



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 201542227 A

(43)公開日：中華民國 104 (2015) 年 11 月 16 日

(21)申請案號：104111463

(22)申請日：中華民國 104 (2015) 年 04 月 09 日

(51)Int. Cl. : *A61K39/395 (2006.01)*

C07K16/24 (2006.01)

G01N33/50 (2006.01)

A61P11/06 (2006.01)

(30)優先權：2014/04/11 美國

61/978,604

(71)申請人：諾華公司 (瑞士) NOVARTIS AG (CH)

瑞士

(72)發明人：羅特 麥克 ROTTE, MICHAEL (DE)；勒維茲奇 史蒂芬 LEWITZKY, STEVEN (US)；達馬斯克 愛咪 DAMASK, AMY (US)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：39 項 圖式數：4 共 104 頁

(54)名稱

利用 IL-13 拮抗劑選擇性治療氣喘之方法

METHODS OF SELECTIVELY TREATING ASTHMA USING IL-13 ANTAGONISTS

(57)摘要

本發明係關於用於治療氣喘之新穎預測性方法及個人化療法。具體而言，本發明係關於藉由選擇性投與 IL-13 拮抗劑治療患有氣喘之患者的方法，此係基於該患者在遺傳上對以 IL-13 拮抗劑之治療傾向於具有有利地響應。本文中亦揭示用於預測患有氣喘之患者將響應對以 IL-13 拮抗劑之治療之可能性的可傳輸形式之資訊、診斷方法及套組。

The disclosure is directed to novel predictive methods and personalized therapies for treating asthma. Specifically, this disclosure relates to methods of treating a patient having asthma by selectively administering an IL-13 antagonist, on the basis of that patient being genetically predisposed to have a favorable response to treatment with the IL-13 antagonist. Also disclosed herein are transmittable forms of information, diagnostic methods, and kits useful in predicting the likelihood that a patient having asthma will respond to treatment with an IL-13 antagonist.

取代分析：
針對所有 20 種標準胺基酸置換來自序列 MLSGFCPHKVSA 之每一殘基

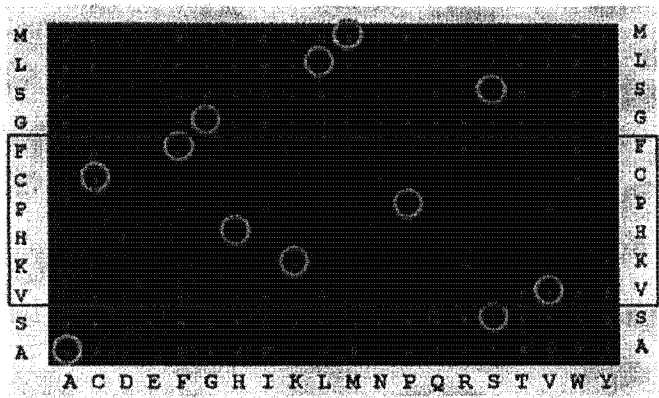


圖 1

發明摘要

※ 申請案號：104111463

※ 申請日：104.4.9

※IPC 分類：

A61K 39/395 (2016.01)

C07K 16/24 (2016.01)

G01N 33/50 (2016.01)

A61P 11/06 (2016.01)

【發明名稱】

利用IL-13拮抗劑選擇性治療氣喘之方法

METHODS OF SELECTIVELY TREATING ASTHMA USING IL-13 ANTAGONISTS

【中文】

本發明係關於用於治療氣喘之新穎預測性方法及個人化療法。具體而言，本發明係關於藉由選擇性投與IL-13拮抗劑治療患有氣喘之患者的方法，此係基於該患者在遺傳上對以IL-13拮抗劑之治療傾向於具有有利地響應。本文中亦揭示用於預測患有氣喘之患者將響應對以IL-13拮抗劑之治療之可能性的可傳輸形式之資訊、診斷方法及套組。

【英文】

The disclosure is directed to novel predictive methods and personalized therapies for treating asthma. Specifically, this disclosure relates to methods of treating a patient having asthma by selectively administering an IL-13 antagonist, on the basis of that patient being genetically predisposed to have a favorable response to treatment with the IL-13 antagonist. Also disclosed herein are transmittable forms of information, diagnostic methods, and kits useful in predicting the likelihood that a patient having asthma will respond to treatment with an IL-13 antagonist.

【代表圖】

【本案指定代表圖】：第（1）圖。

【本代表圖之符號簡單說明】：

無

【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：

無

發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動)

【發明名稱】

利用IL-13拮抗劑選擇性治療氣喘之方法

METHODS OF SELECTIVELY TREATING ASTHMA USING IL-13 ANTAGONISTS

序列表

本申請案含有以ASCII格式電子提交之序列表且其以引用方式全文併入本文中。該ASCII拷貝於2015年3月19日創建，命名為PAT056217-WO-PCT_SL.txt，且大小為40,804個位元組。

【技術領域】

本發明係關於預測性方法、個人化療法、可傳輸形式之資訊及用於治療患有氣喘之患者之方法。

【先前技術】

氣喘呈現為主要之全球性健康負擔。儘管有現有療法，但業內對於氣喘仍存在極大之未滿足醫學需求，其中全世界估計有3億人受到影響。世界衛生組織(World Health Organization)估計每年因氣喘損失1.5千萬個失能調整後生命年數，佔總全球性負擔之1%。全世界每年死亡估計為250,000例。全世界失控氣喘之盛行率大於6百萬患者。

介白素13 (IL-13)係由2型輔助T細胞(Th2)、肥胖細胞、嗜酸性球及嗜鹼性球產生之細胞介素(Kelly-Welch A, (2005), Sci STKE; 293:pcm 8)，其促進發炎性細胞介素之產生，上調單核球上之MHC II類及CD23表現，誘導抗CD40依賴性IgE類別轉換，並誘導B細胞中之IgG及IgM合成(Joshi BH, (2006), Vitam Horm; 74:479-504)。已顯示IL-13在若干生物過程中起主要作用，包括氣道高響應性、過敏性發炎、

組織嗜酸性球增多症、寄生蟲消除、肥胖細胞增生、IgE抗體合成、杯狀細胞化生、組織重塑及纖維化(Belperio JA, (2002) Am J Respir Cell Mol Biol; 27(4): 419-427 ; Brombacher F (2000) Bioessays; 22: 646-656 ; Wynn TA, (2004), Immunol Rev; 201:156-67 ; Kolodsick JE, (2004), J Immunol;172: 4068-4076)。特定而言，已顯示IL-13在動物模型中為過敏性氣喘之中心媒介物(Wills-Karp M, (1998), Science; 282: 2258-2261)。此觀測結果已由顯示抗IL-13 Ab在小鼠中抑制氣喘進展之數據來補充(Yang G, (2005), J Pharmacol Exp Ther; 313(1): 8-15)。IL-13接合響應性細胞上之兩種相關受體IL-13R α 1及IL-13R α 2 (Wills-Karp M, (2008), Sci Signal; 1(51) pe55)。IL-13R α 1與IL-4R α 受體亞單位形成複合物，其藉助JAK/STAT路徑進行信號傳導以使STAT6磷酸化，其充當促進伊紅趨素(eotaxin)及Th2依賴性發炎中所涉及之其他產物之表現之轉錄因子。第二IL-13R α 2受體亦結合IL-13，但似乎不產生過敏中所涉及之信號。因此，IL-13R α 1/IL-4R α 受體複合物提供IL-13及IL-4信號傳導路徑二者中之關鍵公共點。亦參見Ingram及Kraft (2012) J Allergy Clin Immunol 130(4) : 829-842。

WO05007699、WO07036745、WO12049278及WO08106116係關於用於治療氣喘之抗IL-13抗體及/或IL-13拮抗劑。

已存在針對界定不同氣喘表現型之生物標記物之持續研究(Wenzel SE (2012), Nat Med; 18(5): 716-725)。WO12083132係關於鑑別可能響應於利用TH2路徑抑制劑之治療之氣喘患者或呼吸病症患者的方法，該方法涵蓋使用嗜酸性球性發炎診斷分析。

Slager RE, (2012), J Allergy Clin Immunol; 130(2): 516-22係關於IL-4R α 受體中與在利用IL-4抑制劑治療之患者中氣喘惡化風險降低相關之一系列單核苷酸多型性(SNP)。WO11156000係關於用於測定IL-4R α 受體中之某些SNP中之主要等位基因作為可能響應於IL-4/IL13

(IL-4及IL-13)拮抗劑治療(例如利用突變人類IL-4蛋白之治療)之指示的使用方法及套組。

【發明內容】

業內存在鑑別單核苷酸多型性(SNP)以預測患有氣喘之患者是否將響應於利用IL-13拮抗劑之治療來作為診斷及治療氣喘之藥物基因體生物標記物方法的需求。本文為患有氣喘之患者提供在利用IL-13拮抗劑治療之前藉由鑑別可能有利地響應之患者來使IL-13拮抗作用在該等群體中之益處最大化並使其風險最小化的預測性方法及個人化療法。本文中所闡述之本發明方法係關於具有特定響應性基因型之患者在以抗體01951/G12 (SEQ ID No. 14及16) (即WO2007/045477中所進一步闡述之人類IgG1/ κ 抗IL-13單株抗體)治療後氣喘惡化之頻率實質減少的發現。該等患者中之響應性基因型係IL-4R α 受體基因之SNP中之特異性響應性等位基因並提供於表1中。

表1

AIR 標記 物	SNP	5' 核苷酸序列	SEQ ID NO:	RefSNP 等位基 因
1	rs1110470	GAAGGTTGGCAGGCCAGGGACAACA[C /T]CGTCTGCCAAGCCATGGCAGTAGAC	22	C/T (REV)
2	rs3024530	TAAGGTATTTTGTATAGCAGCCT[A/G] TATGGACTAAGCTGACTTGTAACGT	23	A/G (FWD)
3	rs1805010	CTGTGTCTGCAGAGCCCACACGTGT[A/ G]TCCCTGAGAACAACGGAGGCGCGGG	24	A/G (FWD)
4	rs2239347	ACCCAGGTCCCATATGTCCAGAGA[G/ T]TGTCCCTCCAATGGGAATGTGAGGA	25	G/T (REV)
5	rs1805011	AGGGATGACTTCCAGGAGGGAAGGG[A /C]GGGCATTGTGGCCCGGCTAACAGAG	26	A/C (FWD)
6	rs1801275	GTCTCGGCCCCCACCAGTGGCTATC[A/	27	A/G

		G]GGAGTTTGTACATGCGGTGGAGCAG		(FWD)
7	rs8832	GCAACAGAGGACATGAAAAATTGCT[A/ G]TGA CTAAAGCAGGGACAATTTGCTG	28	A/G (FWD)
8	rs1029489	CTTGTATGGGGAACCCAAACCCAGA[C/ T]GGCAAGTTTCTTAACCTCTTGCATC	29	C/T (REV)
9	rs4787956	GCTTATGTCATCCTGACACCTACGC[A/G]GATGTCGGCTCGAATCCACTTTGCC	30	A/G (FWD)

表1闡釋IL-4R α 受體之由相應rs編號指定之SNP核苷酸序列。SNP序列亦提供於dbSNP資料庫中，如下文所詳細引用。替代等位基因係顯示於括號內。本發明響應性等位基因係以粗體顯示於表1中，並分別指定為抗IL-13響應標記物(下文「AIR標記物」)。因此，指定AIR標記物係僅參照響應性等位基因並排除非響應性等位基因。就此而言，進一步認識到對於特定AIR標記物而言患者可為同型接合還是異型接合。因此，例如，對於AIR標記物3而言經測定為同型接合之患者對於rs1805010 SNP而言具有AA基因型，而對於AIR標記物3而言為異型接合之患者對於此SNP而言具有AG基因型。在本發明之本發明方法中，患者對於特定AIR標記物而言為陽性的，且因此若該患者對於響應性等位基因而言為同型接合或異型接合，則對於響應性等位基因而言亦為陽性的。對於特定AIR標記物而言為陰性之患者對於非響應性等位基因而言為同型接合。例如，對於AIR標記物3而言為陰性之患者對於rs1805010 SNP而言具有GG。

本發明提供選擇性治療患有氣喘之患者之方法，其包含鑑別具有至少一種選自由AIR標記物-1、2、3、4、5、6、7、8及9組成之群之AIR標記物之患者，及其後向患者投與治療有效量之IL-13拮抗劑。

在一個實施例中，該鑑別包含分析來自患者之生物樣品中至少一種選自該群之AIR標記物之存在。

在另一實施例中，本發明提供選擇性治療患有氣喘之患者之方

法，其包含：

i) 分析來自患者之生物樣品中至少一種選自由AIR標記物-1、2、3、4、5、6、7、8及9組成之該群之AIR標記物之存在或不存在；

ii) 檢測在該樣品中至少一種選自該群之AIR標記物之存在且由此確定該患者對於該AIR標記物而言係陽性的，及

iii) 向陽性患者選擇性投與治療有效量之IL-13拮抗劑。

在另一實施例中，本發明方法進一步包含測定該AIR標記物是以同型接合還是異型接合形式存在，其中至少一種呈同型接合形式之AIR標記物之存在決定該患者對於該AIR標記物而言係陽性的。

在另一實施例中，該AIR標記物係選自由Air標記物3及Air標記物10組成之群。

在另一實施例中，本發明選擇性治療方法進一步包含測定對於該AIR標記物而言該患者為同型接合還是異型接合，及向對於AIR標記物3及Air標記物10中之一者而言為同型接合並對於其他標記物而言為異型接合；對於AIR標記物3及10二者而言為同型接合；或對於AIR標記物3而言為同型接合之患者選擇性投與治療有效量之IL-13拮抗劑。

在其他實施例中，本發明係關於用於預測患有氣喘之患者將響應於利用IL-13拮抗劑之治療之可能性的方法。在一該實施例中，該等方法包含分析來自患者之生物樣品中至少一種選自由AIR標記物-1、2、3、4、5、6、7、8及9組成之群之AIR標記物之存在或不存在，其中：

a) 至少一種AIR標記物之存在指示該患者將響應於利用IL-13拮抗劑之治療之可能性增加；且

b) 至少一種AIR標記物之不存在指示該患者將響應於利用IL-13拮抗劑之治療之可能性降低。

在另一該實施例中，該等方法包含分析來自患者之生物樣品中至少一種呈同型接合形式之選自由AIR標記物-1、2、3、4、5、6、7、8及9組成之群之AIR標記物之存在或不存在的步驟，其中：

a) 至少一種呈同型接合形式之AIR標記物之存在指示該患者將響應於利用IL-13拮抗劑之治療之可能性增加；且

b) 至少一種呈同型接合形式之AIR標記物之不存在指示該患者將響應於利用IL-13拮抗劑之治療之可能性降低。

在另一該實施例中，該等方法包含以下步驟：

a) 分析來自患者之生物樣品中至少一種AIR標記物之存在或不存在，及

b) 測定該AIR標記物以同型接合還是異型接合形式存在，其中

至少一種呈同型接合形式之AIR標記物之存在指示該患者將響應於利用IL-13拮抗劑之治療之可能性增加，其中該至少一種AIR標記物選自由以下組成之群：

i) 各自以同型接合形式存在之AIR標記物3及7；

ii) 以同型接合形式存在之AIR標記物3及以異型接合形式存在之AIR標記物7；

iii) 以同型接合形式存在之AIR標記物7及以異型接合形式存在之AIR標記物3；及

iv) 呈同型接合形式之AIR標記物3。

在另一實施例中，該分析步驟包含針對至少一種AIR標記物之核酸產物或至少一種AIR標記物之多肽產物分析生物樣品。在另一實施例中，該分析步驟包含針對至少一種AIR標記物之基因體序列分析生物樣品。

在另一實施例中，該生物樣品係選自由血液、血清、糞便、血

漿、尿液、淚液、唾液及組織樣品組成之群。

在另一實施例中，該分析步驟包含選自由以下組成之群之技術：北方墨點分析(Northern blot analysis)、聚合酶鏈反應(PCR)、逆轉錄-聚合酶鏈反應(RT-PCR)、基於TaqMan之分析、直接測序、動態等位基因特異性雜合、高密度寡核苷酸SNP陣列、限制片段長度多型性(RFLP)分析、引物延伸分析、寡核苷酸連接酶分析、單鏈構象多型性分析、溫度梯度凝膠電泳(TGGE)、變性高效液相層析、高解析度熔解分析、DNA失配-結合蛋白分析、SNPLex®、毛細管電泳、南方墨點(Southern Blot)、免疫分析、免疫組織化學法、ELISA、流式細胞術、西方墨點(Western blot)、HPLC及質譜。

在其他實施例中，本發明係關於用於產生用於預測患有氣喘之患者對利用IL-13拮抗劑之治療之響應之可傳輸形式之資訊的方法，其包含根據上文所闡釋之本發明方法測定該患者響應於利用IL-13拮抗劑之治療之增加可能性；及將測定步驟之結果記錄於有形或無形媒介形式上用於傳輸。

在另一實施例中，本發明方法中所利用之IL-13拮抗劑在促進競爭之條件下與抗體01951/G12 (SEQ ID No. 14及16)競爭結合至IL-13。

在另一實施例中，IL-13拮抗劑係多肽或其片段、抗體或其抗原結合片段、Fab、ScFv。

在另一實施例中，IL-13拮抗劑係結合至IL-13之表位之抗體或其片段，該表位包含SEQ ID NO: 1所示之殘基103至107之殘基FCPHKV (SEQ ID NO: 67)。

在另一實施例中，IL-13拮抗劑係抗體01951/G12 (SEQ ID No. 14及16)。

在另一實施例中，IL-13拮抗劑係每四週(q4wk)以約50 mg至1000 mg i.v.之劑量投與之抗體。在另一實施例中，IL-13拮抗劑係每四週

以約75 mg或750 mg i.v.之劑量投與之抗體。

在另一實施例中，IL-13拮抗劑具有約100 pM至200 pM之 K_D 。在其他實施例中，該拮抗劑對於IL-13具有較高親和力並展現小於100 pM之 K_D 。在特定實施例中，IL-13拮抗劑係 K_D 為約140 pM之抗體。

在另一實施例中，IL-13拮抗劑具有約15天至30天或約21天之活體內半衰期。

在另一實施例中，IL-13拮抗劑為選自由以下組成之群之抗體：

i. 包含選自由以下組成之列表之CDR中之一或多者之抗體：(a) SEQ ID NO: 2或5中所顯示之 V_H CDR1、(b) SEQ ID NO: 3或6中所顯示之 V_H CDR2、(c) SEQ ID NO: 4或7中所顯示之 V_H CDR3、(d) SEQ ID NO: 8或11中所顯示之 V_L CDR1、(e) SEQ ID NO: 9或12中所顯示之 V_L CDR2、(f) SEQ ID NO: 10或13中所顯示之 V_L CDR3；

ii. 包含SEQ ID NO: 2之重鏈可變區CDR1；SEQ ID NO: 3之重鏈可變區CDR2；SEQ ID NO: 4之重鏈可變區CDR3；SEQ ID NO: 8之輕鏈可變區CDR1；SEQ ID NO: 9之輕鏈可變區CDR2；及SEQ ID NO: 10之輕鏈可變區CDR3之抗體；

iii. 包含SEQ ID NO: 5之重鏈可變區CDR1；SEQ ID NO: 6之重鏈可變區CDR2；SEQ ID NO: 7之重鏈可變區CDR3；SEQ ID NO: 11之輕鏈可變區CDR1；SEQ ID NO: 12之輕鏈可變區CDR2；及SEQ ID NO: 13之輕鏈可變區CDR3之抗體，

iv. 包含SEQ ID NO: 14中所列舉之重鏈可變區及SEQ ID NO: 16中所列舉之輕鏈可變區之抗體，

v. 包含SEQ ID NO: 20中所列舉之重鏈及SEQ ID NO: 18中所列舉之輕鏈之抗體。

在另一實施例中，IL-13拮抗劑係人類抗體。

在本發明之特定實施例中，IL-13拮抗劑係防止IL-13結合至IL-13

R α 1之抗體。在另一實施例中，IL-13拮抗劑防止IL-13結合至IL-13 R α 1，但允許結合至IL-13 R α 2 (亦稱為引誘物受體)。

在另一實施例中，患者患有中度氣喘，且在另一實施例中，患有重度氣喘。

其他方法、用途及套組提供於以下闡述及隨附申請專利範圍中。熟習此項技術者根據以下闡述及隨附申請專利範圍將明瞭本方面之其他特徵、優點及態樣。

【圖式簡單說明】

圖1繪示抗體01951/G12結合至選定IL-13殘基之取代分析。圖揭示SEQ ID NO: 33。

圖2按照抗體01951/G12治療之患者之基因型類別繪示氣喘惡化風險。

圖3按照在抗體01951/G12研究中安慰劑治療之患者之基因型類別繪示惡化風險。

圖4繪示在IL4-R α SNP中兩個連鎖不平衡區塊之鑑別。

【實施方式】

預期，測試受試者中上文所提及之響應等位基因(AIR標記物)中之至少一者之存在將用於各種醫藥產品及涉及鑑別氣喘患者(包括較可能響應IL-13拮抗作用之重度至中度氣喘患者)之方法並用於幫助醫師決定是否向彼等患者開出IL-13拮抗劑(例如抗體01951/G12)或是否開出替代醫藥劑。

因此，在一態樣中，本發明提供治療患有氣喘之患者的方法，其係藉由基於該患者之基因型特徵之某些態樣向該患者投與治療有效量之IL-13拮抗劑(例如，IL-13抗體，例如抗體01951/G12)來達成。在相關態樣中，本發明進一步提供基於患者之基因型特徵之某些態樣鑑別較可能響應於利用IL-13拮抗劑(例如，IL-13抗體，例如抗體 S

01951/G12)之治療之患有氣喘之患者的方法。在再一相關態樣中，本發明提供基於患者之基因型特徵之某些態樣測定患有氣喘之患者將響應於利用IL-13拮抗劑之治療(例如，IL-13抗體，例如抗體01951/G12)之可能性的方法。在另一相關態樣中，本發明提供選擇性治療患有氣喘之患者之各種方法。

本文中所闡述之本發明方法涵蓋利用至少一種AIR標記物選自由本文中所闡釋之9種指定AIR標記物組成之群。術語「至少一種AIR標記物」涵蓋可組合1種、2種、3種、4種、5種、6種、7種、8種或9種AIR標記物並用於本發明之方法中。此外，該等組合之各自AIR標記物數量可呈異型接合或同型接合形式。本發明之特定實施例闡釋9種AIR標記物(AIR標記物-1至9)之具體組合並進一步針對特定AIR標記物指定期望結合子型式。

術語「包含」涵蓋「包括」以及「由……組成」，例如，「包含」X之組合物可排他性地由X組成或可包括其他事物，例如X + Y。

除非上下文另外指明，否則與數值x相關之術語「約」意指 $\pm 10\%$ 。

術語「分析」用於指鑑別、篩選、探測、測試、量測或測定之行為，該行為可藉由任一習用方式實施。例如，可藉由使用ELISA分析、北方墨點、成像、血清分型、細胞分型、基因測序、表現型分析、單倍型分析、免疫組織化學法、西方墨點、質譜等分析樣品中特定遺傳或蛋白質標記物之存在。術語「檢測」(及諸如此類)意指自給定來源提取特定資訊之行為，其可為直接的或間接的。在本文中所揭示之預測性方法之一些實施例中，間接地(例如)藉由查詢資料庫來檢測生物樣品中給定物(例如，等位基因、蛋白質含量等)之存在。術語「分析」及「測定」涵蓋物質轉換，例如，藉助使生物樣品(例如，血樣或其他組織樣品)經受物理測試該樣品自一種狀態至另一狀態之

轉換。

術語「獲得」意指以任一方式(例如，藉由物理干預(例如，生檢、抽血)或非物理干預(例如，經由伺服器傳輸資訊)等)取得(例如，獲取)所有權。

片語「分析生物樣品...」及諸如此類用於指可測試(直接或間接)樣品中給定AIR標記物之存在。應理解，在物質之存在表示一種機率且物質之不存在表示不同幾率之情況下，則該物質之存在或不存在可用於引導治療決定。例如，可藉由測定患者中特定響應性等位基因之實際存在或藉由測定患者中特定響應性等位基因之不存在來測定患者是否具有AIR標記物。在該二種情形中，已測定該患者存在AIR標記物。所揭示之方法尤其涉及測定特定個體是否具有AIR標記物。此測定係藉由鑑別該患者是否具有上文所闡釋之表1中所揭示之AIR標記物中之一或多者來進行。該等測定中之每一者(亦即，存在或不存在)本身提供患者之等位基因狀態，且由此該等測定中之每一者等效地指示特定個體是否較有利地響應對於IL-13拮抗作用。為提供氣喘患者之增加之響應的指示，僅需分析生物樣品中表1中所闡釋之一或多種AIR標記物。

本文所用之「IL-13拮抗劑」係指藉由阻斷IL-13至IL-13受體之結合來拮抗(例如，減小、抑制、降低、延遲、消除) IL-13功能、表現及/或信號傳導的分子。在本發明之特定實施例中，IL-13拮抗劑防止IL-13結合至IL-13 R α 1。在另一實施例中，IL-13拮抗劑防止結合至IL-13 R α 1，但允許結合至IL-13 R α 2 (亦稱為引誘物受體)。參見Ingram及Kraft (2012) J Allergy Clin Immunol 130(4): 829-842。

可藉由標準方法(定性或定量分析)展示結合反應，該等方法包含(例如)結合分析、競爭分析或用於測定IL-13與其受體結合之抑制的生物分析或任一種類之結合分析，參照使用具有不相關特異性但理想地

5

具有相同同種型之抗體(例如抗CD25抗體)的陰性對照測試。該等方法包括下文於實例中所闡釋之彼等。

本文中所提及之術語「抗體」包括全抗體及其任一抗原結合部分或單鏈。天然存在之「抗體」係包含由二硫鍵互連之至少兩條重(H)鏈及兩條輕(L)鏈的糖蛋白。每一重鏈包括重鏈可變區(在本文中縮寫為V_H)及重鏈恆定區。重鏈恆定區包括三個結構域：CH1、CH2及CH3。每一輕鏈包括輕鏈可變區(在本文中縮寫為V_L)及輕鏈恆定區。輕鏈恆定區域包括一個結構域CL。可將V_H及V_L區域進一步細分成超變性區域(稱為超變區或互補決定區(CDR))及較為保守之區域(稱為框架區(FR))，二者間雜排列。每一V_H及V_L係由三個CDR及四個FR構成，其自胺基末端至羧基末端按下列順序排列：FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。重鏈及輕鏈之可變區含有與抗原相互作用之結合結構域。抗體之恆定區可調介免疫球蛋白與宿主組織或因子(包括免疫系統之各種細胞(例如效應細胞)及經典補體系統之第一組份(C1q))的結合。

本文所用之術語抗體之「抗原結合部分」係指保持特異性結合至抗原(例如，IL-13)之能力的抗體片段。已顯示，抗體之抗原結合功能可由全長抗體之片段來實施。術語抗體之「抗原結合部分」內所涵蓋之結合片段之實例包括Fab片段，即由V_L、V_H、CL及CH1結構域組成之單價片段；F(ab)₂片段，即包含兩個在鉸鏈區域由二硫橋鍵連接之Fab片段的二價片段；由V_H及CH1結構域組成之Fd片段；由抗體單臂之V_L及V_H結構域組成之Fv片段；dAb片段(Ward等人，(1989) *Nature* 341:544-546)，其由V_H結構域組成；及分離CDR。實例性抗原結合位點包括SEQ ID NO:1至6及11至13(表2)中所述之CDR，較佳為重鏈CDR3。另外，儘管Fv片段之兩個結構域(V_L及V_H)係由單獨基因編碼，但可使用重組方法藉由合成連接體使該兩個結構域接合在一

起，該合成連接體使該兩個結構域能夠形成其中 V_L 及 V_H 區域配對形成單價分子的單一蛋白鏈(稱為單鏈Fv (scFv)；例如參見Bird等人，1988 Science 242:423-426；及Huston等人，1988 Proc. Natl. Acad. Sci. 85:5879-5883)。該等單鏈抗體亦意欲涵蓋於術語「抗體」內。單鏈抗體及抗原結合部分係使用熟習此項技術者已知之習用技術獲得。

本文所用之「分離抗體」係指實質上不含具有不同抗原特異性之其他抗體的抗體(例如，特異性結合IL-13之分離抗體實質上不含特異性結合除IL-13以外之抗原的抗體)。本文所用之術語「單株抗體」或「單株抗體組合物」係指具有單一分子組成之抗體分子製劑。本文所用之術語「人類抗體」意欲包括具有可變區之抗體，其中框架區及CDR區二者皆源自人類來源之序列。「人類抗體」未必由人類、人類組織或人類細胞產生。本發明之人類抗體可包括並非由人類序列編碼之胺基酸殘基(例如，藉由活體外隨機誘變或定點誘變、藉由在重組抗體基因期間在活體內於接合處之N-核苷酸添加或藉由活體內體細胞突變引入之突變)。在所揭示方法之一些實施例中，IL-13拮抗劑係人類抗體、分離抗體及/或單株抗體。

術語「 K_D 」意欲係指特定抗體-抗原相互作用之解離速率。本文所用之術語「 K_D 」欲指解離常數，其係自 K_d 對 K_a 之比率(即 K_d/K_a)獲得且以莫耳濃度(M)表示。可使用業內已確立之方法測定抗體之 K_D 值。測定抗體之 K_D 的方法係藉由使用表面電漿共振或使用生物感測器系統(例如Biacore®系統)。

術語「親和力」係指單一抗原性位點處抗體與抗原之間之相互作用強度。在每一抗原性位點內，抗體臂之可變區藉助弱的非共價力在多個位點處與抗原相互作用；相互作用愈大，則親和力愈強。業內已知用於評估抗體對不同物種之IL-13之結合親和力的標準分析，包括(例如) ELISA、西方墨點及RIA。亦可藉由業內已知之標準分析(例

如藉由Biacore分析)評價抗體之結合動力學(例如，結合親和力)。

應理解，如根據業內已知方法測定並在本文中闡述之「抑制」一或多種該等IL-13功能性質(例如，生物化學、免疫化學、細胞、生理學或其他生物活性或諸如此類)之抗體與特定活性相對於在不存在抗體情況下(或在存在具有不相關特異性之對照抗體時)看到的活性在統計學上顯著降低有關。抑制IL-13活性之抗體引起所量測參數統計學上顯著降低(例如)至少10%、至少50%、80%或90%，且在所揭示方法之某些實施例中，所用IL-13抗體可抑制大於95%、98%或99%之IL-13功能活性。

除非另外指示，否則術語「衍生物」用於定義IL-13拮抗劑(例如IL-13抗體或其抗原結合部分，例如指定序列(例如，可變結構域))之胺基酸序列變體及共價修飾(例如，聚乙二醇化、去醯胺、羥基化、磷酸化、甲基化等)。「功能衍生物」包括具有與所揭示IL-13拮抗劑一樣之定性生物活性之分子。功能衍生物包括如本文所揭示之IL-13拮抗劑之片段及肽類似物。片段包含在本發明多肽(例如指定序列)之序列內之區域。本文所揭示之IL-13拮抗劑之功能衍生物較佳包含與本文所揭示IL-13結合分子之 V_H 及/或 V_L 序列(例如，表2之 V_H 及/或 V_L 序列)具有至少約65%、75%、85%、95%、96%、97%、98%或甚至99%總體序列一致性並實質上保持結合人類IL-13之能力的 V_H 及/或 V_L 結構域。

片語「實質上一致」意指相關胺基酸或核苷酸序列(例如 V_H 或 V_L 結構域)與特定參考序列相比將一致或具有非實質性差別(例如，藉助保守胺基酸取代)。非實質性差別包括微小胺基酸變化，例如於指定區域(例如， V_H 或 V_L 結構域)之5個胺基酸序列中之1個或2個取代(例如，保守取代，例如將絲胺酸交換為蘇胺酸，或在抗體活性、結構完整性、補體結合(complement fixation)等不涉及之位置處之取代)。在

抗體情形下，第二抗體與該抗體具有相同特異性且具有至少50%之親和力。與本文所揭示序列實質上一致之序列(例如，至少約85%序列一致性)亦為本發明之一部分。在一些實施例中，抗IL-13抗體衍生物相對於所揭示序列之序列一致性可為約90%或更高，例如，90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高。

就天然多肽及其功能衍生物而言，「一致性」在本文中定義為在比對序列且若需要引入缺口以達成最大百分比一致性且不將任一保守取代視為序列一致性之一部分後，候選序列中與相應天然多肽之殘基一致之胺基酸殘基的百分比。N-或C-末端延伸或插入均不應理解為減小一致性。用於比對之方法及電腦程式已眾所周知。百分比一致性可藉由標準比對演算法來測定，例如Altshul等人((1990) J. Mol. Biol., 215: 403-410)闡述之基本局部比對搜索工具(Basic Local Alignment Search Tool, BLAST)；Needleman等人((1970) J. Mol. Biol., 48: 444-453)之演算法；或Meyers等人((1988) Comput. Appl. Biosci., 4: 11-17)之演算法。參數之集合可為Blosum 62計分矩陣，間隔罰分為12，間隔延伸罰分為4，且框移間隔罰分為5。兩個胺基酸或核苷酸序列之間之百分比一致性亦可使用E. Meyers及W. Miller ((1989) CABIOS, 4:11-17)之演算法使用PAM120權重殘基表、12之間隔長度罰分且4之間隔罰分來測定，該演算法已納入ALIGN程式(2.0版)中。

「胺基酸」係指所有天然存在之L- α -胺基酸，例如且包括D-胺基酸片語「胺基酸序列變體」係指與本發明序列相比胺基酸序列中有一些差別之分子。本發明IL-13拮抗劑多肽(例如，指定序列)之胺基酸序列變體仍具有結合人類IL-13之能力。胺基酸序列變體包括取代變體(在本發明多肽中已去除至少一個胺基酸殘基且在相同位置上插入不同胺基酸以作代替之彼等)、插入變體(在本發明多肽中在與特定位置上的胺基酸直接毗鄰處插入一或多個胺基酸之彼等)及缺失變體 S

(在本發明多肽中已去除一或多個胺基酸之彼等)。

術語「醫藥上可接受」意指不干擾活性成份之生物活性之有效性的無毒材料。

與化合物(例如IL-13結合分子或另一藥劑)相關之術語「投與」用於指藉由任一途徑向患者遞送該化合物。

本文所用之「治療有效量」係指在將IL-13拮抗劑(例如，抗IL-13抗體或或其抗原結合部分)向患者(例如人類)進行單一或多個劑量投與後可有效地治療、預防病症或復發病症之至少一個症狀、預防該症狀之發作、治癒、延遲該症狀、減小該症狀之嚴重性、改善該症狀、或使患者之存活期延長超過不存在該治療時之預期存活期之量。當應用於單獨投與之個別活性成份(例如IL-13拮抗劑)時，該術語係指該單獨成份。當應用於組合時，術語係指引起治療效果之活性成分之組合量，不論係組合、連續或同時投與。

術語「治療」(「treatment」或「treat」)係指預防性或防止性治療(視情況而定)以及治癒性或疾病減輕性治療，包括治療處於感染疾病或懷疑感染疾病之風險的患者以及患病或已診斷患有疾病或醫學病狀之患者，且該等術語包括阻抑臨床復發或惡化。可將該治療投與給患有醫學病症或最終可患病之患者以預防、治癒病症或復發性病症之一或多個症狀、延遲該症狀發作、減小該症狀之嚴重性或改善該症狀或使患者之存活期延長超過不存在該治療時之預期存活期。

片語「響應治療」用於意指患者在遞送特定治療(例如，IL-13拮抗劑)後顯示來自該治療之臨床上有意義之益處。在氣喘(包括重度至中度氣喘)之情形下，該標準包括惡化減少。片語「響應治療」意欲理解為具有相對性而非絕對響應。例如，預測具有AIR標記物之氣喘患者相比於不具有AIR標記物之患者具有較多來自利用IL-13拮抗劑之治療之益處。AIR標記物之該等攜帶者較有利地響應於利用IL-13拮抗

劑之治療，並「響應於利用IL-13拮抗劑之治療」。在本發明之某些實施例中，根據本文所揭示方法響應於利用IL-13拮抗劑之治療之患者已決定性地使氣喘惡化減少至少24週、至少24週至52週、至少52週或更長時間。在本發明之特定實施例中，根據本文所揭示方法響應於利用IL-13拮抗劑之治療之患者之惡化減少至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%或100%。

片語「接收數據」用於意指藉由任一可用方式(例如，口述、以電子方式(例如，藉由電子郵件、編碼於磁片上或其他媒介)、書寫等)獲得資訊所有權。

如本文所用之關於患者之「選擇」(「selecting」及「selected」)用於意指根據(由於)具有預定標準之特定患者(例如，該患者具有AIR標記物)自較大患者群明確選擇特定患者。類似地，「選擇性治療」係指向患有特定疾病之患者提供治療，其中根據具有預定標準之特定患者(例如，由於具有AIR標記物之患者明確選擇用於治療之氣喘患者)自較大患者群明確選擇該患者。類似地，「選擇性投與」係指向根據(由於)具有預定標準之特定患者(例如，特定遺傳或其他生物標記物)自較大患者群明確選擇之患者投與藥物。選擇、選擇性治療及選擇性投與意指，根據患者之特定生物學向患者遞送個人化療法，而非僅根據患有特定疾病之患者遞送標準治療方案。關於本文所用之治療方法，選擇並非指具有AIR標記物之患者之偶然治療，而係指基於具有AIR標記物之患者審慎選擇以向患者投與IL-13拮抗劑。因此，選擇性治療與標準治療不同，後者向所有患者遞送特定藥物，無論其等位基因狀態如何。

本文所用之「預測」表明本文所闡述之方法提供資訊以使得健康護理提供者能夠測定患有氣喘之個體將響應或將較有利地響應使用IL-13拮抗劑之治療之可能性。其並不係指能夠100%精確地預測響

應。而是，熟習此項技術者應理解，其係指具有增加之機率。

本文所用之「可能性」及「可能」係事件有多大可能發生之量度。其可與「機率」互換使用。可能性係指不僅係推測但不足以確定之機率。因此，若適當人員在考慮各種情形後使用常識、訓練或經驗推斷出某一事件有可能發生，則該事件係可能的。在一些實施例中，確定可能性後，可使用IL-13拮抗劑治療(或繼續治療，或使用增加之劑量繼續治療)患者，或可不使用IL-13拮抗劑治療(或停止治療，或以降低之劑量繼續治療)患者。

片語「增加之可能性」係指事件發生之機率增加。例如，本文中的一些方法允許預測患者是否將展示響應於利用IL-13拮抗劑之治療之增加之可能性或與不具有AIR之患有氣喘之患者相比較好響應於利用IL-13拮抗劑之治療之增加之可能性。

本文所用之「SNP」係指「單核苷酸多型性」。單核苷酸多型性係基因體(或其他共用序列)中之單一核苷酸在生物物種之成員之間或在個體中之成對染色體之間有所不同時出現的DNA序列差異。大部分SNP僅具有兩個等位基因，且一個等位基因通常在群體中更為常見。SNP可存在於基因之外顯子或內含子中，基因之上游或下游非轉譯區中，或存在於純基因體位置(亦即，未轉錄位置)中。在SNP發生於基因之編碼區域中時，SNP可因遺傳密碼之冗餘性而沉默(亦即，同義多型性)，或SNP可改變所編碼多肽之序列(亦即，非同義多型性)。在本發明中，SNP係藉由單核苷酸多型性數據庫(Single Nucleotide Polymorphism Database, dbSNP) rs編號(例如，rs1805010)加以鑑別。dbSNP係由國家生技資訊中心(National Center for Biotechnology Information, NCBI)聯合國家人類基因體研究院(National Human Genome Research Institute, NHGRI)研發及主管之關於不同物種內及不同物種之間之遺傳差異的免費公用檔案。

多型性位點(諸如SNP)通常位於所關注群體之基因體中之保守序列的後方或前方，且因此可參照夾在多型性位點兩側之共有核酸序列(例如，30個至60個核苷酸，其在SNP之情形下統稱為「SNP上下文序列(context sequence)」)對多型性位點進行定位。本文所揭示SNP之上下文序列可參見可在www.ncbi.nlm.nih.gov/snp獲得之NCBI SNP數據庫。另一選擇為，多型性位點之位置可藉由其在參考序列(例如，GeneBank貯存物)中相對於基因起點、mRNA轉錄物、BAC純系或甚至相對於蛋白質轉譯之起始密碼子(ATG)的位置來確定。熟習此項技術者理解，在所關注群體中每一個體中，特定多型性位點之位置可能並不準確出現於參考或上下文序列中之相同位置，此乃因與共有或參考序列相比，在該個體之基因體中存在一或多個插入或缺失。在向熟習此項技術者提供欲檢測多型性位點處之交互等位基因之標識及出現該多型性位點之參考序列或上下文序列中之一者或兩者時，熟習此項技術者熟知用於檢測任一給定個體中多型性位點處之交互等位基因之設計穩健之特異性精確分析。因此，熟習此項技術者應理解，藉由參照參考或上下文序列中(或相對於此一序列中之起始密碼子)之特定位置詳細說明本文所闡述任一多型性位點之位置僅係出於方便起見，且在使用本文所闡述基因分型方法或業內熟知之其他基因分型方法中之任一者測試本發明遺傳標記物之任一個體中，任一明確列舉之核苷酸位置按字面含義包括相同多型性位點在相同基因座中實際上定位之任何核苷酸位置。

除SNP以外，遺傳多型性包括易位、插入、取代、缺失等，其出現在基因增強子、外顯子、內含子、啟動子、5' UTR、3'UTR等中。

本文所用之「rs1110470」係指位於人類*IL-4RA*基因(*IL-4R α* ；*IL-4*受體 α) (基因庫登錄號NM_000418.3)之內含子內之C/T (反向鏈) SNP。rs1110470多型性位點係位於染色體位置27336427處(build 5

138 ; assembly GRCh37.p10) , 該位置係片段重疊群 (Contig) NT_010393.16之27276427位。

本文所用之「rs3024530」係指位於*IL-4RA*基因(基因庫登錄號 NM_000418.3)之內含子內之A/G (正向鏈) SNP。rs3024530多型性位點係位於染色體位置27350687處(build 138 ; assembly GRCh37.p10) , 該位置係片段重疊群NT_010393.16之27290687位。

本文所用之「rs1805010」係指位於*IL-4RA*基因(基因庫登錄號 NM_000418.3)之外顯子內並編碼Ile至Val之變化之A/G (正向鏈) SNP。rs1805010多型性位點係位於染色體位置27356203處(build 138 ; assembly GRCh37.p10) , 該位置係片段重疊群NT_010393.16之位27296203。

本文所用之「rs2239347」係指G/T (反向鏈) SNP位於*IL-4RA*基因(基因庫登錄號NM_000418.3)之內含子內。rs2239347多型性位點係位於染色體位置27359021處(build 138 ; assembly GRCh37.p10) , 該位置係片段重疊群NT_010393.16之位27299021。

本文所用之「rs1805011」係指位於*IL-4RA*基因(基因庫登錄號 NM_000418.3)之外顯子內並編碼Glu至Ala之變化之A/C (正向鏈) SNP。rs1805011多型性位點係位於染色體位置27373872處(build 138 ; assembly GRCh37.p10) , 該位置係片段重疊群NT_010393.16之位27313872。

本文所用之「rs1801275」係指位於*IL-4RA*基因(基因庫登錄號 NM_000418.3)之外顯子內並編碼Gln至Arg之變化之A/G (正向鏈) SNP。rs1801275多型性位點係位於染色體位置27374400處(build 138 ; assembly GRCh37.p10) , 該位置係片段重疊群NT_010393.16之位27314400。

本文所用之「rs8832」係指位於*IL-4RA*基因(基因庫登錄號

NM_000418.3)之3' UTR (未轉譯)區域內內之A/G (正向鏈) SNP。rs8832多型性位點係位於染色體位置27375787處(build 138; assembly GRCh37.p10)，該位置係片段重疊群NT_010393.16之位27315787。

本文所用之「rs1029489」係指位於*IL-4RA*基因(基因庫登錄號NM_000418.3)之3'近端之C/T (反向鏈) SNP。rs1029489多型性位點係位於染色體位置27376217處(build 138; assembly GRCh37.p10)，該位置係片段重疊群NT_010393.16之位27316217。

本文所用之「rs4787956」係指位於*IL-4RA*基因(基因庫登錄號NM_000418.3)之3'近端之A/G (正向鏈) SNP。rs4787956多型性位點係位於染色體位置27378249處(build 138; assembly GRCh37.p10)，該位置係片段重疊群NT_010393.16之位27318249。

如熟習此項技術者所認識到，含有特定SNP之核酸樣品可為互補雙鏈分子，且由此提及有義鏈上之特定位點亦係指互補反義鏈上之相應位點。類似地，在提及針對一個染色體鏈之兩個拷貝上之SNP所獲得之特定基因型時，其等效於針對另一鏈之兩個拷貝上之相同SNP所獲得之互補基因型。

本文所用之「基因體序列」係指基因體中存在之DNA序列，且包括等位基因內之區域、等位基因本身或含有所關注等位基因之染色體之較大DNA序列。

本發明之AIR標記物之產物可包括核酸產物及多肽產物。「多肽產物」係指包括由AIR標記物編碼之胺基酸之多肽及其片段。「核酸產物」係指AIR標記物之任一DNA (例如，基因體、cDNA等)或RNA (例如，mRNA前體、mRNA、miRNA等)產物及其片段。

「等效遺傳標記物」係指與所關注等位基因有關之遺傳標記物，例如，其顯示連鎖不平衡(LD)或與所關注等位基因處於遺傳連鎖狀態。等效遺傳標記物可用於測定患者是否具有AIR標記物，而非直

接探詢來自患者之生物樣品之等位基因本身。存在有助於測定關於特定 SNP 之 LD 之各種程式，例如，HaploBlock（可在 bioinfo.cs.technion.ac.il/haploblock/ 中獲得）、HapMap、WGA Viewer。

術語「探針」係指可用於特異性檢測另一物質(例如，與AIR標記物相關之物質)之任何物質組合物。探針可為與AIR標記物之基因體序列或AIR標記物之核酸產物特異性雜合之寡核苷酸(包括偶聯寡核苷酸)。偶聯寡核苷酸係指共價結合至發色團或含有配體之分子(例如，抗原)之寡核苷酸，其對於受體分子(例如，對於抗原具有特異性之抗體)具有高特異性。探針亦可為PCR引物，例如，與另一引物一起用於擴增AIR標記物內之特定區域。另外，探針可為特異性結合至該等等位基因之多肽產物之抗體。此外，探針可為能夠檢測(例如，結合或雜合) AIR標記物之等效遺傳標記物之任何物質組合物。在較佳實施例中，探針與所關注等位基因之核酸序列(較佳係基因體DNA)特異性雜合或與其多肽序列特異性結合。

片語「特異性雜合」用於指在嚴格雜合條件下雜合。嚴格條件已為彼等熟習此項技術者所習知且可參見 *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons, N.Y. (1989), 6.3.1-6.3.6。在該參考文獻中闡述水性及非水性方法且可使用任一方法。嚴格雜合條件之一實例係在約45°C下於6X氯化鈉/檸檬酸鈉(SSC)中雜合，隨後在50°C下於0.2X SSC、0.1% SDS中至少洗滌一次。嚴格雜合條件之另一實例係在約45°C下於6X SSC中雜合，隨後在55°C下於0.2X SSC、0.1% SDS中至少洗滌一次。嚴格雜合條件之另一實例係在約45°C下於6X SSC中雜合，隨後在60°C下於0.2X SSC、0.1% SDS中至少洗滌一次。嚴格雜合條件之另一實例係在約45°C下於6X SSC中雜合，隨後在65°C下於0.2X SSC、0.1% SDS中至少洗滌一次。高嚴格條件包

括在65℃下於0.5 M磷酸鈉、7% SDS中雜合，隨後在65℃下於0.2X SSC、0.1% SDS中至少洗滌一次。

片語「核酸區域」用於指示較大核酸序列內之較小序列。例如，基因係染色體區域，外顯子係基因區域等。

本文中，多肽之「特異性結合」術語係用於意指探針結合給定多肽靶(例如，AIR標記物之多肽產物)而非隨機結合不期望多肽。然而，「特異性結合」並不排除一些與不期望多肽之交叉響應性，只要該交叉響應性並不干擾探針用於量測給定多肽靶之存在之能力即可。

術語「能夠」用於意指達成給定結果之能力，例如，能夠檢測特定物質之存在之探針意指探針可用於檢測特定物質。

「寡核苷酸」係指短核苷酸序列，例如，2個至100個鹼基。

本文所用之術語「生物樣品」係指來自患者之樣品，其可用於鑑別、診斷、預測或監測之目的。較佳樣品包括滑液、血液、血液源產物(例如血沉棕黃層、血清及血漿)、淋巴、尿液、淚液、唾液、毛球細胞、腦脊髓液、頰部拭子(buccal swab)、糞便、滑液、滑膜細胞、痰或組織樣品(例如軟骨樣品)。此外，熟習此項技術者應認識到，較易於遵循分餾或純化程序分析一些樣品，例如，自全血分離DNA。

術語「IL-13」包括來自各種物種(例如，人類、小鼠及猴)之野生型IL-13、IL-13之多型性變體及IL-13之功能等效物。本發明之IL-13之功能等效物較佳與野生型IL-13 (例如，人類IL-13)具有至少約85%、95%、96%、97%、98%或甚至99%總體序列一致性。更特定而言，IL-13係指下一段落中所闡釋之多肽序列。

IL-13多肽具有下文序列。N-末端34胺基酸殘基(斜體形式)係信號肽。成熟細胞介素由此具有112個胺基酸殘基。抗IL-13抗體將結合至成熟多肽上之表位。

介白素13胺基酸序列：

1 MHPLLNPLLL ALGLMALLLT TVIALTCLGG FASPGPVPPS
TALRELIEEL VNITQNQKAP

61 LCNGSMVWSI NLTAGMYCAA LESLINVSGC
SAIEKTQRM LSGFCPHKVSA GQFSSLHVRD

121 TKIEVAQFVK DLLLHLKKLF REGRFN (SEQ ID No. 1)

如在實例中進一步詳細闡釋，在本發明方法之特定實施例中，方法中所用之IL-13拮抗劑(包括抗體01951/G12)結合包括以下殘基之表位：FCPHKV (SEQ ID NO: 67) (加下劃線，為SEQ ID NO.1之殘基103至107)。

IL-13拮抗劑

原則上，抑制或中和IL-13之活性之任何抗IL-13拮抗劑(包括抗體)可用於本發明，只要抗IL-13拮抗劑或抗體決定性地並選擇性地減少如本發明方法中所闡釋對於至少一種選自由AIR標記物-1、2、3、4、5、6、7、8及9組成之該群之AIR標記物為陽性之氣喘患者惡化即可。該等抗體可選自業內已知之彼等，例如，參見WO2005/007699、US6468528、WO03007685、WO03034984、US20030143199、US2004028650、US20040242841、US2004023337、US20040248260、US20050054055、US20050065327、WO2006/124451、WO2006/003407、WO2005/062967、WO2006/085938、WO2006/055638、WO2007/036745、WO2007/080174或WO2007/085815。該等體為業內已知，例如，參見WO2005/007699、US6468528、WO03007685、WO03034984、US20030143199、US2004028650、US20040242841、US2004023337、US20040248260、US20050054055、US20050065327、WO2006/124451、WO2006/003407、WO2005/062967、WO2006/085938、

WO2006/055638 、 WO2007/036745 、 WO2007/080174 或 WO2007/085815、WO2012/049278及WO2008/106116。

在一個實施例中，本發明方法中所用之抗體包含以下CDR中之一或多者。根據Kabat定義(E. Kabat等人，1991, Sequences of Proteins of immunological Interest，第5版，public health Service, NIH, Bethesda, MD)測定表2a及3a中所列示之CDR：

表2

		SEQ ID No.		SEQ ID No.		SEQ ID No.
抗體	HCDR1	HCDR1	HCDR2	HCDR2	HCDR3	HCDR3
01951/G12	GFTFSSYG2		IWYDGSN3		ARLWFGDLD4	

表2a

		SEQ ID No.		SEQ ID No.		SEQ ID No.
抗體	HCDR1	HCDR1	HCDR2	HCDR2	HCDR3	HCDR3
01951/G12	SYGMH5		IIWYDGSNKYY ADSVKG	6	LWFGDLDAFDI	7

表3

		SEQ ID No.		SEQ ID No.		SEQ ID No.
抗體	LCDR1	LCDR1	LCDR2	LCDR2	LCDR3	LCDR3
01951/G12	QSVSSY8		DA	9	QQRSSWPPV	10

表3a

		SEQ ID No.		SEQ ID No.		SEQ ID No.
抗體	LCDR1	LCDR1	LCDR2	LCDR2	LCDR3	LCDR3
01951/G12	RAGQSVSSYL	11	DASNRAT	12	QQRSSWPPVYT	13

全長IgG1抗體輕鏈及重鏈恆定區亦顯示於下文，作為實例納入抗體01951/G12之可變區(粗體)。

01951/G12抗體序列

(i) HC可變區

01951/G12之HC可變氨基酸序列係顯示於SEQ ID NO: 14中並由SEQ ID NO: 15中所顯示之核苷酸序列編碼

```

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

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

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

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

L Q M N S L R A E D T A V Y Y C A R L W
ctgcaaataaacagcctgagagccgaggacacgctgtgtattactgtgcgaggctatgg 300

F G D L D A F D I W G Q G T M V T (SEQ ID NO :14)
ttcggggacttagatgcttttgatatctggggccaagggacaatggtcacc 351 (SEQ ID NO :15)

```

(ii) LC可變區

01951/G12之LC可變氨基酸序列係顯示於SEQ ID NO: 16中並由SEQ ID NO: 17中所顯示之核苷酸序列編碼

```

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

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

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

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

E D F A V Y Y C Q Q R S S W P P V Y T F
gaagattttgcagttttattactgtcagcagcgcagcagctggcctccggtgtacactttt 300

G Q G T (SEQ ID NO :16)
ggccaggggacc 312 (SEQ ID NO :17)

```

納入抗體01951/G12之可變區(粗體)之全長抗體IgG1輕鏈序列

LC氨基酸序列係顯示於SEQ ID NO: 18中並由SEQ ID NO: 19之核苷酸序列編碼

```

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

701    E C * (SEQ ID NO:18)
      GAGAGTGTTA G (SEQ ID NO:19)

```

納入抗體01951/G12之可變區(粗體)之全長抗體IgG1重鏈序列

HC胺基酸序列係顯示於SEQ ID NO: 20中並由SEQ ID NO: 21之核苷酸序列編碼

```

1   M A W V   W T L   P F L   M A A A   Q S V
   ATGGCTTGGG TGTGGACCTT GCCATTCTTG ATGGCAGCTG CCCAAAGTGT

51  Q A E   V Q L V   E S G   G G V   V Q P G
   CCAGGCAGAA GTGCAGCTGG TGGAGTCTGG GGGAGGCGTG GTCCAGCCTG

101 R S L   R L S   C A A S   G F T   F S S
   GGAGGTCCCT GAGACTCTCC TGTGCAGCGT CTGGATTAC CTTCAGTAGC

151 Y G M H   W V R   Q A P   G K G L   E W V
   TATGGCATGC ACTGGGTCCG CCAGGCTCCA GGCAAGGGGC TGGAGTGGGT

201 A I I   W Y D G   S N K   Y Y A   D S V K
   GGCAATTATA TGGTATGATG GAAGTAATAA ATACTATGCG GACTCCGTGA

251 G R F   T I S   R D N S   K N T   L Y L
   AGGGCCGATT CACCATCTCC AGAGACAATT CCAAGAACAC GCTGTATCTG

301 Q M N S   L R A   E D T   A V Y Y   C A R
   CAAATGAACA GCCTGAGAGC CGAGGACACG GCTGTGTATT ACTGTGCGAG

351 L W F   G D L D   A F D   I W G   Q G T M
   GCTATGGTTC GGGGACTTAG ATGCTTTTGA TATCTGGGGC CAAGGGACAA

401 V T V   S S A   S T K G   P S V   F P L
   TGGTCACCGT CTCCTCAGCC TCCACCAAGG GCCCATCGGT CTCCCCCTG

451 A P S S   K S T   S G G   T A A L   G C L
   GCACCCTCCT CCAAGAGCAC CTCTGGGGGC ACAGCGGCCC TGGGCTGCCT

501 V K D   Y F P E   P V T   V S W   N S G A
   GGTCAAGGAC TACTTCCCCG AACCGGTGAC GGTGTCGTGG AACTCAGGCG

551 L T S   G V H   T F P A   V L Q   S S G
   CCCTGACCAG CGGCGTGAC ACCTTCCCGG CTGTCCTACA GTCCTCAGGA

601 L Y S L   S S V   V T V   P S S S   L G T
   CTCTACTCCC TCAGCAGCGT CGTGACCGTG CCCTCCAGCA GCTTGGGCAC

651 Q T Y   I C N V   N H K   P S N   T K V D
   CCAGACCTAC ATCTGCAACG TGAATCACAA GCCCAGCAAC ACCAAGGTGG

701 K R V   E P K   S C D K   T H T   C P P
   ACAAGAGAGT TGAGCCCAAA TCTTGTGACA AAACACACAC ATGCCACCG

751 C P A P   E L L   G G P   S V F L   F P P
   TGCCAGCAC CTGAACCTCT GGGGGGACCG TCAGTCTTCC TCTTCCCCC

801 K P K   D T L M   I S R   T P E   V T C V
   AAAACCCAAG GACACCCTCA TGATCTCCCG GACCCCTGAG GTCACATGCG

851 V V D   V S H   E D P E   V K F   N W Y
   TGGTGGTGGA CGTGAGCCAC GAAGACCCTG AGGTCAAGTT CAACTGGTAC

901 V D G V   E V H   N A K   T K P R   E E Q
   GTGGACGGCG TGGAGGTGCA TAATGCCAAG ACAAAGCCGC GGGAGGAGCA

```

```

      Y N S T Y R V V S V L T V L H Q D
951  GTACAACAGC ACGTACCGTG TGGTCAGCGT CCTCACCGTC CTGCACCAGG

      W L N G K E Y K C K V S N K A L
1001 ACTGGCTGAA TGGCAAGGAG TACAAGTGCA AGGTCTCCAA CAAAGCCCTC

      P A P I E K T I S K A K G Q P R E
1051 CCAGCCCCCA TCGAGAAAAC CATCTCCAAA GCCAAAGGGC AGCCCCGAGA

      P Q V Y T L P P S R E E M T K N Q
1101 ACCACAGGTG TACACCCTGC CCCCATCCCG GGAGGAGATG ACCAAGAACC

      V S L T C L V K G F Y P S D I A
1151 AGGTCAGCCT GACCTGCCTG GTCAAAGGCT TCTATCCCAG CGACATCGCC

      V E W E S N G Q P E N N Y K T T P
1201 GTGGAGTGGG AGAGCAATGG GCAGCCGGAG AACAACTACA AGACCACGCC

      P V L D S D G S F F L Y S K L T V
1251 TCCCGTGCTG GACTCCGACG GCTCCTTCTT CCTCTATAGC AAGCTCACCG

      D K S R W Q Q G N V F S C S V M
1301 TGGACAAGAG CAGGTGGCAG CAGGGGAACG TCTTCTCATG CTCCGTGATG

      H E A L H N H Y T Q K S L S L S P
1351 CATGAGGCTC TGCACAACCA CTACACGCAG AAGAGCCTCT CCCTGTCCCC

      G K * (SEQ ID NO:20)
1401 GGGTAAATGA (SEQ ID NO:21)

```

在各個實施例中，本發明涵蓋揭示本文中所闡釋之醫藥組合物、方案、過程、用途、方法及套組利用IL-13拮抗劑(例如，抗IL-13抗體或其抗原結合部分)。在特定實施例中。套組包含用於檢測本文中所闡釋之AIR標記物之核酸探針。在其他實施例中，套組進一步包含包括氣喘之診斷或治療之說明書。

在特定實施例中，本發明提供用於測定自氣喘患者獲得之樣品中至少一種選自由AIR標記物1、2、3、4、5、6、7、8或9組成之群之AIR標記物之存在的套組，該套組包含：容器，其含有一或多種在嚴格條件下與包含一或多種選自表1中所闡釋之群之SNP中之響應性等位基因之核酸特異性雜合的探針。

在另一實施例中，該套組包含指示以下內容之說明材料：來自患者候選人之核酸樣品中至少一種AIR標記物之存在指示該患者係用於本文中所闡釋之利用IL-13拮抗劑之治療之候選人。

在另一實施例中，該套組包含指示以下內容之說明材料：來自

患者之核酸樣品中至少2種AIR標記物之存在指示該患者係用於本文中所闡釋之利用IL-13拮抗劑之治療之候選人。

在另一實施例中，該套組包含指示以下內容之說明材料：來自患者之核酸樣品中至少3種、4種、5種、6種、7種、8種或9種AIR標記物之存在指示該患者係用於本文中所闡釋之利用IL-13拮抗劑之治療之候選人。

在另一實施例中，該套組包含容器含有一或多種在嚴格條件下與包含一或多種選自表1中所闡釋之群之SNP中之響應性等位基因之核酸特異性雜合的探針。在另一實施例中，核酸包含兩種或更多種選自表1中所闡釋之群之SNP。在另一實施例中，核酸包含2種、3種、4種、5種、6種、7種、8種或9種或更多種選自表1中所闡釋之群之SNP。

在另一實施例中，一或多種探針在嚴格條件下與包含SNP rs 8832及/或rs 1050中之響應性等位基因之核酸特異性雜合。

在另一實施例中，一或多種探針及/或引物包含用於核酸擴增反應之探針及/或引物。

分析技術、診斷方法及產生可傳輸形式之資訊之方法

所揭示方法可用於治療、預防或改善氣喘疾病以及預測氣喘患者響應於利用IL-13拮抗劑之治療之可能性。該等方法尤其採用測定患者在來自該患者之樣品中是否具有AIR標記物。

可藉由任何適用之習用方式分析來自患者之生物樣品中AIR標記物之存在，該方式將視特定標記物是落在外顯子、內含子、mRNA之非編碼部分還是非編碼基因體序列內來選擇。

可使用多種生物樣品鑑別等位基因或蛋白質之存在、基因或蛋白質之表現量及蛋白質之活性，例如，血液、滑液、血沉棕黃層、血清、血漿、淋巴、糞便、尿液、淚液、唾液、腦脊髓液、頰部拭子、

痰或組織。生物樣品內之各種來源可用於所揭示方法，例如，可分析自生物樣品獲得之基因體DNA以檢測AIR標記物，或可分析AIR標記物之產物，例如，自生物樣品獲得之核酸產物(例如，DNA，mRNA前體、mRNA、微小RNA等)及多肽產物(例如，所表現蛋白質)。

本發明發現涵蓋表1之各種AIR標記物可用於預測某些患者對藉由IL-13拮抗作用之治療之響應的測定。表1中之SNP大部分發現於基因體DNA及內含子中，從而可藉由探詢(例如) mRNA前體或基因體DNA來測定患者之等位基因狀態。然而，可藉由分析基因體DNA、RNA及/或蛋白質序列來測定與外顯子位置相應之AIR標記物之存在。因此，熟習此項技術者將理解可藉由視情況分析AIR標記物之核酸產物、AIR標記物之多肽產物或AIR標記物之等效遺傳標記物來鑑別受試者是否具有給定AIR標記物。在較佳實施例中，分析AIR標記物之基因體序列以測定受試者是否具有AIR標記物。

多種方法及器件可用於鑑別AIR標記物或多型性之存在，其存在導致表現量、所編碼蛋白質含量或蛋白質活性程度降低。可藉由業內熟知之方法(例如，苯酚/氯仿提取、來自GentAS Systems (Qiagen, CA)之PUREGENE DNA®純化系統)自生物樣品來製備用於SNP檢測之DNA (基因體及cDNA)。檢測DNA序列可包括檢驗位於該區域內之有義鏈或反義鏈處之核苷酸。可使用序列特異性探針(例如，來自Taqman、Beacons、Scorpions之水解探針；或檢測標記物或多型性之雜合探針)自由PCR獲得之DNA (基因體或cDNA)檢測患者中多型性之存在。為檢測多型性，可設計序列特異性探針，從而其與所關注等位基因之基因體DNA或(在一些情形下)所關注RNA特異性雜合。可基於參見在：www.ncbi.nlm.nih.gov/snp獲得之NCBI SNP資料庫之上下文序列設計針對多型性位點(例如，SNP)之引物及探針。該等探針可經標記用於由特異性結合探針之第二可檢測分子直接檢測或接觸。亦可

藉由DNA結合劑檢測PCR產物。然後可藉由業內可用之任一DNA測序方法對該等PCR產物進行測序。另一選擇為，可藉由使用任一測序方法(例如但不限於，桑格測序(Sanger-based sequencing)、焦磷酸測序或二代測序)進行測序來檢測等位基因之存在(Shendure J.及Ji, H., *Nature Biotechnology* (1998)，第26卷，Nr 10，第1135頁至第1145頁)。用於SNP之最佳化等位基因辨別分析可購自Applied Biosystems (福斯特市(Foster City)，加利福尼亞(California)，美國(USA))。

可應用各種技術來探詢特定多型性(例如，SNP)，包括(例如)基於雜合之方法，例如動態等位基因特異性雜合(DASH)基因分型、藉助分子信標之多型性位點(例如，SNP)檢測(Abravaya K.，等人(2003) *Clin Chem Lab Med.* 41:468-474)、Luminex xMAP技術®、Illumina Golden Gate®技術及市售高密度寡核苷酸SNP陣列(例如，Affymetrix Human SNP 5.0 GeneChip®實施可跨越500,000個人類SNP進行基因分型之全基因體分析)、來自Illumina之BeadChip®套組(例如Human660W-Quad及Human 1.2M-Duo)；基於酶之方法，例如限制性片段長度多型性(RFLP)、基於PCR之方法(例如，四引物ARMS-PCR)、Invader分析(Olivier M. (2005) *Mutat Res.* 573(1-2):103-10)、各種引物延伸分析(納入檢測格式中，例如，MALDI-TOF質譜、電泳、墨點法及ELISA類方法)、TaqMan®分析及寡核苷酸連接酶分析；及其他擴增後方法，例如，單鏈構象多型性之分析(Costabile等人(2006) *Hum. Mutat.* 27(12):1163-73)、溫度梯度凝膠電泳(TGGE)、變性高效液相層析、高解析度熔解分析、DNA失配結合蛋白分析(例如，來自水生棲熱菌(*Thermus aquaticus*)之MutS 蛋白以不同親和力結合不同單核苷酸失配且可用於毛細管電泳來區分所有六組失配)、SNPLex® (購自Applied Biosystems之專用SNP檢測系統)、毛細管電泳、質譜及各種測序方法(例如，焦磷酸測序及二代測序)等。用於

SNP基因分型之市售套組包括(例如) Fluidigm Dynamic Array® IFCs (Fluidigm)、TaqMan® SNP基因分型分析(Applied Biosystems)、MassARRAY® iPLEX Gold (Sequenom)、Type-it Fast® SNP探針PCR套組(Quiagen)等。

在一些實施例中，使用雜合分析檢測患者中多型性位點(例如 SNP)之存在。在雜合分析中，基於來自樣品之核酸與互補核酸分子(例如，寡核苷酸探針)雜合之能力來測定遺傳標記物之存在。可使用各種雜合分析。在一些分析中，藉由使所結合探針可視化(例如，北方或南方分析)直接檢測探針與所關注序列之雜合。在該等分析中，分離DNA (南方分析)或RNA (北方分析)。然後使用一系列在基因體中很少裂解且並不接近所分析標記物中之任一者之限制酶來裂解DNA或RNA。然後分離(例如，在瓊脂糖凝膠上) DNA或RNA，並轉移至膜中。使經標記(例如，藉由納入放射線核苷酸或結合劑(例如，SYBR® Green))之一或多個探針與膜在低-、中-或高嚴格條件下接觸。去除未結合探針且藉由使經標記探針可視化來檢測結合之存在。在一些實施例中，可使用陣列(例如MassARRAY®系統(Sequenom, San Diego, California, USA))來對個體進行基因分型。

亦可修改傳統基因分型方法以用於基因分型。該等傳統方法包括(例如) DNA擴增技術(例如PCR及其變體)、直接測序、與Luminex xMAP®技術聯用之SSO雜合、SSP分型及SBT。

序列特異性寡核苷酸(SSO)分型使用PCR靶擴增，將PCR產物與珠粒上之一組固定之序列特異性寡核苷酸雜合，藉由顏色形成檢測結合探針之擴增產物，隨後進行數據分析。熟習此項技術者應理解，可使用各種市售套組實施所闡述之序列特異性寡核苷酸(SSO)雜合，例如由One Lambda公司(Canoga Park, CA)提供之彼等或與Luminex®技術(Luminex, 公司, TX)聯用之Lifecodes HLA分型套組(Tepnel Life

Sciences公司)。LABType® SSO係反向SSO (rSSO) DNA分型解決方案，其使用序列特異性寡核苷酸(SSO)探針及編碼顏色之微球體來鑑別HLA等位基因。藉由聚合酶鏈反應(PCR)擴增靶DNA且然後與珠粒探針陣列雜合。該分析發生於96孔PCR板之單一孔中；因此，可一次性處理96份樣品。

序列特異性引物(SSP)分型係基於PCR之技術，其使用序列特異性引物用於基於DNA之分型。SSP方法係基於以下原理：在受控PCR條件下，只有與靶序列具有完全匹配序列之引物才可得到擴增產物。設計等位基因序列特異性引物對來選擇性擴增對單一等位基因或等位基因群具有特異性之靶序列。可在瓊脂糖凝膠上使PCR產物可視化。匹配存在於所有樣品中之非等位基因序列之對照引物對用作內部PCR對照以驗證PCR擴增之效率。熟習此項技術者應理解，可使用各種市售套組(例如Olerup SSP™套組(Olerup, PA)或(Invitrogen)，或Allset及™Gold DQA1低解析度SSP (Invitrogen))實施使用所闡述之序列特異性引物分型之低、中及高解析度基因分型。

基於序列之分型(SBT)係基於以下過程：PCR靶擴增，隨後係PCR產物測序及數據分析。

在一些情形下，亦可使用RNA (例如，成熟mRNA、mRNA前體)來測定特定多型性(參見表1)之存在。可使用業內已知之任一方法來分析自給定基因轉錄之mRNA序列，包括(但不限於)北方墨點分析、核酸酶保護分析(NPA)、原位雜合、逆轉錄-聚合酶鏈反應(RT-PCR)、RT-PCR ELISA、基於TaqMan之定量RT-PCR (基於探針之定量RT-PCR)及基於SYBR green之定量RT-PCR。在一實例中，mRNA含量檢測涉及使分離之mRNA與可與由AIR標記物編碼之mRNA雜合之寡核苷酸接觸。核酸探針通常可為(例如)全長cDNA或其部分(例如長度為至少7個、15個、30個、50個或100個核苷酸之寡核苷酸)且足以在嚴

格條件下與mRNA特異性雜合。mRNA與探針之雜合指示所論述標記物得以表現。在一種格式中，將RNA固定於固體表面上並(例如)藉由使分離之RNA在瓊脂糖凝膠上移動並將mRNA自凝膠轉移至膜(例如硝化纖維素)上與探針接觸。將擴增引物定義為可黏著至基因之5'或3'區域(分別正鏈及負鏈，或反之亦然)且在其間含有較短區域的核酸分子對。一般而言，擴增引物之長度為約10個至30個核苷酸且側接有長度為約50個至200個核苷酸之區域。在適當條件及使用適當試劑下，該等引物允許擴增包含側接該等引物之核苷酸序列之核酸分子。可藉由任一適宜方法檢測PCR產物，包括(但不限於)凝膠電泳及使用DNA特異性染色劑染色或與經標記探針雜合。

可藉由量測RNA (或逆轉錄cDNA)含量使用各種技術來測定基因之表現量，例如基於PCR之分析、逆轉錄酶PCR (RT-PCR)分析、北方墨點等。亦可採用利用競爭性模板之標準化混合物之定量RT-PCR。

在一些情形下，可藉由分析AIR標記物(參見表1)之多肽產物來測定患者中多型性之存在。可使用業內已知之任一方法檢測多肽產物，包括(但不限於)免疫細胞化學染色、ELISA、流式細胞術、西方墨點、分光光度法、HPLC及質譜。

本發明亦涵蓋使用對於蛋白質或多肽具有特異性之固定抗體。可將抗體固定於各種固體載體上，例如磁性或層析基質顆粒、分析地點之表面(例如微量滴定孔)、固體基板材料之片件(例如塑膠、耐綸(nylon)、紙)及諸如此類。可藉由在固體載體上以陣列形式塗覆抗體或複數種抗體來製備分析條帶。然後可將此條帶浸泡至測試樣品中且然後藉助洗滌及檢測步驟快速處理以生成可量測信號(例如著色斑點)。

在兩步驟分析中，可將AIR標記物之固定多肽產物或ERAP1蛋白質與未標記抗體一起培育。然後使未標記抗體複合物(若存在)結合至 s

對於未標記抗體具有特異性之第二經標記抗體。洗滌樣品並分析標記之存在。用於標記抗體之標記物選擇將視應用而有所變化。然而，熟習此項技術者可易於確定標記物之選擇。可使用放射性原子、酶、發色團或螢光部分或比色標誌標記之抗體。標誌性標記之選擇亦取決於期望之檢測限制。酶分析(ELISA)通常允許檢測藉由酶標誌複合物與酶受質之相互作用形成之著色產物。放射性原子之一些實例包括 ^{32}P 、 ^{125}I 、 ^3H 及 ^{14}P 。酶之一些實例包括山葵過氧化酶、鹼性磷酸酶、 β -半乳糖苷酶及葡萄糖-6-磷酸去氫酶。發色團部分之一些實例包括螢光素及玫瑰紅。可藉由業內已知之方法使抗體偶聯至該等標記。例如，可藉助偶合劑(例如二醛、碳化二亞胺、二馬來醯亞胺及諸如此類)使酶及發色團分子偶聯至抗體。另一選擇為，偶聯可藉助配體-受體對發生。一些適宜配體-受體對包括(例如)生物素-抗生物素或-鏈黴抗生物素及抗體-抗原。

在一態樣中，本發明涵蓋使用夾心式技術來檢測生物樣品中之多肽產物。該技術需要兩種能夠結合所關注蛋白質之抗體：例如，一種固定於固體載體上且一種在溶液中處於游離狀態，但使用某一可容易檢測之化合物進行標記。可用於第二抗體之化學標記之實例包括(但不限於)放射性同位素、螢光化合物及酶或在暴露於反應物或酶受質時生成著色或電化學活性產物之其他分子。在將含有多肽產物之樣品置於此系統中時，多肽產物結合至固定抗體及經標記抗體。結果得到位於載體表面上之「夾心式」免疫複合物。藉由洗滌掉未結合樣品組份及過量經標記抗體並量測在載體表面上與蛋白質複合之經標記抗體之量來檢測複合蛋白。夾心式免疫分析具有高度特異性且極其敏感，限制條件係使用具有良好檢測限制之標記。

較佳地，藉由放射性免疫分析或酶聯免疫分析、競爭性結合酶聯免疫分析、斑點墨點、西方墨點、層析、較佳地高效液相層析

(HPLC)或業內已知之其他分析來檢測樣品中多肽產物之存在。可直接或間接檢測抗體與蛋白質或多肽之特異性免疫學結合。

熟習此項技術者通常實踐斑點墨點以使用抗體作為探針來檢測期望蛋白質(Promega Protocols and Applications Guide, 第二版, 1991, 第263頁, Promega公司)。使用斑點墨點裝置將樣品施加至膜上。將經標記探針與膜一起培育, 且檢測蛋白質之存在。

熟習此項技術者已熟知西方墨點分析(Sambrook等人, Molecular Cloning, A Laboratory Manual, 1989, 第3卷, 第18章, Cold Spring Harbor實驗室)。在西方墨點中, 藉由SDS-PAGE分離樣品。將凝膠轉移至膜中。將膜與經標記抗體一起培育以用於檢測期望蛋白質。

上文所闡述之分析涉及(例如, 但不限於)免疫墨點、免疫擴散、免疫電泳或免疫沈澱。在一些實施例中, 使用自動分析器來測定AIR標記物之存在。

在實施本文所闡述需要測定AIR標記物之存在之方法中之任一者時, 可藉由查閱含有關於患者遺傳組合物之足夠資訊之數據儲存庫來進行該測定以測定患者是否具有所關注標記物。較佳地, 數據儲存庫列示個體中存在(或不存在)之基因型。數據儲存庫可包括個體之患者記錄、醫學數據卡、可藉由電腦或其他電子或非電子媒介(可在其上儲存適當資訊或遺傳數據)獲得之檔案(例如, 平ASCII檔案)。如本文所使用, 醫學數據卡係可攜式儲存器件, 例如磁性數據卡、智能卡(其具有板上處理單元且由諸如Siemens of Munich, 德國等供貨商出售)或快閃記憶卡。若數據儲存庫係可藉由電腦獲得之檔案, 則該等檔案可位於各種媒介上, 包括: 伺服器、用戶端, 硬碟、CD、DVD、個人數位助理(例如智能電話、手掌领航員(Palm Pilot))、磁帶記錄器、壓縮磁碟、電腦內部ROM (唯讀記憶體)或網際網路或全球資訊網。熟習此項技術者應明瞭用於儲存可由電腦獲得之檔案之其他 s

媒介。

通常，一旦測定AIR標記物或多型性之存在後，可通知醫師或遺傳顧問或患者或其他研究者結果。具體而言，可將該結果編製(cast)於可傳輸形式之資訊中，可將該資訊傳送或傳輸至其他研究者或醫師或遺傳顧問或患者。此一形式可有所變化且可有形或無形。所測試個體之結果可以呈現描述性陳述、圖、相片、圖表、影像或任何其他視覺形式。例如，PCR產物之凝膠電泳之影像可用於闡釋該等結果。顯示在個體等位基因中出現變體之位置之圖亦用於指示測試結果。關於AIR標記物或多型性之存在之陳述亦可用於指示測試結果。陳述及視覺形式可記錄於有形媒介(例如紙、電腦可讀媒介(例如軟磁碟、壓縮磁碟等))或無形媒介(例如，呈網際網路或內部網路上之電子郵件或網址形式之電子媒介)上。另外，結果亦可以聲音形式記錄並藉助任何適宜媒介(例如，類似物或數位電纜線、光纖電纜等)傳輸經由電話、傳真、無線移動電話、網際網路電話及諸如此類傳輸。所有該等形式(有形及無形)均可構成「可傳輸形式之資訊」。因此，關於測試結果之資訊及數據可在世界任一地方產生且可傳輸至不同位置。例如，在國外實施基因分型分析時，可以上述可傳輸形式產生並編製關於測試結果之資訊及數據。因此，可將呈可傳輸形式之測試結果輸入美國。因此，本發明亦涵蓋產生含有個體中AIR標記物或多型性之存在或不存在之可傳輸形式之資訊的方法。此形式之資訊可用於預測患有氣喘之患者之響應，並用於基於該資訊選擇性治療患者。

治療方法及IL-13拮抗劑之用途

所揭示方法允許臨床醫師為氣喘患者提供個人化療法，即其允許測定是否利用IL-13拮抗劑選擇性治療患者。以此方式，在罹患氣喘之患者之整個群體中，臨床醫師可最大化IL-13拮抗作用之益處並最小化其風險。應理解，IL-13拮抗劑可用於治療、預防或改善氣

喘，包括中度或重度氣喘。IL-13拮抗劑可活體外、離體使用，或納入醫藥組合物中並活體內投與給個體(例如，人類患者)以治療、改善或預防(例如)具有AIR標記物之患者之氣喘。醫藥組合物可經調配以與其預期投與途徑相容(例如，經口組合物通常包括惰性稀釋劑或食用載劑)。投與途徑之其他非限制性實例包括非經腸(例如靜脈內)、真皮內、皮下、經口(例如吸入)、經皮(局部)、經黏膜及直腸投與。與每一預期途徑相容之醫藥組合物已為業內所熟知。

IL-13拮抗劑在與醫藥上可接受之載劑組合時可用作醫藥組合物。此一組合物除IL-13拮抗劑外亦可含有載劑、各種稀釋劑、填充劑、鹽、緩衝劑、穩定劑、增溶劑及業內熟知之其他材料。載劑之特性將取決於投與途徑。

通常將抗體(例如，IL-13之抗體)調配成備用於非經腸投與之水性形式或用於在投與之前使用適宜稀釋劑重構之凍乾物形式。在所揭示方法及用途之一些實施例中，將IL-13拮抗劑(例如，IL-13抗體)調配成凍乾物。適宜凍乾物調配物可重構於小液體體積(例如，2 ml或更小)中以容許皮下投與並可為溶液提供低程度之抗體聚集。抗體用作藥品之活性成份之用途現在甚為普遍，包括產物HERCEPTIN® (曲妥珠單抗(trastuzumab)), RITUXAN® (利妥昔單抗(rituximab)), SYNAGIS® (帕利珠單抗(palivizumab))等。用於將抗體純化至醫藥級之技術已為業內所熟知。當藉由靜脈內、皮膚或皮下注射投與治療有效量之IL-13拮抗劑時，IL-13拮抗劑將呈無熱原之非經腸可接受之溶液形式。用於靜脈內、皮膚或皮下注射之醫藥組合物除IL-13拮抗劑外亦可含有等滲媒劑，例如氯化鈉、林格氏右旋糖(Ringer's, dextrose)、右旋糖及氯化鈉、乳酸林格氏液或業內已知之其他媒劑。

當然，適當劑量將視(例如)欲採用之特定IL-13拮抗劑、宿主、投與模式及所治療病狀之性質及嚴重性以及患者已經歷之先前治療之

性質而有所變化。最後，主要健康護理提供者將決定治療每一個別患者所用之IL-13拮抗劑之量。

在實踐本發明之一些治療方法及用途時，將治療有效量之IL-13拮抗劑投與給患者，例如哺乳動物(例如，人類)。儘管應理解所揭示方法提供視AIR標記物之存在而選擇性治療患者，但此並不排除若最終利用IL-13拮抗劑治療患者，則該IL-13拮抗劑療法必然為單一療法。的確，若患者經選擇用於利用IL-13拮抗劑之治療，則可參照本發明方法單獨或與用於治療氣喘之其他治療法組合投與IL-13拮抗劑。IL-13拮抗劑在與一或多種其他治療法共投與時可與另一治療法同時投與或依序投與。若依序投與，則主治醫師將決定投與IL-13拮抗劑以及其他治療法之適當順序以及用於共遞送之適當劑量。

可非經腸、經靜脈內(例如，至肘前或其他週邊靜脈)、經肌內或經皮下方便地投與IL-13拮抗劑。使用本發明醫藥組合物之靜脈內(i.v.)療法的持續時間將視所治療疾病之嚴重性及每一個別患者之情況及個人響應而有所變化。亦涵蓋使用本發明醫藥組合物之皮下(s.c.)療法。健康護理提供者將決定使用本發明醫藥組合物之靜脈內或皮下療法之適當持續時間及療法之投與定時。

劑量可基於重量(例如，3 mg/kg、10 mg/kg、15 mg/kg)或作為固定標(例如，75 mg、150 mg、300 mg、1000 mg)來遞送，此取決於疾病之嚴重性。

套組

本發明亦涵蓋用於檢測來自氣喘患者之生物樣品(測試樣品)中之AIR標記物或多型性、表現量、蛋白質含量或活性的套組。該等套組可用於預測患有氣喘之患者是否可能響應(或具有更大響應)於利用IL-13拮抗劑之治療。例如，套組可包含能夠檢測生物樣品中之AIR標記物或多型性、彼等等位基因之產物及/或彼等等位基因之等效遺傳標

記物的探針(例如，寡核苷酸、抗體、經標記化合物或其他試劑)。套組亦可包含用於提供預測患者將響應於利用IL-13拮抗劑之治療之可能性的說明書。

探針可與基因體序列、核酸產物或多肽產物特異性雜合。實例性探針係與表1之響應性等位基因特異性雜合之寡核苷酸或經偶聯寡核苷酸；能夠區分由所揭示等位基因編碼之多肽產物之抗體；引物-延伸寡核苷酸、等位基因特異性引物、等位基因特異性引物、等位基因特異性探針及引物延伸引物之組合等。視情況，套組可含有靶向內部控制等位基因之探針，該內部控制等位基因可為一般群體中所呈現之任何等位基因。設計之內部控制等位基因之檢測以確保套組之性能。所揭示套組亦可包含(例如)緩衝劑、防腐劑或蛋白質穩定劑。套組亦可包含用於檢測可檢測試劑(例如，酶或受質)所需之組件。套組亦可含有可分析並與所含測試樣品進行比較之對照樣品或一系列對照樣品。套組之每一組件通常封閉於個別容器內，且各種容器中之所有皆與使用說明書一起位於單一包裝內。

該等套組亦可包含IL-13拮抗劑或包含IL-13拮抗劑之醫藥組合物。該等套組可用於使用IL-13拮抗劑選擇性治療氣喘患者。另外，該等套組可包含用於投與IL-13拮抗劑之構件(例如，注射器及小瓶、預填充注射器、預填充筆)及使用說明書。該等套組可含有用於治療氣喘(例如，用於與所封閉IL-13拮抗劑組合遞送)之其他治療劑。

片語「用於投與之構件」用於指示用於向患者全身性投與藥物之任一可用器具，包括(但不限於)預填充注射器、小瓶及注射器、注射筆、自動注射器、靜脈內滴注器及靜脈內袋、幫浦等。使用該等物項，患者可自投與藥物(即，自身投與藥物)或醫師可投與藥物。

本發明之一或多個實施例之細節闡釋於以上隨附描述中。儘管任何類似或等效於彼等本文所述方法及材料之方法及材料皆可用於本 s

發明之實踐或測試中，但目前所述係較佳方法及材料。根據描述及申請專利範圍可明瞭本發明之其他特徵、目標及優點。在說明書及隨附申請專利範圍中，除非上下文另外明確指明，否則單數形式包括複數個指示物。除非另外定義，否則本文所使用之所有技術及科學術語皆具有與熟習本發明所屬技術領域者通常所理解相同之含義。本發明中之所有數值範圍皆包括終點及其間之所有整數、小數及分數，無論具體闡述與否。本說明書中之所有專利及出版物以引用方式併入。呈現以下實例以更全面地說明本發明之較佳實施例。該等實例決不應理解為限制所揭示專利內容之範疇，其係藉由隨附申請專利範圍界定。

實例

縮寫列表

縮寫	解釋
ACQ	氣喘控制問卷
DNA	去氧核糖核酸
FEV	用力呼氣容積
IgE	免疫球蛋白E
IL-4	介白素4
IL4-Rα	介白素4受體 α
IL-13	介白素13
LD	連鎖不平衡
SNP	單核苷酸多型性
UTR	非轉譯區

實例1：

IL-13拮抗劑之鑑別

對於本發明之目的，與本文所闡釋之指定抗IL-13抗體(包括抗體01951/G12 (SEQ ID NO:14及16))競爭結合至IL-13之IL-13拮抗劑可藉由業內已知並在以下方法中進一步闡述之方法來鑑別。

所有實驗係使用 Biacore T200 儀器來實施。分別使用 Biacore T200 對照軟體及 Biacore T200 評估軟體用於實驗之對照及分析。

第1部分：使用胺偶合方法將抗人類IL-13抗體01951/G12固定至CM5感測器晶片表面。簡言之，利用EDC/NHS使量測流動槽之表面活化，接著係存於10 mM乙酸鈉pH 4.5中之50 µg/mL抗體01951/G12之700秒添加。基於先前實驗，該等緩衝液及注射時間足以允許晶片表面經抗體01951/G12飽和，但若在700秒之前實現飽和，則可減少暴露時間。可藉由緩衝液探索(buffer scouting)來測定可能較適宜之固定緩衝液。隨後用乙醇胺阻斷任何剩餘活性表面基團。用EDC/NHS使參照流動槽之表面活化，且隨後用乙醇胺阻斷而不固定蛋白質(空白固定)，或藉由添加同型對照抗體使其阻斷。基於使用抗體01951/G12固定之先前研究，適當運行緩衝液係含有10 mM HEPES、150 mM NaCl、0.005% (w/v)聚山梨醇酯20及3 mM EDTA之HBS-EP+ (pH 7.4)。

第2部分：實施人類IL-13之濃度-響應曲線以測定IL-13在後續表位競爭研究中使用之適當濃度。將IL-13稀釋於運行緩衝液中，並以25 nM起始，以30 µL/min之流速流經參照及量測流動槽。可以實驗方式調整最佳化速率。締合時間為120秒且解離時間為120秒，但若需要進行親和力(K_D)量測，則解離時間可延長至180秒或600秒或更長時間。以10 µL/min之流速進行30秒10 mM甘胺酸(pH 2.0)注射使得表面再生對於在解離步驟後自抗體01951/G12移除IL-13係必要的。有時需要在第一再生步驟後立即進行第二再生步驟。在IL-13之以下稀釋系列範圍內重複該等步驟：25 nM、12.5 nM、6.25 nM、3.13 nM、1.56 nM及0 nM。基於先前研究，此稀釋系列將適於初步試驗，但可需要相應地作出改變。運行兩次稀釋系列以提供 $n = 2$ 。分析溫度為25°C。運行緩衝液為含有10 mM HEPES、150 mM NaCl、0.005% (w/v)及聚_S

山梨醇酯20之HBS-P+ (pH 7.4)。使用1:1結合模型並利用Biacore T200評估軟體評估數據。

第3部分：使用雙重結合方法進行表位競爭研究。基於來自第2部分之數據，以30 $\mu\text{L}/\text{min}$ 注射給出與抗體01951/G12大約50 RU之結合之濃度之IL-13並持續120秒。無NO解離時期；替代地，接著立即以相比於IL-13 10倍*大之濃度進行競爭者抗IL-13抗體之第二注射。關於IL-25之先前研究已使用120秒之締合時期，流速為30 $\mu\text{L}/\text{min}$ ，此反映IL-13添加。使用與抗體01951/G12不同之表位結合至IL-13之任何競爭者將給出結合響應。使用與抗體01951/G12相同之表位結合至IL-13之彼等將不存在結合響應。可變解離時期可適用，接著係酸性洗滌步驟以移除IL-13及競爭者添加物二者。可逆轉此步驟，其中將競爭者抗體固定至晶片表面並將抗體01951/G12作為第二添加物，以證實結果。運行緩衝液為含有10 mM HEPES、150 mM NaCl、0.005 % (w/v)及聚山梨醇酯20之HBS-P+ (pH 7.4)。

實例2

抗體01951/G12表位殘基之鑑別：

肽定位：

在肽層面探測IL-13之序列以鑑別與抗體01951/G12之結合位點。合成35個15聚體肽以利用12殘基重疊自N末端開始掃描整個序列。肽之合成、肽陣列載玻片之製備、與抗體之培育及數據分析係如Maksimov等人(PLoS ONE 7(3): e34212)所闡述進行。

結果顯示於表4中。在第1行報導每一肽針對對照不相關人類抗體且在第2行報導每一肽針對抗體01951/G12之所觀測之結合信號強度(光單元)。認為10000個光單元以上之信號係顯著的。在34個肽之組中有2個重疊肽產生臨限值以上之信號，即肽22 (TQRMLSGFCPHKVSA) (SEQ ID NO: 31) 及肽23

(MLSGFCPHKVSAGQF) (SEQ ID NO: 32)。兩個肽之間之重疊序列係
MLSGFCPHKVSA (SEQ ID NO: 33)。

為驗證此序列對於IL-13與抗體01951/G12之結合而言甚為重要並
最終使其進一步變窄，實施取代分析。對於此取代分析，創建其中針
對每一可能之20種標準胺基酸交換序列MLSGFCPHKVSA之每一殘基
的肽陣列，從而創建一組240個肽，其中228個肽每次與原始序列相差
1個胺基酸。利用抗體01951/G12之結合研究之結果係呈現於圖1中。
方框區指示當經幾乎任一胺基酸置換時結合皆強烈減少或廢止之殘
基。因此，此序列段FCPHKV (SEQ ID NO: 67)代表IL-13與抗體
01951/G12之最小結合區。

用於肽定位之IL-13之序列：

SPGPVPPSTALRELIEELVNITQNQKAPLCNGSMVWSINLTAGMY
CAALES LINVSGCSAIEKTQRM LSGFCPHKVSAGQFSSLHVRDTKIEV
AQFVKDLLLHLKKLFREGRFN (SEQ ID NO: 34)。

表4：對照抗體及靶抗體(抗體01951/G12)培育之IL-13之肽之信
號強度(光單元)。

索引	肽序列	SEQ ID NO:	對照抗體修正 平均值	抗體01951/G12 修正平均值
1	SPGPVPPSTALRELI	35	44.3	-1072.3
2	PVPPSTALRELIEEL	36	-9	-1133.3
3	PSTALRELIEELVNI	37	-7.3	-210.5
4	ALRELIEELVNITQN	38	-16.7	-207
5	ELIEELVNITQNQKA	39	-2.7	-131
6	EELVNITQNQKAPLC	40	1.5	1
7	VNITQNQKAPLCNGS	41	28	-405
8	TQNQKAPLCNGSMVW	42	41.7	-350.5
9	QKAPLCNGSMVWSIN	43	27.7	-518

10	PLCNGSMVWSINLTA	44	-6.5	-982
11	NGSMVWSINLTAGMY	45	-5	-131.5
12	MVWSINLTAGMYCAA	46	19	56.5
13	SINLTAGMYCAALES	47	-1.5	-757
14	LTAGMYCAALESLIN	48	1	-99.7
15	GMYYCAALESINVSG	49	1	-987
16	CAALESINVSGCSA	50	1	-586.7
17	LESINVSGCSAIEK	51	18.7	-340.3
18	LINVSGCSAIEKTQR	52	12.5	-539.3
19	VSGCSAIEKTQRMLS	53	15	-830.3
20	CSAIEKTQRMLSGFC	54	26	-721.3
21	IEKTQRMLSGFCPHK	55	101	2207
22	TQRMLSGFCPHKVSA	31	123	38568
23	MLSGFCPHKVSAGQF	32	23	48125.7
24	GFCPHKVSAGQFSSL	56	3.3	492.7
25	PHKVSAGQFSSLHVR	57	-24.7	-386.5
26	VSAGQFSSLHVSRDTK	58	3.7	-778.5
27	GQFSSLHVSRDTKIEV	59	-10.5	-291
28	SSLHVSRDTKIEVAQF	60	-6	-170
29	HVSRDTKIEVAQFVKD	61	-17	-734.3
30	DTKIEVAQFVKDLLL	62	-13	-438.5
31	IEVAQFVKDLLLHLK	63	-11	-810
32	AQFVKDLLLHLKKLF	64	25	-746.5
33	VKDLLLHLKKLFRFG	65	19	-203
34	LLLHLKKLFRFGRFN	66	322	7152.3

實例3

IL4-R α SNP之藥物遺傳學分析及AIR標記物1-9之發現：

抗體01951/G12係完全人類IgG1/ κ 單株抗體。CQAX576A2207係II期臨床研究以評估當添加至現有氣喘療法時抗體01951/G12在多個劑量後在患有中度至重度持續性氣喘之患者中之有效性及安全性。

為評價在利用抗體01951/G12治療之患者中IL4-R α 基因中若干單核苷酸多型性(SNP)與氣喘惡化之風險的關聯，自CQAX576A2207試驗中登記之患者收集DNA並在該等樣品中對IL4-R α 基因中之9種SNP進行基因分型。實施關聯之統計學測試以評價在利用抗體01951/G12治療之患者中IL4-R α 基因中之SNP與氣喘惡化風險以及與其他氣喘臨床終點之關聯之證據。

以此方式，實施藥物遺傳學分析，其目標為：

- 以評估在利用抗體01951/G12治療之患者中IL4-R α 基因中之某些SNP與氣喘惡化之風險是否有關。
- 以評估在利用抗體01951/G12治療之患者中某些SNP與ACQ7評分、FEV1或IgE含量相對於基線之變化是否有關。
- 以評估在利用安慰劑治療之患者中上文所提及之SNP與氣喘惡化之風險是否有關。

研究群體

研究群體包括滿足以下標準之所有患者：

- 包括在CQAX576A2207臨床研究之最終分析群體中，且
- 在臨床資料庫中所記錄之性別與以遺傳學角度所測定之性別之間不存在差異

所評估之臨床終點

實施統計學測試以評估IL4-R α SNP與以下氣喘臨床終點之間之關聯之證據：

- 自基線至第24週至少一種氣喘惡化之發生風險
- 自基線至第24週ACQ7評分之平均絕對變化
- 自基線至第24週FEV1值之平均百分比變化
- 自基線至第24週IgE含量之平均百分比變化

所評估之遺傳標記物：

S

採用以下策略鑑別與對抗體01951/G12之響應有關之遺傳變體。

候選人SNP

此藥物遺傳學分析中所用之9種SNP與其相對於基因結構之位置及(在適用情況下)其對基因產物之影響一起列示於表5中。其以在基因上之物理順序進行列示。使用Taqman平臺對SNP進行基因分型。

表 5

SNP	與匹曲白滯素位置 (pitrakinra)惡化風險 之報導關聯		影響
rs1110470	是	內含子	未知
rs3024530	是	內含子	未知
rs1805010	是	外顯子	胺基酸變化(I→V)
rs2239347	是	內含子	未知
rs1805011	否	外顯子	胺基酸變化(E→A)
rs1801275	否	外顯子	胺基酸變化(Q→R)
rs8832	是	3' UTR	一些UTR變體影響 基因轉錄量
rs1029849	是	3'近端	未知
rs4787956	是	3'近端	未知

UTR，非轉譯區

全基因體關聯研究(GWAS)

使用Illumina Omni5Exome晶片實施全基因體關聯研究(GWAS)。評估定位至IL4-Rα基因之所有SNP。

IL4-Rα基因之重新測序

對IL4-Rα基因中之大部分外顯子以及3'非轉譯區(UTR)實施桑格測序，以測定是否可鑑別出Omni5Exome晶片上不包括之任何其他變體。

基因分型方法：

候選人SNP

遵循供應商推薦之方案 TaqMan SNP 基因分型分析方案 (PN 4332856D) 並使用 Taqman Universal Master mix (PN 4326614) 來準備樣品反應，其中有以下例外：

- 每個反應 2.00 uL 之 DNA 樣品
- 每個反應添加 0.25 ul 之水

在 GeneAmp 9700 (Applied Biosystems) 上使用供應商方案中指定之程式執行 PCR 反應，其中有以下例外：

- 具有 50 個週期 (而非 40 個) 之使用標準熱剖面

在 ABI PRISM 7900HT 序列檢測系統上執行終點讀數，其中藉由 SNP Manager 及 SDS 2.2.2 (Applied Biosystems) 進行數據分析。

GWAS

使用 Illumina HumanOMNI5Exome 微陣列平臺生成 GWAS 之基因型數據。

IL4-R α 基因之重新測序

藉由桑格測序在 IL4R α (NT_010393.15) 中鑑別 SNP。使用攜帶 M13 通用序列標誌之獨特引物實施 PCR。利用獨特或通用引物及 BigDye 終止子 v3.1 (Applied Biosystems, 4337456) 對每一編碼區之擴增子進行雙向測序。利用 CleanSEQ (Beckman, A29154) 清理測序產物並在 3730xl 遺傳分析儀 (Applied Biosystems) 上與 POP-7 一起運行用於序列檢測。使用 PhredPhrap (University of Washington) 將跡線與來自 NCBI 之每一擴增子之參照序列進行比對且然後使用 Consed (University of Washington, 19.0 版本) 目測檢查其與標準序列之差異。記下序列變異並在可能情況下表徵任何相應編碼變化特徵。

統計學方法：

氣喘惡化風險之分析

藉助條件邏輯式回歸模型使用 SAS (9.3 版本) 中之 PROC LOGISTIC 且以國家作為製約因素來執行 SNP 與氣喘惡化風險之間之關聯之所有測試。所有測試經設計以評估基因型與惡化風險之間之加性關係之假設(以洛基量尺(logit scale))，此意味著異型接合子之中之風險係介於兩個同型接合類別內之風險之間。藉由將基因型指定為連續變量(等於患者所攜帶之次要(即，在 CQAX576A2207 樣品中較不常見)等位基因之拷貝數)來測試加性假設。

已知種族及族群係遺傳關聯研究中之常見混擾因素；如此，在可能的情況下在關聯測試中可適當地針對種族及族群進行調整。在 CQAX576A2207 研究中，種族及族群之分佈過於不平衡以至於不能針對該等因素進行調整，故替代地邏輯式回歸係以國家為條件作為彼等因素之替代物。

使用評分統計量評價統計學顯著性。針對多重檢驗不作任何調整。

ACQ7、FEV1 及 IgE 相對於基線之變化之分析

藉助線性模型使用 SAS (9.3 版本) 中之 PROC GENMOD 執行針對 SNP 與 ACQ7 相對於基線之絕對變化、FEV1 相對於基線之百分比變化及 IgE 相對於基線之百分比變化之間之關聯之所有測試。所有測試評估對基因型與終點之間之加性關係之假設，如 3.4.1 章節中所闡述。該模型中包括國家、特異響應性病史、維持口服皮質類固醇使用及相應終點基線值作為共變量。使用卡方測試(Wald chi-square test)評價統計學顯著性。針對多重檢驗不作任何調整。

評價總體顯著性之排列測試

實施排列測試評價可發現表 5 中頂部之 7 種 SNP 中之每一者(即排除底部之 2 種 SNP：rs1029849 及 rs4787956)具有之發現之可能性，在該同型接合基因型類別中若實際上在任一 SNP 與抗體 01951/G12 惡化

風險之間皆無任何關聯，則抗體01951/G12治療之患者中無任何惡化。

根據以下步驟進行排列測試：

- 對於第一排列，對於94抗體01951/G12治療之患者隨機排列惡化狀態(是/否)，使得仍然是94個患者中僅12個經歷惡化，但該12個患者係隨機選擇的。所有基因型數據保持不變。
- 使用此排列數據集，評估每一SNP以測定其是否具有其中無惡化之同型接合基因型類別。若發現所有7種SNP皆具有此一基因型類別，則給該排列數據集做標記來記錄該發現。
- 將前2個步驟重複1000次。經標記以指示7種SNP中之每一者具有無惡化之同型接合基因型類別之排列數據集之百分比代表此發現之經驗顯著性程度。因此，經標記數據集之小百分比將指示藉由隨機變化觀測到此一結果之低可能性，且將視為抗體01951/G12治療之患者中氣喘惡化之風險受IL4-R α 基因中之SNP影響的證據。

連鎖不平衡圖中之 r^2 平方值之計算

使用Haploview軟體(Barrett等人，2004)計算LD圖中之 r^2 值。

評價用於預測之最佳SNP數之交叉驗證分析

交叉驗證係可用於比較替代方法與建立之預測性模型以評價何種方法最可能產生具有最高預測性準確度之模型的統計學方法。該方法需要將可用患者組分成訓練組及測試組，將替代模型建立方法僅應用至訓練組，使用所得模型預測測試組中之患者之結果，及測定何種模型預測得最精確。將此程序重複多次，在各測試組間對預測計平均。若特定方法往往導致相比於其他方法較精確之預測，則表明此方法亦可產生當應用至其他研究時具有最高預測性準確度之模型。

在交叉驗證之此應用中，在針對下文所列示之每一模型建立方法測定所選SNP後，應用線性判別分析(LDA)來建立預測性模型。可 S

用於選擇之標記物組係由表5中所列示之頂部7種IL4-R α SNP中之6種組成。移除rs3024530，此乃因其與rs1805010幾乎完全相關。然後將該程序應用至利用抗體01951/G12治療之患者以比較以下模型建立方法：

- 包括來自2個連鎖不平衡(LD)區塊中每一者之最顯著SNP
- 包括上文所選擇之2種SNP以及次最顯著SNP
- 包括來自2個LD區塊中每一者之2種最顯著SNP
- 包括上文所選之4種SNP以及次最顯著SNP
- 包括所有6種SNP。

比較各結果以評估包括其他SNP之預測性模型是否可能具有相比於僅含有來自2個LD區塊中每一者之單一最顯著SNP之模型實質上較高之預測性準確度

結果：

IL4-R α SNP之基因型頻率

針對表5中所列示IL4-R α 基因中之9種SNP對總共94個抗體01951/G12治療之患者及102個安慰劑治療之患者進行基因分型。2個皆為安慰劑治療之患者存在差異在臨床資料庫中所記錄之性別與以遺傳學角度所測定之性別之間並自該分析移除。二者來自相同國家，此表明可能之樣品轉換(sample switch)。

將94個抗體01951/G12治療之患者中在研究期間經歷至少一種氣喘惡化之12個(12.8%)與100個安慰劑治療之患者中之23個(23.0%)相比。該分佈與每一SNP之哈溫平衡(Hardy-Weinberg equilibrium)一致。

表0-1抗體01951/G12及匹曲白滯素研究中之基因型頻率分佈

SNP	基因型頻率分佈	抗體01951/G12研究
		n (%)
rs1110470	GG	61 (31.4%)
	AG	97 (50.0%)
	AA	36 (18.6%)
rs3024530	AA	48 (24.7%)
	AG	106 (54.6%)
	GG	40 (20.6%)
rs1805010	AA	47 (24.5%)
	AG	105 (54.7%)
	GG	40 (20.8%)
rs2239347	AA	48 (24.7%)
	AC	98 (50.5%)
	CC	48 (24.7%)
rs1805011	AA	159 (82.4%)
	AC	31 (16.1%)
	CC	3 (1.6%)
rs1801275	AA	127 (65.5%)
	AG	56 (28.9%)
	GG	11 (5.7%)
rs8832	GG	58 (29.9%)
	AG	93 (47.9%)
	AA	43 (22.2%)
rs1029849	GG	68 (35.2%)
	AG	86 (44.6%)
	AA	39 (20.2%)
rs4787956	AA	71 (36.6%)
	AG	99 (51.0%)
	GG	24 (12.4%)

藉由組合抗體01951/G12及安慰劑組來計算基因型頻率。

5

IL4-R α SNP與惡化風險之間之關聯

在研究期間經歷至少一種氣喘惡化之抗體01951/G12治療之患者之比例係按照9種基因分型SNP中每一者之基因型類別以及對SNP與惡化風險之間之關聯之相應測試之顯著程度顯示於圖2中。該7種SNP中之6種亦與對抗體01951/G12之響應顯著相關，其中p值在0.005至0.015之範圍內，而其餘SNP接近p值為0.066之顯著性。此外，SNP通常在兩個研究中皆顯示對惡化風險之加性效應，此意指異型接合子之中之風險通常係介於兩個同型接合類別之風險之間，此表明兩種療法之惡化風險隨個體在相關SNP處攜帶之風險等位基因數而增加。

由於熟知種族為遺傳關聯研究中之常見混擾因素，故僅使用自陳高加索人患者重複抗體01951/G12治療之患者之關聯測試，但p值不變。此可能係由於94個患者中之89個(94.7%)為高加索人，且5個非高加索人皆來自無惡化之國家。

在抗體01951/G12研究中特別注意的係，對於7種SNP中每一者而言，皆存在一個在抗體01951/G12治療之患者中未觀測到任何惡化之同型接合類別，該結果不可能隨機出現。

關於表5中所列示之底部兩種SNP（其編碼IL-4RA受體中之胺基酸變化）之結果顯示p值為0.091及0.10之關聯之較弱證據。

抗體01951/G12研究中經歷至少一種氣喘惡化之安慰劑治療之患者之比例係中按照9種基因分型SNP之基因型類別顯示於圖3。與抗體01951/G12組之結果不同，安慰劑治療之患者未顯示關於SNP中任一者之基因型與惡化風險之間之關聯之任何證據。

根據在基因中之物理位置對此藥物遺傳學分析之所有表及圖中所顯示之SNP進行排序。

IL4-R α SNP與其他氣喘終點之間之關聯

亦在抗體01951/G12治療之患者中評估9種基因分型SNP與3種其

他氣喘終點之關聯之證據：ACQ7評分相對於基線之變化、FEV1相對於基線之百分比變化及IgE相對於基線之百分比變化。在第24週評估所有終點。由於所有關聯測試評估加性等位基因效應之假設(即，異型接合子之中之平均響應係介於兩個同型接合類別之彼等之間)，表6顯示次要等位基因(即，此樣品中之較不常見等位基因)之一額外拷貝對該3個終點中每一者之效應。例如，在加性模型下，在rs8832處攜帶次要等位基因之一額外拷貝--攜帶1個拷貝而非0個或2個拷貝而非1個 - 與為7.6%之FEV1相對於基線之平均增加相關。因此，攜帶2個拷貝而非0個與15.2%之平均增加相關。

亦提供氣喘惡化終點之相應結果用於比較。在此情形下，效應大小代表與次要等位基因之一額外拷貝相關之勝算比。因此，在rs8832處攜帶次要等位基因之一額外拷貝與經歷惡化之勝算之3.8倍增加相關。由於勝算比係倍增的，故攜帶2個拷貝而非0個與經歷惡化之勝算之 3.8^2 或14.6倍增加相關。

任何SNP皆未達到或接近ACQ7或IgE終點之統計學顯著性，甚至針對多重檢驗不作任何調整。對於FEV1終點，4種SNP達到顯著性，包括3種 $p < 0.002$ 之SNP之群(rs8832、rs1029489及rs4787956)。然而，該3種SNP針對對抗體01951/G12之響應之效應與針對氣喘惡化所觀測到者相反：具體而言，對於3種SNP中之每一者，次要(樣品中較不常見)等位基因與較高惡化風險相關，亦與FEV1相對於基線之平均增加相關。另一SNP rs1110470亦達到邊際顯著性，但亦與針對惡化所觀測到者相反，且臨近之其他SNP皆未達到或接近顯著性。

表6 在第24週SNP與氣喘終點之間之關聯之測試結果

SNP (次要等位基因)	ACQ7 (相對於基線之變化)		FEV1 (相對於基線之百分比變化)		Serum IgE (相對於基線之百分比變化)		氣喘惡化	
	效應大小 ¹ (具有 95% CI 之平均Δ)	P 值	效應大小 ² (具有 95% CI 之平均Δ)	P 值	效應大小 ² (具有 95% CI 之平均Δ)	P 值	效應大小 ³ (具有 95% CI 之勝算比)	P 值
rs1110470 (A)	-0.039 ± 0.23	0.73	-5.4 ± 5.3	0.047	+4.7 ± 13.9	0.51	0.15 (0.036,0.64)	0.0058
rs3024530 (G)	+0.142 ± 0.24	0.24	+2.7 ± 5.8	0.37	+0.6 ± 14.7	0.94	4.2 (1.2,14.6)	0.015
rs1805010 (G)	+0.172 ± 0.24	0.16	+2.7 ± 5.9	0.38	-0.6 ± 14.9	0.94	5.1 (1.3,19.9)	0.010
rs2239347 (C)	+0.023 ± 0.22	0.84	+3.2 ± 5.4	0.25	-0.2 ± 13.7	0.98	2.8 (0.9,8.7)	0.066
rs1805011 (C)	-0.106 ± 0.35	0.55	+0.1 ± 8.5	0.98	-4.6 ± 21.4	0.67	NC ⁴	0.091
rs1801275 (G)	-0.042 ± 0.25	0.74	+2.9 ± 6.3	0.36	-3.7 ± 15.6	0.64	0.30 (0.066,1.4)	0.10
rs8832 (A)	-0.049 ± 0.20	0.63	+7.6 ± 4.7	0.0014	-7.2 ± 12.5	0.26	3.8 (1.2,11.9)	0.013
rs1029489 (A)	-0.037 ± 0.20	0.72	+7.0 ± 4.6	0.0033	-6.3 ± 12.4	0.32	4.2 (1.4,12.9)	0.0054
rs4787956 (G)	-0.081 ± 0.22	0.47	+7.2 ± 5.1	0.0064	-5.4 ± 13.7	0.44	3.9 (1.3,11.7)	0.0080

¹ ACQ7自基線至第24週之平均絕對變化與次要等位基因之一額外拷貝相關

² FEV1或IgE自基線至第24週之平均百分比變化與次要等位基因之一額外拷貝相關

³在基線與第24週之間經歷氣喘惡化之風險之勝算比與次要等位基因之一額外拷貝相關

⁴無法計算，此乃因所有具有惡化之患者皆具有相同基因型(AA)

評估惡化關聯之總體顯著性之排列測試 實施排列測試以評估若在SNP與惡化風險之間實際上無關聯(即，作為隨機之人工因素)時獲得與抗體01951/G12惡化結果類似之關聯結果之可能性。尤其感興趣的係以下發現：對於表5中所列示之頂部7種SNP中之每一者而言，抗體01951/G12分析產生一個無惡化之同型接合類別；因此，排列測試係集中於預期此將隨機出現之頻率。在所產生之1000個排列數據集中，僅2個產生其中7種SNP中每一者皆具有一個無惡化之同型接合類別的結果。因此，若不存在任何真正關聯時觀測到此結果之可能性估計為0.002。



SNP之連鎖不平衡分析

在染色體上彼此鄰近定位之等位基因往往一起遺傳。當該等等位基因亦具有類似群體頻率時，其可能彼此相關，使得獲悉受試者在給定SNP處之基因型可使能夠以相對高之準確度預測同一受試者在鄰近SNP處之基因型。此概念稱為「連鎖不平衡」(LD)。與遺傳關聯研究之相關性為小區域中之多個SNP可顯示與表現型之關聯之證據；然而，由於該等SNP可彼此處於LD之狀態，故任一給定SNP可能不提供大量與除已自其他鄰近SNP獲得之表現型以外的表現型之關聯的獨立證據。

已知在整個基因體中LD發生在「區塊」結構中。每一區塊或「簇」含有一群SNP，使得同一區塊內之SNP對之間之相關性相對較高，而不同區塊中之SNP對之間之相關性相對較低。對表5中所列示之頂部7種SNP與抗體01951/G12惡化風險之間之LD之分析揭示存在2個LD區塊，如圖4中所闡釋。該單元中之數值代表 r^2 值(乘以100)，即相應SNP對之間之相關性之標準量度(或LD之強度)。100之 r^2 值指示2種SNP完全相關，而0指示完全獨立。

如自該圖可見，前4種SNP形成一個區塊，其中SNP對之間之相關性在56至95之範圍內。SNP rs3024530及rs1805010幾乎完全相關。後3種SNP形成第二區塊，其中成對相關性在59至80之範圍內。相比之下，來自第一區塊之任何SNP與來自第二區塊之任何SNP皆不顯示高相關性，最高成對相關性為32。

評價用於預測之最佳SNP數之交叉驗證分析

執行交叉驗證分析以比較用於利用表5中所列示之頂部7種IL4-R α SNP中之6種(排除rs3024530，此乃因其與rs1805010幾乎完全相關)預測患者在利用抗體01951/G12治療後氣喘惡化之風險的策略。由於LD分析鑑別2個很大程度上獨立之SNP區塊，其每一者顯示與惡化風險

之關聯之證據，故合理地預期具有兩個區塊之代表之預測性模型相比於具有僅來自一個區塊者將可能更能鑑別惡化風險低之患者。然而，此產生自每一區塊僅選擇一種SNP是否充足或包括額外SNP是否有益的問題。交叉驗證分析顯示，若除來自每一區塊之SNP以外包括額外SNP，則預測性模型鑑別具有低氣喘惡化風險患者之預期能力將不會得到實質改良。

額外資訊

7種SNP之基因型頻率分佈係按照國家及種族群體列示於表7及8中。

表7 IL4-R α SNP按照國家之基因型頻率分佈

SNP	基因型 N=	OAX576A2207 194	ARG 25	BEL 12	CZE 30	DEU 57	POL 25	RUS 35	USA 12
rs1805010	AA	0.24	0.20	0.00	0.25	0.37	0.24	0.12	0.36
	AG	0.55	0.64	0.67	0.46	0.53	0.60	0.53	0.45
	GG	0.21	0.16	0.33	0.29	0.11	0.16	0.35	0.18
rs8832	GG	0.30	0.36	0.17	0.29	0.30	0.28	0.31	0.33
	AG	0.48	0.48	0.50	0.50	0.47	0.60	0.46	0.25
	AA	0.22	0.16	0.33	0.21	0.23	0.12	0.23	0.42
rs4787956	AA	0.37	0.40	0.08	0.32	0.39	0.44	0.37	0.42
	AG	0.51	0.56	0.67	0.50	0.47	0.52	0.51	0.42
	GG	0.12	0.04	0.25	0.18	0.14	0.04	0.11	0.17
rs3024530	AA	0.25	0.20	0.00	0.25	0.37	0.24	0.14	0.33
	AG	0.55	0.64	0.67	0.46	0.51	0.60	0.54	0.50
	GG	0.21	0.16	0.33	0.29	0.12	0.16	0.31	0.17
rs1029489	GG	0.35	0.36	0.18	0.36	0.37	0.40	0.34	0.33
	AG	0.45	0.48	0.46	0.43	0.46	0.48	0.43	0.33
	AA	0.20	0.16	0.36	0.21	0.18	0.12	0.23	0.33
rs1110470	GG	0.31	0.36	0.42	0.39	0.25	0.24	0.37	0.25
	AG	0.50	0.48	0.50	0.46	0.51	0.56	0.49	0.50
	AA	0.19	0.16	0.08	0.14	0.25	0.20	0.14	0.25
rs2239347	AA	0.25	0.24	0.08	0.25	0.32	0.24	0.14	0.42
	AC	0.51	0.48	0.42	0.46	0.56	0.48	0.54	0.42
	CC	0.25	0.28	0.50	0.29	0.12	0.28	0.31	0.17

表8 IL4-Rα SNP按照種族群體之基因型頻率分佈

SNP	基因型	OAX576A2207	ASW	CHB	CHD	GIH	LWK	MEX	MKK	TSI	CEU	HCB	JPT	YRI
	N=	194	49	41	84	88	90	49	142	88	112	42	86	112
rs1805010	AA	0.24	0.24	0.27	0.23	0.39	0.24	0.24	0.20	0.32	0.24	0.50	0.19	0.30
	AG	0.55	0.51	0.46	0.54	0.45	0.46	0.43	0.43	0.55	0.54	0.33	0.34	0.49
	GG	0.21	0.24	0.27	0.24	0.16	0.30	0.33	0.37	0.14	0.22	0.17	0.48	0.21
rs8832	GG	0.30	0.00	0.20	0.25	0.35	0.00	0.27	0.03	0.32	0.26	0.24	0.19	0.02
	AG	0.48	0.33	0.44	0.52	0.49	0.24	0.53	0.27	0.52	0.47	0.43	0.39	0.25
	AA	0.22	0.67	0.37	0.24	0.16	0.76	0.20	0.69	0.16	0.28	0.33	0.42	0.73
rs4787956	AA	0.37	0.43	0.17	0.24	0.40	0.37	0.30	0.38	0.38	0.39	0.26	0.16	0.41
	AG	0.51	0.49	0.44	0.50	0.45	0.56	0.52	0.52	0.50	0.43	0.44	0.41	0.43
	GG	0.12	0.08	0.39	0.26	0.15	0.08	0.18	0.10	0.13	0.18	0.30	0.43	0.16
rs3024530	AA	0.25	0.22	0.27	0.26	0.39	0.26	0.24	0.17	0.30	0.23	0.49	0.19	0.27
	AG	0.55	0.53	0.49	0.55	0.42	0.42	0.44	0.54	0.57	0.54	0.30	0.31	0.50
	GG	0.21	0.24	0.24	0.19	0.19	0.32	0.32	0.29	0.14	0.23	0.21	0.50	0.24
N=			60	45	45	60								
rs1029489	GG	0.35									0.48	0.22	0.18	0.03
	AG	0.45									0.38	0.44	0.31	0.22
	AA	0.20									0.13	0.33	0.51	0.75
rs1110470	GG	0.31									0.27	0.41	0.60	0.27
	AG	0.50									0.41	0.27	0.36	0.49
	AA	0.19									0.32	0.32	0.04	0.24
rs2239347	AA	0.25									0.28	0.40	0.20	0.32
	AC	0.51									0.50	0.42	0.49	0.45
	CC	0.25									0.22	0.18	0.31	0.23

- 群體

說明
- ASW

美國西南部(Southwest USA)之非洲(African)血統
- CHB

中國北京(Beijing, China)之漢人(Han Chinese) (當前(current))
- CHD

科羅拉多(Colorado)丹佛都會(Metropolitan Denver)之中國人(Chinese)
- GIH

德克薩斯州(Texas)休斯頓(Houston)之古吉拉特印度人(Gujarati Indian)
- LWK

肯尼亞韋布耶(Webuye)之盧希亞人(Luhya)
- MEX

加利福尼亞洛杉磯(Los Angeles)之墨西哥(Mexican)血統
- 群體

說明
- MKK

肯尼亞(Kenya)金亞瓦(Kinyawa)之馬賽人(Maasai)
- TSI

意大利(Italy)之托斯卡納人(Toscan)
- CEU

具有北歐和西歐(Northern and Western European)血統之猶他州(Utah)居民
- HCB

中國北京之漢人(以往(obsolete))
- JPT

日本(Japan)東京(Tokyo)之日本人(Japanese)
- YRI

尼日利亞(Nigeria)伊巴丹(Ibadan)之約魯巴人(Yoruba)

來源：dbSNP數據庫，國家生物技術信息中心(National Center for Biotechnology Information)

在此研究中發現表5中列示之頂部7種SNP與在利用抗體01951/G12治療之患者中之惡化風險相關。7種SNP中之6種產生在0.005至0.015範圍內之顯著p值，而其餘SNP接近顯著。當該分析僅限於高加索人患者以減輕干擾風險時，獲得相同p值。此外，與對具有大部分SNP之抗體01951/G12之響應之特定關聯模式展現與惡化風險之加性關係；即觀測到異型接合子內之風險係介於2個同型接合類別內之風險之間。最後，觀測到在抗體01951/G12治療之患者中7種SNP中每一者皆具有無惡化之特定同型接合類別。排列測試顯示在不存在任何真正關聯時觀測到此結果之可能性為0.002。總之，連同IL4-Rα基因對抗體01951/G12之機制之重要性一起，該等結果表明利用抗體01951/G12治療之患者中之氣喘惡化風險極有可能受IL4-Rα基因中之SNP影響。

另外，評估IL4-Rα基因中之2種其他SNP (表5中所列示之底部2種

SNP)與抗體01951/G12治療之患者中之惡化風險之可能關聯，此乃因其與氣喘疾病表現型之所報導關聯且此乃因其編碼胺基酸變化。但，二者相比於其他7種SNP皆較不顯著($p=0.091$ 及 0.10)。

在抗體01951/G12研究中，未發現關於IL4-R α 基因中之SNP與中利用安慰劑治療之患者中之惡化風險之間之關聯的任何證據。連同抗體01951/G12機制之知識一起，此表明該等SNP對惡化風險之影響係特定於藥物機制且並不反映較廣泛之疾病嚴重性關聯。此外，未發現關於該等SNP與ACQ7評分或IgE含量相對於基線之變化之間之關聯的任何證據，且幾乎沒有SNP與FEV1之變化顯著相關，其中該等關聯與針對惡化風險所見之關聯相反。此表明影響患者對惡化之敏感性之遺傳機制與針對其他氣喘終點者不同。

關於在抗體01951/G12治療之患者中之此藥物遺傳學關聯之有力證據表明使用該等SNP處之特定基因型或基因型組合預測患者在利用抗體01951/G12治療後氣喘惡化之風險之用途。

如表5中所顯示，rs1805010造成胺基酸取代，而rs8832係在3'非轉譯區(UTR)中，即已知影響基因轉錄程度之區域。由於rs1805010位於第一LD區塊內而rs8832位於第二LD區塊內，故該2種SNP可用於研發針對惡化風險之預測性模型。在CQAX576A2207研究中該2種SNP之經交叉製表之基因型頻率係顯示於表9中。

表9 在CQAX576A2207研究中rs1805010及rs8832之經交叉製表之基因型頻率

		rs8832		
		GG (較低惡化 風險)	AG	AA (較高惡化 風險)
rs1805010	AA (較低惡化風險)	33 (17.2%)	9 (4.7%)	5 (2.6%)
	AG	20 (10.4%)	71 (37.0%)	14 (7.3%)
	GG (較高惡化風險)	5 (2.6%)	11 (5.7%)	24 (12.5%)

藉由組合抗體01951/G12及安慰劑組來計算基因型頻率。

實例4

評估氣喘惡化減少之方法將為熟習此項技術者所熟知並包括使用ACQ-5及/或AQLQ-S：

氣喘控制問卷-5 (ACQ5)

評估日期
DD-MON-YYYY

1 平均而言，在過去一週期間，在晚間多久一次因氣喘而醒來？

- ☐ 0 從不
- ☐ 1 幾乎從不
- ☐ 2 沒幾次
- ☐ 3 多次
- ☐ 4 許多次
- ☐ 5 極其多次
- ☐ 6 由於氣喘而無法睡覺

2 平均而言，在過去一週期間，在早間醒來時氣喘症狀有多嚴重？

- ☐ 0 無症狀
- ☐ 1 極其輕度症狀
- ☐ 2 輕度症狀
- ☐ 3 中度症狀
- ☐ 4 有點重度症狀
- ☐ 5 重度症狀
- ☐ 6 極其重度症狀

3 平均而言，在過去一週期間，由於氣喘，活動有多受限制？

- ☐ 0 根本不受限
- ☐ 1 極其輕微受限
- ☐ 2 輕微受限
- ☐ 3 中度受限
- ☐ 4 極其受限
- ☐ 5 極端受限
- ☐ 6 完全受限

Q5ACQ03_1 版權：April 2001

4 一般而言，在過去一週期間，由於氣喘經歷多少次呼吸短促？

- ☐ 0 無
- ☐ 1 極少
- ☐ 2 少量
- ☐ 3 適量
- ☐ 4 許多
- ☐ 5 大量
- ☐ 6 極其大量

5 一般而言，在過去一週期間，有多少時間有喘鳴聲？

- ☐ 0 從不
- ☐ 1 幾乎沒有任何時間
- ☐ 2 少數時間
- ☐ 3 適量時間
- ☐ 4 許多時間
- ☐ 5 大部分時間
- ☐ 6 所有時間

利用標準化活動之氣喘生活品質問卷(AQLQ(S))

評估日期 DD-MON-YYYY

在過去 2 週期間，由於氣喘，你在該等活動中有多受限制？

	完全受限	極端受限	極其受限	中度受限	有些受限	稍有受限	根本不受限
1. 劇烈活動 (例如疾走、鍛煉、跑樓梯、運動) 適度活動	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
2. (例如行走、做家務、 園藝、購物、爬樓梯)	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
3. 社會活動 (例如談話、與寵物/孩子 玩耍、拜訪朋友/親屬)	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
4. 工作相關活動 (工作時必須做的任務) * 若你未被僱傭或經自我僱傭，則該等任務應為大多時候必須做的任務。	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
5. 睡覺	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐

在過去 2 週期間，你感覺有多不舒適或痛苦？

	極大量	大量	許多	適量	一些	極少	無
6. 在過去 2 週內，由於胸部緊迫感，你感覺有多不舒適或痛苦？	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐

在過去 2 週期間，你有多少時間有以下經歷：

	所有時間	大部分時間	許多時間	一些時間	少數時間	幾乎沒有任何時間	沒有任何時間
7. 對患有氣喘感到憂慮	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
8. 由於氣喘而感到呼吸短促	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
9. 由於暴露於香煙煙霧中而出現氣喘症狀	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
10. 胸部出現喘鳴	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
11. 感覺你必須因香煙煙霧而避開某種情況或環境	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐

【符號說明】

無

【序列表】

<110> 瑞士商諾華公司

<120> 利用 IL-13 拮抗劑選擇性治療氣喘之方法

<130> PAT056217-WO-PCT

<140>

<141>

<150> 61/978,604

<151> 2014-04-11

<160> 67

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 146

<212> PRT

<213> 智人

<400> 1

Met His Pro Leu Leu Asn Pro Leu Leu Leu Ala Leu Gly Leu Met Ala
1 5 10 15

Leu Leu Leu Thr Thr Val Ile Ala Leu Thr Cys Leu Gly Gly Phe Ala
20 25 30

Ser Pro Gly Pro Val Pro Pro Ser Thr Ala Leu Arg Glu Leu Ile Glu
35 40 45

Glu Leu Val Asn Ile Thr Gln Asn Gln Lys Ala Pro Leu Cys Asn Gly
50 55 60

Ser Met Val Trp Ser Ile Asn Leu Thr Ala Gly Met Tyr Cys Ala Ala
65 70 75 80

Leu Glu Ser Leu Ile Asn Val Ser Gly Cys Ser Ala Ile Glu Lys Thr
85 90 95

Gln Arg Met Leu Ser Gly Phe Cys Pro His Lys Val Ser Ala Gly Gln
100 105 110

Phe Ser Ser Leu His Val Arg Asp Thr Lys Ile Glu Val Ala Gln Phe
115 120 125

Val Lys Asp Leu Leu Leu His Leu Lys Lys Leu Phe Arg Glu Gly Arg
130 135 140

Phe Asn
145

<210> 2
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注意=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 2
Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Gly
1 5

<210> 3
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注意=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 3
Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn
1 5

<210> 4
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注意=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 4
Ala Arg Leu Trp Phe Gly Asp Leu Asp
1 5

<210> 5

<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注意=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 5
Ser Tyr Gly Met His
1 5

<210> 6
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注意=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 6
Ile Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 7
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注意=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 7
Leu Trp Phe Gly Asp Leu Asp Ala Phe Asp Ile
1 5 10

<210> 8
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source

<223> /注意=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 8
Gln Ser Val Ser Ser Tyr
1 5

<210> 9
<211> 2
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注意=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 9
Asp Ala
1

<210> 10
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注意=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 10
Gln Gln Arg Ser Ser Trp Pro Pro Val
1 5

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

<220>
<221> source
<223> /注意=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 11
Arg Ala Gly Gln Ser Val Ser Ser Tyr Leu Val
1 5 10

<210> 12
<211> 7

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注意=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 12
Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr
1 5

<210> 13
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注意=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 13
Gln Gln Arg Ser Ser Trp Pro Pro Val Tyr Thr
1 5 10

<210> 14
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注意=「人工序列之描述：合成多肽」

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

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

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

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

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

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

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

Gly Thr Met Val Thr
115

<210> 15
<211> 351
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注意=「人工序列之描述：合成多核苷酸」

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

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

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

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

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

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

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

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

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

<210> 16
<211> 104
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注意=「人工序列之描述：合成多肽」

<400> 16
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

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

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

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

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

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

Val Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr
100

<210> 17
<211> 312
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<221> source

<223> /注意=「人工序列之描述：合成多核苷酸」

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(312)

<400> 17

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

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

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

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

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

gaa gat ttt gca gtt tat tac tgt cag cag cgc agc agc tgg cct ccg	288
Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Ser Trp Pro Pro	
85 90 95	

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

<210> 18

<211> 236

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> source

<223> /注意=「人工序列之描述：合成多肽」

<400> 18

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

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

	20		25		30														
Leu	Ser	Pro	Gly	Glu	Arg	Ala	Ile	Leu	Ser	Cys	Arg	Ala	Gly	Gln	Ser				
	35						40					45							
Val	Ser	Ser	Tyr	Leu	Val	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ala	Pro				
	50					55					60								
Arg	Leu	Leu	Ile	Tyr	Asp	Ala	Ser	Asn	Arg	Ala	Thr	Gly	Ile	Pro	Ala				
65					70					75					80				
Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser				
			85						90					95					
Ser	Leu	Glu	Pro	Glu	Asp	Phe	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Arg	Ser				
			100					105						110					
Ser	Trp	Pro	Pro	Val	Tyr	Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile				
		115					120					125							
Lys	Arg	Thr	Val	Ala	Ala	Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Asp				
	130					135					140								
Glu	Gln	Leu	Lys	Ser	Gly	Thr	Ala	Ser	Val	Val	Cys	Leu	Leu	Asn	Asn				
145					150					155					160				
Phe	Tyr	Pro	Arg	Glu	Ala	Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp	Asn	Ala	Leu				
				165					170					175					
Gln	Ser	Gly	Asn	Ser	Gln	Glu	Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp	Ser	Lys	Asp				
			180					185					190						
Ser	Thr	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr				
		195					200					205							
Glu	Lys	His	Lys	Val	Tyr	Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	Gly	Leu	Ser				
	210					215					220								
Ser	Pro	Val	Thr	Lys	Ser	Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Cys								
225					230					235									

<210> 19
<211> 711
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注意=「人工序列之描述：合成多核苷酸」

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

```

<400> 19
atg agt gtg ctc act cag gtc ctg gcg ttg ctg ctg ctg tgg ctt aca      48
Met Ser Val Leu Thr Gln Val Leu Ala Leu Leu Leu Trp Leu Thr
1          5          10          15

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

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

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

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

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

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

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

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

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

```


ttc tat ccc aga gag gcc aaa gta cag tgg aag gtg gat aac gcc ctc	528
Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu	
165 170 175	
caa tcg ggt aac tcc cag gag agt gtc aca gag cag gac agc aag gac	576
Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp	
180 185 190	
agc acc tac agc ctc agc agc acc ctg acg ctg agc aaa gca gac tac	624
Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr	
195 200 205	
gag aaa cac aaa gtc tac gcc tgc gaa gtc acc cat cag ggc ctg agc	672
Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser	
210 215 220	
tcg ccc gtc aca aag agc ttc aac agg gga gag tgt tag	711
Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys	
225 230 235	

<210> 20
 <211> 469
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> source
 <223> /注意=「人工序列之描述：合成多肽」

<400> 20
 Met Ala Trp Val Trp Thr Leu Pro Phe Leu Met Ala Ala Ala Gln Ser
 1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser

305		310		315		320
Thr Tyr Arg Val	Val Ser Val Leu Thr	Val Leu His Gln Asp Trp Leu				
	325	330			335	
Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys	Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala					
	340	345			350	
Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln	Pro Arg Glu Pro					
	355	360			365	
Gln Val Tyr Thr Leu Pro	Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln					
	370	375		380		
Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala						
	385	390		395		400
Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr						
	405	410			415	
Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu						
	420	425			430	
Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser						
	435	440			445	
Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser						
	450	455		460		
Leu Ser Pro Gly Lys						
465						

<210> 21
 <211> 1410
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <221> source
 <223> /注意=「人工序列之描述：合成多核苷酸」

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1410)

<400> 21

atg gct tgg gtg tgg acc ttg cca ttc ctg atg gca gct gcc caa agt	48
Met Ala Trp Val Trp Thr Leu Pro Phe Leu Met Ala Ala Ala Gln Ser	
1 5 10 15	
gtc cag gca gaa gtg cag ctg gtg gag tct ggg gga ggc gtg gtc cag	96
Val Gln Ala Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln	
20 25 30	
cct ggg agg tcc ctg aga ctc tcc tgt gca gcg tct gga ttc acc ttc	144
Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe	
35 40 45	
agt agc tat ggc atg cac tgg gtc cgc cag gct cca ggc aag ggg ctg	192
Ser Ser Tyr Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu	
50 55 60	
gag tgg gtg gca att ata tgg tat gat gga agt aat aaa tac tat gcg	240
Glu Trp Val Ala Ile Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala	
65 70 75 80	
gac tcc gtg aag ggc cga ttc acc atc tcc aga gac aat tcc aag aac	288
Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn	
85 90 95	
acg ctg tat ctg caa atg aac agc ctg aga gcc gag gac acg gct gtg	336
Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val	
100 105 110	
tat tac tgt gcg agg cta tgg ttc ggg gac tta gat gct ttt gat atc	384
Tyr Tyr Cys Ala Arg Leu Trp Phe Gly Asp Leu Asp Ala Phe Asp Ile	
115 120 125	
tgg ggc caa ggg aca atg gtc acc gtc tcc tca gcc tcc acc aag ggc	432
Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly	
130 135 140	
cca tcg gtc ttc ccc ctg gca ccc tcc tcc aag agc acc tct ggg ggc	480
Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly	
145 150 155 160	
aca gcg gcc ctg ggc tgc ctg gtc aag gac tac ttc ccc gaa ccg gtg	528
Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val	
165 170 175	
acg gtg tcg tgg aac tca ggc gcc ctg acc agc ggc gtg cac acc ttc	576
Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe	
180 185 190	
ccg gct gtc cta cag tcc tca gga ctc tac tcc ctc agc agc gtc gtg	624
Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val	
195 200 205	

acc	gtg	ccc	tcc	agc	agc	ttg	ggc	acc	cag	acc	tac	atc	tgc	aac	gtg	672
Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	
210						215					220					
aat	cac	aag	ccc	agc	aac	acc	aag	gtg	gac	aag	aga	gtt	gag	ccc	aaa	720
Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Pro	Lys	
225					230					235					240	
tct	tgt	gac	aaa	act	cac	aca	tgc	cca	ccg	tgc	cca	gca	cct	gaa	ctc	768
Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	
				245					250					255		
ctg	ggg	gga	ccg	tca	gtc	ttc	ctc	ttc	ccc	cca	aaa	ccc	aag	gac	acc	816
Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	
			260					265					270			
ctc	atg	atc	tcc	cgg	acc	cct	gag	gtc	aca	tgc	gtg	gtg	gtg	gac	gtg	864
Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	
		275					280					285				
agc	cac	gaa	gac	cct	gag	gtc	aag	ttc	aac	tgg	tac	gtg	gac	ggc	gtg	912
Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	
	290					295					300					
gag	gtg	cat	aat	gcc	aag	aca	aag	ccg	cgg	gag	gag	cag	tac	aac	agc	960
Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	
305					310					315					320	
acg	tac	cgt	gtg	gtc	agc	gtc	ctc	acc	gtc	ctg	cac	cag	gac	tgg	ctg	1008
Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	
				325					330					335		
aat	ggc	aag	gag	tac	aag	tgc	aag	gtc	tcc	aac	aaa	gcc	ctc	cca	gcc	1056
Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	
			340					345					350			
ccc	atc	gag	aaa	acc	atc	tcc	aaa	gcc	aaa	ggg	cag	ccc	cga	gaa	cca	1104
Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	
		355					360					365				
cag	gtg	tac	acc	ctg	ccc	cca	tcc	cgg	gag	gag	atg	acc	aag	aac	cag	1152
Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	
	370					375					380					
gtc	agc	ctg	acc	tgc	ctg	gtc	aaa	ggc	ttc	tat	ccc	agc	gac	atc	gcc	1200
Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	
385					390					395					400	
gtg	gag	tgg	gag	agc	aat	ggg	cag	ccg	gag	aac	aac	tac	aag	acc	acg	1248
Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	
				405					410					415		
cct	ccc	gtg	ctg	gac	tcc	gac	ggc	tcc	ttc	ttc	ctc	tat	agc	aag	ctc	1296
Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	

	420	425	430	
	acc gtg gac aag agc agg tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc tcc			1344
	Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser			
	435	440	445	
	gtg atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc ctc tcc			1392
	Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser			
	450	455	460	
	ctg tcc ccg ggt aaa tga			1410
	Leu Ser Pro Gly Lys			
	465			
<210>	22			
<211>	51			
<212>	DNA			
<213>	智人			
<400>	22			
	gaaggttggc aggccaggga caacaycgtc tgccaagcca tggcagtaga c			51
<210>	23			
<211>	51			
<212>	DNA			
<213>	智人			
<400>	23			
	taaggtatit ttgttatagc agcctrtatg gactaagctg acttgtaacg t			51
<210>	24			
<211>	51			
<212>	DNA			
<213>	智人			
<400>	24			
	ctgtgtctgc agagcccaca cgtgtrtccc tgagaacaac ggaggcgcgg g			51
<210>	25			
<211>	51			
<212>	DNA			
<213>	智人			
<400>	25			
	accccaggtc ccatatgtcc agagaktgtc cctccaatgg gaatgtgagg a			51
<210>	26			
<211>	51			
<212>	DNA			
<213>	智人			

<400> 26
agggatgact tccaggaggg aagggmgggc attgtggccc ggctaacaga g 51

<210> 27
<211> 51
<212> DNA
<213> 智人

<400> 27
gtctcggccc ccaccagtgg ctatcrggag tttgtacatg cggtaggagca g 51

<210> 28
<211> 51
<212> DNA
<213> 智人

<400> 28
gcaacagagg acatgaaaaa ttgctrtgac taaagcaggg acaatttgct g 51

<210> 29
<211> 51
<212> DNA
<213> 智人

<400> 29
cttgtatggg gaacccaaac ccagayggca agtttcttaa cctcttgcat c 51

<210> 30
<211> 51
<212> DNA
<213> 智人

<400> 30
gcttatgtca tcctgacacc tacgcr gatg tcggctcgaa tccactttgc c 51

<210> 31
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注意=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 31
Thr Gln Arg Met Leu Ser Gly Phe Cys Pro His Lys Val Ser Ala
1 5 10 15

<210> 32
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> source
 <223> /注意=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 32
 Met Leu Ser Gly Phe Cys Pro His Lys Val Ser Ala Gly Gln Phe
 1 5 10 15

<210> 33
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> source
 <223> /注意=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 33
 Met Leu Ser Gly Phe Cys Pro His Lys Val Ser Ala
 1 5 10

<210> 34
 <211> 114
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> source
 <223> /注意=「人工序列之描述：合成多肽」

<400> 34
 Ser Pro Gly Pro Val Pro Pro Ser Thr Ala Leu Arg Glu Leu Ile Glu
 1 5 10 15

Glu Leu Val Asn Ile Thr Gln Asn Gln Lys Ala Pro Leu Cys Asn Gly
 20 25 30

Ser Met Val Trp Ser Ile Asn Leu Thr Ala Gly Met Tyr Cys Ala Ala
 35 40 45

Leu Glu Ser Leu Ile Asn Val Ser Gly Cys Ser Ala Ile Glu Lys Thr

50

55

60

Gln Arg Met Leu Ser Gly Phe Cys Pro His Lys Val Ser Ala Gly Gln
65 70 75 80

Phe Ser Ser Leu His Val Arg Asp Thr Lys Ile Glu Val Ala Gln Phe
85 90 95

Val Lys Asp Leu Leu Leu His Leu Lys Lys Leu Phe Arg Glu Gly Arg
100 105 110

Phe Asn

<210> 35
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注意=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 35
Ser Pro Gly Pro Val Pro Pro Ser Thr Ala Leu Arg Glu Leu Ile
1 5 10 15

<210> 36
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注意=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 36
Pro Val Pro Pro Ser Thr Ala Leu Arg Glu Leu Ile Glu Glu Leu
1 5 10 15

<210> 37
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<221> source

<223> /注意=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 37

Pro Ser Thr Ala Leu Arg Glu Leu Ile Glu Glu Leu Val Asn Ile
1 5 10 15

<210> 38

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> source

<223> /注意=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 38

Ala Leu Arg Glu Leu Ile Glu Glu Leu Val Asn Ile Thr Gln Asn
1 5 10 15

<210> 39

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> source

<223> /注意=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 39

Glu Leu Ile Glu Glu Leu Val Asn Ile Thr Gln Asn Gln Lys Ala
1 5 10 15

<210> 40

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> source

<223> /注意=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 40

Glu Glu Leu Val Asn Ile Thr Gln Asn Gln Lys Ala Pro Leu Cys
1 5 10 15

<210> 41

<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注意=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 41
Val Asn Ile Thr Gln Asn Gln Lys Ala Pro Leu Cys Asn Gly Ser
1 5 10 15

<210> 42
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注意=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 42
Thr Gln Asn Gln Lys Ala Pro Leu Cys Asn Gly Ser Met Val Trp
1 5 10 15

<210> 43
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注意=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 43
Gln Lys Ala Pro Leu Cys Asn Gly Ser Met Val Trp Ser Ile Asn
1 5 10 15

<210> 44
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注意=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 44

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

<210> 45
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注意=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 45
Asn Gly Ser Met Val Trp Ser Ile Asn Leu Thr Ala Gly Met Tyr
1 5 10 15

<210> 46
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注意=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 46
Met Val Trp Ser Ile Asn Leu Thr Ala Gly Met Tyr Cys Ala Ala
1 5 10 15

<210> 47
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注意=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 47
Ser Ile Asn Leu Thr Ala Gly Met Tyr Cys Ala Ala Leu Glu Ser
1 5 10 15

<210> 48
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<221> source

<223> /注意=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 48

Leu Thr Ala Gly Met Tyr Cys Ala Ala Leu Glu Ser Leu Ile Asn
1 5 10 15

<210> 49

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> source

<223> /注意=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 49

Gly Met Tyr Cys Ala Ala Leu Glu Ser Leu Ile Asn Val Ser Gly
1 5 10 15

<210> 50

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> source

<223> /注意=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 50

Cys Ala Ala Leu Glu Ser Leu Ile Asn Val Ser Gly Cys Ser Ala
1 5 10 15

<210> 51

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> source

<223> /注意=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 51

Leu Glu Ser Leu Ile Asn Val Ser Gly Cys Ser Ala Ile Glu Lys
1 5 10 15

<210> 52

<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注意=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 52
Leu Ile Asn Val Ser Gly Cys Ser Ala Ile Glu Lys Thr Gln Arg
1 5 10 15

<210> 53
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注意=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 53
Val Ser Gly Cys Ser Ala Ile Glu Lys Thr Gln Arg Met Leu Ser
1 5 10 15

<210> 54
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注意=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 54
Cys Ser Ala Ile Glu Lys Thr Gln Arg Met Leu Ser Gly Phe Cys
1 5 10 15

<210> 55
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注意=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 55

Ile Glu Lys Thr Gln Arg Met Leu Ser Gly Phe Cys Pro His Lys
1 5 10 15

<210> 56
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注意=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 56
Gly Phe Cys Pro His Lys Val Ser Ala Gly Gln Phe Ser Ser Leu
1 5 10 15

<210> 57
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注意=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 57
Pro His Lys Val Ser Ala Gly Gln Phe Ser Ser Leu His Val Arg
1 5 10 15

<210> 58
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注意=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 58
Val Ser Ala Gly Gln Phe Ser Ser Leu His Val Arg Asp Thr Lys
1 5 10 15

<210> 59
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<221> source
<223> /注意=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 59
Gly Gln Phe Ser Ser Leu His Val Arg Asp Thr Lys Ile Glu Val
1 5 10 15

<210> 60
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注意=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 60
Ser Ser Leu His Val Arg Asp Thr Lys Ile Glu Val Ala Gln Phe
1 5 10 15

<210> 61
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注意=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 61
His Val Arg Asp Thr Lys Ile Glu Val Ala Gln Phe Val Lys Asp
1 5 10 15

<210> 62
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注意=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 62
Asp Thr Lys Ile Glu Val Ala Gln Phe Val Lys Asp Leu Leu Leu
1 5 10 15

<210> 63

<211> 15
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> source
 <223> /注意=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 63
 Ile Glu Val Ala Gln Phe Val Lys Asp Leu Leu Leu His Leu Lys
 1 5 10 15

<210> 64
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> source
 <223> /注意=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 64
 Ala Gln Phe Val Lys Asp Leu Leu Leu His Leu Lys Lys Leu Phe
 1 5 10 15

<210> 65
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> source
 <223> /注意=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 65
 Val Lys Asp Leu Leu Leu His Leu Lys Lys Leu Phe Arg Glu Gly
 1 5 10 15

<210> 66
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> source
 <223> /注意=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 66

Leu Leu Leu His Leu Lys Lys Leu Phe Arg Glu Gly Arg Phe Asn
 1 5 10 15

<210> 67
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> source
 <223> /注意=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 67
 Phe Cys Pro His Lys Val
 1 5

申請專利範圍

1. 一種IL-13拮抗劑之用途，其用於製造用於選擇性治療患有氣喘之患者之藥劑，其中該藥劑係在以下步驟之後投與給該患者：

鑑別具有至少一種AIR標記物之患者，該AIR標記物係選自由AIR-1、2、3、4、5、6、7、8及9組成之群。

2. 如請求項1之用途，其中

該鑑別包含分析來自該患者之生物樣品中至少一種選自該群之AIR標記物之存在。

3. 一種IL-13拮抗劑之用途，其用於製造用於選擇性治療患有氣喘之患者之藥劑，其中該藥劑係在以下步驟之後投與給該患者：

分析來自該患者之生物樣品中至少一種AIR標記物之存在或不存在，該AIR標記物係選自由AIR標記物-1、2、3、4、5、6、7、8及9組成之群，及

檢測該樣品中至少一種選自該群之AIR標記物之存在，並由此確定該患者對於該AIR標記物而言為陽性的。

4. 如請求項1之用途，其進一步包含測定該AIR標記物係以同型接合還是異型接合形式存在，其中該至少一種呈同型接合形式之AIR標記物之存在確定該患者對於該AIR標記物而言為陽性的。

5. 如請求項1之用途，其中該AIR標記物係選自由AIR標記物3及AIR標記物7組成之群。

6. 如請求項1之用途，其進一步包含以下步驟：測定對於該AIR標記物而言該患者係同型接合還是異型接合，及將治療有效量之IL-13拮抗劑選擇性投與給

對於AIR標記物3及AIR標記物7中之一者而言為同型接合且對於另一者而言為異型接合之患者；

對於 AIR 標記物 3 及 AIR 標記物 7 二者而言皆為同型接合之患者；或

對於 AIR 標記物 3 而言為同型接合之患者。

7. 如請求項 3 之用途，其進一步包含測定該 AIR 標記物係以同型接合還是異型接合形式存在，其中該至少一種呈同型接合形式之 AIR 標記物之存在確定該患者對於該 AIR 標記物而言為陽性的。
8. 如請求項 3 之用途，其中該 AIR 標記物係選自由 AIR 標記物 3 及 AIR 標記物 7 組成之群。
9. 如請求項 3 之用途，其進一步包含以下步驟：測定對於該 AIR 標記物而言該患者係同型接合還是異型接合，及將治療有效量之 IL-13 拮抗劑選擇性投與給

對於 AIR 標記物 3 及 AIR 標記物 7 中之一者而言為同型接合且對於另一者而言為異型接合之患者；

對於 AIR 標記物 3 及 AIR 標記物 7 二者而言皆為同型接合之患者；或

對於 AIR 標記物 3 而言為同型接合之患者。

10. 一種用於預測患有氣喘之患者將響應於利用 IL-13 拮抗劑之治療之可能性的方法，其包含分析來自該患者之生物樣品中至少一種選自由 AIR 標記物 -1、2、3、4、5、6、7、8 及 9 組成之群之 AIR 標記物之存在或不存在的步驟，其中：
 - a) 該至少一種 AIR 標記物之存在係指示該患者將響應於利用該 IL-13 拮抗劑之治療之可能性增加；且
 - b) 該至少一種 AIR 標記物之不存在係指示該患者將響應於利用該 IL-13 拮抗劑之治療之可能性降低。
11. 一種用於預測患有氣喘之患者將響應於利用 IL-13 拮抗劑之治療之可能性的方法，其包含分析來自該患者之生物樣品中至少一

種呈同型接合形式之選自由AIR標記物-1、2、3、4、5、6、7、8及9組成之群之AIR標記物之存在或不存在的步驟，其中：

- a) 該至少一種呈同型接合形式之AIR標記物之存在係指示該患者將響應於利用該IL-13拮抗劑之治療之可能性增加；且
- b) 該至少一種呈同型接合形式之AIR標記物之不存在係指示該患者將響應於利用該IL-13拮抗劑之治療之可能性降低。

12. 一種用於預測患有氣喘之患者將響應於利用IL-13拮抗劑之治療之可能性的方法，其包含以下步驟：

- a) 分析來自該患者之生物樣品中至少一種AIR標記物之存在或不存在，及
- b) 測定該AIR標記物係以同型接合還是異型接合形式存在，其中

該至少一種呈同型接合形式之AIR標記物之存在係指示該患者將響應於利用該IL-13拮抗劑之治療之可能性增加，其中該至少一種AIR標記物係選自由以下組成之群：

- i) 各自以同型接合形式存在之AIR標記物3及AIR標記物7，
- ii) 以同型接合形式存在之AIR標記物3及以異型接合形式存在之AIR標記物7，
 - a. 以同型接合形式存在之AIR標記物7及以異型接合形式存在之AIR標記物3，及
 - b. 呈同型接合形式之AIR標記物3。

13. 如請求項2、3及7至9中任一項之用途，其中該分析步驟包含針對該至少一種AIR標記物之核酸產物或該至少一種AIR標記物之多肽產物分析該生物樣品。

14. 如請求項2、3及7至9中任一項之用途，其中該分析步驟包含針 s

對該至少一種AIR標記物之基因體序列分析該生物樣品。

15. 如請求項2、3及7至9中任一項之用途，其中該生物樣品係選自由血液、血清、糞便、血漿、尿液、淚液、唾液及組織樣品組成之群。
16. 如請求項2、3及7至9中任一項之用途，其中該分析步驟包含選自由以下組成之群之技術：北方墨點分析(Northern blot analysis)、聚合酶鏈反應(PCR)、逆轉錄-聚合酶鏈反應(RT-PCR)、基於TaqMan之分析、直接測序、動態等位基因特異性雜交、高密度寡核苷酸SNP陣列、限制片段長度多型性(RFLP)分析、引物延伸分析、寡核苷酸連接酶分析、單鏈構象多型性分析、溫度梯度凝膠電泳(TGGE)、變性高效液相層析、高解析度熔解分析、DNA失配-結合蛋白分析、SNPLex®、毛細管電泳、南方墨點(Southern Blot)、免疫分析、免疫組織化學法、ELISA、流式細胞術、西方墨點(Western blot)、HPLC及質譜。
17. 如請求項10至12中任一項之方法，其中該分析步驟包含針對該至少一種AIR標記物之核酸產物或該至少一種AIR標記物之多肽產物分析該生物樣品。
18. 如請求項10至12中任一項之方法，其中該分析步驟包含針對該至少一種AIR標記物之基因體序列分析該生物樣品。
19. 如請求項10至12中任一項之方法，其中該生物樣品係選自由血液、血清、糞便、血漿、尿液、淚液、唾液及組織樣品組成之群。
20. 如請求項10至12中任一項之方法，其中該分析步驟包含選自由以下組成之群之技術：北方墨點分析、聚合酶鏈反應(PCR)、逆轉錄-聚合酶鏈反應(RT-PCR)、基於TaqMan之分析、直接測序、動態等位基因特異性雜交、高密度寡核苷酸SNP陣列、限制片段

長度多型性(RFLP)分析、引物延伸分析、寡核苷酸連接酶分析、單鏈構象多型性分析、溫度梯度凝膠電泳(TGGE)、變性高效液相層析、高解析度熔解分析、DNA失配-結合蛋白分析、SNPLex®、毛細管電泳、南方墨點、免疫分析、免疫組織化學法、ELISA、流式細胞術、西方墨點、HPLC及質譜。

21. 一種用於產生用於預測患有氣喘之患者對利用IL-13拮抗劑之治療之響應之可傳輸形式之資訊的方法，其包含：
 - a) 如請求項7測定該患者響應於利用該IL-13拮抗劑之治療之增加可能性；及
 - b) 將該測定步驟之結果記錄於有形或無形媒介形式上用於傳輸。
22. 一種用於產生用於預測患有氣喘之患者對利用IL-13拮抗劑之治療之響應之可傳輸形式之資訊的方法，其包含：
 - a) 如請求項8測定該患者響應於利用該IL-13拮抗劑之治療之增加之可能性；及
 - b) 將該測定步驟之結果記錄於有形或無形媒介形式上用於傳輸。
23. 一種用於產生用於預測患有氣喘之患者對利用IL-13拮抗劑之治療之響應之可傳輸形式之資訊的方法，其包含：
 - a) 如請求項9測定該患者響應於利用該IL-13拮抗劑之治療之增加之可能性；及
 - b) 將該測定步驟之結果記錄於有形或無形媒介形式上用於傳輸。
24. 如請求項1之用途，其中該IL-13拮抗劑在促進該競爭之條件下與抗體01951/G12 (SEQ ID NO: 14及16)競爭結合至IL-13。
25. 如請求項1之用途，其中該IL-13拮抗劑係多肽或其片段、抗體或₅

其抗原結合片段、Fab、ScFv。

26. 如請求項1之用途，其中該IL-13拮抗劑係結合至IL-13之表位之抗體或其片段，該表位包含如SEQ ID NO: 1所示之殘基103至107之殘基FCPHKV (SEQ ID NO: 67)。
27. 如請求項1之用途，其中該IL-13拮抗劑係包含如SEQ ID NO: 20中所示之重鏈及SEQ ID NO: 18中所列舉之輕鏈的抗體。
28. 如請求項1之用途，其中該IL-13拮抗劑係以每4週i.v.方式投與約50 mg至1000 mg之劑量之抗體。
29. 如請求項1之用途，
其中該IL-13拮抗劑具有約100 pM至200 pM之 K_D 。
30. 如請求項1之用途，
其中該IL-13拮抗劑具有約21天之活體內半衰期。
31. 如請求項1之用途，
其中該IL-13拮抗劑係選自由以下組成之群之抗體：
 - i. 包含選自由以下組成之列表之CDR中之一或多者之抗體：(a) SEQ ID NO: 2或5中所示之 V_H CDR1、(b) SEQ ID NO: 3或6中所示之 V_H CDR2、(c) SEQ ID NO: 4或7中所示之 V_H CDR3、(d) SEQ ID NO: 8或11中所示之 V_L CDR1、(e) SEQ ID NO: 9或12中所示之 V_L CDR2、(f) SEQ ID NO: 10或13中所示之 V_L CDR3；
 - ii. 包含以下之抗體：SEQ ID NO: 2之重鏈可變區CDR1；SEQ ID NO: 3之重鏈可變區CDR2；SEQ ID NO: 4之重鏈可變區CDR3；SEQ ID NO: 8之輕鏈可變區CDR1；SEQ ID NO: 9之輕鏈可變區CDR2；及SEQ ID NO: 10之輕鏈可變區CDR3；
 - iii. 包含以下之抗體：SEQ ID NO: 5之重鏈可變區CDR1；SEQ ID NO: 6之重鏈可變區CDR2；SEQ ID NO: 7之重鏈可變區

CDR3；SEQ ID NO: 11之輕鏈可變區CDR1；SEQ ID NO: 12之輕鏈可變區CDR2；及SEQ ID NO: 13之輕鏈可變區CDR3，

iv. 包含SEQ ID NO: 14中所列舉之重鏈可變區及SEQ ID NO: 16中所列舉之輕鏈可變區之抗體，

v. 包含SEQ ID NO: 20中所列舉之重鏈及SEQ ID NO: 18中所列舉之輕鏈之抗體。

32. 如請求項10至12及21至23中任一項之方法，其中該IL-13拮抗劑在促進該競爭之條件下與抗體01951/G12 (SEQ ID NO:14及16)競爭結合至IL-13。

33. 如請求項10至12及21至23中任一項之方法，其中該IL-13拮抗劑係多肽或其片段、抗體或其抗原結合片段、Fab、ScFv。

34. 如請求項10至12及21至23中任一項之方法，其中該IL-13拮抗劑係結合至IL-13之表位之抗體或其片段，該表位包含如SEQ ID NO: 1所示之殘基103至107之殘基FCPHKV (SEQ ID NO: 67)。

35. 如請求項10至12及21至23中任一項之方法，其中該IL-13拮抗劑係包含SEQ ID NO: 20中所示之重鏈及SEQ ID NO: 18中所列舉之輕鏈之抗體。

36. 如請求項10至12及21至23中任一項之方法，其中該L-13拮抗劑係以每4週i.v.方式投與約50 mg至1000 mg之劑量之抗體。

37. 如請求項10至12及21至23中任一項之方法，其中該IL-13拮抗劑具有約100 pM至200 pM之 K_D 。

38. 如請求項10至12及21至23中任一項之方法，其中該IL-13拮抗劑具有約21天之活體內半衰期。

39. 如請求項10至12及21至23中任一項之方法，

其中該IL-13拮抗劑係選自由以下組成之群之抗體：

i. 包含選自由以下組成之列表之CDR中之一或多者之抗 s

體：(a) SEQ ID NO: 2或5中所示之 V_H CDR1、(b) SEQ ID NO: 3或6中所示之 V_H CDR2、(c) SEQ ID NO: 4或7中所示之 V_H CDR3、(d) SEQ ID NO: 8或11中所示之 V_L CDR1、(e) SEQ ID NO: 9或12中所示之 V_L CDR2、(f) SEQ ID NO: 10或13中所示之 V_L CDR3；

ii. 包含以下之抗體：SEQ ID NO: 2之重鏈可變區CDR1；SEQ ID NO: 3之重鏈可變區CDR2；SEQ ID NO: 4之重鏈可變區CDR3；SEQ ID NO: 8之輕鏈可變區CDR1；SEQ ID NO: 9之輕鏈可變區CDR2；及SEQ ID NO: 10之輕鏈可變區CDR3；

iii. 包含以下之抗體：SEQ ID NO: 5之重鏈可變區CDR1；SEQ ID NO: 6之重鏈可變區CDR2；SEQ ID NO: 7之重鏈可變區CDR3；SEQ ID NO: 11之輕鏈可變區CDR1；SEQ ID NO: 12之輕鏈可變區CDR2；及SEQ ID NO: 13之輕鏈可變區CDR3，

iv. 包含SEQ ID NO: 14中所列舉之重鏈可變區及SEQ ID NO: 16中所列舉之輕鏈可變區之抗體，

v. 包含SEQ ID NO: 20中所列舉之重鏈及SEQ ID NO: 18中所列舉之輕鏈之抗體。

圖式

取代分析：
針對所有 20 種標準胺基酸置換來自序列 MLSGFCPHKVSA 之每一殘基

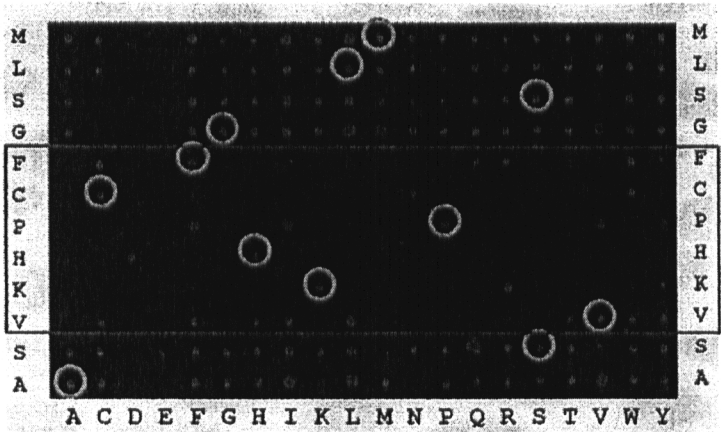


圖 1

按照抗體 01951/G12 治療之患者之基因型類別之惡化風險

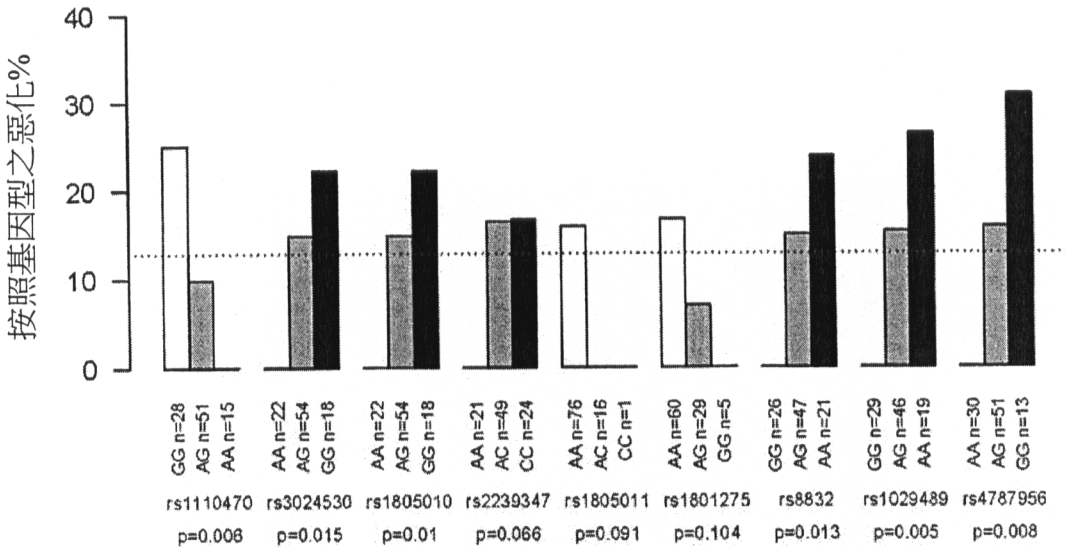


圖 2

按照在抗體 01951/G12 研究中安慰劑治療之患者之基因型類別之惡化風險

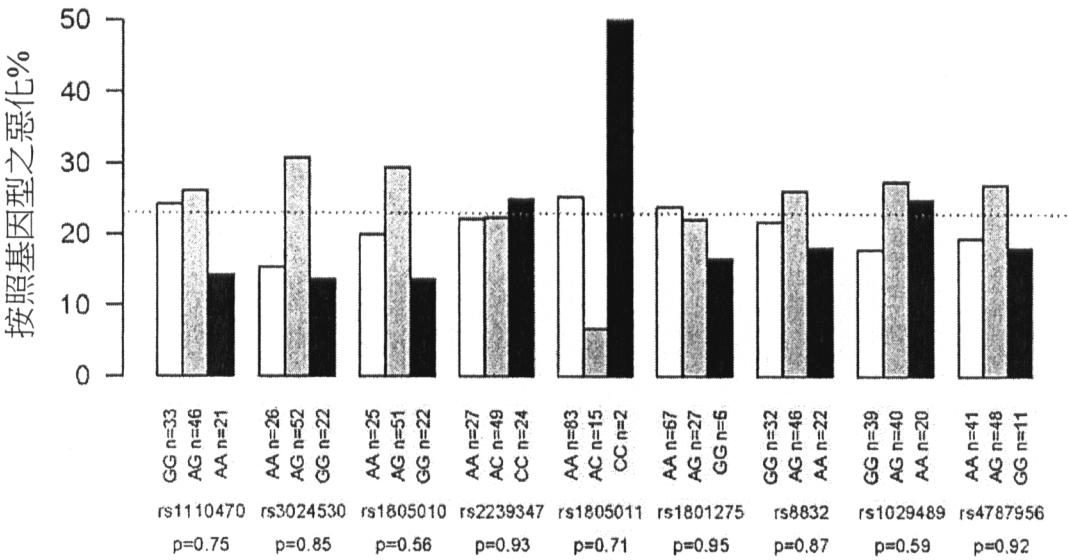


圖 3

在 IL4-Rα SNP 中兩個連鎖不平衡區塊之鑑別

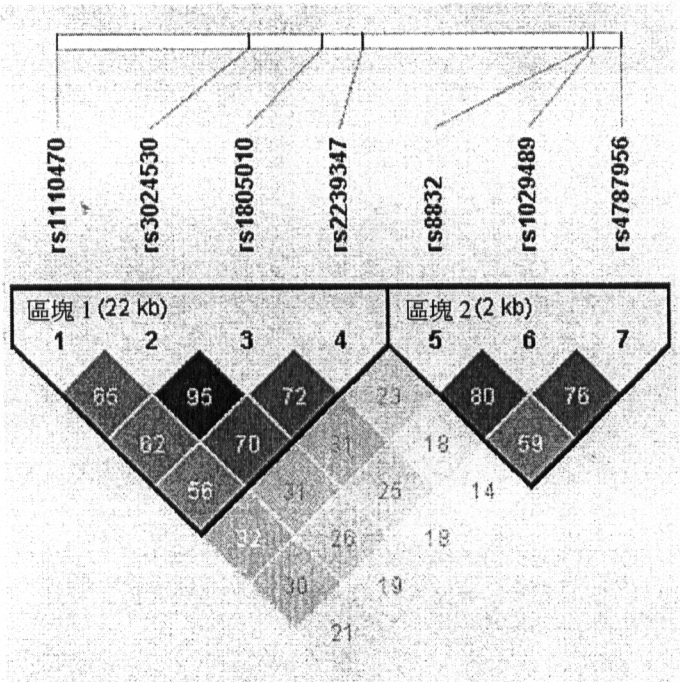


圖 4