中之藥物動力學的線圖。每條線表示不同動物。Y軸表示第1天血清中剩餘抗體在各時間點之濃度%。X軸表示時間（天數）。

[圖11A]為描繪BHL009抗體在hFcRn轉殖基因小鼠中之藥物動力學的線圖。每條線表示不同動物。Y軸表示抗體濃度（ $\mu\text{g/mL}$ ）。X軸表示時間（天數）。

[圖11B]為描繪BHL009抗體在hFcRn轉殖基因小鼠中之藥物動力學的線圖。每條線表示不同動物。Y軸表示第1天血清中剩餘抗體在各時間點之濃度%。X軸表示時間（天數）。

[圖12]為描繪BHL011、BHL006及BHL009抗體在hFcRn轉殖基因小鼠中之平均藥物動力學之對數曲線的線圖。每條線表示不同抗體，如圖所示。Y軸表示第1天血清中剩餘抗體在各時間點之濃度%。X軸表示時間（天數）。

[圖13]為描繪BHL011、BHL006及BHL009抗體在hFcRn轉殖基因小鼠中之平均藥物動力學之對數曲線的線圖。每條線表示不同抗體，如圖所示。Y軸表示第

1天血清中剩餘抗體在各時間點之濃度%。X軸表示時間（天數）。

[圖14]為描繪單一劑量之後，BHL011抗體在活體外血清溶血性分析中之阻斷能力的線圖。Y軸表示溶血百分比（相對於給藥前水準）且X軸表示時間（天數）。

[圖15]為描繪單一劑量之後，BHL006抗體在活體外血清溶血性分析中之阻斷能力的線圖。Y軸表示溶血百分比（相對於給藥前水準）且X軸表示時間（天數）。

[圖16]為描繪單一劑量之後，BHL009抗體在活體外血清溶血性分析中之阻斷能力的線圖。Y軸表示溶血百分比（相對於給藥前水準）且X軸表示時間（天數）。

[圖17]為描繪單一劑量之後BHL011血清濃度與活體外血清溶血性活性之相關性之圖。Y軸表示溶血百分比（相對於給藥前水準）且X軸表示抗體濃度（ $\mu\text{g/mL}$ ）。

[圖18]為描繪單一劑量之後BHL006血清濃度與活體外血清溶血性活性之相關性的圖。Y軸表示溶血百分比（相對於給藥前水準）且X軸表示抗體濃度（ $\mu\text{g/mL}$ ）。

[圖19]為描繪單一劑量之後BHL009血清濃度與活體外血清溶血性活性之相關性之圖。Y軸表示溶血百分比（相對於給藥前水準）且X軸表示抗體濃度（ $\mu\text{g/mL}$ ）。

[圖20]為描繪單一劑量之BHL011、BHL009或BHL006之後，hFcRn轉殖基因小鼠中之平均活體外溶血性活性之圖。每條線表示不同抗體，如圖所示。Y軸表示溶血百分比（相對於給藥前水準）且X軸表示時間（天數）。

[圖21A及21B]為一對線圖，其描繪BNJ441及艾庫組單抗之親和力隨pH而變之半對數圖（圖21A）及線圖（圖21B）。Y軸表示解離%且X軸為pH。

[圖22]為描繪BNJ441及艾庫組單抗在NOD/錫特小鼠中且在缺乏人類C5情況下之藥物動力學的線圖。Y軸表示抗體濃度 ( $\mu\text{g/mL}$ )。X軸表示時間 (天數)。

[圖23]為描繪BNJ441及艾庫組單抗在NOD/錫特小鼠中且在人類C5存在下之藥物動力學的線圖。Y軸表示抗體濃度 ( $\mu\text{g/mL}$ )。X軸表示時間 (天數)。

[圖24]為描繪在人類C5存在下，NOD/錫特小鼠血清中剩餘之BNJ441及艾庫組單抗之百分比隨時間而變的線圖。Y軸表示抗體濃度 ( $\mu\text{g/mL}$ )。X軸表示時間 (天數)。

[圖25]為描繪單一劑量之後，BNJ441抗體及艾庫組單抗之活體外血清溶血性阻斷活性隨時間而變的線圖。Y軸表示溶血百分比 (相對於給藥前水準) 且X軸表示時間 (天數)。

[圖26]描繪將200 mg或400 mg劑量投予健康自願者之後的平均血清BNJ441濃度-時間曲線 (頂圖-直線標度；底圖-對數-直線標度)。

[圖27]描繪將安慰劑、200 mg BNJ441或400 mg BNJ441靜脈內投予健康自願者之後的平均雞紅血球溶血-時間曲線。

[圖28]描繪將BNJ441靜脈內投予健康人類自願者之後的BNJ441濃度與雞紅血球溶血百分比之間的關係。

[圖29]描繪BNJ441在末端補體活性分析中之效力 (相較於艾庫組單抗)。

## 【實施方式】

【0059】 本發明提供尤其適用於抑制末端補體 (例如C5b-9 TCC之組裝及/或活性) 及C5a過敏毒素介導性發炎且從而治療補體相關性病徵的抗體。相對於艾庫組單抗，該等抗體的多種特性改善，包括在人體中之血清半衰期延長。決不希望具限制性，例示性抗體、結合物、醫藥組合物及調配物以及使用前述任一者的方法詳述如下且舉例說明於實施例中。

## 抗體

【0060】 本文所述之抗C5抗體結合至補體組分C5（例如人類C5）且抑制C5裂解成片段C5a及C5b。如上文所述，相對於用於治療性目的的其他抗C5抗體（例如艾庫組單抗），此等抗體亦具有例如改善的藥物動力學特性。

【0061】 在一些具體實例中，本文所述之抗C5抗體包含：(i) 包含SEQ ID NO: 1中所述之胺基酸序列的重鏈CDR1，(ii) 包含SEQ ID NO: 2中所述之胺基酸序列的重鏈CDR2，(iii) 包含SEQ ID NO: 3中所述之胺基酸序列的重鏈CDR3，(iv) 包含SEQ ID NO: 4中所述之胺基酸序列的輕鏈CDR1，(v) 包含SEQ ID NO: 5中所述之胺基酸序列的輕鏈CDR2，及(vi) 包含SEQ ID NO: 6中所述之胺基酸序列的輕鏈CDR3，其中(i)至(vi)中至少一個（例如至少兩個、三個、四個、五個、六個、七個、八個、九個或十個或超過十個）胺基酸經不同胺基酸取代。

【0062】 此等CDR之確切邊界已根據不同方法加以不同地定義。在一些具體實例中，輕鏈或重鏈可變域內之CDR或構架區位置可如Kabat等人所定義[(1991) 「Sequences of Proteins of Immunological Interest.」 NIH出版號91-3242, 美國健康及人類服務部(U.S. Department of Health and Human Services), Bethesda, MD]。在此等情況下，CDR可稱為「Kabat CDR」（例如「Kabat」或「Kabat HCDR1」）。在一些具體實例中，輕鏈或重鏈可變區之CDR位置可如Chothia等人(1989) *Nature* 342:877-883所定義。因此，此等區域可稱為「Chothia CDR」（例如「Chothia LCDR2」或「Chothia HCDR3」）。在一些具體實例中，輕鏈及重鏈可變區之CDR位置可如Kabat-Chothia組合定義所定義。在此等實施例中，此等區域可稱為「組合之Kabat-Chothia CDR」。Thomas等人[(1996) *Mol Immunol* 33(17/18):1389-1401]舉例說明了根據Kabat及Chothia定義鑑別CDR邊界。

【0063】 任何胺基酸可經任何其他胺基酸取代。在一些具體實例中，取代為保守性取代。保守性取代典型地包括以下群組內之取代：甘胺酸及丙胺酸；

纈胺酸、異白胺酸及白胺酸；天冬胺酸及麩胺酸；天冬醯胺酸、麩醯胺酸、絲胺酸及蘇胺酸；離胺酸、組胺酸及精胺酸；及苯丙胺酸及酪胺酸。在一些具體實例中，一或多個經組胺酸取代。

**【0064】** 在一些具體實例中，重鏈CDR1之至少一個（例如至少兩個、三個、四個或五個）胺基酸經不同胺基酸取代。在一些具體實例中，重鏈CDR2之至少一個（例如至少兩個、三個、四個或五個）胺基酸經不同胺基酸取代。在一些具體實例中，重鏈CDR3之至少一個（例如至少兩個、三個、四個或五個）胺基酸經不同胺基酸取代。

**【0065】** 在一些具體實例中，輕鏈CDR1之至少一個（例如至少兩個、三個、四個或五個）胺基酸經不同胺基酸取代。在一些具體實例中，輕鏈CDR2之至少一個（例如至少兩個、三個、四個或五個）胺基酸經不同胺基酸取代。在一些具體實例中，輕鏈CDR3之至少一個（例如至少兩個、三個、四個或五個）胺基酸經不同胺基酸取代。

**【0066】** 在一些具體實例中，取代係在選自由以下組成之群的胺基酸位置發生：相對於SEQ ID NO: 1而言位於位置1之甘胺酸、相對於SEQ ID NO: 1而言位於位置2之酪胺酸、相對於SEQ ID NO: 1而言位於位置3之異白胺酸、相對於SEQ ID NO: 1而言位於位置4之苯丙胺酸、相對於SEQ ID NO: 1而言位於位置5之絲胺酸、相對於SEQ ID NO: 1而言位於位置6之天冬醯胺酸、相對於SEQ ID NO: 1而言位於位置7之酪胺酸、相對於SEQ ID NO: 1而言位於位置8之色胺酸、相對於SEQ ID NO: 1而言位於位置9之異白胺酸、相對於SEQ ID NO: 1而言位於位置10之麩醯胺酸、相對於SEQ ID NO: 2而言位於位置1之麩胺酸、相對於SEQ ID NO: 2而言位於位置2之異白胺酸、相對於SEQ ID NO: 2而言位於位置3之白胺酸、相對於SEQ ID NO: 2而言位於位置4之脯胺酸、相對於SEQ ID NO: 2而言位於位置5之甘胺酸、相對於SEQ ID NO: 2而言位於6位置之絲胺酸、相對於SEQ ID

NO: 2而言位於位置7之甘胺酸、相對於SEQ ID NO: 2而言位於位置8之絲胺酸、相對於SEQ ID NO: 2而言位於位置9之蘇胺酸、相對於SEQ ID NO: 2而言位於位置10之麩胺酸、相對於SEQ ID NO: 2而言位於位置11之酪胺酸、相對於SEQ ID NO: 2而言位於位置12之蘇胺酸、相對於SEQ ID NO: 2而言位於位置13之麩胺酸、相對於SEQ ID NO: 2而言位於位置14之天冬醯胺酸、相對於SEQ ID NO: 2而言位於位置15之苯丙胺酸、相對於SEQ ID NO: 2而言位於位置16之離胺酸、相對於SEQ ID NO: 2而言位於位置17之天冬胺酸、相對於SEQ ID NO: 3而言位於位置1之酪胺酸、相對於SEQ ID NO: 3而言位於位置2之苯丙胺酸、相對於SEQ ID NO: 3而言位於位置3之苯丙胺酸、相對於SEQ ID NO: 3而言位於位置4之甘胺酸、相對於SEQ ID NO: 3而言位於位置5之絲胺酸、相對於SEQ ID NO: 3而言位於位置6之絲胺酸、相對於SEQ ID NO: 3而言位於位置7之脯胺酸、相對於SEQ ID NO: 3而言位於位置8之天冬醯胺酸、相對於SEQ ID NO: 3而言位於位置9之色胺酸、相對於SEQ ID NO: 3而言位於位置10之酪胺酸、相對於SEQ ID NO: 3而言位於位置11之苯丙胺酸、相對於SEQ ID NO: 3而言位於位置12之天冬胺酸及相對於SEQ ID NO: 3而言位於位置13之纈胺酸。

【0067】 在一些具體實例中，相對於SEQ ID NO: 8而言位於位置31之甘胺酸經不同胺基酸取代。舉例而言，艾庫組單抗輕鏈之CDR1中之加下劃線的甘胺酸可經不同胺基酸取代：GASENIYGALN (SEQ ID NO: 4)。取代可為甘胺酸經組胺酸取代，亦即GASENIYHALN (SEQ ID NO: 17)。

【0068】 在一些具體實例中，本文所述之抗C5抗體包含在選自由以下組成之群的胺基酸位置發生的胺基酸取代：相對於SEQ ID NO: 7而言位於位置26之甘胺酸、相對於SEQ ID NO: 7而言位於位置27之酪胺酸、相對於SEQ ID NO: 7而言位於位置28之異白胺酸、相對於SEQ ID NO: 7而言位於位置29之苯丙胺酸、相對於SEQ ID NO: 7而言位於位置30之絲胺酸、相對於SEQ ID NO: 7而言位於位

置31之天冬醯胺酸、相對於SEQ ID NO: 7而言位於位置32之酪胺酸、相對於SEQ ID NO: 7而言位於位置33之色胺酸、相對於SEQ ID NO: 7而言位於位置34之異白胺酸、相對於SEQ ID NO: 7而言位於位置35之麩醯胺酸、相對於SEQ ID NO: 7而言位於位置50之麩胺酸、相對於SEQ ID NO: 7而言位於位置51之異白胺酸、相對於SEQ ID NO: 7而言位於位置52之白胺酸、相對於SEQ ID NO: 7而言位於位置53之脯胺酸、相對於SEQ ID NO: 7而言位於位置54之甘胺酸、相對於SEQ ID NO: 7而言位於位置55之絲胺酸、相對於SEQ ID NO: 7而言位於位置56之甘胺酸、相對於SEQ ID NO: 7而言位於位置57之絲胺酸、相對於SEQ ID NO: 7而言位於位置58之蘇胺酸、相對於SEQ ID NO: 7而言位於位置59之麩胺酸、相對於SEQ ID NO: 7而言位於位置60之酪胺酸、相對於SEQ ID NO: 7而言位於位置61之蘇胺酸、相對於SEQ ID NO: 7而言位於位置62之麩胺酸、相對於SEQ ID NO: 7而言位於位置63之天冬醯胺酸、相對於SEQ ID NO: 7而言位於位置64之苯丙胺酸、相對於SEQ ID NO: 7而言位於位置65之離胺酸、相對於SEQ ID NO: 7而言位於位置66之天冬胺酸、相對於SEQ ID NO: 7而言位於位置99之酪胺酸、相對於SEQ ID NO: 7而言位於位置100之苯丙胺酸、相對於SEQ ID NO: 7而言位於位置101之苯丙胺酸、相對於SEQ ID NO: 7而言位於位置102之甘胺酸、相對於SEQ ID NO: 7而言位於位置103之絲胺酸、相對於SEQ ID NO: 7而言位於位置104之絲胺酸、相對於SEQ ID NO: 7而言位於位置105之脯胺酸、相對於SEQ ID NO: 7而言位於位置106之天冬醯胺酸、相對於SEQ ID NO: 7而言位於位置107之色胺酸、相對於SEQ ID NO: 7而言位於位置108之酪胺酸、相對於SEQ ID NO: 7而言位於位置109之苯丙胺酸、相對於SEQ ID NO: 7而言位於位置110之天冬胺酸及相對於SEQ ID NO: 7而言位於位置111之纈胺酸。在一些具體實例中，抗C5抗體包含前述取代中之任何兩者或超過兩者（例如至少兩者、三者、四者、五者、六者、七者、八者、九者或十者或超過十者）及任何組合。

【0069】 在一些具體實例中，抗C5抗體包含滿足以下準則的相對於艾庫組單抗而言之至少一個取代：

(1) 相較於在800秒針對艾庫組單抗所觀測的平均峰值相移，800秒時之pH 7.4結合動力學最大偏差為33%較小峰值相移；

(2) 相較於在800秒針對艾庫組單抗所觀測的平均峰值相移，800秒期間之pH 7.4解離動力學最大偏差為峰值相移減小不超過3倍；及

(3) 相較於在800秒針對艾庫組單抗所觀測的平均峰值相移，800秒期間之pH 6.0解離動力學最小偏差為峰值相移減小至少3倍。

【0070】 舉例而言，相對於上述準則(1)而言，若與艾庫組單抗結合800秒後之平均峰值相移為約0.75 nm，則相移小於0.5 nm（例如再現兩次或多於兩次）的測試抗體將不滿足上述準則。相比之下，800秒時峰值相移大於0.5 nm的抗C5抗體滿足第一準則。此等取代產生的抗C5抗體在pH 7.4與艾庫組單抗之 $k_a$ 及 $k_d$ 偏離的程度僅為較小的，但在pH 6.0與艾庫組單抗之 $k_d$ 的偏離更明顯。

【0071】 在一些具體實例中，本文所述之抗C5抗體包含至少一個（例如至少兩個、三個或四個）發生於選自由以下組成之群之胺基酸位置的胺基酸取代：相對於SEQ ID NO: 8而言位於位置31的甘胺酸、相對於SEQ ID NO: 8而言位於位置33的白胺酸、相對於SEQ ID NO: 8而言位於位置91的纈胺酸及相對於SEQ ID NO: 8而言位於位置94的蘇胺酸。在一些具體實例中，本文所述之抗C5抗體包含至少一個（例如至少兩個、三個、四個或五個）發生於選自由以下組成之群之胺基酸位置的胺基酸取代：相對於SEQ ID NO: 7而言位於位置27的酪胺酸、相對於SEQ ID NO: 7而言位於位置34的異白胺酸、相對於SEQ ID NO: 7而言位於位置52的白胺酸及相對於SEQ ID NO: 7而言位於位置57的絲胺酸。

【0072】 在一些具體實例中，本文所述之抗C5抗體在其輕鏈可變區中含有至少一個選自以下的取代：相對於SEQ ID NO: 8而言位於位置31之甘胺酸、相

對於SEQ ID NO: 8而言位於位置33之白胺酸、相對於SEQ ID NO: 8而言位於位置91之纈胺酸及相對於SEQ ID NO: 8而言位於位置94之蘇胺酸。參見下表1。在一些具體實例中，本文所述之抗C5抗體在其重鏈可變區中含有至少一個選自以下的取代：相對於SEQ ID NO: 7而言位於位置27之酪胺酸、相對於SEQ ID NO: 7而言位於位置34之異白胺酸、相對於SEQ ID NO: 7而言位於位置52之白胺酸及相對於SEQ ID NO: 7而言位於位置57之絲胺酸。參見下表1。

【0073】 在一些具體實例中，相對於由SEQ ID NO: 1至6定義之CDR集合，抗體包含至少兩個（例如至少三個、四個、五個、六個、七個、八個、九個或十個）胺基酸取代。因此，在一些具體實例中，本文所述之抗C5抗體包含呈組合形式及位於表1中所列之胺基酸位置的兩個或超過兩個取代。

表1.胺基酸取代組合

|                             | 艾庫組單抗輕鏈可變區 CDR 內之<br>取代（相對於 SEQ ID NO: 8） |     |     |     | 艾庫組單抗重鏈可變區 CDR 內之<br>取代（相對於 SEQ ID NO: 7） |     |     |     |
|-----------------------------|-------------------------------------------|-----|-----|-----|-------------------------------------------|-----|-----|-----|
| 胺基酸<br>位置/<br>Ab Cmb<br>編號： | G31                                       | L33 | V91 | T94 | Y27                                       | I34 | L52 | S57 |
| 1                           | •                                         |     |     |     | •                                         |     |     |     |
| 2                           | •                                         |     |     |     |                                           | •   |     |     |
| 3                           | •                                         |     |     |     |                                           |     | •   |     |
| 4                           | •                                         |     |     |     |                                           |     |     | •   |
| 5                           |                                           | •   |     |     | •                                         |     |     |     |
| 6                           |                                           | •   |     |     |                                           | •   |     |     |
| 7                           |                                           | •   |     |     |                                           |     | •   |     |
| 8                           |                                           | •   |     |     |                                           |     |     | •   |
| 9                           |                                           |     | •   |     | •                                         |     |     |     |
| 10                          |                                           |     | •   |     |                                           | •   |     |     |
| 11                          |                                           |     | •   |     |                                           |     | •   |     |
| 12                          |                                           |     | •   |     |                                           |     |     | •   |
| 13                          | •                                         | •   |     |     | •                                         | •   |     |     |
| 14                          | •                                         | •   |     |     | •                                         |     | •   |     |
| 15                          | •                                         | •   |     |     | •                                         |     |     | •   |
| 16                          | •                                         | •   |     |     |                                           | •   | •   |     |
| 17                          | •                                         | •   |     |     |                                           | •   |     | •   |
| 18                          | •                                         | •   |     |     |                                           |     | •   | •   |

|                             | 艾庫組單抗輕鏈可變區 CDR 內之<br>取代（相對於 SEQ ID NO: 8） |     |     |     | 艾庫組單抗重鏈可變區 CDR 內之<br>取代（相對於 SEQ ID NO: 7） |     |     |     |
|-----------------------------|-------------------------------------------|-----|-----|-----|-------------------------------------------|-----|-----|-----|
| 胺基酸<br>位置/<br>Ab Cmb<br>編號： | G31                                       | L33 | V91 | T94 | Y27                                       | I34 | L52 | S57 |
| 19                          | •                                         |     | •   |     | •                                         | •   |     |     |
| 20                          | •                                         |     | •   |     | •                                         |     | •   |     |
| 21                          | •                                         |     | •   |     | •                                         |     |     | •   |
| 22                          | •                                         |     | •   |     |                                           | •   | •   |     |
| 23                          | •                                         |     | •   |     |                                           | •   |     | •   |
| 24                          | •                                         |     | •   |     |                                           |     | •   | •   |
| 25                          |                                           | •   | •   |     | •                                         | •   |     |     |
| 26                          |                                           | •   | •   |     | •                                         |     | •   |     |
| 27                          |                                           | •   | •   |     | •                                         |     |     | •   |
| 28                          |                                           | •   | •   |     |                                           | •   | •   |     |
| 29                          |                                           | •   | •   |     |                                           | •   |     | •   |
| 30                          |                                           | •   | •   |     |                                           |     | •   | •   |
| 31                          | •                                         | •   |     |     | •                                         |     |     |     |
| 32                          | •                                         | •   |     |     |                                           | •   |     |     |
| 33                          | •                                         | •   |     |     |                                           |     | •   |     |
| 34                          | •                                         | •   |     |     |                                           |     |     | •   |
| 35                          | •                                         |     | •   |     | •                                         |     |     |     |
| 36                          | •                                         |     | •   |     |                                           | •   |     |     |
| 37                          | •                                         |     | •   |     |                                           |     | •   |     |
| 38                          | •                                         |     | •   |     |                                           |     |     | •   |
| 39                          |                                           | •   | •   |     | •                                         |     |     |     |
| 40                          |                                           | •   | •   |     |                                           | •   |     |     |
| 41                          |                                           | •   | •   |     |                                           |     | •   |     |
| 42                          |                                           | •   | •   |     |                                           |     |     | •   |
| 43                          | •                                         |     |     |     | •                                         | •   |     |     |
| 44                          |                                           | •   |     |     | •                                         | •   |     |     |
| 45                          |                                           |     | •   |     | •                                         | •   |     |     |
| 46                          | •                                         |     |     |     | •                                         |     | •   |     |
| 47                          |                                           | •   |     |     | •                                         |     | •   |     |
| 48                          |                                           |     | •   |     | •                                         |     | •   |     |
| 49                          | •                                         |     |     |     | •                                         |     |     | •   |
| 50                          |                                           | •   |     |     | •                                         |     |     | •   |
| 51                          |                                           |     | •   |     | •                                         |     |     | •   |
| 52                          | •                                         |     |     |     |                                           | •   | •   |     |
| 53                          |                                           | •   |     |     |                                           | •   | •   |     |
| 54                          |                                           |     | •   |     |                                           | •   | •   |     |
| 55                          | •                                         |     |     |     |                                           | •   |     | •   |

|                             | 艾庫組單抗輕鏈可變區 CDR 內之<br>取代（相對於 SEQ ID NO: 8） |     |     |     | 艾庫組單抗重鏈可變區 CDR 內之<br>取代（相對於 SEQ ID NO: 7） |     |     |     |
|-----------------------------|-------------------------------------------|-----|-----|-----|-------------------------------------------|-----|-----|-----|
| 胺基酸<br>位置/<br>Ab Cmb<br>編號： | G31                                       | L33 | V91 | T94 | Y27                                       | I34 | L52 | S57 |
| 56                          |                                           | •   |     |     |                                           | •   |     | •   |
| 57                          |                                           |     | •   |     |                                           | •   |     | •   |
| 58                          | •                                         |     |     |     |                                           |     | •   | •   |
| 59                          |                                           | •   |     |     |                                           |     | •   | •   |
| 60                          |                                           |     | •   |     |                                           |     | •   | •   |
| 61                          | •                                         | •   | •   |     | •                                         |     |     |     |
| 62                          | •                                         | •   | •   |     |                                           | •   |     |     |
| 63                          | •                                         | •   | •   |     |                                           |     | •   |     |
| 64                          | •                                         | •   | •   |     |                                           |     |     | •   |
| 65                          | •                                         |     |     |     | •                                         | •   | •   | •   |
| 66                          |                                           | •   |     |     | •                                         | •   | •   | •   |
| 67                          |                                           |     | •   |     | •                                         | •   | •   | •   |
| 68                          | •                                         |     |     |     | •                                         | •   | •   |     |
| 69                          | •                                         |     |     |     | •                                         | •   |     | •   |
| 70                          | •                                         |     |     |     | •                                         |     | •   | •   |
| 71                          | •                                         |     |     |     |                                           | •   | •   | •   |
| 72                          |                                           |     |     | •   | •                                         | •   | •   |     |
| 73                          |                                           |     |     | •   | •                                         | •   |     | •   |
| 74                          |                                           |     |     | •   | •                                         |     | •   | •   |
| 75                          |                                           |     |     | •   |                                           | •   | •   | •   |
| 76                          | •                                         | •   | •   |     | •                                         | •   | •   | •   |

【0074】 「•」指示指定抗體中之哪個胺基酸經取代。舉例而言，Ab Cmb 第76號定義包含艾庫組單抗之六個CDR的抗體，其中輕鏈CDR包含相對於SEQ ID NO: 8而言位於位置31、33及91之取代且重鏈CDR包含相對於SEQ ID NO: 7而言位於位置27、34、52及57之取代。

【0075】 「Ab Comb編號」係指對表中所提及之特定變異型抗C5抗體指定的數字標示。

【0076】 為了清晰起見，表1中提及的變異型抗C5抗體僅需具有艾庫組單抗之六（6）個CDR之胺基酸序列，其中發生指定的、所指示的胺基酸取代。變異型抗體可視情況包括SEQ ID NO: 7或SEQ ID NO: 8之構架區。

【0077】 表1中所述之取代可針對不同於所示胺基酸殘基的任何胺基酸。在一些具體實例中，該不同胺基酸為組胺酸。

【0078】 在一些具體實例中，本文所述之抗C5抗體包含發生於選自由以下組成之群之胺基酸位置的取代：相對於SEQ ID NO: 7而言位於位置27之酪胺酸、相對於SEQ ID NO: 7而言位於位置34之異白胺酸、相對於SEQ ID NO: 7而言位於位置52之白胺酸及相對於SEQ ID NO: 7而言位於位置57之絲胺酸。在一些具體實例中，相對於SEQ ID NO: 7而言位於位置27之酪胺酸與相對於SEQ ID NO: 7而言位於位置52之白胺酸各自經不同胺基酸取代。在一些具體實例中，相對於SEQ ID NO: 7而言位於位置34之異白胺酸與相對於SEQ ID NO: 7而言位於位置57之絲胺酸各自經不同胺基酸取代。在一些具體實例中，相對於SEQ ID NO: 7而言位於位置34之異白胺酸與相對於SEQ ID NO: 7而言位於位置52之白胺酸各自經不同胺基酸取代。在一些具體實例中，相對於SEQ ID NO: 7而言位於位置27之酪胺酸與相對於SEQ ID NO: 7而言位於位置57之絲胺酸各自經不同胺基酸取代。在本文所述抗C5抗體中之任一者的一些具體實例中，該不同胺基酸為組胺酸。舉例而言，位置27之酪胺酸及位置57之絲胺酸可各自經組胺酸取代。

【0079】 在一些具體實例中，本文所述之抗C5抗體包含重鏈CDR1，該重鏈CDR1包含以下胺基酸序列或由以下胺基酸序列組成：GHIFSNIYWIQ (SEQ ID NO: 23)。在一些具體實例中，本文所述之抗C5抗體包含重鏈CDR2，該重鏈CDR2包含以下胺基酸序列或由以下胺基酸序列組成：EILPGSGHTEYTENFKD (SEQ ID NO: 19)。在一些具體實例中，本文所述之抗C5抗體包含包括以下胺基酸序列的重鏈可變區：QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGHIFSNIYWIQWVRQAPGQGLEWMGEILPGSGHTEYTENFKDRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARYFFGSSPNWYFDVWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:12)。

【0080】 在一些具體實例中，本文所述之抗C5抗體包含包括以下胺基酸

序列之輕鏈可變區：

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCGASENIYGALNWDYQQKPGKAPKLLIYGATN  
LADGVPSRFSGSGSGTDFLTISLQPEDFATYYCQNVLTPLTFGQGGTKVEIK  
(SEQ ID NO:8)。

【0081】 本文所述之抗C5抗體可在pH 7.4及25°C（及另外在生理條件下）以至少0.1（例如至少0.15、0.175、0.2、0.25、0.275、0.3、0.325、0.35、0.375、0.4、0.425、0.45、0.475、0.5、0.525、0.55、0.575、0.6、0.625、0.65、0.675、0.7、0.725、0.75、0.775、0.8、0.825、0.85、0.875、0.9、0.925、0.95或0.975）nM之親和性解離常數（ $K_D$ ）結合至C5。在一些具體實例中，抗C5抗體之 $K_D$ 不超過1（例如不超過0.9、0.8、0.7、0.6、0.5、0.4、0.3或0.2）nM。

【0082】 在本文所述之任何抗C5抗體之一些具體實例中，[(抗體在pH 6.0、在C針對C5之 $K_D$ )/(抗體在pH 7.4、在25°C針對C5之 $K_D$ )]大於21（例如大於22、23、24、25、26、27、28、29、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、110、120、130、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、350、400、450、500、600、700、800、900、1000、1500、2000、2500、3000、3500、4000、4500、5000、5500、6000、6500、7000、7500或8000）。

【0083】 判定抗體是否結合至蛋白質抗原及/或測定抗體針對蛋白質抗原之親和力的方法在此項技術中已知。舉例而言，抗體與蛋白質抗原的結合可使用多種技術偵測及/或量化，諸如（但不限於）西方墨點法、點漬墨法、表面電漿共振（SPR）方法（例如BIAcore系統；Pharmacia Biosensor AB, Uppsala, Sweden及Piscataway, N.J.），或酶聯免疫吸附分析（ELISA）。參見例如Harlow及Lane (1988) 「Antibodies: A Laboratory Manual」 Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y.；Benny K. C. Lo (2004) 「Antibody Engineering:

Methods and Protocols,」 Humana Press (ISBN: 1588290921) ; Borrebaek (1992) 「Antibody Engineering, A Practical Guide,」 W.H. Freeman and Co., NY ; Borrebaek (1995) 「Antibody Engineering,」 第2版, Oxford University Press, NY, Oxford ; Johne等人(1993) *J Immunol Meth* 160:191-198 ; Jonsson等人(1993) *Ann Biol Clin* 51:19-26 ; 及Jonsson等人(1991) *Biotechniques* 11:620-627。另外，量測親和力（例如解離及結合常數）的方法闡明於實施例中。

【0084】 如本文所使用，術語「 $k_a$ 」係指抗體與抗原之結合速率常數。術語「 $k_d$ 」係指抗體自抗體/抗原複合物解離之速率常數。且術語「 $K_D$ 」係指抗體-抗原相互作用之平衡解離常數。平衡解離常數係利用動力速率常數之比率  $K_D=k_d/k_a$  推導。此等測定較佳在25°C或37°C量測（參見實施例）。舉例而言，抗體結合至人類C5之動力學可在pH 8.0、7.4、7.0、6.5及6.0、經由表面電漿子共振（SPR）、在BIAcore 3000儀器上、使用固定抗體的抗Fc捕捉方法測定。

【0085】 本文所述之抗C5抗體可具有阻斷C5蛋白質（例如人類C5蛋白質）之C5a及/或C5b活性片段之產生或活性的活性。經由此阻斷作用，抗體抑制例如C5a之促炎性作用及C5b-9攻膜複合物（MAC）在細胞表面上之產生。

【0086】 測定本文所述之特定抗體是否抑制C5裂解的方法在此項技術中已知。抑制人類補體組分C5可降低補體在個體體液中之溶胞能力。存在於體液中之補體之溶胞能力之此等降低可藉由此項技術中熟知之方法量測，諸如藉由習知溶血性分析，諸如Kabat及Mayer（編），「Experimental Immunochemistry第2版」135-240, Springfield, IL, CC Thomas (1961), 第135-139頁，或該分析之習知變化形式，諸如雞紅血球溶血方法，如例如Hillmen等人(2004) *N Engl J Med* 350(6):552中所述。測定候選化合物是否抑制人類C5裂解成C5a及C5b的方法在此項技術中已知且描述於例如Moongkarndi等人(1982) *Immunobiol* 162:397 ; Moongkarndi等人(1983) *Immunobiol* 165:323 ; Isenman等人(1980) *J Immunol*

124(1):326-31；Thomas等人(1996) *Mol Immunol* 33(17-18):1389-401；及Evans等人(1995) *Mol Immunol* 32(16):1183-95。舉例而言，體液中C5a及C5b之濃度及/或生理活性可藉由此項技術中熟知之方法量測。量測C5a濃度或活性的方法包括例如趨化性分析、RIA或ELISA（參見例如Ward及Zvaifler (1971) *J Clin Invest* 50(3):606-16及Wurzner等人(1991) *Complement Inflamm* 8:328-340）。對於C5b而言，可使用如本文中所論述的溶血性分析或針對可溶性C5b-9之分析。亦可使用此項技術中已知的其他分析。使用此等或其他適合類型之分析，可篩選出能夠抑制人類補體組分C5的候選藥劑。

**【0087】** 免疫技術（諸如（但不限於）ELISA）可用於量測C5及/或其分裂產物之蛋白質濃度，以測定抗C5抗體抑制C5轉化成生物活性產物的能力。在一些具體實例中，量測C5a產生。在一些具體實例中，使用C5b-9新肽特異性抗體偵測末端補體之形成。

**【0088】** 溶血性分析可用於測定抗C5抗體對補體活化的抑制活性。為了試管內測定抗C5抗體在血清測試溶液中對經典補體路徑介導性溶血的影響，例如使用塗有溶血素之綿羊紅血球或經抗雞紅血球抗體致敏的雞紅血球作為靶細胞。藉由視100%溶胞相當於在抑制劑不存在下發生之溶胞來歸一化溶胞百分比。在一些具體實例中，經典補體路徑係藉由人類IgM抗體活化，例如如Wieslab®經典路徑補體套組（Wieslab®COMPL CP310, Euro-Diagnostica, Sweden）中所使用。簡言之，測試血清係在人類IgM抗體存在下與抗C5抗體一起培育。藉由使混合物與酶結合之抗C5b-9抗體及螢光受質接觸且在適當波長下量測吸光度來量測C5b-9之產生量。作為對照，測試血清係在抗C5抗體不存在下培育。在一些具體實例中，測試血清為用C5多肽復原的C5缺乏性血清。

**【0089】** 為了測定抗C5抗體對替代路徑介導性溶血的影響，使用未致敏兔或豚鼠紅血球作為靶細胞。在一些具體實例中，血清測試溶液為用C5多肽復

原的C5缺乏性血清。藉由視100%溶胞相當於在抑制劑不存在下發生之溶胞來歸一化溶胞百分比。在一些具體實例中，替代補體路徑係藉由脂多醣分子活化，例如如Wieslab®替代路徑補體套組（Wieslab® COMPL AP330, Euro-Diagnostica, Sweden）中所使用。簡言之，測試血清係在脂多醣存在下與抗C5抗體一起培育。藉由使混合物與酶結合之抗C5b-9抗體及螢光受質接觸且在適當波長下量測螢光來量測C5b-9之產生量。作為對照，測試血清係在抗C5抗體不存在下培育。

**【0090】** 在一些具體實例中，使用CH50eq分析量化C5活性或其抑制。CH50eq分析為一種量測血清中之總經典補體活性的方法。此測試為溶胞分析，其使用抗體致敏化紅血球作為經典補體路徑活化劑且使用測試血清之不同稀釋液來測定得到50%溶胞所必需的量（CH50）。溶血百分比可例如使用分光光度計測定。由於TCC本身直接導致所量測之溶血，因此CH50eq分析為末端補體複合物（TCC）形成提供間接量測。

**【0091】** 該分析已熟知且通常由熟習此項技術者實施。簡言之，為了活化經典補體路徑，將未經稀釋的血清樣品（例如復原之人類血清樣品）添加至含有抗體致敏化紅血球的微分析孔中，以藉此產生TCC。接著，活化血清於塗有捕捉試劑（例如結合至TCC之一或多種組分的抗體）的微分析孔中稀釋。存在於活化樣品中的TCC結合至塗佈微分析孔表面的單株抗體。洗滌各孔且向各孔中添加偵測試劑，該偵測試劑可偵測地標記且識別所結合的TCC。可偵測標記可為例如螢光標記或酶標記。分析結果係以CH50單位當量/毫升（CH50 U Eq/mL）表示。

**【0092】** 抑制（例如當其涉及末端補體活性時）包括在例如溶血性分析或CH50eq分析中，相較於對照抗體（或其抗原結合片段）在類似條件下及在等莫耳濃度下之作用，末端補體活性降低至少5（例如至少6、7、8、9、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55或60）%。如本文所使用，實質性抑制係指指定活

性（例如末端補體活性）抑制至少40（例如至少45、50、55、60、65、70、75、80、85、90，或95或大於95）%。在一些具體實例中，本文所述之抗C5抗體相對於艾庫組單抗之CDR（亦即SEQ ID NO: 1至6）含有一或多個胺基酸取代，然而在溶血性分析或CH50eq分析中保持艾庫組單抗之補體抑制活性之至少30（例如至少31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、55、60、65、70、75、80、85、90或95）%。

【0093】 本文所述之抗C5抗體在人體中的血清半衰期為至少20（例如至少21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35或36）天。量測抗體血清半衰期的方法在此項技術中已知且舉例說明於實施例中。參見例如Dall'Acqua等人(2006) *J Biol Chem* 281: 23514-23524；Hinton等人(2004) *J Biol Chem* 279:6213-6216；Hinton等人(2006) *J Immunol* 176:346-356；及Petkova等人(2006) *Int Immunol* 18(12):1759-69，各文獻之揭示內容以全文引用的方式併入本文中。在一些具體實例中，本文所述之抗C5抗體的血清半衰期比艾庫組單抗血清半衰期大至少20（例如至少30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、125、150、175、200、250、300、400、500）%，例如如使用實施例中所述之小鼠模型系統（例如C5缺乏性/NOD/錫特小鼠或hFcRn轉殖基因小鼠模型系統）之一所量測。

#### 對Fc區之修飾

【0094】 在一些具體實例中，本文所述之抗C5抗體可包含結合至人類新生兒Fc受體（FcRn）的變異型人類Fc恆定區，其結合的親和力大於變異型人類Fc恆定區所來源之原生人類Fc恆定區。舉例而言，相對於變異型人類Fc恆定區所來源之原生人類Fc恆定區，變異型Fc恆定區可包含一或多個（例如兩個、三個、四個、五個、六個、七個或八個或超過八個）胺基酸取代。取代可使含有變異型Fc恆定區之IgG抗體在pH 6.0對FcRn的結合親和力增強，同時維持相互作

用之pH依賴性。參見例如Hinton等人(2004) *J Biol Chem* 279:6213-6216及Datta-Mannan等人(2007) *Drug Metab Dispos* 35:1-9。測試抗體Fc恆定區中之一或多個取代是否使Fc恆定區在pH 6.0對FcRn之親和力增強（同時維持相互作用之pH依賴性）的方法在此項技術中已知且舉例說明於實施例中。參見例如Datta-Mannan等人(2007) *J Biol Chem* 282(3):1709-1717；國際公開案第WO 98/23289號；國際公開案第WO 97/34631號；及美國專利第6,277,375號，各文獻之揭示內容以全文引用的方式併入本文中。

【0095】 使抗體Fc恆定區對FcRn之結合親和力增強的取代在此項技術中已知且包括例如（1）Dall'Acqua等人(2006) *J Biol Chem* 281:23514-23524所述的M252Y/S254T/T256E三重取代；（2）Hinton等人(2004) *J Biol Chem* 279:6213-6216及Hinton等人(2006) *J Immunol* 176:346-356所述之M428L或T250Q/M428L取代；及（3）Petkova等人(2006) *Int Immunol* 18(12):1759-69所述之N434A或T307/E380A/N434A取代。其他取代對：P257I/Q311I、P257I/N434H及D376V/N434H描述於例如Datta-Mannan等人(2007) *J Biol Chem* 282(3):1709-1717中，其揭示內容以全文引用之方式併入本文中。

【0096】 在一些具體實例中，變異型恆定區在EU胺基酸殘基255發生纈胺酸取代。在一些具體實例中，變異型恆定區在EU胺基酸殘基309發生天冬醯胺酸取代。在一些具體實例中，變異型恆定區在EU胺基酸殘基312發生異白胺酸取代。在一些具體實例中，變異型恆定區在EU胺基酸殘基386發生取代。

【0097】 在一些具體實例中，相對於所來源的原生恆定區，變異型Fc恆定區包含不超過30（例如不超過29、28、27、26、25、24、23、22、21、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3或2）個胺基酸取代、插入或缺失。在一些具體實例中，變異型Fc恆定區包含選自由以下組成之群之一或多個胺基酸取代：M252Y、S254T、T256E、N434S、M428L、V259I、

T250I及V308F。在一些具體實例中，變異型人類Fc恆定區包含位置428之甲硫胺酸及位置434之天冬醯胺酸，各依據EU編號。在一些具體實例中，變異型Fc恆定區包含428L/434S雙重取代，如例如美國專利第8.088,376號中所述。

【0098】 在一些具體實例中，相對於原生人類Fc恆定區，變異型恆定區包含發生於胺基酸位置237、238、239、248、250、252、254、255、256、257、258、265、270、286、289、297、298、303、305、307、308、309、311、312、314、315、317、325、332、334、360、376、380、382、384、385、386、387、389、424、428、433、434、或436（EU編號）的取代。在一些具體實例中，取代係選自由以下組成之群：位置237之甘胺酸經甲硫胺酸取代；位置238之脯胺酸經丙胺酸取代；位置239之絲胺酸經離胺酸取代；位置248之離胺酸經異白胺酸取代；位置250之蘇胺酸經丙胺酸、苯丙胺酸、異白胺酸、甲硫胺酸、麩醯胺酸、絲胺酸、纈胺酸、色胺酸或酪胺酸取代；位置252之甲硫胺酸經苯丙胺酸、色胺酸或酪胺酸取代；位置254之絲胺酸經蘇胺酸取代；位置255之精胺酸經麩胺酸取代；位置256之蘇胺酸經天冬胺酸、麩胺酸或麩醯胺酸取代；位置257之脯胺酸經丙胺酸、甘胺酸、異白胺酸、白胺酸、甲硫胺酸、天冬醯胺酸、絲胺酸、蘇胺酸或纈胺酸取代；位置258之麩胺酸經組胺酸取代；位置265之天冬胺酸經丙胺酸取代；位置270之天冬胺酸經苯丙胺酸取代；位置286之天冬醯胺酸經丙胺酸或麩胺酸取代；位置289之蘇胺酸經組胺酸取代；位置297之天冬醯胺酸經丙胺酸取代；位置298之絲胺酸經甘胺酸取代；位置303之纈胺酸經丙胺酸取代；位置305之纈胺酸經丙胺酸取代；位置307之蘇胺酸經丙胺酸、天冬胺酸、苯丙胺酸、甘胺酸、組胺酸、異白胺酸、離胺酸、白胺酸、甲硫胺酸、天冬醯胺酸、脯胺酸、麩醯胺酸、精胺酸、絲胺酸、纈胺酸、色胺酸或酪胺酸取代；位置308之纈胺酸經丙胺酸、苯丙胺酸、異白胺酸、白胺酸、甲硫胺酸、脯胺酸、麩醯胺酸或蘇胺酸取代；位置309之白胺酸或纈胺酸經丙胺酸、天冬胺酸、麩胺

酸、脯胺酸或精胺酸取代；位置311之麩醯胺酸經丙胺酸、組胺酸或異白胺酸取代；位置312之天冬胺酸經丙胺酸或組胺酸取代；位置314之白胺酸經離胺酸或精胺酸取代；位置315之天冬醯胺酸經丙胺酸或組胺酸取代；位置317之離胺酸經丙胺酸取代；位置325之天冬醯胺酸經甘胺酸取代；位置332之異白胺酸經纈胺酸取代；位置334之離胺酸經白胺酸取代；位置360之離胺酸經組胺酸取代；位置376之天冬胺酸經丙胺酸取代；位置380之麩胺酸經丙胺酸取代；位置382之麩胺酸經丙胺酸取代；位置384之天冬醯胺酸或絲胺酸經丙胺酸取代；位置385之甘胺酸經天冬胺酸或組胺酸取代；位置386之麩醯胺酸經脯胺酸取代；位置387之脯胺酸經麩胺酸取代；位置389之天冬醯胺酸經丙胺酸或絲胺酸取代；位置424之絲胺酸經丙胺酸取代；位置428之甲硫胺酸經丙胺酸、天冬胺酸、苯丙胺酸、甘胺酸、組胺酸、異白胺酸、離胺酸、白胺酸、天冬醯胺酸、脯胺酸、麩醯胺酸、絲胺酸、蘇胺酸、纈胺酸、色胺酸或酪胺酸取代；位置433之組胺酸經離胺酸取代；位置434之天冬醯胺酸經丙胺酸、苯丙胺酸、組胺酸、絲胺酸、色胺酸或酪胺酸取代；及位置436之酪胺酸或苯丙胺酸經組胺酸取代，所有位置均使用EU編號。

【0099】 在一些具體實例中，本文所述之抗C5抗體可包含包括SEQ ID NO: 12或14中所述之胺基酸序列的重鏈多肽及/或包括SEQ ID NO: 8或11中所述之胺基酸序列的輕鏈多肽。

製備抗C5抗體及其抗原結合片段的方法

【0100】 本發明亦提供製備本文所述之任何抗C5抗體或其抗原結合片段的方法。在一些具體實例中，製備本文所述抗體之方法可包括用適當免疫原將個體（例如非人類哺乳動物）免疫。適用於產生本文所述之任何抗體的免疫原闡述於本文中。舉例而言，為了產生結合至C5的抗體，熟習此項技術者可用全長C5多肽（諸如全長人類C5多肽）使適合個體（例如非人類哺乳動物，諸如大

鼠、小鼠、沙鼠、倉鼠、狗、貓、豬、山羊、馬，或非人類靈長類動物）免疫。在一些具體實例中，非人類哺乳動物為缺乏C5的哺乳動物，例如描述於例如以下文獻中的C5缺乏性小鼠：Levy及Ladda (1971) *Nat New Biol* 229(2):51-52；Crocker等人(1974) *J Clin Pathol* 27(2):122-124；Wetsel等人(1990) *J Biol Chem* 265:2435-2440；及Jungi及Pepys (1981) *Immunology* 43(2):271-279。

【0101】 適合個體（例如非人類哺乳動物）可用適當抗原免疫且隨後加打免疫多次，從而足以誘使哺乳動物產生抗體。免疫原可隨佐劑一起投予個體（例如非人類哺乳動物）。適用於個體中產生抗體的佐劑包括（但不限於）蛋白質佐劑；細菌佐劑，例如全細菌（BCG，短棒狀桿菌（*Corynebacterium parvum*）或明尼蘇達沙門氏菌（*Salmonella minnesota*）及細菌組分，包括細胞壁骨架、海藻糖二黴菌酸酯、單磷醯基脂質A、根瘤芽孢桿菌（*bacillus*）之甲醇可萃取性殘餘物（MER）、完全或不完全弗氏佐劑（Freund's adjuvant）；病毒佐劑；化學佐劑，例如氫氧化鋁，及碘乙酸鹽及膽固醇基半丁二酸鹽。可用於誘導免疫反應之方法中的其他佐劑包括例如霍亂毒素及副痘病毒蛋白質。亦參見Bieg等人(1999) *Autoimmunity* 31(1):15-24。亦參見例如Lodmell等人(2000) *Vaccine* 18:1059-1066；Johnson等人(1999) *J Med Chem* 42:4640-4649；Balldridge等人(1999) *Methods* 19:103-107；及Gupta等人(1995) *Vaccine* 13(14): 1263-1276。

【0102】 在一些具體實例中，方法包括製備分泌結合至免疫原之單株抗體的融合瘤細胞系。舉例而言，用如上文所述的C5多肽將適合哺乳動物（諸如實驗室小鼠）免疫。至少一次加打免疫接種免疫原之後兩至四天，自經免疫之哺乳動物分離出抗體產生細胞（例如脾臟之B細胞），接著短暫培養生長，隨後與適合骨髓瘤細胞系之細胞融合。細胞可在融合啟動子（諸如牛痘病毒）或聚乙二醇存在下融合。選殖在融合中所獲得之雜交細胞，且選擇分泌所要抗體之細胞純系。舉例而言，經適合免疫原免疫的Balb/c小鼠之脾臟細胞可與骨髓瘤細胞

系PAI或骨髓瘤細胞系Sp2/0-Ag 14之細胞融合。融合之後，細胞於適合培養基中擴增，該培養基每隔一定時間補充選擇培養基（例如HAT培養基），以便防止正常骨髓瘤細胞生長過度而超過所需融合瘤細胞。接著篩選分泌所需抗體（例如結合至C5且抑制C5裂解成片段C5a及C5b的抗體）的所得雜交細胞。

【0103】 在一些具體實例中，熟習此項技術者可利用偏重於非免疫的文庫鑑別抗C5抗體，如例如美國專利第6,300,064號（頒予Knappik等人；Morphosys AG）及Schoonbroodt等人(2005) *Nucleic Acids Res* 33(9):e81中所述。

【0104】 使用上述方法篩選的抗體亞群可根據其針對特定免疫原（例如C5）的特異性及結合親和力、使用此項技術中已知的任何免疫學或生物化學類方法特性化。舉例而言，抗體對於原生全長C5的特異性結合（相較於C5a）可例如使用免疫學或生物化學類方法（諸如（但不限於）ELISA分析、SPR分析、免疫沈澱分析、親和層析及平衡透析）測定，如上文所述。可用於分析抗體之免疫特異性結合及交叉反應性的免疫分析包括（但不限於）使用諸如西方墨點之技術的競爭性及非競爭性分析系統、RIA、ELISA（酶聯免疫吸附分析）、「夾心」免疫分析、免疫沈澱分析、免疫擴散分析、凝集分析、補體固定分析、免疫放射測定分析及蛋白質A免疫分析。此等分析為常規的且在此項技術中已熟知。

【0105】 亦可使用此項技術中已知之任何SPR類分析來分析抗體以便對抗體與C5之相互作用之動力學參數進行特性化。本文所述之方法中可使用市售的任何SPR儀器，包括（但不限於）BIAcore儀器（Biacore AB；Uppsala, Sweden）；1Asys儀器（Affinity Sensors；Franklin, Massachusetts）；IBIS系統（Windsor Scientific Limited；Berks, UK）；SPR-CELLIA系統（Nippon Laser and Electronics Lab；Hokkaido, Japan），及SPR偵測器Spreeta（Texas Instruments；Dallas, Texas）。參見例如Mullett等人(2000) *Methods* 22: 77-91；Dong等人(2002) *Reviews in Mol Biotech* 82: 303-323；Fivash等人(1998) *Curr Opin Biotechnol* 9: 97-101；及Rich等

人(2000) *Curr Opin Biotechnol* 11: 54-61。

【0106】 應瞭解上述方法亦可用於確定例如抗C5抗體是否不結合至全長原生C3及/或C4蛋白質。

【0107】 如上述參考文獻中所述，噬菌體選擇之後，可分離來自噬菌體的抗體編碼區且用於產生全抗體，包括人類抗體，或任何所需片段，且表現於任何所需宿主中，包括哺乳動物細胞、昆蟲細胞、植物細胞、酵母及細菌，例如如下文中所詳述。舉例而言，亦可利用重組產生Fab、Fab'及F(ab')<sub>2</sub>片段的技術，使用此項技術中已知之方法，諸如以下文獻中所揭示之方法：PCT公開案第WO 92/22324號；Mullinax等人(1992) *BioTechniques* 12(6):864-869；及Sawai等人(1995) *Am J Repr Immunol* 34:26-34；及Better等人(1988) *Science* 240:1041-1043。可用於產生單鏈Fvs及抗體的技術實例包括以下文獻中所述的技術：美國專利第4,946,778號及第5,258,498號；Huston等人(1991) *Methods in Enzymology* 203:46-88；Shu等人(1993) *Proc Nat Acad Sci USA* 90:7995-7999；及Skerra等人(1988) *Science* 240:1038-1040。

【0108】 在一些具體實例中，抗原決定基定位可用於鑑別例如與抗體相互作用之C5區域。鑑別特定抗體所結合之抗原決定基的方法在此項技術中亦已知且如上文所述。

【0109】 本文中所鑑別的抗體及其片段可為或可形成「嵌合的」。嵌合抗體及其抗原結合片段包含來自兩種或超過兩種不同物種（例如小鼠及人類）的部分。嵌合抗體可使用與人類恆定域融合之具有所需特異性的小鼠可變區產生（例如美國專利第4,816,567號）。以此方式，非人類抗體可經修飾以使其更適於人類臨床應用（例如治療或預防個體之補體介導性病徵的方法）。

【0110】 本發明之單株抗體包括非人類（例如小鼠）抗體之「人類化（humanized）」形式。人類化mAb或CDR移植mAb尤其適用作供人類用之治療

劑，因為其不會像小鼠抗體一樣快速地自循環中清除且典型地不會引起不利免疫反應。一般而言，人類化抗體中引入有一或多個來自非人類來源的胺基酸殘基。此等非人類胺基酸殘基通常稱為「輸入」殘基，其典型地取自「輸入」可變域。製備人類化抗體之方法在此項技術中通常已熟知。舉例而言，人類化可基本上依照 Winter 及同事的方法進行(參見例如 Jones 等人(1986) *Nature* 321:522-525；Riechmann等人(1988) *Nature* 332:323-327；及Verhoeyen等人(1988) *Science* 239:1534-1536)，其係藉由用噬齒動物構架或CDR序列取代人類抗體之相應序列而達成。亦可參見例如Staelens等人(2006) *Mol Immunol* 43:1243-1257。在一些具體實例中，非人類（例如小鼠）抗體之人類化形式為人類抗體（受者抗體），其中具有所需特異性、親和力及結合能力之非人類抗體（例如小鼠、大鼠、兔或非人類靈長類動物抗體）中的CDR區域胺基酸殘基移植至人類抗體之構架性支架中。

**【0111】** 在一些情況下，人類免疫球蛋白之一或多個構架區胺基酸殘基亦經非人類抗體之相應胺基酸殘基置換（所謂「回復突變」）。此外，可使用噬菌體呈現文庫改變抗體序列內所選位置處之胺基酸。人類化抗體之特性亦受人類構架之選擇影響。此外，人類化抗體及嵌合化抗體可經修飾而包含受者抗體或供者抗體中未發現之殘基以進一步改善抗體特性，諸如親和力或效應功能。

**【0112】** 本發明亦提供完全人類抗體。術語「人類抗體」包括可變區及恆定區（若存在）來源於人類免疫球蛋白序列、較佳人類生殖系序列的抗體。人類抗體可包括不由人類生殖系免疫球蛋白序列編碼之胺基酸殘基（例如藉由試管內隨機或位點特異性突變誘發或藉由活體內體細胞突變所引入之突變）。然而，術語「人類抗體」不包括來源於另一哺乳動物物種（諸如小鼠）之CDR序列已移植至人類構架序列上之抗體（亦即人類化抗體）。完全人類抗體或人類抗體可來源於攜帶人類抗體基因之轉殖基因小鼠（攜帶可變（V）外顯子、多樣性

(D) 外顯子、接合 (J) 外顯子及恆定 (C) 外顯子) 或來源於人類細胞。

【0113】 人類序列可編碼人類抗體之重鏈與輕鏈且在小鼠中會正確發揮作用，從而進行重排以提供與人類中相似之寬抗體譜系。轉殖基因小鼠可用靶蛋白免疫原免疫以形成多種多樣的特異性抗體及其編碼RNA。接著，可將編碼該等抗體之抗體鏈組分的核酸自動物選殖於呈現載體中。典型地，選殖編碼重鏈及輕鏈序列之各別核酸群體，且接著在插入載體中後重組各別群體，以使載體之任何指定複本接受重鏈與輕鏈之隨機組合。載體係設計用於表現抗體鏈，以便可將抗體鏈組裝並呈現於含有載體之呈現包 (display package) 之外表面上。舉例而言，抗體鏈可以與來自噬菌體外表面之噬菌體鞘蛋白形成的融合蛋白形式表現。隨後，可選擇及篩選呈現結合至標靶之抗體的呈現包。

【0114】 在一些具體實例中，本文所述之抗C5抗體包含改變的重鏈恆定區，相對於其相應的未改變恆定區，其效應功能已降低 (或不存在)。涉及抗C5抗體恆定區的效應功能可藉由改變恆定區或Fc區特性來調節。改變的效應功能包括例如一或多種以下活性之調節：抗體依賴性細胞介導細胞毒性 (ADCC)、補體依賴性細胞毒性 (CDC)、細胞凋亡、結合至一或多種Fc受體，及促炎性反應。調節係指相較於未改變形式之恆定區之活性，含有所改變恆定區之本發明抗體所展現的效應功能活性增強、降低或消除。在特定具體實例中，調節包括活性被消除或完全不存在的情形。

【0115】 FcR結合親和力及/或ADCC活性改變及/或CDC活性改變的所改變恆定區為FcR結合活性及/或ADCC活性及/或CDC活性相較於未改變形式之恆定區增強或降低的多肽。與FcR結合增強的所改變恆定區結合至少一種FcR的親和力大於未改變的多肽。與FcR結合減弱的所改變恆定區結合至少一種FcR的親和力低於未改變形式的恆定區。與FcR結合減弱的此等變異體與FcR的結合可為很小的或不明顯的，例如與FcR之結合為原生序列免疫球蛋白恆定區或Fc區與

FcR結合之程度的0至50%（例如小於50%、49%、48%、47%、46%、45%、44%、43%、42%、41%、40%、39%、38%、37%、36%、35%、34%、33%、32%、31%、30%、29%、28%、27%、26%、25%、24%、23%、22%、21%、20%、19%、18%、17%、16%、15%、14%、13%、12%、11%、10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%或1%）。類似地，相較於未改變的恆定區，呈現經調節之ADCC及/或CDC活性的所改變恆定區可展現增強或減弱之ADCC及/或CDC活性。舉例而言，在一些具體實例中，包含所改變恆定區之抗C5抗體可展現未改變形式之恆定區之ADCC及/或CDC活性的約0至50%（例如小於50%、49%、48%、47%、46%、45%、44%、43%、42%、41%、40%、39%、38%、37%、36%、35%、34%、33%、32%、31%、30%、29%、28%、27%、26%、25%、24%、23%、22%、21%、20%、19%、18%、17%、16%、15%、14%、13%、12%、11%、10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%或1%）。包含呈現減弱之ADCC及/或CDC之所改變恆定區的本文所述抗C5抗體可展現減弱的ADCC及/或CDC活性或無ADCC及/或CDC活性。

**【0116】** 在某些具體實例中，相較於原生序列恆定區或未改變的恆定區，所改變恆定區具有至少一個胺基酸取代、插入及/或缺失，例如原生序列恆定區或親本多肽恆定區中存在約一個至約一百個胺基酸取代、插入及/或缺失。在一些具體實例中，本文中的所改變恆定區與未改變的恆定區具有至少約70%同源性（相似性）或一致性且一些情況下與其具有至少約75%同源性或一致性且在其他情況下與其具有至少約80%同源性或一致性，且在其他具體實例中，與其具有至少約85%、90%或95%同源性或一致性。所改變的恆定區亦可含有一或多個胺基酸缺失或插入。另外，所改變的恆定區可含有一或多個胺基酸取代、缺失或插入，此等胺基酸取代、缺失或插入引起改變的轉譯後修飾，包括例如改變的糖基化模式（例如相對於未改變的恆定區而言，一或多種糖組分之添加、一或多

種糖組分之損失，或一或多種糖組分之組成變化)。

【0117】 效應功能改變或無效應功能的抗體可藉由工程改造或產生具有變異型恆定區、Fc或重鏈區域的抗體來產生；可利用重組DNA技術及/或細胞培養及表現條件產生功能及/或活性改變的抗體。舉例而言，可使用重組DNA技術來工程改造影響抗體功能（包括效應功能）之區域（諸如Fc區或恆定區）中的一或多個胺基酸取代、缺失或插入。或者，可藉由操縱藉以產生抗體之細胞培養及表現條件來改變轉譯後修飾，諸如糖基化模式。適用於將一或多個取代、添加或缺失引入抗體Fc區中的方法在此項技術中已熟知且包括例如標準DNA突變誘發技術，如例如以下文獻中所述：Sambrook等人(1989)「Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 第2版」 Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y.; Harlow及Lane (1988), 同上；Borrebaek (1992), 同上；Johne等人(1993), 同上；PCT公開案第WO 06/53301號；及美國專利第7,704,497號。

【0118】 在一些具體實例中，本文所述之抗C5抗體展現減弱的效應功能或無效應功能。在一些具體實例中，抗C5抗體包含雜交恆定區或其一部分，諸如G2/G4雜交恆定區(參見例如Burton等人(1992) *Adv Immun* 51:1-18；Canfield等人(1991) *J Exp Med* 173:1483-1491；及Mueller等人(1997) *Mol Immunol* 34(6):441-452)。參見上文。

【0119】 除使用如上文所述的G2/G4構築體之外，效應功能降低的本文所述抗C5抗體可藉由將其他類型的變化引入抗體之某些區域之胺基酸序列中來產生。此等胺基酸序列變化包括（但不限於）例如PCT公開案第WO 94/28027號及第WO 98/47531號；及Xu等人(2000) *Cell Immunol* 200:16-26中所述之Ala-Ala突變。因此，在一些具體實例中，恆定區內具有一或多個突變（包括Ala-Ala突變）的抗C5抗體具有減弱的效應功能或無效應功能。根據此等具體實例，抗體恆定區可包含位置234變為丙胺酸之取代或位置235變為丙胺酸之突變。另外，改變

的恆定區可含有雙重突變：位置234變為丙胺酸之突變及位置235變為丙胺酸之第二突變。在一個具體實例中，抗C5抗體包含IgG4構架，其中Ala-Ala突變描述位置234苯丙胺酸變為丙胺酸之突變及/或位置235白胺酸變為丙胺酸之突變。在另一具體實例中，抗C5抗體包含IgG1構架，其中Ala-Ala突變描述位置234白胺酸變為丙胺酸之突變及/或位置235白胺酸變為丙胺酸之突變。抗C5抗體可或者或另外攜帶其他突變，包括CH2域中之點突變K322A（Hezareh等人(2001) *J Virol* 75:12161-12168）。此外，在恆定區中具有該（等）突變之抗體可為阻斷抗體或非阻斷抗體。

【0120】 當引入重鏈恆定區中時引起效應功能降低之其他取代闡述於例如Shields等人 (2001) *J Biol Chem* 276(9):6591-6604中。特別參見Shields等人之表1（「人類IgG1變異體與人類FcRn及FcγR的結合」），其揭示內容以全文引用的方式併入本文中。藉由根據與一組Fc受體（包括FcRn、FcγRI、FcγRIIA、FcγRIIB及FcγRIIIA）的結合來篩選抗IgE抗體文庫（文庫中各抗體因重鏈恆定區中之一或多個取代而不同），著者鑑別出調節特異性Fc-Fc受體相互作用的多種取代。舉例而言，其中CH2域含有D265A取代（重鏈胺基酸編號係根據Kabat等人（同上））的變異型IgG2a重鏈恆定區引起變異型恆定區與IgG Fc受體FcγRIIB、FcγRIII、FcγRI及FcγRIV之間的相互作用完全喪失。Shields等人(2001)第6595頁表1。亦參見Baudino等人(2008) *J Immunol* 181:6664-6669 (同上)。

【0121】 鉸鏈區內之變化亦影響效應功能。舉例而言，鉸鏈區之缺失可降低對Fc受體之親和力，且可降低補體活化（Klein等人(1981) *Proc Natl Acad Sci USA* 78:524-528）。因此，本發明亦關於鉸鏈區有變化之抗體。

【0122】 在一些具體實例中，抗C5抗體可含有展現增強或降低之補體依賴性細胞毒性（CDC）的所改變恆定區。可藉由在抗體Fc區中引入一或多個胺基酸取代、插入或缺失來調節CDC活性。參見例如美國專利第6,194,551號。或

者或另外，可將半胱胺酸殘基引入Fc區中，藉此允許此區域中形成鏈間雙硫鍵。由此產生之同源二聚抗體可具有改良或降低之內化能力及/或增加或降低之補體介導性細胞殺死力。參見例如Caron等人(1992) *J Exp Med* 176:1191-1195及Shopes (1992) *Immunol* 148:2918-2922；PCT公開案第WO 99/51642號及第WO 94/29351號；Duncan及Winter (1988) *Nature* 322:738-40；及美國專利第5,648,260號及第5,624,821號。

【0123】 調節抗體效應功能的另一種潛在方式包括糖基化之變化，其概述於例如 Raju (2003) *BioProcess International* 1(4):44-53 中。根據 Wright 及 Morrison，人類IgG寡醣之微異質性可影響生物功能，諸如CDC及ADCC、與不同Fc受體的結合及與Clq蛋白質的結合。(1997) *TIBTECH* 15:26-32。抗體糖基化模式可取決於產生型細胞及細胞培養條件(Raju，同上)而不同。該等差異可引起效應功能及藥物動力學發生變化。參見例如Israel等人(1996) *Immunology* 89(4):573-578；及Newkirk等人(1996) *Clin Exp Immunol* 106(2):259-264。效應功能差異可能與IgG結合至效應細胞上之Fc $\gamma$ 受體(Fc $\gamma$ R)的能力有關。Shields等人已顯示，具有使與Fc $\gamma$ R之結合改善的胺基酸序列改變的IgG可展現高達100%增強的ADCC(使用人類效應細胞)。(2001) *J Biol Chem* 276(9):6591-6604。雖然此等改變包括未發現於結合界面處的胺基酸變化，但糖組分之性質以及其結構模式亦可能導致所觀測到的差異。此外，IgG之寡醣組分中存在或不存在海藻糖均可改良結合及ADCC。參見例如 Shields 等人(2002) *J Biol Chem* 277(30):26733-26740。缺乏與Asn<sup>297</sup>連接之海藻糖基化碳水化合物的IgG展現正常受體結合至Fc $\gamma$ RI受體。相比之下，與Fc $\gamma$ RIIIA受體的結合改良50倍且伴有增強的ADCC，特別是在較低的抗體濃度下。

【0124】 仍存在改變抗體效應功能之其他方法。舉例而言，產生抗體之細胞可具有高突變性，藉此產生在整個抗體分子中具有隨機改變之多肽殘基的抗

體。參見例如PCT公開案第WO 05/011735號。高突變性宿主細胞包括缺乏DNA錯配修復的細胞。以此方式產生之抗體可具有較弱抗原性及/或具有有利的藥物動力學特性。此外，可根據諸如增強或降低之效應功能之特性來選擇該等抗體。適用於製備本文所述抗體或其抗原結合片段之分子生物學技術的其他細節闡述於下文中。

### 重組抗體表現及純化

**【0125】** 本文所述之抗體或其抗原結合片段可使用分子生物學及蛋白質化學技術中已知的多種技術產生。舉例而言，可將編碼抗體之重鏈及輕鏈多肽中之一或兩者的核酸插入表現載體中，該表現載體含有轉錄及轉譯調節序列，包括例如啟動子序列、核糖體結合位點、轉錄起始及終止序列、轉譯起始及終止序列、轉錄終止信號、聚腺苷酸化信號，及增強子或活化子序列。調節序列包括啟動子及轉錄起始及終止序列。另外，表現載體可包括超過一種複製系統，從而使其可在兩種不同生物體中維持，例如在哺乳動物或昆蟲細胞中維持用於表現及在原核生物宿主中維持用於選殖及擴增。

**【0126】** 可使用熟習此項技術者已知的標準方法將各種修飾（例如取代）引入編碼本文所述之重鏈及/或輕鏈多肽的DNA序列中。舉例而言，將組胺酸取代引入抗體之一或多個CDR位置可使用標準方法進行，諸如PCR介導的突變誘發（其中將突變核苷酸併入PCR引子中，以使得PCR產物含有所需突變）或定點突變誘發。可將取代引入一或多個CDR區域中以增強或降低（例如在pH 7.4或pH 6.0）抗體針對抗原之 $K_D$ 。定點突變誘發技術在此項技術中已熟知。參見例如Sambrook等人，同上。

**【0127】** 若干可能的載體系統可用於在哺乳動物細胞中表現自核酸選殖的重鏈及輕鏈多肽。一類載體依賴於將所要基因序列整合於宿主細胞基因組中。具有穩定整合之DNA的細胞可藉由同時引入諸如大腸桿菌gpt（Mulligan及

Berg(1981) *Proc Natl Acad Sci USA* 78:2072)或Tn5 neo( Southern及Berg(1982) *Mol Appl Genet* 1:327)之抗藥性基因來選擇。可將可選標記基因連接至待表現的DNA基因序列，或藉由共轉染來引入同一細胞中 (Wigler等人(1979) *Cell* 16:77)。第二類載體利用DNA元件，其賦予染色體外質體以自主複製能力。此等載體可來源於動物病毒，諸如牛乳突狀瘤病毒 (Sarver等人(1982) *Proc Natl Acad Sci USA*, 79:7147)、細胞巨大病毒、多瘤病毒 (Deans等人(1984) *Proc Natl Acad Sci USA* 81:1292)，或SV40病毒 (Lusky及Botchan (1981) *Nature* 293:79)。

【0128】 表現載體可以適於隨後表現核酸的方式引入細胞中。引入方法主要由靶細胞決定，如下文論述。例示性方法包括CaPO<sub>4</sub>沈澱、脂質體融合、陽離子脂質體、電穿孔、病毒感染、聚葡萄糖介導轉染、凝聚胺介導轉染、原生質體融合及直接顯微注射。

【0129】 適用於表現抗體或其抗原結合片段的宿主細胞包括酵母、細菌、昆蟲、植物及哺乳動物細胞。備受關注的為細菌，諸如大腸桿菌；真菌，諸如釀酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) 及甲醇酵母 (*Pichia pastoris*)；昆蟲細胞，諸如SF9；哺乳動物細胞株 (例如人類細胞株)；以及初級細胞系。

【0130】 在一些具體實例中，抗體或其片段可表現於轉殖基因動物 (例如轉殖基因哺乳動物) 中及自轉殖基因動物 (例如轉殖基因哺乳動物) 純化。舉例而言，抗體可在轉殖基因非人類哺乳動物 (例如嚙齒動物) 中產生且自牛乳中分離，如例如以下文獻中所述：Houdebine (2002) *Curr Opin Biotechnol* 13(6):625-629；van Kuik-Romeijn等人(2000) *Transgenic Res* 9(2):155-159；及Pollock等人(1999) *J Immunol Methods* 231(1-2):147-157。

【0131】 抗體及其片段可由細胞產生，此係藉由使用足以允許表現蛋白質的條件及時間量來培養經含有編碼抗體或片段之核酸之表現載體轉型的宿主細胞而達成。用於表現蛋白質的此等條件將隨表現載體及宿主細胞之選擇而變

化，且容易由熟習此項技術者經由常規實驗來確定。舉例而言，大腸桿菌中表現的抗體可自包涵體再摺疊（參見例如Hou等人(1998) *Cytokine* 10:319-30）。細菌表現系統及其使用方法在此項技術中已熟知（參見Current Protocols in Molecular Biology, Wiley & Sons, and Molecular Cloning--A Laboratory Manual -第3版, Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York (2001)）。密碼子、適合表現載體及適合宿主細胞之選擇將根據多種因素而改變，且容易根據需要最佳化。本文所述之抗體（或其片段）可表現於哺乳動物細胞或其他表現系統（包括（但不限於）酵母、桿狀病毒及試管內表現系統）中（參見例如Kaszubska等人(2000) *Protein Expression and Purification* 18:213-220）。

【0132】 表現之後，可分離抗體及其片段。如對於本文所述之任何蛋白質（抗體或片段）所應用的術語「純化」或「分離」係指已自天然伴隨之組分（例如蛋白質或其他天然存在之生物或有機分子）分離或純化的多肽，例如表現蛋白質之原核生物中存在的其他蛋白質、脂質及核酸。典型地，當多肽在樣品之總蛋白質中佔至少60（例如至少65、70、75、80、85、90、92、95、97或99）%時，該多肽為純化的。

【0133】 抗體或其片段可以熟習此項技術者已知之多種方法分離或純化，此視樣品中存在何種其他組分而定。標準純化方法包括電泳、分子、免疫學及層析技術，包括離子交換、疏水性、親和性及逆相HPLC層析。舉例而言，可使用標準抗體管柱（例如蛋白質-A或蛋白質-G管柱）純化抗體。利用蛋白質濃度的超濾及透濾技術亦為適用的。參見例如Scopes (1994) 「Protein Purification, 第3版」 Springer-Verlag, New York City, New York。需要純化的程度將根據所需用途而改變。在一些情況下，所表現之抗體或其片段不需要純化。

【0134】 測定純化抗體或其片段之產量或純度的方法在此項技術中已知且包括例如布拉福分析（Bradford assay）、UV光譜學、縮二脲蛋白質分析、洛

瑞蛋白質分析 (Lowry protein assay)、醯胺黑蛋白質分析、高壓液相層析法 (HPLC)、質譜法 (MS) 及凝膠電泳方法 (例如使用蛋白質染料, 諸如庫馬斯藍 (Coomassie Blue) 或膠態銀染料)。

【0135】 在一些具體實例中, 可自抗體或片段移除內毒素。自蛋白質樣品移除內毒素的方法在此項技術中已知。舉例而言, 可使用多種市售試劑自蛋白質樣品中移除內毒素, 市售試劑包括 (但不限於) ProteoSpin™ 內毒素移除套組 (Norgen Biotek公司)、Detoxi-Gel 內毒素移除凝膠 (Thermo Scientific; Pierce Protein Research Products)、MiraCLEAN® 內毒素移除套組 (Mirus), 或 Acrodisc™-Mustang® E膜 (Pall公司)。

【0136】 偵測及/或量測存在於樣品 (純化之前與之後) 中之內毒素之量的方法在此項技術中已知且可獲得市售套組。舉例而言, 蛋白質樣品中之內毒素濃度可使用 QCL-1000 顯色套組 (BioWhittaker) 或基於蠟變形細胞溶菌液 (LAL) 之套組 (諸如 Pyrotell®、Pyrotell®-T、Pyrochrome®、Chromo-LAL, 及 CSE 套組, 獲自 Associates of Cape Cod 公司) 測定。

#### 抗體或其抗原結合片段之修飾

【0137】 抗體或其抗原結合片段可在其表現及純化之後加以修飾。修飾可為共價或非共價修飾。此等修飾可藉由例如使多肽之靶向胺基酸殘基與有機衍生劑反應而引入抗體或片段中, 該有機衍生劑能夠與所選側鏈或末端殘基反應。可使用多種準則中之任一者 (包括例如抗體或片段之結構分析或胺基酸序列分析) 選擇適合的修飾位點。

【0138】 在一些具體實例中, 抗體或其抗原結合片段可與異質部分結合。異質部分可為例如異質多肽、治療劑 (例如毒素或藥物), 或可偵測標記, 諸如 (但不限於) 放射性標記、酶標記、螢光標記、重金屬標記、發光標記或親和性標記, 諸如生物素或抗生蛋白鏈菌素。適合的異質多肽包括例如用於純化抗

體或片段的抗原標記（例如FLAG（DYKDDDDK（SEQ ID NO: 20））、聚組胺酸（6-His；HHHHHH（SEQ ID NO: 21））、紅血球凝集素（HA；YPYDVPDYA（SEQ ID NO: 22））、麩胱甘肽-S-轉移酶（GST），或麥芽糖結合蛋白（MBP））。異質多肽亦包括適用作診斷性或可偵測標記的多肽（例如酶），例如螢光素酶、螢光蛋白質（例如綠色螢光蛋白質（GFP）），或氯黴素乙醯基轉移酶（CAT）。適合的放射性標記包括例如<sup>32</sup>P、<sup>33</sup>P、<sup>14</sup>C、<sup>125</sup>I、<sup>131</sup>I、<sup>35</sup>S及<sup>3</sup>H。適合的螢光標記包括（但不限於）螢光素、異硫氰酸螢光素（FITC）、綠色螢光蛋白質（GFP）、DyLight™ 488、藻紅素（PE）、碘化丙錠（PI）、PerCP、PE-Alexa Fluor® 700、Cy5、別藻藍蛋白及Cy7。發光標記包括例如多種發光鐳系元素（例如銻或鉍）螯合劑中之任一者。舉例而言，適合的銻螯合劑包括二伸乙三胺五乙酸（DTPA）或四氮雜環十二烷-1,4,7,10-四乙酸（DOTA）之銻螯合劑。酶標記包括例如鹼性磷酸酶、CAT、螢光素酶及辣根過氧化酶。

【0139】 可使用許多已知化學交聯劑中之任一者使兩種蛋白質（例如抗體及異質部分）交聯。該等交聯劑之實例為經由包括「位阻」雙硫鍵之鍵聯連接兩個胺基酸殘基的交聯劑。在此等鍵聯中，交聯單元內之雙硫鍵經保護（藉由雙硫鍵任一側之位阻基團保護）以免因例如還原麩胱甘肽或酶二硫化物還原酶之作用而還原。一種適合的試劑4-丁二醯亞胺基氧羰基- $\alpha$ -甲基- $\alpha$ -(2-吡啶基二硫)甲苯（SMPT）在兩種蛋白質之間利用一種蛋白質上之末端離胺酸與另一種蛋白質上之末端半胱胺酸形成此類鍵聯。亦可使用藉由各蛋白質上之不同偶合部分進行交聯的異質雙官能試劑。其他適用交聯劑包括（但不限於）連接兩個胺基（例如N-5-疊氮基-2-硝基苯甲醯氧基丁二醯亞胺）、兩個巰基（例如1,4-雙-順丁烯二醯亞胺基丁烷）、胺基與巰基（例如間順丁烯二醯亞胺基苯甲醯基-N-羥基丁二醯亞胺酯）、胺基與羧基（例如4-[對疊氮基柳基醯胺基]丁胺），及胺基與精胺酸側鏈中所存在之胍基（guanidinium group）（例如對疊氮苯基乙二醛單水合物）

的試劑。

【0140】 在一些具體實例中，放射性標記可直接與抗體之胺基酸主鏈結合。或者，放射性標記可作為較大分子之一部分（例如間- $^{125}\text{I}$ 碘苯基-N-羥基丁二醯亞胺（ $^{125}\text{I}$  mIPNHS）中之 $^{125}\text{I}$ ，其結合至自由胺基而形成相關蛋白質之間-碘苯基（mIP）衍生物（參見例如Rogers等人(1997) *J Nucl Med* 38:1221-1229））或作為螯合劑（例如DOTA或DTPA）之一部分（螯合劑又結合至蛋白質主鏈）包括在內。使放射性標記或含有其之較大分子/螯合劑與本文所述之抗體或抗原結合片段結合的方法在此項技術中已知。此等方法包括將蛋白質與放射性標記一起在促進放射性標記或螯合劑與蛋白質結合的條件（例如pH、鹽濃度及/或溫度）下培育（參見例如美國專利第6,001,329號）。

【0141】 使螢光標記（有時稱為「螢光團」）與蛋白質（例如抗體）結合的方法在蛋白質化學技術中已知。舉例而言，可使用連接於螢光團之丁二醯亞胺基（NHS）酯或四氟苯基（TFP）酯部分使螢光團與蛋白質之自由胺基（例如離胺酸之自由胺基）或巰基（例如半胱胺酸）結合。在一些具體實例中，螢光團可與異質雙官能交聯劑部分（諸如磺基-SMCC）結合。適合結合方法包括將抗體蛋白質或其片段與螢光團一起在促進螢光團結合至蛋白質的條件下培育。參見例如 Welch 及 Redvanly (2003) 「Handbook of Radiopharmaceuticals: Radiochemistry and Applications」, John Wiley and Sons (ISBN 0471495603)。

【0142】 在一些具體實例中，抗體或片段可經修飾，例如用改善抗體在循環中（例如在血液、血清或其他組織中）之穩定化及/或保持的部分修飾。舉例而言，抗體或片段可進行聚乙二醇化，如例如以下文獻中所述：Lee等人(1999) *Bioconjug Chem* 10(6): 973-8；Kinstler等人(2002) *Advanced Drug Deliveries Reviews* 54:477-485；及Roberts等人(2002) *Advanced Drug Delivery Reviews*

54:459-476；或羥乙基澱粉化(Fresenius Kabi, Germany；參見例如Pavisia等人(2010) *Int J Pharm* 387(1-2):110-119)。穩定化部分可使抗體（或片段）之穩定性或保持力改善至少（例如至少2、5、10、15、20、25、30、40或50或超過50）倍。

【0143】 在一些具體實例中，本文所述之抗體或其抗原結合片段可進行糖基化。在一些具體實例中，本文所述之抗體或其抗原結合片段可進行酶促或化學處理，或由細胞產生，以使得抗體或片段的糖基化減少或不進行糖基化。產生糖基化減少之抗體的方法在此項技術中已知且描述於例如美國專利第6,933,368號；Wright等人(1991) *EMBO J* 10(10):2717-2723；及Co等人(1993) *Mol Immunol* 30:1361。

#### 醫藥組成物及調配物

【0144】 本文所述之組成物可調配為醫藥溶液，例如用於投予個體以便治療或預防補體相關病症。醫藥組合物通常包括醫藥學上可接受之載劑。如本文所使用，「醫藥學上可接受之載劑（pharmaceutically acceptable carrier）」係指且包括生理學上相容之任何及所有溶劑、分散介質、包衣劑、抗細菌劑及抗真菌劑、等張劑及吸收延遲劑及其類似物。組成物可包括醫藥學上可接受之鹽，例如酸加成鹽或鹼加成鹽（參見例如Berge等人(1977) *J Pharm Sci* 66:1-19）。

【0145】 組成物可根據標準方法調配。醫藥調配為一種充分確立之技術，且進一步描述於例如Gennaro (2000) 「Remington: The Science and Practice of Pharmacy,」 第20版, Lippincott, Williams & Wilkins (ISBN: 0683306472)；Ansel等人(1999) 「Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems,」 第7版, Lippincott Williams & Wilkins Publishers (ISBN: 0683305727)；及Kibbe (2000) 「Handbook of Pharmaceutical Excipients American Pharmaceutical Association,」 第3版(ISBN: 091733096X)。在一些具體實例中，組成物可調配為例如適合濃度且

適於在2-8°C（例如4°C）儲存之經緩衝溶液。在一些具體實例中，組成物可經調配以供在低於0°C之溫度（例如-20°C或-80°C）下儲存。在一些具體實例中，組成物經調配可在2-8°C（例如4°C）儲存長達2年（例如1個月、2個月、3個月、4個月、5個月、6個月、7個月、8個月、9個月、10個月、11個月、1年、1½年或2年）。因此，在一些具體實例中，本文所述之組成物在2-8°C（例如4°C）穩定儲存至少1年。

**【0146】** 醫藥組成物可呈多種形式。此等形式包括例如液體、半固體及固體劑型，諸如液體溶液（例如可注射溶液及可輸注溶液）、分散液或懸浮液、錠劑、丸劑、散劑、脂質體及栓劑。較佳形式部分視預定投藥模式及治療應用而定。舉例而言，含有意欲全身性或局部遞送之組成的組成物可呈可注射或可輸注溶液形式。因此，組成物可經調配以供非經腸模式（例如靜脈內、皮下、腹膜內或肌肉內注射）投藥。如本文所使用，「非經腸投藥（Parenteral administration）」、「非經腸投予（administered parenterally）」及其他文法上等效之詞係指除經腸及局部投藥以外通常藉由注射進行的投藥模式，且包括（但不限於）靜脈內、鼻內、眼內、經肺、肌肉內、動脈內、鞘內、囊內、眶內、心臟內、皮內、肺內、腹膜內、經氣管、皮下、表皮下、關節內、囊下、蛛網膜下、脊柱內、硬膜外、腦內、顱內、頸動脈內及胸骨內注射及輸注（參見下文）。

**【0147】** 組成物可調配為溶液、微乳液、分散液、脂質體或適於在高濃度下穩定儲存之其他有序結構。無菌可注射溶液可藉由將所需量之本文所述組成物與上文所列舉之成分之一或組合一起併入適當溶劑中，隨後根據需要過濾滅菌來製備。一般而言，藉由將本文所述之組成物併入無菌媒劑中來製備分散液，該無菌媒劑含有基礎分散介質及來自上文所列舉之成分之其他所需成分。在無菌粉末用於製備無菌可注射溶液之情況下，製備方法包括真空乾燥及冷凍乾燥，冷凍乾燥係利用其預先無菌過濾的溶液產生本文所述組成物加任何其他所

需成分之粉末（參見下文）。舉例而言，可藉由使用諸如卵磷酯之包衣劑、在分散液情況下藉由維持所需粒度、及藉由使用界面活性劑來維持溶液之適當流動性。可藉由在組成物中包括延遲吸收之試劑（例如單硬脂酸鹽及明膠）來延長可注射組成物之吸收。

【0148】 本文所述之組成物亦可調配成免疫脂質體組成物。此等調配物可藉由此項技術中已知之方法製備，諸如以下文獻中所述的方法：Epstein等人(1985) *Proc Natl Acad Sci USA* 82:3688；Hwang等人(1980) *Proc Natl Acad Sci USA* 77:4030；及美國專利第4,485,045號及第4,544,545號。循環時間延長的脂質體揭示於美國專利第5,013,556號中。

【0149】 在某些具體實例中，組成物可用將保護化合物免於快速釋放之載劑調配，諸如控制釋放型調配物，包括植入物及微膠囊化遞送系統。可使用生物可降解之生物相容聚合物，諸如乙烯乙酸乙烯酯、聚酸酐、聚乙醇酸、膠原蛋白、聚原酸酯及聚乳酸。製備此等調配物的許多方法在此項技術中已知。參見例如J.R. Robinson (1978) 「Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems,」 Marcel Dekker, Inc., New York。

【0150】 在一些具體實例中，組成物可調配成適於肺內投予哺乳動物（諸如人類）的組成物（例如經由吸入器或噴霧器投藥）。調配此等組成物的方法在此項技術中已熟知且描述於例如美國專利申請公開案第20080202513號；美國專利第7,112,341號及第6,019,968號；及PCT公開案第WO 00/061178號及第WO 06/122257號中，各文獻之揭示內容以全文引用的方式併入本文中。乾燥粉末吸入性調配物及適用於投予調配物的適合描述於例如美國專利申請公開案第20070235029號、PCT公開案第WO 00/69887號；及美國專利第5,997,848號中。適於肺內投藥的其他調配物（以及多肽調配方法）闡述於例如美國專利申請公開案第20050271660號及第20090110679號中。

【0151】 在一些具體實例中，組成物經調配可遞送至眼。如本文所使用，術語「眼」係指與眼有關的任何及所有解剖學組織及結構。眼具有由三個不同層組成的壁：外鞏膜、中間脈絡膜層及內視網膜。晶狀體後的腔室填充有膠狀流體，稱為玻璃體液。眼後部為偵測光的視網膜。角膜為光學透明組織，其傳達影像至眼後部。角膜包括一個供藥物滲入眼中的路徑。與眼有關的其他解剖學組織結構包括淚液排出系統，包括分泌系統、分佈系統及排泄系統。分泌系統包含受淚液蒸發所致之眨眼及溫度變化刺激的分泌腺及具有傳出副交感神經供應源且回應於身體或情感刺激而分泌淚液的反射分泌腺。分佈系統包括眼瞼及圍繞睜眼之眼瞼邊緣的淚彎液面，其藉由眨眼而使淚液在眼表面上擴散，從而減少顯影所致的乾燥面積。

【0152】 在一些具體實例中，組成物可局部投與，例如藉助於局部施加或玻璃體內注射。舉例而言，在一些具體實例中，組成物經調配可藉助於滴眼劑投藥。

【0153】 用於治療眼的治療性製劑可於醫藥學上可接受之溶液、懸浮液或軟膏中含有濃度為約0.01 wt%至約1 wt%、較佳約0.05 wt%至約0.5 wt%的一或多種活性劑。製劑較佳呈含有例如其他成分的無菌水溶液形式，其他成分諸如（但不限於）防腐劑、緩衝劑、張力劑、抗氧化劑及穩定劑、非離子濕潤或澄清劑，及增黏劑。

【0154】 適用於此溶液中的防腐劑包括苯紮氯銨、苄索氯銨、氯丁醇、硫柳汞及其類似物。適合緩衝劑包括例如硼酸、碳酸氫鈉及碳酸氫鉀、硼酸鈉及硼酸鉀、碳酸鈉及碳酸鉀、乙酸鈉及磷酸氫鈉，其量足以維持pH在約pH 6與pH 8之間，且較佳在約pH 7與pH 7.5之間。適合張力劑為聚葡萄糖40、聚葡萄糖70、右旋糖、甘油、氯化鉀、丙二醇及氯化鈉。

【0155】 適合抗氧化劑及穩定劑包括亞硫酸氫鈉、偏亞硫酸氫鈉、硫代亞

硫酸鈉及硫脲。適合的濕潤劑及澄清劑包括聚山梨醇酯80、聚山梨醇酯20、泊洛沙姆282 (poloxamer 282) 及泰洛沙泊 (tyloxapol)。適合增黏劑包括聚葡萄糖40、聚葡萄糖70、明膠、甘油、羥乙基纖維素、羥甲基丙基纖維素、羊毛蠟、甲基纖維素、礦脂、聚乙二醇、聚乙烯醇、聚乙烯吡咯啉酮及羧甲基纖維素。製劑可局部投與需要治療之個體（例如罹患AMD之個體）的眼，此藉由習知方法（例如呈滴劑形式）或藉由用含有一或多種組成物的治療性溶液沐浴眼達成。

【0156】 另外，已開發出可將藥物引入眼玻璃體腔內的多種裝置。舉例而言，美國專利申請公開案第20020026176號描述一種含藥塞，其可經由鞏膜插入，以便其伸入玻璃體腔內以將藥劑遞送入玻璃體腔中。在另一實例中，美國專利第5,443,505號描述一種引入脈絡膜上腔空間或無血管區域中的可植入裝置，用於將藥物持續釋放至眼內。美國專利第5,773,019號及第6,001,386號各自揭示可附接於眼鞏膜表面的可植入藥物遞送裝置。裝置包含含有有效量之低溶解性藥劑的內核，該內核被低溶解性藥劑可滲透的非生物溶蝕性聚合物覆蓋。在操作期間，低溶解性藥劑滲透生物溶蝕性聚合物覆蓋層以便自裝置持續釋出。遞送治療劑至眼的其他方法及裝置（例如經鞏膜貼片及經由隱形眼鏡遞送）描述於例如Ambati及Adamis (2002) *Prog Retin Eye Res* 21(2):145-151；Ranta及Urtti (2006) *Adv Drug Delivery Rev* 58(11):1164-1181；Barocas及Balachandran (2008) *Expert Opin Drug Delivery* 5(1):1-10(10)；Gulsen及Chauhan (2004) *Invest Ophthalmol Vis Sci* 45:2342-2347；Kim等人(2007) *Ophthalmic Res* 39:244-254；及PCT公開案第WO 04/073551號，該等文獻之揭示內容以全文引用的方式併入本文中。

【0157】 如上文所述，可製備相對較高濃度的組成物。舉例而言，組成物可調配的濃度為約10 mg/mL至100 mg/mL（例如約9 mg/mL至90 mg/mL；約9 mg/mL至50 mg/mL；約10 mg/mL至50 mg/mL；約15 mg/mL至50 mg/mL；約15

mg/mL至110 mg/mL；約15 mg/mL至100 mg/mL；約20 mg/mL至100 mg/mL；約20 mg/mL至80 mg/mL；約25 mg/mL至100 mg/mL；約25 mg/mL至85 mg/mL；約20 mg/mL至50 mg/mL；約25 mg/mL至50 mg/mL；約30 mg/mL至100 mg/mL；約30 mg/mL至50 mg/mL；約40 mg/mL至100 mg/mL；或約50 mg/mL至100 mg/mL)。在一些具體實例中，組成物可調配的濃度為大於5 mg/mL且小於50 mg/mL。蛋白質於水溶液中調配的方法在此項技術中已知且描述於例如美國專利第7,390,786號；McNally及Hastedt (2007), 「Protein Formulation and Delivery,」第2版, *Drugs and the Pharmaceutical Sciences*, 第175卷, CRC Press；及Banga (2005), 「Therapeutic peptides and proteins: formulation, processing, and delivery systems,第2版」 CRC Press。在一些具體實例中，水溶液具有中性pH，例如6.5與8之間（例如7與8之間且包括7及8）的pH。在一些具體實例中，水溶液具有約6.6、6.7、6.8、6.9、7、7.1、7.2、7.3、7.4、7.5、7.6、7.7、7.8、7.9或8.0之pH。在一些具體實例中，水溶液具有大於（或等於）6（例如大於或等於6.1、6.2、6.3、6.4、6.5、6.6、6.7、6.8、6.9、7、7.1、7.2、7.3、7.4、7.5、7.6、7.7、7.8或7.9）之pH，但小於pH 8。

【0158】 編碼治療性多肽的核酸可併入基因構築體中，該基因構築體作為基因治療方案的一部分用於遞送可用於表現的核酸且在細胞內產生藥劑。此等組分之表現構築體可於任何治療有效載劑中投予，例如能夠活體內有效遞送組分基因至細胞的例如任何調配物或組成物。方法包括將個體基因插入病毒載體中，包括重組逆轉錄病毒、腺病毒、腺相關病毒、慢病毒及單純性疱疹病毒-1（HSV-1），或重組細菌或真核質體。病毒載體可直接轉染細胞；質體DNA可藉助於以下方式遞送：例如陽離子脂質體（脂質體）或衍生化、聚離胺酸結合物、短桿菌素S、人造病毒包膜或其他此等細胞內載劑，以及直接注射基因構築體或活體內進行的CaPO<sub>4</sub>沈澱法（參見例如WO04/060407）。（亦參見「*Ex vivo*

Approaches,」 見下文)。適合逆轉錄病毒之實例包括熟習此項技術者已知之 pLJ、pZIP、pWE及pEM(參見例如Eglitis等人(1985) *Science* 230:1395-1398 ; Danos 及Mulligan (1988) *Proc Natl Acad Sci USA* 85:6460-6464 ; Wilson等人(1988) *Proc Natl Acad Sci USA* 85:3014-3018 ; Armentano等人(1990) *Proc Natl Acad Sci USA* 87:6141-6145 ; Huber等人(1991) *Proc Natl Acad Sci USA* 88:8039-8043 ; Ferry等人 (1991) *Proc Natl Acad Sci USA* 88:8377-8381 ; Chowdhury等人(1991) *Science* 254:1802-1805 ; van Beusechem等人(1992) *Proc Natl Acad Sci USA* 89:7640-7644 ; Kay等人(1992) *Human Gene Therapy* 3:641-647 ; Dai等人(1992) *Proc Natl Acad Sci USA* 89:10892-10895 ; Hwu等人(1993) *J Immunol* 150:4104-4115 ; 美國專利第 4,868,116號及第4,980,286號 ; 及PCT公開案第WO89/07136號、第WO89/02468號、第WO89/05345號及第WO92/07573號)。另一種病毒基因遞送系統係利用腺病毒源載體 (參見例如Berkner等人(1988) *BioTechniques* 6:616 ; Rosenfeld等人 (1991) *Science* 252:431-434 ; 及Rosenfeld等人(1992) *Cell* 68:143-155)。來源於腺病毒株Ad型5 dl324或其他腺病毒株 (例如Ad2、Ad3、Ad7等) 的適合腺病毒載體已為熟習此項技術者所知。適用於遞送個體基因的又一種病毒載體系統為腺相關病毒 (AAV)。參見例如Flotte等人(1992) *Am J Respir Cell Mol Biol* 7:349-356 ; Samulski等人(1989) *J Virol* 63:3822-3828 ; 及McLaughlin等人(1989) *J Virol* 62:1963-1973。

【0159】 在一些具體實例中，組成物可與一或多種其他治療劑一起調配，例如治療或預防個體之補體相關病症 (例如AP相關病症或CP相關病症) 的其他療法。治療個體之補體相關病症的其他藥劑將根據所治療的特定病症而改變，但可包括 (不限於) 抗高血壓劑 (例如血管緊張素轉化酶抑制劑) [用於治療例如HELLP症候群]、抗凝血劑、皮質類固醇 (例如潑尼松 (prednisone))，或免疫抑制劑 (例如長春新鹼 (vincristine) 或環孢靈A (cyclosporineA))。抗凝劑之實

例包括例如華法林 (warfarin) (苳丙酮香豆素鈉 (Coumadin))、阿司匹林 (aspirin)、肝素、苯茛二酮 (phenindione)、磺達肝素 (fondaparinux)、艾卓肝素 (idraparinux) 及凝血酶抑制劑 (例如阿加曲班 (argatroban)、來匹盧定 (lepirudin)、比伐盧定 (bivalirudin) 或達比加群 (dabigatran))。本文所述之組成物亦可與纖維蛋白溶解劑 (例如安克洛酶 (ancrod)、 $\epsilon$ -胺基己酸、抗纖維蛋白溶酶-a<sub>1</sub>前列環素 (prostacyclin) 及去纖維蛋白多核苷酸 (defibrotide)) 一起調配，用於治療補體相關病症。在一些具體實例中，組成物可與脂質降低劑 (諸如羥甲基戊二醯CoA還原酶抑制劑) 一起調配。在一些具體實例中，組成物可與抗CD20藥劑 (諸如利妥昔單抗 (rituximab) (Rituxan™; Biogen Idec, Cambridge, MA)) 一起調配或使用。在一些具體實例中，例如治療RA時，組成物可與英利昔單抗 (infliximab) (Remicade®; Centocor公司) 及甲胺喋呤 (methotrexate) (Rheumatrex®、Trexall®)。中之一或兩者一起調配。在一些具體實例中，本文所述之組成物可與非類固醇消炎藥 (NSAID) 一起調配。可獲得許多不同 NSAIDS，一些非處方藥包括布洛芬 (ibuprofen) (Advil®、Motrin®、Nuprin) 及萘普生 (naproxen) (Aleve®) 且許多其他藥可藉由處方獲得，包括美洛昔康 (meloxicam) (Mobic®)、依託度酸 (etodolac) (Lodine®)、萘丁美酮 (nabumetone) (Relafen®)、舒林酸 (sulindac) (Clinoril®)、托美汀 (tolemin) (Tolectin®)、膽鹼水楊酸鎂 (Trilisate®)、雙氯芬酸 (diclofenac) (Cataflam®、Voltaren®、Arthrotec®)、地夫西納 (Diflunisal) (Dolobid®)、吲哚美辛 (indomethacin) (Indocin®)、酮基布洛芬 (Ketoprofen) (Orudis®、Oruvail®)、奧沙普嗪 (Oxaprozin) (Daypro®) 及吡羅昔康 (piroxicam) (Feldene®)。在一些具體實例中，組成物可與抗高血壓藥劑、抗癲癇藥劑 (例如硫酸鎂) 或抗血栓藥劑一起調配使用。抗高血壓藥劑包括例如拉貝洛爾 (labetalol)、肼酞嗪 (hydralazine)、硝苯地平 (nifedipine)、鈣通道拮抗劑、硝化甘油或硝普酸鈉 (sodium

nitroprussiate )。(參見例如 Mihu 等人 (2007) *J Gastrointestin Liver Dis* 16(4):419-424.)。抗血栓藥劑包括例如肝素、抗凝血酶、前列環素或低劑量阿司匹林。

【0160】 在一些具體實例中，針對肺內投藥所調配的組成物可包括至少一種用於治療肺病的其他活性劑。至少一種活性劑可為例如抗IgE抗體（例如奧馬珠單抗（omalizumab））、抗IL-4抗體或抗IL-5抗體、抗IgE抑制劑（例如孟魯司特鈉（montelukast sodium））、擬交感神經藥（例如沙丁胺醇（albuterol））、抗生素（例如托普黴素（tobramycin））、去氧核糖核酸酶（例如Pulmozyme®）、抗膽鹼激導性藥物（例如異丙托溴銨（ipratropium bromide））、皮質類固醇（例如地塞米松（dexamethasone））、 $\beta$ -腎上腺素受體促效劑、白三烯抑制劑（例如齊留通（zileuton））、5-脂肪加氧酶抑制劑、PDE抑制劑、CD23拮抗劑、IL-13拮抗劑、細胞激素釋放抑制劑、組織胺H1受體拮抗劑、抗組織胺、消炎劑（例如色甘酸鈉（cromolyn sodium））或組織胺釋放抑制劑。

【0161】 在一些具體實例中，組成物可與一或多種用於治療補體相關眼病的其他治療劑一起調配投藥。此等其他治療劑可為例如貝伐單抗（bevacizumab），或貝伐單抗或蘭尼單抗（ranibizumab）之Fab片段（兩者均由Roche Pharmaceuticals公司出售），及派加替尼鈉（pegaptanib sodium）（Mucogen®；Pfizer公司）。此套組亦可視情況包括向個體投予組成物的說明書。

【0162】 在一些具體實例中，組成物經調配可聯合靜脈內 $\gamma$ 球蛋白療法（IVIG）、血漿去除法、血漿置換或血漿交換投予個體。在一些具體實例中，組成物經調配可在腎臟移植之前、期間或之後使用。

【0163】 當組成物欲與第二活性劑組合使用時，組成物可與第二藥劑共調配或組成物可與第二藥劑調配物分開調配。舉例而言，各別醫藥組成物可例如在即將投藥之前混合並一起投予，或可例如在相同或不同時間分開投予（參看

下文)。

## 應用

**【0164】** 本文所述之組成物可用於多種診斷性及治療性應用中。舉例而言，可偵測性標記之抗原結合分子可在分析中用於偵測樣品（例如生物樣品）中靶抗原之存在或量。組成物可在試管內分析中用於研究靶抗原功能之抑制。在一些具體實例（例如其中組成物結合至且抑制補體蛋白質）中，組成物可在為鑑別其他新穎化合物所設計的分析中用作陽性對照物，該等新穎化合物抑制補體活性或另外適用於治療補體相關病症。舉例而言，C5抑制性組成物可在分析中用作陽性對照物以鑑別減少或消除C5產生或MAC形成的其他化合物（例如小分子、適體或抗體）。組成物亦可用於如下文詳細描述的治療方法中。

## 治療方法

**【0165】** 本文所述之組成物可使用多種方法投予個體，例如人類個體，此部分地視投藥途徑而定。途徑可為例如靜脈內注射或輸注（IV）、皮下注射（SC）、腹膜內（IP）注射或肌肉內注射（IM）。

**【0166】** 皮下投藥可藉助於裝置實現。裝置構件可為注射器、預填充注射器、拋棄式或可再用式自動注射器、筆式注射器、貼片式注射器、可穿戴式注射器、移動式注射器輸注泵浦聯合皮下輸注裝置或供與抗體藥物合併以便皮下注射的其他裝置。

**【0167】** 可藉由例如局部輸注、注射或利用植入物來投藥。植入物可為多孔、非多孔或凝膠狀材料，包括薄膜，諸如矽橡膠膜（sialastic membrane）或纖維。植入物可經組態以供向個體持續釋放或週期性釋放組成物。參見例如美國專利申請公開案第20080241223號；美國專利第5,501,856號；第4,863,457號；及第3,710,795號；EP488401；及EP 430539，各文獻之揭示內容以全文引用的方式併入本文中。本文所述之組成物可藉助於可植入裝置遞送至個體，該可植入裝

置係基於例如擴散、可侵蝕或對流系統，例如滲透泵、可生物降解植入物、電擴散系統、電滲透系統、蒸氣壓泵、電解泵、起泡泵、壓電泵、基於侵蝕之系統或機電系統。

**【0168】** 在一些具體實例中，本文所述之組成物在治療時藉助於局部投藥而遞送至個體。如本文所使用，「局部投藥」或「局部遞送」係指遞送不依賴於組成物或藥劑經由血管系統輸送至其預定靶組織或靶點。舉例而言，組成物可藉由注射或植入組成物或藥劑或藉由注射或植入含有組成物或藥劑的裝置來遞送。局部投予靶組織或靶點附近之後，組成物或藥劑或其一或多種組分可擴散至預定靶組織或靶點。

**【0169】** 在一些具體實例中，本文所述之組成物可局部投予關節（例如所連接之關節）。舉例而言，在病症為關節炎的實施例中，治療上適當的組成物可直接投予關節（例如關節空間內）或關節附近。本文所述之組成物可局部投予之關節內關節之實例包括例如髖、膝、肘、腕、胸鎖、顱下頷、腕骨、跗骨、踝及罹患關節炎病狀的任何其他關節。本文所述之組成物亦可投予囊內，諸如肩峰囊、肱二頭肌橈骨囊、尺橈囊、三角肌囊、髖下囊、坐骨囊及醫藥技術中已知的任何其他囊。

**【0170】** 在一些具體實例中，本文所述之組成物可局部投予眼。如本文所使用，術語「眼」係指與眼有關的任何及所有解剖學組織及結構。眼具有由三個不同層組成的壁：外鞏膜、中間脈絡膜層及內視網膜。晶狀體後的腔室填充有膠狀流體，稱為玻璃體液。眼後部為偵測光的視網膜。角膜為光學透明組織，其傳達影像至眼後部。角膜包括一個供藥物滲入眼中的路徑。與眼有關的其他解剖學組織結構包括淚液排出系統，包括分泌系統、分佈系統及排泄系統。分泌系統包含受因淚液蒸發所致之眨眼及溫度變化刺激的分泌腺及具有傳出副交感神經供應源且回應於身體或情感刺激而分泌淚液的反射分泌腺。分佈系統包

括眼瞼及圍繞睜眼之眼瞼邊緣的淚彎液面，其藉由眨眼而使淚液在眼表面上擴散，從而減少顯影所致的乾燥面積。

【0171】 在一些具體實例中，本文所述之組成物係投予眼後房中。在一些具體實例中，本文所述之組成物係玻璃體內投予。在一些具體實例中，本文所述之組成物可經鞏膜投予。

【0172】 在一些具體實例中，例如在治療或預防病症（諸如COPD或哮喘）的實施例中，本文所述之組成物可經肺投予個體。經肺遞送藥物可藉由吸入達成，且本文中之吸入投藥可經口及/或鼻。經肺遞送之醫藥裝置之實例包括定劑量吸入器、乾燥粉末吸入器（DPI）及噴霧器。舉例而言，本文所述之組成物可藉助於乾燥粉末吸入器投予個體之肺。此等吸入器為將分散性及穩定性乾燥粉末調配物遞送至肺的無推進劑裝置。乾燥粉末吸入器在在醫藥技術中已熟知且包括（但不限於）TurboHaler®（AstraZeneca；London, England）、AIR®吸入器（Alkermes®；Cambridge, Massachusetts）、Rotahaler®（GlaxoSmithKline；London, England）；及Eclipse™（Sanofi-Aventis；Paris, France）。亦參見例如PCT公開案第WO 04/026380號、第WO 04/024156號及第WO 01/78693號。DPI裝置已用於經肺投予多肽，諸如胰島素及生長激素。在一些具體實例中，可藉助於定劑量吸入器，肺內投予本文所述之組成物。此等吸入器依賴於推進劑將不連續劑量的化合物遞送至肺。藉由定劑量吸入器投予的化合物之實例包括例如Astivent®（Boehringer-Ingelheim；Ridgefield, Connecticut）及Flovent®（GlaxoSmithKline）。亦參見美國專利第6,170,717號；第5,447,150；及第6,095,141號。

【0173】 在一些具體實例中，本文所述之組成物可藉助於噴霧器投予個體之肺。噴霧器係使用壓縮空氣遞送呈液化氣溶膠或霧形式的化合物。噴霧器可為例如噴射噴霧器（例如空氣或液體噴射噴霧器）或超音波噴霧器。其他裝置及肺內投藥方法闡述於例如美國專利申請公開案第20050271660號及第

20090110679號中，各案之揭示內容以全文引用的方式併入本文中。

**【0174】** 在一些具體實例中，本文所提供之組成物係以單位劑型存在，其可特別適用於自投藥。本發明之調配產物可包括在容器內，容器典型地為例如小瓶、藥筒、預填充注射器或拋棄式筆。亦可例如聯合本發明之注射系統使用給藥器，諸如美國專利第6,302,855號中所述之給藥裝置。

**【0175】** 本發明之注射系統可使用如美國專利第5,308,341號中所述的遞送筆。最常用於將胰島素自遞送至糖尿病患者的筆裝置在此項技術中已熟知。此等裝置可包含至少一個注射針（例如長度約5 mm至8 mm之31號針），典型地預填充有一或多個治療性單位劑量之治療溶液，且適用於以儘可能少的疼痛將溶液快速遞送至個體。

**【0176】** 一種藥物遞送筆包括其中可接收胰島素或其他藥物小瓶的小瓶固持器。小瓶固持器為具有近端及遠端之一般為管狀之細長結構。小瓶固持器之遠端包括用於嚙合雙頭針套管之安裝構件。近端亦包括用於嚙合筆主體之安裝構件，筆主體包括驅動器及劑量設定裝置。供先前技術小瓶固持器使用的拋棄式含藥（例如本文所述組成物之高濃度溶液）小瓶包括具有可刺穿之彈性體隔膜的末端，該隔膜可用雙頭針套管之一端刺穿。此小瓶之近端包括可滑動地安置之與小瓶之圓柱形壁液密嚙合之塞子。藉由將藥物小瓶插入小瓶固持器中來使用此藥物遞送筆。接著使筆主體與小瓶固持器之近端連接。筆主體包括用於指定該筆所遞送之藥物劑量的劑量設定裝置及用於將瓶塞向遠端推動對應於所選劑量之距離的驅動裝置。筆使用者將雙頭針套管安裝於小瓶固持器遠端以使針套管之近端點刺穿小瓶上之隔膜。接著，患者選擇劑量且操作該筆以向遠端推動塞子來遞送所選劑量。注射所選劑量後，劑量選擇裝置歸零。患者接著移除且丟棄針套管，且使藥物遞送筆保持在方便的位置供隨後所需投藥之用。若干次該類投藥後，小瓶中之藥物將耗盡。接著，患者將小瓶固持器與筆主體

分離。接著可移除且丟棄空瓶。可在小瓶固持器中插入新小瓶，且可再組裝小瓶固持器與筆主體且如上文所說明而使用。因此，藥物遞送筆一般具有用於精確給藥且容易使用之驅動機構。

**【0177】** 諸如可旋轉旋鈕之給藥機構允許使用者精確調節將由筆自預填裝之藥物小瓶注射的藥物之量。為注射該劑量之藥物，使用者將針插入皮膚下且按壓旋鈕一次直至其應按壓處。該筆可為完全機械裝置，或其可與電子電路組合以精確設定及/或指示注射至使用者中之藥物劑量。參見例如美國專利第6,192,891號。

**【0178】** 在一些具體實例中，筆裝置中之針為拋棄式，且套組包括一或多根拋棄式置換針。適用於遞送本發明所提供之任一種組成物的筆裝置亦描述於例如美國專利第6,277,099號、第6,200,296號及第6,146,361號中，各專利之揭示內容以全文引用的方式併入本文中。基於微針之筆裝置描述於例如美國專利第7,556,615號中，該專利之揭示內容係以全文引用的方式併入本文中。亦參見Scandinavian Health有限公司製造之Molly™精密筆注射器（PPI）裝置。

**【0179】** 本發明亦提供適用於長期及/或自投予藥物（諸如本文所述之組成物）的控制釋放或延長釋放型調配物。各種調配物可以藥團形式或藉由連續輸注一段時間來投予需要藥物治療的患者。

**【0180】** 在一些具體實例中，本文所述之高濃度組成物係根據持續釋放、延長釋放、定時釋放、控制釋放或連續釋放投藥來調配。在一些具體實例中，使用儲槽式調配物將組成物投予有需要之個體。在此方法中，組成物係用一或多種載劑調配，從而使活性劑在數小時或數日之時段期間逐漸釋放。該等調配物通常基於降解基質，該基質逐漸分散於體內以釋放活性劑。

**【0181】** 在一些具體實例中，本文所述之組成物係藉助於肺內投藥而投予向有需要的個體。舉例而言，本文所述之組成物可藉助於噴霧器或吸入器遞送

至罹患諸如哮喘或COPD之病症的個體（例如人類）。

【0182】 本文所述之組成物之適合劑量（該劑量能夠治療或預防個體之病症）可視多種因素而定，包括例如所治療個體之年齡、性別及體重以及所用的特定抑制劑化合物。舉例而言，相較於不同組成物（例如抗TNF $\alpha$ 組成物）治療同一個體所需之劑量，一種組成物（例如抗C5組成物）治療患有RA之個體可能需要不同劑量。影響投予個體之劑量的其他因素包括例如病症之類型或嚴重程度。舉例而言，患有RA之個體可能需要投予與患有PNH之個體不同劑量的本文所述之抗C5組成物。其他因素可包括例如同時或先前影響個體之其他醫學病症、個體之一般健康狀況、個體之遺傳素因、飲食、投藥時間、排泌速率、藥物組合及投予個體之任何其他額外治療劑。亦應理解，任何特定個體之特定劑量及治療方案將視治療醫學從業者（例如醫生或護士）之判斷而定。

【0183】 本文所述之組成物可作為固定劑量投予，或以毫克/公斤（mg/kg）劑量投予。在一些具體實例中，亦可選擇可減少或避免針對組成物中之一或多種抗原結合分子產生抗體或其他宿主免疫反應的劑量。雖然決不希望具有限制性，但抗體（諸如本文所述之組成物）之例示性劑量包括例如1 mg/kg至1000 mg/kg、1 mg/kg至100 mg/kg、0.5 mg/kg至50 mg/kg、0.1 mg/kg至100 mg/kg、0.5 mg/kg至25 mg/kg、1 mg/kg至20 mg/kg及1 mg/kg至10 mg/kg。本文所述之組成物之例示性劑量包括（但不限於）0.1 mg/kg、0.5 mg/kg、1.0 mg/kg、2.0 mg/kg、4 mg/kg、8 mg/kg或20 mg/kg。

【0184】 A 醫藥溶液可包括治療有效量之本文所述組成物。此等有效量容易由一般技術者部分地根據所投組成物之效應或組成物與一或多種其他活性劑之組合效應（若使用超過一種藥劑）來確定。本文所述組成物之治療有效量亦可根據諸如以下因素而改變：個體之疾病病況、年齡、性別及體重，以及組成物（及一或多種其他活性劑）誘發個體中之所需反應的能力，例如至少一種

病狀參數之改善，例如補體介導性病徵之至少一種症狀改善。舉例而言，治療有效量之本文所述組成物可抑制（減輕嚴重程度或消除發生）及/或預防特定病徵，及/或此項技術中已知或本文所述之特定病徵之任一種症狀。治療有效量亦為組成物之治療有益效應勝過任何毒性或不利效應的量。

【0185】 本文所述之任一種組成物之適合人類劑量可在例如I期劑量遞增研究中進一步評估。參見例如 van Gurp 等人(2008) *Am J Transplantation* 8(8):1711-1718；Hanouska等人(2007) *Clin Cancer Res* 13(2, part 1):523-531；及 Hetherington 等人 (2006) *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 50(10):3499-3500。

【0186】 本文中所用之術語「治療有效量」或「治療有效劑量」或類似術語欲意調藥劑（例如本文所述之組成物）誘發所需生物或醫學反應（例如補體相關性病徵之一或多種症狀改善）的量。在一些具體實例中，本文所述之醫藥溶液含有治療有效量之至少一種該等組成物。在一些具體實例中，溶液含有一或多種組成物及一或多種（例如兩種、三種、四種、五種、六種、七種、八種、九種、十種或十一種或超過十一種）其他治療劑，使得組成物在總體上為治療有效的。舉例而言，溶液可含有本文所述之抗C5組成物及免疫抑制劑，其中組成物及藥劑各自的濃度使得當組合時在治療上有效治療或預防個體之補體相關性病徵（例如補體相關性發炎性病徵，諸如COPD、哮喘、敗血症或RA）。

【0187】 此等組成物之毒性及治療功效可用細胞培養物或實驗性動物（例如本文所述之任一種補體介導性病徵之動物模型）、藉由已知醫藥程序確定。此等程序可用於例如測定LD<sub>50</sub>（50%群體致死性劑量）及ED<sub>50</sub>（50%群體治療有效劑量）。毒性與治療效應之劑量比為治療指數且其可以比率LD<sub>50</sub>/ED<sub>50</sub>表示。較佳為展現高治療指數的本文所述組成物。雖然可使用展現毒性副作用之組成物，但應小心設計使該等化合物靶向受影響組織位點且將對正常細胞之潛在損傷減

至最小且藉此減少副作用的遞送系統。

**【0188】** 自細胞培養分析法及動物研究獲得之資料可用於調配一系列用於人類的劑量。本文所述組成物的劑量一般在組成物之循環濃度範圍內，包括毒性很小或不具有毒性之ED<sub>50</sub>。劑量可視所採用劑型及所利用投藥途徑而在此範圍內變化。本文所述之組成物的治療有效劑量最初可利用細胞培養分析估算。可利用動物模型調配劑量以獲得循環血漿濃度範圍，包括IC<sub>50</sub>（亦即抗體達成症狀之一半最大抑制的濃度），如在細胞培養中所測定。可使用該資訊更精確地確定適用於人類之劑量。血漿中之含量可例如藉由高效液相層析法量測。在一些具體實例（例如在需要局部投藥（例如投予眼或關節）的情況下）中，可利用細胞培養或動物模型確定在局部位點內達成治療有效濃度所必需的劑量。

**【0189】** 在一些具體實例中，該等方法可聯合補體相關性病症之其他療法進行。舉例而言，組成物可與血漿去除法、IVIG療法或血漿交換法同時、之前或之後投予個體。參見例如Appel等人(2005) *J Am Soc Nephrol* 16:1392-1404。在一些具體實例中，組成物可在腎臟移植的同時、之前或之後投予個體。

**【0190】** 如本文所使用的「個體」可為任何哺乳動物。舉例而言，個體可為人類、非人類靈長類動物（例如猩猩、大猩猩、獼猴、狒狒或黑猩猩）、馬、牛、豬、綿羊、山羊、狗、貓、兔、豚鼠、沙鼠、倉鼠、大鼠或小鼠。在一些具體實例中，個體為嬰兒（例如人類嬰兒）。

**【0191】** 如本文所使用，「需要預防」、「需要治療」或「有需要」之個體係指根據適當醫學從業者（例如在人類之情況下為醫生、護士或護士從業者；在非人類哺乳動物之情況下為獸醫）之判斷，合理地受益於指定療法者。

**【0192】** 術語「預防」在此項技術中已認知且當關於病狀使用時，在此項技術中已充分瞭解，且包括投予組成物，相對於未接受本文所述之組成物的個體而言，該組成物降低個體之醫學病狀之症狀的頻率或延遲其發作。因此，預

防補體相關病症（諸如哮喘）包括例如：以例如統計學上及/或臨床上的顯著量，降低接受預防性療法之患者群體之咳嗽、哮喘或胸痛的程度或頻率（相對於未經治療的對照群體），及/或延遲所治療群體之咳嗽或哮喘之發生（相對於未經治療的對照群體）。

【0193】 如上文所述，本文所述之組成物（例如抗C5組成物）可用於治療多種補體相關病症，諸如（但不限於）：類風濕性關節炎（RA）；狼瘡腎炎；局部缺血再灌注損傷；非典型性溶血性尿毒症候群（aHUS）；典型或感染性溶血性尿毒症候群（tHUS）；緻密沈積物疾病（DDD）；陣發性夜間血紅素尿症（PNH）；多發性硬化（MS）；黃斑變性（例如老年性黃斑變性（AMD））；溶血、肝酶提高及低血小板（HELLP）症候群；敗血症；皮肌炎；糖尿病性視網膜病變；血栓性血小板減少性紫癜症（TTP）；自發性流產；少免疫性血管炎；水疱性表皮鬆懈；復發性流產；多發性硬化（MS）；及創傷性腦損傷。參見例如Holers (2008) *Immunological Reviews* 223:300-316 以及 Holers 及 Thurman (2004) *Molecular Immunology* 41:147-152。在一些具體實例中，補體介導性病症為補體介導性血管病症，諸如（但不限於）心血管病症、心肌炎、腦血管病症、周邊（例如肌骨骼）血管病症、腎血管病症、腸系膜/腸血管病症、移植及/或再植之血管再形成、血管炎、亨諾-施恩萊茵氏紫癜病腎炎、全身性紅斑狼瘡相關性血管炎、類風濕性關節炎相關性血管炎、免疫複合物血管炎、器官或組織移植、高安氏疾病、毛細血管滲漏症候群、擴張型心肌症、糖尿病性血管病變、胸-腹部主動脈動脈瘤、川崎氏疾病（動脈炎）、靜脈氣體血栓（VGE）及支架置入術後之再狹窄、旋轉斑塊切除術及經皮經管腔冠狀血管成形術（PTCA）。（參見例如美國專利申請公開案第20070172483號）。在一些具體實例中，補體相關病症為重症肌無力、冷凝集素疾病（CAD）、陣發性冷血紅素尿症（PCH）、皮肌炎、硬皮病、溫熱自體免疫性溶血性貧血、格雷夫氏疾病、橋本氏甲狀腺炎、I型糖

尿病、牛皮癬、天疱瘡、自體免疫性溶血性貧血（AIHA）、特發性血小板減少性紫癜（ITP）、古巴士德氏症候群、抗磷脂症候群（APS）、德戈斯疾病及嚴重APS（CAPS）。

【0194】 在一些具體實例中，本文所述之組成物單獨或與第二消炎劑組合可用於治療發炎性病徵，諸如（但不限於）RA（上文）、發炎性腸病、敗血症（上文）、敗血性休克、急性肺損傷、播散性血管內凝固（DIC）或克羅恩氏病。在一些具體實例中，第二消炎劑可為選自由以下組成之群之一：NSAID、皮質類固醇、甲胺喋呤、羥氯喹（hydroxychloroquine）、抗TNF藥劑（諸如依那西普（etanercept）及英利昔單抗）、B細胞消耗劑（諸如利妥昔單抗）、介白素-1拮抗劑或T細胞共刺激阻斷劑（諸如阿巴西普（abatacept））。

【0195】 在一些具體實例中，補體相關病症為補體相關神經病症，諸如（但不限於）肌肉萎縮性側索硬化（ALS）、腦損傷、阿茲海默氏病及慢性發炎性脫髓鞘神經病變。

【0196】 補體相關病症亦包括補體相關性肺病，諸如（但不限於）哮喘、支氣管炎、慢性阻塞性肺病（COPD）、間質性肺病、 $\alpha$ -1抗胰蛋白酶缺乏症、肺氣腫、支氣管擴張症、阻塞性細支氣管炎、肺泡炎、類肉瘤病、肺纖維化及膠原蛋白血管病症。

【0197】 在一些具體實例中，本文所述之組成物係投予個體以治療、預防或改善個體之補體相關性發炎反應（例如補體相關病症之補體相關性發炎反應方面）的至少一種症狀。舉例而言，組成物可用於治療、預防及/或改善與補體相關性發炎反應有關的一或多種症狀，諸如移植物排斥/移植物抗宿主病（GVHD）、再灌注損傷（例如心肺繞通或組織移植之後），及其他形式之創傷性損傷（諸如燒傷（例如嚴重燒傷）、鈍器創傷、脊柱損傷或凍傷）之後的組織傷害。參見例如Park等人(1999) *Anesth Analg* 99(1):42-48；Tofukuji等人(1998) *J*

*Thorac Cardiovasc Surg* 116(6):1060-1068 ; Schmid 等人 (1997) *Shock* 8(2):119-124 ; 及 Bless 等人 (1999) *Am J Physiol* 276(1):L57-L63 。

【0198】 在一些具體實例中，本文所述之組成物可作為單一療法投予個體。或者，如上文所述，組成物可與另一療法（例如補體相關病症或補體相關性發炎反應之另一療法）以組合療法投予個體。舉例而言，組合療法可包括向個體（例如人類患者）投予一或多種其他藥劑（例如抗凝集劑、抗高血壓劑或消炎藥（例如類固醇）），從而向患有敗血症或處於產生敗血症之風險中的個體提供治療益處。在另一實例中，組合療法可包括向個體投予一或多種其他藥劑（例如抗IgE抗體、抗IL-4抗體、抗IL-5抗體或抗組織胺），從而向患有補體相關性肺病（諸如COPD或哮喘）、處於產生該病之風險中或懷疑患有該病的個體提供治療益處。在一些具體實例中，組成物及一或多種其他活性劑係同時投予。在其他實施例中，在時間上首先投予組成物且在時間上其次投予一或多種其他活性劑。在一些具體實例中，在時間上首先投予一或多種其他活性劑且在時間上其次投予組成物。

【0199】 本文所述之組成物可置換或增強先前或當前投予的療法。舉例而言，當用本文所述之組成物治療時，可中止或減少投予一或多種其他活性劑，例如降低投予量，例如在投予本文所述之抗C5組成物之後，降低艾庫組單抗量。在一些具體實例中，可維持先前療法之投予。在一些具體實例中，維持先前療法直至組成物之量達到足以提供治療作用的量。兩種療法可組合投予。

【0200】 監測個體（例如人類患者）之病症（例如敗血症、嚴重燒傷、RA、狼瘡腎炎、古巴士德氏症候群或哮喘）改善（如本文所定義）意謂評估個體之疾病參數的變化，例如指定病症之一或多種症狀的改善。許多上述病症（例如補體相關病症）之症狀在醫藥技術中已熟知。在一些具體實例中，在投予本文所述之組成物之後至少一（1）小時（例如至少2、4、6、8、12、24或48小時）

或至少1天、2天、4天、10天、13天、20天或超過20天或至少1週、2週、4週、10週、13週、20週或超過20週進行評估。可在一或多個以下時段評估個體：開始治療之前；在治療期間；或在一或多種治療成分已投予之後。評估可包括評估進一步治療之需要，例如評估劑量、投藥頻率或治療持續時間是否應改變。其亦可包括評估添加或降低所選治療樣式的需要，例如添加或降低本文所述之補體相關病症的任一種療法。

【0201】 以下實施例僅具說明性且不應理解為以任何方式限制本發明之範圍，因為熟習此項技術者在閱讀本發明時將顯而易知許多變型及等效物。

【0202】 本文中引用之所有專利、專利申請案及公開案均以全文引用的方式併入本文中。

## 實例

### 實施例1. 艾庫組單抗半衰期為若干清除速率之組合

【0203】 艾庫組單抗在接受處方給藥方案之PNH及aHUS患者中的平均半衰期為約11至12天，而具有IgG2/4 Fc之人類化單株抗體的預期半衰期預計類似於含有IgG2或IgG4 Fc之抗體的半衰期：約21至28天。Morell等人(1970) *J Clin Invest* 49(4):673-680。為了瞭解抗原介導性清除對艾庫組單抗之總體清除速率的潛在影響，使用人類新生兒Fc受體(hFcRn)小鼠模型(小鼠缺乏內源性FcRn，但具有hFcRn轉殖基因(B6.Cg-Fcgr<sup>tm1Dcr</sup> Tg(FCGRT)32Dcr/DcrJ；儲備編號014565, Jackson Laboratories, Bar Harbor, Maine))進行以下實驗。轉殖基因FcRn模型已描述於例如Petkova等人(2006) *Int Immunology* 18(12):1759-1769；Oiao等人(2008) *Proc Natl Acad Sci USA* 105(27):9337-9342；及Roopenian等人(2010) *Methods Mol Biol* 602:93-104。

【0204】 藉由靜脈內(i.v.)注射向五隻hFcRn轉殖基因小鼠各投予200 mL磷酸鹽緩衝鹽水(PBS)中之100 mg艾庫組單抗之單一劑量。投藥之後第1、3、

7、14、21、28及35天，自各小鼠收集約100 μL血液樣品。藉由ELISA量測血清中之艾庫組單抗濃度。簡言之，用綿羊抗人類Igk輕鏈捕捉抗體塗佈分析盤且阻斷。接著使分析盤之各孔與血清樣品在允許艾庫組單抗（若存在於血清中）結合至捕捉抗體的條件下接觸。使用可偵測性標記之抗人類IgG4抗體偵測結合至各孔之艾庫組單抗的相對量且相對於利用含有已知量之艾庫組單抗之原生小鼠血清所產生的標準曲線加以量化。

【0205】 使用下式計算抗體血清半衰期：

$$\text{半衰期} = T \times \frac{\ln 2}{\ln \frac{A_0}{A_t}}$$

其中：T=逝去的時間，A<sub>0</sub>=抗體之原始血清濃度（在本發明研究中為第1天的濃度）且A<sub>t</sub>=所逝去時間T之後的剩餘抗體量（在本發明研究中為最小可偵測濃度或最後放血時間點（第35天））。

【0206】 實驗結果描繪於圖1中。艾庫組單抗在hFcRn小鼠模型中的半衰期為13.49±0.93天。

【0207】 為測定人類C5對艾庫組單抗半衰期（使用hFcRn模型）的影響，在給藥之前，將抗體與人類C5（Complement Technology公司，目錄編號：A120）以4:1莫耳比預混合。第0天靜脈內（i.v.）投予100 μg劑量之艾庫組單抗。第1、3、7、14、21、28及35天，經由眼眶放血而將約100 μL血液收集於1.5 mL艾本德管（Eppendorf tube）中。

【0208】 如圖1中所示，在C5存在下，艾庫組單抗在hFcRn小鼠模型中之半衰期為4.55±1.02天。此等結果表明，除其中長半衰期主要由FcRn介導性再循環決定的胞吞介導性抗體清除機制之外，經由人類C5發生的抗原介導性清除可顯著影響艾庫組單抗之半衰期。

實施例2. 艾庫組單抗之Fc域中的胺基酸取代使艾庫組單抗半衰期延長，但不足以克服C5對艾庫組單抗清除的影響

【0209】 IgG抗體之Fc區中的某些胺基酸取代已顯示可降低抗體在循環中的排除速率。使IgG抗體在pH 6.0針對FcRn之結合親和力增強的取代為此生物作用之實例。參見例如Dall'Acqua等人(2006) *J Immunol* 117:1129-1138及Ghetie等人(1997) *Nat Biotech* 15: 637-640。Zalevsky等人[(2010) *Nat Biotech* 28:157-159]描述能夠使IgG抗體在血清中之半衰期延長的多種胺基酸取代，例如M428L/N434S。其他半衰期延長性胺基酸取代包括例如T250Q/M428L及M252Y/S254T/T256E。參見例如國際專利申請公開案第WO 2008/048545號及Dall'Acqua等人(2006) *J Biol Chem* 281:23514-23524。為了確定艾庫組單抗Fc恆定區中的一或多種胺基酸取代是否能夠延長艾庫組單抗在血清中的半衰期，將以下取代引入艾庫組單抗中：M252Y/S254T/T256E，其係基於EU編號索引（艾庫組單抗之此變異體在下文中稱為 YTE 變異體）。重鏈恆定區係由下列胺基酸序列組成：ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVTSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTKVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGMEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK（SEQ ID NO:15）。艾庫組單抗之YTE變異體之全長重鏈多肽的胺基酸序列描述於SEQ ID NO: 16中。

【0210】 利用實施例1中所述之hFcRn小鼠模型評估YTE變異體及艾庫組單抗。亦即，藉由靜脈內(i.v.)注射向八隻hFcRn轉殖基因小鼠各投予含有100 mg艾庫組單抗（IgG2/4Fc區）（含有Fc之艾庫組單抗變異體或艾庫組單抗之YTE變異體）的200 mL磷酸鹽緩衝鹽水（PBS）。投藥之後第1、3、7、14、21、28及35天，自各小鼠收集血清。藉由ELISA量測血清中各抗體之濃度且如實施例1中所

述計算半衰期。結果描繪於圖2及表2中。

表2

| 所測試抗體          | 半衰期   | 標準差 (SE) |
|----------------|-------|----------|
| 艾庫組單抗          | 13.49 | 0.93     |
| 艾庫組單抗-IgG2     | 14.28 | 1        |
| 艾庫組單抗-IgG2-YTE | 29.07 | 4.7      |

【0211】 如圖2及表2中所示，YTE取代使艾庫組單抗平均半衰期延長超過2倍，自14.28±1天延長至29.07±4.7天。

【0212】 為確定人類C5對艾庫組單抗之YTE變異體之半衰期的影響，向小鼠人類C5，如上文實施例1所述。第0天靜脈內投予100 µg劑量之艾庫組單抗、艾庫組單抗-IgG2變異體，或艾庫組單抗-IgG2 YTE變異體。如圖3及表3中所示，在莫耳濃度過量的人類C5存在下，艾庫組單抗、艾庫組單抗-IgG2變異體及艾庫組單抗-IgG2 YTE變異體的半衰期顯著減少。因此，艾庫組單抗之FcRn結合域中的胺基酸取代不足以克服C5介導性清除對艾庫組單抗半衰期的影響。

表3

| 所測試抗體                 | T1/2  | 標準差 (SE) |
|-----------------------|-------|----------|
| 艾庫組單抗                 | 13.49 | 0.93     |
| 艾庫組單抗-IgG2            | 14.28 | 1        |
| 艾庫組單抗-IgG2(YTE)       | 29.07 | 4.7      |
| 艾庫組單抗+ hC5            | 4.55  | 1.02     |
| 艾庫組單抗-IgG2 + C5       | 2.11  | 0.31     |
| 艾庫組單抗-IgG2(YTE) + hC5 | 4.28  | 1.09     |

實施例3. 艾庫組單抗CDR中之胺基酸取代對半衰期的影響

【0213】 如上文所述，艾庫組單抗在小鼠中的半衰期在其抗原人類C5（hC5）存在下顯著縮短。雖然不受任何特定理論或作用機制束縛，但假設在抗原存在下之清除加速部分地為艾庫組單抗針對C5之極高親和力（K<sub>D</sub>在pH 7.4為約30 pM且在pH 6.0為約600 pM）的結果，此極高親和力不允許抗體:C5複合物

在胞飲之後在早期內體隔室中發生高效解離。抗體:抗原複合物在不解離的情況下經由新生兒Fc受體（FcRn）再循環至細胞外隔室中或靶向溶酶體降解。在任一情況下，抗體在其生命期內不能結合兩個以上C5分子。

【0214】 艾庫組單抗針對C5之強親和力（ $K_D$ 約30 pM）允許血液中之所有C5發生幾乎完全的結合，確保活化形成C5a及TCC的C5極少。因此，艾庫組單抗針對C5之親和力與抗體在經抗體治療之患者中的活體內功效直接相關。本發明人意欲減弱艾庫組單抗針對C5之親和力，而不損害艾庫組單抗之活體內功效。雖然揭示內容不限於此方法，但此係藉由將組胺酸引入艾庫組單抗CDR中之一或多個位置而達成。組胺酸具有6.04之pKa。此意謂當pH值自7.4（血液）降至小於6.0（早期內體）時，組胺酸獲得質子。因此，在內體中，組胺酸更變得帶正電荷。本發明人假設藉由將組胺酸引入艾庫組單抗中之針對C5之結合位點處或附近，內體中之電荷轉移可中斷內體中之結合，同時在血液中之中性pH下對C5保持高親和力。此等取代延長半衰期的假設為，在內體之酸性環境中有利於抗體自抗體:C5複合物中解離，從而允許自由抗體再循環，同時使C5在溶酶體中降解。

【0215】 使用艾庫組單抗作為親本抗體，產生其中每個CDR位置經組胺酸取代的一系列變體型抗體。艾庫組單抗重鏈可變區具有下列胺基酸序列：  
QVQLVQSGAEVKKPGAS  
VKVSCKASGYIFSNIWIQWVRQAPGQGLEWMGEILPGSGSTEYTENFKDRV  
TMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARYFFGSSPNWYFDVWGQGTLVTVSS（SEQ ID NO:7）。（重鏈可變區之CDR區域加有下劃線）。艾庫組單抗輕鏈可變區具有下列胺基酸序列：DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC  
GAENIYGALNWYQQKPGKAPKLLIYGATNLADGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS  
SLQPEDFATYYCQNVLNTPLTFTGQGTKVEIK（SEQ ID NO:8）。

【0216】 此組胺酸掃描工作之結果為66種單一組胺酸取代艾庫組單抗變異體。將此等抗體變異體之輕鏈及重鏈編碼序列選殖於適於哺乳動物細胞表現之各別「單一基因構築體」質體中且確認序列。藉由將編碼單一輕鏈或重鏈之單一基因構築體共轉染而使含有單一胺基酸取代的抗體短暫表現於HEK293F細胞中。代表未修飾之艾庫組單抗CDR序列的「野生型」重鏈及輕鏈亦進行共轉染（EHL000）。將組織培養上清液中的抗體表現量歸一化且用於評估抗體與人類C5的結合（相對於EHL000，使用Octet Red儀器（ForteBio公司）進行生物層干擾測量法）。簡言之，用抗人類IgG Fc生物感測器（ForteBio，目錄號18-5001）捕捉抗體。接著將負載尖端在含有12.5 nM原生純化人類C5之pH 7.4緩衝溶液中暴露800秒，以相對於親本抗體評估結合動力學。藉由將尖端轉移至pH 7.4緩衝溶液或pH 6.0緩衝溶液中800秒來評估解離動力學。所有量測均重複進行以確保讀數一致性。

【0217】 基於艾庫組單抗的一系列三種特性，選擇艾庫組單抗之單一組胺酸取代變異體。較佳組胺酸變異體與艾庫組單抗在pH 7.4之 $k_a$ 及 $k_d$ 偏離的程度僅為較小的，但與艾庫組單抗在pH 6.0之 $k_d$ 有更明顯的偏離。相對臨限值選擇準則如下：

（1）相較於在800秒針對艾庫組單抗所觀測的平均峰值相移，800秒時之pH 7.4結合動力學最大偏差為33%較小峰值相移；

（2）相較於在800秒針對艾庫組單抗所觀測的平均峰值相移，800秒期間之pH 7.4解離動力學最大偏差為峰值相移減小不超過3倍；及

（3）相較於在800秒針對艾庫組單抗所觀測的平均峰值相移，800秒期間之pH 6.0解離動力學最小偏差為峰值相移減小至少3倍。

【0218】 舉例而言，相對於上述分歧（1），若與艾庫組單抗結合800秒後的平均峰值相移為約0.75 nm，則相移小於0.5 nm（例如再現兩次或多於兩次）

的測試抗體不滿足上述準則。相比之下，800秒時峰值相移大於0.5 nm的測試抗體滿足第一準則。

【0219】 滿足此等臨限值之輕鏈可變區中的單一取代為下列：G31H、L33H、V91H及T94H，皆相對於SEQ ID NO: 8而言。滿足此等臨限值之重鏈可變區中的單一取代為下列：Y27H、I34H、L52H及S57H，皆相對於SEQ ID NO: 7而言。參見圖5A、圖5B、圖5C及圖5D。

【0220】 產生第二系列抗體，其在單一取代滿足臨限值準則的位置含有兩個組胺酸取代之所有可能組合。參見表1。經由相同方法且相較於原始親本抗體與單一組胺酸取代來分析此等結合及解離動力學。同樣，相較於相關的兩種或三種組胺酸取代親代，產生分別含有三個或四個組胺酸取代的第三及第四系列抗體且分析結合及解離動力學。參見表1。在各階段，pH 7.4結合動力學之最小臨限值、pH 7.4解離動力學之最大臨限值及pH 6解離動力學之最小臨限值均使用相同準則。八種取代組合滿足上述準則且根據在pH 7.4及pH 6.0經由SPR進行的親和力測定來選擇。親和力列舉於表4中。

表4

| 純系命名   | VL 序列            | VH 序列                 | KD pH 7.4 (nM) | KD pH 6.0(nM) | pH 6.0/pH 7.4 之 KD 比率 |
|--------|------------------|-----------------------|----------------|---------------|-----------------------|
| 艾庫組單抗  | SIN:8            | SIN:7                 | 0.033          | 0.685         | 21                    |
| EHL000 | SIN:8            | SIN:7                 | 0.018          | 0.419         | 24                    |
| EHL001 | G31H, 相對於 SIN:8. | SIN:7                 | 0.330          | 1900          | 5758                  |
| EHL004 | G31H, 相對於 SIN:8. | S57H                  | 0.135          | 374           | 2770                  |
| EHL046 | G31H, 相對於 SIN:8. | SIN:7, 具有: Y27H, L52H | 1.150          | ND            | NA                    |
| EHL049 | G31H, 相對於 SIN:8. | SIN:7, 具有: Y27H, S57H | 0.573          | ND            | NA                    |
| EHL055 | G31H, 相對於 SIN:8. | SIN:7, 具有: I34H, S57H | 0.623          | 2550          | 4093                  |
| EHG302 | SIN:8            | SIN:7, 具有: Y27H, L52H | 0.289          | 10.0          | 35                    |
| EHG303 | SIN:8            | SIN:7, 具有: Y27H, S57H | 0.146          | 1190          | 8151                  |
| EHG305 | SIN:8            | SIN:7, 具有: I34H, S57H | 0.160          | 10.8          | 68                    |

\*SIN係指SEQ ID NO.

【0221】 對於此等取代組合而言，艾庫組單抗在pH 6.0針對C5的親和力降低超過1000倍，而在pH 7.0時之親和力降低不超過20倍。其中，選擇EHG303（表4）用於進一步分析，原因為其在pH 7.4之親和力高（0.146 nM）及比率（pH 6.0之K<sub>D</sub>）/（pH 7.4之K<sub>D</sub>）逾8,000。EHG303抗體之重鏈多肽包含下列胺基酸序列：

MGWSCIILFLVATATGVHSLEQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGHIF  
SNYWIQWVRQAPGQGLEWMGEILPGSGHTEYTENFKDRVMTMTRDTSTSTVY  
MELSSLRSEDVAVYYCARYFFGSSPNWYFDVWGQGTLVTVSSASTKGPSVFP  
LAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS

LSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECPCPAPPVAGP  
SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKT  
KPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKG  
QPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT  
TPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSL  
GK ( SEQ ID NO:24 )。EHG303 抗體之輕鏈多肽包含下列胺基酸序列：

MGWSCIILFLVATATGVHS

RDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCGASENIYGALNWYQQKPGKAPKLLIYGAT  
NLADGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQNVLNTPLTFGQGTKVEI  
KRTRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS  
GNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF  
NRGEC ( SEQ ID NO:25 )。在上述序列中，加有下劃線的部分對應於各種多肽  
之前導序列且斜體部分為藉助於選殖所引入的異源胺基酸。

【0222】 亦選擇EHL049抗體。其重鏈多肽包含下列胺基酸序列：

MGWSCIILFLVATATGVHS*LEQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGHIF*  
*SNYWIQWVRQAPGQGLEWMGEILPGSGHTEYTENFKDRVMTTRDTSTSTVY*  
*MELSSLRSED*TAVYYCARYFFGSSPNWYFDVWGQGTLVTVSSASTKGPSVFP  
LAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS  
LSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECPCPAPPVAGP  
SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKT  
KPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKG  
QPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT  
TPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSL  
GK ( SEQ ID NO:26 )。EHL049 抗體之輕鏈多肽包含下列胺基酸序列：

MGWSCIILFLVATATGVHS

TDIQTMTQSPSSLSASVGDRVTITCGASENIYHALNWDYQQKPGKAPKLLIYGAT  
NLADGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQNVLNTPLTFGQGKVEI  
KRTRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS  
GNSQESVTEQDSKSTYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF  
NRGEC (SEQ ID NO:27)。在上述序列中，加有下劃線的部分對應於各種多肽  
之前導序列且斜體部分為藉助於選殖所引入的異源胺基酸。

【0223】 最後，EHL000重鏈多肽包含下列胺基酸序列：

MGWSCIILFLVATATGVHSLEQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYIF  
SNYWIQWVRQAPGQGLEWMGEILPGSGSTEYTENFKDRVTMTRDTSTSTVY  
MELSSLRSEDYAVYYCARYFFGSSPNWYFDVWGQGTLVTVSSASTKGPSVFP  
LAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS  
LSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECPAPVAGP  
SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKT  
KPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKG  
QPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT  
TPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSL  
GK (SEQ ID NO:28)。EHL000抗體之輕鏈多肽包含下列胺基酸序列：

MGWSCIILFLVATATGVHSTDIQTMTQSPSSLSASVGDRVTITCGASENIY  
GALNWDYQQKPGKAPKLLIYGATNLADGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFA  
TYYCQNVLNTPLTFGQGKVEIKRTRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL  
NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSSLTLSKADYE  
KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:29)。在上述序列中，加  
有下劃線的部分對應於各種多肽之前導序列且斜體部分為藉助於選殖所引入的

異源胺基酸。

實施例4. 組胺酸取代使血清中之艾庫組單抗半衰期延長

【0224】 上述EHL及EHG抗體中之每一者之輕鏈多肽及重鏈多肽係利用單一基因構築體表現。EHG303之重鏈及輕鏈編碼序列於雙重基因表現載體中組合，EHL049抗體之輕鏈及重鏈序列亦如此。所得EHG303純系表示為BNJ421且所得EHL049純系表示為BNJ423。BNJ421重鏈可變區之胺基酸序列如下：

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGHIFSNYWI  
QWVRQAPGQGLEWMGEILPGSGHTEYTENFKDRVTMTRDTSTSTVYMELSS  
LRSEDVAVYYCARYFFGSSPNWYFDVWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:12)。  
BNJ421 之 輕 鏈 可 變 區 胺 基 酸 序 列 如 下：  
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCGASENIYGALNWY  
QQKPGKAPKLLIYGATNLADGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQN  
VLNTPLTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO:8)。

【0225】 BNJ423抗體之重鏈可變區包含下列胺基酸序列：

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGHIFSNYWIQWVRQAPGQGLEW  
MGEILPGSGHTEYTENFKDRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDVAVYYCARY  
FFGSSPNWYFDVWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:12)。BNJ423之輕鏈胺基酸序  
列如下：  
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCGASENIYHALNWYQQKPGKAPKLLIYGATN  
LADGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQNVLNTPLTFGQGTKVEIK  
(SEQ ID NO:18)。

【0226】 使用免疫缺乏（NOD/錫特）及C5缺乏的小鼠，評估此兩種分子以及EHL000。藉由靜脈內（i.v.）注射向八隻小鼠各投予單一劑量之含有100 μg EHL000、BNJ421或BNJ423的200 μL磷酸鹽緩衝鹽水（PBS）。投藥之後第1、3、

7、14、21、28及35天，自各小鼠收集血清。藉由ELISA量測血清中之各抗體濃度。使用非隔室分析(NCA)及直接反應Emax，使用Pharsight Phoenix® WinNonlin®6.3版軟體計算抗體血清半衰期。血清中剩餘抗體之百分比如下計算：

$$\text{剩餘抗體}\% = \frac{C_t}{C_1} \times 100$$

其中C<sub>t</sub>=指定日之抗體濃度；且C<sub>1</sub>=第1天之抗體濃度。

結果描繪於圖6及表5中。

表5

| 測試 Ab  | 血清 T ½ (天數) | 標準差 (SE) |
|--------|-------------|----------|
| EHL000 | 22.18       | 1.01     |
| BNJ421 | 25.29       | 0.81     |
| BNJ423 | 24.69       | 2.16     |

【0227】 為了確定人類C5對此等抗體之半衰期的影響（使用相同小鼠模型），將人類C5皮下投予小鼠，第-1天（抗體投予小鼠前一天）之起始劑量為250 μg，隨後兩次50 μg C5之日劑量以使血清C5濃度維持在約20 μg/mL（如實施例1中所述）。

【0228】 如圖7（及下文表6）中所示，EHL000（艾庫組單抗-IgG1）在小鼠模型中、在人類（hC5）（濃度大於C5與艾庫組單抗之1:1莫耳比）存在下的半衰期為2.49±0.34天，而BNJ421及BNJ423抗體（含有組胺酸取代）之半衰期實質上延長，分別為15.25±0.90天及22.71±0.71天。此等結果表明，相對於艾庫組單抗而言，艾庫組單抗之CDR中的組胺酸取代及針對C5所得的pH依賴性親和力使艾庫組單抗變異體之血清清除速率顯著降低。

表6

| 測試 Ab      | 血清 T ½ (天數) | SE   |
|------------|-------------|------|
| EHL000     | 22.18       | 1.01 |
| BNJ421     | 25.29       | 0.81 |
| BNJ423     | 24.69       | 2.16 |
| EHL000+hC5 | 2.49        | 0.34 |
| BNJ421+hC5 | 15.25*      | 0.90 |
| BNJ423+hC5 | 22.71       | 1.19 |

\*相對於EHL000+hC5而言具有顯著性。

實例5. 經組胺酸取代之艾庫組單抗變異體不會喪失補體抑制活性

【0229】 另外，亦利用實施例4中所述之實驗評估含有人類C5之各樣品中的血清溶血活性。小鼠血清中的末端補體活性係藉由評估其溶解雞紅血球的能力來測定。由於所用小鼠缺乏C5，因此溶血活性直接反映樣品中之人類C5活性。簡言之，存在於含有0.1%明膠、141 mM NaCl、0.5 mM MgCl<sub>2</sub>、0.15 mM CaCl<sub>2</sub>及1.8 mM巴比妥鈉（sodium barbital）之明膠佛羅那緩衝生理鹽水（Gelatin Veronal-Buffered Saline, GVBS）(Comptech目錄號B100)中的50 µg/mL、3 µg/mL及0 µg/mL抗體分別用作低、中及100%溶胞對照。藉由將鼠類測試血清1:10於GVBS中稀釋來製備實驗性樣品。將樣品等分試樣（50 µL）分配於96孔盤（Corning；Tewksbury, MA目錄號3799）之相應三重複孔中，該96孔盤之對照孔中含有等體積之含20%小鼠C5缺乏性血清及20%人類血清（Bioreclamation，目錄號HMSRM-COMP+）的GVBS且測試樣品孔中含有等體積之含20%小鼠C5缺乏性血清及20%人類C5耗乏性血清（Complement Technologies，目錄號A320）的GVBS。將EDTA（2 µL，500 mM，Sigma，目錄號E-9884）添加至對照物與樣品之第三三重複孔中以產生「無溶血」血清顏色對照物。雞紅血球於GVBS中洗滌，藉由與抗雞RBC多株抗體（Intercell Technologies；0.1%v/v）一起在4°C培育15分鐘來致敏以活化補體經典路徑，再次洗滌且以每毫升約7.5×10<sup>7</sup>個細胞之最終濃度再懸浮於GVBS中。向含有對照物及樣品的盤中添加致敏的雞紅血球（約2.5×10<sup>6</sup>個細胞），在盤振盪器上短暫混合，且在37°C培育30分鐘。再次混合試劑，以845×g離心3分鐘，且將85 µL上清液轉移至96孔平底微量滴定盤（Nunc, Penfield, NY, 目錄號439454）之各孔中。使用微量盤讀取器量測415 nm吸光度且使用下式測定溶血百分比：

$$\text{溶血}\% = \frac{\text{樣品OD} - \text{樣品顏色對照物OD}}{100\% \text{溶胞對照物OD} - 100\% \text{溶胞顏色對照物OD}} \times 100$$

其中OD=光學密度。

【0230】 如圖8中所示，儘管BNJ421與BNJ423在pH 7.4下的親和力稍微低於艾庫組單抗，但仍能夠結合存在於循環中的幾乎所有人類C5且抑制溶血。此等結果表明可減弱艾庫組單抗針對C5之親和力而不損害該抗體之活體內功效，且使得抗體之血清半衰期延長。

實施例6. pH依賴性結合至C5與增強的FcRn介導性再循環對於艾庫組單抗變異體之血清半衰期而言具有相加作用

【0231】 如上文所示，在人類C5存在下，經組胺酸取代之艾庫組單抗變異體在轉殖基因小鼠中的半衰期顯著延長。為了評估在組成性C5合成及人類FcRn存在下pH依賴性結合至C5及結合至FcRn對抗C5抗體之藥物動力學(PK)及藥效學(PD)的潛在相加效應，使用具有人類恆定區的抗小鼠C5抗體在表現人類FcRn之轉殖基因小鼠中進行一系列PK/PD實驗。此等鼠類抗C5抗體係由BB5.1之可變區經工程改造而成，BB5.1為一種鼠類抗體，其充當艾庫組單抗之藥理學替代物，因為其結合小鼠C5且防止其裂解成活性代謝片段C5a及C5b[De Vries等人(2003) *Transplantation* 3:375-382]。高親和力抗小鼠C5抗體（表示為：BHL011）經工程改造而具有BB5.1鼠類可變區及人類Ig $\kappa$ 及人類IgG2/G4恆定區之親和力最佳化變異體。BHL011之pH依賴性變異體係藉由將三個組胺酸取代併入鼠類可變區中而經工程改造（此變異體表示為：BHL006）。第三抗體係藉由將兩個胺基酸取代併入人類恆定區重鏈（M428L、N434S）中而經工程改造以增強對hFcRn之親和力（此變異體表示為：BHL009）。

【0232】 BHL006之輕鏈多肽之胺基酸序列如下：

NIMMTQSPSSLAVSAGEKVTMSCKSSQSVLYSSNQKNYLAWYQQKPGQ  
SPKLLIYWASTRESGVPDRFTGSGSGTDFTLTISSVQAEDLAVYYCAQHLSHRT  
FGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKV

DNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLS  
SPVTKSFNRGEC( SEQ ID NO:30 )。BHL006抗體之重鏈多肽之胺基酸序列如下：

QVQLQQPGAELVRPGTSVKLSCKASGYTFTSSWMHWVKQRPGQGLEWI  
GVIDPHDSYTNYNQKFKGKATLTVDTSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARGG  
GSSYNRYFDVWGTGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDY  
FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNV  
DHKPSNTKVDKTVERKCCVECPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT  
CVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLH  
QDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQ  
VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKS  
RWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLK ( SEQ ID NO:31 )。

【0233】 BHL009之輕鏈多肽之胺基酸序列如下：

NIMMTQSPSSLAWSAGEKVTMSCKSSQSVLYSSNQKNYLAWYQQKPGQ  
SPKLLIYWASTRESGVPDRFTGSGSGTDFTLTISVQAEDLAVYYCAQHLSHRT  
FGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKV  
DNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLS  
SPVTKSFNRGEC ( SEQ ID NO:32 )。

【0234】 BHL009之重鏈多肽之胺基酸序列如下：

QVQLQQPGAELVRPGTSVKLSCKASGYTFTSSWMHWVKQRPGQGLEWI  
GVIDPHDSYTNYNQKFKGKATLTVDTSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARGG  
GSSYNRYFDVWGTGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDY  
FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNV  
DHKPSNTKVDKTVERKCCVECPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT  
CVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLH

QDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQ  
VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKS  
RWQEGNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSLGK (SEQ ID NO:33)。

【0235】 BHL011之輕鏈多肽之胺基酸序列如下：

NIMMTQSPSSLAWSAGEKVTMSCKSSQSVLYSSNQKNYLAWYQQKPGQ  
SPKLLIYWASTRESGVPDRFTGSGSGTDFTLTISVQAEDLAVYYCAQYLSSRT  
FGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKV  
DNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTLSLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLS  
SPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:34)。

【0236】 BHL011之重鏈多肽之胺基酸序列如下：

QVQLQQPGAELVRPGTSVKLSCKASGYTFTSSWMHWVKQRPGQGLEWI  
GVIDPSDSYTNYNQKFKGKATLTVDTSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARGGG  
SSYNRYFDVWGTGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYF  
PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVD  
HKPSNTKVDKTKVERKCCVECPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC  
VVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQ  
DWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQV  
SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSR  
WQEGNVFSCSVMHREALHNHYTQKSLSLSLGK (SEQ ID NO:35)。

【0237】 使用抗Fc人類捕捉方法，在BIACore 3000儀器上，經由SPR測定  
BHL011、BHL006及BHL009結合至純化小鼠的動力學。簡言之，抗人類Fc( KPL，  
目錄號：01-10-20) 於10 mM乙酸鈉 (pH 5.0) 中稀釋至0.1 mg/mL，藉由胺偶合  
反應而在CM5晶片之兩個流動池上固定8分鐘。抗體在操作緩衝液 (HBS-EP；  
0.01 M HEPES pH 7.4，0.15 M NaCl、3 mM EDTA、0.005% v/v界面活性劑P20；

GE Life Sciences，目錄號：BR1001-88）中稀釋至0.25 µg/mL。經稀釋之抗體接著注射於一個流動池上，隨後將6 nM小鼠C5注射於兩個池上。第二流動池用作參考表面。評估pH 7.4及pH 6.0下之結合。表面每次用20 mM HCl、0.01% P20再生。使用1:1朗格繆爾模型(Langmuir model)、經由『雙重指稱』、使用BIAevaluation 4.1軟體來處理資料。經由注射6 nM小鼠C5 (pH 7.4)，隨後注射HBS-EP緩衝液 (pH 6.0)，類似地評估與小鼠C5複合之BHL011、BHL006及BHL009在pH 6.0下的解離。此等實驗之結果顯示於表7中。

表7

| Ab     | 結合速率:<br>K <sub>a</sub> (1/M*s) |                          | 解離速率:<br>K <sub>d</sub> (1/s) |                           | 解離常數:<br>K <sub>D</sub> (nM) |        | Chi <sup>2</sup> |        | 300 秒內之解離 % |        |
|--------|---------------------------------|--------------------------|-------------------------------|---------------------------|------------------------------|--------|------------------|--------|-------------|--------|
|        | pH 7.4                          | pH 6.0                   | pH 7.4                        | pH 6.0                    | pH 7.4                       | pH 6.0 | pH 7.4           | pH 6.0 | pH 7.4      | pH 6.0 |
| BHL011 | 6.44<br>×10 <sup>5</sup>        | 2.39<br>×10 <sup>3</sup> | 6.13<br>×10 <sup>-5</sup>     | 1.28<br>×10 <sup>-4</sup> | 0.0952                       | 53.6   | 0.0194           | 0.048  | 1           | 7      |
| BHL006 | 2.93<br>×10 <sup>5</sup>        | NB                       | 1.02<br>×10 <sup>-3</sup>     | NB                        | 3.49                         | NB     | 0.021            | NB     | 28          | 100    |
| BHL009 | 2.61<br>×10 <sup>5</sup>        | NB                       | 1.09<br>×10 <sup>-3</sup>     | NB                        | 4.19                         | NB     | 0.0234           | NB     | 28          | 100    |

\* 「NB」未觀測到特異性結合；「Ab」係指抗體名稱。

【0238】 為了測定在組成性C5合成存在下pH依賴性結合至C5對抗C5抗體之藥物動力學(PK)的影響及增強之FcRn再循環使半衰期得到相加性延長的潛力，使用實施例1中所述之轉殖基因FcRn小鼠模型分析BHL011、BHL006及BHL009之總血清濃度。總抗體血清濃度及血清濃度（第1天濃度之百分比）顯示於圖9至圖11中。雄性小鼠以實線表示且雌性小鼠以虛線表示。雌性的第1天之總抗體血清濃度高於雄性，與身體質量及分佈體積之差異成比例。此性別差異引起BHL011藥物動力學之動物間變化，原因可能為C5介導性清除所致的劑量依賴性非線性關係（圖9A及圖9B）。一般而言，對於BHL006（圖10A及圖10B）及BHL009（圖11A及圖11B）而言，動物間變化較低，但BHL006劑量組中之一個雌性（2939）呈現加速之清除。動物2939之加速清除的原因未知。

【0239】 在C5及hFcRn之組成性合成存在下，高親和力IgG2/4 抗C5抗體（BHL011）具有6天之平均終末半衰期且在第21天自循環中已清除約98%（圖12及圖13；表8）。具有IgG2/4Fc區之pH依賴性抗C5抗體（BHL006）的平均清除速率減少，其平均β階段半衰期為16至19天。經觀測，對hFcRn之親和力改善、具有IgG2/4 Fc區之pH依賴性抗C5抗體的半衰期另外延長約2倍（BHL009半衰期約36天）。此等參數與在hFcRn小鼠中、在抗原不存在下針對具有及不具有M428L、N434S取代之IgG2/4抗體所觀測的參數一致。此等結果證明pH依賴性C5結合及對FcRn之親和力增強對於延長抗C5抗體之PK暴露賦予相加性效應。

表8

| 抗體     | 動物標示 | 性別 | 體重（g） | C <sub>MAX</sub><br>（μg/mL） | 半衰期（天數）   |
|--------|------|----|-------|-----------------------------|-----------|
| BHL011 | 2929 | M  | 37.8  | 519.8                       | 7.2       |
|        | 2930 | M  | 33.5  | 512.2                       | 7.1       |
|        | 2963 | F  | 23.2  | 805.0                       | 6.2       |
|        | 2964 | F  | 20.2  | 814.6                       | 5.0       |
|        | 2965 | F  | 23.4  | 823.5                       | 4.4       |
|        |      |    |       |                             | 平均值 = 6.0 |
| BHL006 | 2905 | M  | 37.5  | 361.6                       | 15.4      |
|        | 2906 | M  | 36.1  | 378.8                       | 19.1      |
|        | 2939 | F  | 21.8  | 836.0                       | 4.6       |
|        | 2940 | F  | 23.9  | 635.3                       | 21.6      |
|        | 2941 | F  | 20.0  | 906.9                       | 20.1      |
|        |      |    |       |                             | 平均值= 16.2 |
| BHL009 | 2913 | M  | 31.2  | 402.6                       | 45.8      |
|        | 2914 | M  | 31.0  | 606.7                       | 45.0      |
|        | 2947 | F  | 21.3  | 724.9                       | 33.2      |
|        | 2948 | F  | 22.3  | 590.1                       | 22.8      |
|        | 2949 | F  | 20.9  | 652.8                       | 33.1      |
|        |      |    |       |                             | 平均值= 36.0 |

抗小鼠C5抗體在人類FcRn轉殖基因小鼠中的藥效學

【0240】 在補體經典路徑介導性雞紅血球（雞紅血球；cRBC）溶血分析中評估抗小鼠C5抗體在血清樣品中的藥理學活性。溶血性活性係以給藥前樣品中之活性百分比計算且顯示於圖14至圖16中。雄性以實線表示且雌性以虛線表示。活體外溶血性活性之拮抗作用與樣品中之總抗體濃度成比例。溶血性活性

之拮抗作用之持續時間的性別差異對於BHL011而言為明顯的（圖14），與此對應的是BHL011 PK具有身體質量依賴性動物間變化性（圖9）。一般而言，BHL006（圖15）及BHL 009（圖16）的動物間變化性較低，但BHL006劑量組（2939）中之雌性呈現加速的抗體清除（圖10）。

【0241】 總抗體血清濃度與活體外溶血性活性之拮抗作用之間的相關性差異與抗體針對C5之親和力成比例。高親和力抗體（BHL011）在約200 µg/mL下幾乎完全抑制溶血性活性（圖17），而親和力較弱的pH依賴性抗C5抗體達成完全的活體外拮抗作用需要2倍至3倍高的濃度（圖18及圖19）。

【0242】 儘管pH依賴性抗C5抗體之效力出現此損失，但各組動物之cRBC溶血的平均活性程度表明其可支持延長的給藥時間間隔。分別地，經高親和力抗C5（BHL011）處理的動物在第14天具有>40%之平均溶血性活性程度，而經pH依賴性抗C5（BHL006及BHL009）處理的動物在第21至28天維持<40%的平均溶血性活性程度（圖20）。

【0243】 相對於高親和力抗小鼠C5抗體（BHL011）而言，pH依賴性結合至小鼠C5之抗體（BHL006及BHL009）之半衰期及相應之拮抗持續時間的顯著延長與實施例4及實施例7中所述之研究一致，其中在人類C5共投予的小鼠中，pH依賴性抗人類C5抗體（BNJ421、BNJ423或BNJ441）相對於其高親和力對應物（EHL000或艾庫組單抗）而言展現類似的半衰期延長。此等發現進一步證明如下觀點：經由選擇CDR中之組胺酸取代而對pH依賴性抗原結合進行的工程改造可顯著減弱經由C5發生的抗原介導性清除，從而使自由抗體能夠再循環回至循環中。此外，BHL009之pH依賴性抗原結合與針對FcRn之親和力增強之組合對於PK特性具有相加性效應，從而使半衰期為單獨pH依賴性結合（BHL006）的雙倍。此等觀測結果與如下假設一致：pH依賴性結合至C5與針對FcRn之親和力改善的組合可使得針對艾庫組單抗所觀測之PK參數及治療性PD持續時間顯著

延長，從而允許≥每月給藥。

實施例7. 經由pH依賴性結合至C5及FcRn介導性再循環增強來產生變異型艾庫組單抗

【0244】 使用艾庫組單抗作為母分子來產生抗體。相對於艾庫組單抗而言，變異型抗體（標示為BNJ441）在重鏈中含有四個胺基酸取代：Tyr-27-His、Ser-57-His、Met-429-Leu及Asn-435-Ser（注意BNJ441之位置429及435根據EU編號系統對應於位置428及434）。重鏈多肽之胺基酸序列描繪於SEQ ID NO: 14中。輕鏈多肽之胺基酸序列描繪於SEQ ID NO: 11中。此等突變經工程改造而能夠藉由延長循環半衰期來延長BNJ441（參見艾庫組單抗）的給藥時間間隔，延長循環半衰期係經由兩種不同機制：（1）經由標靶介導性抗體清除來減少抗體清除及（2）提高FcRn介導性抗體再循環之效率。

【0245】 相較於艾庫組單抗，重鏈可變區之第一及第二互補決定區（CDR）中的兩個胺基酸取代Tyr-27-His及Ser-57-His使BNJ441針對C5之親和解離常數（ $K_D$ ）在pH 7.4減弱約17倍且在pH 6.0減弱約36倍。相較於艾庫組單抗，第三重鏈恆定區域（CH3）中之兩個突變Met-429-Leu及Asn-435-Ser使BNJ441針對FcRn之親和力在pH 6.0增強約10倍。

### 結合動力學（抗體針對C5）

【0246】 在BIAcore 3000儀器上，在pH 8.0、7.4、7.0、6.5及6.0使用抗Fc捕捉方法，經由表面電漿子共振（SPR）測定BNJ441或艾庫組單抗結合至C5之動力學。山羊抗人類IgG (Fc)多株抗體（KPL #01-10-20）於10 mM乙酸鈉（pH 5.0）中稀釋至0.1 mg/mL且藉由胺偶合反應而在CM5晶片之兩個流動池上固定8分鐘。測試抗體（或艾庫組單抗）於操作緩衝液（HBS-EP；0.01 M HEPES pH 7.4、0.15 M NaCl、3 mM EDTA、0.005%v/v界面活性劑P20；GE Life Sciences，目錄號：BR1001-88）中稀釋至0.20 µg/mL。所稀釋的抗體接著注射於一個流動池上

(pH 7.4實驗為20  $\mu$ L且pH 6.0實驗為40  $\mu$ L)，隨後將不同濃度的C5注射於兩個池上。操作緩衝液用3 M HCl滴定以獲得pH 7.0、6.5及6.0動力學且用0.5 M NaOH滴定以獲得pH 8.0動力學。表面每輪用20 mM HCl、0.01% P20再生。使用1:1朗格繆爾模型、經由『雙重指稱』、使用BIAevaluation 4.1軟體(BIAcore AB, Uppsala, Sweden)處理資料。

【0247】 使用具有以下修改之處的上文所述抗Fc捕捉方法、在BIAcore 3000儀器上經由SPR測定C5與BNJ441或艾庫組單抗在pH 8.0、7.4、7.0、6.5及6.0的解離速率。將經稀釋之測試抗體注射於一個流動池上，隨後將6 nM C5注射於兩個池上。C5注射之後立即注射250  $\mu$ L不同pH的操作緩衝液。操作緩衝液如上文所述製備。經由『雙重指稱』、使用BIAevaluation 4.1軟體(BIAcore AB, Uppsala, Sweden)處理資料。藉由獲得t=0及t=300秒時解離的差異來計算C5與BNJ441及艾庫組單抗的解離%。

結合動力學（抗體針對FcRn）

【0248】 在pH 7.4及pH 6.0使用F(ab')<sub>2</sub>捕捉方法、在BIAcore 3000儀器上經由SPR測定BNJ441或艾庫組單抗結合至人類FcRn的動力學。山羊F(ab')<sub>2</sub>抗人類IgG F(ab')<sub>2</sub> (Rockland Immunochemicals, 目錄號：709-1118) 於10 mM乙酸鈉pH 5.0中稀釋至0.04 mg/mL，藉由胺偶合反應而在CM5晶片之兩個流動池上固定7分鐘。測試抗體(BNJ441或艾庫組單抗)於操作緩衝液((HBS-EP; 0.01 M HEPES pH 7.4、0.15 M NaCl、3 mM EDTA、0.005%v/v界面活性劑P20; GE Life Sciences, 目錄號BR1001-88)中稀釋至2  $\mu$ g/mL。經稀釋之抗體接著注射於一個流動池上，隨後將FcRn注射於兩個池上。操作緩衝液用3 M HCl滴定以獲得pH 6.0動力學。表面每輪用10 mM甘胺酸鹽酸鹽(pH 1.5)再生。使用1:1朗格繆爾模型、經由『雙重指稱』、使用BIAevaluation 4.1軟體(BIAcore AB, Uppsala, Sweden)處理資料。

結合研究之結果

【0249】 抗體:C5結合動力學發現具有pH依賴性，其對結合速率與解離速率的影響顯示於表9中。

表9

| BNJ441 |                             |                           |                          |                  |
|--------|-----------------------------|---------------------------|--------------------------|------------------|
| pH     | 結合速率：K <sub>a</sub> (1/M*s) | 解離速率：K <sub>d</sub> (1/s) | 解離常數：K <sub>D</sub> (M)  | Chi <sup>2</sup> |
| 8.0    | 6.25 * 10 <sup>5</sup>      | 1.33 * 10 <sup>-4</sup>   | 2.13 * 10 <sup>-10</sup> | 0.055            |
| 7.4    | 4.62 * 10 <sup>5</sup>      | 2.27 * 10 <sup>-4</sup>   | 4.91 * 10 <sup>-10</sup> | 0.045            |
| 7.0    | 4.28 * 10 <sup>5</sup>      | 3.90 * 10 <sup>-4</sup>   | 9.11 * 10 <sup>-10</sup> | 0.028            |
| 6.5    | 4.08 * 10 <sup>5</sup>      | 8.94 * 10 <sup>-4</sup>   | 2.19 * 10 <sup>-9</sup>  | 0.172            |
| 6.0    | 1.63 * 10 <sup>5</sup>      | 3.54 * 10 <sup>-3</sup>   | 2.18 * 10 <sup>-8</sup>  | 0.373            |
| 艾庫組單抗  |                             |                           |                          |                  |
| pH     | 結合速率：K <sub>a</sub> (1/M*s) | 解離速率：K <sub>d</sub> (1/s) | 解離常數：K <sub>D</sub> (M)  | Chi <sup>2</sup> |
| 8.0    | 1.39 * 10 <sup>6</sup>      | 2.04 * 10 <sup>-5</sup>   | 1.47 * 10 <sup>-11</sup> | 0.104            |
| 7.4    | 1.10 * 10 <sup>6</sup>      | 3.23 * 10 <sup>-5</sup>   | 2.93 * 10 <sup>-11</sup> | 0.094            |
| 7.0    | 8.86 * 10 <sup>5</sup>      | 6.34 * 10 <sup>-5</sup>   | 7.15 * 10 <sup>-11</sup> | 0.032            |
| 6.5    | 8.41 * 10 <sup>5</sup>      | 1.73 * 10 <sup>-4</sup>   | 2.06 * 10 <sup>-10</sup> | 0.037            |
| 6.0    | 7.05 * 10 <sup>5</sup>      | 4.28 * 10 <sup>-4</sup>   | 6.06 * 10 <sup>-10</sup> | 0.092            |

【0250】 在對早期內體胞飲及酸化之後抗體:C5複合物之相對解離速率建模的嘗試中，允許抗體:C5複合物在pH 7.4緩衝液中形成，接著在解離期間交換緩衝液pH條件。在各種pH條件下計算300秒後之抗體複合物解離百分比（根據共振單位[RUs]之減少來估算）（表10）。在pH 6.0，僅BNJ441使得抗體:C5複合物在5分鐘之後解離大於50%。

表10

| BNJ441 |           |             |      |
|--------|-----------|-------------|------|
| pH     | RU<br>0 秒 | RU<br>300 秒 | 解離 % |
| 8.0    | 55.4      | 53.5        | 3.4  |
| 7.4    | 55.7      | 52.0        | 6.6  |
| 7.0    | 55.2      | 49.1        | 11.0 |
| 6.5    | 55.2      | 39.4        | 28.6 |
| 6.0    | 55.8      | 22.3        | 60.0 |
| 艾庫組單抗  |           |             |      |
| pH     | RU<br>0 秒 | RU<br>300 秒 | 解離 % |
| 8.0    | 70.2      | 69.7        | 0.8  |
| 7.4    | 70.0      | 69.5        | 0.7  |
| 7.0    | 71.3      | 69.9        | 2.0  |
| 6.5    | 71.2      | 67.8        | 4.7  |
| 6.0    | 71.6      | 62.9        | 12.2 |

【0251】 圖21A及圖21B描繪BNJ441:C5複合物或艾庫組單抗:C5複合物之解離百分比隨pH而變的半對數及線圖。

【0252】 相較於艾庫組單抗,重鏈可變區之第一及第二互補決定區(CDR)中的兩個胺基酸取代Tyr-27-His及Ser-57-His使BNJ441針對C5之親和解離常數( $K_D$ )在pH 7.4減弱約17倍且在pH 6.0減弱約36倍。不清楚BNJ441針對C5之親和力之pH依賴性(或簡言之,針對C5之親和力之總體減弱)是否為位置27及/或位置57所引入之組胺酸之質子化狀態變化的結果。然而已觀測到在其他抗C5抗體中,此等突變與其他組胺酸取代之組合使得在低於6.5之pH值下,親和力降低得更明顯。相較於艾庫組單抗,第三重鏈恆定區域(CH3)中之兩個突變Met-429-Leu及Asn-435-Ser使得BNJ441在pH 6.0針對FcRn之親和力增強約10倍。

**BNJ441抗體之PK特性**

【0253】 使用免疫缺乏(NOD/錫特)及C5缺乏的小鼠,評估BNJ441抗體及艾庫組單抗。藉由靜脈內(i.v.)注射向八隻小鼠各投予單一劑量之存於200 mL 磷酸鹽緩衝鹽水(PBS)中的100 mg BNJ441或艾庫組單抗。投藥之後第1、3、7、14、21、28及35天,自各小鼠收集血清。藉由ELISA量測血清中之各抗體濃度。

【0254】 如圖22中所示，在人類C5不存在下，給予BNJ441及艾庫組單抗之小鼠中的血清抗體濃度在35天期間出現類似的下降。然而，在人類C5存在下，第14天後，艾庫組單抗血清濃度快速下降至不可偵測的程度，而BNJ441之血清濃度衰減較緩慢且整個研究期間以恆定速率衰減（圖23）。

【0255】 比較兩種抗體在人類C5存在及不存在下的PK曲線，相較於不存在C5，在人類C5存在下艾庫組單抗清除加速，而BNJ441在人類C5存在下的PK曲線類似於在人類C5不存在下之BNJ441（直至第28天），且清除僅在第28天與第35天之間加速（圖24）。在人類C5不存在下，BNJ441之半衰期與艾庫組單抗之半衰期相當（BNJ441為 $25.37 \pm 1.02$ 天且艾庫組單抗為 $27.65 \pm 2.28$ 天）。然而，在人類C5存在下，經證明，BNJ441半衰期為艾庫組單抗的超過三倍（BNJ441為 $13.40 \pm 2.18$ 天，而艾庫組單抗為 $3.93 \pm 0.54$ 天）。應注意，BNJ441在人類C5存在或不存在下的清除速率確實顯著不同（直至第28天）。參見表11。

表11

| 處理組           | 動物#  | 半衰期（天數）     |
|---------------|------|-------------|
| BNJ441        | 2009 | 26.99       |
|               | 2011 | 25.55       |
|               | 2212 | 24.5        |
|               | 2213 | 20.34       |
|               | 2214 | 27.18       |
|               | 2215 | 24.35       |
|               | 2216 | 28.65       |
|               |      | 平均值 = 25.37 |
|               |      | SE = 1.02   |
| 艾庫組單抗         | 2201 | 30.65       |
|               | 2202 | 16.85       |
|               | 2203 | 27.02       |
|               | 2204 | 28.54       |
|               | 2205 | 19.7        |
|               | 2206 | 35.47       |
|               | 2207 | 33.77       |
|               | 2208 | 29.18       |
|               |      | 平均值 = 27.65 |
|               |      | SE = 2.28   |
| BNJ441+ 人類 C5 | 2225 | 24.31       |
|               | 2226 | 13.45       |
|               | 2227 | N/A         |
|               | 2228 | 13.48       |
|               | 2229 | 16.09       |
|               | 2230 | 8.55        |
|               | 2231 | 11.25       |
|               | 2232 | 6.66        |
|               |      | 平均值 = 13.40 |
|               |      | SE = 2.18   |
| 艾庫組單抗+人類 C5   | 2217 | 3.35        |
|               | 2218 | 2.72        |
|               | 2219 | 7.45        |
|               | 2220 | 3.26        |
|               | 2221 | 2.74        |
|               | 2222 | 3.93        |
|               | 2223 | 4.5         |
|               | 2224 | 3.51        |
|               |      | 平均值 = 3.93  |
|               |      | SE = 0.54   |

血清溶血性活性

【0256】 為了測定組胺酸取代對抗體溶血性活性的影響，如實施例6中所述進行活體外溶血性分析。在BNJ441或艾庫組單抗存在下，末端補體活性與各

種抗體之相應PK曲線一致（圖25），亦即血清溶血性活性抑制程度與血清中剩餘之各種抗體濃度成比例。兩種抗體均使得溶血得到幾乎完全的抑制（直至第3天）。然而，艾庫組單抗直至第14天未顯示拮抗作用，而BNJ441直至第14天保持約83%抑制且直至第28天保持部分補體抑制。

## 結論

【0257】 此研究發現表明，在人類C5存在下，BNJ441顯示的半衰期延長為艾庫組單抗的超過三倍。另外，將BNJ441的血清半衰期相對於艾庫組單抗換算成延長之藥效學曲線，如延長之溶血性抑制所證明。

## 實施例8. BNJ441在健康人類個體中之安全性、耐受性、PK及PD

【0258】 在1期、隨機化、不知情、安慰劑對照、單一劑量遞增（SAD）人類臨床研究中評估BNJ441之安全性、耐受性、PK及PD，其中向健康個體靜脈內投予BNJ441。

【0259】 BNJ441使用調配賦形劑、於無菌無防腐劑的水溶液中調配。BNJ441調配物不含有任何不常見的賦形劑或動物或人類來源之賦形劑。調配物經磷酸鹽緩衝至pH 7.0。組分包括10 mg/mL BNJ441、3.34 mM磷酸二氫鈉、6.63 mM磷酸氫二鈉、150 mM氯化鈉、0.02%聚山梨醇酯80及足量水。

【0260】 BNJ441調配物係以10 mg/mL抗體溶液於20 mL單一用途小瓶中供應，且設計成藉由將其於供靜脈內投藥用之市售生理鹽水（0.9%氯化鈉注射液，Ph Eur）中稀釋後輸注。

表12：健康自願者之1期臨床試驗

| 方案編號          | 名稱                                                                    | 研究設計                     | 群體    | 給藥方案                                                                                         |
|---------------|-----------------------------------------------------------------------|--------------------------|-------|----------------------------------------------------------------------------------------------|
| BNJ441-HV-101 | 1 期、隨機化、不知情、安慰劑對照、單一劑量遞增研究，以評估 BNJ441 作為單一劑量靜脈內投予健康個體的安全性、耐受性、PK 及 PD | 首次人體、隨機化、安慰劑對照、雙盲、單一劑量遞增 | 健康自願者 | 第 1 組：200 mg BNJ441<br>(4 位使用活性劑，2 位使用安慰劑)<br><br>第 2 組：400 mg BNJ441<br>(6 位使用活性劑，2 位使用安慰劑) |

【0261】 十位健康個體接受單一劑量之BNJ441。四位個體接受200 mg劑量且六位個體接受400 mg劑量。此研究中之PK及安全資料測定及論述如下。

藥物動力學

【0262】 靜脈內投予200 mg及400 mg劑量之後的血清BNJ441濃度-時間曲線描繪於圖26中。分別投予200 mg及400 mg劑量之後，可獲得長達90天(2136個小時)及57天(1344個小時)的濃度-時間資料。平均血清濃度保持高於50 µg/mL的時間在投予200 mg劑量之後為2至4天(48至96個小時)，且投予400 mg劑量之後為14至21天(336至504個小時)。

【0263】 BNJ441 PK參數之概述報導於下表12中。BNJ441之幾何平均(CV) C<sub>max</sub>在投予200 mg劑量之後為78.5(10.2%) µg/mL，且在投予400 mg劑量之後為139(16.2%) µg/mL。輸注開始之後，所觀測之中值(範圍) t<sub>max</sub>對於200 mg劑量而言為2.4(0.79至8.0)小時且對於400 mg劑量而言為0.58(0.58至1.1)小時。幾何平均(CV) AUC<sub>(0-56天)</sub>對於200 mg劑量而言為32,800(8.6%) µ-hr/mL，且對於400 mg劑量而言為58,100(18.9%) µg-hr/mL。幾何平均C<sub>max</sub>及AUC<sub>(0-56天)</sub>表明暴露量以明顯的劑量比例方式增加。幾何平均t<sub>1/2</sub>(CV)對於200 mg及400 mg劑量而言分別為38.5(18.4%) 天及32.9(13.3%) 天。

【0264】 總而言之，PK資料表明平均BNJ441 C<sub>max</sub>及AUC<sub>(0-56天)</sub>係以劑量比例方式增加，且證明靜脈內投予之後的平均(標準差[SD]) t<sub>1/2</sub>為35.5±6.1天。分

析雞紅血球（cRBC）溶血資料表明，當BNJ441濃度大於100 µg/mL時，投予單一400 mg靜脈內劑量之後長達2天，末端補體受到完全抑制。

表12：靜脈內投予200 mg或400 mg至健康自願者之後，BNJ441之藥物動力

學參數之概述

| 劑量<br>(mg) | 統計學描述   | $C_{max}$<br>(ug/mL) | $C_{max}/Dose$<br>(ug/mL/mg) | $t_{max}$<br>(h)        | $AUC\tau^a$<br>(h*ug/mL) | $AUC\tau/Dose$<br>((h*ug/mL)/mg) | $t_{1/2}$<br>(天數) |
|------------|---------|----------------------|------------------------------|-------------------------|--------------------------|----------------------------------|-------------------|
| 200        | N       | 4                    | 4                            | 4                       | 4                        | 4                                | 4                 |
|            | 幾何平均    | 78.5                 | 0.392                        | 2.40 <sup>b</sup>       | 32,800                   | 164                              | 38.5              |
|            | CV%幾何平均 | 10.2                 | 10.2                         | 0.79 - 8.0 <sup>c</sup> | 8.6                      | 8.6                              | 18.4              |
| 400        | N       | 6                    | 6                            | 6                       | 6                        | 6                                | 6                 |
|            | 幾何平均    | 139                  | 0.348                        | 0.58 <sup>b</sup>       | 58,100                   | 145                              | 32.9              |
|            | CV%幾何平均 | 16.2                 | 16.2                         | 0.58 - 1.1 <sup>c</sup> | 18.9                     | 18.9                             | 13.3              |

<sup>a</sup>  $AUC\tau = AUC_{(0-56 \text{ 天})}$

<sup>b</sup> 中值

<sup>c</sup> 範圍

藥效學

【0265】 亦評估BNJ441隨時間抑制cRBC溶血的能力，如圖27中所說明。在接受安慰劑的個體中，平均cRBC溶血活性相對穩定。cRBC溶血抑制快速發生，在輸注結束時（200 mg劑量為0.29小時，且400 mg劑量為0.58小時）觀測到完全的末端補體抑制。BNJ441之持續作用時間具有劑量依賴性，其持續4至14天。

【0266】 對BNJ441濃度與cRBC溶血之間的關係作圖且描繪於圖28中。如圖28中所示，BNJ441濃度高於50 µg/mL時，發生完全的末端補體抑制，而BNJ441濃度低於25 µg/mL時，未觀測到抑制。

實施例9. 食蟹獼猴（Cynomolgus Monkeys）單次劑量研究

【0267】 單一靜脈內劑量之BNJ441以60 mg/kg或150 mg/kg之劑量經2小時輸注來投予食蟹獼猴（各劑量組n=4；每個劑量組2隻雄性及2隻雌性）。第1天至第112天收集血液樣品用於BNJ441分析。

【0268】 給藥之前（0小時），及第8、14、28、56、84及112天，根據食蟹猴抗人類抗體（CAHA）之存在來篩選經BNJ441處理之所有猴。

【0269】 60 mg/kg及150 mg/kg劑量組中之所有猴在至少單一場合下證實呈陽性，但150 mg/kg劑量組中之動物2002除外。由於生物素化BNJ441及釐化BNJ441橋接分析對所投予之BNJ441的可能干擾，因此不能排除動物2002存在CAHA或其他動物在非陽性時間點存在CAHA。給藥之後第56至112天觀測到60 mg/kg劑量組中且在給藥之後第28至112天觀測到150 mg/kg劑量組出現陽性CAHA結果。60 mg/kg劑量組中首先證實呈CAHA陽性的樣品在第56天（動物1002及1503）、在第84天為2個（動物1002及1503）且第112天為3個（動物1001、1002及1502）。在第56天及第84天呈CAHA陽性的動物1503在第112天不再呈CAHA陽性。150 mg/kg劑量組中首先證實呈CAHA陽性的樣品在第28天為動物2502，隨後在第56天為2隻猴（動物2001及2502）、在第84天為3隻猴（動物2001、2501及2502），且在第112天為3隻猴（動物2001、2501及2502）。

【0270】 計算個別BNJ441濃度-時間曲線。在60 mg/kg劑量組中，所有猴直至第112天的PK樣品中具有可定量的血漿BNJ441濃度，而在150 mg/kg劑量組中，僅1隻猴（動物2002）直至第112天具有可定量的血漿BNJ441濃度。濃度-時間資料表明BNJ441在猴全身性循環中之滯留延長。

【0271】 根據劑量水準計算所有猴中BNJ441之非隔室PK參數及總結性統計資料，且60 mg/kg及150 mg/kg劑量水準分別顯示於表13及表14中。與輸注持續時間一致，60 mg/kg及150 mg/kg劑量水準之中值 $t_{max}$ 為2小時。150 mg/kg劑量組中之一隻猴（動物2501）在給藥之後具有12小時之 $t_{max}$ ，且在給藥之後2至12小時具有相對平緩的曲線，其中給藥後12小時樣品濃度比給藥後2小時所觀測的樣品濃度高約5%。幾何平均 $C_{max}$ 、 $AUC_{\infty}$ 及 $AUC_{last}$ 皆隨劑量提高而增大。2種劑量下的幾何平均劑量歸一化 $C_{max}$ 值相似，表明峰值BNJ441濃度隨著劑量增加而出現劑量比例性增大，但幾何平均劑量歸一化 $AUC_{\infty}$ 值在各劑量組之間為不同的。此差異可能歸因於150 mg/kg劑量組中之BNJ441 CL出現CAHA介導性增

加；BNJ441在給予60 mg/kg之猴中的清除率比給予150 mg/kg之猴高約37%。幾何平均 $V_{ss}$ 在2個劑量組之間為相似的（在12%內）。

表13：BNJ441（60 mg/kg劑量）之非隔室藥物動力學參數之概述

| 動物   | 劑量<br>(mg/kg) | C <sub>max</sub><br>(mg/mL) | C <sub>max</sub> /<br>劑量 <sup>1)</sup> | t <sub>max</sub><br>(hr) | AUC <sub>持續</sub><br>(hr × mg/mL) | AUC <sub>∞</sub><br>(hr × mg/mL) | AUC <sub>∞</sub> /<br>劑量 <sup>2)</sup> | V <sub>ss</sub><br>(mL/kg) | CL<br>(mL/h/kg) | t <sub>1/2</sub><br>(hr) | t <sub>1/2</sub><br>(天數) |
|------|---------------|-----------------------------|----------------------------------------|--------------------------|-----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------------|----------------------------|-----------------|--------------------------|--------------------------|
| 1001 | 60            | 1.92                        | 0.0320                                 | 2.0                      | 546                               | 555                              | 9.25                                   | 63.4                       | 0.108           | 479                      | 20.0                     |
| 1002 | 60            | 1.90                        | 0.0317                                 | 2.0                      | 470                               | 475                              | 7.92                                   | 55.3                       | 0.126           | 474                      | 19.8                     |
| 1502 | 60            | 1.45                        | 0.0242                                 | 2.0                      | 598                               | 614                              | 10.2                                   | 64.9                       | 0.0977          | 547                      | 22.8                     |
| 1503 | 60            | 1.44                        | 0.0240                                 | 2.0                      | 701                               | 745                              | 12.4                                   | 73.7                       | 0.0806          | 649                      | 27.1                     |
|      | N             | 4                           | 4                                      | 4                        | 4                                 | 4                                | 4                                      | 4                          | 4               | 4                        | 4                        |
|      | 平均值           | 1.68                        | 0.0280                                 | 2.00                     | 579                               | 597                              | 9.95                                   | 64.3                       | 0.103           | 537                      | 22.4                     |
|      | SD            | 0.269                       | 0.00448                                | NA                       | 97.0                              | 113                              | 1.89                                   | 7.53                       | 0.0191          | 81.7                     | 3.40                     |
|      | 最小值           | 1.44                        | 0.0240                                 | 2.00                     | 470                               | 475                              | 7.92                                   | 55.3                       | 0.0806          | 474                      | 19.8                     |
|      | 中值            | 1.68                        | 0.0279                                 | 2.00                     | 572                               | 585                              | 9.74                                   | 64.2                       | 0.103           | 513                      | 21.4                     |
|      | 最大值           | 1.92                        | 0.0320                                 | 2.00                     | 701                               | 745                              | 12.4                                   | 73.7                       | 0.126           | 649                      | 27.1                     |
|      | CV%           | 16.0                        | 16.0                                   | NA                       | 16.8                              | 19.0                             | 19.0                                   | 11.7                       | 18.5            | 15.2                     | 15.2                     |
|      | 幾何平均值         | 1.66                        | 0.0277                                 | NA                       | 573                               | 589                              | 9.82                                   | 64.0                       | 0.102           | 533                      | 22.2                     |
|      | CV%幾何平均值      | 16.2                        | 16.2                                   | NA                       | 16.9                              | 19.0                             | 19.0                                   | 11.8                       | 19.0            | 14.8                     | 14.8                     |

劑量<sup>1)</sup> 單位為mg/mL/mg/kg

劑量<sup>2)</sup> 單位為h x mg/mL/mg/kg

hr = 小時；NA = 不適用

表14：BNJ441（150 mg/kg劑量）之非隔室藥物動力學參數之概述

| 動物   | 劑量<br>(mg/kg) | C <sub>max</sub><br>(mg/mL) | C <sub>max</sub> /<br>劑量 <sup>1)</sup> | t <sub>max</sub><br>(hr) | AUC <sub>last</sub><br>(hr × mg/mL) | AUC <sub>∞</sub><br>(hr × mg/mL) | AUC <sub>∞</sub> /<br>劑量 <sup>2)</sup> | V <sub>ss</sub><br>(mL/kg) | CL<br>(mL/h/kg) | t <sub>1/2</sub><br>(hr) | t <sub>1/2</sub><br>(天數) |
|------|---------------|-----------------------------|----------------------------------------|--------------------------|-------------------------------------|----------------------------------|----------------------------------------|----------------------------|-----------------|--------------------------|--------------------------|
| 2001 | 150           | 3.79                        | 0.0253                                 | 2.0                      | 787                                 | 787                              | 5.25                                   | 52.6                       | 0.191           | 61.0                     | 2.54                     |
| 2002 | 150           | 4.51                        | 0.0301                                 | 2.0                      | 1160                                | 1220                             | 8.15                                   | 89.8                       | 0.123           | 759                      | 31.6                     |
| 2501 | 150           | 4.48                        | 0.0299                                 | 12.0                     | 1460                                | 1460                             | 9.71                                   | 58.8                       | 0.103           | 87.6                     | 3.65                     |
| 2502 | 150           | 4.40                        | 0.0293                                 | 2.0                      | 1030                                | 1030                             | 6.86                                   | 37.5                       | 0.146           | 54.1                     | 2.25                     |
|      | N             | 4                           | 4                                      | 4                        | 4                                   | 4                                | 4                                      | 4                          | 4               | 4                        | 4                        |
|      | 平均值           | 4.30                        | 0.0286                                 | 4.50                     | 1110                                | 1120                             | 7.49                                   | 59.7                       | 0.141           | 240                      | 10.0                     |
|      | SD            | 0.340                       | 0.00227                                | NA                       | 279                                 | 285                              | 1.90                                   | 22.0                       | 0.0377          | 346                      | 14.4                     |
|      | 最小值           | 3.79                        | 0.0253                                 | 2.00                     | 787                                 | 787                              | 5.25                                   | 37.5                       | 0.103           | 54.1                     | 2.25                     |
|      | 中值            | 4.44                        | 0.0296                                 | 2.00                     | 1100                                | 1130                             | 7.50                                   | 55.7                       | 0.134           | 74.3                     | 3.09                     |
|      | 最大值           | 4.51                        | 0.0301                                 | 12.0                     | 1460                                | 1460                             | 9.71                                   | 89.8                       | 0.191           | 759                      | 31.6                     |
|      | CV%           | 7.91                        | 7.91                                   | NA                       | 25.2                                | 25.3                             | 25.3                                   | 36.9                       | 26.8            | 144                      | 144                      |
|      | 幾何平均值         | 4.28                        | 0.0286                                 | NA                       | 1080                                | 1100                             | 7.30                                   | 56.8                       | 0.137           | 122                      | 5.07                     |
|      | CV%幾何平均值      | 8.25                        | 8.25                                   | NA                       | 26.1                                | 26.7                             | 26.7                                   | 37.2                       | 26.7            | 190                      | 190                      |

劑量<sup>1)</sup> 單位為mg/mL/mg/kg

劑量<sup>2)</sup> 單位為h x mg/mL/mg/kg

hr = 小時；NA = 不適用

實施例10. BNJ441、艾庫組單抗及h5G1.1試管內結合至Fc- $\gamma$ 受體C1q之比較性評估

【0272】 檢查三種人類化抗體BNJ441、艾庫組單抗及h5G1.1-IgG1與已知為抗體效應功能介體之分子的結合。BNJ441、艾庫組單抗及h5G1.1-IgG1各具有獨特的功能及治療性特徵。然而，所有三者均為末端補體之人類化抗體拮抗劑，其結合人類補體組分C5上之非常相似的抗原決定基且在補體活化期間防止其裂解成其活性代謝物C5a及C5b。

【0273】 BNJ441、艾庫組單抗及-IgG1的輕鏈序列一致，各具有人類化可變區及人類Ig $\kappa$ 恆定區。BNJ441與艾庫組單抗均含有人類雜交IgG2-G4 Fc，其包括CH1區域、鉸鏈及來自與人類IgG4之CH2及CH3區域之其餘部分融合之人類IgG2之CH2區域的前29個氨基酸。此嵌合Fc具有IgG2之穩定雙硫鍵對與IgG4之弱效應特性之組合。由於BNJ441及艾庫組單抗針對可溶性抗原，因此不可能直接評估其起始抗體依賴性細胞介導之細胞毒性（ADCC）或補體依賴性細胞毒性（CDC）的能力。實情為，直接對BNJ441或艾庫組單抗與Fc $\gamma$ 受體（Fc $\gamma$ Rs）及補體組分C1q的結合進行量測且推斷在結合不存在下，其不能分別介導ADCC或CDC。包括h5G1.1-IgG1（人類化可變區與艾庫組單抗相同的IgG1同型抗體）作為對照。預期IgG1同型Fc區完全結合效應功能分子，但在細胞相關性抗原不存在下，h5G1.1-IgG1本身不會誘發ADCC或CDC。

【0274】 如上文在實施例7中所論述，BNJ441係由艾庫組單抗經重鏈中引入4個氨基酸取代而經工程改造而成以延長其活體內半衰期。人類化重鏈可變區中引入兩種氨基酸變化（分別為Tyr-27-His及Ser-57-His）（重鏈氨基酸根據Kabat等人編號）以使在pH 6.0與C5的結合去穩定化，而對在pH 7.4與C5結合的影響最小。第三重鏈恆定區域（CH3）中引入突變Met-428-Leu及Asn-434-Ser，以增強與人類新生兒Fc受體（FcRn）的結合。綜合而言，此等突變經設計可藉由抗體:C5

複合物在胞飲後之早期內體之酸化環境中增強解離為自由抗體來顯著減弱抗原介導性藥物清除，及提高抗體藉由FcRn自早期內體再循環回至血管隔室中之分數。

【0275】 在此等研究中，利用酶聯免疫吸附分析（ELISA）評估FcγR亞類（FcγR1、FcγRIIa、FcγRIIb、FcγRIIb/c、FcγRIIIa及FcγRIIIb）與所有三種抗體之多聚相互作用且使用表面電漿子共振（SPR）評估與FcγR的單體相互作用。利用生物層干擾測量法及SPR檢查C1q與三種抗體的結合。進行此等分析所用的試劑顯示於表15中。

表15. 抗體及蛋白質試劑

| 試劑                    | 來源                    | 濃度                       |
|-----------------------|-----------------------|--------------------------|
| BNJ441                | Alexion               | 10 mg/mL                 |
| 艾庫組單抗                 | Alexion               | 10 mg/mL                 |
| 山羊抗人類 F(ab')2-生物素     | Jackson Immunolabs    | 1.1 mg/mL                |
| HRP-抗生蛋白鏈菌素           | Invitrogen            | 1.25 mg/mL               |
| h5G1.1-IgG1           | Alexion               | 1.43 mg/mL<br>8.11 mg/mL |
| C1q                   | Complement Technology | 1 mg/mL                  |
| 人類 FcγRI（CD64）        | R&D systems           | 100 μg/mL                |
| 人類 FcγRIIa（CD32a）     | R&D systems           | 100 μg/mL                |
| 人類 FcγRIIb/c（CD32b/c） | R&D systems           | 100 μg/mL                |
| 人類 FcγRIIIa（CD16a）    | R&D systems           | 100 μg/mL                |
| 人類 FcγRIIIb（CD16b）    | R&D systems           | 100 μg/mL                |

多價抗體複合物結合至FcγR

【0276】 抗體複合物係藉由將BNJ441、艾庫組單抗或h5G1.1-hG1與山羊抗人類F(ab')2-生物素（Jackson Immunolabs）以2:1抗體:F(ab')2莫耳比於磷酸鹽緩衝鹽水（PBS）中、於1.5 mL微量離心管中培育隔夜來製備。

【0277】 預塗有Ni-NTA的微量滴定盤（Qiagen）與每孔50 μL經6X組胺酸標記之人類FcγRs（FcγRI、FcγRIIa、FcγRIIb/c、FcγRIIIa或FcγRIIIb）（受體濃度為5 μg/mL，於PBS中）一起在4°C培育隔夜。接著用PBS/0.05%Tween-20洗滌盤3次。洗滌之後，50 μL含有抗體複合物之PBS/0.05%Tween-20在盤中、在室溫（RT）

下培育60分鐘。用PBS/0.05% Tween-20洗滌盤之後，向盤中添加50  $\mu$ L含有抗生蛋白鏈菌素-HRP（Invitrogen）之PBS/0.05%Tween-20且在室溫下培育60分鐘。此培育及洗滌之後，添加75  $\mu$ L TMB-ELISA受質（3,3',5,5'-四甲基聯苯胺，Thermo Scientific）。用75  $\mu$ L 2 M  $H_2SO_4$ 中止反應，且讀取450 nm吸光度。

【0278】 樣品雙重複操作且資料以平均值呈遞。結果輸入試算表程式中。各種濃度之抗體免疫複合物或抗體免疫複合物不存在下之450 nm吸光度以圖示標繪。計算關鍵解離常數且概述於表16中且下文論述。

### 單價抗體結合至Fc $\gamma$ Rs

【0279】 使用直接固定法，在BIAcore 3000儀器上，經由SPR測定BNJ441、艾庫組單抗及h5G1.1-IgG結合至Fc $\gamma$ Rs的動力學。BNJ441、艾庫組單抗及h5G1.1於10 mM乙酸鈉pH 5.0中稀釋，藉由胺偶合反應而固定於CM5晶片之一個流動池上。第二流動池用作參考表面。於操作緩衝液（HBS-EP，pH 7.4）中稀釋之各種濃度的Fc $\gamma$ Rs注射至兩個池上。表面每輪用20 mM HCl、0.01% P20再生。使用穩態親和力模型、經由『雙重指稱』、使用BIAevaluation 4.1軟體（BIAcore AB, Uppsala, Sweden）分析資料。

【0280】 h5G1.1-IgG1結合至Fc $\gamma$ RI的動力學因其親和力更強而經由單一循環動力學來評估。抗體於10 mM乙酸鈉（pH 5.0）中稀釋且藉由胺偶合反應而直接固定於CM5晶片之一個流動池上。第二流動池用作參考表面。於操作緩衝液（HBS-EP，pH 7.4）中稀釋之各種濃度的Fc $\gamma$ R1注射至兩個池上。此分析不需要再生。使用滴定動力學1:1模型、經由『雙重指稱』、使用BIAevaluation 4.1（BIAcore AB, Uppsala, Sweden）分析資料。

表16：BNJ441、艾庫組單抗及h5G1.1-IgG1結合至單體FcγRs之解離常數

| FcγR   | BNJ441，K <sub>D</sub> [μM] | 艾庫組單抗，K <sub>D</sub> [μM] | h5G1.1-IgG1，K <sub>D</sub> [μM] |
|--------|----------------------------|---------------------------|---------------------------------|
| RI     | 3.75                       | 3.78                      | 0.123                           |
| RIIa   | 2.31                       | 2.58                      | 0.8                             |
| RIIb/c | 8.09                       | 9.84                      | 3.06                            |
| RIIIa  | 7.23                       | 6.78                      | 0.85                            |
| RIIIb  | 3.33                       | 3.49                      | 1.89                            |

【0281】 進行ELISA分析以偵測抗體免疫複合物與FcγRs在親合力驅動下之多聚相互作用。結果概述於表16中。分別地，BNJ441及艾庫組單抗對於FcγRI、FcγRIIb/c、FcγRIIIa或FcγRIIIb呈現不可偵測的結合且與FcγRIIa的結合減弱4倍至8倍。根據SPR所得之單體FcγR結合至BNJ441及艾庫組單抗的解離常數（K<sub>D</sub>）證實FcγR相互作用極弱且在兩種抗體之間幾乎不可區分：FcγRI（約4 μM）、FcγRIIa（約2 μM）、FcγRIIb（約9 μM）、FcγRIIIa（約7 μM）及FcγRIIIb（約3 μM）。IgG1同型對照物（h5G1.1-IgG1）之解離常數與FcγR1之高親和力相互作用（123 pM）一致且相對於IgG2-G4同型抗體而言，與低親和力FcγRs的結合適度增強：FcγRIIa（約1 μM）、FcγRIIb（約3 μM）、FcγRIIIa（約1 μM）及FcγRIIIb（約2 μM）。參見表16。生物層干擾測量法未偵測到C1q與BNJ441或艾庫組單抗之間的相互作用。此等結果與如下觀點一致：艾庫組單抗之嵌合人類IgG2-G4 Fc分別經由FcγRs或C1q誘發效應功能以介導ADCC或CDC的能力很小直至無能力。此外，此等結果顯示，相對於艾庫組單抗而言，併入BNJ441中的重鏈胺基酸取代對於改變其與此等物的結合不明顯。

實施例11. 組織交叉反應性研究

1. GLP人類交叉反應性研究

【0282】 使用抗原特異性不同的螢光化BNJ441（標示為BNJ441-FITC）及對照抗體（OX-90G2G4-FITC）測定與人類組織的潛在交叉反應性。

【0283】 BNJ441-FITC使陽性對照物質（經純化之人類補體蛋白質C5紫外輻射[UV]-樹脂樣點載片，標示為hC5）產生中至強染色，但與陰性對照物質（人

類惡性血鈣過多肽，胺基酸殘基1-34，UV-樹脂樣點載片，標示PTHrP1-34）未發生特異性反應。對照物OX-90G2G4-FITC與陽性或陰性對照物質均不發生特異性反應。BNJ441-FITC與陽性對照物質之極佳特異性反應及與陰性對照物質缺乏特異性反應性，以及對照物之反應性缺乏，表明分析具靈敏性、特異性及可再現性。

【0284】 觀測到一組人類組織中出現BNJ441-FITC之染色，如下文所概述：

- 大部分人類組織中之蛋白質物質
- 以下組織成分中之細胞質及/或細胞質顆粒：
  - 結腸、食道、淋巴結、副甲狀腺、脾臟及扁桃體中之單核細胞
  - 血液塗片中之血小板及骨髓
  - 骨髓中之巨核細胞
  - 輸卵管、肝臟（肝細胞）、胰導管及子宮頸之上皮
  - 肺之間皮。

【0285】 由於C5為循環血清蛋白質，因此預期蛋白質物質發生染色。已報導單核細胞（諸如單核細胞、巨噬細胞及樹突狀細胞，以及血小板）分泌C5；因此，亦預期此等細胞類型被BNJ441-FITC染色。另外，間皮細胞系已顯示可產生C5。然而，描述當前研究中經BNJ441-FITC染色之上皮細胞類型、或巨核細胞（儘管已顯示可產生C5的血小板來源於巨核細胞）表現C5的文獻卻不可獲得。因此，上皮細胞類型之染色可能表示先前存在未認知之C5表現位點，或與來自組織切片中之相似但無關蛋白質或其他組分的蛋白質序列或結構具有組織交叉反應性。然而，除蛋白質物質之染色之外，此研究中所觀測到之所有染色均具有細胞質性質，且細胞質及細胞質結構不太可能活體內近接測試物。總而言之，未觀測到BNJ441-FITC染色具有特異性交叉反應性，此特異性交叉反應性會產生

治療相關性中毒之預期。

## 2. GLP食蟹獼猴組織交叉反應性研究

【0286】 亦使用一組食蟹獼猴組織進行標準GLP組織交叉反應性研究，以檢查脫靶與靶向結合，其中所用試劑與人類組織結合研究中相同。

【0287】 觀測到該組食蟹獼猴組織中存在BNJ441-FITC之一些染色，如下文所概述：

- 大部分食蟹獼猴組織中之蛋白質物質
- 以下組織成分中之細胞質及/或細胞質顆粒：
  - 淋巴結、脾臟及扁桃體中之單核細胞
  - 輸卵管之上皮。

【0288】 與在配對的人類組織交叉反應性研究中所觀測到的該組人類組織中之染色圖案相比，該組食蟹獼猴組織中所觀測到之BNJ441-FITC染色圖案在總體上強度較弱且頻率較低。此外，在該組人類組織中，觀測到血小板、巨核細胞、胰導管上皮、子宮頸上皮、肝細胞及間皮發生染色，但此等組織成分在該組食蟹獼猴組織中未染色。此外，除蛋白質物質之染色之外，此研究中所觀測到之染色具有細胞質性質，且細胞質及細胞質結構不太可能活體內近接測試物。由於BNJ441已顯示對於人類C5極具特異性（且與非人類靈長類動物之C5無交叉反應性），因此此研究中所觀測到之有限結合歸因於與未鑑別之交叉反應物質的非特異性結合。

實施例12：BNJ441在末端補體活性分析中的效力（相較於艾庫組單抗）

【0289】 BNJ441中為產生pH依賴性結合至C5而經工程改造的突變使得其在pH 7.4的親和力（約491 pM）相對於艾庫組單抗（約29.3 PM）減弱約17倍且預期可能降低BNJ441對C5介導性末端補體活性之抑制效力（相較於艾庫組單抗）。為了估算BNJ441及艾庫組單抗在生理學相關條件下的效力，評估來自3種

常用動物模型（雞、綿羊及兔）之紅血球（RBC）在90%正常人類血清中之補體介導性溶血的拮抗作用。C

【0290】 RBC及綿羊紅血球（sRBC）用抗體預致敏以起始補體經典路徑（CCP）之活化。兔紅血球（rRBC）不進行預致敏且用作補體替代路徑（CAP）活化模型。抗體以100 nM、200 nM及400 nM於血清中預培育，以分別產生約0.5:1、1:1及2:1之抗原結合位點與C5莫耳比。抗體BNJ430含有與BNJ441相同的Fc區，但不結合人類C5，且作為陰性對照物而包括在內。溶血百分比係在0、1、2、3、4、5、6及8分鐘時量測，以確保在初速度條件下觀測反應。

【0291】 如圖29中所示，BNJ441及艾庫組單抗在100 nM均不呈現cRBC溶血之拮抗作用。兩種抗體在200 nM（抗原結合位點與C5之1:1莫耳比）展現部分拮抗作用，其中BNJ441效力低於艾庫組單抗。當以抗原結合位點與C5之2:1莫耳比（400 nM）培育時，任一種抗體均幾乎完全地抑制溶血。sRBC溶血分析的結果相似，顯示在200 nM BNJ441存在下溶血小於20%，且各種抗體在400 nM均具有幾乎完全的抑制作用（資料未顯示）。CAP介導性rRBC溶血分析展現在抗C5抗體存在下溶血程度較高，抗C5抗體在200 nM下的抑制作用偵測不到且在400 nM下僅發生部分抑制（資料未顯示）。

【0292】 總之，在此等試管內補體活性分析中，BNJ441效力相對於艾庫組單抗而言之中度降低與其針對C5之較弱親和力一致。BNJ441針對C5之親和力仍比活體內C5濃度及BNJ441之靶向治療位準低約1000倍，且因此不太可能損害其治療功效。

實施例13：BNJ441在末端補體活性分析中的選擇性（相較於艾庫組單抗）

【0293】 為了評估BNJ441在非人類動物模型中的藥理學活性，量測BNJ441在得自黑猩猩、狒狒、恆河猴、食蟹獼猴、米格魯犬（beagle）、兔、豚鼠、大鼠及小鼠之血清中拮抗補體介導之抗體敏化cRBC溶血的能力。艾庫組單

抗及具有人類IgG2/G4 Fc的抗小鼠-C5抗體（BNJ430）用作同型對照物。

【0294】 在阿氏液（Alsever's）（Lampire Biologicals）中利用400  $\mu$ L雞全血製備敏化cRBC用於各種分析且在4°C用1 mL GVBS洗滌4次且以每毫升 $5 \times 10^7$ 個細胞再懸浮於GVBS中。為致敏雞紅血球，以150  $\mu$ g/mL向細胞中添加多株抗雞RBC抗體（Rockland）且在冰上培育15分鐘。用GVBS洗滌一次之後，將細胞再懸浮於GVBS中直至最終體積為3.6 mL。

【0295】 保存有補體的血清獲自Bioreclamation（人類；黑猩猩；狒狒；恆河猴；食蟹獼猴；米格魯犬；兔；豚鼠；及大鼠）。10 mg/mL抗體BNJ441；艾庫組單抗（10 mg/mL）；0.873 mg/mL BNJ430於GVBS中、於30%血清中稀釋至0 nM、60 nM、300 nM及600 nM之最終濃度且在室溫下培育30分鐘。敏化cRBC以每孔30  $\mu$ L（ $2.5 \times 10^6$ 個細胞）添加至抗體/血清混合物中，在37°C培育30分鐘且藉由添加30  $\mu$ L 0.5M EDTA至各孔中來中止反應。培養盤以1800 $\times$ g離心3分鐘且轉移80  $\mu$ L上清液至新的平底96孔盤中。量測415 nm吸光度。

【0296】 由於小鼠血清為經典路徑補體活性之不良來源，因此將小鼠血清與C5耗乏性人類血清1:1混合以評估BNJ441在小鼠中之潛在藥理學活性。抗體於GVBS中、於50%全血清（25%小鼠血清、25% C5耗乏性人類血清）中稀釋至0 nM、60 nM、300 nM及600 nM之最終濃度且在室溫下培育30分鐘。敏化cRBC以每孔30  $\mu$ L（ $2.5 \times 10^6$ 個細胞）添加至抗體/血清混合物中，在37°C培育30分鐘且藉由添加30  $\mu$ L 0.5 M EDTA至各孔中來中止反應。培養盤以1800 $\times$ g離心3分鐘且轉移80  $\mu$ L上清液至新的平底96孔盤中。量測415 nm吸光度。

【0297】 含有存在或缺乏10 mM EDTA之無抗C5抗體之血清的樣品分別用作不溶胞或完全溶胞對照。樣品條件三重複或雙重複操作。

【0298】 結果輸入試算表中，以便對不溶胞對照組進行背景扣除及使溶血百分比相對於完全溶胞對照組歸一化，計算平均值（ $\pm$ s.d.）及用圖形表示資料。

各重複實驗均扣除來自不溶胞對照組之平均背景吸光度值且樣品吸光度係根據以下方程式、以完全溶胞對照組中之溶胞百分比表示： $\text{cRBC溶血}\% = (\text{各樣品複製樣品之A415值} - \text{不溶胞對照組之平均A415值}) / (\text{完全溶胞對照組之平均A415值} - \text{不溶胞對照組之平均A415值}) \times 100$ 。

【0299】 樣品複製品之cRBC溶血%之平均值及標準差以圖示標繪（資料未顯示）。

【0300】 BNJ441顯示與食蟹獼猴之原生C5的結合不可偵測且在任何非人類血清中、在抗原結合位點相對於C5為8倍莫耳濃度過量的情況下，試管內測試無藥理學活性。綜合而言，此等資料與如下結論一致：BNJ441在適於對人體中之藥物動力學或藥效學模型化的任何容易近接之非人類物種中不具有任何相關的藥理學活性。

【0301】 雖然本發明已參考其特定具體實例描述，但熟習此項技術者應理解，可在不背離本發明之真實精神及範圍的情況下進行各種變更且可替換等效物。此外，可進行諸多潤飾以使特定情形、材料、相關組成、製程、製程步驟適於本發明之目標、精神及範圍。所有該等潤飾均屬於本發明範圍內。

本發明中提及之序列

SEQ ID NO:1

GYIFSNYWIQ

SEQ ID NO:2

EILPGSGSTEYTENFKD

SEQ ID NO:3

YFFGSSPNWYFDV

SEQ ID NO:4

GASENIYGALN

SEQ ID NO:5

GATNLAD

SEQ ID NO:6

QNVLNTPLT

SEQ ID NO:7

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYIFSNYWIQWVRQAPGQGLEWMGEI  
LPGSGSTEYTENFKDRVMTMTRDTSTSTVYMELSSLRSED  
TAVYYCARYFFGSS  
PNWYFDVWGQGLTVTVSS

SEQ ID NO:8

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCGASENIYGALN  
WYQQKPGKAPKLLIYGATN  
LADGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS  
SLQPEDFATYYCQNVLNTPLTFGQGTKVEIK

SEQ ID NO:9

ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEP  
VTVSWNSGALTSGVHTFPA  
AVLQSSGLYSLSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTK  
VDKTVERKCCVECK  
PPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV  
VVVDVSQEDPEVQFNWYVD

GVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSS  
IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN  
GQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNH  
YTQKSLSLSLGK

**SEQ ID NO:10**

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYIFSNIYWIQWVRQAPGQGLEWMGEI  
LPGSGSTEYTENFKDRVMTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDVAVYYCARYFFGSS  
PNWYFDVWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPV  
TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDPKPSNTKV  
DKTVERKCCVECPPECPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDSQED  
PEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS  
NKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE  
WESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHN  
HYTQKSLSLSLGK

**SEQ ID NO:11**

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCGASENIYGALNWIYQQKPGKAPKLLIYGATN  
LADGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQNVLNTPLTFGGGTKVEIK  
RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESV  
TEQDSKDSSTYSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

**SEQ ID NO:12**

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGHIFSNIYWIQWVRQAPGQGLEWMGE  
ILPGSGHTEYTENFKDRVMTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDVAVYYCARYFFGS  
SPNWYFDVWGQGTLVTVSS

**SEQ ID NO:13**

ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP  
AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVEC  
PPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVVSQEDPEVQFNWYVD  
GVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSS  
IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN  
GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVLHEALHSHY  
TQKSLSLGLGK

**SEQ ID NO:14**

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGHIFSNYWIQWVRQAPGQGLEWMGE  
ILPGSGHTEYTENFKDRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDVAVYYCARYFFGS  
SPNWFYFDVWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEP  
VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTK  
VDKTVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVVSQED  
PEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV  
SNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE  
WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVLHEALHSH  
YTQKSLSLGLGK

**SEQ ID NO:15**

ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP  
AVLQSSGLYSLSSVVTVTSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVEC  
PPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVDVVSQEDPEVQFNWYVD  
GMEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAP  
IEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG  
QPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHY

TQKSLSLSPGK

**SEQ ID NO:16:**

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYIFSNYWIQWVRQAPGQGLEWMGEI  
LPGSGSTEYTENFKDRVMTTRDTSTSTVYMELSSLRSED TAVYYCARYFFGSS  
PNWYFDVWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPE  
PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVTSSNFGTQTYTCNV DHK  
PSNTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVV  
VDVSHEDPEVQFNWYVDGMEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVS VLTVVHQDW  
LNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT  
CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ  
QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

**SEQ ID NO:17**

GASENIYHALN

**SEQ ID NO:18**

DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCGASENIYHALNWYQQKPGKAPKLLIYGATN  
LADGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQNVLNTP LTFGQGGTKVEIK

**SEQ ID NO:19**

EILPGSGHTEYTENFKD

**SEQ ID NO:20**

DYKDDDDK

**SEQ ID NO:21**

HHHHHH

**SEQ ID NO:22**

YPYDVPDYA

SEQ ID NO:23

GHIFSNIYWIQ

SEQ IDNO:24

MGWSCIILFLVATATGVHSLEQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGHIFSNIY  
WIQWVRQAPGQGLEWMGEILPGSGHTEYTENFKDRVTMTRDTSTSTVYMEL  
SSLRSEDTAVYYCARYFFGSSPNWYFDVWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAP  
CSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS  
VVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPVAGPSV  
FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPR  
EEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPR  
EPQVYITLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPV  
LDSGDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLGK

SEQ ID NO:25

MGWSCIILFLVATATGVHSRDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCGASENIYGALN  
WYQQKPGKAPKLLIYGATNLAADGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYY  
CQNVLTPLTFTGQGTKVEIKRTRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNF  
YPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHK  
VYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 26

MGWSCIILFLVATATGVHSLEQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGHIFSNIY  
WIQWVRQAPGQGLEWMGEILPGSGHTEYTENFKDRVTMTRDTSTSTVYMEL  
SSLRSEDTAVYYCARYFFGSSPNWYFDVWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAP  
CSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS  
VVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPVAGPSV

FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPR  
EEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPR  
EPQVYITLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV  
LDSDGSFFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK

**SEQ ID NO: 27**

MGWSCIILFLVATATGVHSRDIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCGASENIYHALN  
WYQQKPGKAPKLLIYGATNADGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYY  
CQNVLTPLTFGQGTKVEIKRTRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNF  
YPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTLTLSKADYEKHK  
VYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

**SEQ ID NO:28**

MGWSCIILFLVATATGVHSLEQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYIFSNY  
WIQWVRQAPGQGLEWMGEILPGSGSTEYTENFKDRVITMTRDTSTSTVYMEL  
SSLRSEDTAVYYCARYFFGSSPNWYFDVWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAP  
CSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS  
VVTVPSSNFGTQTYTCNVDPHKPSNTKVDKTKVERKCCVECPPCAPPVAGPSV  
FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPR  
EEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPR  
EPQVYITLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV  
LDSDGSFFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK

**SEQ ID NO:29**

MGWSCIILFLVATATGVHSRDIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCGASENIYGALN  
WYQQKPGKAPKLLIYGATNADGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYY  
CQNVLTPLTFGQGTKVEIKRTRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNF

YPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHK  
VYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

**SEQ ID NO:30**

NIMMTQSPSSLAWSAGEKVTMSCKSSQSVLYSSNQKNYLAWYQQKPGQSPKL  
LIYWASTRESGVPDRFTGSGSGTDFTLTISVQAEDLAVYYCAQHLSHRTFGG  
GTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA  
LQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVT  
KSFNRGEC

**SEQ ID NO:31**

QVQLQQPGAELVRPGTSVKLSCKASGYTFTSSWMHWVKQRPGQGLEWIGVI  
DPHDSYTNYNQKFKGKATLTVDTSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARGGGSS  
YNRYFDVWGTGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPE  
PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHK  
PSNTKVDKTVERKCCVECPPCAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV  
VDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDW  
LNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLT  
CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQE  
GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK

**SEQ ID NO:32**

NIMMTQSPSSLAWSAGEKVTMSCKSSQSVLYSSNQKNYLAWYQQKPGQSPKL  
LIYWASTRESGVPDRFTGSGSGTDFTLTISVQAEDLAVYYCAQHLSHRTFGG  
GTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA  
LQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVT  
KSFNRGEC

SEQ ID NO:33

QVQLQQPGAELVRPGTSVKLSCKASGYTFTSSWMHWVKQRPGQGLEWIGVI  
DPHDSYTNYNQKFKGKATLTVDTSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARGGGSS  
YNRYFDVWGTGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPE  
PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHK  
PSNTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV  
VDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDW  
LNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLT  
CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQE  
GNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSLGK

SEQ ID NO:34

NIMMTQSPSSLAVSAGEKVTMSCKSSQSVLYSSNQKNYLAWYQQKPGQSPKL  
LIYWASTRESGVPDRFTGSGSGTDFTLTISSVQAEDLAVYYCAQYLSSRTFGG  
GTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA  
LQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVT  
KSFNRGEC

SEQ ID NO:35

QVQLQQPGAELVRPGTSVKLSCKASGYTFTSSWMHWVKQRPGQGLEWIGVI  
DPSDSYTNYNQKFKGKATLTVDTSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARGGGSS  
YNRYFDVWGTGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPE  
PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHK  
PSNTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV  
VDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDW  
LNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLT

CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQE  
GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLK

【符號說明】

無

【序列表】

<110> 美商阿雷希昂製藥公司（Alexion Pharmaceuticals, Inc.）

<120> 具有改善的藥物動力學的抗C5抗體

<150> US 61/949,932

<151> 2014-03-07

<160> 35

<170> PatentIn 3.5版

<210> 1

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之說明：合成肽

<400> 1

Gly Tyr Ile Phe Ser Asn Tyr Trp Ile Gln  
1 5 10

<210> 2

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之說明：合成肽

<400> 2

Glu Ile Leu Pro Gly Ser Gly Ser Thr Glu Tyr Thr Glu Asn Phe Lys  
1 5 10 15

Asp

<210> 3

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>  
<223> 人工序列之說明：合成肽  
  
<400> 3  
Tyr Phe Phe Gly Ser Ser Pro Asn Trp Tyr Phe Asp Val  
1                  5                  10

<210> 4  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 人工序列之說明：合成肽

<400> 4  
Gly Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Gly Ala Leu Asn  
1                  5                  10

<210> 5  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 人工序列之說明：合成肽

<400> 5  
Gly Ala Thr Asn Leu Ala Asp  
1                  5

<210> 6  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 人工序列之說明：合成肽

<400> 6  
Gln Asn Val Leu Asn Thr Pro Leu Thr  
1                  5

<210> 7  
<211> 122  
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之說明：合成多肽

<400> 7

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 Ile Phe Ser Asn Tyr  
20 25 30

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

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

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

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

Ala Arg Tyr Phe Phe Gly Ser Ser Pro Asn Trp Tyr Phe Asp Val Trp  
100 105 110

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

<210> 8

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之說明：合成多肽

<400> 8

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gly Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Gly Ala  
20 25 30

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

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

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

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

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

<210> 9  
<211> 326  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 人工序列之說明：合成多肽

<400> 9  
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg  
1 5 10 15

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

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

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys  
290 295 300

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu  
305 310 315 320

Ser Leu Ser Leu Gly Lys  
325

<210> 10  
<211> 448  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 人工序列之說明：合成多肽

<400> 10  
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 Ile Phe Ser Asn Tyr  
20 25 30

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

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

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

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

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

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|
| 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |     |  |
| Ser | Val | Leu | Thr | Val | Leu | His | Gln | Asp | Trp | Leu | Asn | Gly | Lys | Glu | Tyr |  |
| 305 |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |  |
|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
| Lys | Cys | Lys | Val | Ser | Asn | Lys | Gly | Leu | Pro | Ser | Ser | Ile | Glu | Lys | Thr |  |
| 325 |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     | 335 |     |     |     |     |     |  |
|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
| Ile | Ser | Lys | Ala | Lys | Gly | Gln | Pro | Arg | Glu | Pro | Gln | Val | Tyr | Thr | Leu |  |
| 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     | 350 |     |     |     |     |     |  |
|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
| Pro | Pro | Ser | Gln | Glu | Glu | Met | Thr | Lys | Asn | Gln | Val | Ser | Leu | Thr | Cys |  |
| 355 |     |     |     |     | 360 |     |     |     |     | 365 |     |     |     |     |     |  |
|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
| Leu | Val | Lys | Gly | Phe | Tyr | Pro | Ser | Asp | Ile | Ala | Val | Glu | Trp | Glu | Ser |  |
| 370 |     |     |     |     | 375 |     |     |     |     | 380 |     |     |     |     |     |  |
|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
| Asn | Gly | Gln | Pro | Glu | Asn | Asn | Tyr | Lys | Thr | Thr | Pro | Pro | Val | Leu | Asp |  |
| 385 |     |     |     |     | 390 |     |     |     |     | 395 |     |     |     |     | 400 |  |
|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
| Ser | Asp | Gly | Ser | Phe | Phe | Leu | Tyr | Ser | Arg | Leu | Thr | Val | Asp | Lys | Ser |  |
| 405 |     |     |     |     | 410 |     |     |     |     | 415 |     |     |     |     |     |  |
|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
| Arg | Trp | Gln | Glu | Gly | Asn | Val | Phe | Ser | Cys | Ser | Val | Met | His | Glu | Ala |  |
| 420 |     |     |     |     | 425 |     |     |     |     | 430 |     |     |     |     |     |  |
|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
| Leu | His | Asn | His | Tyr | Thr | Gln | Lys | Ser | Leu | Ser | Leu | Ser | Leu | Gly | Lys |  |
| 435 |     |     |     |     | 440 |     |     |     |     | 445 |     |     |     |     |     |  |

<210> 11  
<211> 214  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 人工序列之說明：合成多肽

<400> 11  
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly  
1                    5                    10                    15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gly Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Gly Ala  
20 25 30

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

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

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

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

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val 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

<210> 12  
<211> 122  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 人工序列之說明：合成多肽

<400> 12  
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 His Ile Phe Ser Asn Tyr  
          20                  25                  30

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

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

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

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

Ala Arg Tyr Phe Phe Gly Ser Ser Pro Asn Trp Tyr Phe Asp Val Trp  
          100                  105                  110

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

<210> 13  
<211> 326  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之說明：合成多肽

<400> 13

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg  
1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser 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 Asn Phe Gly Thr Gln Thr  
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys  
85 90 95

Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro  
100 105 110

Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp  
115 120 125

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp  
130 135 140

Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly  
145 150 155 160

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn  
165 170 175

Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp  
180 185 190

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro  
195 200 205

Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu  
210 215 220

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn  
225 230 235 240

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile  
245 250 255

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr  
260 265 270

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

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys  
290 295 300

Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ser His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu  
305 310 315 320

Ser Leu Ser Leu Gly Lys  
325

<210> 14  
<211> 448  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 人工序列之說明：合成多肽

<400> 14  
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 | His | Ile | Phe | Ser | Asn | Tyr |  |
|     |     | 20  |     |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |  |
| Trp | Ile | Gln | Trp | Val | Arg | Gln | Ala | Pro | Gly | Gln | Gly | Leu | Glu | Trp | Met |  |
|     | 35  |     |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |  |
| Gly | Glu | Ile | Leu | Pro | Gly | Ser | Gly | His | Thr | Glu | Tyr | Thr | Glu | Asn | Phe |  |
|     | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |  |
| Lys | Asp | Arg | Val | Thr | Met | Thr | Arg | Asp | Thr | Ser | Thr | Ser | Thr | Val | Tyr |  |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |  |
| Met | Glu | Leu | Ser | Ser | Leu | Arg | Ser | Glu | Asp | Thr | Ala | Val | Tyr | Tyr | Cys |  |
|     |     |     | 85  |     |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |  |
| Ala | Arg | Tyr | Phe | Phe | Gly | Ser | Ser | Pro | Asn | Trp | Tyr | Phe | Asp | Val | Trp |  |
|     |     | 100 |     |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |  |
| Gly | Gln | Gly | Thr | Leu | Val | Thr | Val | Ser | Ser | Ala | Ser | Thr | Lys | Gly | Pro |  |
|     | 115 |     |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |     |     |     |  |
| Ser | Val | Phe | Pro | Leu | Ala | Pro | Cys | Ser | Arg | Ser | Thr | Ser | Glu | Ser | Thr |  |
|     | 130 |     |     |     |     | 135 |     |     |     |     | 140 |     |     |     |     |  |
| Ala | Ala | Leu | Gly | Cys | Leu | Val | Lys | Asp | Tyr | Phe | Pro | Glu | Pro | Val | Thr |  |
| 145 |     |     |     |     | 150 |     |     |     |     | 155 |     |     |     |     | 160 |  |
| Val | Ser | Trp | Asn | Ser | Gly | Ala | Leu | Thr | Ser | Gly | Val | His | Thr | Phe | Pro |  |
|     |     |     | 165 |     |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |     |  |
| Ala | Val | Leu | Gln | Ser | Ser | Gly | Leu | Tyr | Ser | Leu | Ser | Ser | Val | Val | Thr |  |
|     |     | 180 |     |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |  |
| Val | Pro | Ser | Ser | Asn | Phe | Gly | Thr | Gln | Thr | Tyr | Thr | Cys | Asn | Val | Asp |  |
|     | 195 |     |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |  |
| His | Lys | Pro | Ser | Asn | Thr | Lys | Val | Asp | Lys | Thr | Val | Glu | Arg | Lys | Cys |  |

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

Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala  
420 425 430

Leu His Ser His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys  
435 440 445

<210> 15  
<211> 326  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 人工序列之說明：合成多肽

<400> 15  
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg  
1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser 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 Thr Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr  
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys  
85 90 95

Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro  
100 105 110

Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp  
115 120 125

Thr Leu Tyr Ile Thr Arg Glu Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp  
130 135 140

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly  
145 150 155 160

Met Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn  
165 170 175

Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp  
180 185 190

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro  
195 200 205

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu  
210 215 220

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

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile  
245 250 255

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr  
260 265 270

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

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

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu  
305 310 315 320

Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
325

<210> 16  
<211> 448  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 人工序列之說明：合成多肽

<400> 16  
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 Ile Phe Ser Asn Tyr  
                  20                  25                  30

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

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

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

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

Ala Arg Tyr Phe Phe Gly Ser Ser Pro Asn Trp Tyr Phe Asp Val Trp  
          100                  105                  110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro  
          115                  120                  125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr  
          130                  135                  140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr  
145                  150                  155                  160

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Val | Ser | Trp | Asn | Ser | Gly | Ala | Leu | Thr | Ser | Gly | Val | His | Thr | Phe | Pro |
| 165 |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |     |     |     |     |     |
| Ala | Val | Leu | Gln | Ser | Ser | Gly | Leu | Tyr | Ser | Leu | Ser | Ser | Val | Val | Thr |
| 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |     |     |     |
| Val | Thr | Ser | Ser | Asn | Phe | Gly | Thr | Gln | Thr | Tyr | Thr | Cys | Asn | Val | Asp |
| 195 |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |     |     |
| His | Lys | Pro | Ser | Asn | Thr | Lys | Val | Asp | Lys | Thr | Val | Glu | Arg | Lys | Cys |
| 210 |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |     |
| Cys | Val | Glu | Cys | Pro | Pro | Cys | Pro | Ala | Pro | Pro | Val | Ala | Gly | Pro | Ser |
| 225 |     |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |
| Val | Phe | Leu | Phe | Pro | Pro | Lys | Pro | Lys | Asp | Thr | Leu | Tyr | Ile | Thr | Arg |
| 245 |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |     |     |     |     |
| Glu | Pro | Glu | Val | Thr | Cys | Val | Val | Val | Asp | Val | Ser | His | Glu | Asp | Pro |
| 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |     |     |     |
| Glu | Val | Gln | Phe | Asn | Trp | Tyr | Val | Asp | Gly | Met | Glu | Val | His | Asn | Ala |
| 275 |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |     |     |
| Lys | Thr | Lys | Pro | Arg | Glu | Glu | Gln | Phe | Asn | Ser | Thr | Phe | Arg | Val | Val |
| 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |     |
| Ser | Val | Leu | Thr | Val | Val | His | Gln | Asp | Trp | Leu | Asn | Gly | Lys | Glu | Tyr |
| 305 |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |
| Lys | Cys | Lys | Val | Ser | Asn | Lys | Gly | Leu | Pro | Ala | Pro | Ile | Glu | Lys | Thr |
| 325 |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     | 335 |     |     |     |     |     |
| Ile | Ser | Lys | Thr | Lys | Gly | Gln | Pro | Arg | Glu | Pro | Gln | Val | Tyr | Thr | Leu |
| 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     | 350 |     |     |     |     |     |
| Pro | Pro | Ser | Arg | Glu | Glu | Met | Thr | Lys | Asn | Gln | Val | Ser | Leu | Thr | Cys |

355 360 365

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

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp  
385 390 395 400

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

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

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
435 440 445

<210> 17  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 人工序列之說明：合成肽

<400> 17  
Gly Ala Ser Glu Asn Ile Tyr His Ala Leu Asn  
1 5 10

<210> 18  
<211> 107  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 人工序列之說明：合成多肽

<400> 18  
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly  
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gly Ala Ser Glu Asn Ile Tyr His Ala

202530

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile  
354045

Tyr Gly Ala Thr Asn Leu Ala Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
505560

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
65707580

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Asn Val Leu Asn Thr Pro Leu  
859095

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
100105

<210> 19  
<211> 17  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 人工序列之說明：合成肽

<400> 19  
Glu Ile Leu Pro Gly Ser Gly His Thr Glu Tyr Thr Glu Asn Phe Lys  
151015

Asp

<210> 20  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 人工序列之說明：合成肽

<400> 20  
Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys

15

<210> 21  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 人工序列之說明：合成6xHis標記

<400> 21  
His His His His His His  
15

<210> 22  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 人工序列之說明：合成肽

<400> 22  
Tyr Pro Tyr Asp Val Pro Asp Tyr Ala  
15

<210> 23  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 人工序列之說明：合成肽

<400> 23  
Gly His Ile Phe Ser Asn Tyr Trp Ile Gln  
1510

<210> 24  
<211> 469  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 人工序列之說明：合成多肽

|          |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |  |  |  |  |  |  |  |
|----------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|--|--|--|--|--|--|--|
| <400> 24 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |  |  |  |  |  |  |  |
| Met      | Gly | Trp | Ser | Cys | Ile | Ile | Leu | Phe | Leu | Val | Ala | Thr | Ala | Thr | Gly |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 1        |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     |     | 15  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|          |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |  |  |  |  |  |  |  |
| Val      | His | Ser | Leu | Glu | Gln | Val | Gln | Leu | Val | Gln | Ser | Gly | Ala | Glu | Val |  |  |  |  |  |  |  |  |
|          |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     |     | 30  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |
|          |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |  |  |  |  |  |  |  |
| Lys      | Lys | Pro | Gly | Ala | Ser | Val | Lys | Val | Ser | Cys | Lys | Ala | Ser | Gly | His |  |  |  |  |  |  |  |  |
|          |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |  |  |  |  |  |  |  |  |
|          |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |  |  |  |  |  |  |  |
| Ile      | Phe | Ser | Asn | Tyr | Trp | Ile | Gln | Trp | Val | Arg | Gln | Ala | Pro | Gly | Gln |  |  |  |  |  |  |  |  |
|          | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |  |  |  |  |  |  |  |  |
|          |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |  |  |  |  |  |  |  |
| Gly      | Leu | Glu | Trp | Met | Gly | Glu | Ile | Leu | Pro | Gly | Ser | Gly | His | Thr | Glu |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 65       |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|          |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |  |  |  |  |  |  |  |
| Tyr      | Thr | Glu | Asn | Phe | Lys | Asp | Arg | Val | Thr | Met | Thr | Arg | Asp | Thr | Ser |  |  |  |  |  |  |  |  |
|          |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     |     | 95  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |
|          |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |  |  |  |  |  |  |  |
| Thr      | Ser | Thr | Val | Tyr | Met | Glu | Leu | Ser | Ser | Leu | Arg | Ser | Glu | Asp | Thr |  |  |  |  |  |  |  |  |
|          |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     |     | 110 |     |  |  |  |  |  |  |  |  |
|          |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |  |  |  |  |  |  |  |
| Ala      | Val | Tyr | Tyr | Cys | Ala | Arg | Tyr | Phe | Phe | Gly | Ser | Ser | Pro | Asn | Trp |  |  |  |  |  |  |  |  |
|          |     | 115 |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |     |     |     |  |  |  |  |  |  |  |  |
|          |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |  |  |  |  |  |  |  |
| Tyr      | Phe | Asp | Val | Trp | Gly | Gln | Gly | Thr | Leu | Val | Thr | Val | Ser | Ser | Ala |  |  |  |  |  |  |  |  |
|          | 130 |     |     |     |     | 135 |     |     |     |     | 140 |     |     |     |     |  |  |  |  |  |  |  |  |
|          |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |  |  |  |  |  |  |  |
| Ser      | Thr | Lys | Gly | Pro | Ser | Val | Phe | Pro | Leu | Ala | Pro | Cys | Ser | Arg | Ser |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 145      |     |     |     |     | 150 |     |     |     | 155 |     |     |     |     |     | 160 |  |  |  |  |  |  |  |  |
|          |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |  |  |  |  |  |  |  |
| Thr      | Ser | Glu | Ser | Thr | Ala | Ala | Leu | Gly | Cys | Leu | Val | Lys | Asp | Tyr | Phe |  |  |  |  |  |  |  |  |
|          |     |     | 165 |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     |     | 175 |     |  |  |  |  |  |  |  |  |
|          |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |  |  |  |  |  |  |  |
| Pro      | Glu | Pro | Val | Thr | Val | Ser | Trp | Asn | Ser | Gly | Ala | Leu | Thr | Ser | Gly |  |  |  |  |  |  |  |  |
|          |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     |     | 190 |     |     |  |  |  |  |  |  |  |  |
|          |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |  |  |  |  |  |  |  |
| Val      | His | Thr | Phe | Pro | Ala | Val | Leu | Gln | Ser | Ser | Gly | Leu | Tyr | Ser | Leu |  |  |  |  |  |  |  |  |

195200205

Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr  
210215220

Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr  
225230235240

Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro  
245250255

Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr  
260265270

Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val  
275280285

Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val  
290295300

Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser  
305310315320

Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu  
325330335

Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser  
340345350

Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro  
355360365

Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln  
370375380

Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala  
385390395400

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> 25  
<211> 236  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 人工序列之說明：合成多肽

<400> 25  
Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly  
1 5 10 15

Val His Ser Arg Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser  
20 25 30

Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gly Ala Ser Glu Asn  
35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro  
50 55 60

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

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

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

Asn Thr Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg  
115 120 125

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

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

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

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

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

Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser  
210 215 220

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

<210> 26  
<211> 469  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 人工序列之說明：合成多肽

<400> 26  
Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly

|                                                                 |     |     |     |
|-----------------------------------------------------------------|-----|-----|-----|
| 1                                                               | 5   | 10  | 15  |
| Val His Ser Leu Glu Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val | 20  | 25  | 30  |
| Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly His | 35  | 40  | 45  |
| Ile Phe Ser Asn Tyr Trp Ile Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln | 50  | 55  | 60  |
| Gly Leu Glu Trp Met Gly Glu Ile Leu Pro Gly Ser Gly His Thr Glu | 65  | 70  | 75  |
| Tyr Thr Glu Asn Phe Lys Asp Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser | 85  | 90  | 95  |
| Thr Ser Thr Val Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr | 100 | 105 | 110 |
| Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Tyr Phe Phe Gly Ser Ser Pro Asn Trp | 115 | 120 | 125 |
| Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala | 130 | 135 | 140 |
| Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser | 145 | 150 | 155 |
| Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe | 165 | 170 | 175 |
| Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly | 180 | 185 | 190 |
| Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu | 195 | 200 | 205 |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ser | Ser | Val | Val | Thr | Val | Pro | Ser | Ser | Asn | Phe | Gly | Thr | Gln | Thr | Tyr |
| 210 |     |     |     | 215 |     |     |     | 220 |     |     |     |     |     |     |     |
| Thr | Cys | Asn | Val | Asp | His | Lys | Pro | Ser | Asn | Thr | Lys | Val | Asp | Lys | Thr |
| 225 |     |     |     | 230 |     |     |     | 235 |     |     |     | 240 |     |     |     |
| Val | Glu | Arg | Lys | Cys | Cys | Val | Glu | Cys | Pro | Pro | Cys | Pro | Ala | Pro | Pro |
| 245 |     |     |     | 250 |     |     |     | 255 |     |     |     |     |     |     |     |
| Val | Ala | Gly | Pro | Ser | Val | Phe | Leu | Phe | Pro | Pro | Lys | Pro | Lys | Asp | Thr |
| 260 |     |     |     | 265 |     |     |     | 270 |     |     |     |     |     |     |     |
| Leu | Met | Ile | Ser | Arg | Thr | Pro | Glu | Val | Thr | Cys | Val | Val | Val | Asp | Val |
| 275 |     |     |     | 280 |     |     |     | 285 |     |     |     |     |     |     |     |
| Ser | 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> 27  
<211> 236  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 人工序列之說明：合成多肽

<400> 27  
Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly  
1 5 10 15

Val His Ser Arg Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser  
20 25 30

Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gly Ala Ser Glu Asn  
35 40 45

Ile Tyr His Ala Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro  
50 55 60

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

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

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

Asn Thr Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg  
115 120 125

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

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

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

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

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

Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser  
210 215 220

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

<210> 28  
<211> 469  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 人工序列之說明：合成多肽

<400> 28  
Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly  
1 5 10 15

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

Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr  
35 40 45

Ile Phe Ser Asn Tyr Trp Ile Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln  
50 55 60

Gly Leu Glu Trp Met Gly Glu Ile Leu Pro Gly Ser Gly Ser Thr Glu  
65 70 75 80

Tyr Thr Glu Asn Phe Lys Asp Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser  
85 90 95

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

Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Tyr Phe Phe Gly Ser Ser Pro Asn Trp  
115 120 125

Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala  
130 135 140

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

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

Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly  
180 185 190

Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu  
195 200 205

Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| 210 |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| Thr | Cys | Asn | Val | Asp | His | Lys | Pro | Ser | Asn | Thr | Lys | Val | Asp | Lys | Thr |     |     |     |     |
| 225 |     |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |     |     |     |     |
| Val |     |     |     |     | Glu | Arg | Lys | Cys | Cys | Val | Glu | Cys | Pro | Pro | Cys | Pro | Ala | Pro | Pro |
|     |     |     |     | 245 |     |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     |     |     |     | 255 |     |
| Val |     |     |     |     | Ala | Gly | Pro | Ser | Val | Phe | Leu | Phe | Pro | Pro | Lys | Pro | Lys | Asp | Thr |
|     |     |     | 260 |     |     |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     |     |     |     | 270 |     |
| Leu |     |     |     |     | Met | Ile | Ser | Arg | Thr | Pro | Glu | Val | Thr | Cys | Val | Val | Val | Asp | Val |
|     |     | 275 |     |     |     |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     |     | 285 |     |     |     |
| Ser |     |     |     |     | 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> 29  
<211> 236  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 人工序列之說明：合成多肽

<400> 29  
Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly  
1 5 10 15

Val His Ser Arg Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser  
20 25 30

Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gly Ala Ser Glu Asn  
35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro  
50 55 60

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

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

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

Asn Thr Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg  
115 120 125

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

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

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

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

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

Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser  
210 215 220

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

<210> 30  
<211> 219  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 人工序列之說明：合成多肽

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

Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser

202530

Ser Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln  
354045

Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val  
505560

Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr  
65707580

Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Gln  
859095

His Leu Ser His Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys  
100105110

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu  
115120125

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe  
130135140

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln  
145150155160

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser  
165170175

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu  
180185190

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser  
195200205

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
210215

<210> 31  
<211> 447  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 人工序列之說明：合成多肽

<400> 31  
Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ala Glu Leu Val Arg Pro Gly Thr  
1                    5                    10                    15

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

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

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

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

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

Ala Arg Gly Gly Gly Ser Ser Tyr Asn Arg Tyr Phe Asp Val Trp Gly  
                  100                    105                    110

Thr Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser  
          115                    120                    125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala  
      130                    135                    140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val  
65                    150                    155                    160

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|
| Ser | Trp | Asn | Ser | Gly | Ala | Leu | Thr | Ser | Gly | Val | His | Thr | Phe | Pro | Ala |  |
|     |     |     |     | 165 |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |     |  |
| Val | Leu | Gln | Ser | Ser | Gly | Leu | Tyr | Ser | Leu | Ser | Ser | Val | Val | Thr | Val |  |
|     |     |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |  |
| Pro | Ser | Ser | Asn | Phe | Gly | Thr | Gln | Thr | Tyr | Thr | Cys | Asn | Val | Asp | His |  |
|     |     | 195 |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |  |
| Lys | Pro | Ser | Asn | Thr | Lys | Val | Asp | Lys | Thr | Val | Glu | Arg | Lys | Cys | Cys |  |
|     | 210 |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |  |
| Val | Glu | Cys | Pro | Pro | Cys | Pro | Ala | Pro | Pro | Val | Ala | Gly | Pro | Ser | Val |  |
| 225 |     |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |  |
| Phe | Leu | Phe | Pro | Pro | Lys | Pro | Lys | Asp | Thr | Leu | Met | Ile | Ser | Arg | Thr |  |
|     |     |     |     | 245 |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |  |
| Pro | Glu | Val | Thr | Cys | Val | Val | Val | Asp | Val | Ser | Gln | Glu | Asp | Pro | Glu |  |
|     |     | 260 |     |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |  |
| Val | Gln | Phe | Asn | Trp | Tyr | Val | Asp | Gly | Val | Glu | Val | His | Asn | Ala | Lys |  |
|     | 275 |     |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |  |
| Thr | Lys | Pro | Arg | Glu | Glu | Gln | Phe | Asn | Ser | Thr | Tyr | Arg | Val | Val | Ser |  |
|     | 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |  |
| Val | Leu | Thr | Val | Leu | His | Gln | Asp | Trp | Leu | Asn | Gly | Lys | Glu | Tyr | Lys |  |
| 305 |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |  |
| Cys | Lys | Val | Ser | Asn | Lys | Gly | Leu | Pro | Ser | Ser | Ile | Glu | Lys | Thr | Ile |  |
|     |     |     |     | 325 |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     | 335 |     |  |
| Ser | Lys | Ala | Lys | Gly | Gln | Pro | Arg | Glu | Pro | Gln | Val | Tyr | Thr | Leu | Pro |  |
|     |     | 340 |     |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     | 350 |     |     |  |
| Pro | Ser | Gln | Glu | Glu | Met | Thr | Lys | Asn | Gln | Val | Ser | Leu | Thr | Cys | Leu |  |
|     |     | 355 |     |     |     |     | 360 |     |     |     |     | 365 |     |     |     |  |

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

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

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

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

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys  
435 440 445

<210> 32

<211> 219

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之說明：合成多肽

<400> 32

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

Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser  
20 25 30

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

Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val  
50 55 60

Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr  
65 70 75 80

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

His Leu Ser His Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys  
100 105 110

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu  
115 120 125

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe  
130 135 140

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln  
145 150 155 160

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser  
165 170 175

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu  
180 185 190

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

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
210 215

<210> 33  
<211> 447  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 人工序列之說明：合成多肽

<400> 33  
Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ala Glu Leu Val Arg Pro Gly Thr  
1 5 10 15

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|
| Ser | Val | Lys | Leu | Ser | Cys | Lys | Ala | Ser | Gly | Tyr | Thr | Phe | Thr | Ser | Ser |  |
|     |     | 20  |     |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     |     | 30  |     |  |
| Trp | Met | His | Trp | Val | Lys | Gln | Arg | Pro | Gly | Gln | Gly | Leu | Glu | Trp | Ile |  |
|     |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |  |
| Gly | Val | Ile | Asp | Pro | His | Asp | Ser | Tyr | Thr | Asn | Tyr | Asn | Gln | Lys | Phe |  |
|     |     | 50  |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |  |
| Lys | Gly | Lys | Ala | Thr | Leu | Thr | Val | Asp | Thr | Ser | Ser | Ser | Thr | Ala | Tyr |  |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |  |
| Met | Gln | Leu | Ser | Ser | Leu | Thr | Ser | Glu | Asp | Ser | Ala | Val | Tyr | Tyr | Cys |  |
|     |     |     | 85  |     |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |  |
| Ala | Arg | Gly | Gly | Gly | Ser | Ser | Tyr | Asn | Arg | Tyr | Phe | Asp | Val | Trp | Gly |  |
|     |     | 100 |     |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |  |
| Thr | Gly | Thr | Thr | Val | Thr | Val | Ser | Ser | Ala | Ser | Thr | Lys | Gly | Pro | Ser |  |
|     |     | 115 |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |     |     |     |  |
| Val | Phe | Pro | Leu | Ala | Pro | Cys | Ser | Arg | Ser | Thr | Ser | Glu | Ser | Thr | Ala |  |
|     |     | 130 |     |     |     | 135 |     |     |     |     | 140 |     |     |     |     |  |
| Ala | Leu | Gly | Cys | Leu | Val | Lys | Asp | Tyr | Phe | Pro | Glu | Pro | Val | Thr | Val |  |
| 145 |     |     |     |     | 150 |     |     |     | 155 |     |     |     |     |     | 160 |  |
| Ser | Trp | Asn | Ser | Gly | Ala | Leu | Thr | Ser | Gly | Val | His | Thr | Phe | Pro | Ala |  |
|     |     |     | 165 |     |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |     |  |
| Val | Leu | Gln | Ser | Ser | Gly | Leu | Tyr | Ser | Leu | Ser | Ser | Val | Val | Thr | Val |  |
|     |     | 180 |     |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |  |
| Pro | Ser | Ser | Asn | Phe | Gly | Thr | Gln | Thr | Tyr | Thr | Cys | Asn | Val | Asp | His |  |
|     |     | 195 |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |  |
| Lys | Pro | Ser | Asn | Thr | Lys | Val | Asp | Lys | Thr | Val | Glu | Arg | Lys | Cys | Cys |  |
|     |     | 210 |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |  |

Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val  
225 230 235 240

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

His Ser His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys  
435 440 445

<210> 34  
<211> 219  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 人工序列之說明：合成多肽

<400> 34  
Asn Ile Met Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ala Val Ser Ala Gly  
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser  
20 25 30

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

Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val  
50 55 60

Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr  
65 70 75 80

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

Tyr Leu Ser Ser Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys  
100 105 110

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu  
115 120 125

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe

|                    |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
|--------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|
| 130                |     |     |     |     | 135 |     |     |     |     | 140 |     |     |     |     |     |  |
| Tyr                | Pro | Arg | Glu | Ala | Lys | Val | Gln | Trp | Lys | Val | Asp | Asn | Ala | Leu | Gln |  |
| 145                |     |     |     |     | 150 |     |     |     |     | 155 |     |     |     |     | 160 |  |
|                    |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
| Ser                | Gly | Asn | Ser | Gln | Glu | Ser | Val | Thr | Glu | Gln | Asp | Ser | Lys | Asp | Ser |  |
|                    |     |     |     | 165 |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |     |  |
|                    |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
| Thr                | Tyr | Ser | Leu | Ser | Ser | Thr | Leu | Thr | Leu | Ser | Lys | Ala | Asp | Tyr | Glu |  |
|                    |     |     | 180 |     |     |     | 185 |     |     |     | 190 |     |     |     |     |  |
|                    |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
| Lys                | His | Lys | Val | Tyr | Ala | Cys | Glu | Val | Thr | His | Gln | Gly | Leu | Ser | Ser |  |
|                    |     | 195 |     |     | 200 |     |     | 205 |     |     |     |     |     |     |     |  |
|                    |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
| Pro                | Val | Thr | Lys | Ser | Phe | Asn | Arg | Gly | Glu | Cys |     |     |     |     |     |  |
|                    |     | 210 |     |     | 215 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
|                    |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
| <210> 35           |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
| <211> 447          |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
| <212> PRT          |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
| <213> 人工序列         |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
|                    |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
| <220>              |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
| <223> 人工序列之說明：合成多肽 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
|                    |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
| <400> 35           |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
| Gln                | Val | Gln | Leu | Gln | Gln | Pro | Gly | Ala | Glu | Leu | Val | Arg | Pro | Gly | Thr |  |
| 1                  |     |     |     | 5   |     |     |     | 10  |     |     |     | 15  |     |     |     |  |
|                    |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
| Ser                | Val | Lys | Leu | Ser | Cys | Lys | Ala | Ser | Gly | Tyr | Thr | Phe | Thr | Ser | Ser |  |
|                    |     |     | 20  |     |     |     | 25  |     |     |     | 30  |     |     |     |     |  |
|                    |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
| Trp                | Met | His | Trp | Val | Lys | Gln | Arg | Pro | Gly | Gln | Gly | Leu | Glu | Trp | Ile |  |
|                    |     | 35  |     |     | 40  |     |     | 45  |     |     |     |     |     |     |     |  |
|                    |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
| Gly                | Val | Ile | Asp | Pro | Ser | Asp | Ser | Tyr | Thr | Asn | Tyr | Asn | Gln | Lys | Phe |  |
|                    |     | 50  |     |     | 55  |     |     | 60  |     |     |     |     |     |     |     |  |
|                    |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
| Lys                | Gly | Lys | Ala | Thr | Leu | Thr | Val | Asp | Thr | Ser | Ser | Ser | Thr | Ala | Tyr |  |
|                    |     | 65  |     |     | 70  |     |     | 75  |     |     | 80  |     |     |     |     |  |

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

Ala Arg Gly Gly Gly Ser Ser Tyr Asn Arg Tyr Phe Asp Val Trp Gly  
100 105 110

Thr Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser  
115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala  
130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val  
145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala  
165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val  
180 185 190

Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His  
195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys  
210 215 220

Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val  
225 230 235 240

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys  
435 440 445

## 【發明申請專利範圍】

【請求項1】一種經分離的抗體，所述經分離的抗體：

(a) 結合至補體組分人類C5；

(b) 抑制人類C5裂解成片段C5a及C5b；

(c) 包含：(i) 包含SEQ ID NO: 1之胺基酸序列的重鏈CDR1，(ii) 包含SEQ ID NO: 2之胺基酸序列的重鏈CDR2，(iii) 包含SEQ ID NO: 3之胺基酸序列的重鏈CDR3，(iv) 包含SEQ ID NO: 4之胺基酸序列的輕鏈CDR1，(v) 包含SEQ ID NO: 5之胺基酸序列的輕鏈CDR2，及(vi) 包含SEQ ID NO: 6之胺基酸序列的輕鏈CDR3；且

(d) 進一步包含變異型人類Fc恆定區，所述變異型人類Fc恆定區結合人類新生兒Fc受體（FcRn）的親和力大於變異型人類Fc恆定區所來源之原生人類Fc恆定區。

【請求項2】如請求項1之經分離的抗體，其包含SEQ ID NO: 7之重鏈可變區和SEQ ID NO: 8之輕鏈可變區。

【請求項3】如請求項1之經分離的抗體，其中該變異型Fc恆定區在原生人類IgG Fc恆定區的編號胺基酸殘基包含下列取代，下列取代在各情況下是彼此獨立的，各依據EU編號：

(1) 選自M252Y、S254T和T256E或其組合的取代，較佳地，包含M252Y、S254T和T256E的三重取代；

(2) 選自M428L、視需要地與T250Q一起的取代；較佳地，包含M428L和T250Q的雙重取代；

(3) 選自N434A和視需要地T307A及/或E380A的取代；較佳地，包含T307A、E380A和N434A的三重取代；或

(4) 選自(a) P257I和Q311I；(b) P257I和N434H；及(c) D376V和N434H

的雙重取代；

(5) M252Y、S254T、T256E、N434S、M428L、V259I、T250和V308F；

及

(6) 上述(1)至(5)之取代的任何組合，較佳地，(a) V308F和M428L；

(b) V259I、V308F和M428L；及(c) M428L和N434S。

**【請求項4】**如請求項1之經分離的抗體，其中該變異型Fc恆定區在對應於原生人類IgG Fc恆定區的位置428之甲硫胺酸及位置434之天冬醯胺酸的殘基上包含Met-429-Leu和Asn-435-Ser取代，各依據EU編號。

**【請求項5】**如請求項1之經分離的抗體，其進一步包含SEQ ID NO: 13或SEQ ID NO: 15之重鏈恆定區。

**【請求項6】**如請求項1之經分離的抗體，其包含：

(a) 重鏈多肽，該重鏈多肽包含(1) 包含SEQ ID NO: 7之胺基酸序列的重鏈可變區及(2) 包含SEQ ID NO: 13或SEQ ID NO: 15之胺基酸序列的變異型人類Fc恆定區；及

(b) 輕鏈多肽，該輕鏈多肽包含SEQ ID NO: 11之胺基酸序列。

**【請求項7】**如請求項1之經分離的抗體，其包含：

(a) 包含SEQ ID NO: 16之胺基酸序列的重鏈多肽；及

(b) 包含SEQ ID NO: 11之胺基酸序列的輕鏈多肽。

**【請求項8】**如請求項1之經分離的抗體，其中該抗體係在CHO細胞中製造。

**【請求項9】**如請求項8之經分離的抗體，其中該抗體不含有可偵測的唾液酸殘基。

**【請求項10】**一種核酸，其編碼如請求項1之經分離的抗體，

**【請求項11】**一種表現載體，其包含如請求項10之核酸。

**【請求項12】**一種細胞，其包含如請求項11之表現載體。

【請求項13】一種製造抗C5抗體之方法，該方法包含：在使細胞表現該抗體的條件和時間下培養細胞，且視需要地從培養物中分離出該抗體，其中該細胞包含表現載體，該表現載體包含編碼經分離的抗體之核酸，該經分離的抗體：

(a) 結合至補體組分人類C5；

(b) 抑制人類C5裂解成片段C5a及C5b；

(c) 包含：(i) 包含SEQ ID NO: 1之胺基酸序列的重鏈CDR1，(ii) 包含SEQ ID NO: 2之胺基酸序列的重鏈CDR2，(iii) 包含SEQ ID NO: 3之胺基酸序列的重鏈CDR3，(iv) 包含SEQ ID NO: 4之胺基酸序列的輕鏈CDR1，(v) 包含SEQ ID NO: 5之胺基酸序列的輕鏈CDR2，(vi) 包含SEQ ID NO: 6之胺基酸序列的輕鏈CDR3；及(vii) 變異型人類Fc恆定區，所述變異型人類Fc恆定區結合人類新生兒Fc受體(FcRn)的親和力大於變異型人類Fc恆定區所來源之原生人類Fc恆定區。

【請求項14】一種醫藥組成物，其包含醫藥上可接受之載劑以及如請求項1之經分離的抗體。

【請求項15】一種治療性套組，其包含：(i) 如請求項1之經分離的抗體以及(ii) 用於遞送該經分離的抗體至人類之工具。

【請求項16】如請求項15之治療性套組，其中所述工具為注射器。

【請求項17】一種製品，其包含：

包含標籤的容器；及

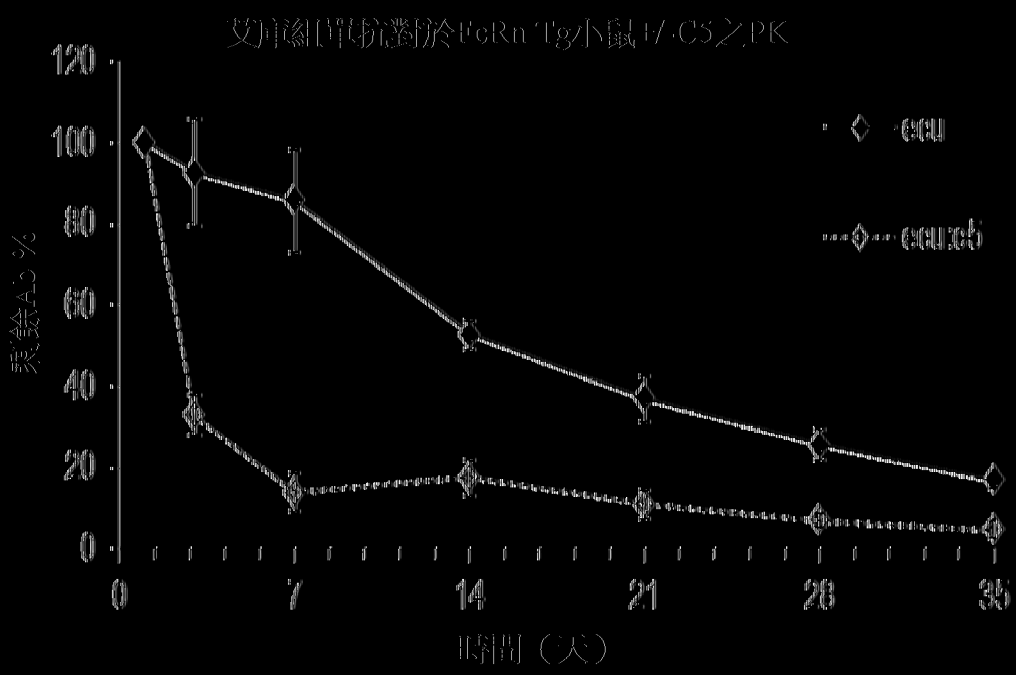
包含如請求項1之經分離的抗體之組成物，

其中該標籤指示該組成物欲投予至患有、懷疑患有或處於發展補體相關病狀之風險中的人類。

【請求項18】一種如請求項1之經分離的抗體之用途，其係用於製造醫藥品，該醫藥品係用於治療罹患補體相關病狀之患者。

【請求項19】一種如請求項14的醫藥組成物之用途，其係用於製造醫藥品，該醫藥品係用於治療罹患補體相關病狀之患者。

【請求項20】如請求項18之用途，其中所述補體相關病狀係選自由以下者組成之群：類風濕性關節炎、抗磷脂抗體症候群、狼瘡腎炎、局部缺血再灌注損傷、非典型性溶血性尿毒症候群、典型溶血性尿毒症候群、陣發性夜間血紅素尿症、緻密沈積物疾病、視神經脊髓炎、多灶性運動神經病變、多發性硬化、黃斑變性、HELLP症候群、自發性流產、血栓性血小板減少性紫癍症、少免疫性血管炎（*Pauci-immune vasculitis*）、水疱性表皮鬆解、復發性流產、創傷性腦損傷、心肌炎、腦血管病症、周邊血管病症、腎血管病症、腸系膜/腸血管病症、血管炎、亨諾-施恩萊茵氏紫癍病腎炎（*Henoch-Schönlein purpura nephritis*）、全身性紅斑狼瘡相關性血管炎、類風濕性關節炎相關性血管炎、免疫複合物血管炎、高安氏疾病（*Takayasu's disease*）、擴張型心肌症、糖尿病性血管病變、川崎氏疾病（*Kawasaki's disease*）、靜脈氣體血栓、支架置入術後之再狹窄、旋轉性斑塊切除術（*rotational atherectomy*）、經皮經管腔冠狀血管成形術、重症肌無力、冷凝集素病、皮肌炎、陣發性冷血紅素尿症、抗磷脂症候群、格雷夫氏疾病（*Graves' disease*）、動脈粥樣硬化、阿茲海默氏病（*Alzheimer's disease*）、全身性發炎反應敗血症、敗血性休克、脊髓損傷、絲球體腎炎、移植排斥、橋本氏甲狀腺炎（*Hashimoto's thyroiditis*）、I型糖尿病、牛皮癬、天疱瘡、自體免疫性溶血性貧血、特發性血小板減少性紫癍、古巴士德氏症候群（*Goodpasture's syndrome*）、德戈斯疾病（*Degos disease*）及嚴重（*catastrophic*）抗磷脂症候群。



|圖1|

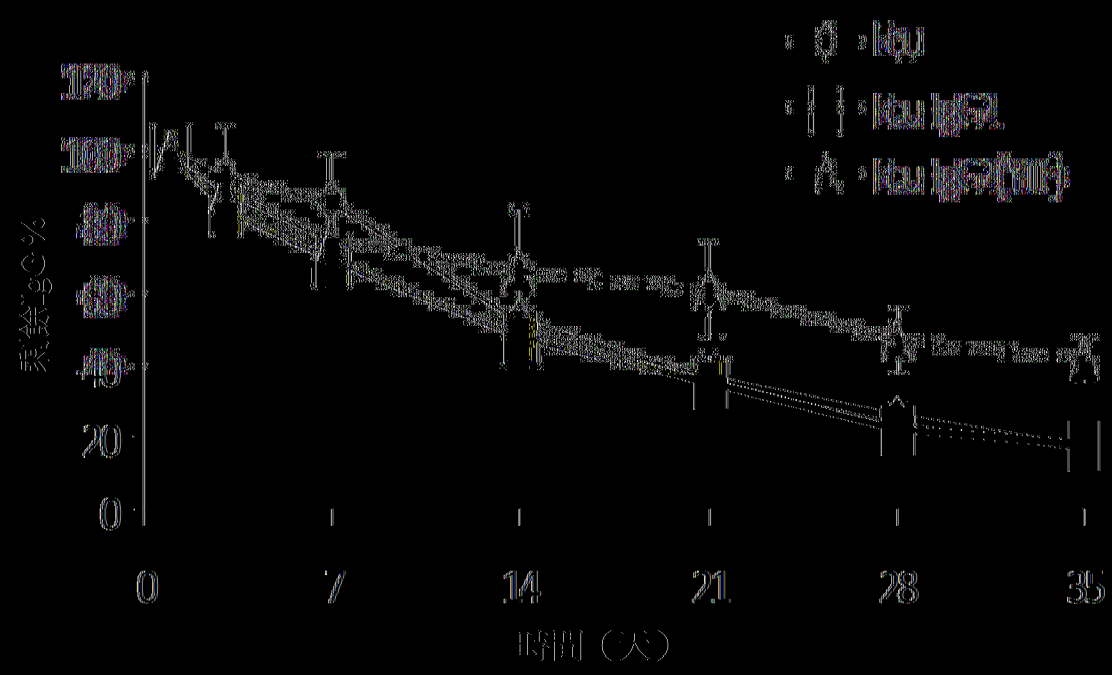


圖2

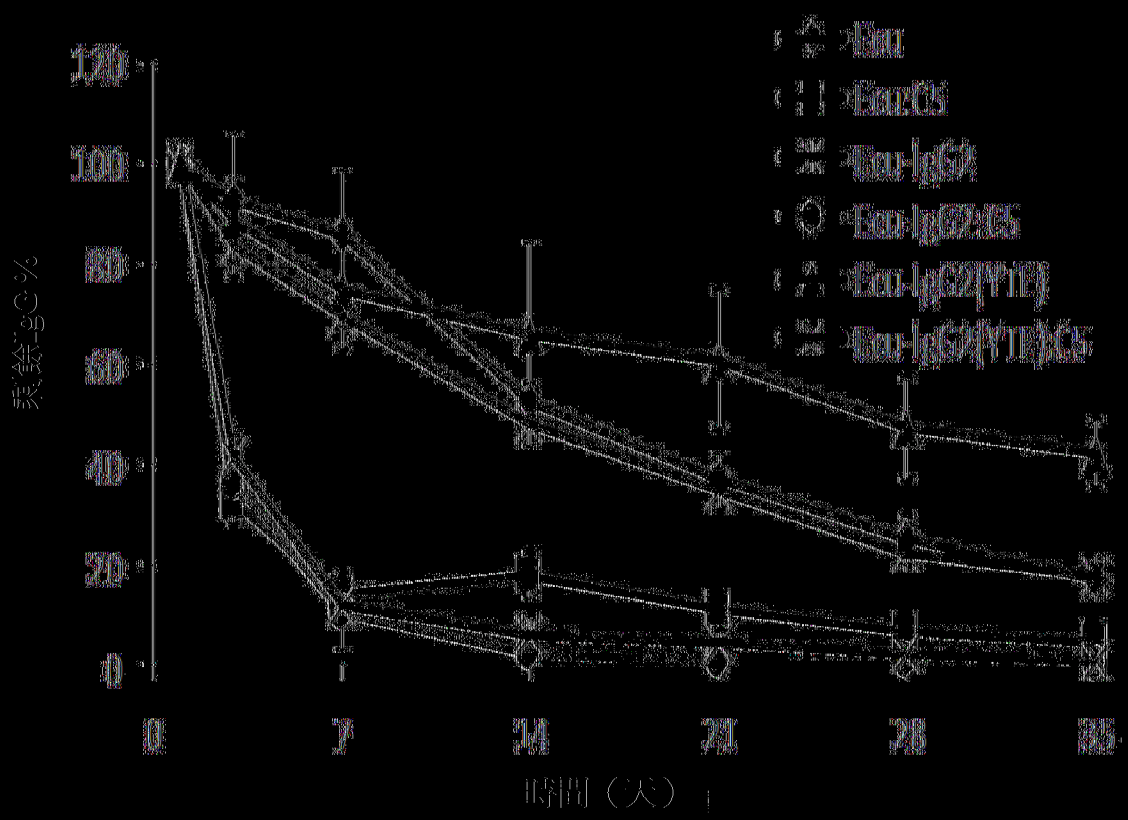


圖3

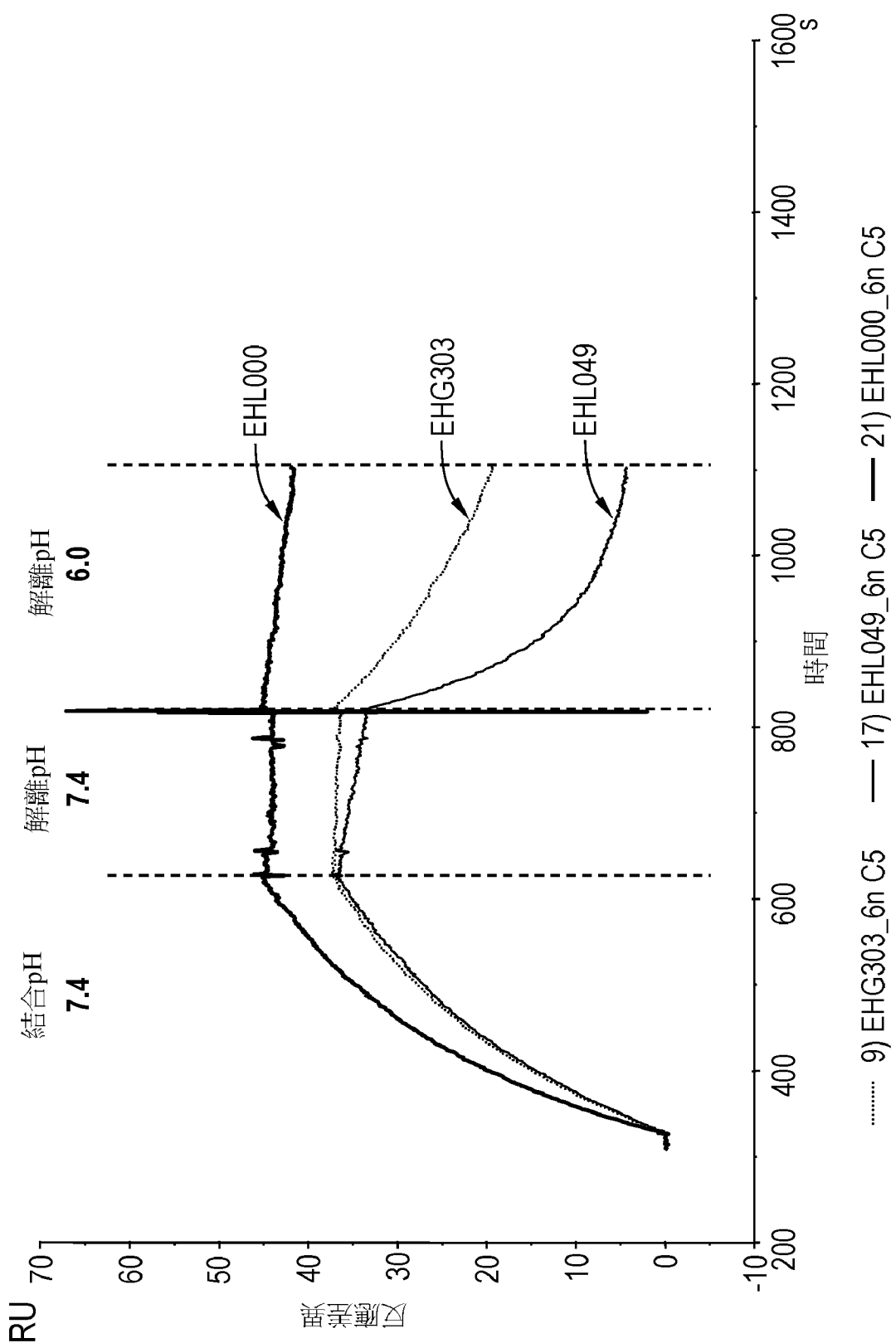


圖4

Y27H-S57H (EHG303) 在pH 7.4及pH 6.0之解離

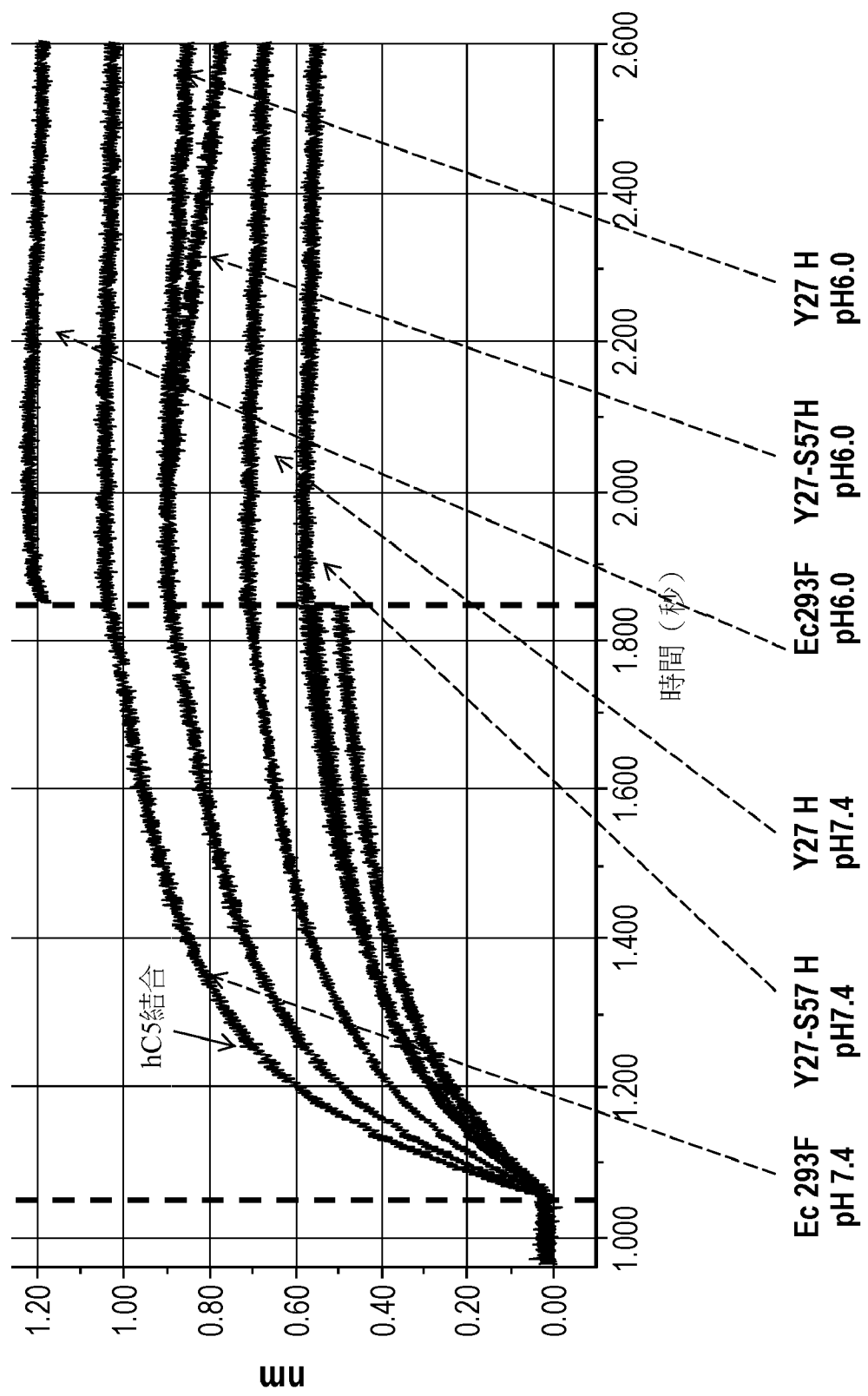


圖5A

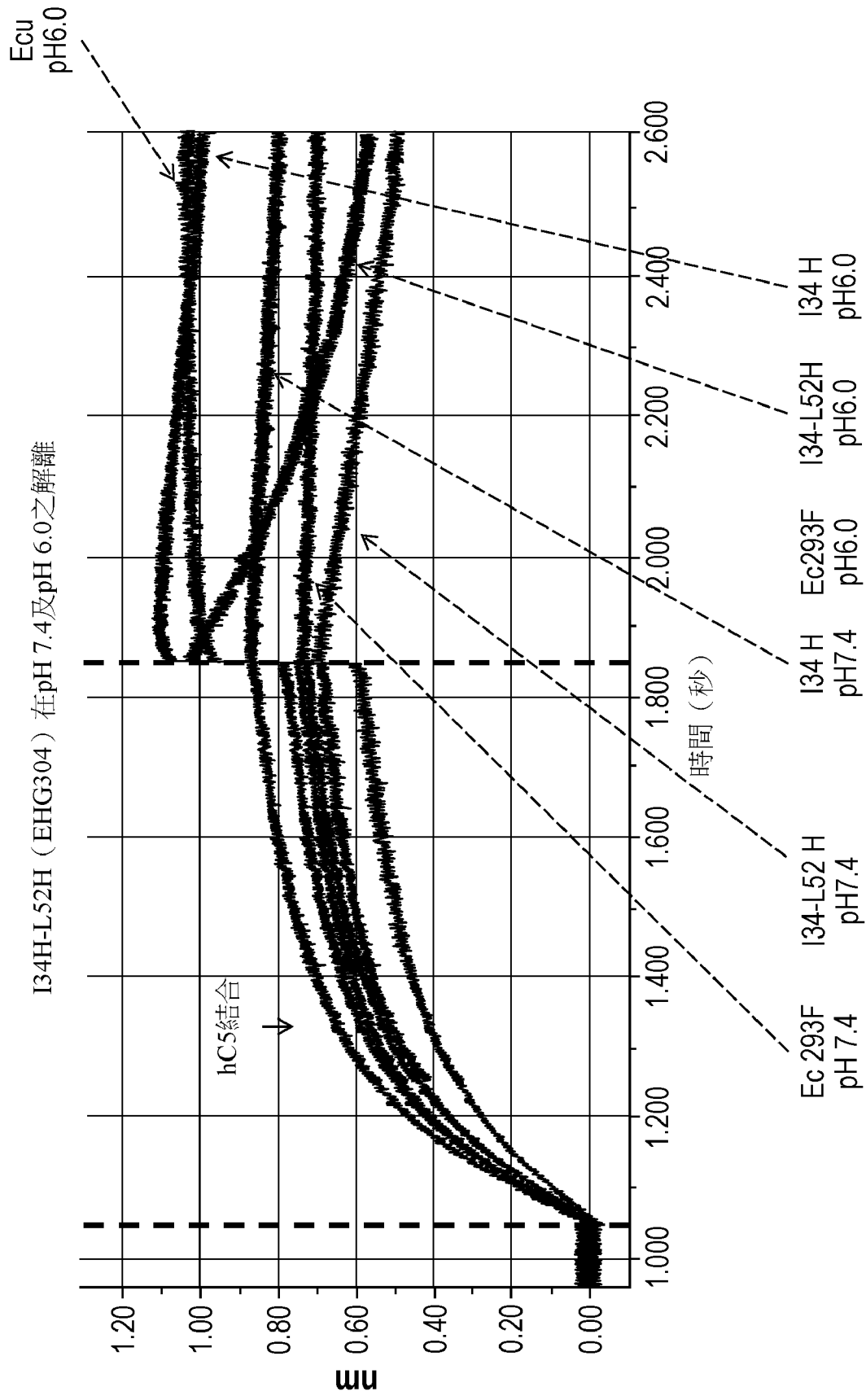


圖5B

Y27H-S57H (EHG303) 在pH 7.4及pH 6.0之解離

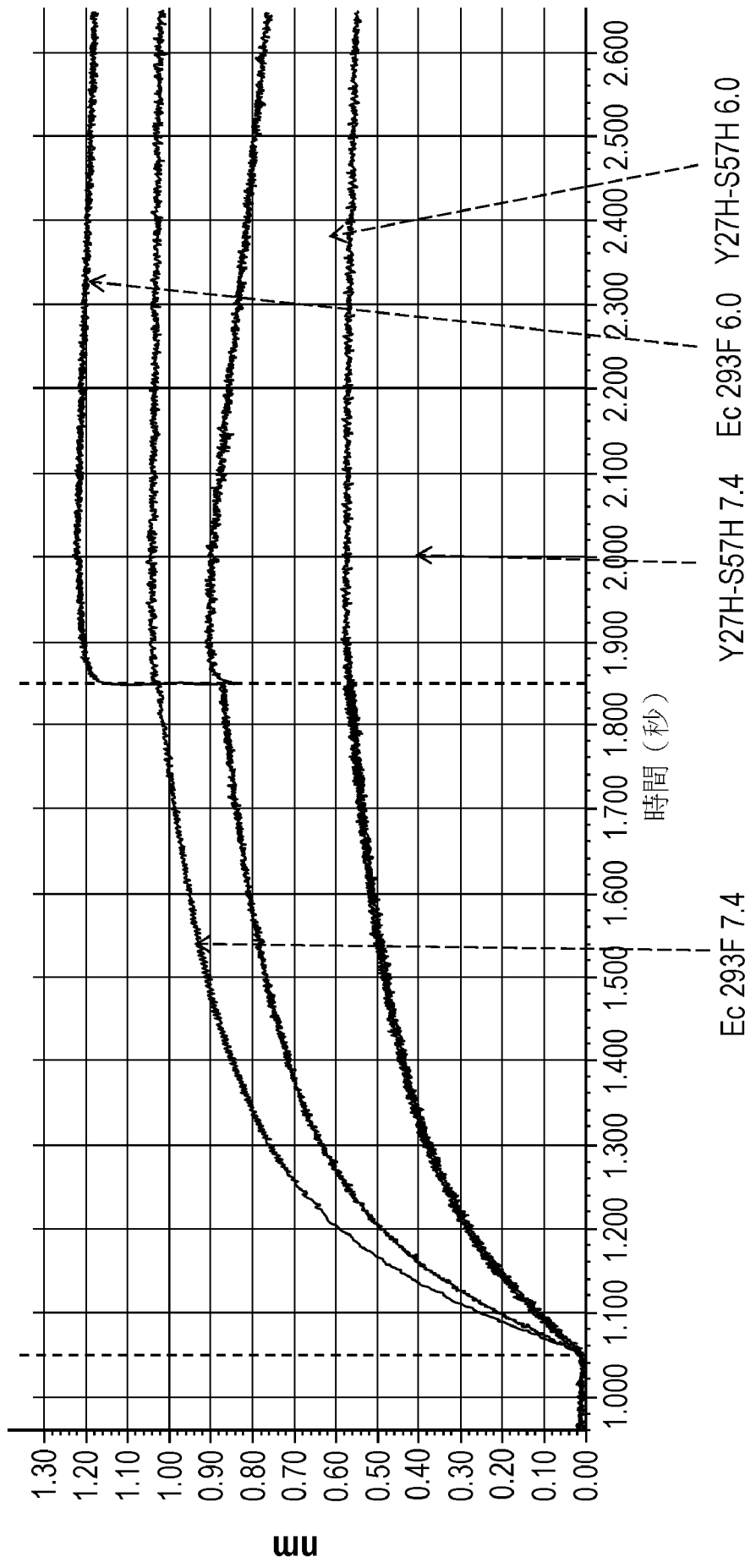


圖5C



G31H-L52H-S57H (EHL058) 在pH 7.4及pH 6.0之解離

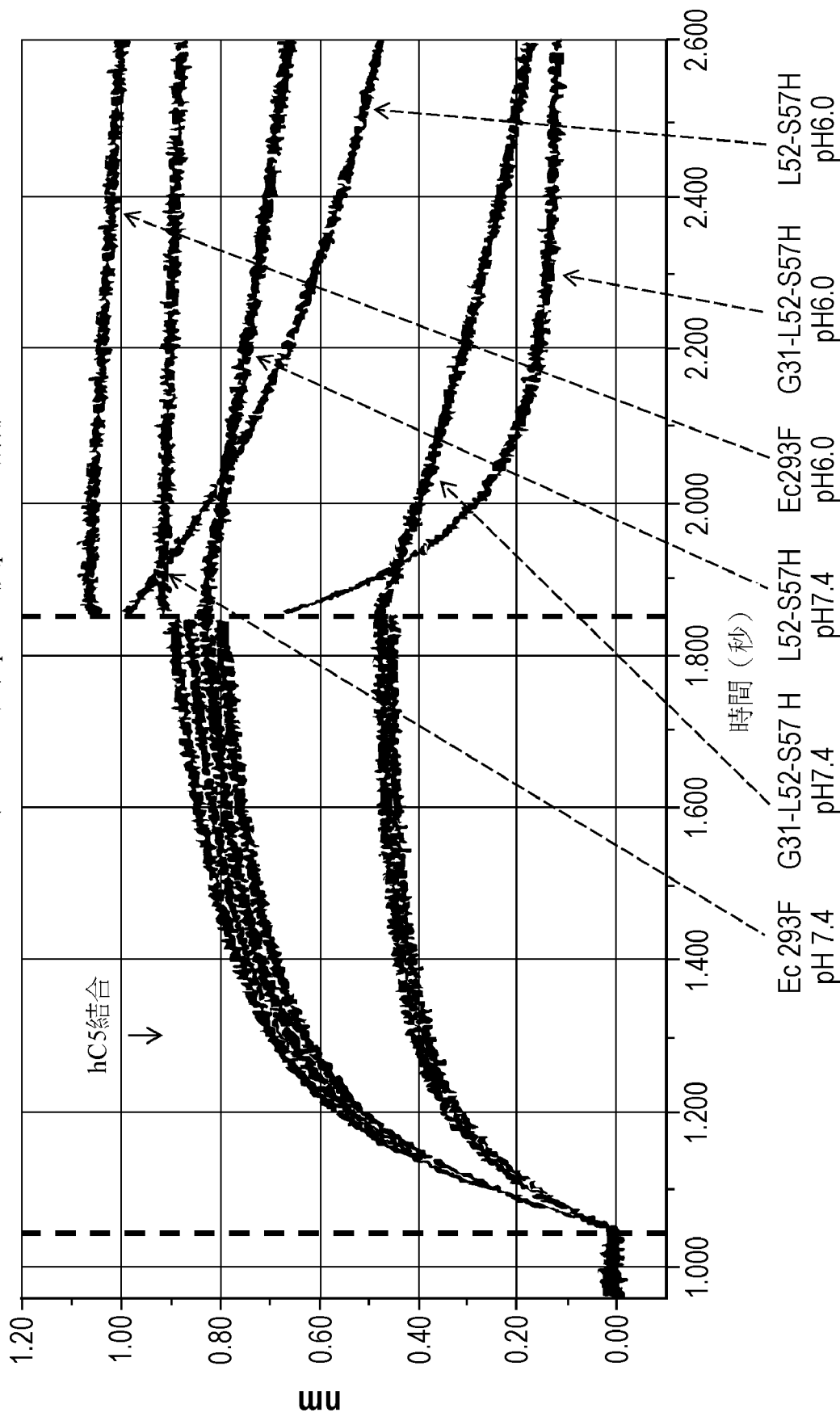


圖5E

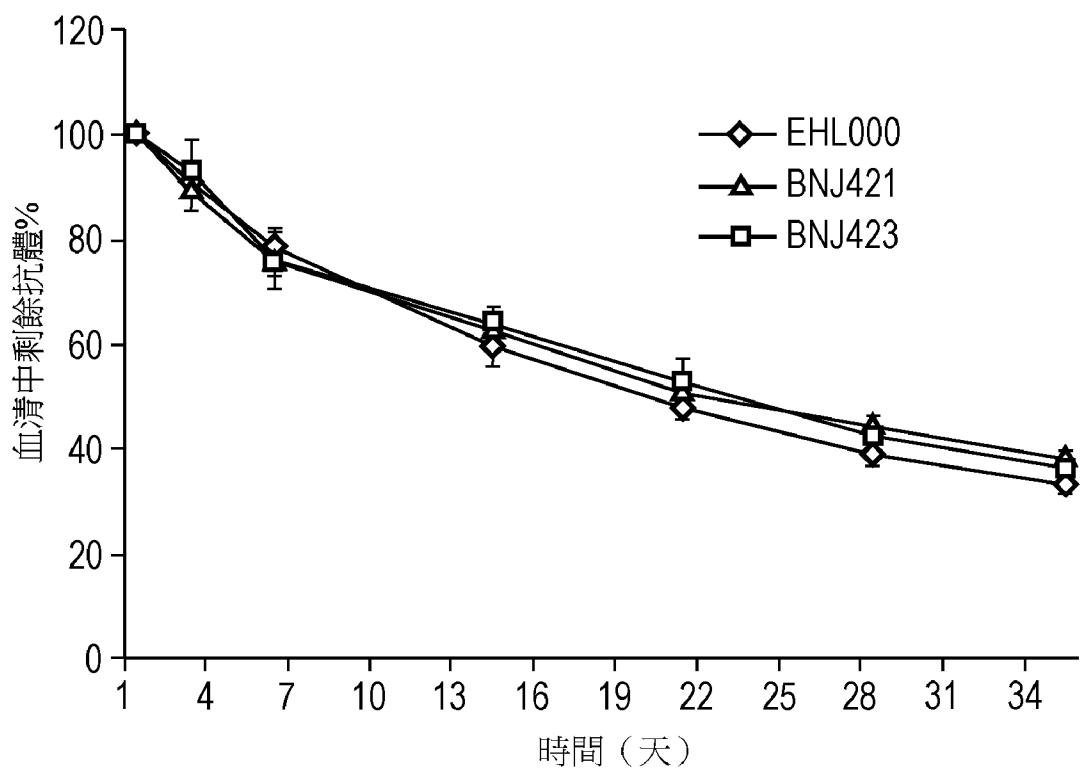


圖6

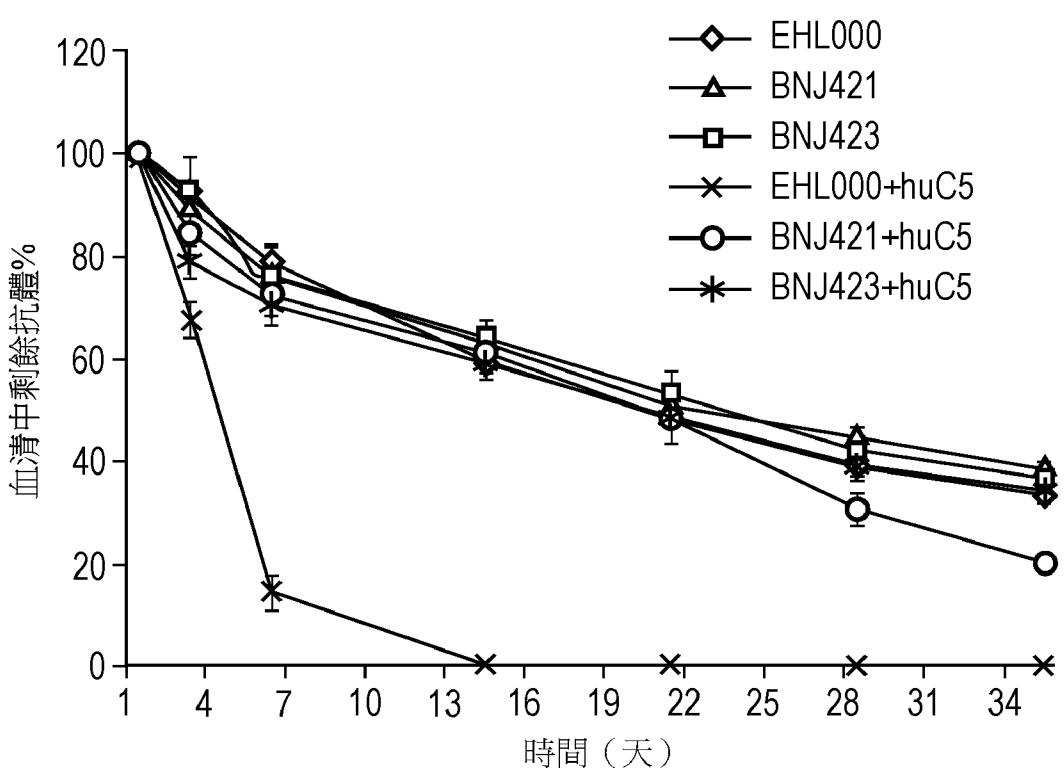


圖7

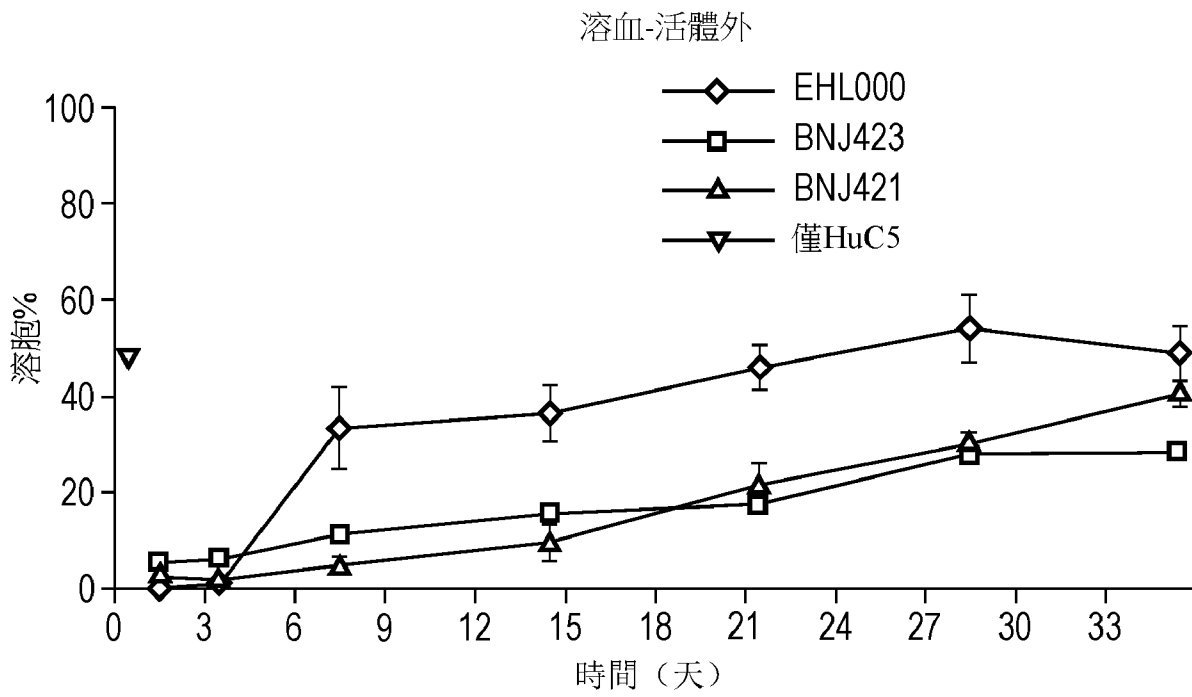


圖8

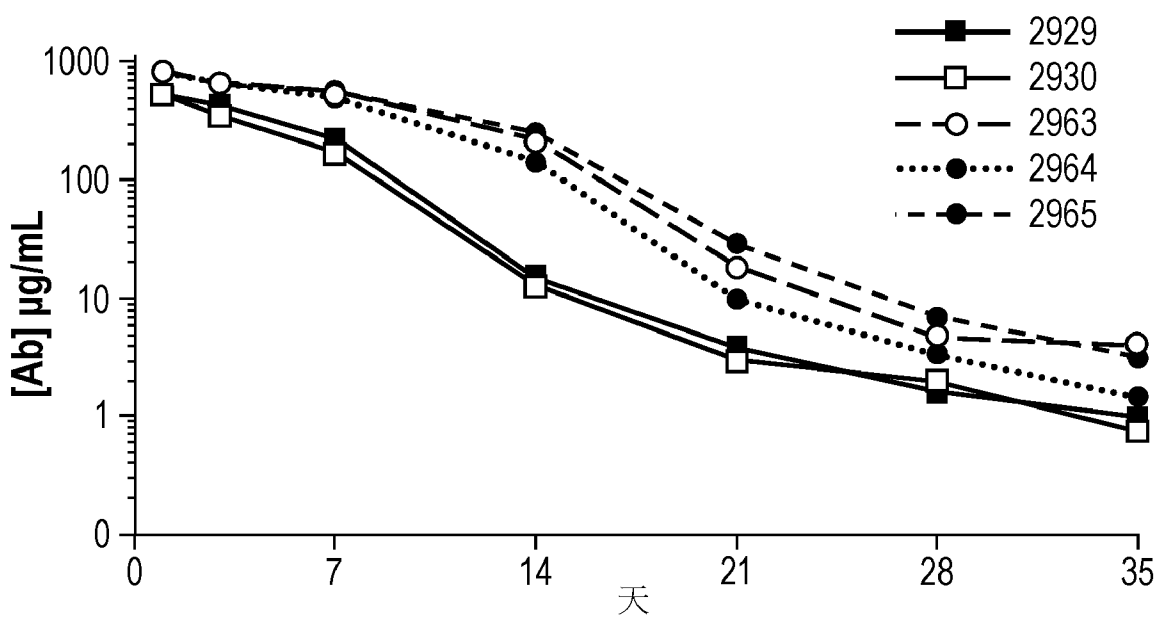


圖9A

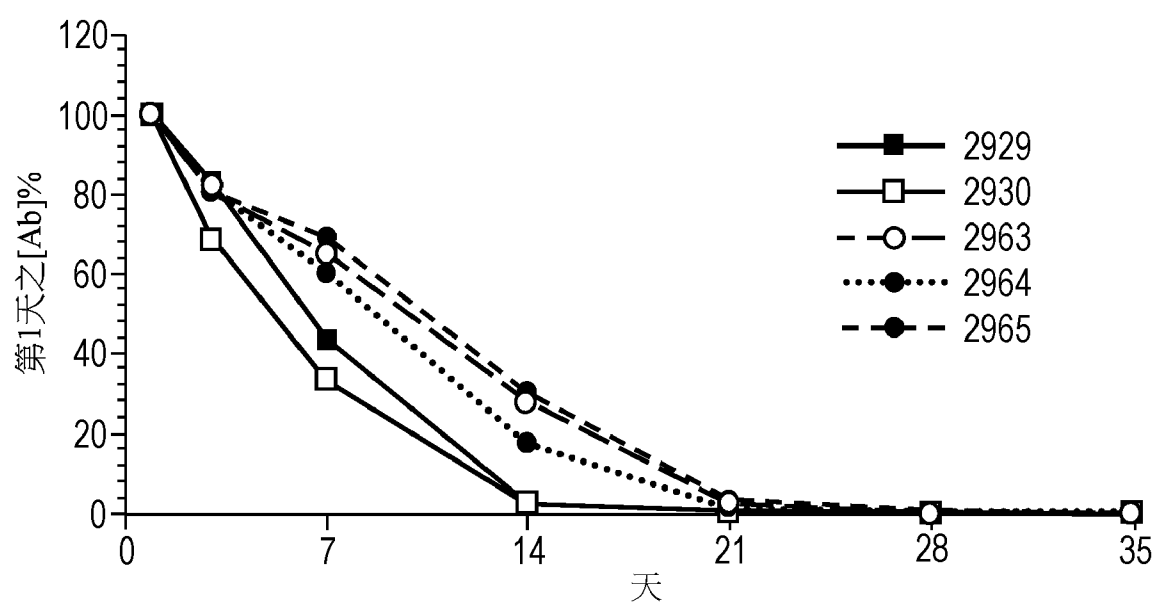


圖9B

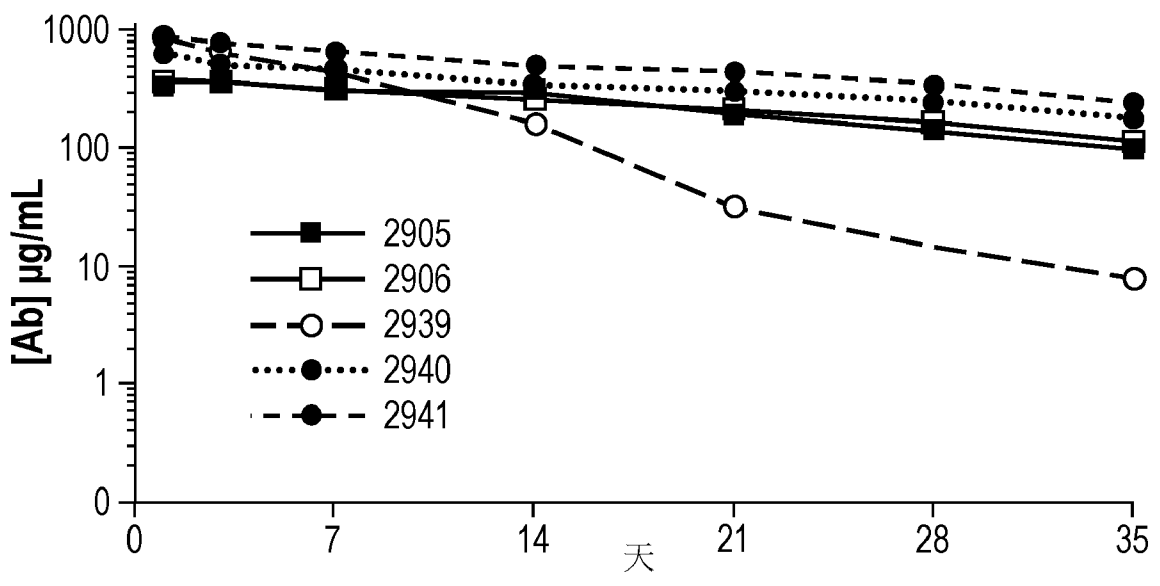


圖10A

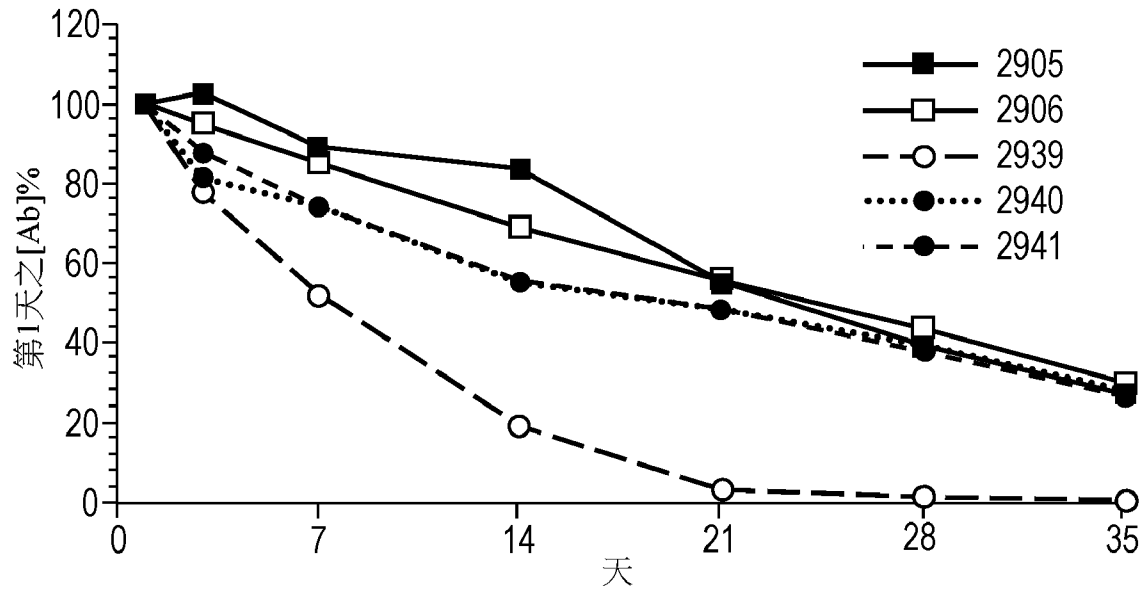


圖10B

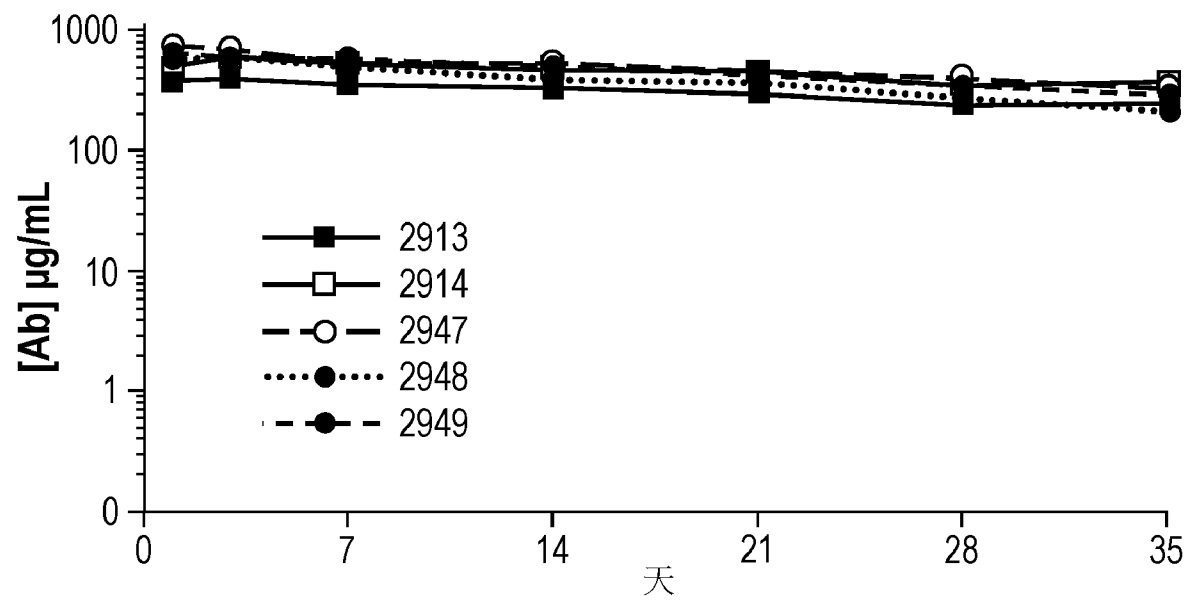


圖11A

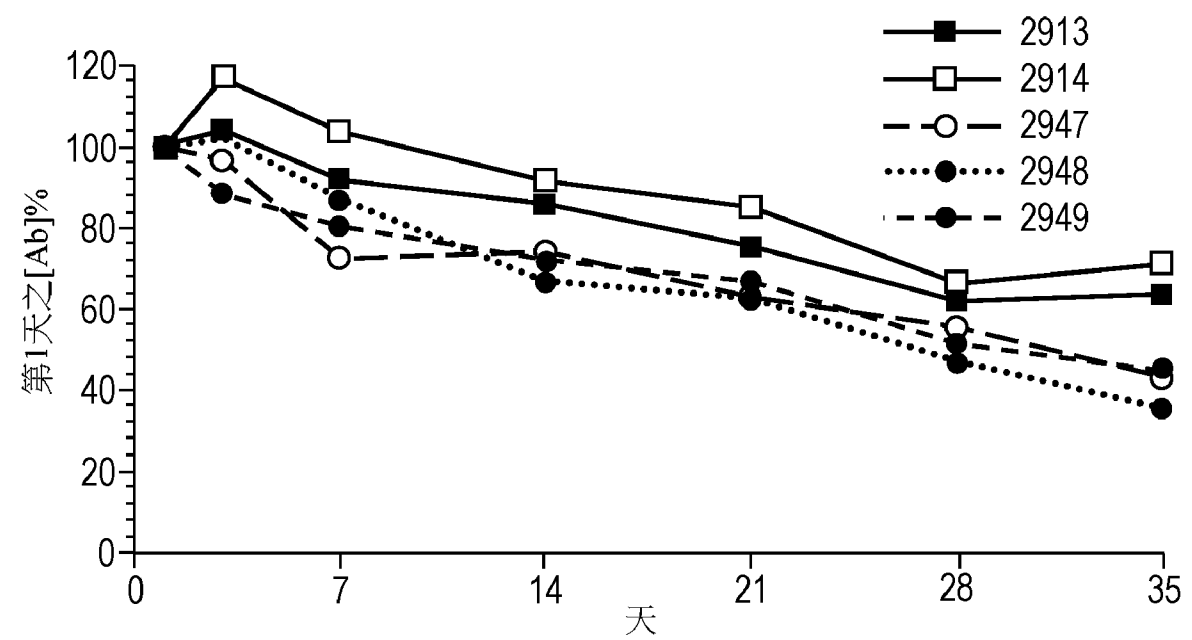


圖11B

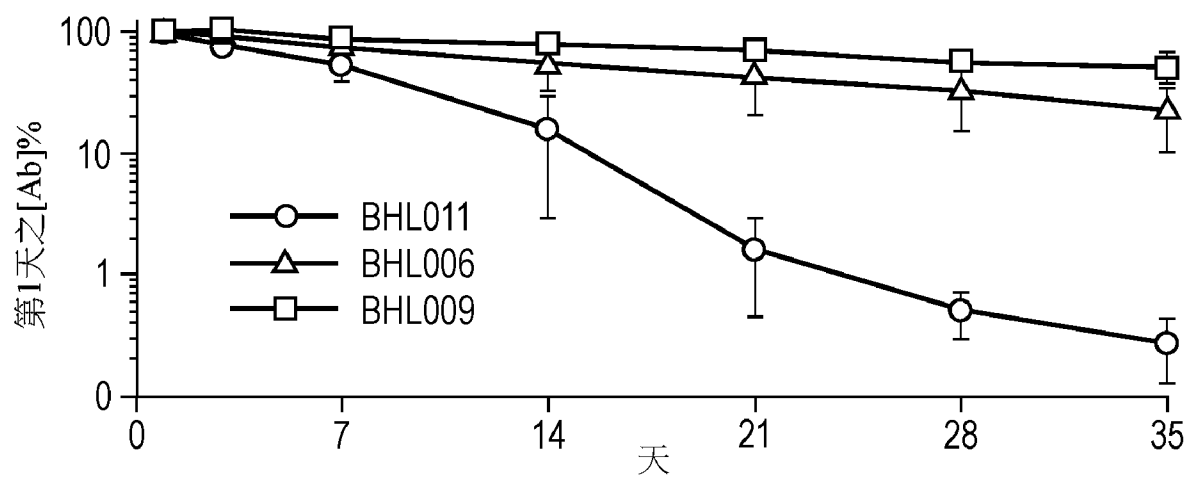


圖12

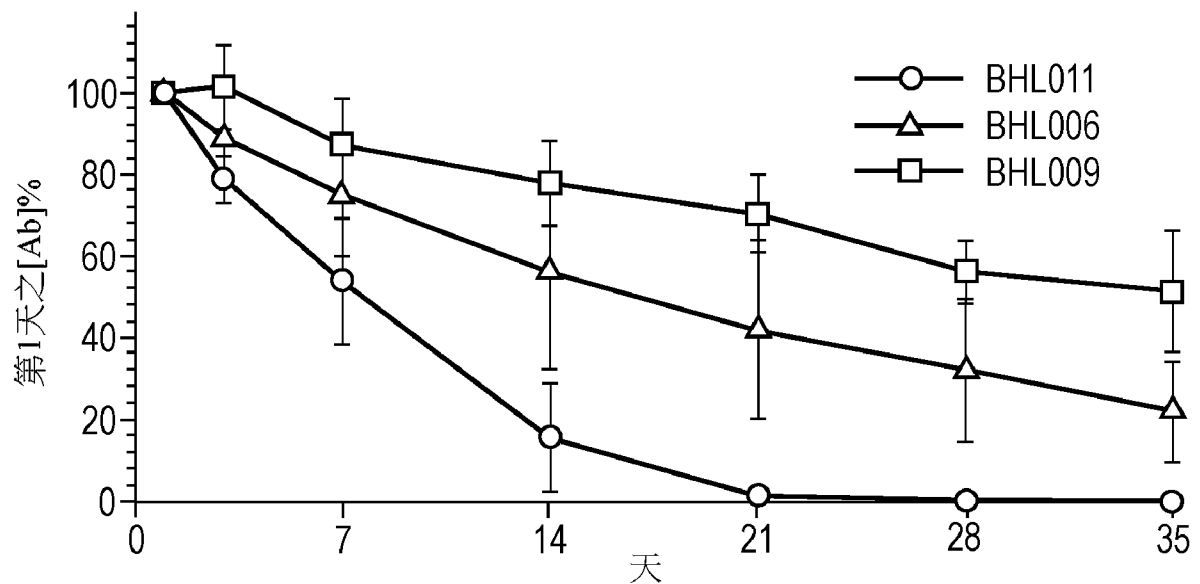


圖13

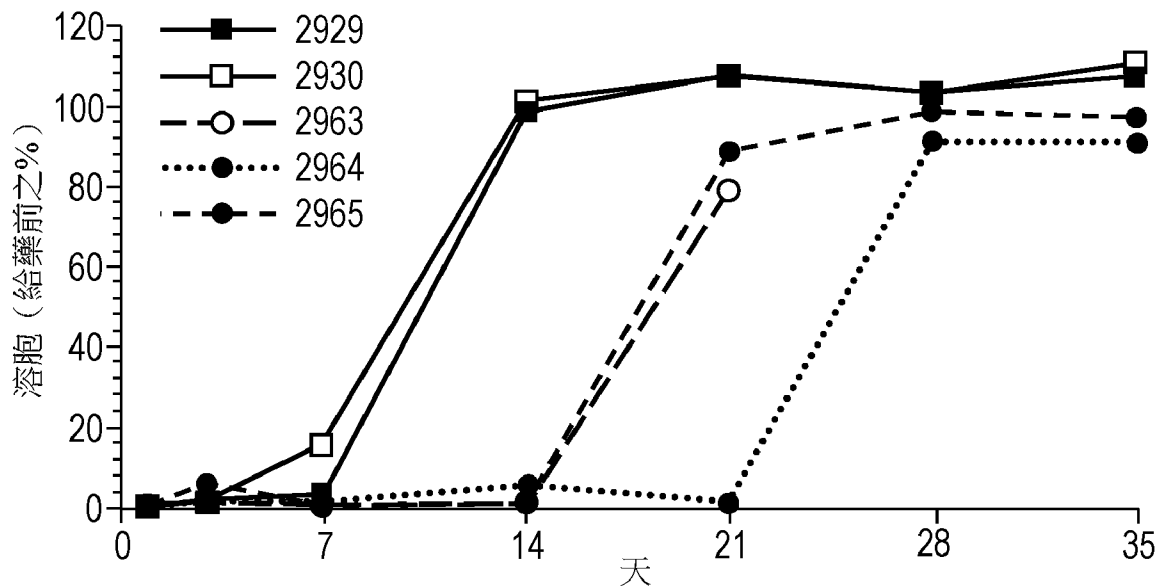


圖14

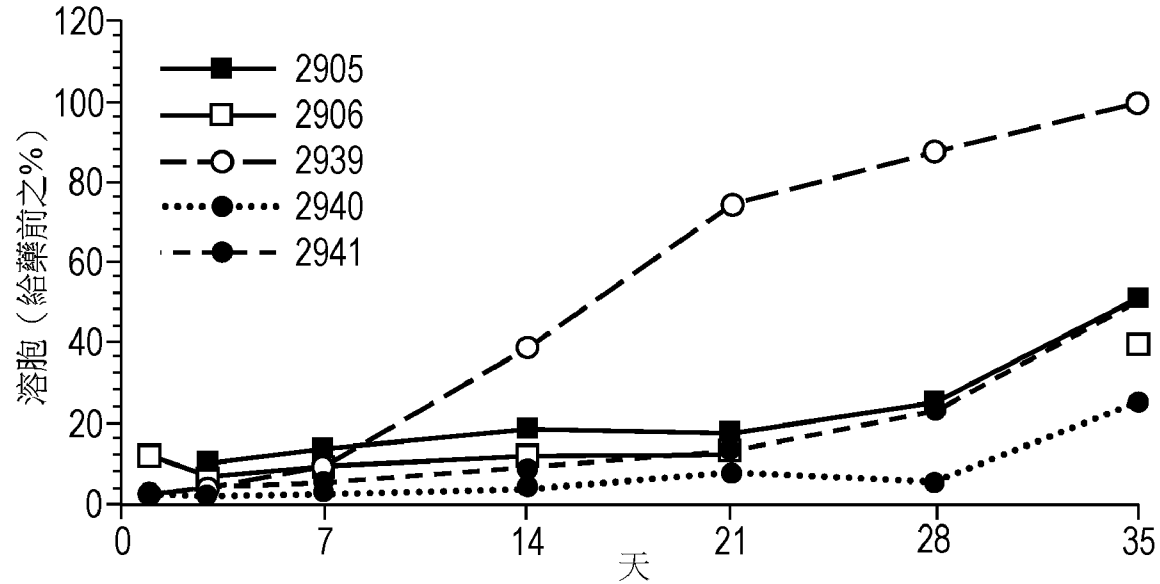


圖15

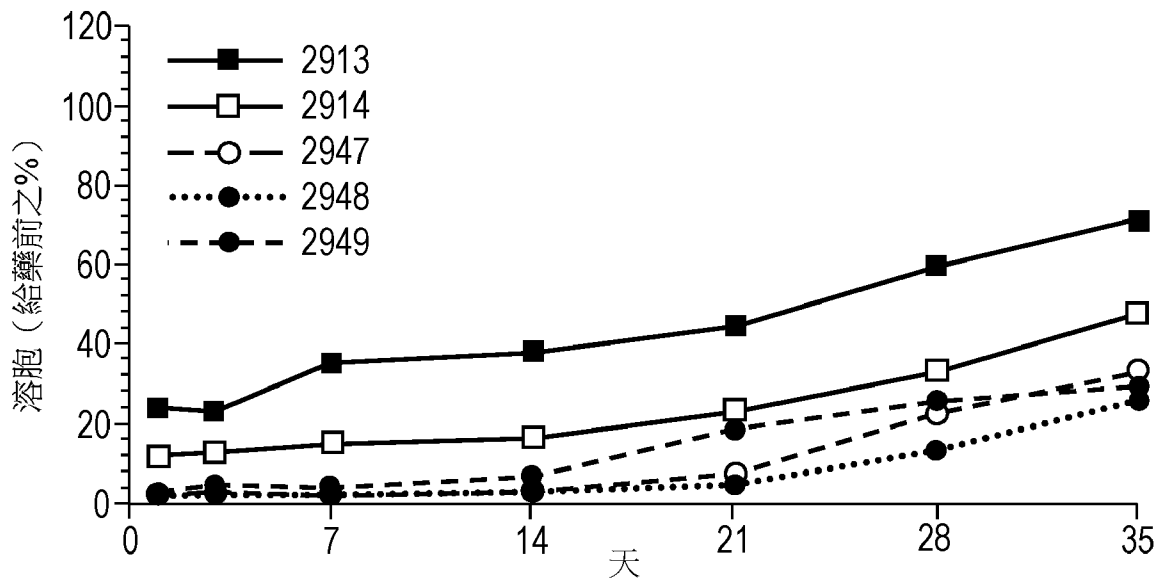


圖16

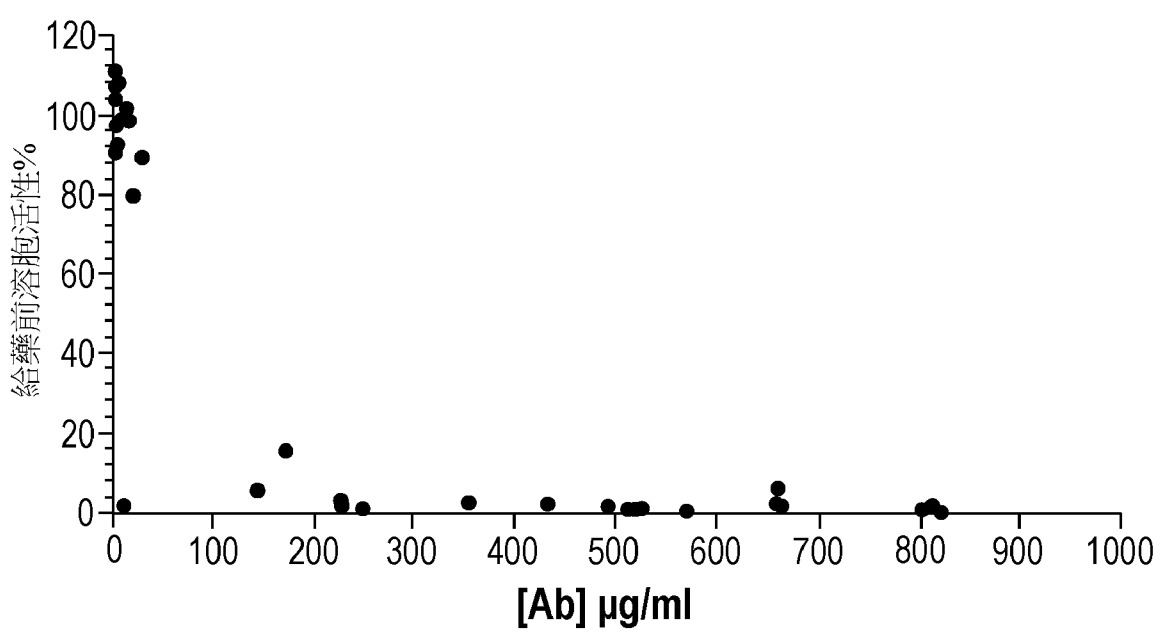


圖17

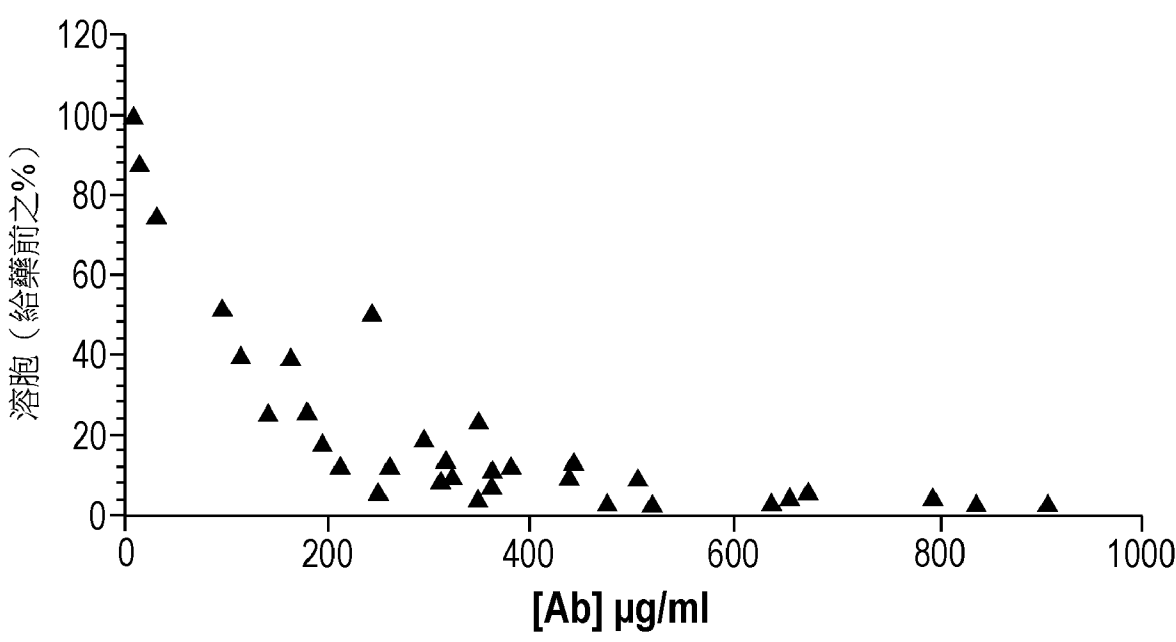


圖18

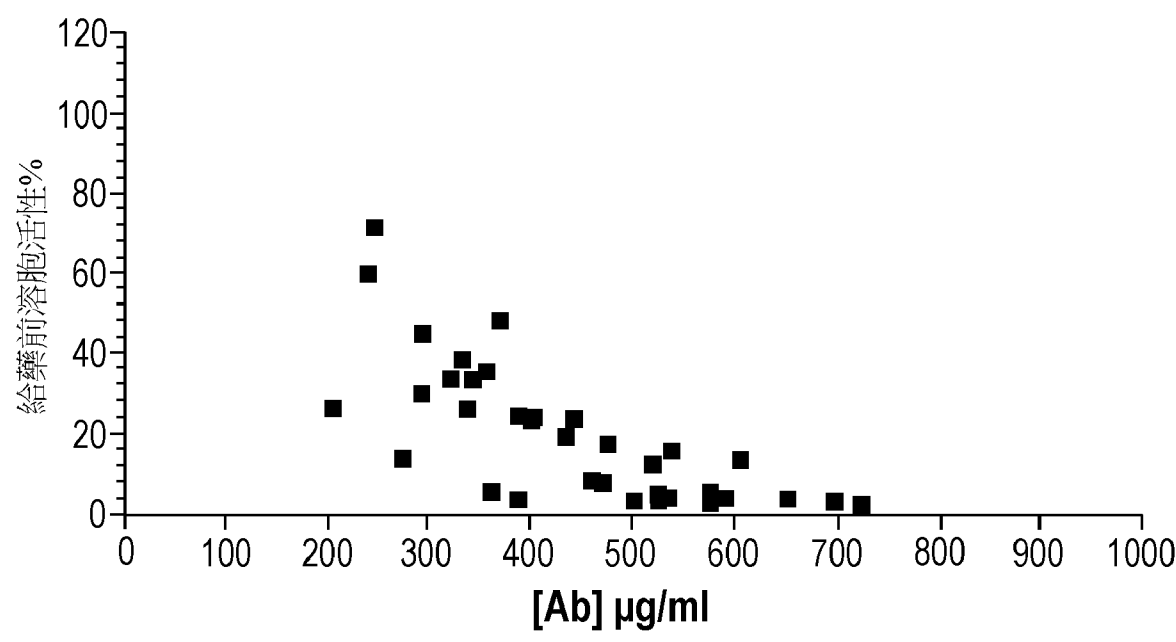


圖19

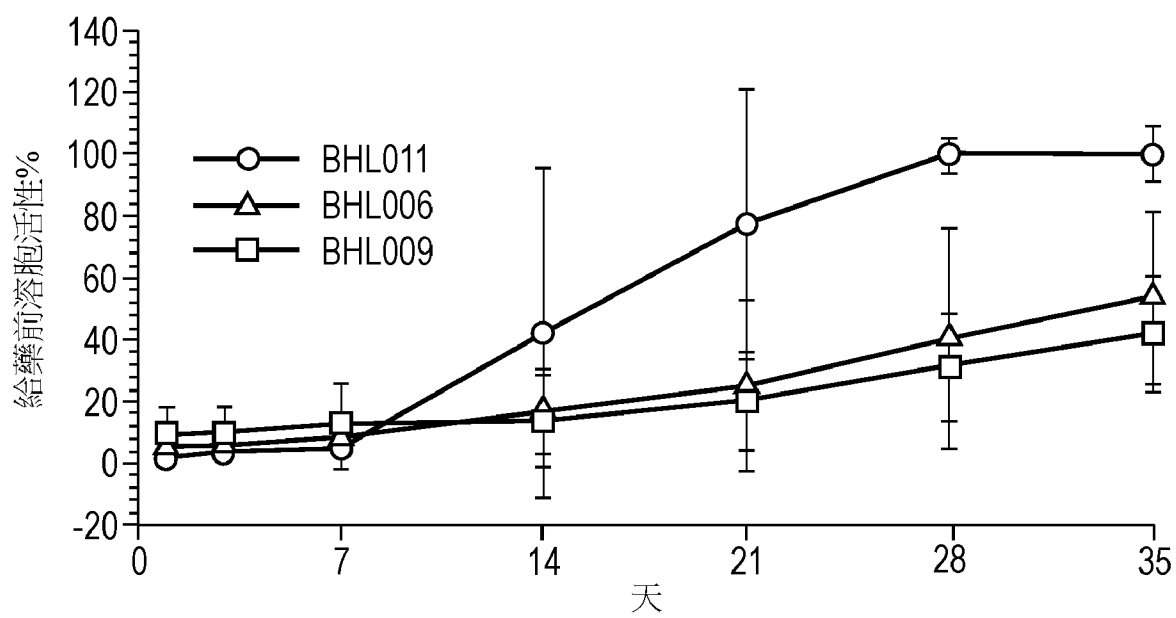


圖20

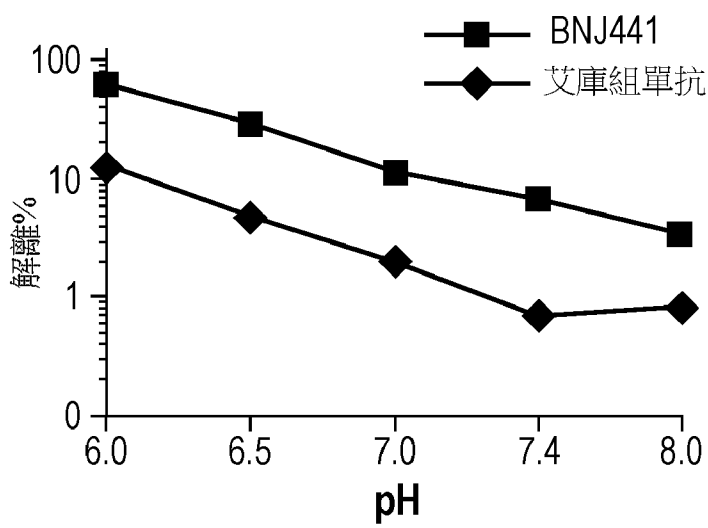


圖21A

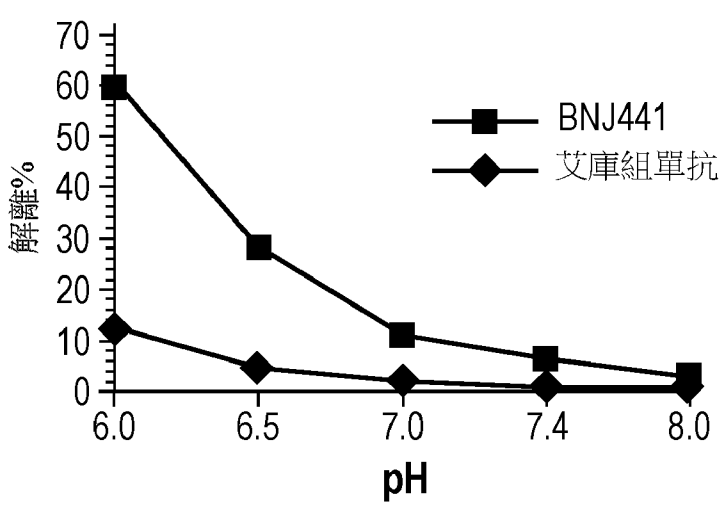


圖21B

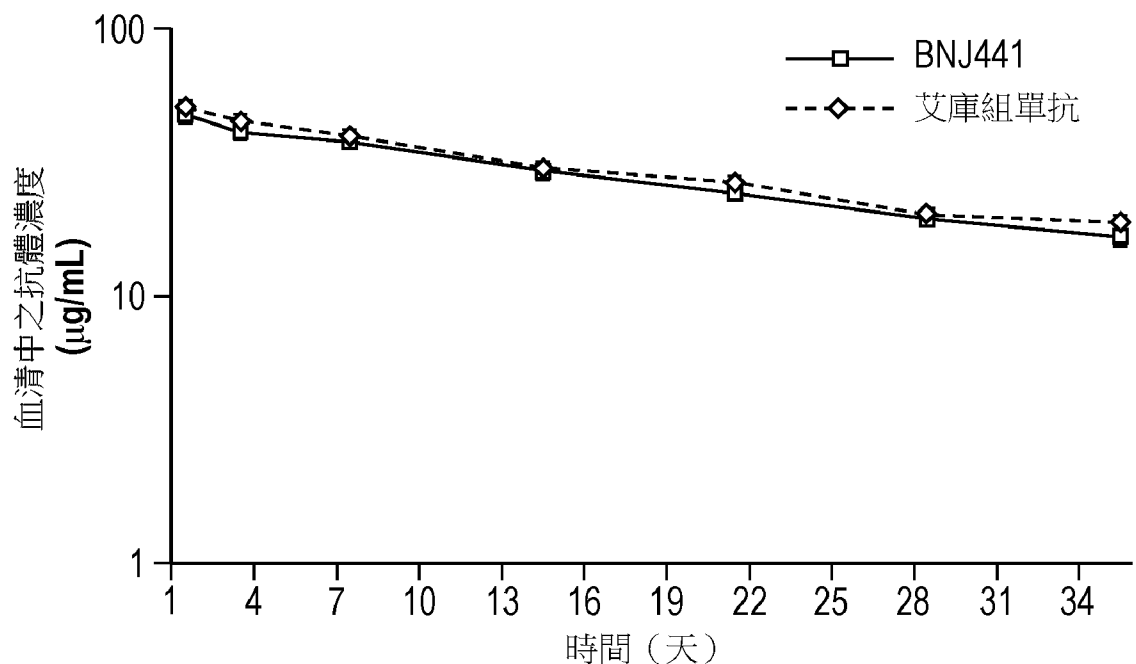


圖22

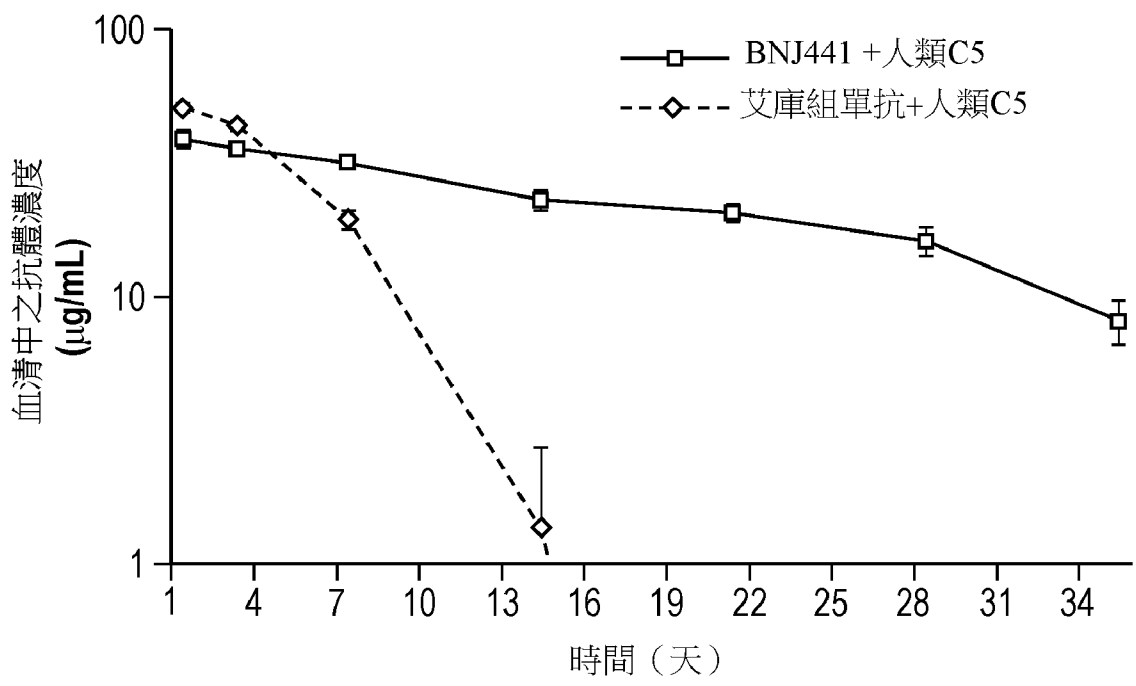


圖23

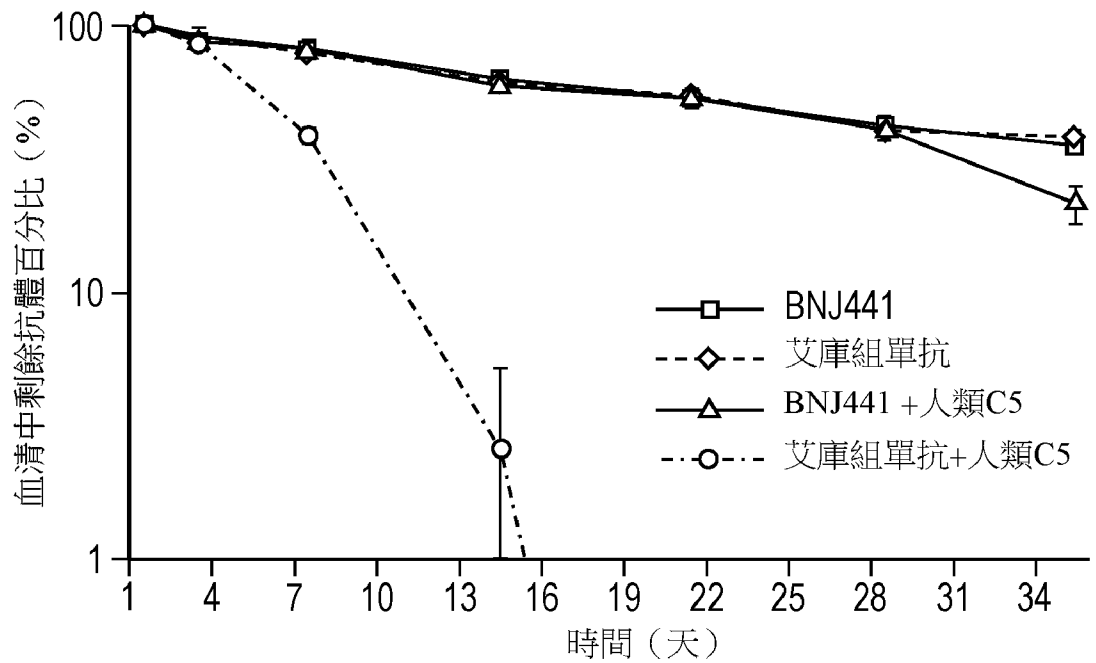


圖24

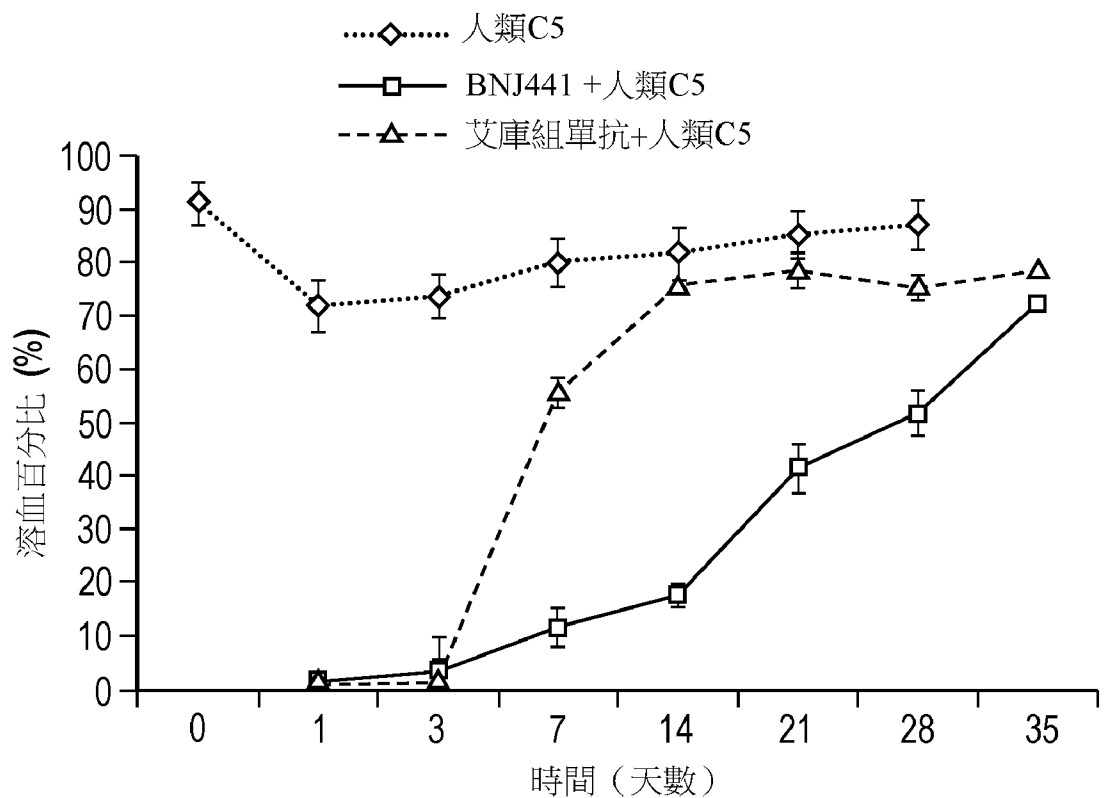


圖25

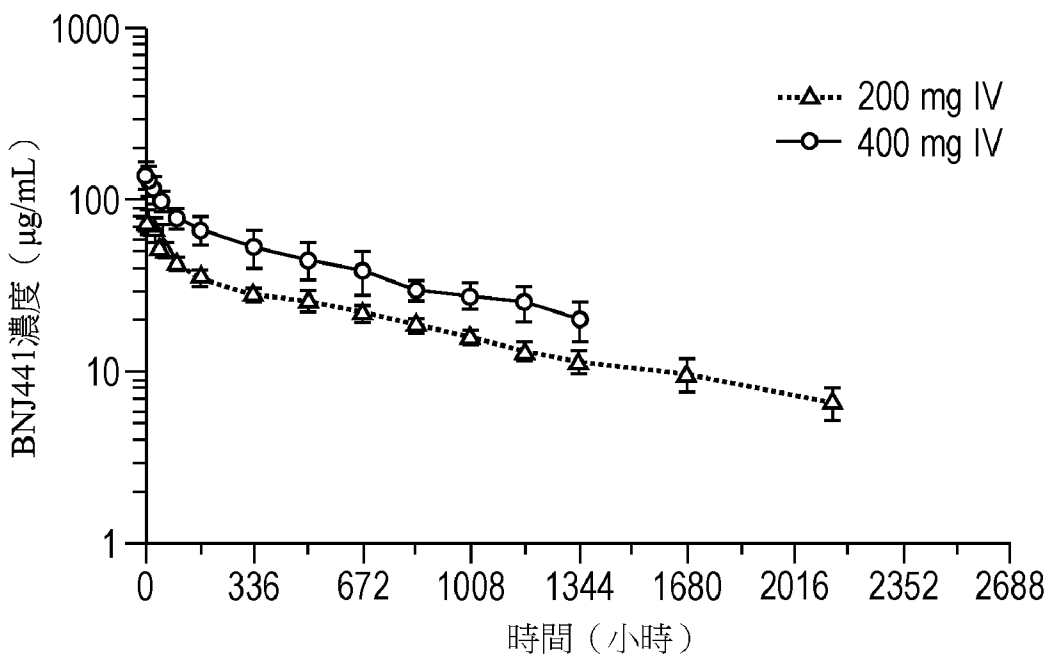
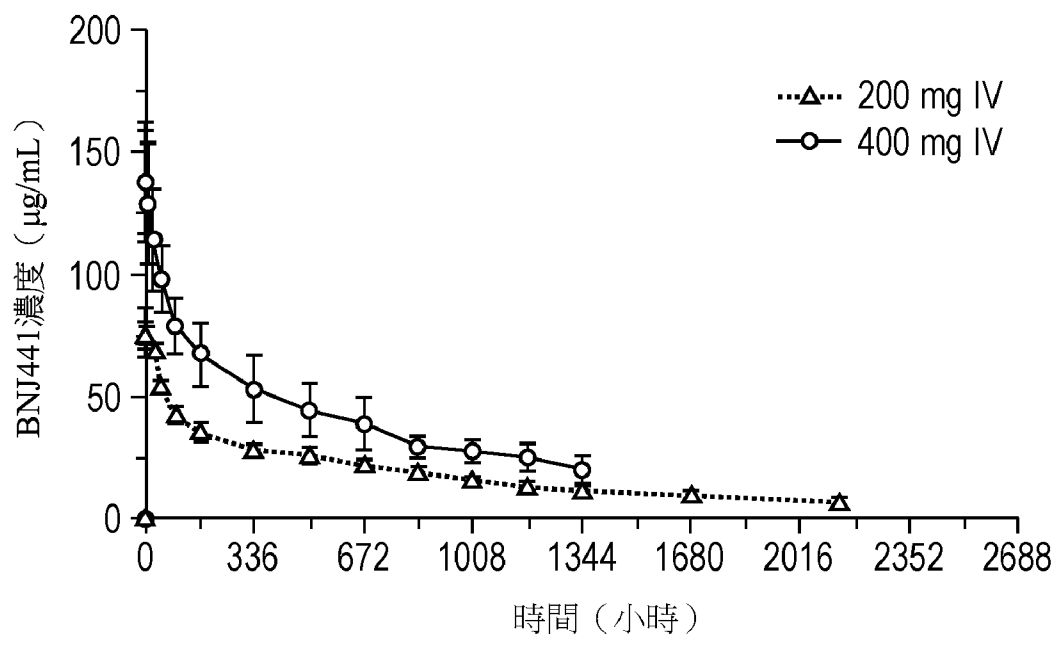


圖26

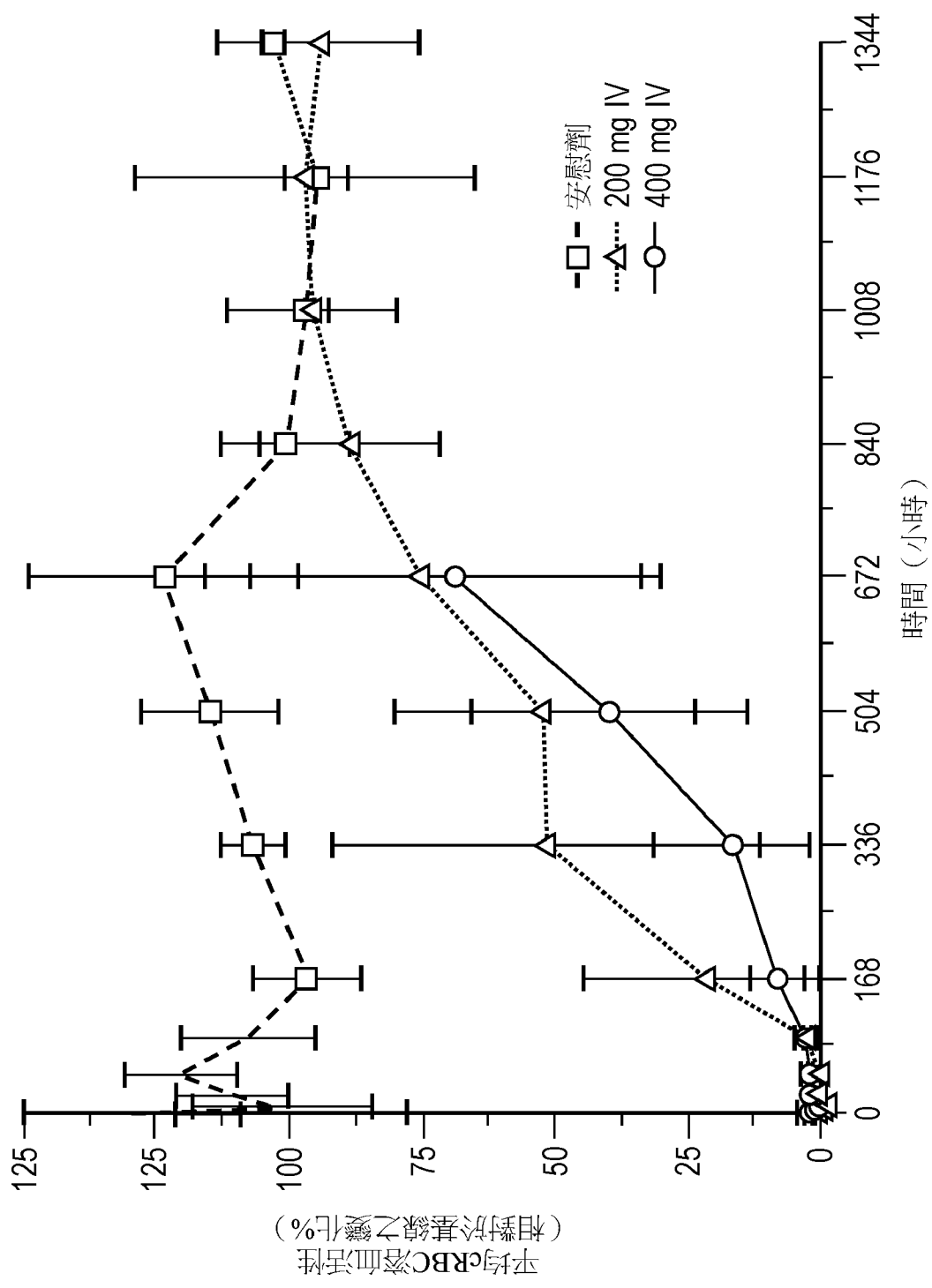


圖27

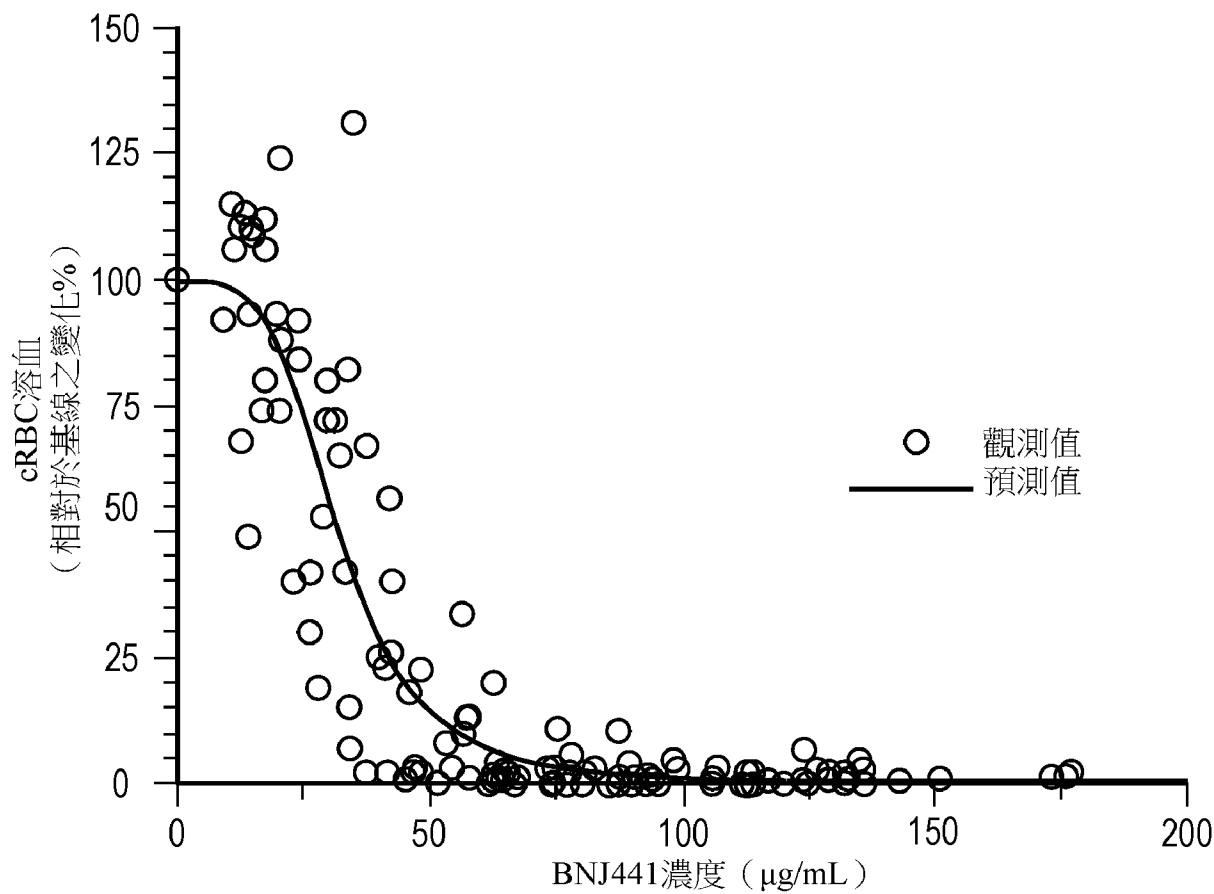


圖28

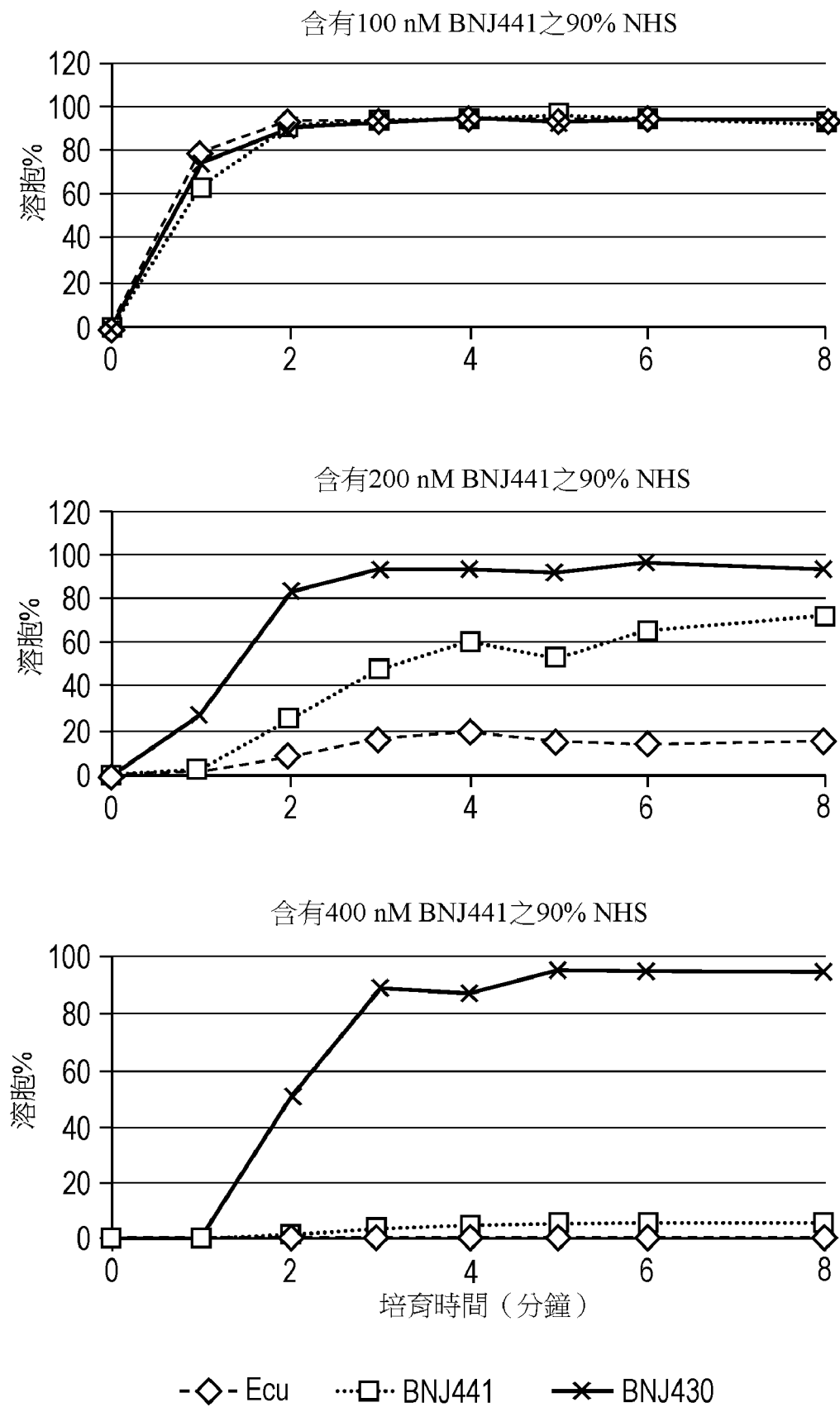


圖29