202204422

(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 202204422 A

(43)公開日： 中華民國 111 (2022) 年 02 月 01 日

(21)申請案號：110112433 (22)申請日： 中華民國 110 (2021) 年 04 月 06 日

(51)Int. Cl.： *C07K16/40 (2006.01)* *C12N15/113 (2010.01)*
A61K39/395 (2006.01) *A61P7/06 (2006.01)*
A61P31/00 (2006.01)

(30)優先權：2020/04/07 美國 63/006,695
2021/03/08 美國 63/158,265

(71)申請人：美商邁威（美國）生物治療有限公司 (美國) MABWELL THERAPEUTICS, INC. (US)
美國

(72)發明人：杜欣 DU, XIN (CN) ；陳布新 CHEN, BUXIN (CN) ；王　玉 WANG, YU JEAN (US)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：無　申請專利範圍項數：33 項　圖式數：8　　共 186 頁

(54)名稱

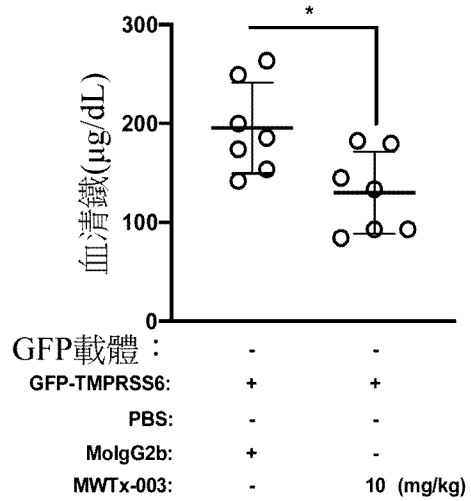
抗 TMPRSS6 抗體及其用途

(57)摘要

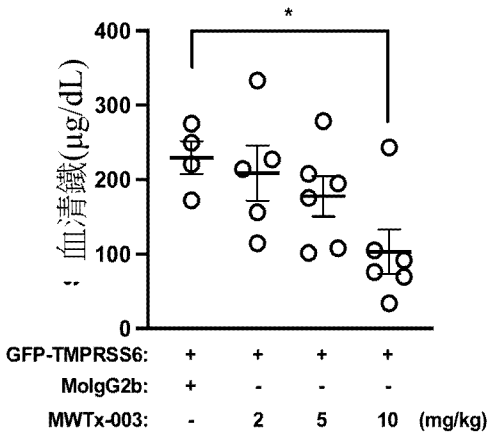
本發明提供結合細胞表面上之 II 型跨膜絲胺酸蛋白酶 6 (TMPRSS6)且增加鐵調素表現之抗體及其抗原結合片段，以及使用抗 TMPRSS6 抗體及片段來治療鐵代謝病症之方法。

Antibodies and antigen-binding fragments thereof that bind type II transmembrane serine protease 6 (TMPRSS6) on the surface of a cell and increase hepcidin expression, and methods for treating disorders of iron metabolism using anti TMPRSS6 antibodies and fragments, are provided.

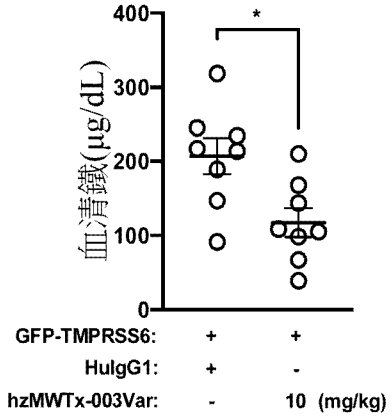
指定代表圖：



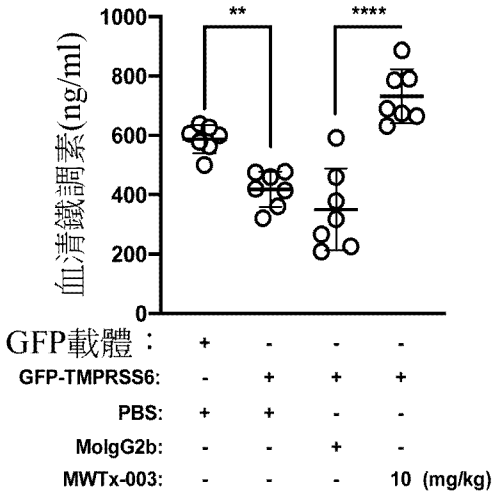
【圖6A】


*
400
300
200
100
0
血清鐵(μg/dL)
GFP-TMPRSS6: + + + +
MoIgG2b: + - - -
MWTx-003: - 2 5 10 (mg/kg)

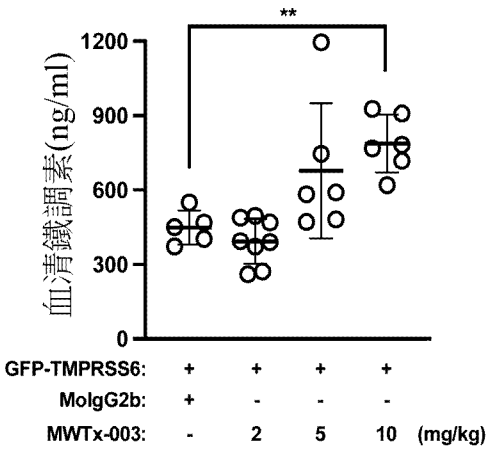
【圖6B】


*
400
300
200
100
0
血清鐵(μg/dL)
GFP-TMPRSS6: + +
HuIgG1: + -
hzMWTx-003Var: - 10 (mg/kg)

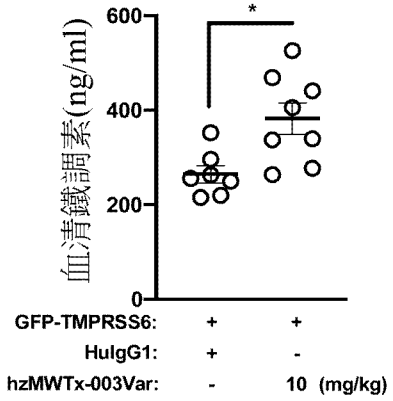
【圖6C】


**
****
1000
800
600
400
200
0
血清鐵調素(ng/ml)
GFP載體： + - - -
GFP-TMPRSS6: - + + +
PBS: + + - -
MoIgG2b: - - + -
MWTx-003: - - - 10 (mg/kg)

【圖6D】


**
1200
900
600
300
0
血清鐵調素(ng/ml)
GFP-TMPRSS6: + + + +
MoIgG2b: + - - -
MWTx-003: - 2 5 10 (mg/kg)

【圖6E】


*
600
400
200
0
血清鐵調素(ng/ml)
GFP-TMPRSS6: + +
HuIgG1: + -
hzMWTx-003Var: - 10 (mg/kg)

【圖6F】

202204422

【發明摘要】

【中文發明名稱】

抗TMPRSS6抗體及其用途

【英文發明名稱】

ANTI-TMPRSS6 ANTIBODIES AND USES THEREOF

【中文】

本發明提供結合細胞表面上之II型跨膜絲胺酸蛋白酶6 (TMPRSS6)且增加鐵調素表現之抗體及其抗原結合片段，以及使用抗TMPRSS6抗體及片段來治療鐵代謝病症之方法。

【英文】

Antibodies and antigen-binding fragments thereof that bind type II transmembrane serine protease 6 (TMPRSS6) on the surface of a cell and increase hepcidin expression, and methods for treating disorders of iron metabolism using anti TMPRSS6 antibodies and fragments, are provided.

【指定代表圖】

圖6A-6F

【代表圖之符號簡單說明】

無

【發明說明書】

【中文發明名稱】

抗TMPRSS6抗體及其用途

【英文發明名稱】

ANTI-TMPRSS6 ANTIBODIES AND USES THEREOF

【技術領域】

【0001】 本發明係關於結合TMPRSS6之抗體及抗原結合片段，以及使用結合TMPRSS6之抗體及抗原結合片段來治療鐵代謝病症。

【先前技術】

【0002】 II型跨膜絲胺酸蛋白酶6 (TMPRSS6)係由*TMPRSS6*基因編碼且主要在肝臟中表現。TMPRSS6之結構包括II型跨膜域，隨後為海膽精子蛋白、腸肽酶及集聚素(SEA)域(含有兩種補體因子C1r/C1s之莖區)、海膽胚胎生長因子及骨形態生成蛋白(CUB)域及三個低密度脂蛋白受體(LDLR) A類重複序列及C端胰蛋白酶樣絲胺酸蛋白酶域(Wang, C.-Y.等人, *Front. Pharmacol.* 2014. 5:114)。TMPRSS6 (EC 3.4.21)之別名包括：間質蛋白酶-2；跨膜蛋白酶絲胺酸6；膜結合嵌合絲胺酸蛋白酶間質蛋白酶-2；及MT2。

【0003】 TMPRSS6係經由調節鐵調素(控制鐵吸收及鐵儲存動員之激素)表現的BMP-SMAD信號傳導路徑在鐵穩態中起顯著作用。鐵調素(亦稱為：HAMP (鐵調素抗微生物蛋白質或肽)，由人類及非人類靈長類動物中之*HAMP*及小鼠及大鼠中之*Hamp*編碼)藉由控制唯一鐵流出通道膜鐵轉運蛋白之功能活性來調節全身性鐵穩態。鐵調素可藉由結合至膜鐵轉運蛋白且引起複合物之內化及降解來降低血漿鐵含量，藉此防止在小腸處

之鐵吸收及所儲存鐵之釋放。鐵調素含量之長期升高引起全身性鐵缺乏，且鐵調素缺乏引起全身性鐵過載。

【0004】 TMPRSS6係經由跨膜信號傳導路徑負調節鐵調素之產生，該跨膜信號傳導路徑係藉由鐵缺乏觸發且抑止*HAMP*活化(Du, X.等人., *Science* 2008. 320: 1088-1092；Wang, C.-Y.等人, *Front. Pharmacol*. 2014. 5:114)。低血液鐵含量觸發此路徑以減少鐵調素產生，其允許來自飲食之更多鐵經由腸吸收且自儲存部位輸送至血流中。在急性鐵缺乏下之大鼠中，肝臟TMPRSS6蛋白質含量上調，導致鐵調素表現及產生受抑止(Wang, C.-Y.等人, *Front. Pharmacol*. 2014. 5:114)。已在患有鐵缺乏性貧血(尤其係對口服鐵治療無反應且僅對非經腸鐵療法有部分反應之鐵難治性鐵缺乏性貧血(IRIDA))之個體中鑑別整個TMPRSS6分子中(且尤其係胞外域中)的突變(Wang, C.-Y.等人, *Front. Pharmacol*. 2014. 5:114)。人體內之*TMPRSS6*中之功能損失型突變導致鐵調素含量升高及鐵缺乏性貧血(Camaschella, C., *N Engl Journal Med* 2013. 168:24)，此係因為鐵調素之過度產生導致鐵吸收及利用不足。

【0005】 當過量鐵在組織及器官中積聚至破壞其正常功能之程度時，導致鐵過載病症。鐵毒性為鐵過載病症之常見併發症，從而由於主要器官中之鐵積聚而導致高死亡率。β-地中海型貧血為當*HBB*基因突變引起β-血球蛋白(β血球蛋白)之產生減少或不存在時發生的鐵過載病症，該等突變導致紅血球母細胞之凋亡及成熟紅血球不足，從而導致無效紅血球生成，其引起貧血及導致鐵毒性之鐵過度吸收。在患有β-地中海型貧血之患者中，鐵調素相對於患者之鐵負載狀態受異常抑止，從而產生鐵調素缺乏，其又允許過度鐵吸收及全身性鐵過載的發展。其他病症，諸如骨髓發

育不良症候群(MDS)、紅血球生成不良性貧血、鐵粒幼細胞性貧血中之無效紅血球生成同樣藉由導致鐵過載之低鐵調素表徵。血色素沈著症(例如1型血色素沈著症或遺傳性血色素沈著症)為藉由膳食鐵之過量腸道吸收及全身鐵儲存之病理性增加表徵的鐵過載病症。治療鐵過載病症之當前護理標準包括用於可進一步加重鐵過載、具有不良患者順應性之鐵螯合的無效紅血球生成之輸血，及靜脈切開術或脾切除術以控制症狀。當前處於開發中之治療方法包括靶向*HBB*基因之基因療法、靶向其他相關基因之基因療法及基因編輯、鐵調素模擬物、靶向TGF超家族配位體以抑制SMAD信號傳導之Fc融合蛋白、靶向*TMPRSS6* (例如，El-Beshlawy A.,等人, *Blood Cells, Molecules and Diseases* 2019. 76: 53-58)之反義RNA藥物及靶向*TMPRSS6*之iRNA藥物。

【發明內容】

【0006】 本發明係關於結合TMPRSS6之新穎抗體及其抗原結合片段，及製備且使用結合TMPRSS6之抗體及其抗原結合片段之方法。

【0007】 本發明提供抗TMPRSS6抗體、編碼抗TMPRSS6抗體之核酸及製備且使用抗TMPRSS6抗體之方法。如本文所揭示之抗TMPRSS6抗體涵蓋能夠結合TMPRSS6之抗TMPRSS6抗體及其片段。如本文所揭示之抗TMPRSS6抗體能夠結合至表現人類TMPRSS6之細胞表面上的人類TMPRSS6。本發明提供用於治療性及診斷用途之抗TMPRSS6抗體。如本文所揭示之抗TMPRSS6抗體可用於治療鐵代謝病症，諸如鐵過載病症，尤其係β-地中海型貧血，包括(但不限於)非輸血依賴性地中海型貧血，及無效紅血球生成之其他病症。

【0008】 在一個態樣中，提供能夠結合至表現TMPRSS6之細胞表

面上的TMPRSS6且調控參與鐵代謝之至少一種組分之活性的抗TMPRSS6抗體，其中組分可為與TMPRSS6之功能相關之分子或生物方法。在某些實施例中，本文所揭示之抗TMPRSS6抗體能夠調控參與調節鐵調素表現之至少一種組分的活性。在某些實施例中，本文所揭示之抗TMPRSS6抗體能夠實質上抑制TMPRSS6對鐵調素表現之抑止。在某些實施例中，本文所揭示之抗TMPRSS6抗體能夠增加鐵調素表現。在某些實施例中，本文所揭示之抗TMPRSS6抗體能夠增加鐵調素啟動子之活性。在某些實施例中，本文所揭示之抗TMPRSS6抗體能夠實質上抑制TMPRSS6對BMP/SMAD路徑誘導之鐵調素表現之抑止。本文所揭示之抗TMPRSS6抗體可以劑量依賴性方式調控鐵調素表現，包括(但不限於)實質上抑制TMPRSS6對鐵調素表現之抑止、增加鐵調素表現、增加鐵調素啟動子活性或實質上抑制TMPRSS6對BMP/SMAD路徑誘導之鐵調素表現之抑止。在某些實施例中，本文所揭示之抗TMPRSS6抗體能夠以劑量依賴性方式調控鐵調素表現。在某些實施例中，本文所揭示之抗TMPRSS6抗體能夠在向個體投與時以劑量依賴性方式增加血清鐵調素含量。在某些實施例中，本文所揭示之抗TMPRSS6抗體能夠在向個體投與時以劑量依賴性方式降低血清鐵含量。在某些實施例中，本文所揭示之抗TMPRSS6抗體能夠在向個體投與時以劑量依賴性方式增加肝臟鐵調素RNA含量。在某些實施例中，本文所揭示之抗TMPRSS6抗體能夠在向已知或疑似患有鐵過載病症(尤其係β-地中海型貧血)之個體投與時減少肝臟非原血紅素鐵、增加血清鐵調素、增加肝臟鐵調素RNA、減少脾腫大、增加紅血球計數(RBC)、增加血容比(HCT)、減少紅血球分佈寬度(RDW)及增加成熟紅血球之產生(增加紅血球生成)。

【0009】在另一態樣中，本文所揭示之抗TMPRSS6抗體展示與至少一種非人類TMPRSS6之交叉反應性。在某些實施例中，本文所揭示之抗TMPRSS6抗體能夠結合至表現至少一種非人類TMPRSS6之細胞表面上的至少一種非人類TMPRSS6。本文所揭示之抗TMPRSS6抗體可能夠結合人類TMPRSS6及小鼠TMPRSS6。本文所揭示之抗TMPRSS6抗體可能夠結合至人類TMPRSS6及食蟹獼猴TMPRSS6。本文所揭示之抗TMPRSS6抗體可能夠結合至人類TMPRSS6、小鼠TMPRSS6及食蟹獼猴TMPRSS6中之每一者。

【0010】在另一態樣中，本文所揭示之抗TMPRSS6抗體特異性結合至TMPRSS6 (間質蛋白酶-2)。在某些實施例中，本文所揭示之抗TMPRSS6抗體結合至TMPRSS6 (間質蛋白酶-2)且不會展示與間質蛋白酶同源物之可偵測結合。在某些實施例中，本文所揭示之抗TMPRSS6抗體結合至人類TMPRSS6 (間質蛋白酶-2)且不會展示與人類間質蛋白酶-1 (ST14)之可偵測結合。在某些實施例中，本文所揭示之抗TMPRSS6抗體結合至人類TMPRSS6 (間質蛋白酶-2)且不會展示與人類間質蛋白酶-3 (TMPRSS7)之可偵測結合。在某些實施例中，本文所揭示之抗TMPRSS6抗體結合至人類TMPRSS6 (間質蛋白酶-2)且不會展示與人類間質蛋白酶-1 (ST14)或人類間質蛋白酶-3 (TMPRSS7)中之任一者的可偵測結合。

【0011】本文所揭示之抗TMPRSS6抗體可為單株抗體、人類化抗體、嵌合抗體、單鏈抗體、Fab片段、單鏈可變片段(scFv)、重組抗體、適體、單域抗體(VHH，奈米抗體)或其他TMPRSS6結合片段或變異體。在某些實施例中，本文所揭示之抗TMPRSS6抗體可包含其中胺基酸已經取代至現有抗體構架中之構架，尤其係影響諸如抗原結合能力之特性的構

架。在某些實施例中，本文所揭示之抗TMPRSS6抗體可包含來自源(親本)抗體之互補決定區(CDR)，其已接枝(稠合)至來自不同類型(類別)之抗體及/或與親本抗體不同之生物體的構架中，尤其係受體人類構架。在某些實施例中，本文所揭示之抗TMPRSS6抗體可包含其中胺基酸已在CDR之外的區域中經取代、突變或置換以影響諸如抗原結合或抗體結構之特性的構架，例如在圍繞CDR之可變區構架中及/或在恆定區(尤其係Fc區)中。在某些實施例中，CDR中之一或多者已經取代、突變或置換。在某些實施例中，本文所揭示之抗TMPRSS6抗體可為人類化抗TMPRSS6抗體變異體。

【0012】在某些實施例中，本文所揭示之抗TMPRSS6抗體包含至少一種具有如表1、表2或表3中所闡述之胺基酸序列，或與如表1、表2或表3中所闡述之胺基酸序列實質上一致(例如，至少85%、90%、92%、95%、97%或98%、99%一致)之序列的多肽。本文所揭示之抗TMPRSS6抗體可包含至少一種具有選自以下之胺基酸序列，或與具有選自以下之胺基酸序列的至少一種多肽實質上一致(例如，至少85%、90%、92%、95%、97%或98%、99%一致)之序列的多肽：SEQ ID NO: 1；SEQ ID NO: 2；SEQ ID NO: 3；SEQ ID NO: 4；SEQ ID NO: 6；SEQ ID NO: 7；SEQ ID NO: 8；SEQ ID NO: 9；SEQ ID NO: 11；SEQ ID NO: 12；SEQ ID NO: 13；SEQ ID NO: 14；SEQ ID NO: 16；SEQ ID NO: 17；SEQ ID NO: 18；SEQ ID NO: 19；SEQ ID NO: 21；SEQ ID NO: 22；SEQ ID NO: 23；SEQ ID NO: 24；SEQ ID NO: 26；SEQ ID NO: 27；SEQ ID NO: 28；SEQ ID NO: 29；SEQ ID NO: 31；SEQ ID NO: 32；SEQ ID NO: 33；SEQ ID NO: 34；SEQ ID NO: 36；SEQ ID NO: 37；

SEQ ID NO: 38；SEQ ID NO: 39；SEQ ID NO: 41；SEQ ID NO: 42；SEQ ID NO: 43；SEQ ID NO: 44；SEQ ID NO: 46；SEQ ID NO: 47；SEQ ID NO: 48；SEQ ID NO: 49；SEQ ID NO: 51；SEQ ID NO: 52；SEQ ID NO: 53；SEQ ID NO: 54；SEQ ID NO: 56；SEQ ID NO: 57；SEQ ID NO: 58；SEQ ID NO: 59；SEQ NO: 61；SEQ ID NO: 63；SEQ ID NO: 65；SEQ ID NO: 67；SEQ ID NO: 69；SEQ ID NO: 71；SEQ ID NO: 73；SEQ ID NO: 75；SEQ ID NO: 77；SEQ ID NO: 79；SEQ ID NO: 81；或SEQ ID NO: 83。

【0013】在一個實施例中，本文所揭示之抗TMPRSS6抗體包含SEQ ID NO: 1中闡述之胺基酸序列或與SEQ ID NO: 1實質上一致之序列的重鏈(HC)可變區多肽，及SEQ ID NO: 6中闡述之胺基酸序列或與SEQ ID NO: 6實質上一致之序列的輕鏈(LC)可變區多肽。在一個實施例中，本文所揭示之抗TMPRSS6抗體包含SEQ ID NO: 2中闡述之胺基酸序列的重鏈互補決定區1 (HC CDR1)、SEQ ID NO: 3中闡述之胺基酸序列的重鏈互補決定區2 (HC CDR2)、SEQ ID NO: 4中闡述之胺基酸序列的重鏈互補決定區3 (HC CDR3)；SEQ ID NO: 7中闡述之胺基酸序列的輕鏈互補決定區1 (LC CDR1)、SEQ ID NO: 8中闡述之胺基酸序列的輕鏈互補決定區2 (LC CDR2)及SEQ ID NO: 9中闡述之胺基酸序列的輕鏈互補決定區3 (LC CDR3)；或在CDR區中包含1、2、3、4、5或6個胺基酸取代之該抗體的變異體。在一個非限制性實施例中，本文所揭示之抗TMPRSS6抗體為在本文中鑑別為MWTx-001之抗體，其包含具有SEQ ID NO: 61中闡述之胺基酸序列的HC多肽及具有SEQ ID NO: 63中闡述之胺基酸序列的LC多肽。

【0014】在一個實施例中，本文所揭示之抗TMPRSS6抗體包含SEQ ID NO: 11中闡述之胺基酸序列或與SEQ ID NO: 11實質上一致之序列的HC可變區多肽，及SEQ ID NO: 16中闡述之胺基酸序列或與SEQ ID NO: 16實質上一致之序列的LC可變區多肽。在一個實施例中，本文所揭示之抗TMPRSS6抗體包含SEQ ID NO: 12中闡述之胺基酸序列的HC CDR1、SEQ ID NO: 13中闡述之胺基酸序列的HC CDR2、SEQ ID NO: 14中闡述之胺基酸序列的HC CDR3；SEQ ID NO: 17中闡述之胺基酸序列的LC CDR1、SEQ ID NO: 18中闡述之胺基酸序列的LC CDR2及SEQ ID NO: 19中闡述之胺基酸序列的LC CDR3，或在CDR區中包含1、2、3、4、5或6個胺基酸取代之該抗體的變異體。在一個非限制性實施例中，本文所揭示之抗TMPRSS6抗體具有在本文中鑑別為MWTx-002之抗體，其包含具有SEQ ID NO: 65中闡述之胺基酸序列的HC多肽及具有SEQ ID NO: 67中闡述之胺基酸序列的LC多肽。

【0015】在一個實施例中，本文所揭示之抗TMPRSS6抗體包含SEQ ID NO: 21中闡述之胺基酸序列或與SEQ ID NO: 21實質上一致之序列的HC可變區多肽，及SEQ ID NO: 26中闡述之胺基酸序列或與SEQ ID NO: 26實質上一致之序列的LC可變區多肽。在一個實施例中，本文所揭示之抗TMPRSS6抗體包含SEQ ID NO: 22中闡述之胺基酸序列的HC CDR1、SEQ ID NO: 23中闡述之胺基酸序列的HC CDR2、SEQ ID NO: 24中闡述之胺基酸序列的HC CDR3；SEQ ID NO: 27中闡述之胺基酸序列的LC CDR1、SEQ ID NO: 28中闡述之胺基酸序列的LC CDR2及SEQ ID NO: 29中闡述之胺基酸序列的LC CDR3，或在CDR區中包含1、2、3、4、5或6個胺基酸取代之該抗體的變異體。在一個非限制性實施例中，本

文所揭示之抗TMPRSS6抗體為在本文中鑑別為MWTx-003之抗體，其包含具有SEQ ID NO: 69中闡述之胺基酸序列的HC多肽及具有SEQ ID NO: 71中闡述之胺基酸序列的LC多肽。

【0016】在一個實施例中，本文所揭示之抗TMPRSS6抗體包含SEQ ID NO: 31中闡述之胺基酸序列或與SEQ ID NO: 31實質上一致之序列的HC可變區多肽，及SEQ ID NO: 36中闡述之胺基酸序列或與SEQ ID NO: 36實質上一致之序列的LC可變區多肽。在一個實施例中，本文所揭示之抗TMPRSS6抗體包含SEQ ID NO: 32中闡述之胺基酸序列的HC CDR1、SEQ ID NO: 33中闡述之胺基酸序列的HC CDR2、SEQ ID NO: 34中闡述之胺基酸序列的HC CDR3；SEQ ID NO: 37中闡述之胺基酸序列的LC CDR1、SEQ ID NO: 38中闡述之胺基酸序列的LC CDR2及SEQ ID NO: 39中闡述之胺基酸序列的LC CDR3，或在CDR區中包含1、2、3、4、5或6個胺基酸取代之該抗體的變異體。在一個非限制性實施例中，本文所揭示之抗TMPRSS6抗體為在本文中鑑別為人類化抗TMPRSS6抗體變異體hzMWTx-001Var之抗體，其包含具有SEQ ID NO: 73中闡述之胺基酸序列的HC多肽及具有SEQ ID NO: 75中闡述之胺基酸序列的LC多肽。

【0017】在一個實施例中，本文所揭示之抗TMPRSS6抗體包含SEQ ID NO: 41中闡述之胺基酸序列或與SEQ ID NO: 41實質上一致之序列的HC可變區多肽，及SEQ ID NO: 46中闡述之胺基酸序列或與SEQ ID NO: 46實質上一致之序列的LC可變區多肽。在一個實施例中，本文所揭示之抗TMPRSS6抗體包含SEQ ID NO: 42中闡述之胺基酸序列的HC CDR1、SEQ ID NO: 43中闡述之胺基酸序列的HC CDR2、SEQ ID NO: 44中闡述之胺基酸序列的HC CDR3；SEQ ID NO: 47中闡述之胺基酸序列

的LC CDR1、SEQ ID NO: 48中闡述之胺基酸序列的LC CDR2及SEQ ID NO: 49中闡述之胺基酸序列的LC CDR3，或在CDR區中包含1、2、3、4、5或6個胺基酸取代之該抗體的變異體。在一個非限制性實施例中，本文所揭示之抗TMPRSS6抗體為在本文中鑑別為人類化抗TMPRSS6抗體變異體hzMWTx-002Var之抗體，其包含具有SEQ ID NO: 77中闡述之胺基酸序列的HC多肽及具有SEQ ID NO: 79中闡述之胺基酸序列的LC多肽。

【0018】在一個實施例中，本文所揭示之抗TMPRSS6抗體包含SEQ ID NO: 51中闡述之胺基酸序列或與SEQ ID NO: 51實質上一致之序列的HC可變區多肽，及SEQ ID NO: 56中闡述之胺基酸序列或與SEQ ID NO: 56實質上一致之序列的LC可變區多肽。在一個實施例中，本文所揭示之抗TMPRSS6抗體包含SEQ ID NO: 52中闡述之胺基酸序列的HC CDR1、SEQ ID NO: 53中闡述之胺基酸序列的HC CDR2、SEQ ID NO: 54中闡述之胺基酸序列的HC CDR3；SEQ ID NO: 57中闡述之胺基酸序列的LC CDR1、SEQ ID NO: 58中闡述之胺基酸序列的LC CDR2及SEQ ID NO: 59中闡述之胺基酸序列的LC CDR3，或在CDR區中包含1、2、3、4、5或6個胺基酸取代之該抗體的變異體。在一個非限制性實施例中，本文所揭示之抗TMPRSS6抗體為在本文中鑑別為人類化抗TMPRSS6抗體變異體hzMWTx-003Var之抗體，其包含具有SEQ ID NO: 81中闡述之胺基酸序列的HC多肽及具有SEQ ID NO: 83中闡述之胺基酸序列的LC多肽。

【0019】在另一態樣中，提供抗TMPRSS6抗體(包括如本文所揭示之變異體及片段)，其可用於治療鐵代謝病症，諸如鐵過載病症，尤其係β-地中海型貧血及無效紅血球生成之其他病症。提供使用如本文針對治療性用途所揭示之抗TMPRSS6抗體之方法及組合物，該等治療性用途包括

(但不限於)治療鐵代謝病症，諸如鐵過載病症，尤其係β-地中海型貧血及無效紅血球生成之其他病症。在某些實施例中，提供包含本文所揭示之抗TMPRSS6抗體及適合之載劑及/或賦形劑的醫藥組合物。

【0020】 在另一態樣中，提供用於治療鐵代謝病症之方法，此類方法包含向有需要之個體投與有效量的本文所揭示之抗TMPRSS6抗體，其中投與有效量之抗TMPRSS6抗體調控參與鐵代謝之組分的活性。在某些實施例中，用於治療鐵過載病症之方法包含投與有效量的本文所揭示之抗TMPRSS6抗體，其中投與有效量之抗TMPRSS6抗體調控參與鐵代謝之組分的活性。在某些實施例中，用於治療鐵過載病症之方法包含投與有效量的本文所揭示之抗TMPRSS6抗體，其中投與有效量之抗TMPRSS6抗體調控參與調節鐵調素表現之至少一種組分的活性。在某些實施例中，方法包含投與有效量之抑制TMPRSS6對鐵調素表現之抑止的抗TMPRSS6抗體。在某些實施例中，投與有效量之抗TMPRSS6抗體增加鐵調素表現。在某些實施例中，方法包含投與有效量之增加鐵調素啟動子之活性的抗TMPRSS6抗體。在某些實施例中，方法包含投與有效量之抑制TMPRSS6對BMP/SMAD路徑誘導之鐵調素表現之抑止的抗TMPRSS6抗體。在某些實施例中，方法包含向個體投與有效量之抗TMPRSS6抗體，其導致一或多個與鐵過載病症相關之生物效應，包括(但不限於)減少血清鐵、減少肝臟非原血紅素鐵、增加血清鐵調素、增加肝臟鐵調素RNA、減少脾腫大、增加紅血球計數(RBC)、增加血容比(HCT)、減少紅血球分佈寬度(RDW)及/或增加成熟紅血球之產生(增加紅血球生成)。

【0021】 在另一態樣中，提供用於治療參與鐵調素表現之異常抑止之疾病或疾病病況的方法，此類方法包含向有需要之個體投與有效量的本

文所揭示之抗TMPRSS6抗體，其中投與有效量之抗TMPRSS6抗體調控參與鐵調素表現之異常抑止之至少一種組分的活性且減少對鐵調素表現之異常抑止。在特定實施例中，方法引起鐵調素表現增加。

【0022】 在另一態樣中，提供用於治療與受抑止之鐵調素含量相關之鐵代謝病症的方法，此類方法包含向有需要之個體投與有效量的本文所揭示之抗TMPRSS6抗體，其中投與有效量之抗TMPRSS6抗體調控參與抑止鐵調素含量之至少一種組分的活性。在某些實施例中，方法包含投與有效量之增加血清鐵調素含量、增加肝臟鐵調素RNA且降低血清鐵含量之抗TMPRSS6抗體。

【0023】 在另一態樣中，提供用於治療鐵代謝病症(包括與無效紅血球生成相關及/或由其表徵之病症)之方法，該等病症可包括(但不限於) β-地中海型貧血。根據此態樣，此類方法包含向已知或疑似患有與無效紅血球生成相關及/或由其表徵之鐵代謝病症之個體投與有效量的本文所揭示之抗TMPRSS6抗體，其中投藥導致個體之與鐵代謝及/或紅血球生成相關之一或多種變化。在某些實施例中，提供其中投與有效量之抗TMPRSS6抗體治療或改善至少一種與病症相關之生物效應或症狀的方法。在特定實施例中，實踐方法導致一或多種變化，包括(但不限於)減少肝臟非原血紅素鐵、增加血清鐵調素、增加肝臟鐵調素RNA、減少脾腫大、增加紅血球計數(RBC)、增加血容比(HCT)、減少紅血球分佈寬度(RDW)及增加成熟紅血球之產生(增加紅血球生成)。

【0024】 在另一態樣中，提供用於診斷或篩選個體中之鐵過載病症之方法。在某些實施例中，方法包含向已知或疑似患有鐵過載病症之個體投與抗TMPRSS6抗體及量測一或多種與鐵過載病症相關之生物效應或症

狀。

【0025】在另一態樣中，提供一或多種編碼本文所揭示之抗TMPRSS6抗體中之至少一者的至少一部分之經分離之核酸分子。在某些實施例中，編碼本文所揭示之抗TMPRSS6抗體中之至少一者的至少一部分之經分離之核酸分子包含如表1、表2或表3中所闡述之核苷酸序列，或與如表1、表2或表3中所闡述之核苷酸序列實質上一致(例如，至少85%、90%、92%、95%、97%或98%、99%一致)之序列。在某些實施例中，編碼本文所揭示之抗TMPRSS6抗體的重鏈(HC)序列中之至少一者之經分離之核酸分子可包含選自以下中之至少一者的核苷酸序列：SEQ ID NO: 5或與SEQ ID NO: 5實質上一致之序列；SEQ ID NO: 15或與SEQ ID NO: 15實質上一致之序列；SEQ ID NO: 25或與SEQ ID NO: 25實質上一致之序列：SEQ ID NO: 35與SEQ ID NO: 35實質上一致之序列；SEQ ID NO: 45或與SEQ ID NO: 45實質上一致之序列；SEQ ID NO: 55或與SEQ ID NO: 55實質上一致之序列；SEQ ID NO: 62或與SEQ ID NO: 62實質上一致之序列；SEQ ID NO: 66或與SEQ ID NO: 66實質上一致之序列；SEQ ID NO: 70或與SEQ ID NO: 70實質上一致之序列；SEQ ID NO: 74或與SEQ ID NO: 74實質上一致之序列；SEQ ID NO: 78或與SEQ ID NO: 78實質上一致之序列，或SEQ ID NO: 82或與SEQ ID NO: 82實質上一致之序列。在某些實施例中，編碼本文所揭示之抗TMPRSS6抗體或其抗原結合片段的輕鏈(LC)序列中之至少一者之經分離之核酸分子可包含選自以下中之至少一者的核苷酸序列：SEQ ID NO: 10或與SEQ ID NO: 10實質上一致之序列；SEQ ID NO: 20或與SEQ ID NO: 20實質上一致之序列；或SEQ ID NO: 30或與SEQ ID NO: 30實質上一致之序列；SEQ ID NO: 40或與SEQ

ID NO: 40實質上一致之序列；SEQ ID NO: 50或與SEQ ID NO: 50實質上一致之序列；SEQ ID NO: 60或與SEQ ID NO: 60實質上一致之序列；SEQ ID NO: 64或與SEQ ID NO: 64實質上一致之序列；SEQ ID NO: 68或與SEQ ID NO: 68實質上一致之序列；SEQ ID NO: 72或與SEQ ID NO: 72實質上一致之序列；SEQ ID NO: 76或與SEQ ID NO: 76實質上一致之序列；SEQ ID NO: 80或與SEQ ID NO: 80實質上一致之序列，或SEQ ID NO: 84或與SEQ ID NO: 84實質上一致之序列。

【0026】 在另一態樣中，提供包含一或多個核酸分子之載體，該一或多個核酸分子編碼本文所揭示之抗TMPRSS6抗體之至少一個胺基酸序列。在某些實施例中，提供包含一或多個核酸分子之載體，該一或多個核酸分子編碼本文所揭示之抗TMPRSS6抗體的重鏈(HC)或輕鏈(LC)序列中之至少一者。在某些實施例中，提供包含核酸分子之載體，該等核酸分子編碼如表1、表2或表3中所闡述之胺基酸序列中之至少一者的至少一部分，或與如表1、表2或表3中所闡述之胺基酸序列實質上一致之胺基酸序列的至少一部分。在某些實施例中，提供包含核酸分子之載體，該等核酸分子編碼如表1、表2或表3中所闡述之HC或LC序列中之至少一者的至少一部分，或與如表1、表2或表3中所闡述之HC或LC序列中的至少一者實質上一致之胺基酸序列之至少一部分。

【0027】 在另一態樣中，提供至少一種含有包含一或多個核酸分子之載體的宿主細胞，該一或多個核酸分子編碼本文所揭示之抗TMPRSS6抗體之胺基酸序列。在某些實施例中，提供含有包含核酸分子之載體之宿主細胞，該等核酸分子編碼如表1、表2或表3中所闡述之HC或LC序列中之至少一者的至少一部分，或與如表1、表2或表3中所闡述之HC或LC序

列中的至少一者實質上一致之胺基酸序列之至少一部分。在某些實施例中，至少一種宿主細胞能夠支撐由載體編碼之抗TMPRSS6抗體或其抗原結合片段之載體表現及重組產生。在某些實施例中，至少一種宿主細胞能夠支撐由包含核酸分子之載體編碼的抗TMPRSS6抗體或其抗原結合片段之載體表現及重組產生，該等核酸分子編碼如表1、表2或表3中所闡述之HC或LC序列中之至少一者的至少一部分，或與如表1、表2或表3中所闡述之HC或LC序列中的至少一者實質上一致之胺基酸序列之至少一部分。在某些實施例中，宿主細胞經包含一或多個核酸分子之載體暫時轉染，該一或多個核酸分子編碼本文所揭示之抗TMPRSS6抗體或其抗原結合片段之胺基酸序列，其中宿主細胞能夠支撐由載體編碼之抗TMPRSS6抗體或其抗原結合片段之載體表現及重組產生。

【圖式簡單說明】

【0028】

圖1展示抗TMPRSS6抗體之級聯篩選之結果，其中使用針對*HAMP*啟動子活性之活體外功能性分析來評定結合至人類TMPRSS6之抗體，且針對與非人類TMPRSS6之交叉反應性評定顯示對*HAMP*啟動子活性具有影響的抗體。

圖2A至2F展示抗TMPRSS6抗體對*HAMP*啟動子活性之影響，該*HAMP*啟動子活性藉由在HepG2細胞中進行之雙螢光素酶報導子分析針對一系列抗體濃度來量測。在各曲線圖中，空心圓表示使用抗TMPRSS6抗體之結果，且空心方塊表示使用相同濃度之小鼠IgG或人類IgG1作為陰性(非特異性結合)對照之結果。圖2A展示在一定抗體濃度之範圍內，MWTx-001抗TMPRSS6抗體對*HAMP*啟動子活性之影響。圖2B展示在一

定抗體濃度之範圍內，MWTx-002抗TMPRSS6抗體對*HAMP*啟動子活性之影響。圖2C展示在一定抗體濃度之範圍內，MWTx-003抗TMPRSS6抗體對*HAMP*啟動子活性之影響。圖2D展示在一定抗體濃度之範圍內，hzMWTx-001Var抗TMPRSS6抗體對*HAMP*啟動子活性之影響。圖2E展示在一定抗體濃度之範圍內，hzMWTx-002Var抗TMPRSS6抗體對*HAMP*啟動子活性之影響。圖2F展示在一定抗體濃度之範圍內，hzMWTx-003Var抗TMPRSS6抗體對*HAMP*啟動子活性之影響。

圖3A至3M展示抗TMPRSS6抗體之結合親和力之測定結果。圖3A至3F展示使用兩種不同方法測定針對HEK293T細胞上表現之人類TMPRSS6之抗TMPRSS6抗體結合親和力的結果。在各曲線圖中，空心圓表在使用一定濃度範圍內之抗TMPRSS6抗體之結果，且空心方塊表示使用相同濃度之小鼠IgG作為陰性對照之結果。圖3A至3C展示使用細胞表面ELISA(量測HRP標記之二級抗體)以量測MWTx-001 (圖3A)、MWTx-002 (圖3B)及MWTx-003 (圖3C)與人類TMPRSS6之結合的結果，其中針對各抗體所計算的EC_{50}值用作結合親和力之評估。圖3D至3F展示使用FACS (量測APC結合之二級抗體)以量測MWTx-001 (圖3D)、MWTx-002 (圖3E)及MWTx-003 (圖3F)與人類TMPRSS6之結合的結果，其中針對各抗體所計算的EC_{50}值用作結合親和力之評估。圖3G至3M展示使用Octet® RED96e測定針對人類ecto-TMPRSS6-FLAG之抗TMPRSS6抗體親和力及結合動力學的結果，其中分析物濃度為50nM、25nM、12.5nM、6.25nM、3.13nM、1.56nM及0.78nM。圖3G展示MWTx-001抗TMPRSS6抗體針對ecto-TMPRSS6-FLAG之結合動力學。圖3H展示MWTx-002抗TMPRSS6抗體針對ecto-TMPRSS6-FLAG之結合動力學。圖3I展示MWTx-003抗

TMPRSS6抗體針對ecto-TMPRSS6-FLAG之結合動力學。圖3J展示hzMWTx-001Var抗TMPRSS6抗體針對ecto-TMPRSS6-FLAG之結合動力學。圖3K展示hzMWTx-002Var抗TMPRSS6抗體針對ecto-TMPRSS6-FLAG之結合動力學。圖3L展示hzMWTx-003Var抗TMPRSS6抗體針對ecto-TMPRSS6-FLAG之結合動力學。圖3M概述所有抗TMPRSS6抗體之親和力量測值。

圖4A至4U展示抗TMPRSS6抗體之交叉反應性之測定結果。圖4A至4I展示抗TMPRSS6抗體MWTx-001、MWTx-002及MWTx-003針對HEK293T細胞上表現之人類TMPRSS6及非人類TMPRSS6之交叉反應性的測定結果。各直方圖展示與表現TMPRSS6目標之HEK293T細胞一起培育之單一抗體的FACS結果(細線及較淺填充；以抗體名稱指示)及與不會表現TMPRSS6蛋白質之對照HEK293T細胞一起培育之相同抗體的FACS結果(粗線，較暗填充；以Ctrl指示)。圖4A至4C展示使用穩定表現人類TMPRSS6 (HuTMPRSS6-$(His)_6$)之HEK293T細胞與MWTx-001 (圖4A)、MWTx-002 (圖4B)及MWTx-003 (圖4C)的結果。圖4D至4F展示使用穩定表現小鼠TMPRSS6 (MoTMPRSS6-$(His)_6$)之HEK293T細胞與MWTx-001 (圖4D)、MWTx-002 (圖4E)及MWTx-003 (圖4F)的結果。圖4G至4I展示使用瞬時表現食蟹獼猴TMPRSS6 (CynoTMPRSS6-$(His)_6$)之HEK293T細胞與MWTx-001 (圖4G)、MWTx-002 (圖4H)及MWTx-003 (圖4I)的結果。圖4J至4U展示抗TMPRSS6抗體針對HEK293T細胞上表現之非人類(小鼠(圖4J、圖4L、圖4N、圖4P、圖4R、圖4T)或食蟹獼猴(圖4K、圖4M、圖4O、圖4Q、圖4S、圖4U)) TMPRSS6之交叉反應性的結果，使用細胞表面ELISA (量測HRP標記之二級抗體)以量測MWTx-001抗

TMPRSS6抗 體(圖4J至4K)、MWTx-002抗TMPRSS6抗 體(圖4L至4M)、MWTx-003抗TMPRSS6抗 體(圖4N至4O)、hzMWTx-001Var抗TMPRSS6抗 體(圖4P至4Q)、hzMWTx-002Var抗TMPRSS6抗 體(圖4R至4S)及hzMWTx-003Var抗TMPRSS6抗 體(圖4T至4U)與 非 人 類TMPRSS6之 結合。在各曲線圖中，空心圓表示使用抗TMPRSS6抗體之結果，且空心方塊表示小鼠IgG或人類IgG1作為陰性(非特異性結合)對照之結果，其中針對各抗體所計算的EC_{50}值用作結合親和力之評估。

圖5A至5R展 示 抗TMPRSS6單 株 抗 體MWTx-001 (圖5A至5C)、MWTx-002 (圖5D至5F)、MWTx-003 (圖5G至5I)抗TMPRSS6抗體及其人類 化 變 異 體hzMWTx-001Var (圖5J至5L)、hzMWTx-002Var (圖5M至5O)、hzMWTx-003Var (圖5P至5R)抗TMPRSS6抗體與表現同源間質蛋白酶之HEK293T細胞之結合的FACS分析之結果。穩定表現人類TMPRSS6(間質蛋白酶-2)之HEK293T細胞(圖5A、圖5D、圖5G、圖5J、圖5M、圖5P)用作陽性對照，且過度表現間質蛋白酶(ST14) (圖5B、圖5E、圖5H、圖5K、圖5N、圖5Q)及/或間質蛋白酶-3 (TMPRSS7) (圖5C、圖5F、圖5I、圖5L、圖5O、圖5R)蛋白質之HEK293T細胞用於測試與同源間質蛋白酶之結合。在各圖(圖5A至5R)中，未表現間質蛋白酶(HEK293T)之HEK293T細胞用作陰性對照，其中明確指示對照(Ctrl)結果。

圖6A至6L展示抗TMPRSS6抗體治療以劑量依賴性方式增加小鼠中之鐵調素表現。圖6A至6C展示MWTx-003抗TMPRSS6抗體(圖6A至6B)或其人類化變異體hzMWTx-003Var抗TMPRSS6抗體(圖6C)對血清鐵之影響。圖6D展示GFP-TMPRSS6對血清鐵調素之影響。圖6D至6F展示MWTx-003抗TMPRSS6抗 體(圖6D至6E)或 其 人 類 化 變 異 體hzMWTx-

003Var抗TMPRSS6抗體(圖6F)對血清鐵之影響。圖6G展示GFP-TMPRSS6對肝臟鐵調素RNA之影響。圖6G至6I展示MWTx-003抗TMPRSS6抗體(圖6G至6H)或其人類化變異體hzMWTx-003Var抗TMPRSS6抗體(圖6I)對肝臟鐵調素RNA之影響。圖6J至6L展示MWTx-003抗TMPRSS6抗體(圖6J至6K)或其人類化變異體hzMWTx-003Var抗TMPRSS6抗體(圖6L)之血清濃度。小鼠IgG2b (MoIG2b) (圖6A至6B、圖6D至6E、圖6G至6H、圖6J至6K)或人類IgG1 (HuIGg1) (圖6C、圖6F、圖6I、6L)用作同型對照，PBS用作媒劑對照，且GFP載體用作載體對照(圖6A、6D、6G、6J)。

圖7A至7R展示使用β-地中海型貧血小鼠模型之抗TMPRSS6抗體之活體內功效。圖7A至7D展示使用Th3/+小鼠，MWTx-003抗TMPRSS6抗體對RBC (圖7A)、HGB (圖7B)、HCT (圖7C)及RDW (圖7D)之影響。圖7E展示使用Th3/+小鼠，MWTx-003抗TMPRSS6抗體對脾臟重量之影響。圖7F展示使用Th3/+小鼠，MWTx-003抗TMPRSS6抗體對血清鐵之影響。圖7G展示使用Th3/+小鼠，MWTx-003抗TMPRSS6抗體對肝臟非原血紅素鐵之影響。圖7H展示使用Th3/+小鼠，MWTx-003抗TMPRSS6抗體對血清鐵調素之影響。圖7I展示使用Th3/+小鼠，MWTx-003抗TMPRSS6抗體對肝臟鐵調素RNA之影響。圖7J展示使用Th3/+小鼠，MWTx-003抗TMPRSS6抗體之血清濃度。圖7L至7M展示使用來自Th3/+小鼠之骨髓，MWTx-003抗TMPRSS6抗體對紅血球生成之影響。圖7O至7P展示使用來自Th3/+小鼠之脾細胞，MWTx-003抗TMPRSS6抗體對紅血球生成之影響。圖7K至7P中之代表性曲線圖展示四種不同細胞叢(I：嗜鹼性紅血球母細胞；II：多染性紅血球母細胞；III：正染性紅血球母細

胞及無核網狀紅血球及IV：成熟紅血球)且突出顯示其對應的細胞數目百分比。野生型小鼠用作陽性對照(圖7A至7J、圖7K、圖7N)，且小鼠IgG2b (MoIgG2b)用作治療中之同型對照(圖7A至7J、圖7L、圖7O)。圖7Q至7R中之條形圖展示4週之後各治療方案(WT、Th3/+ w/ MoIgG2b、Th3/+ w/ MWTx-003)之骨髓(圖7Q)及脾臟(圖7R)中之細胞叢I、II、III及IV的平均結果，其中比較允許鑑別各群體之轉變，最值得注意地，在MWTx-003治療之後轉變為成熟紅血球(叢集IV)。

圖8A至8D展示使用Octet® RED96e，MWTx-001、MWTx-002及MWTx-003抗TMPRSS6抗體針對人類ecto-TMPRSS6-FLAG之抗原決定基分組(binning)的結果。圖8A展示MWTx-001抗TMPRSS6抗體針對ecto-TMPRSS6-FLAG之抗原決定基分組。圖8B展示MWTx-002抗TMPRSS6抗體針對ecto-TMPRSS6-FLAG之抗原決定基分組。圖8C展示MWTx-003抗TMPRSS6抗體針對ecto-TMPRSS6-FLAG之抗原決定基分組。圖8D概述MWTx-001、MWTx-002及MWTx-003抗TMPRSS6抗體之締合信號。

【實施方式】

【0029】

相關申請案

本申請案主張2020年4月7日申請之標題為「Anti-TMPRSS6 Antibodies and Uses Thereof」之美國臨時申請案第63/006,695號，及2021年3月8日申請之標題為「Anti-TMPRSS6 Antibodies and Uses Thereof」之美國臨時申請案第63/158,265號的優先權，其中之每一者的全部內容特此以全文引用之方式併入。

【0030】

序列表

本申請案含有序列表，該序列表已以ASCII格式以電子方式提交且特此以全文引用之方式併入。該ASCII複本創建於2021年3月29日，名為1121-101PCT_SL.txt且大小為132,677位元組。

【0031】 本發明係關於結合TMPRSS6之新穎抗體及其抗原結合片段，及製備及使用其之方法。

【0032】

術語/定義

除非另外定義，否則結合本發明使用之科學及技術術語應具有一般熟習此項技術者通常理解之含義。除非上下文另外明確規定，否則單數術語之使用(「一(a/an)」或「該(the)」或其他單數術語之使用)包括複數個參考物，且複數術語應包括單數。因此，舉例而言，提及「抗體」包括「一或多種」抗體或「複數種」此類抗體。

【0033】 一般而言，熟習此項技術者可利用之分子生物學、微生物學、細胞及組織培養、蛋白質及核苷酸化學方法，及重組DNA技術之命名法及技術可用於本文所揭示之抗體、抗原結合片段、組合物及方法。本文所描述之技術及程序通常根據此項技術中熟知之習知方法且如各種一般性及更特定參考文獻(尤其Sambrook等人(1989)MOLECULAR CLONING: A LABORATORY MANUAL (第2版, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y.)及Ausubel等人(1994) CURRENT PROTOCOLS IN MOLECULAR BIOLOGY, 第I-III卷(John Wiley & Sons, N.Y.))中所描述來進行。除非在本文中另外說明，否則酶促反應及純化技術係根據製造商之說明書或如此項技術中通常所實現或如

本文所描述來進行。使用習知命名法在本文中描述用於醫藥製劑及調配物以及治療個體之技術及方法。

【0034】「抗體」最廣義而言係指經由一或多個免疫球蛋白可變區識別且結合至抗原之多肽或多肽組合，其中免疫球蛋白可變區可為天然存在或非天然存在的，例如由於工程改造、嵌合、人類化、最佳化、CDR接枝或親和力成熟。

【0035】如本文所揭示之「抗體」可為整個(完整、全長)抗體、單鏈抗體或具有一條或兩條鏈之抗原結合片段，且可為天然存在及非天然存在的。抗體包含至少足夠的互補決定區(CDR)，其穿插有構架區(FR)，用於抗體識別且結合至抗原。本文所揭示之抗TMPRSS6抗體可為(但不限於)以下中之至少一者：單株抗體、多株抗體、人類化抗體、嵌合抗體、單鏈抗體、Fab片段、單鏈可變片段(scFv)、適體、單域抗體(VHH或奈米抗體)、重組抗體、具有連接至抗體之肽/其他部分及/或添加至N端或C端之額外胺基酸的經修飾之抗體，或其他TMPRSS6結合片段或變異體。全抗體、全長抗體、完整抗體、天然存在之抗體或等效術語應理解為係指包含藉由二硫鍵互連之至少兩條重鏈(HC)及兩條輕鏈(LC)的多肽，尤其係醣蛋白。各HC包含重鏈可變區(VH)及HC恆定區(CH)，且各輕鏈包含輕鏈可變區(VL)及LC恆定區(CL)。HC及LC可變區(VH及VL)包括與抗原相互作用之結合域。VH及VL區可進一步細分為藉由高變性表徵之CDR區，穿插有通常更保守之FR區。各VH及VL通常由按以下次序自胺基端至羧基端排列之三個CDR及四個FR構成：FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。抗體之恆定區可介導免疫球蛋白與宿主組織或因子之結合，包括免疫系統及典型補體系統之各種細胞。通常，抗體包含至少重鏈

(HC) CDR1、CDR2及CDR3，及輕鏈(LC) CDR1、CDR2及CDR3序列，其中此等序列中之任一者可為天然或非天然存在的。抗體可包含較少CDR序列，只要抗體可識別且結合抗原即可。

【0036】 本文所揭示之抗TMPRSS6抗體可為包含至少一個改變之CDR或構架序列的變異體，其中CDR及/或構架序列可藉由使編碼此類構架序列之核酸分子突變而最佳化。變異體可藉由獨立地衍生自不同源之HC及LC部分構築。用於產生變異體之技術包括(但不限於)保守胺基酸取代、電腦建模、單獨或組合篩選候選多肽及密碼子優化，且應理解，熟練人員能夠視需要產生抗體變異體。本文所揭示之抗TMPRSS6抗體可為片段。抗體之抗原結合功能可藉由諸如以下之片段進行：Fab片段；單價片段，其由VL、VH、CL及CH1域組成；$F(ab)_2$片段；二價片段，其包含在鉸鏈區藉由雙硫橋鍵連接之兩個Fab片段；Fd片段，其由VH及CH1域組成；單鏈可變片段(scFv)，其由抗體之單臂之VL及VH域組成；單域抗體(dAb)片段，其由VH域組成；及經分離之CDR (VHH，奈米抗體)，或適體。抗原結合部分可併入至單域抗體、最大抗體、微型抗體、奈米抗體、胞內抗體、雙功能抗體、三功能抗體、四功能抗體、v-NAR及雙-scFv中(參見例如Hollinger及Hudson, 2005, Nature Biotechnology, 23, 9, 1126-1136)。抗體之抗原結合部分可接枝至基於多肽之骨架中以形成單功能抗體(參見例如美國專利第6,703,199號，其描述纖維結合蛋白多肽單功能抗體)。

【0037】 術語抗體涵蓋各種廣泛類別之多肽，其可以生物化學方式區分。抗體之「類別」係指其重鏈所具有之恆定域或恆定區的類型。熟習此項技術者理解，存在五種主要類別之抗體，即IgA、IgD、IgE、IgG及

IgM，此等中之數種可進一步劃分為亞類(同型)，例如IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1及IgA2，其中之每一者經充分表徵且已知賦予功能特異性。此等類別及同型中之每一者的經修飾形式可容易地辨別且在本發明之範疇內。儘管所有免疫球蛋白類別皆在本發明之範疇內，但本發明將主要針對IgG類免疫球蛋白分子。

【0038】 術語「嵌合」抗體係指其中參與形成免疫反應性位點之重鏈(HC)及/或輕鏈(LC)之一部分衍生自特定來源或物種，而HC及/或LC之其餘部分衍生自不同來源或物種的抗體。在某些實施例中，目標結合區或位點將來自非人類來源(例如，小鼠或非人類靈長類動物)，且恆定區為人類。

【0039】 如本文所使用，片語「人類化抗體」係指衍生自非人類抗體(通常為小鼠單株抗體)之抗體或抗體變異體，其中來自親本、非人類抗體之CDR在包含衍生自人類免疫球蛋白構架(尤其係受體人類構架或人類共同構架)之可變區的構架中接枝(稠合)。用於設計、製備及測試人類化抗體之技術及原理為已知的(Jones PT, Dear PH, Foote J, Neuberger MS, Winter G.Replacing the complementarity-determining regions in a human antibody with those from a mouse. *Nature*. 1986年5月29日-6月4日;321(6069):522-5；Almagro JC, Fransson J. Humanization of antibodies. *Front Biosci*. 2008年1月1日;13:1619-33)。應理解，可對多個位置處之受體架構進行改變以便產生根據所需用途具有改良特徵(例如針對目標之高親和力、低清除率、低毒性等)之人類化抗體。本文所揭示之抗TMPRSS6抗體可為人類化變異體。

【0040】 「親和力」係指分子(例如，抗體)之單個結合位點與其結

合配偶體(例如，抗原)之間的非共價相互作用之總和的強度。除非另外指示，否則如本文所使用，「結合親和力」係指反映結合對(例如，抗體與抗原)成員之間1:1相互作用之固有結合親和力。可藉由此項技術中已知之常用方法(包括本文所描述之彼等方法)來量測親和力。最大結合之約50%時之計算濃度(所計算之EC_{50})可用作親和力之評估。分子X對其配偶體Y之親和力可通常由解離常數(Kd或KD，表示針對相互作用所量測之k_{off}/k_{on})表示。

【0041】「個體」為哺乳動物，其中哺乳動物包括(但不限於)靈長類動物(例如，人類及非人類靈長類動物，諸如猴)、馴養動物(例如，牛、綿羊、貓、狗、豬、駱馬及馬)、家兔及嚙齒動物(例如，小鼠及大鼠)。在某些實施例中，個體為人類。片語「向有需要之個體」或「向有需要之患者」或「向需要治療之患者」或「需要治療之個體」可包括將得益於投與本文所揭示之抗TMPRSS6抗體以治療鐵過載病症的個體。應理解，投與抗TMPRSS6抗體涵蓋基於諸如症狀、家族病史或基因型之指標向「有需要之個體」(可解釋為指代已知或疑似患有鐵過載病症(尤其係β-地中海型貧血)之個體)投與。應進一步理解，出於可包括(但不限於)預防性或防治性目的、篩選、診斷、研究目的或達成不同於治療病症之結果的目的，可向尚未知曉或疑似患有鐵代謝病症之個體投與抗TMPRSS6抗體。

【0042】例如醫藥調配物中之抗TMPRSS6抗體之「有效量」係指在必需劑量下且持續必需時間段以有效達成所需治療或防治結果之量。應理解，「有效量」意欲指抗TMPRSS6抗體或包含抗TMPRSS6抗體之醫藥組合物之量，其將引起對細胞、組織、系統、非人類動物個體、非人類哺

乳動物個體或所量測之人類個體的生物反應或所需治療效果。術語「治療有效量」、「藥理學上有效量」及「生理學上有效量」可互換使用以指代在血流中或在目標組織中提供臨限水準之活性劑所需的抗TMPRSS6抗體之量。精確量將取決於諸多因素，例如特定抗TMPRSS6抗體(活性劑)；組合物之組分及物理特性；待治療之個體/患者之意欲群體；諸如疾病病況、年齡、性別及個體重量之考慮因素及類似者，且可容易地藉由熟習此項技術者基於本文所提供或相關文獻中以其他方式可獲得之資訊確定。如此上下文中所使用，術語「改善」、「增加」或「減少」指示相對於基線量測值之值或參數，諸如在開始本文所描述之治療之前相同個體的量測值，或在不存在本文所描述之治療的情況下對照個體(或多個對照個體)之量測值。

【0043】 術語「醫藥組合物」或「醫藥調配物」係指呈允許其中所含之活性成分之生物活性有效的此類形式之製劑，尤其係抗TMPRSS6抗體。應理解，醫藥組合物可含有超過一種活性成分，例如超過一種抗TMPRSS6抗體，或抗TMPRSS6抗體與作用於不同目標之另一活性成分的組合，其中此類組合可為(但不限於)抗TMPRSS6抗體與對造血過程(尤其係紅血球生成)具有所需效果之另一活性成分的組合、抗TMPRSS6抗體與基因治療劑(諸如實施靶向HBB基因之基因療法的藥劑)之組合，或抗TMPRSS6抗體與靶向TGF超家族配位體以刺激紅血球生成之Fc融合蛋白的組合。「醫藥學上可接受之載劑」係指醫藥調配物中之除活性成分以外之對個體無毒的成分。應理解，醫藥學上可接受之載劑可為(但不限於)緩衝液、賦形劑、穩定劑、佐劑或防腐劑。

【0044】 如本文所使用，術語「治療(treat/treating)」或類似術語

可指認為在所限定情形組中對特定個體有益之結果。治療鐵代謝病症可不僅指減少、緩解、減緩、中斷、遏制、減輕、停止或逆轉現有症狀、病症、病況或疾病之進展或嚴重程度中之任一者，且可進一步涵蓋預防或延遲一或多種鐵過載病症之症狀的發作，及/或減輕一或多種鐵過載病症之症狀的嚴重程度或頻率。術語「治療」或「治療方法」或等效物可涵蓋本文所揭示之抗TMPRSS6抗體之一或多個用途，包括(但不限於)治療性、防治性、預防性、診斷性、成像及篩選用途。

【0045】 如本文所使用，術語「載體」係指能夠在引入載體之宿主細胞中傳播載體序列所連接之核酸的核酸分子。能夠導引其以操作方式連接之核酸之表現的載體在本文中稱為「表現載體」。

抗TMPRSS6抗體

【0046】 提供能夠結合細胞表面上之TMPRSS6且調控參與鐵代謝之至少一種組分(尤其係參與與對鐵調素表現之異常抑止相關的鐵過載病症之至少一種組分)之活性的抗體及抗原結合片段。能夠結合細胞表面上之TMPRSS6且調控參與調節鐵調素表現之至少一種組分之活性的抗TMPRSS6抗體可用於治療與對鐵調素表現之異常抑止相關之鐵過載病症的方法中。能夠結合細胞表面上之TMPRSS6且調控TMPRSS6對鐵調素表現之抑止的抗TMPRSS6抗體可用於在用於治療與對鐵調素表現之異常抑止相關之鐵過載病症的方法中治療學上靶向TMPRSS6。

【0047】 一旦已獲得對TMPRSS6 (尤其係細胞表面上表現之人類TMPRSS6)具特異性之抗體或片段，則可藉由熟練人員已知的數種方法測試調控參與其鐵代謝之至少一種組分之活性的所需生物活性。

【0048】 應理解，如本文所使用，「調控(modulate/modulating)」

或類似術語可指可在本文所揭示之抗TMPRSS6抗體結合其目標時產生之一或多個效應。視考慮中之組分而定，「調控」及其等效詞可指不同的作用模式及影響，亦即，調控可指中和、逆轉、抑制、阻斷、減少、拮抗或以其他方式干擾參與鐵代謝之某些組分的活性，而對於參與鐵代謝之其他組分，術語調控可指增加、增強或對此等組分具有促效劑作用。

【0049】 應理解，術語「組分」不僅可指目標分子TMPRSS6，且亦可指參與鐵代謝之下游過程或路徑。因此，過程或路徑之含義內之組分可為(但不限於)調節鐵調素表現、TMPRSS6對鐵調素表現之抑止、鐵調素表現之過程、調節鐵調素含量、增加鐵調素含量、鐵調素啟動子之活性或TMPRSS6對BMP/SMAD路徑誘導之鐵調素表現之抑止、調節肝臟非原血紅素鐵含量、參與脾腫大之一或多個過程，或參與調節紅血球計數(RBC)、血容比(HCT)、紅血球分佈寬度(RDW)及紅血球生成(尤其係成熟紅血球之產生)的一或多個造血過程。

【0050】 如本文所揭示之抗TMPRSS6抗體可用於治療學上靶向參與鐵代謝之至少一種組分，尤其係參與鐵過載病症之至少一種組分。在某些實施例中，如本文所揭示之抗TMPRSS6抗體可用於治療學上靶向參與調節鐵調素表現之至少一種組分，且調控組分之活性以實現增加之鐵調素表現。在某些實施例中，如本文所揭示之抗TMPRSS6抗體可用於調控鐵調素啟動子之活性以實現增加之鐵調素表現。應理解，如本文所揭示之抗TMPRSS6抗體可用於治療學上靶向TMPRSS6且藉此調控鐵調素表現之其他組分的下游活性，包括(但不限於)調節肝臟非原血紅素鐵含量、參與脾腫大之一或多個過程，或參與調節紅血球計數(RBC)、血容比(HCT)、紅血球分佈寬度(RDW)及紅血球生成(尤其係成熟紅血球之產生)的一或多個

造血過程。

【0051】使用如本文所揭示之抗TMPRSS6抗體以治療學上靶向參與鐵代謝之至少一種組分，允許精確調控靶向組分。應理解，藉由使用如本文所揭示之抗TMPRSS6抗體以精確靶向TMPRSS6及其對參與調節鐵調素表現之至少一種組分的下游作用，有可能避免不合需要之作用、遞送困難及/或有效性，及與目前正在使用或處於開發中之治療鐵過載病症的其他方法相關之調節障礙，例如可進一步加重鐵過載之輸血、患者順應性不佳之鐵螯合、僅控制症狀之侵入性靜脈切開術或脾切除術、在多個系統中具有潛在的永久性多效性作用之靶向*HBB*基因的基因療法、具有未知脫靶作用之基因療法及基因編輯、靶向TGF超家族配位體以抑制不會降低對控制鐵過載之鐵螯合療法所需要的SMAD信號傳導之Fc融合蛋白，及難以控制或遞送諸如鐵調素模擬物及靶向*TMPRSS6*之反義或iRNA藥物的其他方法。應理解，使用抗TMPRSS6抗體以精確治療性靶向不排除在用於組合治療之方法及組合物中使用抗TMPRSS6抗體的可能性，例如與作用於不同目標之另一活性成分的組合、與結合不同目標之抗體的組合、與靶向*HBB*基因之基因治療劑及方法的組合，或與靶向TGF超家族配位體以刺激紅血球生成之Fc融合蛋白的組合。

【0052】本文所揭示之抗TMPRSS6抗體允許開發可針對各個體定製之治療(例如，劑量、投藥頻率)，其中其可容易繼續且中止，且與其他療法組合。在某些戰略實施例中，本文所揭示之抗TMPRSS6抗體可與可解決多個治療目標及/或解決組合療法中之療法中之一者的不足或不良作用之其他療法組合。

【0053】

抗TMPRSS6抗體及其用途之例示性實施例

本發明之抗TMPRSS6抗體之非限制性例示性實施例目前(特定言之)揭示於實例、表及圖式中。

【0054】

能夠結合TMPRSS6之抗體

如實例中所證明，功能性級聯可用於鑑別且表徵本發明之抗TMPRSS6抗體，其中級聯中之第一步驟包括篩選能夠與表現TMPRSS6之細胞表面上之人類TMPRSS6結合的抗體(實例1，圖1)，隨後進行第二步驟以鑑別能夠與表現TMPRSS6之細胞表面上的人類TMPRSS6結合且調控參與鐵代謝之組分之活性的抗體，在此情況下測試增加鐵調素(HAMP)啟動子活性之能力(實例2)。如藉由圖1中所展示之例示性實施例所表明，第一步驟鑑別出143種能夠與表現TMPRSS6之細胞類表面上之人TMPRSS6結合的抗體(純系)，且第二步驟鑑別出十(10)種抗體(自143種篩選出)作為能夠增加鐵調素(HAMP)啟動子活性之「活性」抗體(純系)。

【0055】 在功能性級聯之第三步驟中(圖1)，測試十(10)種「活性」抗體與來自將與進一步研究相關之來源的非人類TMPRSS6目標之交叉反應性，即測試與小鼠模型中之臨床前功效研究相關之小鼠TMPRSS6的交叉反應性，及測試與毒性(安全性)試驗相關之食蟹獼猴TMPRSS6的交叉反應性。如藉由圖1中所展示、實例4中所證實及圖4中所說明之例示性實施例所表明，三(3)種純系(自10種篩選出)展示與至少一種非人類TMPRSS6之交叉反應性，且命名為MWTx-001、MWTx-002及MWTx-003。對單株抗體中之每一者進行定序且鑑別各HC及LC上之CDR (Kabat編號)。HC及LC序列鑑別為如下：MWTx-001 (SEQ ID NO: 61 (HC)及63

(LC))；MWTx-002 (SEQ ID NO: 65 (HC)及67 (LC))；及MWTx-0039SEQ ID NO: 69 (HC)及71 (LC))。產生MWTx-001單株抗體之融合瘤細胞株已以ATCC寄存編號PTA-126759進行寄存。產生MWTx-002單株抗體之融合瘤細胞株已以ATCC寄存編號PTA-126760進行寄存。產生MWTx-003單株抗體之融合瘤細胞株已以ATCC寄存編號PTA-126761進行寄存。

【0056】

人類化變異體

當向人類個體投與時，預期包含接枝至人類衍生抗體構架中之衍生自非人類來源之CDR的人類化抗體為非免疫原性的。如藉由實例2中所揭示之例示性實施例所表明，成功地產生、測試、最佳化且選擇人類化抗TMPRSS6抗體變異體。研發出多個候選HC及LC變異體，其中各HC或LC變異體具有相同CDR序列，但可變區構架序列可在超過90%之構架位置處變化，且此等變異體在不同的HC/LC組合中測試以鑑別具有所需特徵之組合。在初始設計及測試之後，選擇展示所需抗原結合親和力之變異體以用於進一步評估及開發，包括(但不限於)修飾一些親本CDR序列以避免潛在不合需要之事件，諸如天冬胺酸異構化，及修飾一些恆定區(Fc)以實現所需功能，諸如使抗體依賴性細胞的細胞毒性(ADCC)最小化，以達成人類化變異體hzMWTx-001Var (SEQ ID NO: 73 (HC)及75 (LC))、hzMWTx-002Var (SEQ ID NO: 77 (HC)及79 (LC))及hzMWTx-003Var (SEQ ID NO: 81 (HC)及83 (LC))。

【0057】

增加鐵調素啟動子活性之抗TMPRSS6抗體

如本文所揭示，用於治療藉由鐵調素表現降低表徵之鐵過載病症的

抗體可調控參與鐵調素表現之至少一種組分之活性，其中組分可為鐵調素啟動子之活性。如藉由使用實例2中所揭示之活體外分析的例示性實施例所表明，抗TMPRSS6抗體MWTx-001、MWTx-002、MWTx-003、hzMWTx-001Var、hzMWTx-002Var及hzMWTx-003Var以劑量依賴性方式增加HAMP啟動子活性(圖2A至2F)，而相同濃度下之同型對照物不會增加HAMP啟動子活性。

【0058】

在相關生物學背景下對目標具有高親和力之抗TMPRSS6抗體

抗TMPRSS6抗體展示對生物學上適當之目標(亦即，細胞表面上表現之人類TMPRSS6)之高親和力。如藉由使用實例3及圖3M中所揭示之三種不同方法量測親和力的例示性實施例所表明，單株抗體MWTx-001、MWTx-002及MWTx-003以及人類化變異體hzMWTx-001Var、hzMWTx-002Var及hzMWTx-003Var一致地展現對治療學上有效的抗體或抗體片段的有利親和力特性。

【0059】

與非人類目標具有交叉反應性之抗TMPRSS6抗體

期望治療上有用之抗體或抗體片段與來自將與進一步研究(諸如臨床前功效研究、疾病之動物模型、毒理學研究等)相關之來源之非人類目標(非人類同源物)具有足夠的交叉反應性，使得抗體或抗體片段應識別例如小鼠同源物及/或靈長類動物同源物，諸如來自食蟹獼猴。如藉由實例4中所揭示之例示性實施例所表明，MWTx-001、hzMWTx-001Var、MWTx-003及hzMWTx-003Var展示與小鼠TMPRSS6之可偵測交叉反應性，而MWTx-001、MWTx-002、MWTx-003、hzMWTx-001Var、hzMWTx-

002Var及hzMWTx-003Var展示與食蟹獼猴TMPRSS6之可偵測交叉反應性。

【0060】

抗TMPRSS6抗體特異性結合TMPRSS6 (間質蛋白酶-2)

預期在相同生物體中與目標蛋白具有高特異性結合水準且與同源蛋白具有低交叉反應性之抗體具有降低的脫靶效應或無脫靶效應。此處所提供之抗TMPRSS6抗體展示對人類TMPRSS6 (間質蛋白酶-2)之高特異性，從而使其適用於靶向組合物及方法中。如藉由實例5中所揭示且圖5A-R中所說明之例示性實施例所表明，單株抗體MWTx-001、MWTx-002及MWTx-003及其人類化變異體hzMWTx-001Var、hzMWTx-002Var及hzMWTx-003Var展示與人類TMPRSS6 (間質蛋白酶-2)之特異性結合，且未展示與同源人類間質蛋白酶之可偵測交叉反應性，亦即此等抗體未展示與間質蛋白酶-1 (ST14)或間質蛋白酶-3 (TMPRSS7)的可偵測結合。

【0061】

對與鐵過載病症相關之激素及症狀具有活體內劑量依賴性影響的抗TMPRSS6抗體

預期可增加血清鐵調素(控制鐵吸收且自鐵儲存動員之激素)之含量的抗體減少、改善或預防鐵過載病症之症狀，尤其減少、改善或預防血清鐵含量升高之症狀。如藉由實例6中所展示之例示性實施例所表明，向野生型個體(亦即尚未知曉或疑似患有鐵過載之個體)投與抗TMPRSS6單株抗體MWTx-003或人類化變異體hzMWTx-003Var導致相比於同型對照，血清鐵調素含量增加(圖6A至6C)、血清鐵含量降低(圖6D至6F)及肝臟鐵調素RNA含量增加(圖6G至6I)。此等作用為劑量依賴性，其可解釋為指示在

不希望受作用機制束縛之情況下，抗TMPRSS6抗體之劑量依賴性活體內作用指示熟練人員可測定給定個體之有效量(劑量)。

【0062】

在β-地中海型貧血疾病模型中具有活體內功效之抗TMPRSS6抗體

預期在向展現疾病之動物模型的個體(亦即，已知或疑似患有鐵過載病症之個體)投與時可活體內減輕一或多種鐵過載病症之症狀的抗體及抗體片段對臨床用途具有治療有效性。如藉由使用β-地中海型貧血之Th3/+小鼠模型之實例7中所展示的例示性實施例所表明，與同型對照相比，投與抗TMPRSS6單株抗體MWTx-003會產生多種效應，包括(但不限於)減少肝臟非原血紅素鐵、增加血清鐵調素、增加肝臟鐵調素RNA、減少脾腫大、增加紅血球計數(RBC)、增加血容比(HCT)、減少紅血球分佈寬度(RDW)及增加成熟紅血球之產生(紅血球生成增加)。此等效應中之每一者可理解為改善病症之症狀。病症之症狀顯現於多個生物系統中，其包括(但不限於)在肝臟中之影響(對肝臟非原血紅素鐵、肝臟鐵調素RNA之影響)、在血液中之影響(對血清鐵含量、循環激素含量，尤其係血清鐵調素含量、RBC、HCT、RDW之影響)、脾臟大小及功能之影響(脾腫大)，及在包括(但不限於)骨髓及脾臟之多個部位中之紅血球生成(對不同前驅體細胞類型之豐度及紅血球生成部位中之成熟紅血球的豐度的影響)。投與抗TMPRSS6抗體會改善整個疾病模型個體中之多種症狀，從而使所量測症狀水準自疾病模型(未治療的疾病)之同型對照中所見之水準偏移且朝向野生型同胎仔畜中所見之水準，該等水準表示尚未知曉或疑似患有疾病之基因類似個體中的正常水準。在不希望受理論或作用機制束縛之情況下，應理解，無效紅血球生成為異常鐵調素抑止之驅動力，導致增加之鐵吸收

及鐵過載，使得改善紅血球母細胞分化及成熟為紅血球之治療應在治療學上有益於治療鐵過載病症。本發明非限制性例示性實施例揭示一種抗TMPRSS6抗體療法，其增加紅血球母細胞分化及成熟為紅血球且亦減少鐵負載。

【0063】

組合物

提供包含具有安全且有效量之本發明的抗TMPRSS6抗體及適用於各組合物之預期用途之醫藥學上可接受之載劑或賦形劑的組合物。此類載劑包括(但不限於)：鹽水、緩衝液、葡萄糖、水、甘油、乙醇、賦形劑、穩定劑、防腐劑或其組合。應理解，醫藥製劑應匹配投藥模式。

【0064】本文所揭示之抗TMPRSS6抗體可藉由任何適合手段投與，包括(但不限於)注射或非經腸輸注。非經腸輸注可包括肌肉內、靜脈內、動脈內、腹膜內、皮下投藥或非經腸遞送至肝臟。本文所揭示之抗TMPRSS6抗體可經調配用於引入至肝臟組織或血管結構中以局部遞送至目標組織。本文所揭示之抗TMPRSS6抗體可使用裝置，或以儲槽形式，或以持續釋放製劑形式(例如，含有抗體之固體疏水性聚合物的半透性基質或微膠囊)投與以允許緩慢及/或經量測及/或局部遞送。本文所揭示之抗TMPRSS6抗體可經調配且使用膠態藥物遞送系統(例如，脂質體、白蛋白微球、微乳液、奈米粒子及奈米膠囊)或以巨乳液形式投與。

【0065】

方法

提供使用有效量之本文所揭示之抗TMPRSS6抗體來治療鐵代謝病症之方法。在不希望受特定作用機制束縛之情況下，所提供之使用本文所揭

示之抗TMPRSS6抗體靶向TMPRSS6的方法會產生多個下游影響，尤其係對參與鐵代謝及紅血球生成之組分(分子、系統、過程)的影響。在不希望受特定作用機制束縛之情況下，提供使用有效量之本文所揭示之抗TMPRSS6抗體以調控參與鐵代謝之組分的活性來治療鐵代謝病症之方法。特定言之，提供用於治療與組織及器官中過量鐵累積相關之鐵過載病症之方法，該等鐵過載病症包括與無效紅血球生成相關或藉由其表徵之病症，其可包括(但不限於) β-地中海型貧血，尤其係非輸血依賴性地中海型貧血、骨髓發育不良症候群(MDS)、紅血球生成不良性貧血及鐵粒幼細胞貧血。在不限於單一作用機制之情況下，提供藉由投與能夠增加鐵調素表現之抗TMPRSS6抗體來治療與低鐵調素含量相關之鐵過載病症(尤其係與受抑止鐵調素表現相關之病症，包括參與鐵調素表現之異常抑止的疾病或狀態)之方法。

【0066】 如本文所提供之用於治療鐵代謝病症之方法包含向有需要之個體投與有效量的本文所揭示之抗TMPRSS6抗體，其中投與有效量之抗TMPRSS6抗體改善與病症相關之至少一種生物作用(症狀)。提供用於治療與受抑止鐵調素含量相關之鐵代謝病症之方法，其中向有需要之個體投與有效量的本文所揭示之抗TMPRSS6抗體導致以下中之至少一者：鐵調素啟動子活性增加、鐵調素轉錄增加、鐵調素RNA含量增加及鐵調素含量(尤其係血清鐵調素含量)增加。提供用於治療已知或疑似患有鐵過載病症之個體之方法，其中投與有效量之抗TMPRSS6抗體導致一或多種生物作用，包括(但不限於)減少肝臟非原血紅素鐵、增加血清鐵調素、增加肝臟鐵調素RNA、減少脾腫大、增加紅血球計數(RBC)、增加血容比(HCT)、減少紅血球分佈寬度(RDW)及增加成熟紅血球之產生(增加紅血

球生成)。提供用於治療已知或疑似患有由無效紅血球生成表徵之鐵過載病症之個體的方法，其中投與有效量之抗TMPRSS6抗體會產生一或多種生物效應，包括(但不限於)減少肝臟非原血紅素鐵、增加血清鐵調素、增加肝臟鐵調素RNA、減少脾腫大、增加紅血球計數(RBC)、增加血容比(HCT)、減少紅血球分佈寬度(RDW)及增加成熟紅血球之產生(增加紅血球生成)。

【0067】 提供治療鐵代謝病症(尤其係鐵過載病症，甚至更特定言之由無效紅血球生成表徵之鐵過載病症)的方法及組合物，其中投與有效量之抗TMPRSS6抗體導致治療或緩解超過一種與病症相關之生物效應或症狀。在不希望受理論或作用機制束縛之情況下，應理解，藉由導致骨髓中產生極少成熟紅血球之紅血球系前驅體細胞凋亡表徵之無效紅血球生成為導致鐵吸收及鐵過載增加之異常鐵調素抑止的驅動力。根據此理解，改善紅血球母細胞分化及成熟為紅血球之治療應在治療學上有益於治療鐵過載病症。抗TMPRSS6抗體療法增加紅血球母細胞分化及成熟為紅血球、降低鐵負載、增加鐵調素表現等之有效性使得使用本文所揭示之抗TMPRSS6抗體之方法及組合物的治療效益最大化。

【0068】 提供以下實例以進行說明，而非限制所主張之發明。

【0069】

實例

實例1：抗體產生及結合TMPRSS6之抗體之鑑別

針對TMPRSS6之新穎單株抗體之產生係在合約下由LakePharma Discovery Immunology小組(LakePharma, Inc. San Carlos, CA)利用活體內嚙齒動物免疫接種及融合瘤技術來進行。使用pLEV113_huTMPRSS6

及pLEV113_moTMPRSS6-TCE質體DNA之混合物(在LakePharma, Inc選殖)，在B6;SJL小鼠(The Jackson Laboratories)中經由流體動力基因轉移尾部靜脈注射進行基於DNA之免疫接種。獲得如藉由螢光活化細胞分選(FACS)所測定之足夠的血漿效價，從而觸發下游抗體回收及篩選活動。使用NEPA GENE ECFG21超級電細胞融合生成器(Nepa Gene Co., Ltd., Ichikawa-City, Chiba, Japan)與來自2隻經免疫小鼠及骨髓瘤融合配偶體之彙集脾細胞進行電融合。將融合材料接種於總共十(10)個384孔盤中之次黃嘌呤-胺基喋呤-胸苷培養基中，該培養基專門選擇未融合骨髓瘤配偶體細胞內之融合瘤。藉由FACS量測首先篩選融合瘤上清液之HuTMPRSS6反應性以偵測在表現TMPRSS6之HEK293T細胞(編碼huTMPRSS6-$(His)_6$之質體(SEQ ID NO: 97)在HEK293T細胞中經轉染，選擇表現TMPRSS6之HEK293T細胞)上產生陽性染色信號且在融合後第10天在親本(HEK293T)上產生陰性染色的上清液。在表現TMPRSS6之HEK293細胞上產生陽性染色信號且在親本上產生陰性染色之融合瘤上清液指定為「命中(hits)」以用於進一步篩選。在初級FACS篩選中鑑別出192個命中且在二級及三級FACS篩選中證實143個命中。

【0070】

實例2.抗TMPRSS6抗體之功能性篩選；單株抗TMPRSS6抗體及人類化變異體之鑑別、產生及定序

HAMP-螢光素酶報導子分析

鐵調素啟動子-螢光素酶報導子分析用於量測*HAMP*啟動子對各種抗TMPRSS6抗體之反應(Du, X.等人, 2008. *Science* 320: 1088-1092；經修飾以使用人類*HAMP*啟動子而非如最初所揭示之小鼠*Hamp*啟動子)。對於

HAMP-螢光素酶報導分析，自編碼螢火蟲螢光素酶之序列上游剪接2.5 kb *HAMP*啟動子片段(參考基因體GRCh38)。由胸苷激酶啟動子(Promega，E6931)驅動之編碼海腎螢光素酶(*Renilla* luciferase)之對照構築體用作內部對照。此等構築體與編碼TMPRSS6之構築體一起共轉染至HepG2細胞(ATCC，HB-8065)中。表現TMPRSS6之經轉染HepG2細胞用各種濃度之稀釋於饑餓培養基中之純化mAb預處理約3小時，該培養基含有最低必需培養基(MEM，ATCC) + 1%熱滅活胎牛血清(FBS，Gibco) + 1mM丙酮酸鈉+非必需胺基酸溶液(Gibco) + 10mM HEPES (Gibco) + 1% Pen/Strep (Gibco)，接著用最終濃度為25-60 ng/mL之重組hBMP6 (R&D Systems)處理以觸發BMP-SMAD介導之信號傳導。純化小鼠IgG (Sigma-Aldrich)或人類IgG1(BioXcell)用作對照。在hBMP6之隔夜處理後，細胞裂解且添加螢光素酶受質。藉由量測總發光來各自記錄來自螢火蟲螢光素酶及海腎螢光素酶之發光讀數。活性經計算為螢火蟲螢光素酶發光與海腎螢光素酶發光之比率(對照)。此等分析之結果展示於圖2A至2F中。

【0071】

活體外功能性篩選

為了篩選功能活性融合瘤，上文所描述之HAMP-螢光素酶報導子分析用於測試所有143種HuTMPRSS6結合融合瘤(「命中」)。143種HuTMPRSS6結合融合瘤中之十(10)種的上清液增加*HAMP*啟動子活性(資料未展示)，且鑑別為「活性純系」以進行進一步測試。測試此等十(10)種活性純系之針對如下文實例4中所描述之鼠類目標MoTMPRSS6的交叉反應性，且三(3)種展示對如藉由FACS所量測之HuTMPRSS6及MoTMPRSS6兩者的結合。此等三種反應交叉性純系以1個細胞/孔之密度進一步接種於384孔盤之192孔中以產生單株融合瘤純系，所得次純系鑑

別為MWTx-001、MWTx-002及MWTx-003，該等次純系展現所需功能活性及針對非人類目標(例如鼠類TMPRSS6 (moTMPRSS6)及/或食蟹獼猴TMPRSS6 (cynoTMPRSS6))之交叉反應性。

[0072]

抗TMPRSS6抗體MWTx-001、MWTx-002及MWTx-003之序列

MWTx-001、MWTx-002及MWTx-003之序列係藉由自各融合瘤樣本分離mRNA、用獨特小鼠IgG特異性引子集實施逆轉錄聚合酶鏈反應(RT-PCR)以擴增目標可變區用於定序來測定。針對各抗TMPRSS6抗體鑑別獨特重鏈及獨特輕鏈。測定各重鏈及各輕鏈之核苷酸序列。測定由核苷酸序列編碼之胺基酸序列，且使用Kabat編號系統鑑別CDR區。表1呈現MWTx-001、MWTx-002及MWTx-003中之每一者的重鏈及輕鏈可變區胺基酸序列，及所鑑別CDR之胺基酸序列(基於Kabat編號)及重鏈及輕鏈可變區核苷酸序列。

表1.抗TMPRSS6單株抗體MWTx-001、MWTx-002及MWTx-003之可變區之序列

MWTx-001

MWTx-001之重鏈：

可變區之蛋白質序列：

QVQLQQPGAELAKPGASVKMSCKASGYTFTSYWITWVKQRPGQDLEWIGNIYPGSGSTYYNEKFKSKATLTVDTSSRTAYMQLSSLTSADSAVYYCAPYDSDYAMDYWGQGTSVTVSS (SEQ ID NO: 1)

HC CDR 1	HC CDR 2	HC CDR 3
GYTFTSYW (SEQ ID NO: 2)	IYPGSGST (SEQ ID NO: 3)	APYDSDYAMDY (SEQ ID NO: 4)

可變區之核苷酸序列：

CAGGTCCAACTGCAGCAGCCTGGGGCTGAGCTTGCGAAGCCTGGGGCTTCAGTGAAGATGTCCTGCAAGGCTTCTGGCTACACCTTCACCAGCTACTGGATAACCTGGGTGAAGCAGAGGCCTGGACAAGACCTTGAGTGGATTGGAAATATTTATCCTGGTAGTGGTAGTACTTACTACAATGAGAAGTTCAAGAGCAAGGCCACACTGACTGTAGACACATCCTCCAGAACAGCCTACATGCAGCTCAGCAGTCTGACATCTGCGGACTCTGCGGTCTATTACTGTGCCCCCTATGATTCCGACTATGCTATGGACTACTGGGGTCAAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO: 5)

表 1.抗 TMPRSS6 單株抗體 MW1x 001、MW1x 002 及 MW1x 003 之可變區之序列

MW1x 001之輕鏈：

可變區之蛋白質序列：

DIKMTQSPSSMYASLGERVTITCKASQDINNYLSWFQQKPGKSPKTLIYRANRLVDGVPSRVS GSGSGQDYSLTISSLEYEDVGIYFCLQYDEFPLTFGAGTKLELK (SEQ ID NO: 6)

LC CDR 1	LC CDR 2	LC CDR 3
QDINNY (SEQ ID NO: 7)	RAN (SEQ ID NO: 8)	LQYDEFPLT (SEQ ID NO: 9)

可變區之核苷酸序列

GACATCAAGATGACCCAGTCTCCATCTTCCATGTATGCATCTCTAGGAGAGAGAGTCACT ATCACTTGCAAGGCGAGTCAGGACATTAATAACTATTTAAGCTGGTTCCAGCAGAAACCA GGGAAATCTCCTAAGACCCTGATCTATCGTGCAAACAGATTGGTAGATGGGGTCCCATCA AGGGTCAGTGGCAGTGGATCTGGGCAAGATTATTCTCTCACCATCAGCAGCCTGGAGTAT GAAGATGTGGGAATTTATTTTTGTCTACAGTATGATGAGTTTCCTCTCACGTTCGGTGCTG GGACCAAGCTGGAGCTGAAA (SEQ ID NO: 10)

MW1x 002

MW1x 002之重鏈：

可變區之蛋白質序列：

EVQLQQSGAELVKPGASVKLSCTASGFNIKDYYIHWVKERTEQGLEWFGRIDPEDGESEYAPK FQGKATLTADTSSNTAYLQLSSLTSEDTAVYYCTRGDSMMVTYFDYWGQGTTLTVSSE (SEQ ID NO: 11)

HC CDR 1	HC CDR 2	HC CDR 3
GFNIKDYY (SEQ ID NO: 12)	IDPEDGES (SEQ ID NO: 13)	TRGDSMMVTYFDY (SEQ ID NO: 14)

可變區之核苷酸序列：

GAGGTTCAGCTGCAGCAGTCTGGGGCAGAACTTGTGAAGCCAGGGGCCTCAGTCAAGTTG TCCTGCACAGCCTCTGGCTTCAACATTAAAGACTACTATATACACTGGGTGAAAGAGAGG ACTGAACAGGGCCTGGAGTGGTTTGGAAGGATTGATCCTGAGGATGGTGAAAGTGAATAT GCCCCGAAATTCCAGGGCAAGGCCACTTTAACAGCAGACACATCCTCCAATACAGCCTAC CTGCAGCTCAGCAGCCTGACATCTGAGGACACTGCCGTCTATTACTGTACTAGAGGAGAC TCTATGATGGTTACCTACTTTGACTACTGGGGCCAAGGCACCACTCTCACGGTCTCCTCA (SEQ ID NO: 15)

MW1x 002之輕鏈：

可變區之蛋白質序列：

DIVMTQSHKFMSTSVGDRVSITCKASQDVSTAVAWYQQKPGQSPKLLIYWAFTRITGVPDRF TSTGSGTDYALTISSVQAEDLALYYCQQHYRSPWTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 16)

LC CDR 1	LC CDR 2	LC CDR 3
QDVSTA (SEQ ID NO: 17)	WAF (SEQ ID NO: 18)	QQHYRSPWT (SEQ ID NO: 19)

表 1.抗 TMPRSS6 單株抗體 MWTx-001、MWTx-002 及 MWTx-003 之可變區之序列

可變區之核苷酸序列：

GACATTGTGATGACCCAGTCTCACAAATTCATGTCCACATCAGTAGGAGACAGGGTCAGC
ATCACCTGCAAGGCCAGTCAGGATGTGAGTACTGCTGTAGCCTGGTATCAACAAAAACCA
GGGCAATCTCCTAAACTACTGATTTACTGGGCTTTCACCCGTCACACTGGAGTCCCTGATC
GCTTCACAAGCACTGGATCTGGGACAGATTATGCTCTCACCATCAGCAGTGTGCAGGCTG
AAGACCTGGCACTTTATTACTGTCAGCAACATTATCGCAGTCCGTGGACGTTCGGTGGAG
GCACCAAACTGGAAATCAAA (SEQ ID NO: 20)

MWTx-003

MWTx-003之重鏈

可變區之蛋白質序列：

EVQLQQSGAELVKPGASVKLSCTASGFNIEDYYIHWVKERTEQGLEWIGRIDPEDGETTYAPQ
FQGKATIPDTSSNTAYMQLSSLTSEDAAVYYCARSIYLDPMDYWGQGTSVTVSS (SEQ ID
NO: 21)

HC CDR-1	HC CDR-2	HC CDR-3
GFNIEDYY (SEQ ID NO: 22)	IDPEDGET (SEQ ID NO: 23)	ARSIYLDPMDY (SEQ ID NO: 24)

可變區之核苷酸序列：

GAAGTTCAGCTGCAGCAGTCTGGGGCAGAACTTGTGAAGCCAGGGGCCTCAGTCAAGTTG
TCCTGCACAGCTTCTGGCTTCAACATTGAAGACTACTATATACACTGGGTGAAGGAGAGG
ACTGAACAGGGCCTGGAGTGGATTGGAAGGATTGATCCTGAGGATGGTGAAACTACATAT
GCCCCGCAGTTCCAGGGCAAGGCCACTATAATACCAGACACATCCTCCAACACAGCCTAC
ATGCAGCTCAGCAGCCTGACATCTGAGGACGCTGCCGTCTATTACTGTGCTAGATCGATCT
ACCTTGATCCTATGGACTACTGGGGTCAAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID
NO: 25)

MWTx-003之輕鏈：

可變區之蛋白質序列：
DIVMTQSHKFMSTSVGDRVSITCKASQDVTTAVAWYQQKPGQSPKLLIYWATTRHTGVPDRF
TGSISGTTYLTISSVQAEDLALYYCQQHYSTPYTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 26)

LC CDR-1	LC CDR-2	LC CDR-3
QDVTTA (SEQ ID NO: 27)	WAT (SEQ ID NO: 28)	QQHYSTPYT (SEQ ID NO: 29)

可變區之核苷酸序列：

GACATTGTGATGACCCAGTCTCACAAATTCATGTCCACATCAGTAGGAGACAGGGTCAGC
ATCACCTGCAAGGCCAGTCAGGATGTGACTACTGCTGTCGCCTGGTATCAACAAAAACCA
GGACAGTCTCCTAAAATACTGATTTACTGGGCAACCACCCGGCACACTGGAGTCCCTGAT
CGCTTCACAGGCAGTATATCTGGGACAACTTATATTCTCACCATCAGTAGTGTGCAGGCTG
AAGACCTGGCACTTTATTACTGTCAGCAACATTATAGCACTCCGTACACGTTCGGAGGGG
GGACCAAGCTGGAAATAAAA (SEQ ID NO: 30)

【0073】

人類化抗TMPRSS6抗體變異體之產生及篩選

利用CDR移植至人類抗體構架上來進行親本抗體之人類化。首先進行親本抗體之3維結構之同源性建模以建立親本抗體的結構模型。基於整體序列一致性、匹配VH-VL界面位置、類似分類之CDR典型位置及移除潛在N-醣基化位點來鑑別可變片段構架之胺基酸序列。藉由建立將親本抗體序列之所選部分與人類構架序列融合之多個雜化序列來設計人類化抗體。選擇形成人類化抗體之同型對於重鏈為IgG1且對於輕鏈為IgG1 κ。使用3D模型，藉由眼睛及電腦建模來有條理地分析此等人類化序列以分離將最可能保持抗原結合之序列。目標為使最終人類化抗體中之人類序列之量最大化，同時保持初始抗體特異性。配對人類化VH及VL之人類化變異體接著經表現且純化用於親和力分析。

【0074】 在作為親和力分析之部分的設計、產生及測試變異體之一個回合中，在四種不同人類IgG1衍生之構架(SEQ ID NO: 89-92)中的對應位置中用親本抗體MWTX-003之VH-CDR產生四種VH變異體，且在四種不同人類IgG1 κ衍生之構架(SEQ ID NO: 93-96)中的對應位置中用親本抗體MWTX-003之VL-CDR產生四種VL (VK)變異體。根據4VH × 4VK矩陣製備總共十六(16)種表示VH及VL (VK)變異體之每一組合的人類化變異體，針對抗原結合特性(k_{on}、k_{off}、KD)進行評估且發現具有在奈莫耳範圍(4.16E-07至1.09E-08)內之KD值。

【0075】 選擇展示所需抗原結合親和力之變異體以用於進一步評估及開發。在一些情況下，親本CDR序列經修飾以避免潛在不合需要之事件，諸如天冬胺酸異構化。

【0076】為了使抗體效應子功能沈默，特定言之使抗體依賴性細胞毒性(ADCC)沈默，針對所有人類化抗體變異體，鑑別Fc區中之關鍵胺基酸殘基且使其突變(經取代)。在公開文獻中可獲得之關於Fc突變以實現消除ADCC之目標的指導用於告知本發明突變，例如移除hIgG1中之天然Fc N-連接之醣基化位點(N297A突變)，或取代Fc中之下鉸鏈區的位置234及235處之白胺酸(LALA雙突變)，如(Tamm A, Schmidt RE. IgG binding sites on human Fc gamma receptors. *Int Rev Immunol*. 1997;16(1-2):57-85.數位物件識別碼：10.3109/08830189709045703；Jefferis R, Lund J. Interaction sites on human IgG-Fc for FcgammaR: current models. *Immunol Lett*. 2002年6月3日;82(1-2):57-65.數位物件識別碼：10.1016/s0165-2478(02)00019-6)所描述。在本發明變異體中，將N297A突變引入hzMWTx-001Var及hzMWTx-002Var抗體之Fc中，且將LALA突變引入至hzMWTx-003Var抗體之Fc中，以實現減少或沈默ADCC之相同目標(表3，SEQ ID NO: 73、77、81)。

【0077】在評估之後，選擇人類化抗TMPRSS6抗體變異體hzMWTx-001Var、hzMWTx-002Var及hzMWTx-003Var以用於進一步測試。人類化變異體之序列及特徵展示於下表2及表3中。

【0078】

人類化抗TMPRSS6抗體變異體之重組產生

人類化抗TMPRSS6抗體變異體之表現構築體經LC編碼及HC編碼DNA序列之間的內部核糖體進入位點(internal ribosome entry site；IRES)工程改造，藉由Geneart DNA合成來密碼子最佳化且選殖至pcDNA3.4哺乳動物表現載體(ThermoFisher)中。DNA插入序列之序列係

藉由定序來驗證。對於重組抗體產生，表現構築體用於根據製造商之指令使用ExpiCHO表現系統(ThermoFisher)進行瞬時轉染。表現抗體係藉由蛋白A親和力層析法來純化。自瞬時轉染產生之抗體的產率介於每公升50 mg至300 mg範圍內，其中純度>95%且<1 EU/ml內毒素水準。

[0079]

人類化抗TMPRSS6抗體變異體hzMWTx-001Var、hzMWTx-002Var及hzMWTx-003Var之序列

選擇人類化抗TMPRSS6抗體變異體hzMWTx-001Var、hzMWTx-002Var及hzMWTx-003Var以用於進一步測試。各可變區之可變區的序列展示於下表2中，其中所鑑別之CDR係藉由加下劃線指示，且指示於論述人類化變異體CDR序列相對於親本抗體發生的變化。

表2.人類化抗TMPRSS6抗體變異體hzMWTx-001Var、hzMWTx-002Var及hzMWTx-003Var之可變區之胺基酸及核苷酸序列

hzMWTx-001Var

hzMWTx-001Var之重鏈：

可變區之蛋白質序列(以粗體表示與親本序列不同之CDR殘基)：

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWITWVRQAPGQRLEWIGNIYPGSGSTYYNEKFKSKATITRDTSSRTAYMELSSLRSEDTAVYYCAPYDADYAMDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 31)

hzMWTx-001Var HC CDR-1 GYTFTSYW (SEQ ID NO: 32)	hzMWTx-001Var HC CDR-2 IYPGSGST (SEQ ID NO:33)	hzMWTx-001Var HC CDR-3 APYDADYAMDY (SEQ ID NO:34)

hzMWTx-001Var HC CDR-2中之帶下劃線序列DA之註釋：

此處親本抗體中之原始序列為DS。預定DS為可導致天冬胺酸異構化之關鍵組合，因此，此位置處之絲胺酸(S)變為丙胺酸(A)。

可變區之核苷酸序列：

GAAGTGCAGCTGGTGCAATCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCTGGCGCCTCTGTGAAGGTGTCCTGCAAGGCTTCCGGCTACACCTTTACCAGCTACTGGATCACCTGGGTCCGACAGGCTCCTGGCCAGAGACTGGAATGGATCGGCAACATCTACCCTGGCTCCGGCTCCACCTACTACAACGAGAAGTTCAAGTCCAAGGCCACAATCACCCGGGACACCTCTTCCAGAACCGCCTACA

表2.人類仆抗TMPRSS6抗體變異體hzMWTx-001Var、hzMWTx-002Var及hzMWTx-003Var之可變區之胺基酸及核苷酸序列

TGGAACTGTCCAGCCTGAGATCTGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCCCTTACGACG
CCGACTACGCCATGGATTATTGGGGCCAGGGCACCCTGGTCACCGTGTCCTCT (SEQ ID NO: 35)

hzMWTx-001Var之輕鏈

可變區之蛋白質序列(以粗體表示與親本序列不同之CDR殘基)：

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDISNYLSWFQQKPGKAPKLLIYRANRLVEGVPSRFSG
SGSGTDFTLTISSLQPEDFATYFCLQYDEFPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 36)

hzMWTx-001Var LC CDR-1	hzMWTx-001Var LC CDR-2	hzMWTx-001Var LC CDR-3
QDISNY (SEQ ID NO: 37)	RAN (SEQ ID NO: 38)	LQYDEFPLT (SEQ ID NO: 39)

hzMWTx-001Var LC CDR-1中之帶下劃線序列SN之註釋：
此處親本抗體中之初始序列為NN，已確定NN為可導致天冬醯胺去醯胺之關鍵組合，因此，此位置處之天冬醯胺(N)變為絲胺酸(S)。

可變區之核苷酸序列：

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCTCTGTCCGCCTCTGTGGGCGACAGAGTGACCA
TCACATGCAAGGCCAGCCAGGACATCTCCAACTACCTGTCCTGGTTCCAGCAGAAGCCTG
GCAAGGCTCCCAAGCTGCTGATCTACAGAGCCAACAGACTGGTGGAAGGCGTGCCCTCCA
GATTCTCCGGATCTGGCTCTGGCACCGACTTTACCCTGACAATCTCCAGCCTGCAGCCTGA
GGACTTCGCTACCTACTTCTGCCTGCAATACGACGAGTTCCCTCTGACCTTTGGCGGAGGC
ACCAAGGTGGAAATCAAG (SEQ ID NO: 40)

hzMWTx-002Var

hzMWTx-002Var之重鏈：

可變區之蛋白質序列(以粗體表示與親本序列不同之CDR殘基)：

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFNIKDYYIHWVRQATGQGLEWMGRIDPEDAESEYA
PKFQGRVTITADTSTDTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRGDSMMVTYFDYWGQGTLVTVSS
(SEQ ID NO: 41)

hzMWTx-002Var HC CDR-1	hzMWTx-002Var HC CDR-2	hzMWTx-002Var HC CDR-3
GFNIKDYY (SEQ ID NO:42)	IDPEDAES (SEQ ID NO: 43)	TRGDSMMVTYFDY (SEQ ID NO: 44)

hzMWTx-002Var HC CDR-2中之帶下劃線序列DA之註釋：
此處親本抗體中之初始序列為DG，已確定DG為有可能導致天冬胺酸異構化之關鍵組合，因此，此位置處之甘胺酸(G)變為丙胺酸(A)。

可變區之核苷酸序列：

GAAGTGCAGCTGGTGCAATCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCTGGCGCCTCTGTGAAGGTG
TCCTGCAAGGCCTCTGGCTTCAACATCAAGGACTACTACATCCACTGGGTCCGACAGGCT
ACCGGACAGGGACTTGAGTGGATGGGCAGAATCGACCCTGAGGACGCCGAGTCTGAGTA
CGCCCCTAAGTTTCAGGGCAGAGTGACCATCACCGCCGACACCTCTACCGACACCGCCTA
CATGGAACTGTCCAGCCTGAGATCTGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCACCAGAGGCGA

表2.人類TMPRSS6抗體變異體hzMWTx-001Var、hzMWTx-002Var及hzMWTx-003Var之可變區之胺基酸及核苷酸序列

CTCCATGATGGTTACCTACTTCGACTACTGGGGCCAGGGCACCCTGGTCACAGTTTCTTCC (SEQ ID NO: 45)

hzMWTx-002Var之輕鏈：

可變區之蛋白質序列：

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYWAFTRHTGVPSRFS GSGSGTDYALTISSLQPEDFATYYCQQHYRSPWTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 46)

hzMWTx-002Var LC CDR-1	hzMWTx-002Var LC CDR-2	hzMWTx-002Var LC CDR-3
QDVSTA (SEQ ID NO: 47)	WAF (SEQ ID NO: 48)	QQHYRSPWT (SEQ ID NO: 49)

可變區之核苷酸序列：

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCTCTGTCCGCCTCTGTGGGCGACAGAGTGACCA TCACATGCAAGGCCTCTCAGGACGTGTCCACCGCCGTTGCTTGGTATCAGCAGAAGCCTG GCAAGGCCCCTAAGCTGCTGATCTACTGGGCCTTCACCAGACACACCGGCGTGCCCTCTA GGTTCTCCGGCTCTGGCTCTGGCACCGATTACGCTCTGACAATCTCCAGCCTGCAGCCTGA GGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGCACTACAGAAGCCCCTGGACATTTGGCGGAGG CACCAAGGTGGAAATCAAG (SEQ ID NO: 50)

hzMWTx-003Var

hzMWTx-003Var之重鏈：

可變區之蛋白質序列(藉由加下劃線指示CDR；以粗體表示與親本CDR序列不同的CDR殘基)：

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFNIEDYYMHWVRQAPGQRLEWMGRIDPEDAETTYS PKFQGRVTIPDTSANTAYMELSSLRSEDTAVYYCARSIYLDPMDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 51)

hzMWTx-003Var HC CDR-1	hzMWTx-003Var HC CDR-2	hzMWTx-003Var HC CDR-3
GFNIEDYY (SEQ ID NO: 52)	IDPEDAET (SEQ ID NO: 53)	ARSIYLDPMDY (SEQ ID NO: 54)

hzMWTx-003Var HC CDR-2中之帶下劃線序列DA之註釋：
此處親本抗體中之初始序列為DG，且確定DG為有可能導致天冬胺酸異構化之關鍵組合，因此，此位置處之甘胺酸(G)變為丙胺酸(A)。

可變區之核苷酸序列：

CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAAAAGCCTGGCGCCTCTGTGAAGGTG TCCTGCAAGGCCTCTGGCTTCAACATCGAGGACTACTACATGCACTGGGTCCGACAGGCC CCTGGCCAGAGATTGGAATGGATGGGCAGAATCGACCCCGAGGACGCCGAGACAACCTA CTCTCCTAAGTTCCAGGGCCGCGTGACAATCATCCCTGACACCTCTGCCAACACCGCCTAC ATGGAACTGTCCAGCCTGAGATCTGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCCGGTCTATC TACCTGGACCCTATGGACTATTGGGGCCAGGGCACCCTGGTCACAGTGTCCTCT (SEQ ID NO: 55)

表2.人類化抗TMPRSS6抗體變異體hzMWTx-001Var、hzMWTx-002Var及hzMWTx-003Var之可變區之胺基酸及核苷酸序列

hzMWTx-003Var之輕鏈：

可變區之蛋白質序列：

DIQMTQSPKSLSASVGDRVTITCRASQDVTTALAWYQQKPGQSPKLLIYWATTRHSGVPSRFS GSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHYSTPYTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 56)

hzMWTx-003Var LC CDR-1	hzMWTx-003Var LC CDR-2	hzMWTx-003Var LC CDR-3
QDVTTA (SEQ ID NO: 57)	WAT (SEQ ID NO: 58)	QQHYSTPYT (SEQ ID NO: 59)

可變區之核苷酸序列：

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCAAAGTCTCTGTCCGCCTCCGTGGGCGACAGAGTGACC ATCACCTGTAGAGCCTCTCAGGACGTGACCACCGCTCTGGCTTGGTATCAGCAGAAGCCT GGCCAGTCTCCTAAGCTGCTGATCTACTGGGCCACCACCAGACACTCTGGCGTGCCCTCTA GATTCTCCGGCTCTGGCTCTGGCACCGACTTTACCCTGACAATCTCCAGCCTGCAGCCTGA GGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGCACTACAGCACCCCTTACACCTTTGGCCAGGG CACCAAGCTGGAAATCAAG (SEQ ID NO: 60)

[0080] 表3展示抗TMPRSS6單株抗體MWTx-001、MWTx-002及MWTx-003以及人類化抗TMPRSS6抗體變異體hzMWTx-001Var、hzMWTx-002Var及hzMWTx-003Var之完整重鏈及輕鏈蛋白質及核苷酸序列。人類化抗TMPRSS6抗體變異體hzMWTx-001Var、hzMWTx-002Var及hzMWTx-003Var之重鏈蛋白質序列展示如上文所描述之引入以減少ADCC之突變(變化)位置。

表3.抗TMPRSS6單株抗體MWTx-001、MWTx-002及MWTx-003以及人類化抗TMPRSS6抗體變異體hzMWTx-001Var、hzMWTx-002Var及hzMWTx-003Var之重鏈及輕鏈序列

抗TMPRSS6單株抗體

MWTx-001

MWTx-001之重鏈：

蛋白質序列(藉由斜體指示恆定區)：

QVQLQQPGAELAKPGASVKMSCKASGYTFTSYWITWVKQRPGQDLEWIGNIYP GSGSTYYNEKFKSKATLTVDTSSRTAYMQLSSLTSADSAVYYCAPYDSDYAMDY WGQGTSVTVSS*AKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLS SGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCP PCKCPAPNLLGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEV HTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLPAPIERTISKPKGS VRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLD SDGSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPG* (SEQ ID NO:

61)

核苷酸序列：

CAGGTCCAACTGCAGCAGCCTGGGGCTGAGCTTGCGAAGCCTGGGGCTTCAG
TGAAGATGTCCTGCAAGGCTTCTGGCTACACCTTCACCAGCTACTGGATAACC
TGGGTGAAGCAGAGGCCTGGACAAGACCTTGAGTGGATTGGAAATATTTATCC
TGGTAGTGGTAGTACTTACTACAATGAGAAGTTCAAGAGCAAGGCCACACTGA
CTGTAGACACATCCTCCAGAACAGCCTACATGCAGCTCAGCAGTCTGACATCT
GCGGACTCTGCGGTCTATTACTGTGCCCCCTATGATTCCGACTATGCTATGGACT
ACTGGGGTCAAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCAGCTAAAACAACAGCCCC
ATCGGTCTATCCACTGGCCCCTGTGTGTGGAGATACAACTGGCTCCTCGGTGAC
TCTAGGATGCCTGGTCAAGGGTTATTTCCCTGAGCCAGTGACCTTGACCTGGA
ACTCTGGTTCCCTGTCCAGTGGTGTGCACACCTTCCCAGCTGTCCTGCAGTCT
GACCTCTACACCCTCAGCTCAAGCGTGACTGTAACCAGCTCGACCTGGCCCAG
CCAGTCCATCACCTGCAATGTGGCCCACCCGGCAAGCAGCACCAAGGTGGAC
AAGAAAATTGAGCCCAGAGGGCCCACAATCAAGCCCTGTCCTCCATGCAAATG
CCCAGCACCTAACCTCTTGGGTGGACCATCCGTCTTCATCTTCCCTCCAAAGAT
CAAGGATGTACTCATGATCTCCCTGAGCCCCATAGTCACATGTGTAGTCGTTGA
TGTGAGCGAGGATGACCCAGATGTCCAGATCAGCTGGTTTGTGAACAACGTGG
AAGTGCACACTGCTCAGACACAGACGCATAGAGAGGATTACAACAGTACTCTC
CGGGTTGTCAGTGCCCTCCCCATCCAGCACCAGGACTGGATGAGTGGCAAGG
AGTTCAAATGCAAGGTCAACAACAAAGACCTCCCAGCGCCCATCGAGAGAAC
CATCTCAAAACCCAAAGGGTCAGTAAGAGCTCCACAGGTATATGTCTTGCCTC
CACCAGAAGAGGAGATGACTAAGAAACAGGTCACTCTGACCTGCATGGTCAC
AGACTTCATGCCTGAAGACATTTACGTGGAGTGGACCAACAACGGGAAAACA
GAGCTAAACTACAAGAACACTGAACCAGTCCTGGACTCTGATGGTTCTTACTT
CATGTACAGCAAGCTGAGAGTGGAGAAGAAGAACTGGGTGGAGAGAAATAGC
TACTCCTGTTCAGTGGTCCACGAGGGTCTGCACAATCACCACACGACTAAGAG
CTTCTCCCGGACTCCGGGTTAGTAA (SEQ ID NO: 62)

MWTx-001之輕鏈：

蛋白質序列(藉由*斜體*指示恆定區)：

DIKMTQSPSSMYASLGERVTITCKASQDINNYLSWFQQKPGKSPKTLIYRANRLV
DGVPSRVSGSGSGQDYSLTISSLEYEDVGIYFCLQYDEFPLTFGAGTKLELK*RADA*
APTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSK
DSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC (SEQ ID NO: 63)

核苷酸序列：

GACATCAAGATGACCCAGTCTCCATCTTCCATGTATGCATCTCTAGGAGAGAGA
GTCACTATCACTTGCAAGGCGAGTCAGGACATTAATAACTATTTAAGCTGGTTC
CAGCAGAAACCAGGGAAATCTCCTAAGACCCTGATCTATCGTGCAAACAGATT
GGTAGATGGGGTCCCATCAAGGGTCAGTGGCAGTGGATCTGGGCAAGATTATT
CTCTCACCATCAGCAGCCTGGAGTATGAAGATGTGGGAATTTATTTTTGTCTAC
AGTATGATGAGTTTCCTCTCACGTTCGGTGCTGGGACCAAGCTGGAGCTGAAA
AGAGCTGACGCCGCTCCTACCGTGTCCATCTTTCCACCTAGCAGCGAGCAGCT
GACAAGCGGCGGAGCCAGCGTCGTGTGCTTCCTGAACAACTTCTACCCCAAG
GACATCAACGTGAAGTGGAAGATCGACGGCAGCGAGAGACAGAACGGCGTG
CTGAATAGCTGGACCGACCAGGACAGCAAGGACTCCACCTACAGCATGTCCA
GCACACTGACCCTGACCAAGGACGAGTACGAGCGGCACAACAGCTACACATG
CGAGGCCACACACAAGACCAGCACAAGCCCCATCGTGAAGTCCTTCAACCGG
AACGAGTGC (SEQ ID NO: 64)

MWTx-002

MWTx-002之重鏈：

蛋白質序列(藉由*斜體*指示恆定區)：
EVQLQQSGAELVKPGASVKLSCTASGFNIKDYYIHWVKERTEQGLEWFGRIDPED
GESEYAPKFQGKATLTADTSSNTAYLQLSSLTSEDTAVYYCTRGDSMMVTYFDYW
GQGTTLTVSS*KTTPPSVYPLAPGCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPESVTVTWNSGSLSSSV*
HTFPALLQSGLYTMSSSVTVPSSTWPSQTVTCSVAHPASSTTVDKKLEPSGPISTINPCPP
CKECHKCPAPNLEGGPSVFIFPPNIKDVLMISLTPKVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVN
NVEVHTAQTQTHREDYNSTIRVVSTLPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLPSPIERTISKI
KGLVRAPQVYILPPPAEQLSRKDVSLTCLVVGFNPGDISVEWTSNGHTEENYKDTAPVL
DSDGSYFIYSKLNMKTSKWEKTDSFSCNVRHEGLKNYYLKKTISRSPGK (SEQ ID NO: 65)

核苷酸序列：
GAGGTTCAGCTGCAGCAGTCTGGGGCAGAACTTGTGAAGCCAGGGGCCTCAG
TCAAGTTGTCCTGCACAGCCTCTGGCTTCAACATTAAAGACTACTATATACACT
GGGTGAAAGAGAGGACTGAACAGGGCCTGGAGTGGTTTGGAAGGATTGATCC
TGAGGATGGTGAAAGTGAATATGCCCCGAAATTCCAGGGCAAGGCCACTTTAA
CAGCAGACACATCCTCCAATACAGCCTACCTGCAGCTCAGCAGCCTGACATCT
GAGGACACTGCCGTCTATTACTGTACTAGAGGAGACTCTATGATGGTTACCTAC
TTTGACTACTGGGGCCAAGGCACCACTCTCACGGTCTCCTCAAAGACCACACC
TCCTAGCGTGTACCCTCTGGCTCCTGGCTGTGGCGATACAACAGGCAGCTCTG
TGACACTGGGCTGCCTGGTCAAGGGCTACTTTCCTGAGAGCGTGACAGTGAC
CTGGAACAGCGGCAGCCTGTCTAGCAGCGTGCACACCTTTCCAGCTCTGCTCC
AGAGCGGCCTGTACACCATGTCCTCTAGTGTGACCGTGCCTAGCAGCACCTGG
CCTAGCCAGACAGTGACATGTAGCGTGGCCCATCCTGCCAGCAGCACAACCGT
GGACAAGAAGCTGGAACCTAGCGGCCCCATCAGCACCATCAATCCCTGTCCTC
CATGCAAAGAATGCCACAAGTGCCCCGCTCCTAACCTGGAAGGTGGCCCAAG
CGTGTTCATCTTCCCACCTAACATCAAGGACGTGCTGATGATCAGCCTGACACC
TAAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCCGAGGATGATCCCGATGTGCAGA
TCAGTTGGTTCGTGAACAACGTGGAAGTGCACACAGCCCAGACACAGACCCA
CAGAGAGGACTACAATAGCACCATTCGCGTGGTGTCCACACTGCCTATCCAGC
ACCAGGATTGGATGAGCGGCAAAGAGTTCAAGTGCAAAGTGAACAACAAGG
ACCTGCCTTCTCCAATCGAGCGGACCATCAGCAAGATCAAGGGACTCGTCAGA
GCCCCTCAGGTGTACATCTTGCCTCCACCAGCCGAGCAGCTGAGCAGAAAGG
ATGTGTCCCTGACCTGTCTGGTCGTGGGCTTCAACCCTGGCGACATCAGCGTG
GAATGGACCAGCAATGGCCACACCGAGGAAAACTACAAGGACACAGCCCCTG
TGCTGGACAGCGACGGCAGCTACTTCATCTACAGCAAGCTGAACATGAAGACC
AGCAAGTGGGAGAAAACCGACAGCTTCTCCTGCAACGTGCGGCACGAGGGCC
TGAAGAACTACTACCTGAAGAAAACCATCTCTCGGAGCCCCGGCAAG (SEQ ID NO: 66)

MWTx-002之輕鏈：
蛋白質序列(藉由*斜體*指示恆定區)：
DIVMTQSHKFMSTSVGDRVSITCKASQDVSTAVAWYQQKPGQSPKLLIYWAFTRH
TGVPDRFTSTGSGTDYALTISSVQAEDLALYYCQQHYRSPWTFGGGTKLEIK*RAD*
AAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDS
KDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC (SEQ ID NO: 67)

核苷酸序列：
GACATTGTGATGACCCAGTCTCACAAATTCATGTCCACATCAGTAGGAGACAG
GGTCAGCATCACCTGCAAGGCCAGTCAGGATGTGAGTACTGCTGTAGCCTGGT
ATCAACAAAAACCAGGGCAATCTCCTAAACTACTGATTTACTGGGCTTTCACC
CGTCACACTGGAGTCCCTGATCGCTTCACAAGCACTGGATCTGGGACAGATTA
TGCTCTCACCATCAGCAGTGTGCAGGCTGAAGACCTGGCACTTTATTACTGTC
AGCAACATTATCGCAGTCCGTGGACGTTCGGTGGAGGCACCAAACTGGAAATC

AAAAGAGCTGACGCCGCTCCTACCGTGTCCATCTTTCCACCTAGCAGCGAGCA
GCTGACAAGCGGCGGAGCCAGCGTCGTGTGCTTCCTGAACAACTTCTACCCC
AAGGACATCAACGTGAAGTGGAAGATCGACGGCAGCGAGAGACAGAACGGC
GTGCTGAATAGCTGGACCGACCAGGACAGCAAGGACTCCACCTACAGCATGT
CCAGCACACTGACCCTGACCAAGGACGAGTACGAGCGGCACAACAGCTACAC
ATGCGAGGCCACACACAAGACCAGCACAAGCCCCATCGTGAAGTCCTTCAAC
CGGAACGAGTGC (SEQ ID NO: 68)

MWTx-003

MWTx-003之重鏈：

蛋白質序列(藉由*斜體*指示恆定區)：

EVQLQQSGAELVKPGASVKLSCTASGFNIEDYYIHWVKERTEQGLEWIGRIDPED
GETTYAPQFQGKATIIPDTSSNTAYMQLSSLTSEDAAVYYCARSIYLDPMDYWGQ
GTSVTVSS*KTTPPSVYPLAPGCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPESVTVTWNSGSLSSSVHT*
FPALLQSGLYTMSSSVTVPSSTWPSQTVTCSVAHPASSTTVDKKLEPSGPISTINPCPPCK
ECHKCPAPNLEGGPSVFIFPPNIKDVLMISLTPKVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNV
EVHTAQTQTHREDYNSTIRVVSTLPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLPSPIERTISKIKG
LVRAPQVYILPPPAEQLSRKDVSLTCLVVGFNPGDISVEWTSNGHTEENYKDTAPVLDS
DGSYFIYSKLNMKTSKWEKTDSFSCNVRHEGLKNYYLKKTISRSPGK (SEQ ID NO: 69)

核苷酸序列：

GAGGTTCAGCTGCAGCAGTCTGGCGCCGAGCTTGTGAAACCTGGCGCCTCTG
TGAAGCTGAGCTGTACCGCCAGCGGCTTCAACATCGAGGACTACTACATCCAC
TGGGTCAAAGAGCGGACCGAGCAGGGACTCGAGTGGATCGGAAGAATCGACC
CCGAGGACGGCGAGACAACATACGCCCCTCAGTTTCAGGGCAAAGCCACAAT
CATCCCCGACACCAGCAGCAACACCGCCTACATGCAACTGAGCAGCCTGACCT
CTGAAGATGCCGCCGTGTACTACTGCGCCCGGTCCATCTATCTGGACCCCATGG
ATTATTGGGGCCAGGGCACAAGCGTGACCGTGTCCTCTAAGACCACACCTCCT
AGCGTGTACCCTCTGGCTCCTGGCTGTGGCGATACAACAGGCAGCTCTGTGAC
ACTGGGCTGCCTGGTCAAGGGCTACTTTCCTGAGAGCGTGACAGTGACCTGG
AACAGCGGCAGCCTGTCTAGCAGCGTGCACACCTTTCCAGCTCTGCTCCAGAG
CGGCCTGTACACCATGTCCTCTAGTGTGACCGTGCCTAGCAGCACCTGGCCTA
GCCAGACAGTGACATGTAGCGTGGCCCATCCTGCCAGCAGCACAACCGTGGA
CAAGAAGCTGGAACCTAGCGGCCCCATCAGCACCATCAATCCCTGTCCTCCAT
GCAAAGAATGCCACAAGTGCCCCGCTCCTAACCTGGAAGGTGGCCCAAGCGT
GTTCATCTTCCCACCTAACATCAAGGACGTGCTGATGATCAGCCTGACACCTAA
AGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCCGAGGATGATCCCGATGTGCAGATCA
GTTGGTTCGTGAACAACGTGGAAGTGCACACAGCCCAGACACAGACCCACAG
AGAGGACTACAATAGCACCATTCGCGTGGTGTCCACACTGCCTATCCAGCACC
AGGATTGGATGAGCGGCAAAGAGTTCAAGTGCAAAGTGAACAACAAGGACCT
GCCTTCTCCAATCGAGCGGACCATCAGCAAGATCAAGGGACTCGTCAGAGCCC
CTCAGGTGTACATCTTGCCTCCACCAGCCGAGCAGCTGAGCAGAAAGGATGTG
TCCCTGACCTGTCTGGTCGTGGGCTTCAACCCTGGCGACATCAGCGTGGAATG
GACCAGCAATGGCCACACCGAGGAAAACTACAAGGACACAGCCCCTGTGCTG
GACAGCGACGGCAGCTACTTCATCTACAGCAAGCTGAACATGAAGACCAGCA
AGTGGGAGAAAACCGACAGCTTCTCCTGCAACGTGCGGCACGAGGGCCTGAA
GAACTACTACCTGAAGAAAACCATCTCTCGGAGCCCCGGCAAG (SEQ ID NO: 70)

MWTx-003之輕鏈：

蛋白質序列(藉由*斜體*指示恆定區)：

DIVMTQSHKFMSTSVGDRVSITCKASQDVTTAVAWYQQKPGQSPKILIYWATTRH
TGVPDRFTGSISGTTYILTISSVQAEDLALYYCQQHYSTPYTFGGGTKLEIK*RADAA*
PTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKD

STYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC (SEQ ID NO: 71)

核苷酸序列：

GACATCGTGATGACCCAGAGCCACAAGTTCATGAGCACCAGCGTGGGCGACA
GAGTGTCCATCACCTGTAAAGCCAGCCAGGACGTGACAACAGCCGTGGCCTG
GTATCAGCAGAAGCCTGGCCAGTCTCCTAAGATCCTGATCTACTGGGCCACCA
CCAGACACACCGGCGTGCCAGATAGATTCACCGGCAGCATCAGCGGCACCAC
CTACATCCTGACAATCAGCTCTGTGCAGGCCGAGGATCTGGCCCTGTACTACTG
TCAGCAGCACTACAGCACCCCTTACACCTTTGGCGGAGGCACCAAGCTGGAA
ATCAAGAGAGCTGACGCCGCTCCTACCGTGTCCATCTTTCCACCTAGCAGCGA
GCAGCTGACAAGCGGCGGAGCCAGCGTCGTGTGCTTCCTGAACAACTTCTAC
CCCAAGGACATCAACGTGAAGTGGAAGATCGACGGCAGCGAGAGACAGAAC
GGCGTGCTGAATAGCTGGACCGACCAGGACAGCAAGGACTCCACCTACAGCA
TGTCCAGCACACTGACCCTGACCAAGGACGAGTACGAGCGGCACAACAGCTA
CACATGCGAGGCCACACACAAGACCAGCACAAGCCCCATCGTGAAGTCCTTC
AACCGGAACGAGTGC (SEQ ID NO: 72)

人類化抗TMPRSS6抗體變異體

hzMWTx-001Var

hzMWTx-001Var之重鏈：

蛋白質序列(藉由*斜體*指示恆定區；藉由**粗體**指示N297A突變)：

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWITWVRQAPGQRLEWIGNIYPG
SGSTYYNEKFKSKATITRDTSSRTAYMELSSLRSEDTAVYYCAPYDADYAMDYW
GQGTLVTVSS*ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG
VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTC
PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV
HNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ
PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSD
GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG* (SEQ ID NO: 73)

核苷酸序列：

GAAGTGCAGCTGGTGCAATCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCTGGCGCCTCTG
TGAAGGTGTCCTGCAAGGCTTCCGGCTACACCTTTACCAGCTACTGGATCACC
TGGGTCCGACAGGCTCCTGGCCAGAGACTGGAATGGATCGGCAACATCTACCC
TGGCTCCGGCTCCACCTACTACAACGAGAAGTTCAAGTCCAAGGCCACAATCA
CCCGGGACACCTCTTCCAGAACCGCCTACATGGAACTGTCCAGCCTGAGATCT
GAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCCCTTACGACGCCGACTACGCCATGGA
TTATTGGGGCCAGGGCACCCTGGTCACCGTGTCCTCTGCTTCTACCAAGGGAC
CCAGCGTGTTCCCTCTGGCTCCTTCCAGCAAGTCTACCTCTGGCGGAACAGCT
GCTCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTTCCTGAGCCTGTGACCGTGTCTTG
GAACTCTGGCGCTCTGACATCCGGCGTGCACACATTTCCAGCTGTGCTGCAGT
CCTCCGGCCTGTACTCTCTGTCCTCTGTCGTGACCGTGCCTTCCTCTAGCCTGG
GCACCCAGACCTACATCTGCAATGTGAACCACAAGCCTTCCAACACCAAGGTG
GACAAGAAGGTGGAACCCAAGTCCTGCGACAAGACCCACACCTGTCCTCCAT
GTCCTGCTCCAGAACTGCTCGGCGGACCTTCCGTGTTCCTGTTTCCTCCAAAG
CCTAAGGACACCCTGATGATCTCTCGGACCCCTGAAGTGACCTGCGTGGTGGT
GGATGTGTCTCACGAGGACCCAGAAGTGAAGTTCAATTGGTACGTGGACGGC
GTGGAAGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTAGAGAGGAACAGTACGCCAGC
ACCTACAGAGTGGTGTCCGTGCTGACAGTGCTGCACCAGGATTGGCTGAACG
GCAAAGAGTACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAGGCCCTGCCTGCTCCTATCGA
AAAGACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCTAGAGAACCCCAGGTTTACACC
TTGCCTCCATCTCGGGACGAGCTGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGTCT
CGTGAAGGGCTTCTACCCCTCCGACATCGCCGTGGAATGGGAGTCTAATGGCC
AGCCAGAGAACAACTACAAGACAACCCCTCCTGTGCTGGACTCCGACGGCTC

ATTCTTCCTGTACTCCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCAGATGGCAGCAGGGCA
ACGTGTTCTCCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAATCACTACACACAG
AAGTCCCTGTCTCTGTCCCCTGGC (SEQ ID NO: 74)

hzMWTx-001Var之輕鏈：

蛋白質序列(藉由*斜體*指示恆定區)：

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDISNYLSWFQQKPGKAPKLLIYRANRLVE
GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYFCLQYDEFPLTFGGGTKVEIK*RTVAAPS*
VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDST
YSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 75)

核苷酸序列：

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCTCTGTCCGCCTCTGTGGGCGACAG
AGTGACCATCACATGCAAGGCCAGCCAGGACATCTCCAACTACCTGTCCTGGT
TCCAGCAGAAGCCTGGCAAGGCTCCCAAGCTGCTGATCTACAGAGCCAACAG
ACTGGTGGAAGGCGTGCCCTCCAGATTCTCCGGATCTGGCTCTGGCACCGACT
TTACCCTGACAATCTCCAGCCTGCAGCCTGAGGACTTCGCTACCTACTTCTGCC
TGCAATACGACGAGTTCCCTCTGACCTTTGGCGGAGGCACCAAGGTGGAAATC
AAGCGGACAGTGGCCGCTCCTTCCGTGTTCATCTTCCCACCTTCCGACGAGCA
GCTGAAGTCCGGCACAGCTTCTGTCGTGTGCCTGCTGAACAACTTCTACCCTC
GGGAAGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAATGCCCTGCAGTCCGGCAACTC
CCAAGAGTCTGTGACCGAGCAGGACTCCAAGGACAGCACCTACAGCCTGTCC
TCCACACTGACCCTGTCCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCT
GCGAAGTGACCCATCAGGGCCTGTCTAGCCCTGTGACCAAGTCTTTCAACCGG
GGCGAGTGT (SEQ ID NO: 76)

hzMWTx-002Var

hzMWTx-002Var之重鏈：

蛋白質序列(藉由*斜體*指示恆定區；藉由**粗體**指示N297A突變)：

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFNIKDYYIHWVRQATGQGLEWMGRIDP
EDA**E**SEYAPKFQGRVTITADTSTDTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRGDSMMVTYFD
YWGQGTLVTVSS*ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL*
TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKT
HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG
*VEVHNAKTKPREEQY**A**STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK*
GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVL
DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:
77)

核苷酸序列：

GAAGTGCAGCTGGTGCAATCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCTGGCGCCTCTG
TGAAGGTGTCCTGCAAGGCCTCTGGCTTCAACATCAAGGACTACTACATCCAC
TGGGTCCGACAGGCTACCGGACAGGGACTTGAGTGGATGGGCAGAATCGACC
CTGAGGACGCCGAGTCTGAGTACGCCCCTAAGTTTCAGGGCAGAGTGACCATC
ACCGCCGACACCTCTACCGACACCGCCTACATGGAACTGTCCAGCCTGAGATC
TGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCACCAGAGGCGACTCCATGATGGTTACCT
ACTTCGACTACTGGGGCCAGGGCACCCTGGTCACAGTTTCTTCCGCTTCCACC
AAGGGACCCAGCGTGTTCCCTCTGGCTCCTTCCAGCAAGTCTACCTCTGGCGG
AACAGCTGCTCTGGGCTGCCTGGTCAAGGATTACTTCCCTGAGCCTGTGACCG
TGTCCTGGAACTCTGGCGCTCTGACATCCGGCGTGCACACCTTTCCAGCTGTG
CTGCAATCCTCCGGCCTGTACTCTCTGTCCTCCGTCGTGACCGTGCCTTCTAGC
TCTCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAATGTGAACCACAAGCCTTCCAACAC
CAAGGTGGACAAGAAGGTGGAACCCAAGTCCTGCGACAAGACCCACACCTGT
CCTCCATGTCCTGCTCCAGAACTGCTCGGCGGACCTTCCGTGTTCCTGTTTCCT

CCAAAGCCTAAGGACACCCTGATGATCTCTCGGACCCCTGAAGTGACCTGCGT
GGTGGTGGATGTGTCTCACGAGGACCCAGAAGTGAAGTTCAATTGGTACGTG
GACGGCGTGGAAGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTAGAGAGGAACAGTAC
GCCTCCACCTACAGAGTGGTGTCCGTGCTGACAGTGCTGCACCAGGATTGGCT
GAACGGCAAAGAGTACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAGGCACTGCCCGCTCCT
ATCGAAAAGACCATCTCCAAGGCCAAGGGCCAGCCTAGAGAACCCCAGGTTT
ACACCTTGCCTCCATCTCGGGACGAGCTGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACC
TGTCTCGTGAAGGGCTTCTACCCCTCCGACATCGCCGTGGAATGGGAGTCTAA
TGGCCAGCCAGAGAACAACTACAAGACAACCCCTCCTGTGCTGGACTCCGAC
GGCTCATTCTTCCTGTACTCCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCAGATGGCAGCA
GGGCAACGTGTTCTCCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAATCACTACA
CACAGAAGTCTCTGTCCCTGTCTCCTGGC (SEQ ID NO: 78)

hzMWTx-002Var之輕鏈：

蛋白質序列(藉由*斜體*指示恆定區)：

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYWAFTRH
TGVPSRFSGSGSGTDYALTISSLQPEDFATYYCQQHYRSPWTFGGGTKVEIK*RTVA*
APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK
DSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 79)

核苷酸序列：

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCTCTGTCCGCCTCTGTGGGCGACAG
AGTGACCATCACATGCAAGGCCTCTCAGGACGTGTCCACCGCCGTTGCTTGGT
ATCAGCAGAAGCCTGGCAAGGCCCCTAAGCTGCTGATCTACTGGGCCTTCACC
AGACACACCGGCGTGCCCTCTAGGTTCTCCGGCTCTGGCTCTGGCACCGATTA
CGCTCTGACAATCTCCAGCCTGCAGCCTGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCC
AGCAGCACTACAGAAGCCCCTGGACATTTGGCGGAGGCACCAAGGTGGAAAT
CAAGCGGACAGTGGCCGCTCCTTCCGTGTTCATCTTCCCACCTTCCGACGAGC
AGCTGAAGTCCGGCACAGCTTCTGTCGTGTGCCTGCTGAACAACTTCTACCCT
CGGGAAGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAATGCCCTGCAGTCCGGCAACT
CCCAAGAGTCTGTGACCGAGCAGGACTCCAAGGACAGCACCTACAGCCTGTC
CTCCACACTGACCCTGTCCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCC
TGCGAAGTGACCCATCAGGGCCTGTCTAGCCCTGTGACCAAGTCTTTCAACCG
GGGCGAGTGT (SEQ ID NO: 80)

hzMWTx-003Var

hzMWTx-003Var之重鏈：

蛋白質序列(藉由*斜體*指示恆定區；藉由**粗體**指示LALA突變)：

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFNIEDYYMHWVRQAPGQRLEWMGRID
PEDAETTYSPKFQGRVTIIPDTSANTAYMELSSLRSEDTAVYYCARSIYLDPMDYW
GQGTLVTVSS*ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG*
VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTC
*PPCPAPE**AA**GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE*
VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG
QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD
SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO: 81)

核苷酸序列：

CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAAAAGCCTGGCGCCTCTG
TGAAGGTGTCCTGCAAGGCCTCTGGCTTCAACATCGAGGACTACTACATGCAC
TGGGTCCGACAGGCCCCTGGCCAGAGATTGGAATGGATGGGCAGAATCGACC
CCGAGGACGCCGAGACAACCTACTCTCCTAAGTTCCAGGGCCGCGTGACAATC
ATCCCTGACACCTCTGCCAACACCGCCTACATGGAACTGTCCAGCCTGAGATC

TGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCCGGTCTATCTACCTGGACCCTATGGA
CTATTGGGGCCAGGGCACCCTGGTCACAGTGTCCTCTGCTTCTACCAAGGGAC
CCAGCGTGTTCCCTCTGGCTCCTTCCAGCAAGTCTACCTCTGGCGGAACAGCT
GCTCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTTCCAGAGCCTGTGACCGTGTCCTG
GAACTCTGGCGCTCTGACATCTGGCGTGCACACCTTTCCAGCTGTGCTGCAGT
CCTCCGGCCTGTACTCTCTGTCCTCTGTCGTGACCGTGCCTTCCAGCTCTCTGG
GAACCCAGACCTACATCTGCAATGTGAACCACAAGCCTTCCAACACCAAGGT
GGACAAGAAGGTGGAACCCAAGTCCTGCGACAAGACCCACACCTGTCCTCCA
TGTCCTGCTCCAGAAGCTGCTGGCGGCCCTTCCGTGTTTCTGTTCCCTCCAAA
GCCTAAGGACACCCTGATGATCTCTCGGACCCCTGAAGTGACCTGCGTGGTGG
TGGATGTGTCTCACGAGGACCCAGAAGTGAAGTTCAATTGGTACGTGGACGG
CGTGGAAGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTAGAGAGGAACAGTACAACTCC
ACCTACAGAGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGATTGGCTGAACG
GCAAAGAGTACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAGGCACTGCCCGCTCCTATCGA
AAAGACCATCTCCAAGGCCAAGGGCCAGCCTAGGGAACCCCAGGTTTACACC
CTGCCTCCAAGCCGGGAAGAGATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGCC
TCGTGAAGGGCTTCTACCCTTCCGACATCGCCGTGGAATGGGAGAGCAATGGC
CAGCCAGAGAACAACTACAAGACAACCCCTCCTGTGCTGGACTCCGACGGCT
CATTCTTCCTGTACTCCAAGCTGACAGTGGACAAGTCCAGATGGCAGCAGGGC
AACGTGTTCTCCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAATCACTACACACA
GAAGTCCCTGTCTCTGTCCCCTGGC (SEQ ID NO: 82)

hzMWTx-003Var之輕鏈：

蛋白質序列(藉由*斜體*指示恆定區)：

DIQMTQSPKSLSASVGDRVTITCRASQDVTTALAWYQQKPGQSPKLLIYWATTRH
SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHYSTPYTFGQGTKLEIK*RTVAA*
PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKD
STYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 83)

核苷酸序列：

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCAAAGTCTCTGTCCGCCTCCGTGGGCGACAG
AGTGACCATCACCTGTAGAGCCTCTCAGGACGTGACCACCGCTCTGGCTTGGT
ATCAGCAGAAGCCTGGCCAGTCTCCTAAGCTGCTGATCTACTGGGCCACCACC
AGACACTCTGGCGTGCCCTCTAGATTCTCCGGCTCTGGCTCTGGCACCGACTT
TACCCTGACAATCTCCAGCCTGCAGCCTGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCC
AGCAGCACTACAGCACCCCTTACACCTTTGGCCAGGGCACCAAGCTGGAAATC
AAGCGGACAGTGGCCGCTCCTTCCGTGTTCATCTTCCCACCTTCCGACGAGCA
GCTGAAGTCCGGCACAGCTTCTGTCGTGTGCCTGCTGAACAACTTCTACCCTC
GGGAAGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAATGCCCTGCAGTCCGGCAACTC
CCAAGAGTCTGTGACCGAGCAGGACTCCAAGGACAGCACCTACAGCCTGTCC
TCCACACTGACCCTGTCCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCT
GCGAAGTGACCCATCAGGGCCTGTCTAGCCCTGTGACCAAGTCTTTCAACCGG
GGCGAGTGT (SEQ ID NO: 84)

【0081】

抗TMPRSS6抗體對*HAMP*啟動子活性之劑量依賴性影響

圖2A至2F展示使用上文所描述之*HAMP*-螢光素酶報導分析以在指定濃度下分別測試MWTx-001、MWTx-002、MWTx-003及其人類化變異體

hzMWTx-001Var、hzMWTx-002Var、hzMWTx-003Var之結果。MWTx-001 (圖2A)、MWTx-002 (圖2B)、MWTx-003 (圖2C)及人類化變異體hzMWTx-001Var (圖2D)、hzMWTx-002Var (圖2E)、hzMWTx-003Var (圖2F)中之每一者以劑量依賴性方式增加*HAMP*啟動子活性。MWTx-001之EC_{50}經計算為3 μg/ml (圖2A)。MWTx-002之EC_{50}經計算為1 μg/ml (圖2B)。MWTx-003之EC_{50}經計算為2 μg/ml (圖2C)。hzMWTx-001Var之EC_{50}經計算為0.8 μg/ml (圖2D)。hzMWTx-002Var之EC_{50}經計算為0.3 μg/ml (圖2E)。hzMWTx-003Var之EC_{50}經計算為0.3 μg/ml (圖2F)。

【0082】

實例3.抗TMPRSS6抗體之結合親和力

使用以下三種不同方法來量測各種抗TMPRSS6抗體對HEK293T細胞上表現之人類TMPRSS6的結合親和力：細胞表面ELISA (圖3A至3C)、FACS (圖3D至3F)及生物層干涉量測術(圖3G至3M)。

【0083】

使用細胞表面ELISA之抗TMPRSS6 mAb結合親和力量測

將穩定表現人類TMPRSS6 (藉由如上文所描述之LakePharma Inc產生；SEQ ID NO: 97)之HEK293T細胞用4%三聚甲醛(PFA)固定，且用dPBS (杜爾貝科氏磷酸鹽緩衝鹽水(Dulbecco's phosphate-buffered saline)，Corning Cellgro)洗滌，隨後與稀釋於BSA培養基(DMEM + 1% Pen/Strep + 10mM HEPES + 1mg /ml BSA (Sigma-Aldrich))中之各種濃度的抗TMPRSS6抗體一起培育。純化小鼠IgG用作對照物(Sigma-Aldrich)。在培育之後，將細胞用BSA培養基洗滌且接著與HRP結合之作為2°抗體(Invitrogen)的山羊抗小鼠IgG一起培育。最後，將細胞用dPBS

洗滌以移除未結合抗體且用ELISA液體受質(Sigma-Aldrich)顯色，隨後藉由添加相同體積之1M H_2SO_4的ELISA液體受質來停止反應。經結合抗體係藉由在OD_{450nm}處之吸光度量測。此等分析之結果展示於圖3A至3C中。

【0084】

使用FACS之抗TMPRSS6 mAb結合親和力量測

收集穩定表現人類TMPRSS6之HEK293T細胞，且用dPBS + 3% BSA阻斷，隨後與稀釋於dPBS + 3% BSA中之各種濃度的抗TMPRSS6抗體一起培育。純化小鼠IgG用作對照物。在培育之後，將細胞用dPBS洗滌且接著與APC結合之作為2°抗體(Jackson ImmunoResearch Inc)的山羊抗小鼠IgG一起培育。最後，將細胞用dPBS洗滌以移除未結合抗體，用dPBS + 1mM EDTA再懸浮，且接著使用NOVOCYTE®流式細胞儀(ACEA Biosciences, Inc.，San Diego CA)進行FACS分析。經結合抗體係藉由量測在640 nm下激發之後的平均APC強度且量測在675 nm下之發射(螢光)來測定。此等分析之結果展示於圖3D至3F中。

【0085】

使用生物層干涉量測術之抗TMPRSS6抗體親和力及結合動力學量測

生物層干涉量測技術用於抗TMPRSS6抗體親和力量測及用Octet® RED96e系統(Sartorius AG)之結合動力學測定。預水合抗小鼠IgG Fc捕獲(AMC)生物感測器(針對MWTx-001、MWTx-002及MWTx-003抗TMPRSS6抗體，圖3G至3I)或抗人類IgG Fc捕獲(AHC)生物感測器(針對hzMWTx-001Var、hzMWTx-002Var及hzMWTx-003Var抗TMPRSS6抗體，圖3J至3L)首先在1× KB (動力學緩衝液，1×PBS pH 7.4 + 0.02%

Tween-20 + 0.1% BSA)中平衡120秒作為第一基線，隨後將10 mg/mL抗TMPRSS6抗體(MWTx-001，圖3G；MWTx-002，圖3H；MWTx-003，圖3I；hzMWTx-001Var，圖3J；hzMWTx-002Var，圖3K；hzMWTx-003Var，圖3L)負載至AMC或AHC生物感測器上持續240秒。接著，在與各種濃度之人類ecto-TMPRSS6-FLAG (SEQ ID NO: 102) (藉由融合人類TMPRSS6之胞外域與C端處之FLAG-標籤而內部產生)締合240秒之前，建立第二基線信號120秒。最後，將分析物在1× KB中解離360秒。使用八位元組資料分析HT軟體進行資料分析。KD、k_{on}、k_{off}及R^2概述於圖3M中。

【0086】

實例4：交叉反應性：與人類TMPRSS6及非人類TMPRSS6結合之抗TMPRSS6抗體

藉由FACS測定交叉反應性

測試所選擇之抗TMPRSS6抗體以確定任何抗體是否能夠與來自小鼠及/或食蟹獼猴之TMPRSS6結合。收集穩定表現人類TMPRSS6 (HuTMPRSS6-$(His)_6$) (由如上文所描述之LakePharma Inc產生)之HEK293T細胞、穩定表現小鼠TMPRSS6 (MoTMPRSS6-$(His)_6$) (SEQ ID NO: 98) (由如上文所描述之LakePharma Inc產生)之HEK293T細胞及瞬時表現食蟹獼猴TMPRSS6 (CynoTMPRSS6-$(His)_6$) (SEQ ID NO: 99) (內部產生)之HEK293T細胞。穩定表現人類TMPRSS6之HEK293T細胞用作陽性對照且HEK293T細胞用作陰性對照(如上文所描述)。細胞用dPBS + 3% BSA阻斷，隨後與稀釋於dPBS + 3% BSA中之抗TMPRSS6抗體一起培育。在培育之後，將細胞用dPBS洗滌且隨後與AlexaFluor-488結合之作

為2°抗體(Invitrogen)的山羊抗小鼠IgG一起再培育。最後，將細胞用dPBS洗滌以移除未結合抗體，用dPBS + 1mM EDTA再懸浮，且接著使用NOVOCYTE®流式細胞儀(ACEA Biosciences, Inc.，San Diego CA)進行FACS分析。經結合抗體係藉由在488 nm下激發及在530 nm下量測發射(FITC-A)來測定。此等分析之結果展示於圖4A至4I中之直方圖中。觀測到MWTx-001 (圖4D)及MWTx-003 (圖4F)與小鼠TMPRSS6之交叉反應性，然而MWTx-002 (圖4E)未展示與小鼠TMPRSS6之可偵測交叉反應性。觀測到MWTx-001 (圖4G)、MWTx-002 (圖4H)及MWTx-003 (圖4I)與食蟹獼猴TMPRSS6之交叉反應性。

【0087】

藉由細胞表面ELISA測定交叉反應性

將穩定表現小鼠TMPRSS6 (由如上文所描述之LakePharma Inc產生，圖4J、圖4L、圖4N、圖4P、圖4R、圖4T)或食蟹獼猴TMPRSS6 (如上文所描述內部產生，圖4K、圖4M、圖4O、圖4Q、圖4S、圖4U)之HEK293T細胞用甲醇(100%)固定，且用dPBS (杜爾貝科氏磷酸鹽緩衝鹽水，Corning Cellgro)洗滌，隨後與稀釋於BSA培養基(DMEM + 1% Pen/Strep + 10mM HEPES + 1mg/ml BSA (Sigma-Aldrich))中之各種濃度的抗TMPRSS6抗體及其人類化變異體一起培育。純化小鼠IgG (圖4J至4O)或人類IgG1 (圖4P至4U)用作對照物。在培育之後，將細胞用BSA培養基洗滌且接著與HRP結合之作為2°抗體的山羊抗小鼠(Invitrogen，圖4J至4O)或抗人類(Millipore，圖4P至4U) IgG一起培育。最後，將細胞用dPBS洗滌以移除未結合抗體且用ELISA液體受質(Sigma-Aldrich)顯色，隨後藉由添加相同體積之1M H_2SO_4的ELISA液體受質來停止反應。經結

合抗體係藉由在OD_{450nm}處之吸光度量測。此等分析之結果展示於圖4J至4U中。觀測到MWTx-001 (圖4J)及MWTx-003 (圖4N)抗TMPRSS6抗體及其人類化變異體hzMWTx-001Var (圖4P)及hzMWTx-003Var (圖4T)抗TMPRSS6抗體與小鼠TMPRSS6之交叉反應性，然而MWTx-002 (圖4L)抗TMPRSS6抗體或其人類化變異體hzMWTx-002Var (圖4R)抗TMPRSS6抗體未展示與小鼠TMPRSS6之可偵測交叉反應性。觀測到MWTx-001 (圖4K)、MWTx-002 (圖4M)及MWTx-003 (圖4O)抗TMPRSS6抗體及其人類化變異體hzMWTx-001Var (圖4Q)、hzMWTx-002Var (圖4S)及hzMWTx-003Var (圖4U)抗TMPRSS6抗體與食蟹獼猴TMPRSS6之交叉反應性。

【0088】

實例5：目標特異性：與同源間質蛋白酶結合之抗TMPRSS6抗體。

為判定抗TMPRSS6抗體是否與同源間質蛋白酶結合，收集(內部產生)過度表現間質蛋白酶(ST14) (SEQ ID NO: 100)之HEK293T細胞(圖5B、圖5E、圖5H、圖5K、圖5N、圖5Q)及過度表現間質蛋白酶-3 (TMPRSS7) (SEQ ID NO: 101)之HEK293T細胞(圖5C、圖5F、圖5I、圖5L、圖5O、圖5R)。穩定表現人類TMPRSS6 (間質蛋白酶-2) (SEQ ID NO: 97)之HEK293T細胞(由如上文所描述之LakePharma Inc產生，圖5A、圖5D、圖5G、圖5J、圖5M、圖5P)用作陽性對照且HEK293T細胞(圖5A至5R)用作陰性對照(如上文所描述)。細胞經阻斷且經dPBS + 3% BSA + 0.1% Tween-20滲透，隨後與稀釋於dPBS + 3% BSA + 0.1% Tween-20中之各種抗TMPRSS6抗體一起培育。將細胞與抗TMPRSS6抗體及其人類化變異體在大約1 μg/ml之濃度下一起培育1小時。在培育之後，將細胞用dPBS洗滌且與AlexaFluor-488 (Invitrogen，圖5A-5I)結合

之山羊抗小鼠IgG或與別藻藍蛋白(Allophycocyanin；APC) (Jackson Immuno Research，圖5J-5R)結合之山羊抗人類IgG作為2°抗體一起培育。最後，將細胞用dPBS洗滌且用dPBS + 1mM EDTA再懸浮，且接著使用NOVOCYTE®流式細胞儀進行FACS分析。經結合抗體係藉由在488 nm下激發及在530 nm下量測發射(FITC-A) (圖5A至5I)或藉由在640 nm下激發及在675 nm下量測發射(APC-A) (圖5J至5R)來測定。此等分析之結果展示於圖5A至5R中之直方圖中。所有抗體皆展示與人類TMPRSS6 (間質蛋白酶-2)之結合(圖5A、圖5D、圖5G、圖5J、圖5M、圖5P)及抗體中無一者展示與同源間質蛋白酶ST14 (圖5B、圖5E、圖5H、圖5K、圖5N、圖5Q)或TMPRSS7 (圖5C、圖5F、圖5I、圖5L、圖5O、圖5R)之結合。MWTx-001抗TMPRSS6抗體及其人類化變異體hzMWTx-001Var抗TMPRSS6抗體展示與人類TMPRSS6之結合(圖5A、圖5J)且未展示與間質蛋白酶 (ST14) (圖5B、圖5K)或間質蛋白酶-3 (TMPRSS7) (圖5C、圖5L)之結合。MWTx-002抗TMPRSS6抗體及其人類化變異體hzMWTx-002Var抗TMPRSS6抗體展示與人類TMPRSS6 (間質蛋白酶-2)之結合(圖5D、圖5M)且未展示與間質蛋白酶(ST14) (圖5E、圖5N)或間質蛋白酶-3 (TMPRSS7) (圖5F、圖5O)之結合。MWTx-003抗TMPRSS6抗體及其人類化變異體hzMWTx-003Var抗TMPRSS6抗體展示與人類TMPRSS6 (間質蛋白酶-2)之結合(圖5G、圖5P)且未展示與間質蛋白酶(ST14) (圖5H、圖5Q)或間質蛋白酶-3 (TMPRSS7) (圖5I、圖5R)之結合。

【0089】

實例6.在小鼠藥效動力學模型中用抗TMPRSS6抗體處理

為了研究抗TMPRSS6抗體之活體內藥效動力學反應，將2-10 mg/kg

之MWTx-003抗TMPRSS6抗體(圖6A至6B、圖6D至6E、圖6G至6H、圖6J至6K)或其人類化變異體hzMWTx-003Var抗TMPRSS6抗體(圖6C、圖6F、圖6I、圖6L)腹膜內注射至野生型C57BL/6J小鼠中。小鼠IgG2b (BioXcell、圖6A至6B、圖6D至6E、圖6G至6H、圖6J至6K)或人類IgG1 (BioXcell，圖6C、圖6F、圖6I、圖6L)用作同型對照。注射後20小時，藉由流體動力尾部靜脈注射將50 μg之GFP-TMPRSS6質體DNA (藉由將人類TMPRSS6插入至GFP載體中而內部產生)遞送至各小鼠中。流體動力注射後44小時，使小鼠安樂死，採集肝臟組織及血液。肝臟RNA係根據製造商說明書藉由來自Biomiga之EZgene Total RNA Purification Plus (San Diego，CA)來純化。小鼠血清係藉由以1500 × g離心全血10 min而獲得。

【0090】

用抗TMPRSS6抗體處理對血清鐵之影響

血清鐵係藉由內部開發之顯色分析來量測(圖6A至6C)。簡言之，藉由渦旋30秒將小鼠血清或鐵標準物(31-500 μg/dL)與混合酸溶液(0.6M三氯乙酸、0.4M巰基乙酸鈉、1M HCl)混合。將混合物在37℃下培育10 min，隨後以10,000 × g離心10 min，接著在彩色溶液(1.5M乙酸鈉、0.5mM紅菲繞啉二磺酸鹽)中顯色。接著在OD_{535nm}處讀取吸光度。根據線性鐵標準曲線計算血清鐵濃度。10mg/kg MWTx-003抗TMPRSS6抗體(圖6A-6B)及其人類化變異體hzMWTx-003Var抗TMPRSS6抗體(圖6C)之處理顯著減少血清鐵。

【0091】

用抗TMPRSS6抗體處理對血清鐵調素之影響

血清鐵調素係根據製造商說明書藉由購自Intrinsic Lifesciences (La

Jolla，CA)之鐵調素-小鼠競爭ELISA套組來量測(圖6D至6F)。簡言之，將經稀釋之小鼠血清或鐵調素標準物與鐵調素生物素結合物混合，隨後添加至塗佈有抗小鼠鐵調素抗體之培養盤。血清鐵調素或鐵調素標準物與鐵調素生物素結合物競爭結合至塗佈之抗鐵調素抗體。用抗生蛋白鏈菌素結合之辣根過氧化酶(HRP)偵測結合鐵調素生物素結合物，且用TMB顯色，隨後用停止溶液顯色。接著在OD_{450nm}處讀取吸光度。用格拉夫帕德稜鏡8(Graphpad Prism 8)使用四參數邏輯(4-PL)曲線擬合來分析資料，且內插血清鐵調素濃度。GFP-TMPRSS6之流體動力遞送顯著降低血清鐵調素含量(圖6D)，然而用10mg/kg MWTx-003抗TMPRSS6抗體(圖6D至6E)及其人類化變異體hzMWTx-003Var抗TMPRSS6抗體(圖6F)處理使鐵調素抑制逆轉且顯著增加血清鐵調素含量。

【0092】

用抗TMPRSS6抗體處理對肝臟鐵調素RNA之影響

肝臟鐵調素RNA係藉由即時qPCR定量(圖6G至6I)。簡言之，cDNA首先根據製造商說明書使用iScript逆轉錄超混合液(Bio-Rad)由肝臟RNA合成。鐵調素轉錄物用下表4中所列舉之特定引子擴增，且根據製造商說明書在Bio-Rad CFX96 qPCR儀器上使用SsoAdvanced™ Universal SYBR®綠色超混合液(Bio-Rad)偵測。一式三份地分析樣品，且將結果以β-肌動蛋白RNA含量(藉由轉錄、用表4中所列舉之引子擴增及如上文所描述之定量來量測)進行標準化。GFP-TMPRSS6之流體動力遞送顯著減少肝臟鐵調素RNA (圖6G)。10mg/kg MWTx-003抗TMPRSS6抗體(圖6G至6H)及其人類化變異體hzMWTx-003Var抗TMPRSS6抗體(圖6I)之處理使*Hamp*之抑制逆轉且顯著增加肝臟鐵調素RNA含量。以下引子用於藉由即

時qPCR進行RNA定量：鐵調素正向引子：5'-AAG CAG GGC AGA CAT TGC GAT-3' (SEQ ID NO: 85)；鐵調素反向引子：5'-CAG GAT GTG GCT CTA GGC TAT-3' (SEQ ID NO: 86)；β-肌動蛋白正向引子：5'-ACC CAC ACT GTG CCC ATC TA-3' (SEQ ID NO: 87)；β-肌動蛋白反向引子：5'-CAC GCT CGG TCA GGA TCT TC-3' (SEQ ID NO: 88)。

【0093】 MWTx-003抗TMPRSS6抗體或其人類化變異體hzMWTx-003Var抗TMPRSS6抗體之血清濃度係藉由內部研發之細胞表面ELISA定量(如上文所描述，圖6J至6L)。簡言之，將經稀釋之小鼠血清或抗TMPRSS6抗體標準物與100%甲醇固定的穩定表現人類TMPRSS6之HEK293T細胞(HEK293T細胞用作背景對照)一起培育。用與HRP結合之山羊抗小鼠IgG偵測結合之MWTx-003抗TMPRSS6抗體，且用與HRP結合之山羊抗人類IgG偵測結合之hzMWTx-003Var抗TMPRSS6抗體。用TMB顯色，隨後用停止溶液顯色。接著在OD_{450nm}處讀取吸光度。一式三份地分析樣品，且將結果以HEK293T對照進行標準化。用格拉夫帕德稜鏡8使用四參數邏輯(4-PL)曲線擬合來分析資料，且內插血清抗TMPRSS6抗體濃度。

【0094】

實例7.使用β-地中海型貧血小鼠模型之抗TMPRSS6抗體之活體內功效。

為了研究抗TMPRSS6抗體之活體內功效，選擇β-地中海型貧血小鼠模型(B6.129P2-Hbb-b1^{tm1Unc} Hbb-b2^{tm1Unc}/J，JAX Stock No: 002683，The Jackson Laboratories，Bar Harbor ME)，本文稱為Th3/+小鼠。向4-5週齡Th3/+小鼠及其野生型(WT)同胎仔畜給予足夠的鐵飲食(Teklad TD.80394)且將Th3/+小鼠每三天用10mg/kg MWTx-003抗TMPRSS6抗體

或小鼠IgG2b同型對照處理，持續4週，而WT同胎仔畜不接受處理。在處理過程結束時，將小鼠安樂死，且收集脾臟、肝臟、股骨及血液樣本。純化肝臟總RNA，且如上文所描述收集血清。

【0095】

對血液計數、脾腫大、血清鐵、血清鐵調素、肝臟鐵調素RNA之影響

藉由VETSCAN HM5自動化血液學分析器進行全血球計數(CBC) (圖7A至7D)。MWTx-003抗TMPRSS6抗體處理顯著增加紅血球計數(RBC，圖7A)及血容比(HCT，圖7C)，且降低紅血球分佈寬度(RDW，圖7D)，但對Th3/+小鼠中之血紅素(HGB，圖7B)無明顯影響。

【0096】 量測脾臟重量，且MWTx-003抗TMPRSS6抗體處理顯著減少Th3/+小鼠之脾腫大(圖7E)。

【0097】 如上文所描述量測血清鐵。用MWTx-003抗TMPRSS6抗體處理顯著減少血清鐵(圖7F)。使用類似顯色分析來量測肝臟非原血紅素鐵(圖7G)。簡言之，將絞碎的小型肝臟組織在65℃下乾燥隔夜，隨後在65℃下用混合酸(3M HCl，10%三氯乙酸)消化20小時。接著，收集消化上清液以在彩色溶液(1.5M乙酸鈉，0.5mM紅菲繞啉二磺酸鹽)中顯色。接著在OD_{535nm}處讀取吸光度。用MWTx-003抗TMPRSS6抗體處理顯著減少肝臟非原血紅素鐵(圖7G)。

【0098】 血清鐵調素係藉由如上文所描述鐵調素-小鼠競爭ELISA套組來量測。用MWTx-003抗TMPRSS6抗體處理顯著增加血清鐵調素(圖7H)。

【0099】 肝臟鐵調素RNA係藉由如上文所描述之即時qPCR定量。用MWTx-003抗TMPRSS6抗體處理顯著增加肝臟鐵調素RNA (圖7I)。

【0100】 MWTx-003抗TMPRSS6抗體之血清濃度係藉由如上文所描述之內部研發之細胞表面ELISA來定量(圖7J)。

【0101】

對紅血球生成之影響

為了研究MWTx-003抗TMPRSS6抗體對Th3/+小鼠中之紅血球生成的影響，自股骨收集骨髓(*參見*圖7K至7M)且自脾臟收集脾細胞(*參見*圖7N至7P)，且進行分析。所收集之細胞用大鼠抗小鼠CD16/CD32 (BD Biosciences)阻斷15 min，隨後用與FITC (BD Biosciences)結合之大鼠抗小鼠TER119及與APC (Invitrogen)結合之大鼠抗小鼠CD44在冰上染色30 min。經洗滌細胞用生存力標記物7-AAD(BD Biosciences)在冰上染色10 min，隨後使用NOVOCYTE®流式細胞儀進行FACS分析。選擇$Ter119^+$，$7\text{-}ADD^-$細胞，且用抗小鼠CD44繪製相對於細胞大小之密度圖(FSC-H)。分析曲線圖以鑑別細胞類型(細胞叢)且測定各類型(叢集)之豐度。圖7K至7P中之代表性曲線圖展示，對應於紅血球系分化中之連續階段，自上而下區分四個不同細胞叢且鑑別為：嗜鹼性紅血球母細胞(叢集I)、多染性紅血球母細胞(叢集II)、正染性紅血球母細胞及無核網狀紅血球(叢集III)及成熟紅血球(叢集IV)。樣本中各叢集之百分比(%)值計算為該叢集中之細胞類型之豐度的量度，如圖7K至7P中所展示。針對各處理時程中之各動物之各樣本(骨髓、脾臟)計算各細胞叢集(I)、(II)、(III)、(IV)之%值，如下：WT (未處理) N=9；經IgG2b同型對照處理之疾病模型Th3/+小鼠(Th3+ w/ MoIgG2b)，N=5；經MWTx-003抗TMPRSS6抗體處理之疾病模型Th3/+小鼠(Th3+ w/ MWTx-003)，N=7，且接著計算平均值。平均而言，在四週之後，在骨髓細胞中，嗜鹼性紅血球母細胞(I)之群體展示

7.58% (Th3+ w/ MoIgG2b)至6.52% (Th3+ w/ MWTx-003)移位(對於WT為7.96%)，多染性紅血球母細胞(II)展示54.20% (Th3+ w/ MoIgG2b)至40.01% (Th3+ w/ MWTx-003)移位(對於WT為28.53%)，正染性紅血球母細胞及無核網狀紅血球(III)展示24.06% (Th3+ w/ MoIgG2b)至29.73% (Th3+ w/ MWTx-003)移位(對於WT為26.67%)且成熟紅血球(IV)展示4.54% (Th3+ w/ MoIgG2b)至16.44%移位(對於WT為27.66%)平均而言，在實驗週之後，在脾臟中，嗜鹼性紅血球母細胞(I)之群體展示0.71% (Th3+ w/ MoIgG2b)至0.91% (Th3+ w/ MWTx-003)移位(對於WT為0.46%)，多染性紅血球母細胞(II)展示45.76% (Th3+ w/ MoIgG2b)至19.25% (Th3+ w/ MWTx-003)移位(對於WT為12.23%)，正染性紅血球母細胞及無核網狀紅血球(III)展示31.16% (Th3+ w/ MoIgG2b)至28.72% (Th3+ w/ MWTx-003)移位(對於WT為8.67%)且成熟紅血球(IV)展示14.13% (Th3+ w/ MoIgG2b)至44.38% (Th3+ w/ MWTx-003)移位(對於WT為72.17%)。針對骨髓之此等結果展示於圖7Q之條形圖中且針對脾臟之此等結果展示於圖7R中之條形圖中。

【0102】 在Th3/+小鼠中，用MWTx-003抗TMPRSS6抗體處理改善無效紅血球生成，其中相當大比例之紅血球母細胞分化且成熟為紅血球。

【0103】

實例8.抗TMPRSS6抗體抗原決定基分組

OCTET® RED96e用於MWTx-001 (圖8A)、MWTx-002 (圖8B)及MWTx-003 (圖8C)抗TMPRSS6抗體之抗原決定基分組。首先，ecto-TMPRSS6-FLAG (如上文所描述)係藉由生物素標記套組(Abcam)用生物素標記。預先水合之抗生蛋白鏈菌素(SA)生物感測器在1× KB (如上文所

描述)中平衡60秒作為第一基線，隨後將10 mg/mL生物素標記之ecto-TMPRSS6-FLAG負載至SA生物感測器上持續300秒。接著，建立第二基線信號60秒，隨後在1× KB中用50 mg/mL之抗體(MWTx-001，圖8A；MWTx-002，圖8B；MWTx-003，圖8C)飽和，持續600秒。最後，建立第三基線信號60秒，隨後在1× KB中與50 μg/mL之MWTx-001、MWTx-002或MWTx-003競爭持續300秒。與ecto-TMPRSS6-FLAG結合之MWTx-001抗TMPRSS6抗體未與MWTx-002抗TMPRSS6抗體或MWTx-003抗TMPRSS6抗體競爭(圖8A)。與ecto-TMPRSS6-FLAG結合之MWTx-002抗TMPRSS6抗體未與MWTx-001抗TMPRSS6抗體競爭，但與MWTx-003抗TMPRSS6抗體競爭(圖8B)。與ecto-TMPRSS6-FLAG結合之MWTx-003抗TMPRSS6抗體未與MWTx-001抗TMPRSS6抗體競爭，但與MWTx-002抗TMPRSS6抗體競爭(圖8C)。使用八位元組資料分析HT軟體進行資料分析。締合信號概述於圖8D中。

【生物材料寄存】

[主張利用生物材料1]

US美國；American Type Culture Collection (ATCC)；2020/05/27；PTA-126759

[主張利用生物材料2]

US美國；American Type Culture Collection (ATCC)；2020/05/27；PTA-126760

[主張利用生物材料3]

US美國；American Type Culture Collection (ATCC)；2020/05/27；PTA-126761

【序列表】

<110> 美商邁威（美國）生物治療有限公司(MABWELL THERAPEUTICS, INC.)

<120> 抗TMPRSS6抗體及其用途

<130> 1121-101PCT

<140>
<141>

<150> 63/158,265
<151> 2021-03-08

<150> 63/006,695
<151> 2020-04-07

<160> 102

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1
<211> 118
<212> PRT
<213> 小家鼠(Mus musculus)

<400> 1

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

Ala Pro Tyr Asp Ser Asp Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Ser Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 2
<211> 8
<212> PRT
<213> 小家鼠(Mus musculus)

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

<210> 3
<211> 8
<212> PRT
<213> 小家鼠(Mus musculus)

<400> 3
Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Ser Thr
1 5

<210> 4
<211> 11
<212> PRT
<213> 小家鼠(Mus musculus)

<400> 4
Ala Pro Tyr Asp Ser Asp Tyr Ala Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 5
<211> 354
<212> DNA
<213> 小家鼠(Mus musculus)

<400> 5
caggtccaac tgcagcagcc tggggctgag cttgcgaagc ctggggcttc agtgaagatg 60

tcctgcaagg cttctggcta caccttcacc agctactgga taacctgggt gaagcagagg 120

cctggacaag accttgagtg gattggaaat atttatcctg gtagtggtag tacttactac 180

aatgagaagt tcaagagcaa ggccacactg actgtagaca catcctccag aacagcctac 240

atgcagctca gcagtctgac atctgcggac tctgcggtct attactgtgc cccctatgat 300

tccgactatg ctatggacta ctggggtcaa ggaacctcag tcaccgtctc ctca 354

<210> 6
<211> 107
<212> PRT
<213> 小家鼠(Mus musculus)

<400> 6
Asp Ile Lys Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Met Tyr Ala Ser Leu Gly
1 5 10 15

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

Leu Ser Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Lys Thr Leu Ile
35 40 45

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

Ser Gly Ser Gly Gln Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Tyr
65 70 75 80

Glu Asp Val Gly Ile Tyr Phe Cys Leu Gln Tyr Asp Glu Phe Pro Leu
85 90 95

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

<210> 7
<211> 6
<212> PRT
<213> 小家鼠(Mus musculus)

<400> 7
Gln Asp Ile Asn Asn Tyr

1 5

<210> 8
<211> 3
<212> PRT
<213> 小家鼠(Mus musculus)

<400> 8
Arg Ala Asn
1

<210> 9
<211> 9
<212> PRT
<213> 小家鼠(Mus musculus)

<400> 9
Leu Gln Tyr Asp Glu Phe Pro Leu Thr
1 5

<210> 10
<211> 321
<212> DNA
<213> 小家鼠(Mus musculus)

<400> 10
gacatcaaga tgacccagtc tccatcttcc atgtatgcat ctctaggaga gagagtcact 60

atcacttgca aggcgagtca ggacattaat aactatttaa gctggttcca gcagaaacca 120

gggaaatctc ctaagaccct gatctatcgt gcaaacagat tggtagatgg ggtcccatca 180

agggtcagtg gcagtggatc tgggcaagat tattctctca ccatcagcag cctggagtat 240

gaagatgtgg gaatttattt ttgtctacag tatgatgagt ttcctctcac gttcggtgct 300

gggaccaagc tggagctgaa a 321

<210> 11
<211> 121
<212> PRT
<213> 小家鼠(Mus musculus)

<400> 11
Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser Glu
115 120

<210> 12
<211> 8
<212> PRT
<213> 小家鼠(Mus musculus)

<400> 12
Gly Phe Asn Ile Lys Asp Tyr Tyr
1 5

<210> 13
<211> 8
<212> PRT
<213> 小家鼠(Mus musculus)

<400> 13
Ile Asp Pro Glu Asp Gly Glu Ser
1 5

<210> 14
<211> 13
<212> PRT
<213> 小家鼠(Mus musculus)

<400> 14
Thr Arg Gly Asp Ser Met Met Val Thr Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 15
<211> 360
<212> DNA
<213> 小家鼠(Mus musculus)

<400> 15
gaggttcagc tgcagcagtc tggggcagaa cttgtgaagc caggggcctc agtcaagttg 60

tcctgcacag cctctggctt caacattaaa gactactata tacactgggt gaaagagagg 120

actgaacagg gcctggagtg gtttggaagg attgatcctg aggatggtga aagtgaatat 180

gccccgaaat tccagggcaa ggccacttta acagcagaca catcctccaa tacagcctac 240

ctgcagctca gcagcctgac atctgaggac actgccgtct attactgtac tagaggagac 300

tctatgatgg ttacctactt tgactactgg ggccaaggca ccactctcac ggtctcctca 360

<210> 16
<211> 107
<212> PRT
<213> 小家鼠(Mus musculus)

<400> 16
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser His Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly
1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

<210> 17
<211> 6
<212> PRT
<213> 小家鼠(Mus musculus)

<400> 17
Gln Asp Val Ser Thr Ala
1 5

<210> 18
<211> 3
<212> PRT
<213> 小家鼠(Mus musculus)

<400> 18
Trp Ala Phe
1

<210> 19
<211> 9
<212> PRT
<213> 小家鼠(Mus musculus)

<400> 19
Gln Gln His Tyr Arg Ser Pro Trp Thr
1 5

<210> 20
<211> 321
<212> DNA
<213> 小家鼠(Mus musculus)

<400> 20
gacattgtga tgacccagtc tcacaaattc atgtccacat cagtaggaga cagggtcagc 60

atcacctgca aggccagtca ggatgtgagt actgctgtag cctggtatca acaaaaacca 120

gggcaatctc ctaaactact gatttactgg gctttcaccc gtcacactgg agtccctgat 180

cgcttcacaa gcactggatc tgggacagat tatgctctca ccatcagcag tgtgcaggct 240

gaagacctgg cactttatta ctgtcagcaa cattatcgca gtccgtggac gttcggtgga 300

ggcaccaaac tggaaatcaa a 321

<210> 21
<211> 118
<212> PRT
<213> 小家鼠(Mus musculus)

<400> 21
Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

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

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

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

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

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

Ala Arg Ser Ile Tyr Leu Asp Pro Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Ser Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 22
<211> 8
<212> PRT
<213> 小家鼠(Mus musculus)

<400> 22
Gly Phe Asn Ile Glu Asp Tyr Tyr
1 5

<210> 23
<211> 8
<212> PRT
<213> 小家鼠(Mus musculus)

<400> 23
Ile Asp Pro Glu Asp Gly Glu Thr
1 5

<210> 24
<211> 11
<212> PRT
<213> 小家鼠(Mus musculus)

<400> 24
Ala Arg Ser Ile Tyr Leu Asp Pro Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 25
<211> 354
<212> DNA
<213> 小家鼠(Mus musculus)

<400> 25
gaagttcagc tgcagcagtc tggggcagaa cttgtgaagc caggggcctc agtcaagttg 60

tcctgcacag cttctggctt caacattgaa gactactata tacactgggt gaaggagagg 120

actgaacagg gcctggagtg gattggaagg attgatcctg aggatggtga aactacatat 180

gccccgcagt tccagggcaa ggccactata ataccagaca catcctccaa cacagcctac 240

atgcagctca gcagcctgac atctgaggac gctgccgtct attactgtgc tagatcgatc 300

taccttgatc ctatggacta ctggggtcaa ggaacctcag tcaccgtctc ctca 354

<210> 26

<211> 107
<212> PRT
<213> 小家鼠(Mus musculus)

<400> 26
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser His Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly
1 5 10 15

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

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

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

Ser Ile Ser Gly Thr Thr Tyr Ile Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala
65 70 75 80

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

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

<210> 27
<211> 6
<212> PRT
<213> 小家鼠(Mus musculus)

<400> 27
Gln Asp Val Thr Thr Ala
1 5

<210> 28
<211> 3
<212> PRT
<213> 小家鼠(Mus musculus)

<400> 28
Trp Ala Thr

1

<210> 29
<211> 9
<212> PRT
<213> 小家鼠(Mus musculus)

<400> 29
Gln Gln His Tyr Ser Thr Pro Tyr Thr
1 5

<210> 30
<211> 321
<212> DNA
<213> 小家鼠(Mus musculus)

<400> 30
gacattgtga tgacccagtc tcacaaattc atgtccacat cagtaggaga cagggtcagc 60

atcacctgca aggccagtca ggatgtgact actgctgtcg cctggtatca acaaaaacca 120

ggacagtctc ctaaaatact gatttactgg gcaaccaccc ggcacactgg agtccctgat 180

cgcttcacag gcagtatatc tgggacaact tatattctca ccatcagtag tgtgcaggct 240

gaagacctgg cactttatta ctgtcagcaa cattatagca ctccgtacac gttcggaggg 300

gggaccaagc tggaaataaa a 321

<210> 31
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列

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

<400> 31
Glu 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 Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

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

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

Lys Ser Lys Ala Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Ser Arg Thr Ala 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 Pro Tyr Asp Ala Asp Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 32
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

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

<400> 32
Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Trp
1 5

<210> 33
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

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

<400> 33
Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Ser Thr
1 5

<210> 34
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

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

<400> 34
Ala Pro Tyr Asp Ala Asp Tyr Ala Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 35
<211> 354
<212> DNA
<213> 人工序列

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

<400> 35
gaagtgcagc tggtgcaatc tggcgccgaa gtgaagaaac ctggcgcctc tgtgaaggtg 60

tcctgcaagg cttccggcta cacctttacc agctactgga tcacctgggt ccgacaggct 120

cctggccaga gactggaatg gatcggcaac atctaccctg gctccggctc cacctactac 180

aacgagaagt tcaagtccaa ggccacaatc acccgggaca cctcttccag aaccgcctac 240

atggaactgt ccagcctgag atctgaggac accgccgtgt actactgcgc cccttacgac 300

gccgactacg ccatggatta ttggggccag ggcaccctgg tcaccgtgtc ctct 354

<210> 36
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

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

<400> 36
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 Lys Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
20 25 30

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

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

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

<210> 37
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

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

<400> 37
Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
1 5

<210> 38
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

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

<400> 38
Arg Ala Asn
1

<210> 39
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

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

<400> 39
Leu Gln Tyr Asp Glu Phe Pro Leu Thr
1 5

<210> 40
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列

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

<400> 40
gacatccaga tgacccagtc tccatcctct ctgtccgcct ctgtgggcga cagagtgacc 60

atcacatgca aggccagcca ggacatctcc aactacctgt cctggttcca gcagaagcct 120

ggcaaggctc ccaagctgct gatctacaga gccaacagac tggtggaagg cgtgccctcc 180

agattctccg gatctggctc tggcaccgac tttaccctga caatctccag cctgcagcct 240

gaggacttcg ctacctactt ctgcctgcaa tacgacgagt tccctctgac ctttggcgga 300

ggcaccaagg tggaaatcaa g 321

<210> 41
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

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

<400> 41
Glu 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 Phe Asn Ile Lys Asp Tyr
20 25 30

Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Thr Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

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

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asp Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

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

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 42
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

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

<400> 42
Gly Phe Asn Ile Lys Asp Tyr Tyr
1 5

<210> 43
<211> 8

<212> PRT
<213> 人工序列

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

<400> 43
Ile Asp Pro Glu Asp Ala Glu Ser
1 5

<210> 44
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

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

<400> 44
Thr Arg Gly Asp Ser Met Met Val Thr Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 45
<211> 360
<212> DNA
<213> 人工序列

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

<400> 45
gaagtgcagc tggtgcaatc tggcgccgaa gtgaagaaac ctggcgcctc tgtgaaggtg 60

tcctgcaagg cctctggctt caacatcaag gactactaca tccactgggt ccgacaggct 120

accggacagg gacttgagtg gatgggcaga atcgaccctg aggacgccga gtctgagtac 180

gcccctaagt ttcagggcag agtgaccatc accgccgaca cctctaccga caccgcctac 240

atggaactgt ccagcctgag atctgaggac accgccgtgt actactgcac cagaggcgac 300

tccatgatgg ttacctactt cgactactgg ggccagggca ccctggtcac agtttcttcc 360

<210> 46

<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

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

<400> 46
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 Lys Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Ala
20 25 30

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

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

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

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

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

<210> 47
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

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

<400> 47
Gln Asp Val Ser Thr Ala
1 5

<210> 48
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

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

<400> 48
Trp Ala Phe
1

<210> 49
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

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

<400> 49
Gln Gln His Tyr Arg Ser Pro Trp Thr
1 5

<210> 50
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列

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

<400> 50
gacatccaga tgacccagtc tccatcctct ctgtccgcct ctgtgggcga cagagtgacc 60

atcacatgca aggcctctca ggacgtgtcc accgccgttg cttggtatca gcagaagcct 120

ggcaaggccc ctaagctgct gatctactgg gccttcacca gacacaccgg cgtgccctct 180

aggttctccg gctctggctc tggcaccgat tacgctctga caatctccag cctgcagcct 240

gaggacttcg ccacctacta ctgccagcag cactacagaa gcccctggac atttggcgga 300

ggcaccaagg tggaaatcaa g 321

<210> 51
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列

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

<400> 51
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 Phe Asn Ile Glu Asp Tyr
20 25 30

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

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

Gln Gly Arg Val Thr Ile Ile Pro Asp Thr Ser Ala Asn Thr Ala 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 Ser Ile Tyr Leu Asp Pro Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 52
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<221> source
<223> /註釋=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 52
Gly Phe Asn Ile Glu Asp Tyr Tyr
1 5

<210> 53
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

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

<400> 53
Ile Asp Pro Glu Asp Ala Glu Thr
1 5

<210> 54
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

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

<400> 54
Ala Arg Ser Ile Tyr Leu Asp Pro Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 55
<211> 354
<212> DNA
<213> 人工序列

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

<400> 55
caggtgcagc tggtgcagtc tggcgccgaa gtgaaaaagc ctggcgcctc tgtgaaggtg 60

tcctgcaagg cctctggctt caacatcgag gactactaca tgcactgggt ccgacaggcc 120

cctggccaga gattggaatg gatgggcaga atcgaccccg aggacgccga gacaacctac 180

tctcctaagt tccagggccg cgtgacaatc atccctgaca cctctgccaa caccgcctac 240

atggaactgt ccagcctgag atctgaggac accgccgtgt actactgcgc ccggtctatc 300

tacctggacc ctatggacta ttggggccag ggcaccctgg tcacagtgtc ctct 354

<210> 56
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

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

<400> 56
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Lys Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

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

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

Tyr Trp Ala Thr Thr Arg His Ser 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 Gln His Tyr Ser Thr Pro Tyr
85 90 95

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

<210> 57
<211> 6
<212> PRT

<213> 人工序列

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

<400> 57
Gln Asp Val Thr Thr Ala
1 5

<210> 58
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

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

<400> 58
Trp Ala Thr
1

<210> 59
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

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

<400> 59
Gln Gln His Tyr Ser Thr Pro Tyr Thr
1 5

<210> 60
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列

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

<400> 60
gacatccaga tgacccagtc tccaaagtct ctgtccgcct ccgtgggcga cagagtgacc 60

atcacctgta gagcctctca ggacgtgacc accgctctgg cttggtatca gcagaagcct 120

ggccagtctc ctaagctgct gatctactgg gccaccacca gacactctgg cgtgccctct 180

agattctccg gctctggctc tggcaccgac tttaccctga caatctccag cctgcagcct 240

gaggacttcg ccacctacta ctgccagcag cactacagca ccccttacac ctttggccag 300

ggcaccaagc tggaaatcaa g 321

<210> 61
<211> 447
<212> PRT
<213> 小家鼠(Mus musculus)

<400> 61

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

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

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

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

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

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

Ala	Pro	Tyr	Asp	Ser	Asp	Tyr	Ala	Met	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr
				100					105					110	

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

Leu Ala Pro Val Cys Gly Asp Thr Thr Gly Ser Ser Val Thr Leu Gly
130 135 140

Cys Leu Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Leu Thr Trp Asn
145 150 155 160

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

Ser Asp Leu Tyr Thr Leu Ser Ser Ser Val Thr Val Thr Ser Ser Thr
180 185 190

Trp Pro Ser Gln Ser Ile Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser Ser
195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Lys Ile Glu Pro Arg Gly Pro Thr Ile Lys Pro
210 215 220

Cys Pro Pro Cys Lys Cys Pro Ala Pro Asn Leu Leu Gly Gly Pro Ser
225 230 235 240

Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Leu
245 250 255

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

Asp Val Gln Ile Ser Trp Phe Val Asn Asn Val Glu Val His Thr Ala
275 280 285

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

Ser Ala Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe
305 310 315 320

Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu Pro Ala Pro Ile Glu Arg Thr
325 330 335

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

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

Met Val Thr Asp Phe Met Pro Glu Asp Ile Tyr Val Glu Trp Thr Asn
370 375 380

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

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

Asn Trp Val Glu Arg Asn Ser Tyr Ser Cys Ser Val Val His Glu Gly
420 425 430

Leu His Asn His His Thr Thr Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly
435 440 445

<210> 62
<211> 1347
<212> DNA
<213> 小家鼠(Mus musculus)

<400> 62
caggtccaac tgcagcagcc tggggctgag cttgcgaagc ctggggcttc agtgaagatg 60

tcctgcaagg cttctggcta caccttcacc agctactgga taacctgggt gaagcagagg 120

cctggacaag accttgagtg gattggaaat atttatcctg gtagtggtag tacttactac 180

aatgagaagt tcaagagcaa ggccacactg actgtagaca catcctccag aacagcctac 240

atgcagctca gcagtctgac atctgcggac tctgcggtct attactgtgc cccctatgat 300

tccgactatg ctatggacta ctggggtcaa ggaacctcag tcaccgtctc ctcagctaaa 360

acaacagccc catcggtcta tccactggcc cctgtgtgtg gagatacaac tggctcctcg 420

gtgactctag gatgcctggt caagggttat ttccctgagc cagtgacctt gacctggaac 480

tctggttccc tgtccagtgg tgtgcacacc ttcccagctg tcctgcagtc tgacctctac 540

accctcagct caagcgtgac tgtaaccagc tcgacctggc ccagccagtc catcacctgc 600

aatgtggccc acccggcaag cagcaccaag gtggacaaga aaattgagcc cagagggccc 660

acaatcaagc cctgtcctcc atgcaaatgc ccagcaccta acctcttggg tggaccatcc 720

gtcttcatct tccctccaaa gatcaaggat gtactcatga tctccctgag ccccatagtc 780

acatgtgtag tcgttgatgt gagcgaggat gacccagatg tccagatcag ctggtttgtg 840

aacaacgtgg aagtgcacac tgctcagaca cagacgcata gagaggatta caacagtact 900

ctccgggttg tcagtgccct ccccatccag caccaggact ggatgagtgg caaggagttc 960

aaatgcaagg tcaacaacaa agacctccca gcgcccatcg agagaaccat ctcaaaaccc 1020

aaagggtcag taagagctcc acaggtatat gtcttgcctc caccagaaga ggagatgact 1080

aagaaacagg tcactctgac ctgcatggtc acagacttca tgcctgaaga catttacgtg 1140

gagtggacca acaacgggaa aacagagcta aactacaaga acactgaacc agtcctggac 1200

tctgatggtt cttacttcat gtacagcaag ctgagagtgg agaagaagaa ctgggtggag 1260

agaaatagct actcctgttc agtggtccac gagggtctgc acaatcacca cacgactaag 1320

agcttctccc ggactccggg ttagtaa 1347

<210> 63
<211> 214
<212> PRT
<213> 小家鼠(Mus musculus)

<400> 63

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

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

Leu	Ser	Trp	Phe	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ser	Pro	Lys	Thr	Leu	Ile
		35					40					45			

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

Ser Gly Ser Gly Gln Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Tyr
65                  70                  75                  80

Glu Asp Val Gly Ile Tyr Phe Cys Leu Gln Tyr Asp Glu Phe Pro Leu
                85                  90                  95

Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg Ala Asp Ala Ala
            100                 105                 110

Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly
        115                 120                 125

Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile
    130                 135                 140

Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu
145                 150                 155                 160

Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser
                165                 170                 175

Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr
            180                 185                 190

Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser
        195                 200                 205

Phe Asn Arg Asn Glu Cys
    210
```

<210> 64
<211> 642
<212> DNA
<213> 小家鼠(Mus musculus)

<400> 64
gacatcaaga tgacccagtc tccatcttcc atgtatgcat ctctaggaga gagagtcact 60

atcacttgca aggcgagtca ggacattaat aactatttaa gctggttcca gcagaaacca 120

gggaaatctc ctaagaccct gatctatcgt gcaaacagat tggtagatgg ggtcccatca 180

agggtcagtg gcagtggatc tgggcaagat tattctctca ccatcagcag cctggagtat 240

gaagatgtgg gaatttattt ttgtctacag tatgatgagt ttcctctcac gttcggtgct 300

gggaccaagc tggagctgaa aagagctgac gccgctccta ccgtgtccat ctttccacct 360

agcagcgagc agctgacaag cggcggagcc agcgtcgtgt gcttcctgaa caacttctac 420

cccaaggaca tcaacgtgaa gtggaagatc gacggcagcg agagacagaa cggcgtgctg 480

aatagctgga ccgaccagga cagcaaggac tccacctaca gcatgtccag cacactgacc 540

ctgaccaagg acgagtacga gcggcacaac agctacacat gcgaggccac acacaagacc 600

agcacaagcc ccatcgtgaa gtccttcaac cggaacgagt gc 642

<210> 65
<211> 455
<212> PRT
<213> 小家鼠(Mus musculus)

<400> 65
Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser Lys Thr Thr Pro Pro Ser Val Tyr
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Gly Cys Gly Asp Thr Thr Gly Ser Ser Val Thr Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Ser Val Thr Val Thr Trp
145 150 155 160

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

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

Thr Trp Pro Ser Gln Thr Val Thr Cys Ser Val Ala His Pro Ala Ser
195 200 205

Ser Thr Thr Val Asp Lys Lys Leu Glu Pro Ser Gly Pro Ile Ser Thr
210 215 220

Ile Asn Pro Cys Pro Pro Cys Lys Glu Cys His Lys Cys Pro Ala Pro
225 230 235 240

Asn Leu Glu Gly Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Asn Ile Lys
245 250 255

Asp Val Leu Met Ile Ser Leu Thr Pro Lys Val Thr Cys Val Val Val
260 265 270

Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro Asp Val Gln Ile Ser Trp Phe Val Asn
275 280 285

Asn Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln Thr His Arg Glu Asp Tyr
290 295 300

Asn Ser Thr Ile Arg Val Val Ser Thr Leu Pro Ile Gln His Gln Asp
305 310 315 320

Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu
325 330 335

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

Ala Pro Gln Val Tyr Ile Leu Pro Pro Pro Ala Glu Gln Leu Ser Arg
355 360 365

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

Ile Ser Val Glu Trp Thr Ser Asn Gly His Thr Glu Glu Asn Tyr Lys
385 390 395 400

Asp Thr Ala Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Tyr Phe Ile Tyr Ser
405 410 415

Lys Leu Asn Met Lys Thr Ser Lys Trp Glu Lys Thr Asp Ser Phe Ser
420 425 430

Cys Asn Val Arg His Glu Gly Leu Lys Asn Tyr Tyr Leu Lys Lys Thr
435 440 445

Ile Ser Arg Ser Pro Gly Lys
450 455

<210> 66
<211> 1365
<212> DNA
<213> 小家鼠(Mus musculus)

<400> 66

gaggttcagc tgcagcagtc tggggcagaa cttgtgaagc caggggcctc agtcaagttg 60

tcctgcacag cctctggctt caacattaaa gactactata tacactgggt gaaagagagg 120

actgaacagg gcctggagtg gtttggaagg attgatcctg aggatggtga aagtgaatat 180

gccccgaaat tccagggcaa ggccacttta acagcagaca catcctccaa tacagcctac 240

ctgcagctca gcagcctgac atctgaggac actgccgtct attactgtac tagaggagac 300

tctatgatgg ttacctactt tgactactgg ggccaaggca ccactctcac ggtctcctca 360

aagaccacac ctcctagcgt gtaccctctg gctcctggct gtggcgatac aacaggcagc 420

tctgtgacac tgggctgcct ggtcaagggc tactttcctg agagcgtgac agtgacctgg 480

aacagcggca gcctgtctag cagcgtgcac acctttccag ctctgctcca gagcggcctg 540

tacaccatgt cctctagtgt gaccgtgcct agcagcacct ggcctagcca gacagtgaca 600

tgtagcgtgg cccatcctgc cagcagcaca accgtggaca agaagctgga acctagcggc 660

cccatcagca ccatcaatcc ctgtcctcca tgcaaagaat gccacaagtg ccccgctcct 720

aacctggaag gtggcccaag cgtgttcatc ttcccaccta acatcaagga cgtgctgatg 780

atcagcctga cacctaaagt gacctgcgtg gtggtggacg tgtccgagga tgatcccgat 840

gtgcagatca gttggttcgt gaacaacgtg gaagtgcaca cagcccagac acagacccac 900

agagaggact acaatagcac cattcgcgtg gtgtccacac tgcctatcca gcaccaggat 960

tggatgagcg gcaaagagtt caagtgcaaa gtgaacaaca aggacctgcc ttctccaatc 1020

gagcggacca tcagcaagat caagggactc gtcagagccc ctcaggtgta catcttgcct 1080

ccaccagccg agcagctgag cagaaaggat gtgtccctga cctgtctggt cgtgggcttc 1140

aaccctggcg acatcagcgt ggaatggacc agcaatggcc acaccgagga aaactacaag 1200

gacacagccc ctgtgctgga cagcgacggc agctacttca tctacagcaa gctgaacatg 1260

aagaccagca agtgggagaa aaccgacagc ttctcctgca acgtgcggca cgagggcctg 1320

aagaactact acctgaagaa aaccatctct cggagccccg gcaag 1365

<210> 67

<211> 214
<212> PRT
<213> 小家鼠(Mus musculus)

<400> 67

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

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

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

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

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

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

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala
            100                 105                 110

Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly
        115                 120                 125

Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile
    130                 135                 140

Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu
145                 150                 155                 160

Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser
                165                 170                 175

Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr
```

180 185 190

Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Asn Glu Cys
210

<210> 68
<211> 642
<212> DNA
<213> 小家鼠(Mus musculus)

<400> 68
gacattgtga tgacccagtc tcacaaattc atgtccacat cagtaggaga cagggtcagc 60

atcacctgca aggccagtca ggatgtgagt actgctgtag cctggtatca acaaaaacca 120

gggcaatctc ctaaactact gatttactgg gctttcaccc gtcacactgg agtccctgat 180

cgcttcacaa gcactggatc tgggacagat tatgctctca ccatcagcag tgtgcaggct 240

gaagacctgg cactttatta ctgtcagcaa cattatcgca gtccgtggac gttcggtgga 300

ggcaccaaac tggaaatcaa aagagctgac gccgctccta ccgtgtccat ctttccacct 360

agcagcgagc agctgacaag cggcggagcc agcgtcgtgt gcttcctgaa caacttctac 420

cccaaggaca tcaacgtgaa gtggaagatc gacggcagcg agagacagaa cggcgtgctg 480

aatagctgga ccgaccagga cagcaaggac tccacctaca gcatgtccag cacactgacc 540

ctgaccaagg acgagtacga gcggcacaac agctacacat gcgaggccac acacaagacc 600

agcacaagcc ccatcgtgaa gtccttcaac cggaacgagt gc 642

<210> 69
<211> 453
<212> PRT
<213> 小家鼠(Mus musculus)

<400> 69
Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

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

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

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

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

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

Ala Arg Ser Ile Tyr Leu Asp Pro Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Ser Val Thr Val Ser Ser Lys Thr Thr Pro Pro Ser Val Tyr Pro Leu
115 120 125

Ala Pro Gly Cys Gly Asp Thr Thr Gly Ser Ser Val Thr Leu Gly Cys
130 135 140

Leu Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Ser Val Thr Val Thr Trp Asn Ser
145 150 155 160

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

Gly Leu Tyr Thr Met Ser Ser Ser Val Thr Val Pro Ser Ser Thr Trp
180 185 190

Pro Ser Gln Thr Val Thr Cys Ser Val Ala His Pro Ala Ser Ser Thr
195 200 205

Thr Val Asp Lys Lys Leu Glu Pro Ser Gly Pro Ile Ser Thr Ile Asn
210 215 220

```
Pro Cys Pro Pro Cys Lys Glu Cys His Lys Cys Pro Ala Pro Asn Leu
225                 230                 235                 240

Glu Gly Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Asn Ile Lys Asp Val
                245                 250                 255

Leu Met Ile Ser Leu Thr Pro Lys Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
            260                 265                 270

Ser Glu Asp Asp Pro Asp Val Gln Ile Ser Trp Phe Val Asn Asn Val
        275                 280                 285

Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln Thr His Arg Glu Asp Tyr Asn Ser
    290                 295                 300

Thr Ile Arg Val Val Ser Thr Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met
305                 310                 315                 320

Ser Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu Pro Ser
                325                 330                 335

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

Gln Val Tyr Ile Leu Pro Pro Pro Ala Glu Gln Leu Ser Arg Lys Asp
        355                 360                 365

Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Val Gly Phe Asn Pro Gly Asp Ile Ser
    370                 375                 380

Val Glu Trp Thr Ser Asn Gly His Thr Glu Glu Asn Tyr Lys Asp Thr
385                 390                 395                 400

Ala Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Tyr Phe Ile Tyr Ser Lys Leu
                405                 410                 415
```

Asn Met Lys Thr Ser Lys Trp Glu Lys Thr Asp Ser Phe Ser Cys Asn
420 425 430

Val Arg His Glu Gly Leu Lys Asn Tyr Tyr Leu Lys Lys Thr Ile Ser
435 440 445

Arg Ser Pro Gly Lys
450

<210> 70
<211> 1359
<212> DNA
<213> 小家鼠(Mus musculus)

<400> 70
gaggttcagc tgcagcagtc tggcgccgag cttgtgaaac ctggcgcctc tgtgaagctg 60

agctgtaccg ccagcggctt caacatcgag gactactaca tccactgggt caaagagcgg 120

accgagcagg gactcgagtg gatcggaaga atcgaccccg aggacggcga gacaacatac 180

gcccctcagt ttcagggcaa agccacaatc atccccgaca ccagcagcaa caccgcctac 240

atgcaactga gcagcctgac ctctgaagat gccgccgtgt actactgcgc ccggtccatc 300

tatctggacc ccatggatta ttggggccag ggcacaagcg tgaccgtgtc ctctaagacc 360

acacctccta gcgtgtaccc tctggctcct ggctgtggcg atacaacagg cagctctgtg 420

acactgggct gcctggtcaa gggctacttt cctgagagcg tgacagtgac ctggaacagc 480

ggcagcctgt ctagcagcgt gcacaccttt ccagctctgc tccagagcgg cctgtacacc 540

atgtcctcta gtgtgaccgt gcctagcagc acctggccta gccagacagt gacatgtagc 600

gtggcccatc ctgccagcag cacaaccgtg gacaagaagc tggaacctag cggccccatc 660

agcaccatca atccctgtcc tccatgcaaa gaatgccaca agtgccccgc tcctaacctg 720

gaaggtggcc caagcgtgtt catcttccca cctaacatca aggacgtgct gatgatcagc 780

ctgacaccta aagtgacctg cgtggtggtg gacgtgtccg aggatgatcc cgatgtgcag 840

atcagttggt tcgtgaacaa cgtggaagtg cacacagccc agacacagac ccacagagag 900

gactacaata gcaccattcg cgtggtgtcc acactgccta tccagcacca ggattggatg 960

agcggcaaag agttcaagtg caaagtgaac aacaaggacc tgccttctcc aatcgagcgg 1020

accatcagca agatcaaggg actcgtcaga gcccctcagg tgtacatctt gcctccacca 1080

gccgagcagc tgagcagaaa ggatgtgtcc ctgacctgtc tggtcgtggg cttcaaccct 1140

ggcgacatca gcgtggaatg gaccagcaat ggccacaccg aggaaaacta caaggacaca 1200

gcccctgtgc tggacagcga cggcagctac ttcatctaca gcaagctgaa catgaagacc 1260

agcaagtggg agaaaaccga cagcttctcc tgcaacgtgc ggcacgaggg cctgaagaac 1320

tactacctga agaaaaccat ctctcggagc cccggcaag 1359

<210> 71
<211> 214
<212> PRT
<213> 小家鼠(Mus musculus)

<400> 71

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

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

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

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

Ser	Ile	Ser	Gly	Thr	Thr	Tyr	Ile	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Val	Gln	Ala
65				70				75					80		

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

Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys	Arg	Ala	Asp	Ala	Ala
			100					105					110		

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

115 120 125

Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile
130 135 140

Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu
145 150 155 160

Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr
180 185 190

Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Asn Glu Cys
210

<210> 72
<211> 642
<212> DNA
<213> 小家鼠(Mus musculus)

<400> 72
gacatcgtga tgacccagag ccacaagttc atgagcacca gcgtgggcga cagagtgtcc 60

atcacctgta aagccagcca ggacgtgaca acagccgtgg cctggtatca gcagaagcct 120

ggccagtctc ctaagatcct gatctactgg gccaccacca gacacaccgg cgtgccagat 180

agattcaccg gcagcatcag cggcaccacc tacatcctga caatcagctc tgtgcaggcc 240

gaggatctgg ccctgtacta ctgtcagcag cactacagca ccccttacac ctttggcgga 300

ggcaccaagc tggaaatcaa gagagctgac gccgctccta ccgtgtccat ctttccacct 360

agcagcgagc agctgacaag cggcggagcc agcgtcgtgt gcttcctgaa caacttctac 420

cccaaggaca tcaacgtgaa gtggaagatc gacggcagcg agagacagaa cggcgtgctg 480

aatagctgga ccgaccagga cagcaaggac tccacctaca gcatgtccag cacactgacc 540

ctgaccaagg acgagtacga gcggcacaac agctacacat gcgaggccac acacaagacc 600

agcacaagcc ccatcgtgaa gtccttcaac cggaacgagt gc 642

<210> 73
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

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

<400> 73

```
Glu 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 Thr Phe Thr Ser Tyr
            20                  25                  30

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

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

Lys Ser Lys Ala Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Ser Arg Thr Ala 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 Pro Tyr Asp Ala Asp Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
            100                 105                 110

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

Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
    130                 135                 140
```

```
Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
145                 150                 155                 160

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

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

Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
        195                 200                 205

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

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly 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 His Glu Asp Pro
            260                 265                 270

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

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ala 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 Ala Leu Pro Ala Pro 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 Arg Asp Glu Leu 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 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
435 440 445

<210> 74
<211> 1341
<212> DNA
<213> 人工序列

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

<400> 74
gaagtgcagc tggtgcaatc tggcgccgaa gtgaagaaac ctggcgcctc tgtgaaggtg 60

tcctgcaagg cttccggcta cacctttacc agctactgga tcacctgggt ccgacaggct 120

cctggccaga gactggaatg gatcggcaac atctaccctg gctccggctc cacctactac 180

aacgagaagt tcaagtccaa ggccacaatc acccgggaca cctcttccag aaccgcctac 240

atggaactgt ccagcctgag atctgaggac accgccgtgt actactgcgc cccttacgac 300

gccgactacg ccatggatta ttggggccag ggcaccctgg tcaccgtgtc ctctgcttct 360

accaagggac ccagcgtgtt ccctctggct ccttccagca agtctacctc tggcggaaca 420

gctgctctgg gctgcctggt caaggactac tttcctgagc ctgtgaccgt gtcttggaac 480

tctggcgctc tgacatccgg cgtgcacaca tttccagctg tgctgcagtc ctccggcctg 540

tactctctgt cctctgtcgt gaccgtgcct tcctctagcc tgggcaccca gacctacatc 600

tgcaatgtga accacaagcc ttccaacacc aaggtggaca agaaggtgga acccaagtcc 660

tgcgacaaga cccacacctg tcctccatgt cctgctccag aactgctcgg cggaccttcc 720

gtgttcctgt ttcctccaaa gcctaaggac accctgatga tctctcggac ccctgaagtg 780

acctgcgtgg tggtggatgt gtctcacgag gacccagaag tgaagttcaa ttggtacgtg 840

gacggcgtgg aagtgcacaa cgccaagacc aagcctagag aggaacagta cgccagcacc 900

tacagagtgg tgtccgtgct gacagtgctg caccaggatt ggctgaacgg caaagagtac 960

aagtgcaagg tgtccaacaa ggccctgcct gctcctatcg aaaagaccat cagcaaggcc 1020

aagggccagc ctagagaacc ccaggtttac accttgcctc catctcggga cgagctgacc 1080

aagaaccagg tgtccctgac ctgtctcgtg aagggcttct acccctccga catcgccgtg 1140

gaatgggagt ctaatggcca gccagagaac aactacaaga caacccctcc tgtgctggac 1200

tccgacggct cattcttcct gtactccaag ctgaccgtgg acaagtccag atggcagcag 1260

ggcaacgtgt tctcctgctc cgtgatgcac gaggccctgc acaatcacta cacacagaag 1320

tccctgtctc tgtccccctgg c 1341

<210> 75
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

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

<400> 75
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 Lys Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr

20 25 30

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

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

Thr Phe Gly Gly 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> 76
<211> 642
<212> DNA
<213> 人工序列

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

<400> 76
gacatccaga tgacccagtc tccatcctct ctgtccgcct ctgtgggcga cagagtgacc 60

atcacatgca aggccagcca ggacatctcc aactacctgt cctggttcca gcagaagcct 120

ggcaaggctc ccaagctgct gatctacaga gccaacagac tggtggaagg cgtgccctcc 180

agattctccg gatctggctc tggcaccgac tttaccctga caatctccag cctgcagcct 240

gaggacttcg ctacctactt ctgcctgcaa tacgacgagt tccctctgac ctttggcgga 300

ggcaccaagg tggaaatcaa gcggacagtg gccgctcctt ccgtgttcat cttcccacct 360

tccgacgagc agctgaagtc cggcacagct tctgtcgtgt gcctgctgaa caacttctac 420

cctcgggaag ccaaggtgca gtggaaggtg gacaatgccc tgcagtccgg caactcccaa 480

gagtctgtga ccgagcagga ctccaaggac agcacctaca gcctgtcctc cacactgacc 540

ctgtccaagg ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaagtgac ccatcagggc 600

ctgtctagcc ctgtgaccaa gtctttcaac cggggcgagt gt 642

<210> 77
<211> 449
<212> PRT
<213> 人工序列

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

<400> 77
Glu 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 Phe Asn Ile Lys Asp Tyr
20 25 30

Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Thr Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

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

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asp Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

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

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

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140

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

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

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

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
195 200 205

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

```
Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225                 230                 235                 240

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Gly

<210> 78
<211> 1347
<212> DNA
<213> 人工序列

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

<400> 78
gaagtgcagc tggtgcaatc tggcgccgaa gtgaagaaac ctggcgcctc tgtgaaggtg 60

tcctgcaagg cctctggctt caacatcaag gactactaca tccactgggt ccgacaggct 120

accggacagg gacttgagtg gatgggcaga atcgaccctg aggacgccga gtctgagtac 180

gcccctaagt ttcagggcag agtgaccatc accgccgaca cctctaccga caccgcctac 240

atggaactgt ccagcctgag atctgaggac accgccgtgt actactgcac cagaggcgac 300

tccatgatgg ttacctactt cgactactgg ggccagggca ccctggtcac agtttcttcc 360

gcttccacca agggacccag cgtgttccct ctggctcctt ccagcaagtc tacctctggc 420

ggaacagctg ctctgggctg cctggtcaag gattacttcc ctgagcctgt gaccgtgtcc 480

tggaactctg gcgctctgac atccggcgtg cacaccttcc cagctgtgct gcaatcctcc 540

ggcctgtact ctctgtcctc cgtcgtgacc gtgccttcta gctctctggg cacccagacc 600

tacatctgca atgtgaacca caagccttcc aacaccaagg tggacaagaa ggtggaaccc 660

aagtcctgcg acaagaccca cacctgtcct ccatgtcctg ctccagaact gctcggcgga 720

ccttccgtgt tcctgtttcc tccaaagcct aaggacaccc tgatgatctc tcggaccccc 780

gaagtgacct gcgtggtggt ggatgtgtct cacgaggacc cagaagtgaa gttcaattgg 840

tacgtggacg gcgtggaagt gcacaacgcc aagaccaagc ctagagagga acagtacgcc 900

tccacctaca gagtggtgtc cgtgctgaca gtgctgcacc aggattggct gaacggcaaa 960

gagtacaagt gcaaggtgtc caacaaggca ctgcccgctc ctatcgaaaa gaccatctcc 1020

aaggccaagg gccagcctag agaaccccag gtttacacct tgcctccatc tcgggacgag 1080

ctgaccaaga accaggtgtc cctgacctgt ctcgtgaagg gcttctaccc ctccgacatc 1140

gccgtggaat gggagtctaa tggccagcca gagaacaact acaagacaac ccctcctgtg 1200

ctggactccg acggctcatt cttcctgtac tccaagctga ccgtggacaa gtccagatgg 1260

cagcagggca acgtgttctc ctgctccgtg atgcacgagg ccctgcacaa tcactacaca 1320

cagaagtctc tgtccctgtc tcctggc 1347

<210> 79
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

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

<400> 79

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 Lys Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Ala
20 25 30

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

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

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

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

Thr Phe Gly Gly 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> 80
<211> 642
<212> DNA
<213> 人工序列

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

<400> 80
gacatccaga tgacccagtc tccatcctct ctgtccgcct ctgtgggcga cagagtgacc 60

atcacatgca aggcctctca ggacgtgtcc accgccgttg cttggtatca gcagaagcct 120

ggcaaggccc ctaagctgct gatctactgg gccttcacca gacacaccgg cgtgccctct 180

aggttctccg gctctggctc tggcaccgat tacgctctga caatctccag cctgcagcct 240

gaggacttcg ccacctacta ctgccagcag cactacagaa gcccctggac atttggcgga 300

ggcaccaagg tggaaatcaa gcggacagtg gccgctcctt ccgtgttcat cttcccacct 360

tccgacgagc agctgaagtc cggcacagct tctgtcgtgt gcctgctgaa caacttctac 420

cctcgggaag ccaaggtgca gtggaaggtg gacaatgccc tgcagtccgg caactcccaa 480

gagtctgtga ccgagcagga ctccaaggac agcacctaca gcctgtcctc cacactgacc 540

ctgtccaagg ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaagtgac ccatcagggc 600

ctgtctagcc ctgtgaccaa gtctttcaac cggggcgagt gt 642

<210> 81
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

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

<400> 81

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 Phe Asn Ile Glu Asp Tyr
20 25 30

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

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

Gln Gly Arg Val Thr Ile Ile Pro Asp Thr Ser Ala Asn Thr Ala 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 Ser Ile Tyr Leu Asp Pro Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

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

Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
130 135 140

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
145 150 155 160

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

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

Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
195 200 205

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

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly 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 His Glu Asp Pro
260 265 270

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

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr 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 Ala Leu Pro Ala Pro 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 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 Val 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
435 440 445

<210> 82
<211> 1341
<212> DNA
<213> 人工序列

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

<400> 82
caggtgcagc tggtgcagtc tggcgccgaa gtgaaaaagc ctggcgcctc tgtgaaggtg 60

tcctgcaagg cctctggctt caacatcgag gactactaca tgcactgggt ccgacaggcc 120

cctggccaga gattggaatg gatgggcaga atcgaccccg aggacgccga gacaacctac 180

tctcctaagt tccagggccg cgtgacaatc atccctgaca cctctgccaa caccgcctac 240

atggaactgt ccagcctgag atctgaggac accgccgtgt actactgcgc ccggtctatc 300

tacctggacc ctatggacta ttggggccag ggcaccctgg tcacagtgtc ctctgcttct 360

accaagggac ccagcgtgtt ccctctggct ccttccagca agtctacctc tggcggaaca 420

gctgctctgg gctgcctggt caaggactac tttccagagc ctgtgaccgt gtcctggaac 480

tctggcgctc tgacatctgg cgtgcacacc tttccagctg tgctgcagtc ctccggcctg 540

tactctctgt cctctgtcgt gaccgtgcct tccagctctc tgggaaccca gacctacatc 600

tgcaatgtga accacaagcc ttccaacacc aaggtggaca agaaggtgga acccaagtcc 660

tgcgacaaga cccacacctg tcctccatgt cctgctccag aagctgctgg cggcccttcc 720

gtgtttctgt tccctccaaa gcctaaggac accctgatga tctctcggac ccctgaagtg 780

acctgcgtgg tggtggatgt gtctcacgag gacccagaag tgaagttcaa ttggtacgtg 840

gacggcgtgg aagtgcacaa cgccaagacc aagcctagag aggaacagta caactccacc 900

tacagagtgg tgtccgtgct gaccgtgctg caccaggatt ggctgaacgg caaagagtac 960

aagtgcaagg tgtccaacaa ggcactgccc gctcctatcg aaaagaccat ctccaaggcc 1020

aagggccagc ctagggaacc ccaggtttac accctgcctc caagccggga agagatgacc 1080

aagaaccagg tgtccctgac ctgcctcgtg aagggcttct acccttccga catcgccgtg 1140

gaatgggaga gcaatggcca gccagagaac aactacaaga caacccctcc tgtgctggac 1200

tccgacggct cattcttcct gtactccaag ctgacagtgg acaagtccag atggcagcag 1260

ggcaacgtgt tctcctgctc cgtgatgcac gaggccctgc acaatcacta cacacagaag 1320

tccctgtctc tgtccccctgg c 1341

<210> 83
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

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

<400> 83

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

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

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

Tyr Trp Ala Thr Thr Arg His Ser 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 Gln His Tyr Ser Thr Pro Tyr
                85                  90                  95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
            100                 105                 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
        115                 120                 125

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

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145                 150                 155                 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
                165                 170                 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
```

180 185 190

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

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 84
<211> 642
<212> DNA
<213> 人工序列

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

<400> 84
gacatccaga tgacccagtc tccaaagtct ctgtccgcct ccgtgggcga cagagtgacc 60

atcacctgta gagcctctca ggacgtgacc accgctctgg cttggtatca gcagaagcct 120

ggccagtctc ctaagctgct gatctactgg gccaccacca gacactctgg cgtgccctct 180

agattctccg gctctggctc tggcaccgac tttaccctga caatctccag cctgcagcct 240

gaggacttcg ccacctacta ctgccagcag cactacagca ccccttacac ctttggccag 300

ggcaccaagc tggaaatcaa gcggacagtg gccgctcctt ccgtgttcat cttcccacct 360

tccgacgagc agctgaagtc cggcacagct tctgtcgtgt gcctgctgaa caacttctac 420

cctcgggaag ccaaggtgca gtggaaggtg gacaatgccc tgcagtccgg caactcccaa 480

gagtctgtga ccgagcagga ctccaaggac agcacctaca gcctgtcctc cacactgacc 540

ctgtccaagg ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaagtgac ccatcagggc 600

ctgtctagcc ctgtgaccaa gtctttcaac cggggcgagt gt 642

<210> 85
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<221> source
<223> /註釋=「人工序列之描述：合成引子」

<400> 85
aagcagggca gacattgcga t 21

<210> 86
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /註釋=「人工序列之描述：合成引子」

<400> 86
caggatgtgg ctctaggcta t 21

<210> 87
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /註釋=「人工序列之描述：合成引子」

<400> 87
acccacactg tgcccatcta 20

<210> 88
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /註釋=「人工序列之描述：合成引子」

<400> 88
cacgctcggt caggatcttc 20

<210> 89
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列

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

<400> 89
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 Phe Asn Ile Glu Asp Tyr
20 25 30

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

Gly Arg Ile Asp Pro Glu Asp Gly Glu Thr Thr Tyr Ser Pro Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Ile Pro Asp Thr Ser Ala Asn Thr Ala 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 Ser Ile Tyr Leu Asp Pro Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 90
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列

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

<400> 90
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

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

Tyr Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Thr Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

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

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asn Thr Ser Ile Ser Thr Ala 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 Ser Ile Tyr Leu Asp Pro Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 91
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列

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

<400> 91
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

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

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

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

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

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

Ala Arg Ser Ile Tyr Leu Asp Pro Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 92
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列

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

<400> 92
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

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

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

Gly Ile Ile Asp Pro Glu Asp Gly Glu Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Asn Thr Ala 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 Ser Ile Tyr Leu Asp Pro Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 93
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

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

<400> 93
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Lys Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

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

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

Tyr Trp Ala Thr Thr Arg His Ser 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 Gln His Tyr Ser Thr Pro Tyr
85 90 95

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

<210> 94
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

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

<400> 94
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Lys Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

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

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

Tyr Trp Ala Thr Ser Leu Gln Ser 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 Gln His Tyr Ser Thr Pro Tyr
85 90 95

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

<210> 95
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

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

<400> 95

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

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

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

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

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

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

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

<210> 96
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

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

<400> 96
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Lys Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

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

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

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

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ala
65 70 75 80

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

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

<210> 97
<211> 808
<212> PRT
<213> 人工序列

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

<400> 97
Met Pro Val Ala Glu Ala Pro Gln Val Ala Gly Gly Gln Gly Asp Gly
1 5 10 15

Gly Asp Gly Glu Glu Ala Glu Pro Glu Gly Met Phe Lys Ala Cys Glu
20 25 30

Asp Ser Lys Arg Lys Ala Arg Gly Tyr Leu Arg Leu Val Pro Leu Phe
35 40 45

Val Leu Leu Ala Leu Leu Val Leu Ala Ser Ala Gly Val Leu Leu Trp
50 55 60

Tyr Phe Leu Gly Tyr Lys Ala Glu Val Met Val Ser Gln Val Tyr Ser
65 70 75 80

Gly Ser Leu Arg Val Leu Asn Arg His Phe Ser Gln Asp Leu Thr Arg
85 90 95

Arg Glu Ser Ser Ala Phe Arg Ser Glu Thr Ala Lys Ala Gln Lys Met
100 105 110

Leu Lys Glu Leu Ile Thr Ser Thr Arg Leu Gly Thr Tyr Tyr Asn Ser
115 120 125

Ser Ser Val Tyr Ser Phe Gly Glu Gly Pro Leu Thr Cys Phe Phe Trp
130 135 140

Phe Ile Leu Gln Ile Pro Glu His Arg Arg Leu Met Leu Ser Pro Glu
145 150 155 160

Val Val Gln Ala Leu Leu Val Glu Glu Leu Leu Ser Thr Val Asn Ser
165 170 175

Ser Ala Ala Val Pro Tyr Arg Ala Glu Tyr Glu Val Asp Pro Glu Gly
180 185 190

Leu Val Ile Leu Glu Ala Ser Val Lys Asp Ile Ala Ala Leu Asn Ser
195 200 205

Thr Leu Gly Cys Tyr Arg Tyr Ser Tyr Val Gly Gln Gly Gln Val Leu
210 215 220

Arg Leu Lys Gly Pro Asp His Leu Ala Ser Ser Cys Leu Trp His Leu
225 230 235 240

Gln Gly Pro Lys Asp Leu Met Leu Lys Leu Arg Leu Glu Trp Thr Leu
245 250 255

Ala Glu Cys Arg Asp Arg Leu Ala Met Tyr Asp Val Ala Gly Pro Leu
260 265 270

Glu Lys Arg Leu Ile Thr Ser Val Tyr Gly Cys Ser Arg Gln Glu Pro
275 280 285

Val Val Glu Val Leu Ala Ser Gly Ala Ile Met Ala Val Val Trp Lys
290 295 300

```
Lys Gly Leu His Ser Tyr Tyr Asp Pro Phe Val Leu Ser Val Gln Pro
305                 310                 315                 320

Val Val Phe Gln Ala Cys Glu Val Asn Leu Thr Leu Asp Asn Arg Leu
                325                 330                 335

Asp Ser Gln Gly Val Leu Ser Thr Pro Tyr Phe Pro Ser Tyr Tyr Ser
            340                 345                 350

Pro Gln Thr His Cys Ser Trp His Leu Thr Val Pro Ser Leu Asp Tyr
        355                 360                 365

Gly Leu Ala Leu Trp Phe Asp Ala Tyr Ala Leu Arg Arg Gln Lys Tyr
    370                 375                 380

Asp Leu Pro Cys Thr Gln Gly Gln Trp Thr Ile Gln Asn Arg Arg Leu
385                 390                 395                 400

Cys Gly Leu Arg Ile Leu Gln Pro Tyr Ala Glu Arg Ile Pro Val Val
                405                 410                 415

Ala Thr Ala Gly Ile Thr Ile Asn Phe Thr Ser Gln Ile Ser Leu Thr
            420                 425                 430

Gly Pro Gly Val Arg Val His Tyr Gly Leu Tyr Asn Gln Ser Asp Pro
        435                 440                 445

Cys Pro Gly Glu Phe Leu Cys Ser Val Asn Gly Leu Cys Val Pro Ala
    450                 455                 460

Cys Asp Gly Val Lys Asp Cys Pro Asn Gly Leu Asp Glu Arg Asn Cys
465                 470                 475                 480

Val Cys Arg Ala Thr Phe Gln Cys Lys Glu Asp Ser Thr Cys Ile Ser
                485                 490                 495
```

Leu Pro Lys Val Cys Asp Gly Gln Pro Asp Cys Leu Asn Gly Ser Asp
500 505 510

Glu Glu Gln Cys Gln Glu Gly Val Pro Cys Gly Thr Phe Thr Phe Gln
515 520 525

Cys Glu Asp Arg Ser Cys Val Lys Lys Pro Asn Pro Gln Cys Asp Gly
530 535 540

Arg Pro Asp Cys Arg Asp Gly Ser Asp Glu Glu His Cys Asp Cys Gly
545 550 555 560

Leu Gln Gly Pro Ser Ser Arg Ile Val Gly Gly Ala Val Ser Ser Glu
565 570 575

Gly Glu Trp Pro Trp Gln Ala Ser Leu Gln Val Arg Gly Arg His Ile
580 585 590

Cys Gly Gly Ala Leu Ile Ala Asp Arg Trp Val Ile Thr Ala Ala His
595 600 605

Cys Phe Gln Glu Asp Ser Met Ala Ser Thr Val Leu Trp Thr Val Phe
610 615 620

Leu Gly Lys Val Trp Gln Asn Ser Arg Trp Pro Gly Glu Val Ser Phe
625 630 635 640

Lys Val Ser Arg Leu Leu Leu His Pro Tyr His Glu Glu Asp Ser His
645 650 655

Asp Tyr Asp Val Ala Leu Leu Gln Leu Asp His Pro Val Val Arg Ser
660 665 670

Ala Ala Val Arg Pro Val Cys Leu Pro Ala Arg Ser His Phe Phe Glu
675 680 685

Pro Gly Leu His Cys Trp Ile Thr Gly Trp Gly Ala Leu Arg Glu Gly
690 695 700

Gly Pro Ile Ser Asn Ala Leu Gln Lys Val Asp Val Gln Leu Ile Pro
705 710 715 720

Gln Asp Leu Cys Ser Glu Val Tyr Arg Tyr Gln Val Thr Pro Arg Met
725 730 735

Leu Cys Ala Gly Tyr Arg Lys Gly Lys Lys Asp Ala Cys Gln Gly Asp
740 745 750

Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Lys Ala Leu Ser Gly Arg Trp Phe Leu
755 760 765

Ala Gly Leu Val Ser Trp Gly Leu Gly Cys Gly Arg Pro Asn Tyr Phe
770 775 780

Gly Val Tyr Thr Arg Ile Thr Gly Val Ile Ser Trp Ile Gln Gln Val
785 790 795 800

Val Thr His His His His His His
805

<210> 98
<211> 817
<212> PRT
<213> 人工序列

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

<400> 98
Met Pro Arg Cys Phe Gln Leu Pro Cys Ser Thr Arg Met Pro Thr Thr
1 5 10 15

Glu Val Pro Gln Ala Ala Asp Gly Gln Gly Asp Ala Gly Asp Gly Glu
20 25 30

Glu Ala Ala Glu Pro Glu Gly Lys Phe Lys Pro Pro Lys Asn Thr Lys
35 40 45

```
Arg Lys Asn Arg Asp Tyr Val Arg Phe Thr Pro Leu Leu Leu Val Leu
    50                  55                  60

Ala Ala Leu Val Ser Ala Gly Val Met Leu Trp Tyr Phe Leu Gly Tyr
65                  70                  75                  80

Lys Ala Glu Val Thr Val Ser Gln Val Tyr Ser Gly Ser Leu Arg Val
                85                  90                  95

Leu Asn Arg His Phe Ser Gln Asp Leu Gly Arg Arg Glu Ser Ile Ala
            100                 105                 110

Phe Arg Ser Glu Ser Ala Lys Ala Gln Lys Met Leu Gln Glu Leu Val
        115                 120                 125

Ala Ser Thr Arg Leu Gly Thr Tyr Tyr Asn Ser Ser Ser Val Tyr Ser
    130                 135                 140

Phe Gly Glu Gly Pro Leu Thr Cys Phe Phe Trp Phe Ile Leu Asp Ile
145                 150                 155                 160

Pro Glu Tyr Gln Arg Leu Thr Leu Ser Pro Glu Val Val Arg Glu Leu
                165                 170                 175

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

Thr Glu Tyr Glu Val Asp Pro Glu Gly Leu Val Ile Leu Glu Ala Ser
        195                 200                 205

Val Asn Asp Ile Val Val Leu Asn Ser Thr Leu Gly Cys Tyr Arg Tyr
    210                 215                 220

Ser Tyr Val Asn Pro Gly Gln Val Leu Pro Leu Lys Gly Pro Asp Gln
225                 230                 235                 240
```

Gln Thr Thr Ser Cys Leu Trp His Leu Gln Gly Pro Glu Asp Leu Met
245 250 255

Ile Lys Val Arg Leu Glu Trp Thr Arg Val Asp Cys Arg Asp Arg Val
260 265 270

Ala Met Tyr Asp Ala Ala Gly Pro Leu Glu Lys Arg Leu Ile Thr Ser
275 280 285

Val Tyr Gly Cys Ser Arg Gln Glu Pro Val Met Glu Val Leu Ala Ser
290 295 300

Gly Ser Val Met Ala Val Val Trp Lys Lys Gly Met His Ser Tyr Tyr
305 310 315 320

Asp Pro Phe Leu Leu Ser Val Lys Ser Val Ala Phe Gln Asp Cys Gln
325 330 335

Val Asn Leu Thr Leu Glu Gly Arg Leu Asp Thr Gln Gly Phe Leu Arg
340 345 350

Thr Pro Tyr Tyr Pro Ser Tyr Tyr Ser Pro Ser Thr His Cys Ser Trp
355 360 365

His Leu Thr Val Pro Ser Leu Asp Tyr Gly Leu Ala Leu Trp Phe Asp
370 375 380

Ala Tyr Ala Leu Arg Arg Gln Lys Tyr Asn Arg Leu Cys Thr Gln Gly
385 390 395 400

Gln Trp Met Ile Gln Asn Arg Arg Leu Cys Gly Phe Arg Thr Leu Gln
405 410 415

Pro Tyr Ala Glu Arg Ile Pro Met Val Ala Ser Asp Gly Val Thr Ile
420 425 430

Asn Phe Thr Ser Gln Ile Ser Leu Thr Gly Pro Gly Val Gln Val Tyr
435 440 445

Tyr Ser Leu Tyr Asn Gln Ser Asp Pro Cys Pro Gly Glu Phe Leu Cys
450 455 460

Ser Val Asn Gly Leu Cys Val Pro Ala Cys Asp Gly Ile Lys Asp Cys
465 470 475 480

Pro Asn Gly Leu Asp Glu Arg Asn Cys Val Cys Arg Ala Met Phe Gln
485 490 495

Cys Gln Glu Asp Ser Thr Cys Ile Ser Leu Pro Arg Val Cys Asp Arg
500 505 510

Gln Pro Asp Cys Leu Asn Gly Ser Asp Glu Glu Gln Cys Gln Glu Gly
515 520 525

Val Pro Cys Gly Thr Phe Thr Phe Gln Cys Glu Asp Arg Ser Cys Val
530 535 540

Lys Lys Pro Asn Pro Glu Cys Asp Gly Gln Ser Asp Cys Arg Asp Gly
545 550 555 560

Ser Asp Glu Gln His Cys Asp Cys Gly Leu Gln Gly Leu Ser Ser Arg
565 570 575

Ile Val Gly Gly Thr Val Ser Ser Glu Gly Glu Trp Pro Trp Gln Ala
580 585 590

Ser Leu Gln Ile Arg Gly Arg His Ile Cys Gly Gly Ala Leu Ile Ala
595 600 605

Asp Arg Trp Val Ile Thr Ala Ala His Cys Phe Gln Glu Asp Ser Met
610 615 620

Ala Ser Pro Lys Leu Trp Thr Val Phe Leu Gly Lys Met Arg Gln Asn
625 630 635 640

Ser Arg Trp Pro Gly Glu Val Ser Phe Lys Val Ser Arg Leu Phe Leu
645 650 655

His Pro Tyr His Glu Glu Asp Ser His Asp Tyr Asp Val Ala Leu Leu
660 665 670

Gln Leu Asp His Pro Val Val Tyr Ser Ala Thr Val Arg Pro Val Cys
675 680 685

Leu Pro Ala Arg Ser His Phe Phe Glu Pro Gly Gln His Cys Trp Ile
690 695 700

Thr Gly Trp Gly Ala Gln Arg Glu Gly Gly Pro Val Ser Asn Thr Leu
705 710 715 720

Gln Lys Val Asp Val Gln Leu Val Pro Gln Asp Leu Cys Ser Glu Ala
725 730 735

Tyr Arg Tyr Gln Val Ser Pro Arg Met Leu Cys Ala Gly Tyr Arg Lys
740 745 750

Gly Lys Lys Asp Ala Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys
755 760 765

Arg Glu Pro Ser Gly Arg Trp Phe Leu Ala Gly Leu Val Ser Trp Gly
770 775 780

Leu Gly Cys Gly Arg Pro Asn Phe Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Thr
785 790 795 800

Arg Val Ile Asn Trp Ile Gln Gln Val Leu Thr His His His His His
805 810 815

His

<210> 99
<211> 806

<212> PRT
<213> 人工序列

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

<400> 99

```
Met Pro Val Ala Lys Ala Pro Gln Val Ala Gly Gly Gln Gly Asp Gly
1               5                  10                  15

Gly Asp Gly Glu Glu Ala Glu Pro Glu Gly Met Phe Glu Ala Cys Glu
            20                  25                  30

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

Leu Thr Leu Val Val Leu Thr Ser Val Gly Val Leu Leu Trp Tyr Phe
    50                  55                  60

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

Leu Arg Val Leu Asn Arg His Phe Ser Gln Asp Leu Thr Arg Arg Glu
                85                  90                  95

Ser Ser Ala Phe Arg Ser Glu Thr Ala Lys Ala Gln Lys Met Leu Lys
            100                 105                 110

Glu Leu Ile Ala Ser Thr Arg Leu Gly Thr Tyr Tyr Asn Ser Ser Ser
        115                 120                 125

Val Tyr Ser Phe Gly Glu Gly Pro Leu Thr Cys Phe Phe Trp Phe Ile
    130                 135                 140

Leu Gln Ile Pro Glu His Arg Arg Leu Met Leu Ser Pro Glu Val Val
145                 150                 155                 160

Gln Ala Leu Leu Val Glu Glu Leu Leu Ser Thr Val Asn Ser Ser Ala
                165                 170                 175
```

Ala Val Pro Tyr Arg Ala Glu Tyr Glu Val Asp Pro Glu Gly Leu Val
180 185 190

Ile Leu Glu Ala Ser Val Lys Asp Ile Ala Ala Leu Asn Ser Thr Leu
195 200 205

Gly Cys Tyr Arg Tyr Ser Tyr Val Gly Gln Gly Gln Val Leu Arg Leu
210 215 220

Lys Gly Pro Asp His Leu Ala Ser Ser Cys Leu Trp His Leu Gln Gly
225 230 235 240

Pro Glu Asp Leu Met Leu Lys Leu Arg Leu Glu Trp Thr Leu Ala Glu
245 250 255

Cys Arg Asp Arg Leu Ala Met Tyr Asp Val Ala Gly Pro Leu Glu Lys
260 265 270

Arg Leu Ile Thr Ser Val Tyr Gly Cys Ser Arg Gln Glu Pro Val Val
275 280 285

Glu Val Leu Ala Ser Gly Ala Ile Met Ala Val Val Trp Lys Lys Gly
290 295 300

Leu His Ser Tyr Tyr Asp Pro Phe Met Leu Ser Val Gln Ser Val Val
305 310 315 320

Phe Gln Ala Cys Glu Val Asn Leu Thr Leu Asp Asp Arg Leu Asp Ser
325 330 335

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

Thr His Cys Ser Trp His Leu Thr Val Pro Ser Leu Asp Tyr Gly Leu
355 360 365

Ala Leu Trp Phe Asp Ala Tyr Ala Leu Arg Arg Gln Lys Tyr Asp Leu
370 375 380

Pro Cys Thr Gln Gly Gln Trp Thr Ile Gln Asn Arg Arg Leu Cys Gly
385 390 395 400

Leu Arg Ile Leu Gln Pro Tyr Ala Glu Arg Ile Pro Val Val Ala Thr
405 410 415

Ala Gly Ile Thr Ile Asn Phe Thr Ser Gln Ile Ser Leu Thr Gly Pro
420 425 430

Gly Val Arg Val His Tyr Gly Leu Tyr Asn Gln Ser Asp Pro Cys Pro
435 440 445

Gly Glu Phe Leu Cys Ser Val Asn Gly Leu Cys Val Pro Ala Cys Asp
450 455 460

Gly Val Lys Asp Cys Pro Asn Gly Leu Asp Glu Arg Asn Cys Val Cys
465 470 475 480

Arg Ala Thr Phe Gln Cys Gln Glu Asp Ser Thr Cys Ile Ser Leu Leu
485 490 495

Lys Val Cys Asp Gly Gln Pro Asp Cys Leu Asn Gly Ser Asp Glu Glu
500 505 510

Arg Cys Gln Glu Gly Val Pro Cys Gly Thr Phe Thr Phe Gln Cys Glu
515 520 525

Asp Gln Ser Cys Val Lys Lys Pro Asn Pro Gln Cys Asp Gly Arg Pro
530 535 540

Asp Cys Arg Asp Gly Ser Asp Glu Gln His Cys Asp Cys Gly Leu Gln
545 550 555 560

Gly Pro Ser Ser Arg Ile Val Gly Gly Ala Val Ser Ser Glu Gly Glu
565 570 575

Trp Pro Trp Gln Ala Ser Leu Gln Val Arg Gly Arg His Ile Cys Gly
580 585 590

Gly Ala Leu Ile Ala Asp Arg Trp Val Ile Thr Ala Ala His Cys Phe
595 600 605

Gln Glu Asp Ser Met Ala Ser Pro Ala Leu Trp Thr Val Phe Leu Gly
610 615 620

Lys Val Trp Gln Asn Ser Arg Trp Pro Gly Glu Val Ser Phe Lys Val
625 630 635 640

Ser Arg Leu Leu Leu His Pro Tyr His Glu Glu Asp Ser His Asp Tyr
645 650 655

Asp Val Ala Leu Leu Gln Leu Asp His Pro Val Val Arg Ser Ala Ala
660 665 670

Val Arg Pro Val Cys Leu Pro Ala Arg Ser His Phe Phe Glu Pro Gly
675 680 685

Leu His Cys Trp Ile Thr Gly Trp Gly Ala Leu Arg Glu Gly Gly Pro
690 695 700

Thr Ser Asn Ala Leu Gln Lys Val Asp Val Gln Leu Ile Pro Gln Asp
705 710 715 720

Leu Cys Ser Glu Ala Tyr Arg Tyr Gln Val Thr Pro Arg Met Leu Cys
725 730 735

Ala Gly Tyr Arg Lys Gly Lys Lys Asp Ala Cys Gln Gly Asp Ser Gly
740 745 750

Gly Pro Leu Val Cys Lys Ala Leu Ser Gly Arg Trp Phe Leu Ala Gly
755 760 765

Leu Val Ser Trp Gly Leu Gly Cys Gly Arg Pro Asn Tyr Phe Gly Val
770 775 780

Tyr Thr Arg Ile Thr Gly Val Ile Gly Trp Ile Gln Gln Val Val Thr
785 790 795 800

His His His His His His
805

<210> 100
<211> 860
<212> PRT
<213> 人工序列

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

<400> 100
Met Gly Ser Asp Arg Ala Arg Lys Gly Gly Gly Gly Pro Lys Asp Phe
1 5 10 15

Gly Ala Gly Leu Lys Tyr Asn Ser Arg His Glu Lys Val Asn Gly Leu
20 25 30

Glu Glu Gly Val Glu Phe Leu Pro Val Asn Asn Val Lys Lys Val Glu
35 40 45

Lys His Gly Pro Gly Arg Trp Val Val Leu Ala Ala Val Leu Ile Gly
50 55 60

Leu Leu Leu Val Leu Leu Gly Ile Gly Phe Leu Val Trp His Leu Gln
65 70 75 80

Tyr Arg Asp Val Arg Val Gln Lys Val Phe Asn Gly Tyr Met Arg Ile
85 90 95

Thr Asn Glu Asn Phe Val Asp Ala Tyr Glu Asn Ser Asn Ser Thr Glu
100 105 110

Phe Val Ser Leu Ala Ser Lys Val Lys Asp Ala Leu Lys Leu Leu Tyr
115 120 125

Ser Gly Val Pro Phe Leu Gly Pro Tyr His Lys Glu Ser Ala Val Thr
130 135 140

Ala Phe Ser Glu Gly Ser Val Ile Ala Tyr Tyr Trp Ser Glu Phe Ser
145 150 155 160

Ile Pro Gln His Leu Val Glu Glu Ala Glu Arg Val Met Ala Glu Glu
165 170 175

Arg Val Val Met Leu Pro Pro Arg Ala Arg Ser Leu Lys Ser Phe Val
180 185 190

Val Thr Ser Val Val Ala Phe Pro Thr Asp Ser Lys Thr Val Gln Arg
195 200 205

Thr Gln Asp Asn Ser Cys Ser Phe Gly Leu His Ala Arg Gly Val Glu
210 215 220

Leu Met Arg Phe Thr Thr Pro Gly Phe Pro Asp Ser Pro Tyr Pro Ala
225 230 235 240

His Ala Arg Cys Gln Trp Ala Leu Arg Gly Asp Ala Asp Ser Val Leu
245 250 255

Ser Leu Thr Phe Arg Ser Phe Asp Leu Ala Ser Cys Asp Glu Arg Gly
260 265 270

Ser Asp Leu Val Thr Val Tyr Asn Thr Leu Ser Pro Met Glu Pro His
275 280 285

Ala Leu Val Gln Leu Cys Gly Thr Tyr Pro Pro Ser Tyr Asn Leu Thr
290 295 300

Phe His Ser Ser Gln Asn Val Leu Leu Ile Thr Leu Ile Thr Asn Thr
305 310 315 320

Glu Arg Arg His Pro Gly Phe Glu Ala Thr Phe Phe Gln Leu Pro Arg
325 330 335

Met Ser Ser Cys Gly Gly Arg Leu Arg Lys Ala Gln Gly Thr Phe Asn
340 345 350

Ser Pro Tyr Tyr Pro Gly His Tyr Pro Pro Asn Ile Asp Cys Thr Trp
355 360 365

Asn Ile Glu Val Pro Asn Asn Gln His Val Lys Val Arg Phe Lys Phe
370 375 380

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

Tyr Val Glu Ile Asn Gly Glu Lys Tyr Cys Gly Glu Arg Ser Gln Phe
405 410 415

Val Val Thr Ser Asn Ser Asn Lys Ile Thr Val Arg Phe His Ser Asp
420 425 430

Gln Ser Tyr Thr Asp Thr Gly Phe Leu Ala Glu Tyr Leu Ser Tyr Asp
435 440 445

Ser Ser Asp Pro Cys Pro Gly Gln Phe Thr Cys Arg Thr Gly Arg Cys
450 455 460

Ile Arg Lys Glu Leu Arg Cys Asp Gly Trp Ala Asp Cys Thr Asp His
465 470 475 480

Ser Asp Glu Leu Asn Cys Ser Cys Asp Ala Gly His Gln Phe Thr Cys
485 490 495

Lys Asn Lys Phe Cys Lys Pro Leu Phe Trp Val Cys Asp Ser Val Asn
500 505 510

Asp Cys Gly Asp Asn Ser Asp Glu Gln Gly Cys Ser Cys Pro Ala Gln
515 520 525

Thr Phe Arg Cys Ser Asn Gly Lys Cys Leu Ser Lys Ser Gln Gln Cys
530 535 540

Asn Gly Lys Asp Asp Cys Gly Asp Gly Ser Asp Glu Ala Ser Cys Pro
545 550 555 560

Lys Val Asn Val Val Thr Cys Thr Lys His Thr Tyr Arg Cys Leu Asn
565 570 575

Gly Leu Cys Leu Ser Lys Gly Asn Pro Glu Cys Asp Gly Lys Glu Asp
580 585 590

Cys Ser Asp Gly Ser Asp Glu Lys Asp Cys Asp Cys Gly Leu Arg Ser
595 600 605

Phe Thr Arg Gln Ala Arg Val Val Gly Gly Thr Asp Ala Asp Glu Gly
610 615 620

Glu Trp Trp Gln Val Ser Leu His Ala Leu Gly Gln Gly His Ile Cys
625 630 635 640

Gly Ala Ser Leu Ile Ser Pro Asn Trp Leu Val Ser Ala Ala His Cys
645 650 655

Tyr Ile Asp Asp Arg Gly Phe Arg Tyr Ser Asp Pro Thr Gln Trp Thr
660 665 670

Ala Phe Leu Gly Leu His Asp Gln Ser Gln Arg Ser Ala Pro Gly Val
675 680 685

Gln Glu Arg Arg Leu Lys Arg Ile Ile Ser His Pro Phe Phe Asn Asp
690 695 700

Phe Thr Phe Asp Tyr Asp Ile Ala Leu Leu Glu Leu Glu Lys Pro Ala
705 710 715 720

Glu Tyr Ser Ser Met Val Arg Pro Ile Cys Leu Pro Asp Ala Ser His
725 730 735

Val Phe Pro Ala Gly Lys Ala Ile Trp Val Thr Gly Trp Gly His Thr
740 745 750

Gln Tyr Gly Gly Thr Gly Ala Leu Ile Leu Gln Lys Gly Glu Ile Arg
755 760 765

Val Ile Asn Gln Thr Thr Cys Glu Asn Leu Leu Pro Gln Gln Ile Thr
770 775 780

Pro Arg Met Met Cys Val Gly Phe Leu Ser Gly Gly Val Asp Ser Cys
785 790 795 800

Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Ser Ser Val Glu Ala Asp Gly Arg
805 810 815

Ile Phe Gln Ala Gly Val Val Ser Trp Gly Asp Gly Cys Ala Gln Arg
820 825 830

Asn Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Leu Pro Leu Phe Arg Asp Trp Ile
835 840 845

Lys Glu Asn Thr Gly Val His His His His His His
850 855 860

<210> 101
<211> 849
<212> PRT
<213> 人工序列

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

<400> 101
Met Asp Lys Glu Asn Ser Asp Val Ser Ala Ala Pro Ala Asp Leu Lys
1 5 10 15

Ile Ser Asn Ile Ser Val Gln Val Val Ser Ala Gln Lys Lys Leu Pro
20 25 30

Val Arg Arg Pro Pro Leu Pro Gly Arg Arg Leu Pro Leu Pro Gly Arg
35 40 45

Arg Pro Pro Gln Arg Pro Ile Gly Lys Ala Lys Pro Lys Lys Gln Ser
50 55 60

Lys Lys Lys Val Pro Phe Trp Asn Val Gln Asn Lys Ile Ile Leu Phe
65 70 75 80

Thr Val Phe Leu Phe Ile Leu Ala Val Ile Ala Trp Thr Leu Leu Trp
85 90 95

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

Met Phe Arg Ile Thr Asn Ile Glu Phe Leu Pro Glu Tyr Arg Gln Lys
115 120 125

Glu Ser Arg Glu Phe Leu Ser Val Ser Arg Thr Val Gln Gln Val Ile
130 135 140

Asn Leu Val Tyr Thr Thr Ser Ala Phe Ser Lys Phe Tyr Glu Gln Ser
145 150 155 160

Val Val Ala Asp Val Ser Ser Asn Asn Lys Gly Gly Leu Leu Val His
165 170 175

Phe Trp Ile Val Phe Val Met Pro Arg Ala Lys Gly His Ile Phe Cys
180 185 190

Glu Asp Cys Val Ala Ala Ile Leu Lys Asp Ser Ile Gln Thr Ser Ile
195 200 205

Ile Asn Arg Thr Ser Val Gly Ser Leu Gln Gly Leu Ala Val Asp Met
210 215 220

Asp Ser Val Val Leu Asn Ala Gly Leu Arg Ser Asp Tyr Ser Ser Thr
225 230 235 240

Ile Gly Ser Asp Lys Gly Cys Ser Gln Tyr Phe Tyr Ala Glu His Leu
245 250 255

Ser Leu His Tyr Pro Leu Glu Ile Ser Ala Ala Ser Gly Arg Leu Met
260 265 270

Cys His Phe Lys Leu Val Ala Ile Val Gly Tyr Leu Ile Arg Leu Ser
275 280 285

Ile Lys Ser Ile Gln Ile Glu Ala Asp Asn Cys Val Thr Asp Ser Leu
290 295 300

Thr Ile Tyr Asp Ser Leu Leu Pro Ile Arg Ser Ser Ile Leu Tyr Arg
305 310 315 320

Ile Cys Glu Pro Thr Arg Thr Leu Met Ser Phe Val Ser Thr Asn Asn
325 330 335

Leu Met Leu Val Thr Phe Lys Ser Pro His Ile Arg Arg Leu Ser Gly
340 345 350

Ile Arg Ala Tyr Phe Glu Val Ile Pro Glu Gln Lys Cys Glu Asn Thr
355 360 365

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

Tyr Tyr Pro Ser Tyr Tyr Pro Pro Lys Cys Lys Cys Thr Trp Lys Phe
385 390 395 400

Gln Thr Ser Leu Ser Thr Leu Gly Ile Ala Leu Lys Phe Tyr Asn Tyr
405 410 415

Ser Ile Thr Lys Lys Ser Met Lys Gly Cys Glu His Gly Trp Trp Glu
420 425 430

Ile Asn Glu His Met Tyr Cys Gly Ser Tyr Met Asp His Gln Thr Ile
435 440 445

Phe Arg Val Pro Ser Pro Leu Val His Ile Gln Leu Gln Cys Ser Ser
450 455 460

Arg Leu Ser Asp Lys Pro Leu Leu Ala Glu Tyr Gly Ser Tyr Asn Ile
465 470 475 480

Ser Gln Pro Cys Pro Val Gly Ser Phe Arg Cys Ser Ser Gly Leu Cys
485 490 495

Val Pro Gln Ala Gln Arg Cys Asp Gly Val Asn Asp Cys Phe Asp Glu
500 505 510

Ser Asp Glu Leu Phe Cys Val Ser Pro Gln Pro Ala Cys Asn Thr Ser
515 520 525

Ser Phe Arg Gln His Gly Pro Leu Ile Cys Asp Gly Phe Arg Asp Cys
530 535 540

Glu Asn Gly Arg Asp Glu Gln Asn Cys Thr Gln Ser Ile Pro Cys Asn
545 550 555 560

Asn Arg Thr Phe Lys Cys Gly Asn Asp Ile Cys Phe Arg Lys Gln Asn
565 570 575

Ala Lys Cys Asp Gly Thr Val Asp Cys Pro Asp Gly Ser Asp Glu Glu
580 585 590

Gly Cys Thr Cys Ser Arg Ser Ser Ser Ala Leu His Arg Ile Ile Gly
595 600 605

Gly Thr Asp Thr Leu Glu Gly Gly Trp Pro Trp Gln Val Ser Leu His
610 615 620

Phe Val Gly Ser Ala Tyr Cys Gly Ala Ser Val Ile Ser Arg Glu Trp
625 630 635 640

Leu Leu Ser Ala Ala His Cys Phe His Gly Asn Arg Leu Ser Asp Pro
645 650 655

Thr Pro Trp Thr Ala His Leu Gly Met Tyr Val Gln Gly Asn Ala Lys
660 665 670

Phe Val Ser Pro Val Arg Arg Ile Val Val His Glu Tyr Tyr Asn Ser
675 680 685

Gln Thr Phe Asp Tyr Asp Ile Ala Leu Leu Gln Leu Ser Ile Ala Trp
690 695 700

Pro Glu Thr Leu Lys Gln Leu Ile Gln Pro Ile Cys Ile Pro Pro Thr
705 710 715 720

Gly Gln Arg Val Arg Ser Gly Glu Lys Cys Trp Val Thr Gly Trp Gly
725 730 735

Arg Arg His Glu Ala Asp Asn Lys Gly Ser Leu Val Leu Gln Gln Ala
740 745 750

Glu Val Glu Leu Ile Asp Gln Thr Leu Cys Val Ser Thr Tyr Gly Ile
755 760 765

Ile Thr Ser Arg Met Leu Cys Ala Gly Ile Met Ser Gly Lys Arg Asp
770 775 780

Ala Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Ser Cys Arg Arg Lys Ser
785 790 795 800

Asp Gly Lys Trp Ile Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly His Gly Ser
805 810 815

Gly Arg Pro Asn Phe Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Asn Phe Val
820 825 830

Pro Trp Ile His Lys Tyr Val Pro Ser Leu Leu His His His His His
835 840 845

His

<210> 102
<211> 783
<212> PRT
<213> 人工序列

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

<400> 102
Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
1 5 10 15

Leu Pro Gly Ala Arg Gly Ala Asp Ile Gly Tyr Lys Ala Glu Val Met
20 25 30

Val Ser Gln Val Tyr Ser Gly Ser Leu Arg Val Leu Asn Arg His Phe
35 40 45

Ser Gln Asp Leu Thr Arg Arg Glu Ser Ser Ala Phe Arg Ser Glu Thr
50 55 60

Ala Lys Ala Gln Lys Met Leu Lys Glu Leu Ile Thr Ser Thr Arg Leu
65 70 75 80

Gly Thr Tyr Tyr Asn Ser Ser Ser Val Tyr Ser Phe Gly Glu Gly Pro
85 90 95

Leu Thr Cys Phe Phe Trp Phe Ile Leu Gln Ile Pro Glu His Arg Arg
100 105 110

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

Leu Ser Thr Val Asn Ser Ser Ala Ala Val Pro Tyr Arg Ala Glu Tyr
130 135 140

Glu Val Asp Pro Glu Gly Leu Val Ile Leu Glu Ala Ser Val Lys Asp
145 150 155 160

Ile Ala Ala Leu Asn Ser Thr Leu Gly Cys Tyr Arg Tyr Ser Tyr Val
165 170 175

Gly Gln Gly Gln Val Leu Arg Leu Lys Gly Pro Asp His Leu Ala Ser
180 185 190

Ser Cys Leu Trp His Leu Gln Gly Pro Lys Asp Leu Met Leu Lys Leu
195 200 205

Arg Leu Glu Trp Thr Leu Ala Glu Cys Arg Asp Arg Leu Ala Met Tyr
210 215 220

Asp Val Ala Gly Pro Leu Glu Lys Arg Leu Ile Thr Ser Val Tyr Gly
225 230 235 240

Cys Ser Arg Gln Glu Pro Val Val Glu Val Leu Ala Ser Gly Ala Ile
245 250 255

Met Ala Val Val Trp Lys Lys Gly Leu His Ser Tyr Tyr Asp Pro Phe
260 265 270

Val Leu Ser Val Gln Pro Val Val Phe Gln Ala Cys Glu Val Asn Leu
275 280 285

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

```
Phe Pro Ser Tyr Tyr Ser Pro Gln Thr His Cys Ser Trp His Leu Thr
305                 310                 315                 320

Val Pro Ser Leu Asp Tyr Gly Leu Ala Leu Trp Phe Asp Ala Tyr Ala
                325                 330                 335

Leu Arg Arg Gln Lys Tyr Asp Leu Pro Cys Thr Gln Gly Gln Trp Thr
            340                 345                 350

Ile Gln Asn Arg Arg Leu Cys Gly Leu Arg Ile Leu Gln Pro Tyr Ala
        355                 360                 365

Glu Arg Ile Pro Val Val Ala Thr Ala Gly Ile Thr Ile Asn Phe Thr
    370                 375                 380

Ser Gln Ile Ser Leu Thr Gly Pro Gly Val Arg Val His Tyr Gly Leu
385                 390                 395                 400

Tyr Asn Gln Ser Asp Pro Cys Pro Gly Glu Phe Leu Cys Ser Val Asn
                405                 410                 415

Gly Leu Cys Val Pro Ala Cys Asp Gly Val Lys Asp Cys Pro Asn Gly
            420                 425                 430

Leu Asp Glu Arg Asn Cys Val Cys Arg Ala Thr Phe Gln Cys Lys Glu
        435                 440                 445

Asp Ser Thr Cys Ile Ser Leu Pro Lys Val Cys Asp Gly Gln Pro Asp
    450                 455                 460

Cys Leu Asn Gly Ser Asp Glu Glu Gln Cys Gln Glu Gly Val Pro Cys
465                 470                 475                 480

Gly Thr Phe Thr Phe Gln Cys Glu Asp Arg Ser Cys Val Lys Lys Pro
                485                 490                 495

Asn Pro Gln Cys Asp Gly Arg Pro Asp Cys Arg Asp Gly Ser Asp Glu
            500                 505                 510
```

Glu His Cys Asp Cys Gly Leu Gln Gly Pro Ser Ser Arg Ile Val Gly
515 520 525

Gly Ala Val Ser Ser Glu Gly Glu Trp Pro Trp Gln Ala Ser Leu Gln
530 535 540

Val Arg Gly Arg His Ile Cys Gly Gly Ala Leu Ile Ala Asp Arg Trp
545 550 555 560

Val Ile Thr Ala Ala His Cys Phe Gln Glu Asp Ser Met Ala Ser Thr
565 570 575

Val Leu Trp Thr Val Phe Leu Gly Lys Val Trp Gln Asn Ser Arg Trp
580 585 590

Pro Gly Glu Val Ser Phe Lys Val Ser Arg Leu Leu Leu His Pro Tyr
595 600 605

His Glu Glu Asp Ser His Asp Tyr Asp Val Ala Leu Leu Gln Leu Asp
610 615 620

His Pro Val Val Arg Ser Ala Ala Val Arg Pro Val Cys Leu Pro Ala
625 630 635 640

Arg Ser His Phe Phe Glu Pro Gly Leu His Cys Trp Ile Thr Gly Trp
645 650 655

Gly Ala Leu Arg Glu Gly Gly Pro Ile Ser Asn Ala Leu Gln Lys Val
660 665 670

Asp Val Gln Leu Ile Pro Gln Asp Leu Cys Ser Glu Val Tyr Arg Tyr
675 680 685

Gln Val Thr Pro Arg Met Leu Cys Ala Gly Tyr Arg Lys Gly Lys Lys
690 695 700

Asp Ala Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Lys Ala Leu
705 710 715 720

Ser Gly Arg Trp Phe Leu Ala Gly Leu Val Ser Trp Gly Leu Gly Cys
725 730 735

Gly Arg Pro Asn Tyr Phe Gly Val Tyr Thr Arg Ile Thr Gly Val Ile
740 745 750

Ser Trp Ile Gln Gln Val Val Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
755 760 765

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys
770 775 780

【發明申請專利範圍】

【請求項1】

一種抗TMPRSS6抗體，其能夠結合表現人類TMPRSS6之細胞表面上之人類TMPRSS6且調控參與鐵代謝之至少一種組分之活性。

【請求項2】

如請求項1之抗TMPRSS6抗體，其中抗TMPRSS6抗體能夠調控參與調節鐵調素表現之至少一種組分的活性。

【請求項3】

如請求項2之抗TMPRSS6抗體，其中該抗TMPRSS6抗體能夠進行以下中之至少一者：實質上抑制TMPRSS6對鐵調素表現之抑止；增加鐵調素表現；增加鐵調素啟動子之活性；及實質上抑制TMPRSS6對BMP/SMAD路徑誘導之鐵調素表現的抑止。

【請求項4】

如請求項1之抗TMPRSS6抗體，其中該抗體展示與至少一種非人類TMPRSS6之交叉反應性。

【請求項5】

如請求項4之抗TMPRSS6抗體，其中該非人類TMPRSS6為小鼠TMPRSS6或食蟹獼猴TMPRSS6中之至少一者。

【請求項6】

如請求項1之抗TMPRSS6抗體，其中該抗TMPRSS6抗體特異性結合至人類TMPRSS6 (間質蛋白酶-2)且未展示與選自人類間質蛋白酶-1 (ST14)或人類間質蛋白酶-3 (TMPRSS7)中之至少一者的間質蛋白酶同源物之可偵測結合。

【請求項7】

如請求項1之抗TMPRSS6抗體，其中該抗體為單株抗體。

【請求項8】

如請求項1之抗TMPRSS6抗體，其中該抗體為嵌合抗體。

【請求項9】

如請求項1之抗TMPRSS6抗體，其中該抗體為人類化抗體。

【請求項10】

如請求項1之抗TMPRSS6抗體，其中該抗體為抗原結合片段。

【請求項11】

如請求項1之抗TMPRSS6抗體，其包含至少一種具有選自以下之胺基酸序列的多肽：SEQ ID NO: 1；SEQ ID NO: 2；SEQ ID NO: 3；SEQ ID NO: 4；SEQ ID NO: 6；SEQ ID NO: 7；SEQ ID NO: 8；SEQ ID NO: 9；SEQ ID NO: 11；SEQ ID NO: 12；SEQ ID NO: 13；SEQ ID NO: 14；SEQ ID NO: 16；SEQ ID NO: 17；SEQ ID NO: 18；SEQ ID NO: 19；SEQ ID NO: 21；SEQ ID NO: 22；SEQ ID NO: 23；SEQ ID NO: 24；SEQ ID NO: 26；SEQ ID NO: 27；SEQ ID NO: 28；SEQ ID NO: 29；SEQ ID NO: 31；SEQ ID NO: 32；SEQ ID NO: 33；SEQ ID NO: 34；SEQ ID NO: 36；SEQ ID NO: 37；SEQ ID NO: 38；SEQ ID NO: 39；SEQ ID NO: 41；SEQ ID NO: 42；SEQ ID NO: 43；SEQ ID NO: 44；SEQ ID NO: 46；SEQ ID NO: 47；SEQ ID NO: 48；SEQ ID NO: 49；SEQ ID NO: 51；SEQ ID NO: 52；SEQ ID NO: 53；SEQ ID NO: 54；SEQ ID NO: 56；SEQ ID NO: 57；SEQ ID NO: 58；SEQ ID NO: 59；SEQ NO: 61；SEQ ID NO: 63；SEQ ID NO: 65；SEQ ID NO: 67；SEQ

ID NO: 69；SEQ ID NO: 71；SEQ ID NO: 73；SEQ ID NO: 75；SEQ ID NO: 77；SEQ ID NO: 79；SEQ ID NO: 81；或SEQ ID NO: 83。

【請求項12】

如請求項1之抗TMPRSS6抗體，其中該抗體包含：(a)重鏈(HC)多肽，其中可變區包含選自以下之胺基酸序列：SEQ ID NO: 1之胺基酸序列、與SEQ ID NO: 1實質上一致之序列、SEQ ID NO: 31之胺基酸序列及與SEQ ID NO: 31實質上一致之序列；及(b)輕鏈(LC)多肽，其中可變區包含選自以下之胺基酸序列：SEQ ID NO: 6之胺基酸序列、與SEQ ID NO: 6實質上一致之序列、SEQ ID NO: 36之胺基酸序列及與SEQ ID NO: 36之胺基酸序列實質上一致的序列。

【請求項13】

如請求項12之抗體，其中該抗體包含：(a)包含以下中之至少一者的重鏈：SEQ ID NO: 2之重鏈互補決定區1 (HC CDR1)、SEQ ID NO: 32之HC CDR1、SEQ ID NO: 3之重鏈互補決定區2 (HC CDR2)、SEQ ID NO: 33之HC CDR2、SEQ ID NO: 4之重鏈互補決定區3 (HC CDR3)及SEQ ID NO: 34之HC CDR3；及(b)包含以下中之至少一者的輕鏈：SEQ ID NO: 7之輕鏈互補決定區1 (LC CDR1)、SEQ ID NO: 37之LC CDR1、SEQ ID NO: 8之輕鏈互補決定區2 (LC CDR2)、SEQ ID NO: 38之LC CDR2、SEQ ID NO: 9之輕鏈互補決定區3 (LC CDR3)及SEQ ID NO: 39之LC CDR3。

【請求項14】

如請求項1之抗TMPRSS6抗體，其中該抗體包含：(a)重鏈(HC)多肽，其中可變區包含選自以下之胺基酸序列：SEQ ID NO: 11之胺基酸序列、與SEQ ID NO: 11實質上一致之序列、SEQ ID NO: 41之胺基酸序列

及與SEQ ID NO: 41實質上一致之序列；及(b)輕鏈(LC)多肽，其中可變區包含選自以下之胺基酸序列：SEQ ID NO: 16之胺基酸序列、與SEQ ID NO: 16實質上一致之序列、SEQ ID NO: 46之胺基酸序列及與SEQ ID NO: 46之胺基酸序列實質上一致的序列。

【請求項15】

如請求項14之抗體，其中該抗體包含：(a)包含以下中之至少一者的重鏈：SEQ ID NO: 12之重鏈互補決定區1 (HC CDR1)、SEQ ID NO: 42之HC CDR1、SEQ ID NO: 13之重鏈互補決定區2 (HC CDR2)、SEQ ID NO: 43之HC CDR2、SEQ ID NO: 14之重鏈互補決定區3 (HC CDR3)及SEQ ID NO: 44之HC CDR3；及(b)包含以下中之至少一者的輕鏈：SEQ ID NO: 17之輕鏈互補決定區1 (LC CDR1)、SEQ ID NO: 47之LC CDR1、SEQ ID NO: 18之輕鏈互補決定區2 (LC CDR2)、SEQ ID NO: 48之LC CDR2、SEQ ID NO: 19之輕鏈互補決定區3 (LC CDR3)及SEQ ID NO: 49之LC CDR3。

【請求項16】

如請求項1之抗TMPRSS6抗體，其中該抗體包含：(a)重鏈(HC)多肽，其中可變區包含選自以下之胺基酸序列：SEQ ID NO: 21之胺基酸序列、與SEQ ID NO: 21實質上一致之序列、SEQ ID NO: 51之胺基酸序列及與SEQ ID NO: 51實質上一致之序列；及(b)輕鏈(LC)多肽，其中可變區包含選自以下之胺基酸序列：SEQ ID NO: 26之胺基酸序列、與SEQ ID NO: 26實質上一致之序列、SEQ ID NO: 56之胺基酸序列及與SEQ ID NO: 56之胺基酸序列實質上一致的序列。

【請求項17】

如請求項16之抗TMPRSS6抗體，其中該抗體包含：(a)包含以下中之至少一者的重鏈：SEQ ID NO: 22之重鏈互補決定區1 (HC CDR1)、SEQ ID NO: 52之HC CDR1、SEQ ID NO: 23之重鏈互補決定區2 (HC CDR2)、SEQ ID NO: 53之HC CDR2、SEQ ID NO: 24之重鏈互補決定區3 (HC CDR3)及SEQ ID NO: 54之HC CDR3；及(b)包含以下中之至少一者的輕鏈：SEQ ID NO: 27之輕鏈互補決定區1 (LC CDR1)、SEQ ID NO: 57之LC CDR1、SEQ ID NO: 28之輕鏈互補決定區2 (LC CDR2)、SEQ ID NO: 58之LC CDR2、SEQ ID NO: 29之輕鏈互補決定區3 (LC CDR3)及SEQ ID NO: 59之LC CDR3。

【請求項18】

一種治療鐵代謝病症之方法，其包含向有需要之個體投與有效量的如請求項1之抗TMPRSS6抗體，其中投與有效量之抗TMPRSS6抗體調控參與鐵代謝之組分的活性。

【請求項19】

如請求項18之方法，其中該鐵代謝病症為鐵過載病症。

【請求項20】

如請求項19之方法，其中該鐵過載病症為無效紅血球生成病症。

【請求項21】

如請求項19之方法，其中該鐵過載病症為β-地中海型貧血。

【請求項22】

如請求項18之方法，其中投與有效量之抗TMPRSS6抗體調控參與調節鐵調素表現之至少一種組分的活性。

【請求項23】

如請求項22之方法，其中投與有效量之抗TMPRSS6抗體抑制TMPRSS6對鐵調素表現之抑止。

【請求項24】

如請求項22之方法，其中投與有效量之抗TMPRSS6抗體增加鐵調素表現。

【請求項25】

如請求項22之方法，其中投與有效量之抗TMPRSS6抗體增加鐵調素啟動子之活性。

【請求項26】

如請求項22之方法，其中投與有效量之抗TMPRSS6抗體抑制TMPRSS6對BMP/SMAD路徑誘導之鐵調素表現的抑止。

【請求項27】

如請求項18之方法，其中投與有效量之抗TMPRSS6抗體具有選自以下之至少一種作用：增加血清鐵調素含量、降低血清鐵含量、增加肝臟鐵調素RNA含量、減少肝臟非原血紅素鐵、減少脾腫大、增加紅血球計數(RBC)、增加血容比(HCT)、減少紅血球分佈寬度(RDW)、增加成熟紅血球之產生及增加紅血球生成。

【請求項28】

一種醫藥組合物，其包含如請求項1之抗TMPRSS6抗體及適合之載劑及/或賦形劑。

【請求項29】

一種經分離之核酸分子，其編碼如請求項1之抗TMPRSS6抗體之至少一部分。

【請求項30】

如請求項29之經分離之核酸分子，其包含選自以下之重鏈(HC)核苷酸序列：包含SEQ ID NO: 5之核苷酸序列、包含與SEQ ID NO: 5實質上一致之序列的核苷酸序列、包含SEQ ID NO:15之核苷酸序列、包含與SEQ ID NO: 15實質上一致之序列的核苷酸序列、包含SEQ ID NO: 25之核苷酸序列、包含與SEQ ID NO: 25實質上一致之序列的核苷酸序列、包含SEQ ID NO: 35之核苷酸序列、包含與SEQ ID NO: 35實質上一致之序列的核苷酸序列、包含SEQ ID NO: 45之核苷酸序列、包含與SEQ ID NO: 45實質上一致之序列的核苷酸序列、包含SEQ ID NO: 55之核苷酸序列或包含與SEQ ID NO: 55實質上一致之序列的核苷酸序列。

【請求項31】

如請求項29之經分離之核酸分子，其包含選自以下之輕鏈(LC)核苷酸序列：包含SEQ ID NO: 10之核苷酸序列、包含與SEQ ID NO: 10實質上一致之序列的核苷酸序列、包含SEQ ID NO: 20之核苷酸序列、包含與SEQ ID NO: 20實質上一致之序列的核苷酸序列、包含SEQ ID NO: 30之核苷酸序列、包含與SEQ ID NO: 30實質上一致之序列的核苷酸序列、包含SEQ ID NO: 40之核苷酸序列、包含與SEQ ID NO: 40實質上一致之序列的核苷酸序列、包含SEQ ID NO: 50之核苷酸序列、包含與SEQ ID NO: 50實質上一致之序列的核苷酸序列、包含SEQ ID NO: 60之核苷酸序列或包含與SEQ ID NO: 60實質上一致之序列的核苷酸序列。

【請求項32】

一種載體，其包含如請求項29之核酸分子。

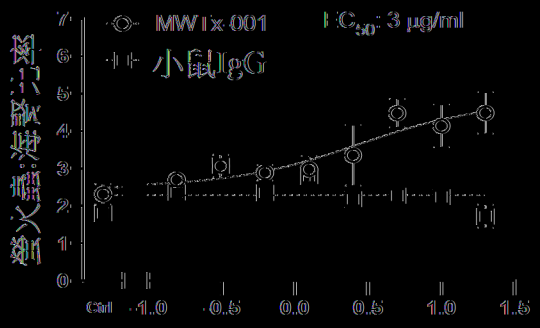
【請求項33】

一種宿主細胞，其包含如請求項32之載體。

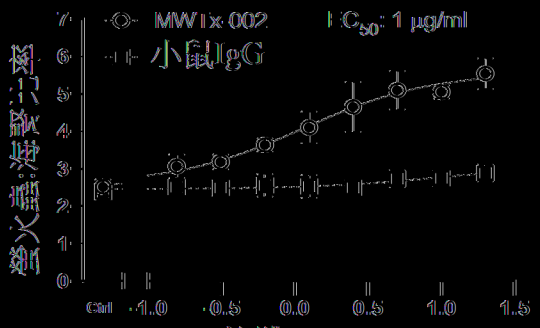
【發明圖式】

【圖1】

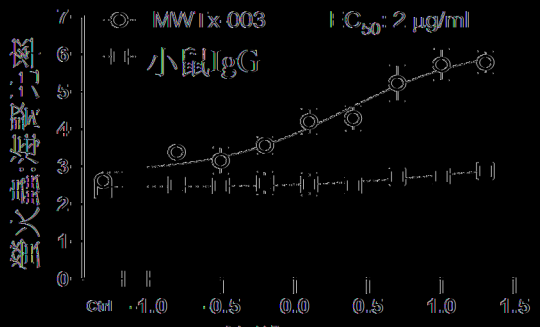
結束觸發計時器TVPRSS的計時。
預置入深反應定影結束
'33高頻沉積結束
'43高壓TVPRSS結合物結束
'03高沉積結束
3高交叉反應沉積結束


MW1x.001
EC_{50}: 3 μg/ml
小鼠IgG
相對螢光強度
Ctrl
-1.0
-0.5
0.0
0.5
1.0
1.5
Log[抗體] (μg/ml)

圖(2A)


MW1x.002
EC_{50}: 1 μg/ml
小鼠IgG
相對螢光強度
Ctrl
-1.0
-0.5
0.0
0.5
1.0
1.5
Log[抗體] (μg/ml)

圖(2B)


MW1x.003
EC_{50}: 2 μg/ml
小鼠IgG
相對螢光強度
Ctrl
-1.0
-0.5
0.0
0.5
1.0
1.5
Log[抗體] (μg/ml)

圖(2C)

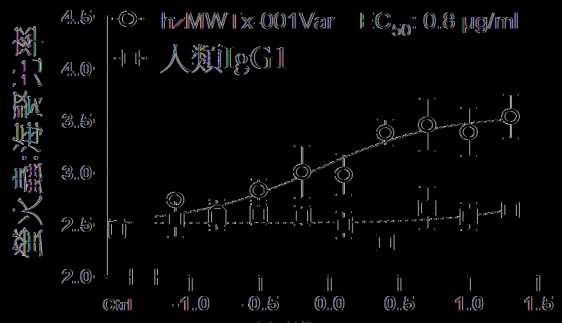

hVMW1x001Var
IC_{50}: 0.8 μg/ml
人類IgG1
阻害率 (%)
4.5
4.0
3.5
3.0
2.5
2.0
Ctrl
-1.0
-0.5
0.0
0.5
1.0
1.5
Log[抗体] (μg/ml)

図2D

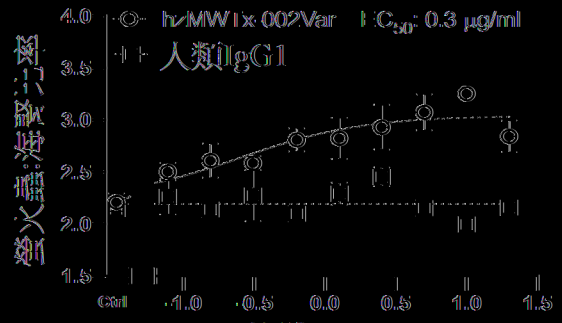

hVMW1x002Var
IC_{50}: 0.3 μg/ml
人類IgG1
阻害率 (%)
4.0
3.5
3.0
2.5
2.0
1.5
Ctrl
-1.0
-0.5
0.0
0.5
1.0
1.5
Log[抗体] (μg/ml)

図2E

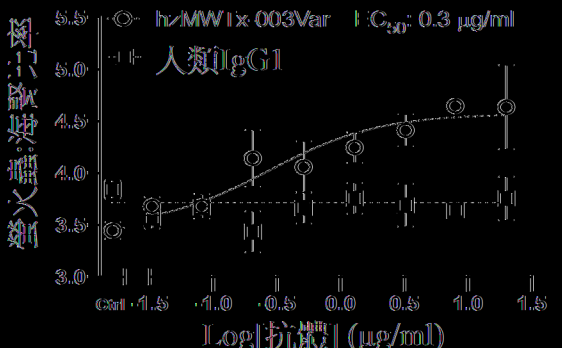

hVMW1x003Var
IC_{50}: 0.3 μg/ml
人類IgG1
阻害率 (%)
5.5
5.0
4.5
4.0
3.5
3.0
Ctrl
-1.5
-1.0
-0.5
0.0
0.5
1.0
1.5
Log[抗体] (μg/ml)

図2F

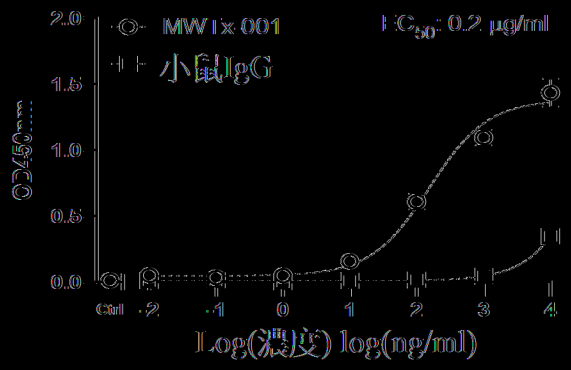

MW1x-001
小鼠IgG
EC50: 0.2 μg/ml
OD450nm
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
Ctrl
-2
-1
0
1
2
3
4
Log(濃度) log(ng/ml)

圖3A

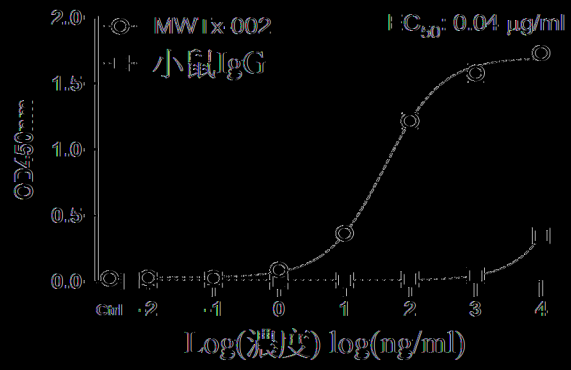

MW1x-002
小鼠IgG
EC50: 0.04 μg/ml
OD450nm
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
Ctrl
-2
-1
0
1
2
3
4
Log(濃度) log(ng/ml)

圖3B

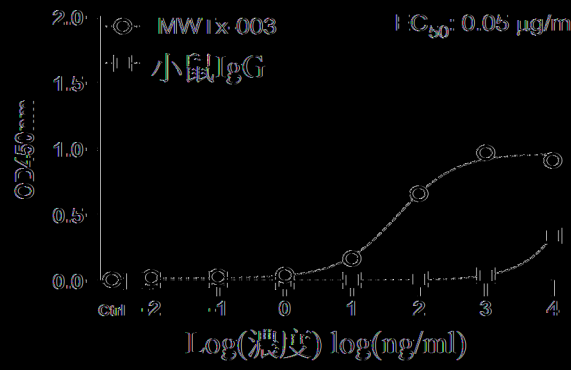

MW1x-003
小鼠IgG
EC50: 0.05 μg/ml
OD450nm
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
Ctrl
-2
-1
0
1
2
3
4
Log(濃度) log(ng/ml)

圖3C

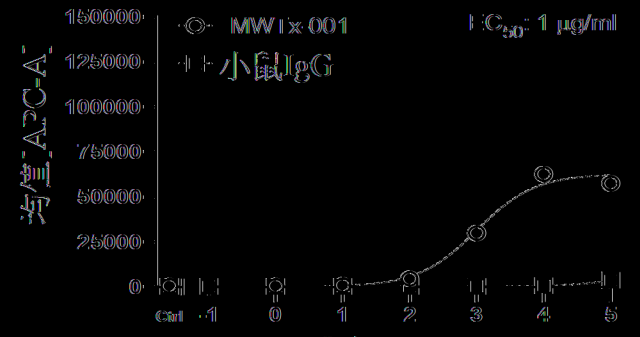

MW1x-001
小鼠IgG
EC_{50}: 1 μg/ml
150000
125000
100000
75000
50000
25000
0
Ctrl -1 0 1 2 3 4 5
Log(濃度) log(ng/ml)

圖3D

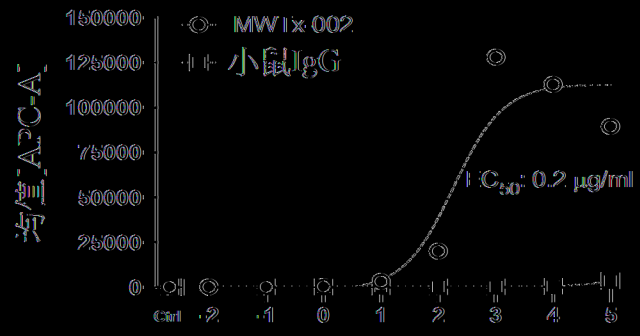

MW1x-002
小鼠IgG
EC_{50}: 0.2 μg/ml
150000
125000
100000
75000
50000
25000
0
Ctrl -2 -1 0 1 2 3 4 5
Log(濃度) log(ng/ml)

圖3E

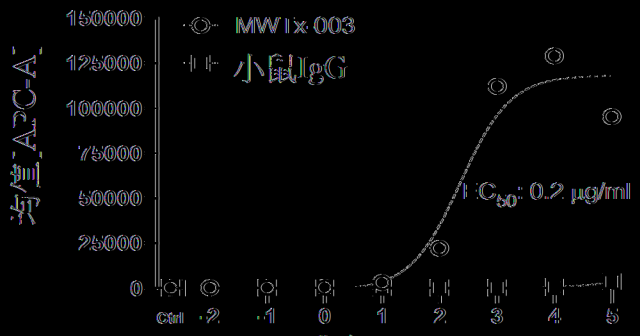

MW1x-003
小鼠IgG
EC_{50}: 0.2 μg/ml
150000
125000
100000
75000
50000
25000
0
Ctrl -2 -1 0 1 2 3 4 5
Log(濃度) log(ng/ml)

圖3E

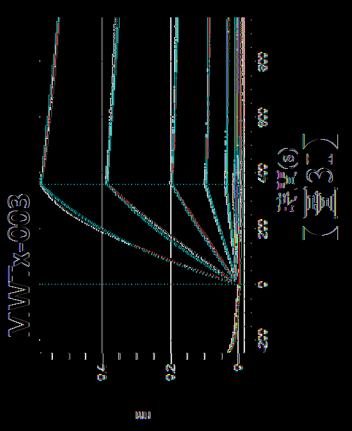


圖 3C

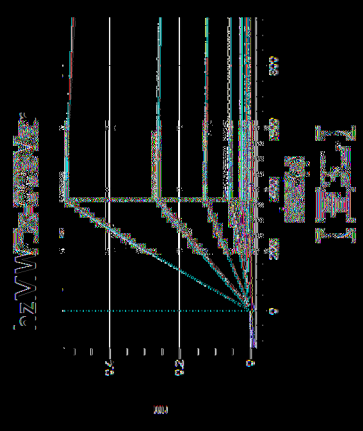


圖 3D



圖 4A



圖 4B

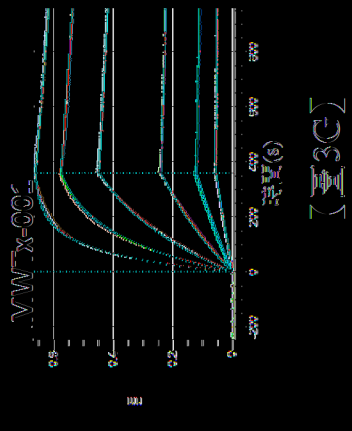


圖 4C

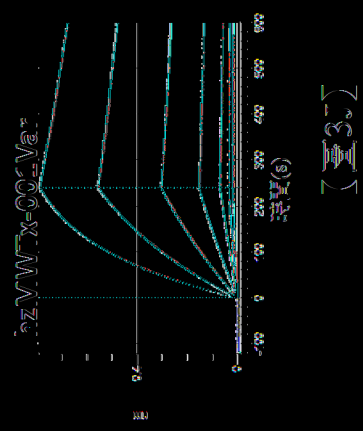


圖 4D

表 37

編號	名稱	數量	單價	金額
零件-001	螺絲	100	0.50	50.00
零件-002	墊圈	200	0.20	40.00
零件-003	螺帽	100	0.50	50.00
零件-004	彈簧	50	1.20	60.00
零件-005	軸承	20	3.50	70.00

圖 7-10
圖 7-9
圖 7-8
圖 7-7
圖 7-6
圖 7-5

圖 7(T)

圖 7(R)

圖 7(S)

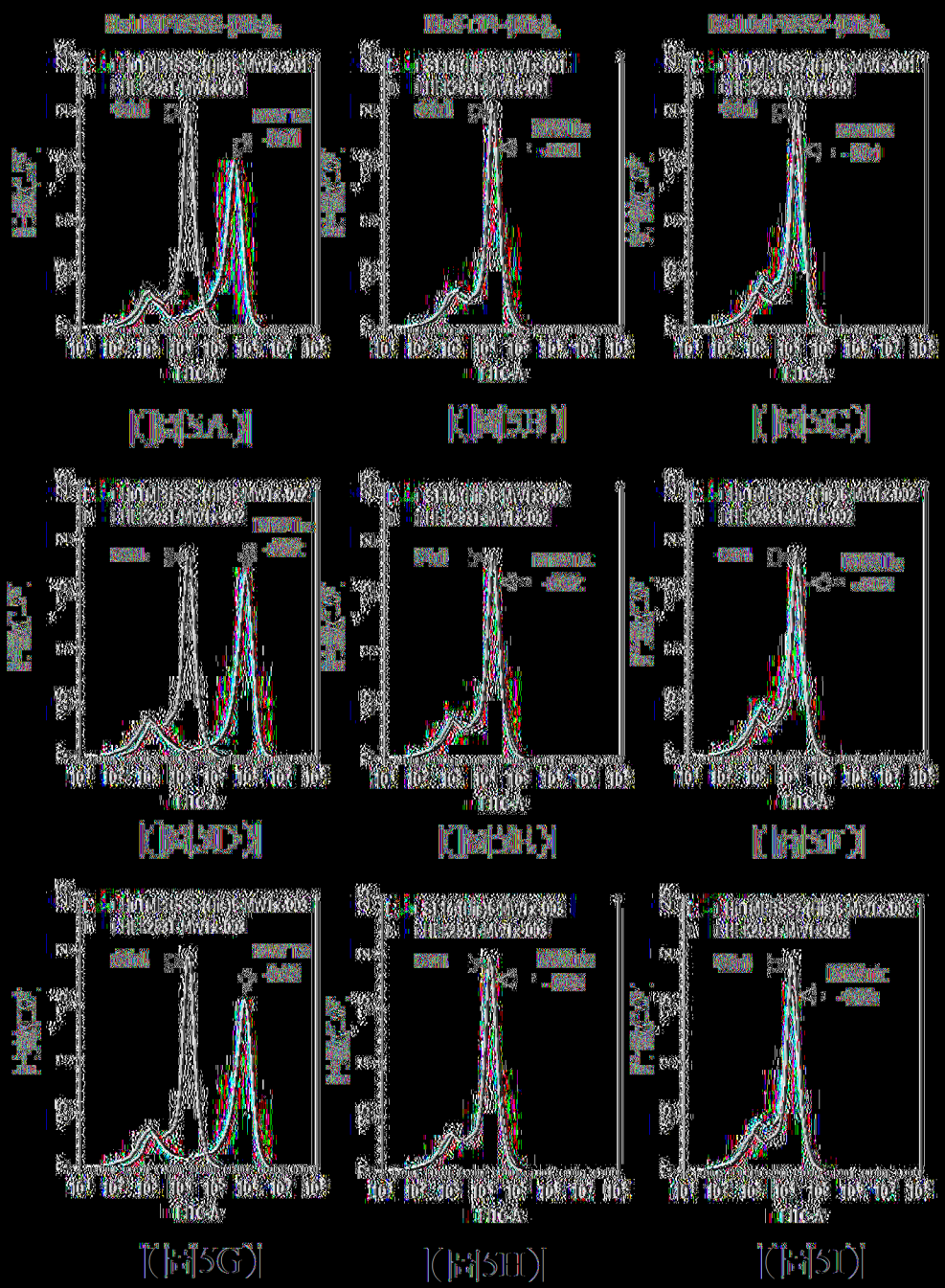
圖 7(P)

圖 7(T')

圖 7(R')

圖 7(S')

圖 7(P')



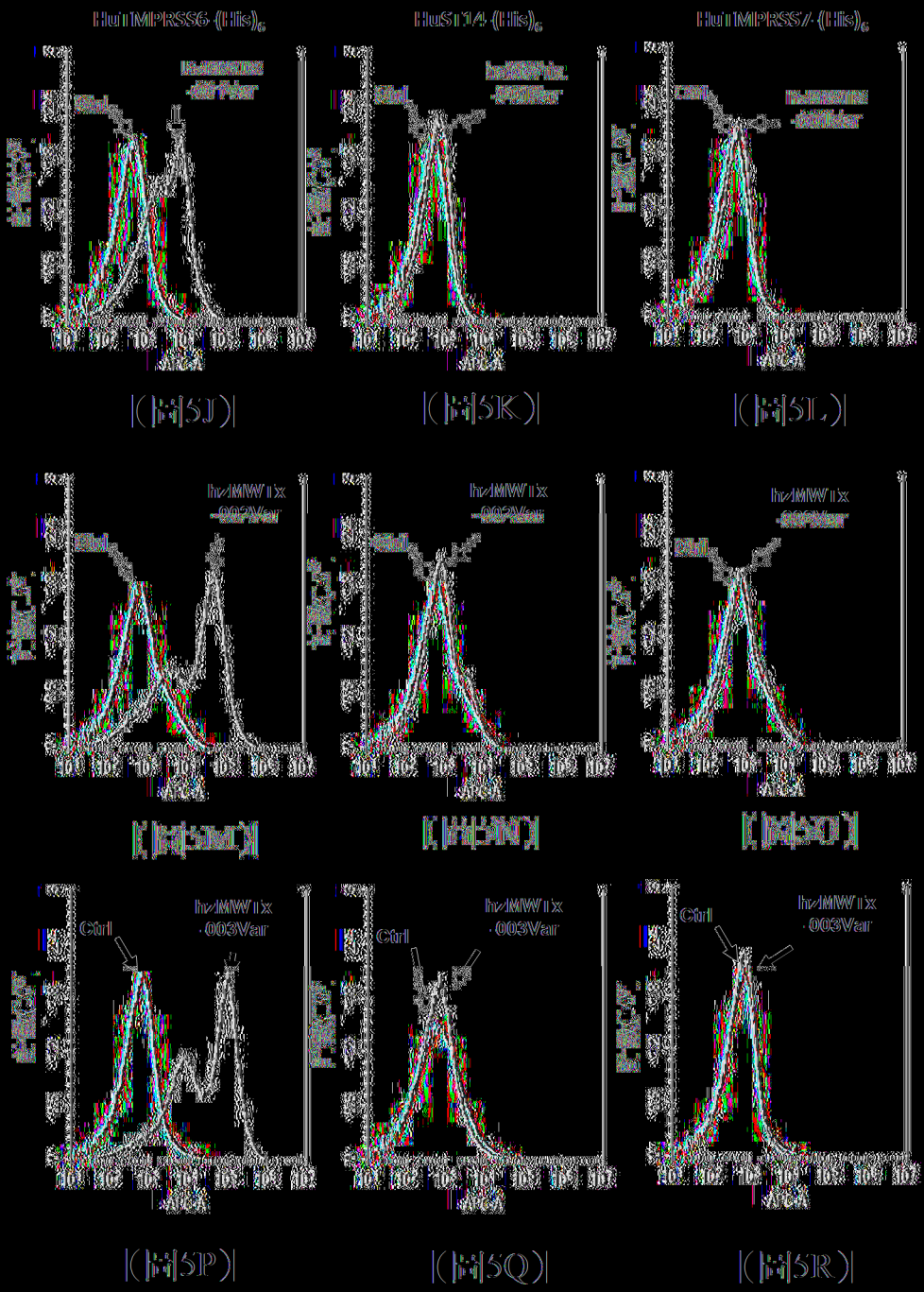


圖5J　圖5K　圖5L

圖5M　圖5N　圖5O

圖5P　圖5Q　圖5R

圖 1

血小板數(μg/dL)
(By Eu)
Get_Vessel
Vessel_Area
Vessel_Volume
Vessel_Density
Vessel_Count
Vessel_Mean_Diameter
Vessel_Max_Diameter
Vessel_Min_Diameter
Vessel_Length
Vessel_Tortuosity
Vessel_Fractal_Dimension
Vessel_Branch_Count
Vessel_Branch_Length
Vessel_Branch_Angle
Vessel_Branch_Tortuosity
Vessel_Branch_Fractal_Dimension
Vessel_Branch_Density
Vessel_Branch_Mean_Diameter
Vessel_Branch_Max_Diameter
Vessel_Branch_Min_Diameter
Vessel_Branch_Length

圖 1
血清肌酐濃度(μg/ml)
圖 2
血清肌酐濃度(μg/ml)
圖 3
血清肌酐濃度(μg/ml)
圖 4
血清肌酐濃度(μg/ml)
圖 5
血清肌酐濃度(μg/ml)
圖 6
血清肌酐濃度(μg/ml)
圖 7
血清肌酐濃度(μg/ml)

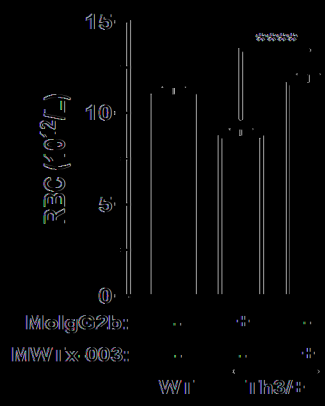


圖 3(A)

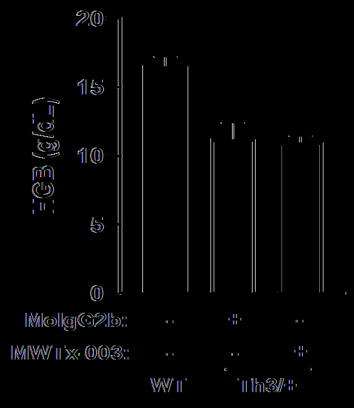


圖 3(B)

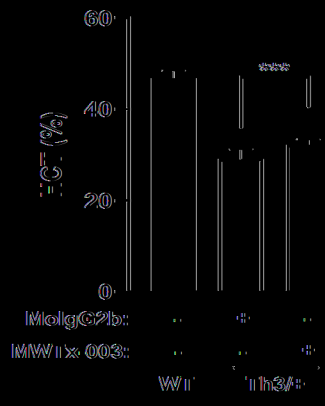


圖 3(C)

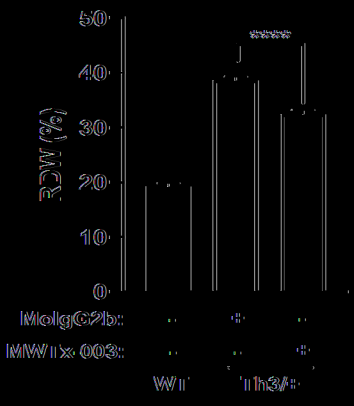


圖 3(D)

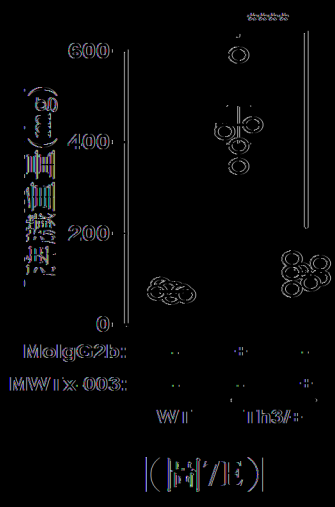
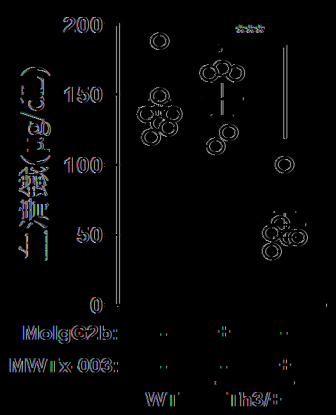
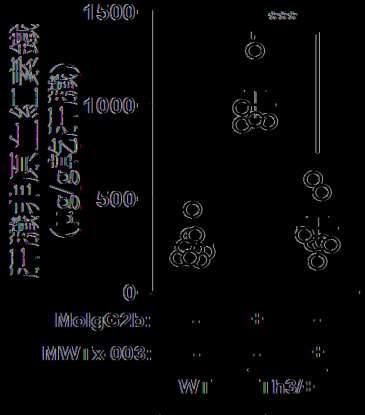


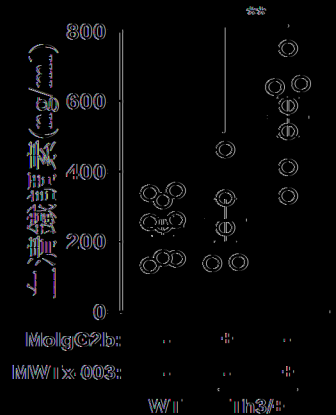
圖 3(E)


200
150
100
50
0
***
MolgC2b:
MW1x 003:
W1
1h3/1

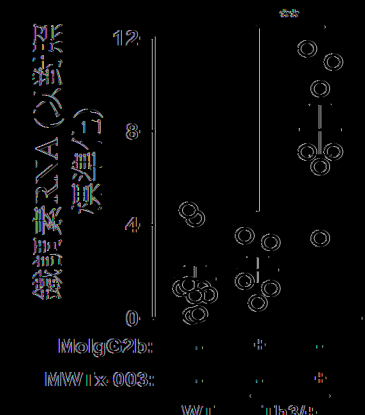
圖(F)


1500
1000
500
0
***
MolgC2b:
MW1x 003:
W1
1h3/1

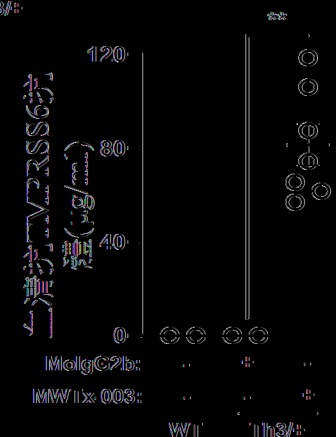
圖(G)


800
600
400
200
0
**
MolgC2b:
MW1x 003:
W1
1h3/1

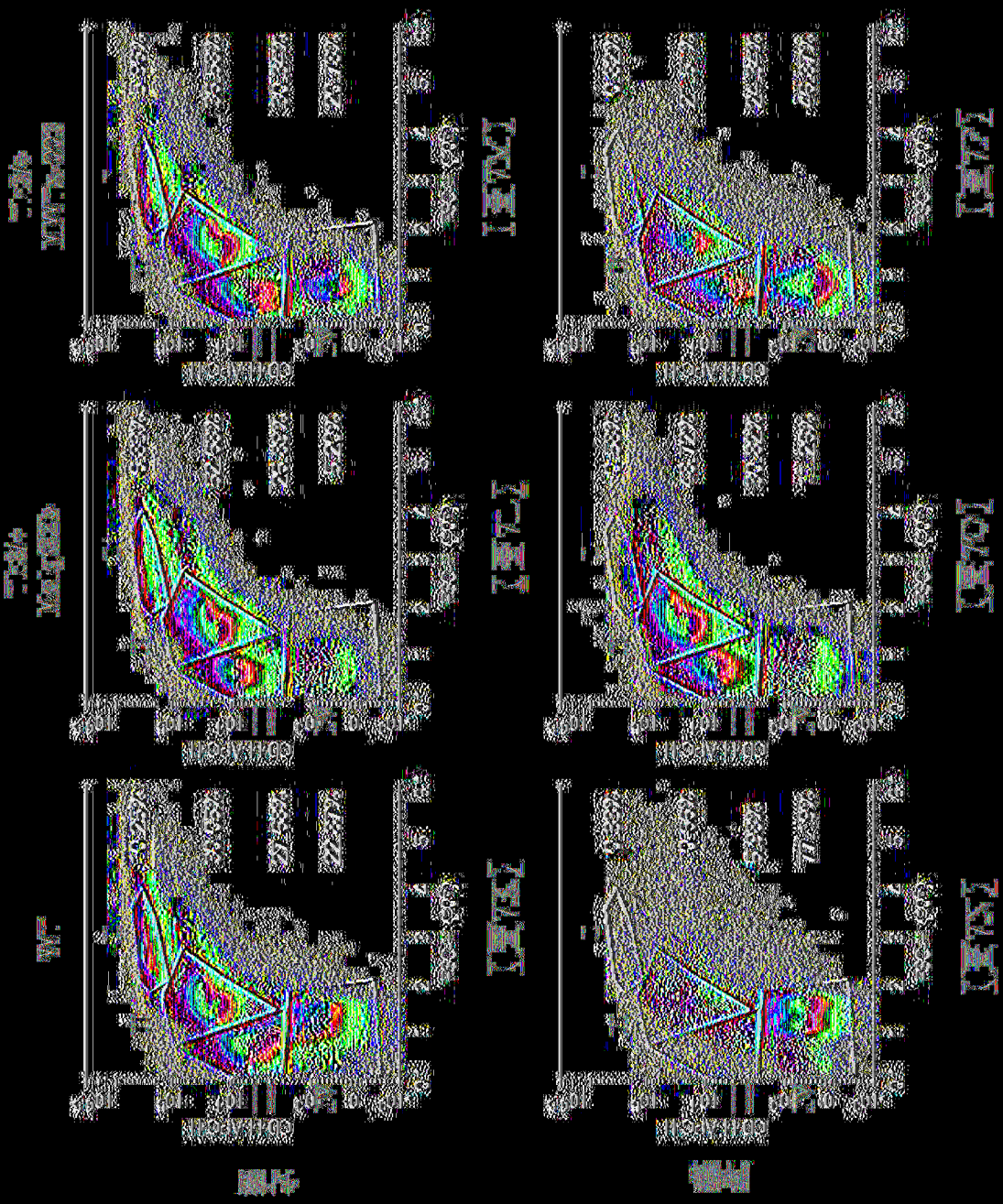
圖(H)

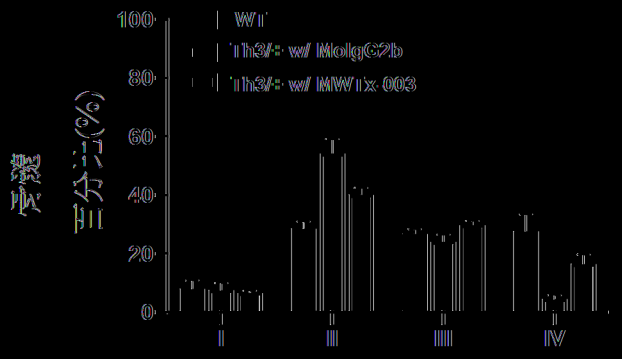

12
8
4
0
**
MolgC2b:
MW1x 003:
W1
1h3/1

圖(I)

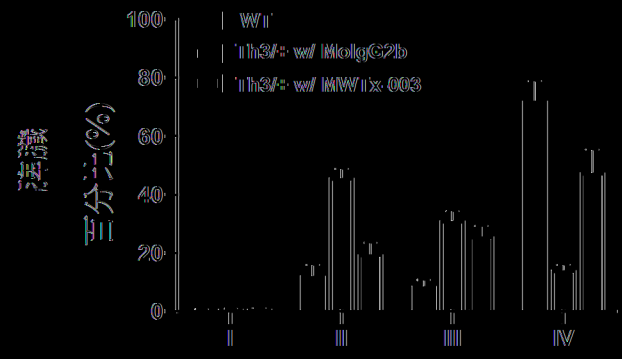

120
80
40
0
**
MolgC2b:
MW1x 003:
W1
1h3/1

圖(J)





|(Fig./Q)|



|(Fig./R)|

（續）

簽合計數	WWX-001	WWX-002	WWX-003
WWX-001	0.0065	0.2379	0.2327
WWX-002	0.3401	0.0100	0.0163
WWX-003	0.3391	0.0235	0.0190
綫信次	0.3017	0.2359	0.2369

【發明說明書】

【中文發明名稱】

抗TMPRSS6抗體及其用途

【英文發明名稱】

ANTI-TMPRSS6 ANTIBODIES AND USES THEREOF

【技術領域】

【0001】 本發明係關於結合TMPRSS6之抗體及抗原結合片段，以及使用結合TMPRSS6之抗體及抗原結合片段來治療鐵代謝病症。

【先前技術】

【0002】 II型跨膜絲胺酸蛋白酶6 (TMPRSS6)係由*TMPRSS6*基因編碼且主要在肝臟中表現。TMPRSS6之結構包括II型跨膜域，隨後為海膽精子蛋白、腸肽酶及集聚素(SEA)域(含有兩種補體因子C1r/C1s之莖區)、海膽胚胎生長因子及骨形態生成蛋白(CUB)域及三個低密度脂蛋白受體(LDLR) A類重複序列及C端胰蛋白酶樣絲胺酸蛋白酶域(Wang, C.-Y.等人, *Front. Pharmacol.* 2014. 5:114)。TMPRSS6 (EC 3.4.21)之別名包括：間質蛋白酶-2；跨膜蛋白酶絲胺酸6；膜結合嵌合絲胺酸蛋白酶間質蛋白酶-2；及MT2。

【0003】 TMPRSS6係經由調節鐵調素(控制鐵吸收及鐵儲存動員之激素)表現的BMP-SMAD信號傳導路徑在鐵穩態中起顯著作用。鐵調素(亦稱為：HAMP (鐵調素抗微生物蛋白質或肽)，由人類及非人類靈長類動物中之*HAMP*及小鼠及大鼠中之*Hamp*編碼)藉由控制唯一鐵流出通道膜鐵轉運蛋白之功能活性來調節全身性鐵穩態。鐵調素可藉由結合至膜鐵轉運蛋白且引起複合物之內化及降解來降低血漿鐵含量，藉此防止在小腸處

之鐵吸收及所儲存鐵之釋放。鐵調素含量之長期升高引起全身性鐵缺乏，且鐵調素缺乏引起全身性鐵過載。

【0004】 TMPRSS6係經由跨膜信號傳導路徑負調節鐵調素之產生，該跨膜信號傳導路徑係藉由鐵缺乏觸發且抑止*HAMP*活化(Du, X.等人., *Science* 2008. 320: 1088-1092；Wang, C.-Y.等人, *Front. Pharmacol.* 2014. 5:114)。低血液鐵含量觸發此路徑以減少鐵調素產生，其允許來自飲食之更多鐵經由腸吸收且自儲存部位輸送至血流中。在急性鐵缺乏下之大鼠中，肝臟TMPRSS6蛋白質含量上調，導致鐵調素表現及產生受抑止(Wang, C.-Y.等人, *Front. Pharmacol.* 2014. 5:114)。已在患有鐵缺乏性貧血(尤其係對口服鐵治療無反應且僅對非經腸鐵療法有部分反應之鐵難治性鐵缺乏性貧血(IRIDA))之個體中鑑別整個TMPRSS6分子中(且尤其係胞外域中)的突變(Wang, C.-Y.等人, *Front. Pharmacol.* 2014. 5:114)。人體內之*TMPRSS6*中之功能損失型突變導致鐵調素含量升高及鐵缺乏性貧血(Camaschella, C., *N Engl Journal Med* 2013. 168:24)，此係因為鐵調素之過度產生導致鐵吸收及利用不足。

【0005】 當過量鐵在組織及器官中積聚至破壞其正常功能之程度時，導致鐵過載病症。鐵毒性為鐵過載病症之常見併發症，從而由於主要器官中之鐵積聚而導致高死亡率。β-地中海型貧血為當*HBB*基因突變引起β-血球蛋白(β血球蛋白)之產生減少或不存在時發生的鐵過載病症，該等突變導致紅血球母細胞之凋亡及成熟紅血球不足，從而導致無效紅血球生成，其引起貧血及導致鐵毒性之鐵過度吸收。在患有β-地中海型貧血之患者中，鐵調素相對於患者之鐵負載狀態受異常抑止，從而產生鐵調素缺乏，其又允許過度鐵吸收及全身性鐵過載的發展。其他病症，諸如骨髓發

育不良症候群(MDS)、紅血球生成不良性貧血、鐵粒幼細胞性貧血中之無效紅血球生成同樣藉由導致鐵過載之低鐵調素表徵。血色素沈著症(例如1型血色素沈著症或遺傳性血色素沈著症)為藉由膳食鐵之過量腸道吸收及全身鐵儲存之病理性增加表徵的鐵過載病症。治療鐵過載病症之當前護理標準包括用於可進一步加重鐵過載、具有不良患者順應性之鐵螯合的無效紅血球生成之輸血，及靜脈切開術或脾切除術以控制症狀。當前處於開發中之治療方法包括靶向*HBB*基因之基因療法、靶向其他相關基因之基因療法及基因編輯、鐵調素模擬物、靶向TGF超家族配位體以抑制SMAD信號傳導之Fc融合蛋白、靶向*TMPRSS6* (例如，El-Beshlawy A.,等人, *Blood Cells, Molecules and Diseases* 2019. 76: 53-58)之反義RNA藥物及靶向*TMPRSS6*之iRNA藥物。

【發明內容】

【0006】 本發明係關於結合TMPRSS6之新穎抗體及其抗原結合片段，及製備且使用結合TMPRSS6之抗體及其抗原結合片段之方法。

【0007】 本發明提供抗TMPRSS6抗體、編碼抗TMPRSS6抗體之核酸及製備且使用抗TMPRSS6抗體之方法。如本文所揭示之抗TMPRSS6抗體涵蓋能夠結合TMPRSS6之抗TMPRSS6抗體及其片段。如本文所揭示之抗TMPRSS6抗體能夠結合至表現人類TMPRSS6之細胞表面上的人類TMPRSS6。本發明提供用於治療性及診斷用途之抗TMPRSS6抗體。如本文所揭示之抗TMPRSS6抗體可用於治療鐵代謝病症，諸如鐵過載病症，尤其係β-地中海型貧血，包括(但不限於)非輸血依賴性地中海型貧血，及無效紅血球生成之其他病症。

【0008】 在一個態樣中，提供能夠結合至表現TMPRSS6之細胞表

面上的TMPRSS6且調控參與鐵代謝之至少一種組分之活性的抗TMPRSS6抗體，其中組分可為與TMPRSS6之功能相關之分子或生物方法。在某些實施例中，本文所揭示之抗TMPRSS6抗體能夠調控參與調節鐵調素表現之至少一種組分的活性。在某些實施例中，本文所揭示之抗TMPRSS6抗體能夠實質上抑制TMPRSS6對鐵調素表現之抑止。在某些實施例中，本文所揭示之抗TMPRSS6抗體能夠增加鐵調素表現。在某些實施例中，本文所揭示之抗TMPRSS6抗體能夠增加鐵調素啟動子之活性。在某些實施例中，本文所揭示之抗TMPRSS6抗體能夠實質上抑制TMPRSS6對BMP/SMAD路徑誘導之鐵調素表現之抑止。本文所揭示之抗TMPRSS6抗體可以劑量依賴性方式調控鐵調素表現，包括(但不限於)實質上抑制TMPRSS6對鐵調素表現之抑止、增加鐵調素表現、增加鐵調素啟動子活性或實質上抑制TMPRSS6對BMP/SMAD路徑誘導之鐵調素表現之抑止。在某些實施例中，本文所揭示之抗TMPRSS6抗體能夠以劑量依賴性方式調控鐵調素表現。在某些實施例中，本文所揭示之抗TMPRSS6抗體能夠在向個體投與時以劑量依賴性方式增加血清鐵調素含量。在某些實施例中，本文所揭示之抗TMPRSS6抗體能夠在向個體投與時以劑量依賴性方式降低血清鐵含量。在某些實施例中，本文所揭示之抗TMPRSS6抗體能夠在向個體投與時以劑量依賴性方式增加肝臟鐵調素RNA含量。在某些實施例中，本文所揭示之抗TMPRSS6抗體能夠在向已知或疑似患有鐵過載病症(尤其係β-地中海型貧血)之個體投與時減少肝臟非原血紅素鐵、增加血清鐵調素、增加肝臟鐵調素RNA、減少脾腫大、增加紅血球計數(RBC)、增加血容比(HCT)、減少紅血球分佈寬度(RDW)及增加成熟紅血球之產生(增加紅血球生成)。

【0009】在另一態樣中，本文所揭示之抗TMPRSS6抗體展示與至少一種非人類TMPRSS6之交叉反應性。在某些實施例中，本文所揭示之抗TMPRSS6抗體能夠結合至表現至少一種非人類TMPRSS6之細胞表面上的至少一種非人類TMPRSS6。本文所揭示之抗TMPRSS6抗體可能夠結合人類TMPRSS6及小鼠TMPRSS6。本文所揭示之抗TMPRSS6抗體可能夠結合至人類TMPRSS6及食蟹獼猴TMPRSS6。本文所揭示之抗TMPRSS6抗體可能夠結合至人類TMPRSS6、小鼠TMPRSS6及食蟹獼猴TMPRSS6中之每一者。

【0010】在另一態樣中，本文所揭示之抗TMPRSS6抗體特異性結合至TMPRSS6 (間質蛋白酶-2)。在某些實施例中，本文所揭示之抗TMPRSS6抗體結合至TMPRSS6 (間質蛋白酶-2)且不會展示與間質蛋白酶同源物之可偵測結合。在某些實施例中，本文所揭示之抗TMPRSS6抗體結合至人類TMPRSS6 (間質蛋白酶-2)且不會展示與人類間質蛋白酶-1 (ST14)之可偵測結合。在某些實施例中，本文所揭示之抗TMPRSS6抗體結合至人類TMPRSS6 (間質蛋白酶-2)且不會展示與人類間質蛋白酶-3 (TMPRSS7)之可偵測結合。在某些實施例中，本文所揭示之抗TMPRSS6抗體結合至人類TMPRSS6 (間質蛋白酶-2)且不會展示與人類間質蛋白酶-1 (ST14)或人類間質蛋白酶-3 (TMPRSS7)中之任一者的可偵測結合。

【0011】本文所揭示之抗TMPRSS6抗體可為單株抗體、人類化抗體、嵌合抗體、單鏈抗體、Fab片段、單鏈可變片段(scFv)、重組抗體、適體、單域抗體(VHH，奈米抗體)或其他TMPRSS6結合片段或變異體。在某些實施例中，本文所揭示之抗TMPRSS6抗體可包含其中胺基酸已經取代至現有抗體構架中之構架，尤其係影響諸如抗原結合能力之特性的構

架。在某些實施例中，本文所揭示之抗TMPRSS6抗體可包含來自源(親本)抗體之互補決定區(CDR)，其已接枝(稠合)至來自不同類型(類別)之抗體及/或與親本抗體不同之生物體的構架中，尤其係受體人類構架。在某些實施例中，本文所揭示之抗TMPRSS6抗體可包含其中胺基酸已在CDR之外的區域中經取代、突變或置換以影響諸如抗原結合或抗體結構之特性的構架，例如在圍繞CDR之可變區構架中及/或在恆定區(尤其係Fc區)中。在某些實施例中，CDR中之一或多者已經取代、突變或置換。在某些實施例中，本文所揭示之抗TMPRSS6抗體可為人類化抗TMPRSS6抗體變異體。

【0012】在某些實施例中，本文所揭示之抗TMPRSS6抗體包含至少一種具有如表1、表2或表3中所闡述之胺基酸序列，或與如表1、表2或表3中所闡述之胺基酸序列實質上一致(例如，至少85%、90%、92%、95%、97%或98%、99%一致)之序列的多肽。本文所揭示之抗TMPRSS6抗體可包含至少一種具有選自以下之胺基酸序列，或與具有選自以下之胺基酸序列的至少一種多肽實質上一致(例如，至少85%、90%、92%、95%、97%或98%、99%一致)之序列的多肽：SEQ ID NO: 1；SEQ ID NO: 2；SEQ ID NO: 3；SEQ ID NO: 4；SEQ ID NO: 6；SEQ ID NO: 7；SEQ ID NO: 8；SEQ ID NO: 9；SEQ ID NO: 11；SEQ ID NO: 12；SEQ ID NO: 13；SEQ ID NO: 14；SEQ ID NO: 16；SEQ ID NO: 17；SEQ ID NO: 18；SEQ ID NO: 19；SEQ ID NO: 21；SEQ ID NO: 22；SEQ ID NO: 23；SEQ ID NO: 24；SEQ ID NO: 26；SEQ ID NO: 27；SEQ ID NO: 28；SEQ ID NO: 29；SEQ ID NO: 31；SEQ ID NO: 32；SEQ ID NO: 33；SEQ ID NO: 34；SEQ ID NO: 36；SEQ ID NO: 37；

SEQ ID NO: 38；SEQ ID NO: 39；SEQ ID NO: 41；SEQ ID NO: 42；SEQ ID NO: 43；SEQ ID NO: 44；SEQ ID NO: 46；SEQ ID NO: 47；SEQ ID NO: 48；SEQ ID NO: 49；SEQ ID NO: 51；SEQ ID NO: 52；SEQ ID NO: 53；SEQ ID NO: 54；SEQ ID NO: 56；SEQ ID NO: 57；SEQ ID NO: 58；SEQ ID NO: 59；SEQ NO: 61；SEQ ID NO: 63；SEQ ID NO: 65；SEQ ID NO: 67；SEQ ID NO: 69；SEQ ID NO: 71；SEQ ID NO: 73；SEQ ID NO: 75；SEQ ID NO: 77；SEQ ID NO: 79；SEQ ID NO: 81；或SEQ ID NO: 83。

【0013】在一個實施例中，本文所揭示之抗TMPRSS6抗體包含SEQ ID NO: 1中闡述之胺基酸序列或與SEQ ID NO: 1實質上一致之序列的重鏈(HC)可變區多肽，及SEQ ID NO: 6中闡述之胺基酸序列或與SEQ ID NO: 6實質上一致之序列的輕鏈(LC)可變區多肽。在一個實施例中，本文所揭示之抗TMPRSS6抗體包含SEQ ID NO: 2中闡述之胺基酸序列的重鏈互補決定區1 (HC CDR1)、SEQ ID NO: 3中闡述之胺基酸序列的重鏈互補決定區2 (HC CDR2)、SEQ ID NO: 4中闡述之胺基酸序列的重鏈互補決定區3 (HC CDR3)；SEQ ID NO: 7中闡述之胺基酸序列的輕鏈互補決定區1 (LC CDR1)、SEQ ID NO: 8中闡述之胺基酸序列的輕鏈互補決定區2 (LC CDR2)及SEQ ID NO: 9中闡述之胺基酸序列的輕鏈互補決定區3 (LC CDR3)；或在CDR區中包含1、2、3、4、5或6個胺基酸取代之該抗體的變異體。在一個非限制性實施例中，本文所揭示之抗TMPRSS6抗體為在本文中鑑別為MWTx-001之抗體，其包含具有SEQ ID NO: 61中闡述之胺基酸序列的HC多肽及具有SEQ ID NO: 63中闡述之胺基酸序列的LC多肽。

【0014】在一個實施例中，本文所揭示之抗TMPRSS6抗體包含SEQ ID NO: 11中闡述之胺基酸序列或與SEQ ID NO: 11實質上一致之序列的HC可變區多肽，及SEQ ID NO: 16中闡述之胺基酸序列或與SEQ ID NO: 16實質上一致之序列的LC可變區多肽。在一個實施例中，本文所揭示之抗TMPRSS6抗體包含SEQ ID NO: 12中闡述之胺基酸序列的HC CDR1、SEQ ID NO: 13中闡述之胺基酸序列的HC CDR2、SEQ ID NO: 14中闡述之胺基酸序列的HC CDR3；SEQ ID NO: 17中闡述之胺基酸序列的LC CDR1、SEQ ID NO: 18中闡述之胺基酸序列的LC CDR2及SEQ ID NO: 19中闡述之胺基酸序列的LC CDR3，或在CDR區中包含1、2、3、4、5或6個胺基酸取代之該抗體的變異體。在一個非限制性實施例中，本文所揭示之抗TMPRSS6抗體具有在本文中鑑別為MWTx-002之抗體，其包含具有SEQ ID NO: 65中闡述之胺基酸序列的HC多肽及具有SEQ ID NO: 67中闡述之胺基酸序列的LC多肽。

【0015】在一個實施例中，本文所揭示之抗TMPRSS6抗體包含SEQ ID NO: 21中闡述之胺基酸序列或與SEQ ID NO: 21實質上一致之序列的HC可變區多肽，及SEQ ID NO: 26中闡述之胺基酸序列或與SEQ ID NO: 26實質上一致之序列的LC可變區多肽。在一個實施例中，本文所揭示之抗TMPRSS6抗體包含SEQ ID NO: 22中闡述之胺基酸序列的HC CDR1、SEQ ID NO: 23中闡述之胺基酸序列的HC CDR2、SEQ ID NO: 24中闡述之胺基酸序列的HC CDR3；SEQ ID NO: 27中闡述之胺基酸序列的LC CDR1、SEQ ID NO: 28中闡述之胺基酸序列的LC CDR2及SEQ ID NO: 29中闡述之胺基酸序列的LC CDR3，或在CDR區中包含1、2、3、4、5或6個胺基酸取代之該抗體的變異體。在一個非限制性實施例中，本

文所揭示之抗TMPRSS6抗體為在本文中鑑別為MWTx-003之抗體，其包含具有SEQ ID NO: 69中闡述之胺基酸序列的HC多肽及具有SEQ ID NO: 71中闡述之胺基酸序列的LC多肽。

【0016】在一個實施例中，本文所揭示之抗TMPRSS6抗體包含SEQ ID NO: 31中闡述之胺基酸序列或與SEQ ID NO: 31實質上一致之序列的HC可變區多肽，及SEQ ID NO: 36中闡述之胺基酸序列或與SEQ ID NO: 36實質上一致之序列的LC可變區多肽。在一個實施例中，本文所揭示之抗TMPRSS6抗體包含SEQ ID NO: 32中闡述之胺基酸序列的HC CDR1、SEQ ID NO: 33中闡述之胺基酸序列的HC CDR2、SEQ ID NO: 34中闡述之胺基酸序列的HC CDR3；SEQ ID NO: 37中闡述之胺基酸序列的LC CDR1、SEQ ID NO: 38中闡述之胺基酸序列的LC CDR2及SEQ ID NO: 39中闡述之胺基酸序列的LC CDR3，或在CDR區中包含1、2、3、4、5或6個胺基酸取代之該抗體的變異體。在一個非限制性實施例中，本文所揭示之抗TMPRSS6抗體為在本文中鑑別為人類化抗TMPRSS6抗體變異體hzMWTx-001Var之抗體，其包含具有SEQ ID NO: 73中闡述之胺基酸序列的HC多肽及具有SEQ ID NO: 75中闡述之胺基酸序列的LC多肽。

【0017】在一個實施例中，本文所揭示之抗TMPRSS6抗體包含SEQ ID NO: 41中闡述之胺基酸序列或與SEQ ID NO: 41實質上一致之序列的HC可變區多肽，及SEQ ID NO: 46中闡述之胺基酸序列或與SEQ ID NO: 46實質上一致之序列的LC可變區多肽。在一個實施例中，本文所揭示之抗TMPRSS6抗體包含SEQ ID NO: 42中闡述之胺基酸序列的HC CDR1、SEQ ID NO: 43中闡述之胺基酸序列的HC CDR2、SEQ ID NO: 44中闡述之胺基酸序列的HC CDR3；SEQ ID NO: 47中闡述之胺基酸序列

的LC CDR1、SEQ ID NO: 48中闡述之胺基酸序列的LC CDR2及SEQ ID NO: 49中闡述之胺基酸序列的LC CDR3，或在CDR區中包含1、2、3、4、5或6個胺基酸取代之該抗體的變異體。在一個非限制性實施例中，本文所揭示之抗TMPRSS6抗體為在本文中鑑別為人類化抗TMPRSS6抗體變異體hzMWTx-002Var之抗體，其包含具有SEQ ID NO: 77中闡述之胺基酸序列的HC多肽及具有SEQ ID NO: 79中闡述之胺基酸序列的LC多肽。

【0018】在一個實施例中，本文所揭示之抗TMPRSS6抗體包含SEQ ID NO: 51中闡述之胺基酸序列或與SEQ ID NO: 51實質上一致之序列的HC可變區多肽，及SEQ ID NO: 56中闡述之胺基酸序列或與SEQ ID NO: 56實質上一致之序列的LC可變區多肽。在一個實施例中，本文所揭示之抗TMPRSS6抗體包含SEQ ID NO: 52中闡述之胺基酸序列的HC CDR1、SEQ ID NO: 53中闡述之胺基酸序列的HC CDR2、SEQ ID NO: 54中闡述之胺基酸序列的HC CDR3；SEQ ID NO: 57中闡述之胺基酸序列的LC CDR1、SEQ ID NO: 58中闡述之胺基酸序列的LC CDR2及SEQ ID NO: 59中闡述之胺基酸序列的LC CDR3，或在CDR區中包含1、2、3、4、5或6個胺基酸取代之該抗體的變異體。在一個非限制性實施例中，本文所揭示之抗TMPRSS6抗體為在本文中鑑別為人類化抗TMPRSS6抗體變異體hzMWTx-003Var之抗體，其包含具有SEQ ID NO: 81中闡述之胺基酸序列的HC多肽及具有SEQ ID NO: 83中闡述之胺基酸序列的LC多肽。

【0019】在另一態樣中，提供抗TMPRSS6抗體(包括如本文所揭示之變異體及片段)，其可用於治療鐵代謝病症，諸如鐵過載病症，尤其係β-地中海型貧血及無效紅血球生成之其他病症。提供使用如本文針對治療性用途所揭示之抗TMPRSS6抗體之方法及組合物，該等治療性用途包括

(但不限於)治療鐵代謝病症，諸如鐵過載病症，尤其係β-地中海型貧血及無效紅血球生成之其他病症。在某些實施例中，提供包含本文所揭示之抗TMPRSS6抗體及適合之載劑及/或賦形劑的醫藥組合物。

【0020】 在另一態樣中，提供用於治療鐵代謝病症之方法，此類方法包含向有需要之個體投與有效量的本文所揭示之抗TMPRSS6抗體，其中投與有效量之抗TMPRSS6抗體調控參與鐵代謝之組分的活性。在某些實施例中，用於治療鐵過載病症之方法包含投與有效量的本文所揭示之抗TMPRSS6抗體，其中投與有效量之抗TMPRSS6抗體調控參與鐵代謝之組分的活性。在某些實施例中，用於治療鐵過載病症之方法包含投與有效量的本文所揭示之抗TMPRSS6抗體，其中投與有效量之抗TMPRSS6抗體調控參與調節鐵調素表現之至少一種組分的活性。在某些實施例中，方法包含投與有效量之抑制TMPRSS6對鐵調素表現之抑止的抗TMPRSS6抗體。在某些實施例中，投與有效量之抗TMPRSS6抗體增加鐵調素表現。在某些實施例中，方法包含投與有效量之增加鐵調素啟動子之活性的抗TMPRSS6抗體。在某些實施例中，方法包含投與有效量之抑制TMPRSS6對BMP/SMAD路徑誘導之鐵調素表現之抑止的抗TMPRSS6抗體。在某些實施例中，方法包含向個體投與有效量之抗TMPRSS6抗體，其導致一或多個與鐵過載病症相關之生物效應，包括(但不限於)減少血清鐵、減少肝臟非原血紅素鐵、增加血清鐵調素、增加肝臟鐵調素RNA、減少脾腫大、增加紅血球計數(RBC)、增加血容比(HCT)、減少紅血球分佈寬度(RDW)及/或增加成熟紅血球之產生(增加紅血球生成)。

【0021】 在另一態樣中，提供用於治療參與鐵調素表現之異常抑止之疾病或疾病病況的方法，此類方法包含向有需要之個體投與有效量的本

文所揭示之抗TMPRSS6抗體，其中投與有效量之抗TMPRSS6抗體調控參與鐵調素表現之異常抑止之至少一種組分的活性且減少對鐵調素表現之異常抑止。在特定實施例中，方法引起鐵調素表現增加。

【0022】 在另一態樣中，提供用於治療與受抑止之鐵調素含量相關之鐵代謝病症的方法，此類方法包含向有需要之個體投與有效量的本文所揭示之抗TMPRSS6抗體，其中投與有效量之抗TMPRSS6抗體調控參與抑止鐵調素含量之至少一種組分的活性。在某些實施例中，方法包含投與有效量之增加血清鐵調素含量、增加肝臟鐵調素RNA且降低血清鐵含量之抗TMPRSS6抗體。

【0023】 在另一態樣中，提供用於治療鐵代謝病症(包括與無效紅血球生成相關及/或由其表徵之病症)之方法，該等病症可包括(但不限於) β-地中海型貧血。根據此態樣，此類方法包含向已知或疑似患有與無效紅血球生成相關及/或由其表徵之鐵代謝病症之個體投與有效量的本文所揭示之抗TMPRSS6抗體，其中投藥導致個體之與鐵代謝及/或紅血球生成相關之一或多種變化。在某些實施例中，提供其中投與有效量之抗TMPRSS6抗體治療或改善至少一種與病症相關之生物效應或症狀的方法。在特定實施例中，實踐方法導致一或多種變化，包括(但不限於)減少肝臟非原血紅素鐵、增加血清鐵調素、增加肝臟鐵調素RNA、減少脾腫大、增加紅血球計數(RBC)、增加血容比(HCT)、減少紅血球分佈寬度(RDW)及增加成熟紅血球之產生(增加紅血球生成)。

【0024】 在另一態樣中，提供用於診斷或篩選個體中之鐵過載病症之方法。在某些實施例中，方法包含向已知或疑似患有鐵過載病症之個體投與抗TMPRSS6抗體及量測一或多種與鐵過載病症相關之生物效應或症

狀。

【0025】在另一態樣中，提供一或多種編碼本文所揭示之抗TMPRSS6抗體中之至少一者的至少一部分之經分離之核酸分子。在某些實施例中，編碼本文所揭示之抗TMPRSS6抗體中之至少一者的至少一部分之經分離之核酸分子包含如表1、表2或表3中所闡述之核苷酸序列，或與如表1、表2或表3中所闡述之核苷酸序列實質上一致(例如，至少85%、90%、92%、95%、97%或98%、99%一致)之序列。在某些實施例中，編碼本文所揭示之抗TMPRSS6抗體的重鏈(HC)序列中之至少一者之經分離之核酸分子可包含選自以下中之至少一者的核苷酸序列：SEQ ID NO: 5或與SEQ ID NO: 5實質上一致之序列；SEQ ID NO: 15或與SEQ ID NO: 15實質上一致之序列；SEQ ID NO: 25或與SEQ ID NO: 25實質上一致之序列：SEQ ID NO: 35與SEQ ID NO: 35實質上一致之序列；SEQ ID NO: 45或與SEQ ID NO: 45實質上一致之序列；SEQ ID NO: 55或與SEQ ID NO: 55實質上一致之序列；SEQ ID NO: 62或與SEQ ID NO: 62實質上一致之序列；SEQ ID NO: 66或與SEQ ID NO: 66實質上一致之序列；SEQ ID NO: 70或與SEQ ID NO: 70實質上一致之序列；SEQ ID NO: 74或與SEQ ID NO: 74實質上一致之序列；SEQ ID NO: 78或與SEQ ID NO: 78實質上一致之序列，或SEQ ID NO: 82或與SEQ ID NO: 82實質上一致之序列。在某些實施例中，編碼本文所揭示之抗TMPRSS6抗體或其抗原結合片段的輕鏈(LC)序列中之至少一者之經分離之核酸分子可包含選自以下中之至少一者的核苷酸序列：SEQ ID NO: 10或與SEQ ID NO: 10實質上一致之序列；SEQ ID NO: 20或與SEQ ID NO: 20實質上一致之序列；或SEQ ID NO: 30或與SEQ ID NO: 30實質上一致之序列；SEQ ID NO: 40或與SEQ

ID NO: 40實質上一致之序列；SEQ ID NO: 50或與SEQ ID NO: 50實質上一致之序列；SEQ ID NO: 60或與SEQ ID NO: 60實質上一致之序列；SEQ ID NO: 64或與SEQ ID NO: 64實質上一致之序列；SEQ ID NO: 68或與SEQ ID NO: 68實質上一致之序列；SEQ ID NO: 72或與SEQ ID NO: 72實質上一致之序列；SEQ ID NO: 76或與SEQ ID NO: 76實質上一致之序列；SEQ ID NO: 80或與SEQ ID NO: 80實質上一致之序列，或SEQ ID NO: 84或與SEQ ID NO: 84實質上一致之序列。

【0026】 在另一態樣中，提供包含一或多個核酸分子之載體，該一或多個核酸分子編碼本文所揭示之抗TMPRSS6抗體之至少一個胺基酸序列。在某些實施例中，提供包含一或多個核酸分子之載體，該一或多個核酸分子編碼本文所揭示之抗TMPRSS6抗體的重鏈(HC)或輕鏈(LC)序列中之至少一者。在某些實施例中，提供包含核酸分子之載體，該等核酸分子編碼如表1、表2或表3中所闡述之胺基酸序列中之至少一者的至少一部分，或與如表1、表2或表3中所闡述之胺基酸序列實質上一致之胺基酸序列的至少一部分。在某些實施例中，提供包含核酸分子之載體，該等核酸分子編碼如表1、表2或表3中所闡述之HC或LC序列中之至少一者的至少一部分，或與如表1、表2或表3中所闡述之HC或LC序列中的至少一者實質上一致之胺基酸序列之至少一部分。

【0027】 在另一態樣中，提供至少一種含有包含一或多個核酸分子之載體的宿主細胞，該一或多個核酸分子編碼本文所揭示之抗TMPRSS6抗體之胺基酸序列。在某些實施例中，提供含有包含核酸分子之載體之宿主細胞，該等核酸分子編碼如表1、表2或表3中所闡述之HC或LC序列中之至少一者的至少一部分，或與如表1、表2或表3中所闡述之HC或LC序

列中的至少一者實質上一致之胺基酸序列之至少一部分。在某些實施例中，至少一種宿主細胞能夠支撐由載體編碼之抗TMPRSS6抗體或其抗原結合片段之載體表現及重組產生。在某些實施例中，至少一種宿主細胞能夠支撐由包含核酸分子之載體編碼的抗TMPRSS6抗體或其抗原結合片段之載體表現及重組產生，該等核酸分子編碼如表1、表2或表3中所闡述之HC或LC序列中之至少一者的至少一部分，或與如表1、表2或表3中所闡述之HC或LC序列中的至少一者實質上一致之胺基酸序列之至少一部分。在某些實施例中，宿主細胞經包含一或多個核酸分子之載體暫時轉染，該一或多個核酸分子編碼本文所揭示之抗TMPRSS6抗體或其抗原結合片段之胺基酸序列，其中宿主細胞能夠支撐由載體編碼之抗TMPRSS6抗體或其抗原結合片段之載體表現及重組產生。

【圖式簡單說明】

【0028】

圖1展示抗TMPRSS6抗體之級聯篩選之結果，其中使用針對*HAMP*啟動子活性之活體外功能性分析來評定結合至人類TMPRSS6之抗體，且針對與非人類TMPRSS6之交叉反應性評定顯示對*HAMP*啟動子活性具有影響的抗體。

圖2A至2F展示抗TMPRSS6抗體對*HAMP*啟動子活性之影響，該*HAMP*啟動子活性藉由在HepG2細胞中進行之雙螢光素酶報導子分析針對一系列抗體濃度來量測。在各曲線圖中，空心圓表示使用抗TMPRSS6抗體之結果，且空心方塊表示使用相同濃度之小鼠IgG或人類IgG1作為陰性(非特異性結合)對照之結果。圖2A展示在一定抗體濃度之範圍內，MWTx-001抗TMPRSS6抗體對*HAMP*啟動子活性之影響。圖2B展示在一

定抗體濃度之範圍內，MWTx-002抗TMPRSS6抗體對*HAMP*啟動子活性之影響。圖2C展示在一定抗體濃度之範圍內，MWTx-003抗TMPRSS6抗體對*HAMP*啟動子活性之影響。圖2D展示在一定抗體濃度之範圍內，hzMWTx-001Var抗TMPRSS6抗體對*HAMP*啟動子活性之影響。圖2E展示在一定抗體濃度之範圍內，hzMWTx-002Var抗TMPRSS6抗體對*HAMP*啟動子活性之影響。圖2F展示在一定抗體濃度之範圍內，hzMWTx-003Var抗TMPRSS6抗體對*HAMP*啟動子活性之影響。

圖3A至3M展示抗TMPRSS6抗體之結合親和力之測定結果。圖3A至3F展示使用兩種不同方法測定針對HEK293T細胞上表現之人類TMPRSS6之抗TMPRSS6抗體結合親和力的結果。在各曲線圖中，空心圓表在使用一定濃度範圍內之抗TMPRSS6抗體之結果，且空心方塊表示使用相同濃度之小鼠IgG作為陰性對照之結果。圖3A至3C展示使用細胞表面ELISA (量測HRP標記之二級抗體)以量測MWTx-001 (圖3A)、MWTx-002 (圖3B)及MWTx-003 (圖3C)與人類TMPRSS6之結合的結果，其中針對各抗體所計算的EC_{50}值用作結合親和力之評估。圖3D至3F展示使用FACS (量測APC結合之二級抗體)以量測MWTx-001 (圖3D)、MWTx-002 (圖3E)及MWTx-003 (圖3F)與人類TMPRSS6之結合的結果，其中針對各抗體所計算的EC_{50}值用作結合親和力之評估。圖3G至3M展示使用Octet® RED96e測定針對人類ecto-TMPRSS6-FLAG之抗TMPRSS6抗體親和力及結合動力學的結果，其中分析物濃度為50nM、25nM、12.5nM、6.25nM、3.13nM、1.56nM及0.78nM。圖3G展示MWTx-001抗TMPRSS6抗體針對ecto-TMPRSS6-FLAG之結合動力學。圖3H展示MWTx-002抗TMPRSS6抗體針對ecto-TMPRSS6-FLAG之結合動力學。圖3I展示MWTx-003抗

TMPRSS6抗體針對ecto-TMPRSS6-FLAG之結合動力學。圖3J展示hzMWTx-001Var抗TMPRSS6抗體針對ecto-TMPRSS6-FLAG之結合動力學。圖3K展示hzMWTx-002Var抗TMPRSS6抗體針對ecto-TMPRSS6-FLAG之結合動力學。圖3L展示hzMWTx-003Var抗TMPRSS6抗體針對ecto-TMPRSS6-FLAG之結合動力學。圖3M概述所有抗TMPRSS6抗體之親和力量測值。

圖4A至4U展示抗TMPRSS6抗體之交叉反應性之測定結果。圖4A至4I展示抗TMPRSS6抗體MWTx-001、MWTx-002及MWTx-003針對HEK293T細胞上表現之人類TMPRSS6及非人類TMPRSS6之交叉反應性的測定結果。各直方圖展示與表現TMPRSS6目標之HEK293T細胞一起培育之單一抗體的FACS結果(細線及較淺填充；以抗體名稱指示)及與不會表現TMPRSS6蛋白質之對照HEK293T細胞一起培育之相同抗體的FACS結果(粗線，較暗填充；以Ctrl指示)。圖4A至4C展示使用穩定表現人類TMPRSS6 (HuTMPRSS6-$(His)_6$)之HEK293T細胞與MWTx-001 (圖4A)、MWTx-002 (圖4B)及MWTx-003 (圖4C)的結果。圖4D至4F展示使用穩定表現小鼠TMPRSS6 (MoTMPRSS6-$(His)_6$)之HEK293T細胞與MWTx-001 (圖4D)、MWTx-002 (圖4E)及MWTx-003 (圖4F)的結果。圖4G至4I展示使用瞬時表現食蟹獼猴TMPRSS6 (CynoTMPRSS6-$(His)_6$)之HEK293T細胞與MWTx-001 (圖4G)、MWTx-002 (圖4H)及MWTx-003 (圖4I)的結果。圖4J至4U展示抗TMPRSS6抗體針對HEK293T細胞上表現之非人類(小鼠(圖4J、圖4L、圖4N、圖4P、圖4R、圖4T)或食蟹獼猴(圖4K、圖4M、圖4O、圖4Q、圖4S、圖4U)) TMPRSS6之交叉反應性的結果，使用細胞表面ELISA (量測HRP標記之二級抗體)以量測MWTx-001抗

TMPRSS6抗 體(圖4J至4K)、MWTx-002抗TMPRSS6抗 體(圖4L至4M)、MWTx-003抗TMPRSS6抗 體(圖4N至4O)、hzMWTx-001Var抗TMPRSS6抗 體(圖4P至4Q)、hzMWTx-002Var抗TMPRSS6抗 體(圖4R至4S)及hzMWTx-003Var抗TMPRSS6抗 體(圖4T至4U)與 非 人 類TMPRSS6之 結合。在各曲線圖中，空心圓表示使用抗TMPRSS6抗體之結果，且空心方塊表示小鼠IgG或人類IgG1作為陰性(非特異性結合)對照之結果，其中針對各抗體所計算的EC_{50}值用作結合親和力之評估。

圖5A至5R展 示 抗TMPRSS6單 株 抗 體MWTx-001 (圖5A至5C)、MWTx-002 (圖5D至5F)、MWTx-003 (圖5G至5I)抗TMPRSS6抗體及其人類 化 變 異 體hzMWTx-001Var (圖5J至5L)、hzMWTx-002Var (圖5M至5O)、hzMWTx-003Var (圖5P至5R)抗TMPRSS6抗體與表現同源間質蛋白酶之HEK293T細胞之結合的FACS分析之結果。穩定表現人類TMPRSS6(間質蛋白酶-2)之HEK293T細胞(圖5A、圖5D、圖5G、圖5J、圖5M、圖5P)用作陽性對照，且過度表現間質蛋白酶(ST14) (圖5B、圖5E、圖5H、圖5K、圖5N、圖5Q)及/或間質蛋白酶-3 (TMPRSS7) (圖5C、圖5F、圖5I、圖5L、圖5O、圖5R)蛋白質之HEK293T細胞用於測試與同源間質蛋白酶之結合。在各圖(圖5A至5R)中，未表現間質蛋白酶(HEK293T)之HEK293T細胞用作陰性對照，其中明確指示對照(Ctrl)結果。

圖6A至6L展示抗TMPRSS6抗體治療以劑量依賴性方式增加小鼠中之鐵調素表現。圖6A至6C展示MWTx-003抗TMPRSS6抗體(圖6A至6B)或其人類化變異體hzMWTx-003Var抗TMPRSS6抗體(圖6C)對血清鐵之影響。圖6D展示GFP-TMPRSS6對血清鐵調素之影響。圖6D至6F展示MWTx-003抗TMPRSS6抗 體(圖6D至6E)或 其 人 類 化 變 異 體hzMWTx-

003Var抗TMPRSS6抗體(圖6F)對血清鐵之影響。圖6G展示GFP-TMPRSS6對肝臟鐵調素RNA之影響。圖6G至6I展示MWTx-003抗TMPRSS6抗體(圖6G至6H)或其人類化變異體hzMWTx-003Var抗TMPRSS6抗體(圖6I)對肝臟鐵調素RNA之影響。圖6J至6L展示MWTx-003抗TMPRSS6抗體(圖6J至6K)或其人類化變異體hzMWTx-003Var抗TMPRSS6抗體(圖6L)之血清濃度。小鼠IgG2b (MoIG2b) (圖6A至6B、圖6D至6E、圖6G至6H、圖6J至6K)或人類IgG1 (HuIGg1) (圖6C、圖6F、圖6I、6L)用作同型對照，PBS用作媒劑對照，且GFP載體用作載體對照(圖6A、6D、6G、6J)。

圖7A至7R展示使用β-地中海型貧血小鼠模型之抗TMPRSS6抗體之活體內功效。圖7A至7D展示使用Th3/+小鼠，MWTx-003抗TMPRSS6抗體對RBC (圖7A)、HGB (圖7B)、HCT (圖7C)及RDW (圖7D)之影響。圖7E展示使用Th3/+小鼠，MWTx-003抗TMPRSS6抗體對脾臟重量之影響。圖7F展示使用Th3/+小鼠，MWTx-003抗TMPRSS6抗體對血清鐵之影響。圖7G展示使用Th3/+小鼠，MWTx-003抗TMPRSS6抗體對肝臟非原血紅素鐵之影響。圖7H展示使用Th3/+小鼠，MWTx-003抗TMPRSS6抗體對血清鐵調素之影響。圖7I展示使用Th3/+小鼠，MWTx-003抗TMPRSS6抗體對肝臟鐵調素RNA之影響。圖7J展示使用Th3/+小鼠，MWTx-003抗TMPRSS6抗體之血清濃度。圖7L至7M展示使用來自Th3/+小鼠之骨髓，MWTx-003抗TMPRSS6抗體對紅血球生成之影響。圖7O至7P展示使用來自Th3/+小鼠之脾細胞，MWTx-003抗TMPRSS6抗體對紅血球生成之影響。圖7K至7P中之代表性曲線圖展示四種不同細胞叢(I：嗜鹼性紅血球母細胞；II：多染性紅血球母細胞；III：正染性紅血球母細

胞及無核網狀紅血球及IV：成熟紅血球)且突出顯示其對應的細胞數目百分比。野生型小鼠用作陽性對照(圖7A至7J、圖7K、圖7N)，且小鼠IgG2b (MoIgG2b)用作治療中之同型對照(圖7A至7J、圖7L、圖7O)。圖7Q至7R中之條形圖展示4週之後各治療方案(WT、Th3/+ w/ MoIgG2b、Th3/+ w/ MWTx-003)之骨髓(圖7Q)及脾臟(圖7R)中之細胞叢I、II、III及IV的平均結果，其中比較允許鑑別各群體之轉變，最值得注意地，在MWTx-003治療之後轉變為成熟紅血球(叢集IV)。

圖8A至8D展示使用Octet® RED96e，MWTx-001、MWTx-002及MWTx-003抗TMPRSS6抗體針對人類ecto-TMPRSS6-FLAG之抗原決定基分組(binning)的結果。圖8A展示MWTx-001抗TMPRSS6抗體針對ecto-TMPRSS6-FLAG之抗原決定基分組。圖8B展示MWTx-002抗TMPRSS6抗體針對ecto-TMPRSS6-FLAG之抗原決定基分組。圖8C展示MWTx-003抗TMPRSS6抗體針對ecto-TMPRSS6-FLAG之抗原決定基分組。圖8D概述MWTx-001、MWTx-002及MWTx-003抗TMPRSS6抗體之締合信號。

【實施方式】

【0029】

相關申請案

本申請案主張2020年4月7日申請之標題為「Anti-TMPRSS6 Antibodies and Uses Thereof」之美國臨時申請案第63/006,695號，及2021年3月8日申請之標題為「Anti-TMPRSS6 Antibodies and Uses Thereof」之美國臨時申請案第63/158,265號的優先權，其中之每一者的全部內容特此以全文引用之方式併入。

【0030】

序列表

本申請案含有序列表，該序列表已以ASCII格式以電子方式提交且特此以全文引用之方式併入。該ASCII複本創建於2021年3月29日，名為1121-101PCT_SL.txt且大小為132,677位元組。

【0031】 本發明係關於結合TMPRSS6之新穎抗體及其抗原結合片段，及製備及使用其之方法。

【0032】

術語/定義

除非另外定義，否則結合本發明使用之科學及技術術語應具有一般熟習此項技術者通常理解之含義。除非上下文另外明確規定，否則單數術語之使用(「一(a/an)」或「該(the)」或其他單數術語之使用)包括複數個參考物，且複數術語應包括單數。因此，舉例而言，提及「抗體」包括「一或多種」抗體或「複數種」此類抗體。

【0033】 一般而言，熟習此項技術者可利用之分子生物學、微生物學、細胞及組織培養、蛋白質及核苷酸化學方法，及重組DNA技術之命名法及技術可用於本文所揭示之抗體、抗原結合片段、組合物及方法。本文所描述之技術及程序通常根據此項技術中熟知之習知方法且如各種一般性及更特定參考文獻(尤其Sambrook等人(1989)MOLECULAR CLONING: A LABORATORY MANUAL (第2版, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y.)及Ausubel等人(1994) CURRENT PROTOCOLS IN MOLECULAR BIOLOGY, 第I-III卷(John Wiley & Sons, N.Y.))中所描述來進行。除非在本文中另外說明，否則酶促反應及純化技術係根據製造商之說明書或如此項技術中通常所實現或如

本文所描述來進行。使用習知命名法在本文中描述用於醫藥製劑及調配物以及治療個體之技術及方法。

【0034】「抗體」最廣義而言係指經由一或多個免疫球蛋白可變區識別且結合至抗原之多肽或多肽組合，其中免疫球蛋白可變區可為天然存在或非天然存在的，例如由於工程改造、嵌合、人類化、最佳化、CDR接枝或親和力成熟。

【0035】如本文所揭示之「抗體」可為整個(完整、全長)抗體、單鏈抗體或具有一條或兩條鏈之抗原結合片段，且可為天然存在及非天然存在的。抗體包含至少足夠的互補決定區(CDR)，其穿插有構架區(FR)，用於抗體識別且結合至抗原。本文所揭示之抗TMPRSS6抗體可為(但不限於)以下中之至少一者：單株抗體、多株抗體、人類化抗體、嵌合抗體、單鏈抗體、Fab片段、單鏈可變片段(scFv)、適體、單域抗體(VHH或奈米抗體)、重組抗體、具有連接至抗體之肽/其他部分及/或添加至N端或C端之額外胺基酸的經修飾之抗體，或其他TMPRSS6結合片段或變異體。全抗體、全長抗體、完整抗體、天然存在之抗體或等效術語應理解為係指包含藉由二硫鍵互連之至少兩條重鏈(HC)及兩條輕鏈(LC)的多肽，尤其係醣蛋白。各HC包含重鏈可變區(VH)及HC恆定區(CH)，且各輕鏈包含輕鏈可變區(VL)及LC恆定區(CL)。HC及LC可變區(VH及VL)包括與抗原相互作用之結合域。VH及VL區可進一步細分為藉由高變性表徵之CDR區，穿插有通常更保守之FR區。各VH及VL通常由按以下次序自胺基端至羧基端排列之三個CDR及四個FR構成：FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。抗體之恆定區可介導免疫球蛋白與宿主組織或因子之結合，包括免疫系統及典型補體系統之各種細胞。通常，抗體包含至少重鏈

(HC) CDR1、CDR2及CDR3，及輕鏈(LC) CDR1、CDR2及CDR3序列，其中此等序列中之任一者可為天然或非天然存在的。抗體可包含較少CDR序列，只要抗體可識別且結合抗原即可。

【0036】 本文所揭示之抗TMPRSS6抗體可為包含至少一個改變之CDR或構架序列的變異體，其中CDR及/或構架序列可藉由使編碼此類構架序列之核酸分子突變而最佳化。變異體可藉由獨立地衍生自不同源之HC及LC部分構築。用於產生變異體之技術包括(但不限於)保守胺基酸取代、電腦建模、單獨或組合篩選候選多肽及密碼子優化，且應理解，熟練人員能夠視需要產生抗體變異體。本文所揭示之抗TMPRSS6抗體可為片段。抗體之抗原結合功能可藉由諸如以下之片段進行：Fab片段；單價片段，其由VL、VH、CL及CH1域組成；$F(ab)_2$片段；二價片段，其包含在鉸鏈區藉由雙硫橋鍵連接之兩個Fab片段；Fd片段，其由VH及CH1域組成；單鏈可變片段(scFv)，其由抗體之單臂之VL及VH域組成；單域抗體(dAb)片段，其由VH域組成；及經分離之CDR (VHH，奈米抗體)，或適體。抗原結合部分可併入至單域抗體、最大抗體、微型抗體、奈米抗體、胞內抗體、雙功能抗體、三功能抗體、四功能抗體、v-NAR及雙-scFv中(參見例如Hollinger及Hudson, 2005, Nature Biotechnology, 23, 9, 1126-1136)。抗體之抗原結合部分可接枝至基於多肽之骨架中以形成單功能抗體(參見例如美國專利第6,703,199號，其描述纖維結合蛋白多肽單功能抗體)。

【0037】 術語抗體涵蓋各種廣泛類別之多肽，其可以生物化學方式區分。抗體之「類別」係指其重鏈所具有之恆定域或恆定區的類型。熟習此項技術者理解，存在五種主要類別之抗體，即IgA、IgD、IgE、IgG及

IgM，此等中之數種可進一步劃分為亞類(同型)，例如IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1及IgA2，其中之每一者經充分表徵且已知賦予功能特異性。此等類別及同型中之每一者的經修飾形式可容易地辨別且在本發明之範疇內。儘管所有免疫球蛋白類別皆在本發明之範疇內，但本發明將主要針對IgG類免疫球蛋白分子。

【0038】 術語「嵌合」抗體係指其中參與形成免疫反應性位點之重鏈(HC)及/或輕鏈(LC)之一部分衍生自特定來源或物種，而HC及/或LC之其餘部分衍生自不同來源或物種的抗體。在某些實施例中，目標結合區或位點將來自非人類來源(例如，小鼠或非人類靈長類動物)，且恆定區為人類。

【0039】 如本文所使用，片語「人類化抗體」係指衍生自非人類抗體(通常為小鼠單株抗體)之抗體或抗體變異體，其中來自親本、非人類抗體之CDR在包含衍生自人類免疫球蛋白構架(尤其係受體人類構架或人類共同構架)之可變區的構架中接枝(稠合)。用於設計、製備及測試人類化抗體之技術及原理為已知的(Jones PT, Dear PH, Foote J, Neuberger MS, Winter G.Replacing the complementarity-determining regions in a human antibody with those from a mouse. *Nature*. 1986年5月29日-6月4日;321(6069):522-5；Almagro JC, Fransson J. Humanization of antibodies. *Front Biosci.* 2008年1月1日;13:1619-33)。應理解，可對多個位置處之受體架構進行改變以便產生根據所需用途具有改良特徵(例如針對目標之高親和力、低清除率、低毒性等)之人類化抗體。本文所揭示之抗TMPRSS6抗體可為人類化變異體。

【0040】 「親和力」係指分子(例如，抗體)之單個結合位點與其結

合配偶體(例如，抗原)之間的非共價相互作用之總和的強度。除非另外指示，否則如本文所使用，「結合親和力」係指反映結合對(例如，抗體與抗原)成員之間1:1相互作用之固有結合親和力。可藉由此項技術中已知之常用方法(包括本文所描述之彼等方法)來量測親和力。最大結合之約50%時之計算濃度(所計算之EC_{50})可用作親和力之評估。分子X對其配偶體Y之親和力可通常由解離常數(Kd或KD，表示針對相互作用所量測之k_{off}/k_{on})表示。

【0041】「個體」為哺乳動物，其中哺乳動物包括(但不限於)靈長類動物(例如，人類及非人類靈長類動物，諸如猴)、馴養動物(例如，牛、綿羊、貓、狗、豬、駱馬及馬)、家兔及嚙齒動物(例如，小鼠及大鼠)。在某些實施例中，個體為人類。片語「向有需要之個體」或「向有需要之患者」或「向需要治療之患者」或「需要治療之個體」可包括將得益於投與本文所揭示之抗TMPRSS6抗體以治療鐵過載病症的個體。應理解，投與抗TMPRSS6抗體涵蓋基於諸如症狀、家族病史或基因型之指標向「有需要之個體」 (可解釋為指代已知或疑似患有鐵過載病症(尤其係β-地中海型貧血)之個體)投與。應進一步理解，出於可包括(但不限於)預防性或防治性目的、篩選、診斷、研究目的或達成不同於治療病症之結果的目的，可向尚未知曉或疑似患有鐵代謝病症之個體投與抗TMPRSS6抗體。

【0042】例如醫藥調配物中之抗TMPRSS6抗體之「有效量」係指在必需劑量下且持續必需時間段以有效達成所需治療或防治結果之量。應理解，「有效量」意欲指抗TMPRSS6抗體或包含抗TMPRSS6抗體之醫藥組合物之量，其將引起對細胞、組織、系統、非人類動物個體、非人類哺

乳動物個體或所量測之人類個體的生物反應或所需治療效果。術語「治療有效量」、「藥理學上有效量」及「生理學上有效量」可互換使用以指代在血流中或在目標組織中提供臨限水準之活性劑所需的抗TMPRSS6抗體之量。精確量將取決於諸多因素，例如特定抗TMPRSS6抗體(活性劑)；組合物之組分及物理特性；待治療之個體/患者之意欲群體；諸如疾病病況、年齡、性別及個體重量之考慮因素及類似者，且可容易地藉由熟習此項技術者基於本文所提供或相關文獻中以其他方式可獲得之資訊確定。如此上下文中所使用，術語「改善」、「增加」或「減少」指示相對於基線量測值之值或參數，諸如在開始本文所描述之治療之前相同個體的量測值，或在不存在本文所描述之治療的情況下對照個體(或多個對照個體)之量測值。

【0043】 術語「醫藥組合物」或「醫藥調配物」係指呈允許其中所含之活性成分之生物活性有效的此類形式之製劑，尤其係抗TMPRSS6抗體。應理解，醫藥組合物可含有超過一種活性成分，例如超過一種抗TMPRSS6抗體，或抗TMPRSS6抗體與作用於不同目標之另一活性成分的組合，其中此類組合可為(但不限於)抗TMPRSS6抗體與對造血過程(尤其係紅血球生成)具有所需效果之另一活性成分的組合、抗TMPRSS6抗體與基因治療劑(諸如實施靶向HBB基因之基因療法的藥劑)之組合，或抗TMPRSS6抗體與靶向TGF超家族配位體以刺激紅血球生成之Fc融合蛋白的組合。「醫藥學上可接受之載劑」係指醫藥調配物中之除活性成分以外之對個體無毒的成分。應理解，醫藥學上可接受之載劑可為(但不限於)緩衝液、賦形劑、穩定劑、佐劑或防腐劑。

【0044】 如本文所使用，術語「治療(treat/treating)」或類似術語

可指認為在所限定情形組中對特定個體有益之結果。治療鐵代謝病症可不僅指減少、緩解、減緩、中斷、遏制、減輕、停止或逆轉現有症狀、病症、病況或疾病之進展或嚴重程度中之任一者，且可進一步涵蓋預防或延遲一或多種鐵過載病症之症狀的發作，及/或減輕一或多種鐵過載病症之症狀的嚴重程度或頻率。術語「治療」或「治療方法」或等效物可涵蓋本文所揭示之抗TMPRSS6抗體之一或多個用途，包括(但不限於)治療性、防治性、預防性、診斷性、成像及篩選用途。

【0045】 如本文所使用，術語「載體」係指能夠在引入載體之宿主細胞中傳播載體序列所連接之核酸的核酸分子。能夠導引其以操作方式連接之核酸之表現的載體在本文中稱為「表現載體」。

抗TMPRSS6抗體

【0046】 提供能夠結合細胞表面上之TMPRSS6且調控參與鐵代謝之至少一種組分(尤其係參與與對鐵調素表現之異常抑止相關的鐵過載病症之至少一種組分)之活性的抗體及抗原結合片段。能夠結合細胞表面上之TMPRSS6且調控參與調節鐵調素表現之至少一種組分之活性的抗TMPRSS6抗體可用於治療與對鐵調素表現之異常抑止相關之鐵過載病症的方法中。能夠結合細胞表面上之TMPRSS6且調控TMPRSS6對鐵調素表現之抑止的抗TMPRSS6抗體可用於在用於治療與對鐵調素表現之異常抑止相關之鐵過載病症的方法中治療學上靶向TMPRSS6。

【0047】 一旦已獲得對TMPRSS6 (尤其係細胞表面上表現之人類TMPRSS6)具特異性之抗體或片段，則可藉由熟練人員已知的數種方法測試調控參與其鐵代謝之至少一種組分之活性的所需生物活性。

【0048】 應理解，如本文所使用，「調控(modulate/modulating)」

或類似術語可指可在本文所揭示之抗TMPRSS6抗體結合其目標時產生之一或多個效應。視考慮中之組分而定，「調控」及其等效詞可指不同的作用模式及影響，亦即，調控可指中和、逆轉、抑制、阻斷、減少、拮抗或以其他方式干擾參與鐵代謝之某些組分的活性，而對於參與鐵代謝之其他組分，術語調控可指增加、增強或對此等組分具有促效劑作用。

【0049】 應理解，術語「組分」不僅可指目標分子TMPRSS6，且亦可指參與鐵代謝之下游過程或路徑。因此，過程或路徑之含義內之組分可為(但不限於)調節鐵調素表現、TMPRSS6對鐵調素表現之抑止、鐵調素表現之過程、調節鐵調素含量、增加鐵調素含量、鐵調素啟動子之活性或TMPRSS6對BMP/SMAD路徑誘導之鐵調素表現之抑止、調節肝臟非原血紅素鐵含量、參與脾腫大之一或多個過程，或參與調節紅血球計數(RBC)、血容比(HCT)、紅血球分佈寬度(RDW)及紅血球生成(尤其係成熟紅血球之產生)的一或多個造血過程。

【0050】 如本文所揭示之抗TMPRSS6抗體可用於治療學上靶向參與鐵代謝之至少一種組分，尤其係參與鐵過載病症之至少一種組分。在某些實施例中，如本文所揭示之抗TMPRSS6抗體可用於治療學上靶向參與調節鐵調素表現之至少一種組分，且調控組分之活性以實現增加之鐵調素表現。在某些實施例中，如本文所揭示之抗TMPRSS6抗體可用於調控鐵調素啟動子之活性以實現增加之鐵調素表現。應理解，如本文所揭示之抗TMPRSS6抗體可用於治療學上靶向TMPRSS6且藉此調控鐵調素表現之其他組分的下游活性，包括(但不限於)調節肝臟非原血紅素鐵含量、參與脾腫大之一或多個過程，或參與調節紅血球計數(RBC)、血容比(HCT)、紅血球分佈寬度(RDW)及紅血球生成(尤其係成熟紅血球之產生)的一或多個

造血過程。

【0051】 使用如本文所揭示之抗TMPRSS6抗體以治療學上靶向參與鐵代謝之至少一種組分，允許精確調控靶向組分。應理解，藉由使用如本文所揭示之抗TMPRSS6抗體以精確靶向TMPRSS6及其對參與調節鐵調素表現之至少一種組分的下游作用，有可能避免不合需要之作用、遞送困難及/或有效性，及與目前正在使用或處於開發中之治療鐵過載病症的其他方法相關之調節障礙，例如可進一步加重鐵過載之輸血、患者順應性不佳之鐵螯合、僅控制症狀之侵入性靜脈切開術或脾切除術、在多個系統中具有潛在的永久性多效性作用之靶向*HBB*基因的基因療法、具有未知脫靶作用之基因療法及基因編輯、靶向TGF超家族配位體以抑制不會降低對控制鐵過載之鐵螯合療法所需要的SMAD信號傳導之Fc融合蛋白，及難以控制或遞送諸如鐵調素模擬物及靶向*TMPRSS6*之反義或iRNA藥物的其他方法。應理解，使用抗TMPRSS6抗體以精確治療性靶向不排除在用於組合治療之方法及組合物中使用抗TMPRSS6抗體的可能性，例如與作用於不同目標之另一活性成分的組合、與結合不同目標之抗體的組合、與靶向*HBB*基因之基因治療劑及方法的組合，或與靶向TGF超家族配位體以刺激紅血球生成之Fc融合蛋白的組合。

【0052】 本文所揭示之抗TMPRSS6抗體允許開發可針對各個體定製之治療(例如，劑量、投藥頻率)，其中其可容易繼續且中止，且與其他療法組合。在某些戰略實施例中，本文所揭示之抗TMPRSS6抗體可與可解決多個治療目標及/或解決組合療法中之療法中之一者的不足或不良作用之其他療法組合。

【0053】

抗TMPRSS6抗體及其用途之例示性實施例

本發明之抗TMPRSS6抗體之非限制性例示性實施例目前(特定言之)揭示於實例、表及圖式中。

【0054】

能夠結合TMPRSS6之抗體

如實例中所證明，功能性級聯可用於鑑別且表徵本發明之抗TMPRSS6抗體，其中級聯中之第一步驟包括篩選能夠與表現TMPRSS6之細胞表面上之人類TMPRSS6結合的抗體(實例1，圖1)，隨後進行第二步驟以鑑別能夠與表現TMPRSS6之細胞表面上的人類TMPRSS6結合且調控參與鐵代謝之組分之活性的抗體，在此情況下測試增加鐵調素(HAMP)啟動子活性之能力(實例2)。如藉由圖1中所展示之例示性實施例所表明，第一步驟鑑別出143種能夠與表現TMPRSS6之細胞類表面上之人TMPRSS6結合的抗體(純系)，且第二步驟鑑別出十(10)種抗體(自143種篩選出)作為能夠增加鐵調素(HAMP)啟動子活性之「活性」抗體(純系)。

【0055】 在功能性級聯之第三步驟中(圖1)，測試十(10)種「活性」抗體與來自將與進一步研究相關之來源的非人類TMPRSS6目標之交叉反應性，即測試與小鼠模型中之臨床前功效研究相關之小鼠TMPRSS6的交叉反應性，及測試與毒性(安全性)試驗相關之食蟹獼猴TMPRSS6的交叉反應性。如藉由圖1中所展示、實例4中所證實及圖4中所說明之例示性實施例所表明，三(3)種純系(自10種篩選出)展示與至少一種非人類TMPRSS6之交叉反應性，且命名為MWTx-001、MWTx-002及MWTx-003。對單株抗體中之每一者進行定序且鑑別各HC及LC上之CDR (Kabat編號)。HC及LC序列鑑別為如下：MWTx-001 (SEQ ID NO: 61 (HC)及63

(LC))；MWTx-002 (SEQ ID NO: 65 (HC)及67 (LC))；及MWTx-0039SEQ ID NO: 69 (HC)及71 (LC))。產生MWTx-001單株抗體之融合瘤細胞株已以ATCC寄存編號PTA-126759進行寄存。產生MWTx-002單株抗體之融合瘤細胞株已以ATCC寄存編號PTA-126760進行寄存。產生MWTx-003單株抗體之融合瘤細胞株已以ATCC寄存編號PTA-126761進行寄存。

【0056】

人類化變異體

當向人類個體投與時，預期包含接枝至人類衍生抗體構架中之衍生自非人類來源之CDR的人類化抗體為非免疫原性的。如藉由實例2中所揭示之例示性實施例所表明，成功地產生、測試、最佳化且選擇人類化抗TMPRSS6抗體變異體。研發出多個候選HC及LC變異體，其中各HC或LC變異體具有相同CDR序列，但可變區構架序列可在超過90%之構架位置處變化，且此等變異體在不同的HC/LC組合中測試以鑑別具有所需特徵之組合。在初始設計及測試之後，選擇展示所需抗原結合親和力之變異體以用於進一步評估及開發，包括(但不限於)修飾一些親本CDR序列以避免潛在不合需要之事件，諸如天冬胺酸異構化，及修飾一些恆定區(Fc)以實現所需功能，諸如使抗體依賴性細胞的細胞毒性(ADCC)最小化，以達成人類化變異體hzMWTx-001Var (SEQ ID NO: 73 (HC)及75 (LC))、hzMWTx-002Var (SEQ ID NO: 77 (HC)及79 (LC))及hzMWTx-003Var (SEQ ID NO: 81 (HC)及83 (LC))。

【0057】

增加鐵調素啟動子活性之抗TMPRSS6抗體

如本文所揭示，用於治療藉由鐵調素表現降低表徵之鐵過載病症的

抗體可調控參與鐵調素表現之至少一種組分之活性，其中組分可為鐵調素啟動子之活性。如藉由使用實例2中所揭示之活體外分析的例示性實施例所表明，抗TMPRSS6抗體MWTx-001、MWTx-002、MWTx-003、hzMWTx-001Var、hzMWTx-002Var及hzMWTx-003Var以劑量依賴性方式增加HAMP啟動子活性(圖2A至2F)，而相同濃度下之同型對照物不會增加HAMP啟動子活性。

【0058】

在相關生物學背景下對目標具有高親和力之抗TMPRSS6抗體

抗TMPRSS6抗體展示對生物學上適當之目標(亦即，細胞表面上表現之人類TMPRSS6)之高親和力。如藉由使用實例3及圖3M中所揭示之三種不同方法量測親和力的例示性實施例所表明，單株抗體MWTx-001、MWTx-002及MWTx-003以及人類化變異體hzMWTx-001Var、hzMWTx-002Var及hzMWTx-003Var一致地展現對治療學上有效的抗體或抗體片段的有利親和力特性。

【0059】

與非人類目標具有交叉反應性之抗TMPRSS6抗體

期望治療上有用之抗體或抗體片段與來自將與進一步研究(諸如臨床前功效研究、疾病之動物模型、毒理學研究等)相關之來源之非人類目標(非人類同源物)具有足夠的交叉反應性，使得抗體或抗體片段應識別例如小鼠同源物及/或靈長類動物同源物，諸如來自食蟹獼猴。如藉由實例4中所揭示之例示性實施例所表明，MWTx-001、hzMWTx-001Var、MWTx-003及hzMWTx-003Var展示與小鼠TMPRSS6之可偵測交叉反應性，而MWTx-001、MWTx-002、MWTx-003、hzMWTx-001Var、hzMWTx-

002Var及hzMWTx-003Var展示與食蟹獼猴TMPRSS6之可偵測交叉反應性。

【0060】

抗TMPRSS6抗體特異性結合TMPRSS6 (間質蛋白酶-2)

預期在相同生物體中與目標蛋白具有高特異性結合水準且與同源蛋白具有低交叉反應性之抗體具有降低的脫靶效應或無脫靶效應。此處所提供之抗TMPRSS6抗體展示對人類TMPRSS6 (間質蛋白酶-2)之高特異性，從而使其適用於靶向組合物及方法中。如藉由實例5中所揭示且圖5A-R中所說明之例示性實施例所表明，單株抗體MWTx-001、MWTx-002及MWTx-003及其人類化變異體hzMWTx-001Var、hzMWTx-002Var及hzMWTx-003Var展示與人類TMPRSS6 (間質蛋白酶-2)之特異性結合，且未展示與同源人類間質蛋白酶之可偵測交叉反應性，亦即此等抗體未展示與間質蛋白酶-1 (ST14)或間質蛋白酶-3 (TMPRSS7)的可偵測結合。

【0061】

對與鐵過載病症相關之激素及症狀具有活體內劑量依賴性影響的抗TMPRSS6抗體

預期可增加血清鐵調素(控制鐵吸收且自鐵儲存動員之激素)之含量的抗體減少、改善或預防鐵過載病症之症狀，尤其減少、改善或預防血清鐵含量升高之症狀。如藉由實例6中所展示之例示性實施例所表明，向野生型個體(亦即尚未知曉或疑似患有鐵過載之個體)投與抗TMPRSS6單株抗體MWTx-003或人類化變異體hzMWTx-003Var導致相比於同型對照，血清鐵調素含量增加(圖6A至6C)、血清鐵含量降低(圖6D至6F)及肝臟鐵調素RNA含量增加(圖6G至6I)。此等作用為劑量依賴性，其可解釋為指示在

不希望受作用機制束縛之情況下，抗TMPRSS6抗體之劑量依賴性活體內作用指示熟練人員可測定給定個體之有效量(劑量)。

【0062】

在β-地中海型貧血疾病模型中具有活體內功效之抗TMPRSS6抗體

預期在向展現疾病之動物模型的個體(亦即，已知或疑似患有鐵過載病症之個體)投與時可活體內減輕一或多種鐵過載病症之症狀的抗體及抗體片段對臨床用途具有治療有效性。如藉由使用β-地中海型貧血之Th3/+小鼠模型之實例7中所展示的例示性實施例所表明，與同型對照相比，投與抗TMPRSS6單株抗體MWTx-003會產生多種效應，包括(但不限於)減少肝臟非原血紅素鐵、增加血清鐵調素、增加肝臟鐵調素RNA、減少脾腫大、增加紅血球計數(RBC)、增加血容比(HCT)、減少紅血球分佈寬度(RDW)及增加成熟紅血球之產生(紅血球生成增加)。此等效應中之每一者可理解為改善病症之症狀。病症之症狀顯現於多個生物系統中，其包括(但不限於)在肝臟中之影響(對肝臟非原血紅素鐵、肝臟鐵調素RNA之影響)、在血液中之影響(對血清鐵含量、循環激素含量，尤其係血清鐵調素含量、RBC、HCT、RDW之影響)、脾臟大小及功能之影響(脾腫大)，及在包括(但不限於)骨髓及脾臟之多個部位中之紅血球生成(對不同前驅體細胞類型之豐度及紅血球生成部位中之成熟紅血球的豐度的影響)。投與抗TMPRSS6抗體會改善整個疾病模型個體中之多種症狀，從而使所量測症狀水準自疾病模型(未治療的疾病)之同型對照中所見之水準偏移且朝向野生型同胎仔畜中所見之水準，該等水準表示尚未知曉或疑似患有疾病之基因類似個體中的正常水準。在不希望受理論或作用機制束縛之情況下，應理解，無效紅血球生成為異常鐵調素抑止之驅動力，導致增加之鐵吸收

及鐵過載，使得改善紅血球母細胞分化及成熟為紅血球之治療應在治療學上有益於治療鐵過載病症。本發明非限制性例示性實施例揭示一種抗TMPRSS6抗體療法，其增加紅血球母細胞分化及成熟為紅血球且亦減少鐵負載。

【0063】

組合物

提供包含具有安全且有效量之本發明的抗TMPRSS6抗體及適用於各組合物之預期用途之醫藥學上可接受之載劑或賦形劑的組合物。此類載劑包括(但不限於)：鹽水、緩衝液、葡萄糖、水、甘油、乙醇、賦形劑、穩定劑、防腐劑或其組合。應理解，醫藥製劑應匹配投藥模式。

【0064】本文所揭示之抗TMPRSS6抗體可藉由任何適合手段投與，包括(但不限於)注射或非經腸輸注。非經腸輸注可包括肌肉內、靜脈內、動脈內、腹膜內、皮下投藥或非經腸遞送至肝臟。本文所揭示之抗TMPRSS6抗體可經調配用於引入至肝臟組織或血管結構中以局部遞送至目標組織。本文所揭示之抗TMPRSS6抗體可使用裝置，或以儲槽形式，或以持續釋放製劑形式(例如，含有抗體之固體疏水性聚合物的半透性基質或微膠囊)投與以允許緩慢及/或經量測及/或局部遞送。本文所揭示之抗TMPRSS6抗體可經調配且使用膠態藥物遞送系統(例如，脂質體、白蛋白微球、微乳液、奈米粒子及奈米膠囊)或以巨乳液形式投與。

【0065】

方法

提供使用有效量之本文所揭示之抗TMPRSS6抗體來治療鐵代謝病症之方法。在不希望受特定作用機制束縛之情況下，所提供之使用本文所揭

示之抗TMPRSS6抗體靶向TMPRSS6的方法會產生多個下游影響，尤其係對參與鐵代謝及紅血球生成之組分(分子、系統、過程)的影響。在不希望受特定作用機制束縛之情況下，提供使用有效量之本文所揭示之抗TMPRSS6抗體以調控參與鐵代謝之組分的活性來治療鐵代謝病症之方法。特定言之，提供用於治療與組織及器官中過量鐵累積相關之鐵過載病症之方法，該等鐵過載病症包括與無效紅血球生成相關或藉由其表徵之病症，其可包括(但不限於) β-地中海型貧血，尤其係非輸血依賴性地中海型貧血、骨髓發育不良症候群(MDS)、紅血球生成不良性貧血及鐵粒幼細胞貧血。在不限於單一作用機制之情況下，提供藉由投與能夠增加鐵調素表現之抗TMPRSS6抗體來治療與低鐵調素含量相關之鐵過載病症(尤其係與受抑止鐵調素表現相關之病症，包括參與鐵調素表現之異常抑止的疾病或狀態)之方法。

【0066】 如本文所提供之用於治療鐵代謝病症之方法包含向有需要之個體投與有效量的本文所揭示之抗TMPRSS6抗體，其中投與有效量之抗TMPRSS6抗體改善與病症相關之至少一種生物作用(症狀)。提供用於治療與受抑止鐵調素含量相關之鐵代謝病症之方法，其中向有需要之個體投與有效量的本文所揭示之抗TMPRSS6抗體導致以下中之至少一者：鐵調素啟動子活性增加、鐵調素轉錄增加、鐵調素RNA含量增加及鐵調素含量(尤其係血清鐵調素含量)增加。提供用於治療已知或疑似患有鐵過載病症之個體之方法，其中投與有效量之抗TMPRSS6抗體導致一或多種生物作用，包括(但不限於)減少肝臟非原血紅素鐵、增加血清鐵調素、增加肝臟鐵調素RNA、減少脾腫大、增加紅血球計數(RBC)、增加血容比(HCT)、減少紅血球分佈寬度(RDW)及增加成熟紅血球之產生(增加紅血

球生成)。提供用於治療已知或疑似患有由無效紅血球生成表徵之鐵過載病症之個體的方法，其中投與有效量之抗TMPRSS6抗體會產生一或多種生物效應，包括(但不限於)減少肝臟非原血紅素鐵、增加血清鐵調素、增加肝臟鐵調素RNA、減少脾腫大、增加紅血球計數(RBC)、增加血容比(HCT)、減少紅血球分佈寬度(RDW)及增加成熟紅血球之產生(增加紅血球生成)。

【0067】 提供治療鐵代謝病症(尤其係鐵過載病症，甚至更特定言之由無效紅血球生成表徵之鐵過載病症)的方法及組合物，其中投與有效量之抗TMPRSS6抗體導致治療或緩解超過一種與病症相關之生物效應或症狀。在不希望受理論或作用機制束縛之情況下，應理解，藉由導致骨髓中產生極少成熟紅血球之紅血球系前驅體細胞凋亡表徵之無效紅血球生成為導致鐵吸收及鐵過載增加之異常鐵調素抑止的驅動力。根據此理解，改善紅血球母細胞分化及成熟為紅血球之治療應在治療學上有益於治療鐵過載病症。抗TMPRSS6抗體療法增加紅血球母細胞分化及成熟為紅血球、降低鐵負載、增加鐵調素表現等之有效性使得使用本文所揭示之抗TMPRSS6抗體之方法及組合物的治療效益最大化。

【0068】 提供以下實例以進行說明，而非限制所主張之發明。

【0069】

實例

實例1：抗體產生及結合TMPRSS6之抗體之鑑別

針對TMPRSS6之新穎單株抗體之產生係在合約下由LakePharma Discovery Immunology小組(LakePharma, Inc. San Carlos, CA)利用活體內嚙齒動物免疫接種及融合瘤技術來進行。使用pLEV113_huTMPRSS6

及pLEV113_moTMPRSS6-TCE質體DNA之混合物(在LakePharma, Inc選殖)，在B6;SJL小鼠(The Jackson Laboratories)中經由流體動力基因轉移尾部靜脈注射進行基於DNA之免疫接種。獲得如藉由螢光活化細胞分選(FACS)所測定之足夠的血漿效價，從而觸發下游抗體回收及篩選活動。使用NEPA GENE ECFG21超級電細胞融合生成器(Nepa Gene Co., Ltd., Ichikawa-City, Chiba, Japan)與來自2隻經免疫小鼠及骨髓瘤融合配偶體之彙集脾細胞進行電融合。將融合材料接種於總共十(10)個384孔盤中之次黃嘌呤-胺基喋呤-胸苷培養基中，該培養基專門選擇未融合骨髓瘤配偶體細胞內之融合瘤。藉由FACS量測首先篩選融合瘤上清液之HuTMPRSS6反應性以偵測在表現TMPRSS6之HEK293T細胞(編碼huTMPRSS6-$(His)_6$之質體(SEQ ID NO: 97)在HEK293T細胞中經轉染，選擇表現TMPRSS6之HEK293T細胞)上產生陽性染色信號且在融合後第10天在親本(HEK293T)上產生陰性染色的上清液。在表現TMPRSS6之HEK293細胞上產生陽性染色信號且在親本上產生陰性染色之融合瘤上清液指定為「命中(hits)」以用於進一步篩選。在初級FACS篩選中鑑別出192個命中且在二級及三級FACS篩選中證實143個命中。

【0070】

實例2.抗TMPRSS6抗體之功能性篩選；單株抗TMPRSS6抗體及人類化變異體之鑑別、產生及定序

HAMP-螢光素酶報導子分析

鐵調素啟動子-螢光素酶報導子分析用於量測*HAMP*啟動子對各種抗TMPRSS6抗體之反應(Du, X.等人, 2008. *Science* 320: 1088-1092；經修飾以使用人類*HAMP*啟動子而非如最初所揭示之小鼠*Hamp*啟動子)。對於

HAMP-螢光素酶報導分析，自編碼螢火蟲螢光素酶之序列上游剪接2.5 kb *HAMP*啟動子片段(參考基因體GRCh38)。由胸苷激酶啟動子(Promega，E6931)驅動之編碼海腎螢光素酶(*Renilla* luciferase)之對照構築體用作內部對照。此等構築體與編碼TMPRSS6之構築體一起共轉染至HepG2細胞(ATCC，HB-8065)中。表現TMPRSS6之經轉染HepG2細胞用各種濃度之稀釋於饑餓培養基中之純化mAb預處理約3小時，該培養基含有最低必需培養基(MEM，ATCC) + 1%熱滅活胎牛血清(FBS，Gibco) + 1mM丙酮酸鈉+非必需胺基酸溶液(Gibco) + 10mM HEPES (Gibco) + 1% Pen/Strep (Gibco)，接著用最終濃度為25-60 ng/mL之重組hBMP6 (R&D Systems)處理以觸發BMP-SMAD介導之信號傳導。純化小鼠IgG (Sigma-Aldrich)或人類IgG1(BioXcell)用作對照。在hBMP6之隔夜處理後，細胞裂解且添加螢光素酶受質。藉由量測總發光來各自記錄來自螢火蟲螢光素酶及海腎螢光素酶之發光讀數。活性經計算為螢火蟲螢光素酶發光與海腎螢光素酶發光之比率(對照)。此等分析之結果展示於圖2A至2F中。

【0071】

活體外功能性篩選

為了篩選功能活性融合瘤，上文所描述之HAMP-螢光素酶報導子分析用於測試所有143種HuTMPRSS6結合融合瘤(「命中」)。143種HuTMPRSS6結合融合瘤中之十(10)種的上清液增加*HAMP*啟動子活性(資料未展示)，且鑑別為「活性純系」以進行進一步測試。測試此等十(10)種活性純系之針對如下文實例4中所描述之鼠類目標MoTMPRSS6的交叉反應性，且三(3)種展示對如藉由FACS所量測之HuTMPRSS6及MoTMPRSS6兩者的結合。此等三種反應交叉性純系以1個細胞/孔之密度進一步接種於384孔盤之192孔中以產生單株融合瘤純系，所得次純系鑑

別為MWTx-001、MWTx-002及MWTx-003，該等次純系展現所需功能活性及針對非人類目標(例如鼠類TMPRSS6 (moTMPRSS6)及/或食蟹獼猴TMPRSS6 (cynoTMPRSS6))之交叉反應性。

[0072]

抗TMPRSS6抗體MWTx-001、MWTx-002及MWTx-003之序列

MWTx-001、MWTx-002及MWTx-003之序列係藉由自各融合瘤樣本分離mRNA、用獨特小鼠IgG特異性引子集實施逆轉錄聚合酶鏈反應(RT-PCR)以擴增目標可變區用於定序來測定。針對各抗TMPRSS6抗體鑑別獨特重鏈及獨特輕鏈。測定各重鏈及各輕鏈之核苷酸序列。測定由核苷酸序列編碼之胺基酸序列，且使用Kabat編號系統鑑別CDR區。表1呈現MWTx-001、MWTx-002及MWTx-003中之每一者的重鏈及輕鏈可變區胺基酸序列，及所鑑別CDR之胺基酸序列(基於Kabat編號)及重鏈及輕鏈可變區核苷酸序列。

表1.抗TMPRSS6單株抗體MWTx-001、MWTx-002及MWTx-003之可變區之序列

MWTx-001

MWTx-001之重鏈：

可變區之蛋白質序列：

QVQLQQPGAELAKPGASVKMSCKASGYTFTSYWITWVKQRPGQDLEWIGNIYPGSGSTYYNEKFKSKATLTVDTSSRTAYMQLSSLTSADSAVYYCAPYDSDYAMDYWGQGTSVTVSS (SEQ ID NO: 1)

HC CDR 1	HC CDR 2	HC CDR 3
GYTFTSYW (SEQ ID NO: 2)	TYPGSGST (SEQ ID NO: 3)	APYDSDYAMDY (SEQ ID NO: 4)

可變區之核苷酸序列：

CAGGTCCAACTGCAGCAGCCTGGGGCTGAGCTTGCGAAGCCTGGGGCTTCAGTGAAGATGTCCTGCAAGGCTTCTGGCTACACCTTCACCAGCTACTGGATAACCTGGGTGAAGCAGAGGCCTGGACAAGACCTTGAGTGGATTGGAAATATTTATCCTGGTAGTGGTAGTACTTACTACAATGAGAAGTTCAAGAGCAAGGCCACACTGACTGTAGACACATCCTCCAGAACAGCCTACATGCAGCTCAGCAGTCTGACATCTGCGGACTCTGCGGTCTATTACTGTGCCCCCTATGATTCCGACTATGCTATGGACTACTGGGGTCAAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO: 5)

表1.抗TMPRSS6單株抗體MWTx-001、MWTx-002及MWTx-003之可變區之序列

MWTx-001之輕鏈：

可變區之蛋白質序列：

DIKMTQSPSSMYASLGERVTITCKASQDINNYLSWFQQKPGKSPKTLIYRANRLVDGVPSRVS
GSGSGQDYSLTISSLEYEDVGIYFCLQYDEFPLTFGAGTKLELK (SEQ ID NO: 6)

LC CDR 1	LC CDR 2	LC CDR 3
QDINNY (SEQ ID NO: 7)	RAN (SEQ ID NO: 8)	LQYDEFPLT (SEQ ID NO: 9)

可變區之核苷酸序列

GACATCAAGATGACCCAGTCTCCATCTTCCATGTATGCATCTCTAGGAGAGAGAGTCACT
ATCACTTGCAAGGCGAGTCAGGACATTAATAACTATTTAAGCTGGTTCCAGCAGAAACCA
GGGAAATCTCCTAAGACCCTGATCTATCGTGCAAACAGATTGGTAGATGGGGTCCCATCA
AGGGTCAGTGGCAGTGGATCTGGGCAAGATTATTCTCTCACCATCAGCAGCCTGGAGTAT
GAAGATGTGGGAATTTATTTTTGTCTACAGTATGATGAGTTTCCTCTCACGTTCGGTGCTG
GGACCAAGCTGGAGCTGAAA (SEQ ID NO: 10)

MWTx-002

MWTx-002之重鏈：

可變區之蛋白質序列：

EVQLQQSGAELVKPGASVKLSCTASGFNIKDYYIHWVKERTEQGLEWFGRIDPEDGESEYAPK
FQGKATITADTSSNTAYLQLSSLTSEDTAVYYCTRGDSMMVTYFDYWGQGTTLTVSSE (SEQ
ID NO: 11)

HC CDR 1	HC CDR 2	HC CDR 3
GFNIKDYY (SEQ ID NO: 12)	IDPEDGES (SEQ ID NO: 13)	TRGDSMMVTYFDY (SEQ ID NO: 14)

可變區之核苷酸序列：

GAGGTTCAGCTGCAGCAGTCTGGGGCAGAACTTGTGAAGCCAGGGGCCTCAGTCAAGTTG
TCCTGCACAGCCTCTGGCTTCAACATTAAAGACTACTATATACACTGGGTGAAAGAGAGG
ACTGAACAGGGCCTGGAGTGGTTTGGAAGGATTGATCCTGAGGATGGTGAAAGTGAATAT
GCCCCGAAATTCCAGGGCAAGGCCACTTTAACAGCAGACACATCCTCCAATACAGCCTAC
CTGCAGCTCAGCAGCCTGACATCTGAGGACACTGCCGTCTATTACTGTACTAGAGGAGAC
TCTATGATGGTTACCTACTTTGACTACTGGGGCCAAGGCACCACTCTCACGGTCTCCTCA
(SEQ ID NO: 15)

MWTx-002之輕鏈：

可變區之蛋白質序列：

DIVMTQSHKFMSTSVGDRVSITCKASQDVSTAVAWYQQKPGQSPKLLIYWAFTRITGVPDRF
TSTGSGTDYALTISSVQAEDLALYYCQQHYRSPWTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 16)

LC CDR 1	LC CDR 2	LC CDR 3
QDVSTA (SEQ ID NO: 17)	WAF (SEQ ID NO: 18)	QQHYRSPWT (SEQ ID NO: 19)

表1.抗TMPRSS6單株抗體MWTx-001、MWTx-002及MWTx-003之可變區之序列

可變區之核苷酸序列：

GACATTGTGATGACCCAGTCTCACAAATTCATGTCCACATCAGTAGGAGACAGGGTCAGC
ATCACCTGCAAGGCCAGTCAGGATGTGAGTACTGCTGTAGCCTGGTATCAACAAAAACCA
GGGCAATCTCCTAAACTACTGATTTACTGGGCTTCACCCGTCACACTGGAGTCCCTGATC
GCTTCACAAGCACTGGATCTGGGACAGATTATGCTCTCACCATCAGCAGTGTGCAGGCTG
AAGACCTGGCACTTTATTACTGTCAGCAACATTATCGCAGTCCGTGGACGTTCGGTGGAG
GCACCAAACTGGAAATCAAA (SEQ ID NO: 20)

MWTx-003

MWTx-003之重鏈

可變區之蛋白質序列：

EVQLQQSGAELVKPGASVKLSCTASGFNIEDYYIHWVKERTEQGLEWIGRIDPEDGETTYAPQ
FQGKATIPDTSSNTAYMQLSSLTSEDAAVYYCARSIYLDPMDYWGQGTSVTVSS (SEQ ID
NO: 21)

HC CDR-1	HC CDR-2	HC CDR-3
GFNIEDYY (SEQ ID NO: 22)	IDPEDGET (SEQ ID NO: 23)	ARSIYLDPMDY (SEQ ID NO: 24)

可變區之核苷酸序列：

GAAGTTCAGCTGCAGCAGTCTGGGGCAGAACTTGTGAAGCCAGGGGCCTCAGTCAAGTTG
TCCTGCACAGCTTCTGGCTTCAACATTGAAGACTACTATATACACTGGGTGAAGGAGAGG
ACTGAACAGGGCCTGGAGTGGATTGGAAGGATTGATCCTGAGGATGGTGAAACTACATAT
GCCCCGCAGTTCCAGGGCAAGGCCACTATAATACCAGACACATCCTCCAACACAGCCTAC
ATGCAGCTCAGCAGCCTGACATCTGAGGACGCTGCCGTCTATTACTGTGCTAGATCGATCT
ACCTTGATCCTATGGACTACTGGGGTCAAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID
NO: 25)

MWTx-003之輕鏈：

可變區之蛋白質序列：
DIVMTQSHKFMSTSVGDRVSITCKASQDVTTAVAWYQQKPGQSPKLLIYWATTRHTGVPDRF
TGSGSGTDYTLTISSVQAEDLALYYCQQHYSTPYTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 26)

LC CDR-1	LC CDR-2	LC CDR-3
QDVTTA (SEQ ID NO: 27)	WAT (SEQ ID NO: 28)	QQHYSTPYT (SEQ ID NO: 29)

可變區之核苷酸序列：

GACATTGTGATGACCCAGTCTCACAAATTCATGTCCACATCAGTAGGAGACAGGGTCAGC
ATCACCTGCAAGGCCAGTCAGGATGTGACTACTGCTGTCGCCTGGTATCAACAAAAACCA
GGACAGTCTCCTAAAATACTGATTTACTGGGCAACCACCCGGCACACTGGAGTCCCTGAT
CGCTTCACAGGCAGTATATCTGGGACAACTTATATTCTCACCATCAGTAGTGTGCAGGCTG
AAGACCTGGCACTTTATTACTGTCAGCAACATTATAGCACTCCGTACACGTTCGGAGGGG
GGACCAAGCTGGAAATAAAA (SEQ ID NO: 30)

【0073】

人類化抗TMPRSS6抗體變異體之產生及篩選

利用CDR移植至人類抗體構架上來進行親本抗體之人類化。首先進行親本抗體之3維結構之同源性建模以建立親本抗體的結構模型。基於整體序列一致性、匹配VH-VL界面位置、類似分類之CDR典型位置及移除潛在N-醣基化位點來鑑別可變片段構架之胺基酸序列。藉由建立將親本抗體序列之所選部分與人類構架序列融合之多個雜化序列來設計人類化抗體。選擇形成人類化抗體之同型對於重鏈為IgG1且對於輕鏈為IgG1 κ。使用3D模型，藉由眼睛及電腦建模來有條理地分析此等人類化序列以分離將最可能保持抗原結合之序列。目標為使最終人類化抗體中之人類序列之量最大化，同時保持初始抗體特異性。配對人類化VH及VL之人類化變異體接著經表現且純化用於親和力分析。

【0074】 在作為親和力分析之部分的設計、產生及測試變異體之一個回合中，在四種不同人類IgG1衍生之構架(SEQ ID NO: 89-92)中的對應位置中用親本抗體MWTX-003之VH-CDR產生四種VH變異體，且在四種不同人類IgG1 κ衍生之構架(SEQ ID NO: 93-96)中的對應位置中用親本抗體MWTX-003之VL-CDR產生四種VL (VK)變異體。根據4VH × 4VK矩陣製備總共十六(16)種表示VH及VL (VK)變異體之每一組合的人類化變異體，針對抗原結合特性(k_{on}、k_{off}、KD)進行評估且發現具有在奈莫耳範圍(4.16E-07至1.09E-08)內之KD值。

【0075】 選擇展示所需抗原結合親和力之變異體以用於進一步評估及開發。在一些情況下，親本CDR序列經修飾以避免潛在不合需要之事件，諸如天冬胺酸異構化。

【0076】為了使抗體效應子功能沈默，特定言之使抗體依賴性細胞毒性(ADCC)沈默，針對所有人類化抗體變異體，鑑別Fc區中之關鍵胺基酸殘基且使其突變(經取代)。在公開文獻中可獲得之關於Fc突變以實現消除ADCC之目標的指導用於告知本發明突變，例如移除hIgG1中之天然Fc N-連接之醣基化位點(N297A突變)，或取代Fc中之下鉸鏈區的位置234及235處之白胺酸(LALA雙突變)，如(Tamm A, Schmidt RE. IgG binding sites on human Fc gamma receptors. *Int Rev Immunol*. 1997;16(1-2):57-85.數位物件識別碼：10.3109/08830189709045703；Jefferis R, Lund J. Interaction sites on human IgG-Fc for FcgammaR: current models. *Immunol Lett.* 2002年6月3日;82(1-2):57-65.數位物件識別碼：10.1016/s0165-2478(02)00019-6)所描述。在本發明變異體中，將N297A突變引入hzMWTx-001Var及hzMWTx-002Var抗體之Fc中，且將LALA突變引入至hzMWTx-003Var抗體之Fc中，以實現減少或沈默ADCC之相同目標(表3，SEQ ID NO: 73、77、81)。

【0077】在評估之後，選擇人類化抗TMPRSS6抗體變異體hzMWTx-001Var、hzMWTx-002Var及hzMWTx-003Var以用於進一步測試。人類化變異體之序列及特徵展示於下表2及表3中。

【0078】

人類化抗TMPRSS6抗體變異體之重組產生

人類化抗TMPRSS6抗體變異體之表現構築體經LC編碼及HC編碼DNA序列之間的內部核糖體進入位點(internal ribosome entry site；IRES)工程改造，藉由Geneart DNA合成來密碼子最佳化且選殖至pcDNA3.4哺乳動物表現載體(ThermoFisher)中。DNA插入序列之序列係

藉由定序來驗證。對於重組抗體產生，表現構築體用於根據製造商之指令使用ExpiCHO表現系統(ThermoFisher)進行瞬時轉染。表現抗體係藉由蛋白A親和力層析法來純化。自瞬時轉染產生之抗體的產率介於每公升50 mg至300 mg範圍內，其中純度>95%且<1 EU/ml內毒素水準。

[0079]

人類化抗TMPRSS6抗體變異體hzMWTx-001Var、hzMWTx-002Var及hzMWTx-003Var之序列

選擇人類化抗TMPRSS6抗體變異體hzMWTx-001Var、hzMWTx-002Var及hzMWTx-003Var以用於進一步測試。各可變區之可變區的序列展示於下表2中，其中所鑑別之CDR係藉由加下劃線指示，且指示施加於人類化變異體CDR序列相對於親本抗體發生的變化。

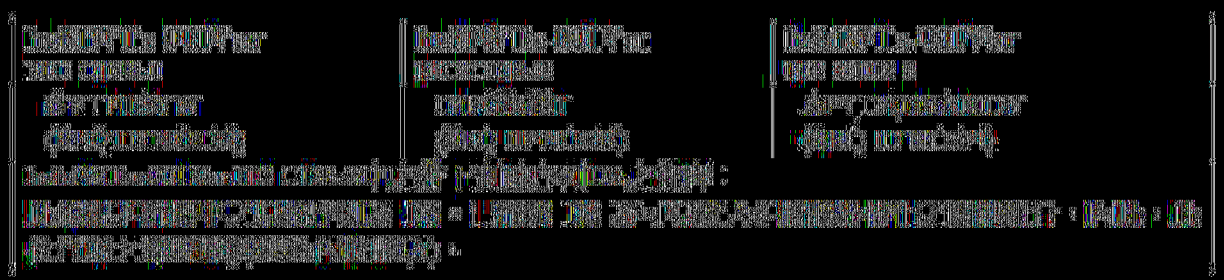
表2.人類化抗TMPRSS6抗體變異體hzMWTx-001Var、hzMWTx-002Var及hzMWTx-003Var之可變區之胺基酸及核苷酸序列

hzMWTx-001Var

hzMWTx-001Var之重鏈：

可變區之蛋白質序列(以粗體表示與親本序列不同之CDR殘基)：

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWITWVRQAPGQRLEWIGNIYPGSGSTYYNE KFKSKATITRDTSSRTAYMELSSLRSEDTAVYYCAPYDADYAMDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 31)



可變區之核苷酸序列：

GAAGTGCAGCTGGTGCAATCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCTGGCGCCTCTGTGAAGGTG TCCTGCAAGGCTTCCGGCTACACCTTTACCAGCTACTGGATCACCTGGGTCCGACAGGCTC CTGGCCAGAGACTGGAATGGATCGGCAACATCTACCCTGGCTCCGGCTCCACCTACTACA ACGAGAAGTTCAAGTCCAAGGCCACAATCACCCGGGACACCTCTTCCAGAACCGCCTACA

表2.人類化抗TMPRSS6抗體變異體hzMWTx-001Var、hzMWTx-002Var及hzMWTx-003Var之可變區之胺基酸及核苷酸序列

TGGAACTGTCCAGCCTGAGATCTGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCCCTTACGACG
CCGACTACGCCATGGATTATTGGGGCCAGGGCACCCTGGTCACCGTGTCCTCT (SEQ ID NO: 35)

hzMWTx-001Var之輕鏈

可變區之蛋白質序列(以粗體表示與親本序列不同之CDR殘基)：

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDISNYLSWFQQKPGKAPKLLIYRANRLVEGVPSRFSG
SGSGTDFTLTISSLQPEDFATYFCLQYDEFPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 36)

[redacted]

可變區之核苷酸序列：

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCTCTGTCCGCCTCTGTGGGCGACAGAGTGACCA
TCACATGCAAGGCCAGCCAGGACATCTCCAACTACCTGTCCTGGTTCCAGCAGAAGCCTG
GCAAGGCTCCCAAGCTGCTGATCTACAGAGCCAACAGACTGGTGGAAGGCGTGCCCTCCA
GATTCTCCGGATCTGGCTCTGGCACCGACTTTACCCTGACAATCTCCAGCCTGCAGCCTGA
GGACTTCGCTACCTACTTCTGCCTGCAATACGACGAGTTCCCTCTGACCTTTGGCGGAGGC
ACCAAGGTGGAAATCAAG (SEQ ID NO: 40)

hzMWTx-002Var

hzMWTx-002Var之重鏈：

可變區之蛋白質序列(以粗體表示與親本序列不同之CDR殘基)：

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFNIKDYYIHWVRQATGQGLEWMGRIDPEDAESEYA
PKFQGRVTITADTSTDTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRGDSMMVTYFDYWGQGTLVTVSS
(SEQ ID NO: 41)

[redacted]

可變區之核苷酸序列：

GAAGTGCAGCTGGTGCAATCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCTGGCGCCTCTGTGAAGGTG
TCCTGCAAGGCCTCTGGCTTCAACATCAAGGACTACTACATCCACTGGGTCCGACAGGCT
ACCGGACAGGGACTTGAGTGGATGGGCAGAATCGACCCTGAGGACGCCGAGTCTGAGTA
CGCCCCTAAGTTTCAGGGCAGAGTGACCATCACCGCCGACACCTCTACCGACACCGCCTA
CATGGAACTGTCCAGCCTGAGATCTGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCACCAGAGGCGA

表2.人類化抗TMPRSS6抗體變異體hzMWTx-001Var、hzMWTx-002Var及hzMWTx-003Var之可變區之胺基酸及核苷酸序列

CTCCATGATGGTTACCTACTTCGACTACTGGGGCCAGGGCACCCTGGTCACAGTTTCTTCC (SEQ ID NO: 45)

hzMWTx-002Var之輕鏈：

可變區之蛋白質序列：

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYWAFTRITGVPSRFS GSGSGTDYALTISSLQPEDFATYYCQQHYRSPWTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 46)

hzMWTx-002Var LC CDR-1	hzMWTx-002Var LC CDR-2	hzMWTx-002Var LC CDR-3
QDVSTA (SEQ ID NO: 47)	WAF (SEQ ID NO: 48)	QQHYRSPWT (SEQ ID NO: 49)

可變區之核苷酸序列：

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCTCTGTCCGCCTCTGTGGGCGACAGAGTGACCA TCACATGCAAGGCCTCTCAGGACGTGTCCACCGCCGTTGCTTGGTATCAGCAGAAGCCTG GCAAGGCCCCTAAGCTGCTGATCTACTGGGCCTTCACCAGACACACCGGCGTGCCCTCTA GGTTCTCCGGCTCTGGCTCTGGCACCGATTACGCTCTGACAATCTCCAGCCTGCAGCCTGA GGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGCACTACAGAAGCCCCTGGACATTTGGCGGAGG CACCAAGGTGGAAATCAAG (SEQ ID NO: 50)

hzMWTx-003Var

hzMWTx-003Var之重鏈：

可變區之蛋白質序列(藉由加下劃線指示CDR；以粗體表示與親本CDR序列不同的CDR殘基)：

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFNIEDYYMHWVRQAPGQRLEWMGRIDPEDAETIYS PKFQGRVTIIPDTSANTAYMELSSLRSEDTAVYYCARSIYLDPMDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 51)

[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]

[illegible]

可變區之核苷酸序列：

CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAAAAGCCTGGCGCCTCTGTGAAGGTG TCCTGCAAGGCCTCTGGCTTCAACATCGAGGACTACTACATGCACTGGGTCCGACAGGCC CCTGGCCAGAGATTGGAATGGATGGGCAGAATCGACCCCGAGGACGCCGAGACAACCTA CTCTCCTAAGTTCCAGGGCCGCGTGACAATCATCCCTGACACCTCTGCCAACACCGCCTAC ATGGAACTGTCCAGCCTGAGATCTGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCCGGTCTATC TACCTGGACCCTATGGACTATTGGGGCCAGGGCACCCTGGTCACAGTGTCCTCT (SEQ ID NO: 55)

表2.人類化抗TMPRSS6抗體變異體hzMWTx-001Var、hzMWTx-002Var及hzMWTx-003Var之可變區之胺基酸及核苷酸序列

hzMWTx-003Var之輕鏈：

可變區之蛋白質序列：

DIQMTQSPKSLSASVGDRVTITCRASQDVTTALAWYQQKPGQSPKLLIYWATTRHSGVPSRFS GSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHYSTPYTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 56)

hzMWTx-003Var LC CDR 1	hzMWTx-003Var LC CDR 2	hzMWTx-003Var LC CDR 3
QDVTTA (SEQ ID NO: 57)	WAT (SEQ ID NO: 58)	QQHYSTPYT (SEQ ID NO: 59)

可變區之核苷酸序列：

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCAAAGTCTCTGTCCGCCTCCGTGGGCGACAGAGTGACC ATCACCTGTAGAGCCTCTCAGGACGTGACCACCGCTCTGGCTTGGTATCAGCAGAAGCCT GGCCAGTCTCCTAAGCTGCTGATCTACTGGGCCACCACCAGACACTCTGGCGTGCCCTCTA GATTCTCCGGCTCTGGCTCTGGCACCGACTTTACCCTGACAATCTCCAGCCTGCAGCCTGA GGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGCACTACAGCACCCCTTACACCTTTGGCCAGGG CACCAAGCTGGAAATCAAG (SEQ ID NO: 60)

[0080] 表3展示抗TMPRSS6單株抗體MWTx-001、MWTx-002及MWTx-003以及人類化抗TMPRSS6抗體變異體hzMWTx-001Var、hzMWTx-002Var及hzMWTx-003Var之完整重鏈及輕鏈蛋白質及核苷酸序列。人類化抗TMPRSS6抗體變異體hzMWTx-001Var、hzMWTx-002Var及hzMWTx-003Var之重鏈蛋白質序列展示如上文所描述之引入以減少ADCC之突變(變化)位置。

表3.抗TMPRSS6單株抗體MWTx-001、MWTx-002及MWTx-003以及人類化抗TMPRSS6抗體變異體hzMWTx-001Var、hzMWTx-002Var及hzMWTx-003Var之重鏈及輕鏈序列

抗TMPRSS6單株抗體

MWTx-001

MWTx-001之重鏈：

蛋白質序列(藉由斜體指示恆定區)：

QVQLQQPGAELAKPGASVKMSCKASGYTFTSYWITWVKQRPGQDLEWIGNIYP GSGSTYYNEKFKSKATLTVDTSSRTAYMQLSSLTSADSAVYYCAPYDSDYAMDY WGQGTSVTVSS*AKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLS SGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCP PCKCPAPNLLGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEV HTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLPAPIERTISKPKGS VRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLD SDGSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPG* (SEQ ID NO:

61)

核苷酸序列：

CAGGTCCAACTGCAGCAGCCTGGGGCTGAGCTTGCGAAGCCTGGGGCTTCAG
TGAAGATGTCCTGCAAGGCTTCTGGCTACACCTTCACCAGCTACTGGATAACC
TGGGTGAAGCAGAGGCCTGGACAAGACCTTGAGTGGATTGGAAATATTTATCC
TGGTAGTGGTAGTACTTACTACAATGAGAAGTTCAAGAGCAAGGCCACACTGA
CTGTAGACACATCCTCCAGAACAGCCTACATGCAGCTCAGCAGTCTGACATCT
GCGGACTCTGCGGTCTATTACTGTGCCCCCTATGATTCCGACTATGCTATGGACT
ACTGGGGTCAAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCAGCTAAAACAACAGCCCC
ATCGGTCTATCCACTGGCCCCTGTGTGTGGAGATACAACTGGCTCCTCGGTGAC
TCTAGGATGCCTGGTCAAGGGTTATTTCCCTGAGCCAGTGACCTTGACCTGGA
ACTCTGGTTCCCTGTCCAGTGGTGTGCACACCTTCCCAGCTGTCCTGCAGTCT
GACCTCTACACCCTCAGCTCAAGCGTGACTGTAACCAGCTCGACCTGGCCCAG
CCAGTCCATCACCTGCAATGTGGCCCACCCGGCAAGCAGCACCAAGGTGGAC
AAGAAAATTGAGCCCAGAGGGCCCACAATCAAGCCCTGTCCTCCATGCAAATG
CCCAGCACCTAACCTCTTGGGTGGACCATCCGTCTTCATCTTCCCTCCAAAGAT
CAAGGATGTACTCATGATCTCCCTGAGCCCCATAGTCACATGTGTAGTCGTTGA
TGTGAGCGAGGATGACCCAGATGTCCAGATCAGCTGGTTTGTGAACAACGTGG
AAGTGCACACTGCTCAGACACAGACGCATAGAGAGGATTACAACAGTACTCTC
CGGGTTGTCAGTGCCCTCCCCATCCAGCACCAGGACTGGATGAGTGGCAAGG
AGTTCAAATGCAAGGTCAACAACAAAGACCTCCCAGCGCCCATCGAGAGAAC
CATCTCAAAACCCAAAGGGTCAGTAAGAGCTCCACAGGTATATGTCTTGCCTC
CACCAGAAGAGGAGATGACTAAGAAACAGGTCACTCTGACCTGCATGGTCAC
AGACTTCATGCCTGAAGACATTTACGTGGAGTGGACCAACAACGGGAAAACA
GAGCTAAACTACAAGAACACTGAACCAGTCCTGGACTCTGATGGTTCTTACTT
CATGTACAGCAAGCTGAGAGTGGAGAAGAAGAACTGGGTGGAGAGAAATAGC
TACTCCTGTTCAGTGGTCCACGAGGGTCTGCACAATCACCACACGACTAAGAG
CTTCTCCCGGACTCCGGGTTAGTAA (SEQ ID NO: 62)

MWTx-001之輕鏈：

蛋白質序列(藉由*斜體*指示恆定區)：

DIKMTQSPSSMYASLGERVTITCKASQDINNYLSWFQQKPGKSPKTLIYRANRLV
DGVPSRVSGSGSGQDYSLTISSLEYEDVGIYFCLQYDEFPLTFGAGTKLELK*RADA*
APTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSK
DSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC (SEQ ID NO: 63)

核苷酸序列：

GACATCAAGATGACCCAGTCTCCATCTTCCATGTATGCATCTCTAGGAGAGAGA
GTCACTATCACTTGCAAGGCGAGTCAGGACATTAATAACTATTTAAGCTGGTTC
CAGCAGAAACCAGGGAAATCTCCTAAGACCCTGATCTATCGTGCAAACAGATT
GGTAGATGGGGTCCCATCAAGGGTCAGTGGCAGTGGATCTGGGCAAGATTATT
CTCTCACCATCAGCAGCCTGGAGTATGAAGATGTGGGAATTTATTTTTGTCTAC
AGTATGATGAGTTTCCTCTCACGTTCGGTGCTGGGACCAAGCTGGAGCTGAAA
AGAGCTGACGCCGCTCCTACCGTGTCCATCTTTCCACCTAGCAGCGAGCAGCT
GACAAGCGGCGGAGCCAGCGTCGTGTGCTTCCTGAACAACTTCTACCCCAAG
GACATCAACGTGAAGTGGAAGATCGACGGCAGCGAGAGACAGAACGGCGTG
CTGAATAGCTGGACCGACCAGGACAGCAAGGACTCCACCTACAGCATGTCCA
GCACACTGACCCTGACCAAGGACGAGTACGAGCGGCACAACAGCTACACATG
CGAGGCCACACACAAGACCAGCACAAGCCCCATCGTGAAGTCCTTCAACCGG
AACGAGTGC (SEQ ID NO: 64)

MWTx-002

MWTx-002之重鏈：

蛋白質序列(藉由*斜體*指示恆定區)：
EVQLQQSGAELVKPGASVKLSCTASGFNIKDYYIHWVKERTEQGLEWFGRIDPED
GESEYAPKFQGKATLTADTSSNTAYLQLSSLTSEDTAVYYCTRGDSMMVTYFDYW
GQGTTLTVSS*KTTPPSVYPLAPGCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPESVTVTWNSGSLSSSV*
HTFPALLQSGLYTMSSSVTVPSSTWPSQTVTCSVAHPASSTTVDKKLEPSGPISTINPCPP
CKECHKCPAPNLEGGPSVFIFPPNIKDVLMISLTPKVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVN
NVEVHTAQTQTHREDYNSTIRVVSTLPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLPSPIERTISKI
KGLVRAPQVYILPPPAEQLSRKDVSLTCLVVGFNPGDISVEWTSNGHTEENYKDTAPVL
DSDGSYFIYSKLNMKTSKWEKTDSFSCNVRHEGLKNYYLKKTISRSPGK (SEQ ID NO: 65)

核苷酸序列：
GAGGTTCAGCTGCAGCAGTCTGGGGCAGAACTTGTGAAGCCAGGGGCCTCAG
TCAAGTTGTCCTGCACAGCCTCTGGCTTCAACATTAAAGACTACTATATACACT
GGGTGAAAGAGAGGACTGAACAGGGCCTGGAGTGGTTTGGAAGGATTGATCC
TGAGGATGGTGAAAGTGAATATGCCCCGAAATTCCAGGGCAAGGCCACTTTAA
CAGCAGACACATCCTCCAATACAGCCTACCTGCAGCTCAGCAGCCTGACATCT
GAGGACACTGCCGTCTATTACTGTACTAGAGGAGACTCTATGATGGTTACCTAC
TTTGACTACTGGGGCCAAGGCACCACTCTCACGGTCTCCTCAAAGACCACACC
TCCTAGCGTGTACCCTCTGGCTCCTGGCTGTGGCGATACAACAGGCAGCTCTG
TGACACTGGGCTGCCTGGTCAAGGGCTACTTTCCTGAGAGCGTGACAGTGAC
CTGGAACAGCGGCAGCCTGTCTAGCAGCGTGCACACCTTTCCAGCTCTGCTCC
AGAGCGGCCTGTACACCATGTCCTCTAGTGTGACCGTGCCTAGCAGCACCTGG
CCTAGCCAGACAGTGACATGTAGCGTGGCCCATCCTGCCAGCAGCACAACCGT
GGACAAGAAGCTGGAACCTAGCGGCCCCATCAGCACCATCAATCCCTGTCCTC
CATGCAAAGAATGCCACAAGTGCCCCGCTCCTAACCTGGAAGGTGGCCCAAG
CGTGTTCATCTTCCCACCTAACATCAAGGACGTGCTGATGATCAGCCTGACACC
TAAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCCGAGGATGATCCCGATGTGCAGA
TCAGTTGGTTCGTGAACAACGTGGAAGTGCACACAGCCCAGACACAGACCCA
CAGAGAGGACTACAATAGCACCATTCGCGTGGTGTCCACACTGCCTATCCAGC
ACCAGGATTGGATGAGCGGCAAAGAGTTCAAGTGCAAAGTGAACAACAAGG
ACCTGCCTTCTCCAATCGAGCGGACCATCAGCAAGATCAAGGGACTCGTCAGA
GCCCCTCAGGTGTACATCTTGCCTCCACCAGCCGAGCAGCTGAGCAGAAAGG
ATGTGTCCCTGACCTGTCTGGTCGTGGGCTTCAACCCTGGCGACATCAGCGTG
GAATGGACCAGCAATGGCCACACCGAGGAAAACTACAAGGACACAGCCCCTG
TGCTGGACAGCGACGGCAGCTACTTCATCTACAGCAAGCTGAACATGAAGACC
AGCAAGTGGGAGAAAACCGACAGCTTCTCCTGCAACGTGCGGCACGAGGGCC
TGAAGAACTACTACCTGAAGAAAACCATCTCTCGGAGCCCCGGCAAG (SEQ ID NO: 66)

MWTx-002之輕鏈：
蛋白質序列(藉由*斜體*指示恆定區)：
DIVMTQSHKFMSTSVGDRVSITCKASQDVSTAVAWYQQKPGQSPKLLIYWAFTRH
TGVPDRFTSTGSGTDYALTISSVQAEDLALYYCQQHYRSPWTFGGGTKLEIK*RAD*
AAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDS
KDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC (SEQ ID NO: 67)

核苷酸序列：
GACATTGTGATGACCCAGTCTCACAAATTCATGTCCACATCAGTAGGAGACAG
GGTCAGCATCACCTGCAAGGCCAGTCAGGATGTGAGTACTGCTGTAGCCTGGT
ATCAACAAAAACCAGGGCAATCTCCTAAACTACTGATTTACTGGGCTTTCACC
CGTCACACTGGAGTCCCTGATCGCTTCACAAGCACTGGATCTGGGACAGATTA
TGCTCTCACCATCAGCAGTGTGCAGGCTGAAGACCTGGCACTTTATTACTGTC
AGCAACATTATCGCAGTCCGTGGACGTTCGGTGGAGGCACCAAACTGGAAATC

AAAAGAGCTGACGCCGCTCCTACCGTGTCCATCTTTCCACCTAGCAGCGAGCA
GCTGACAAGCGGCGGAGCCAGCGTCGTGTGCTTCCTGAACAACTTCTACCCC
AAGGACATCAACGTGAAGTGGAAGATCGACGGCAGCGAGAGACAGAACGGC
GTGCTGAATAGCTGGACCGACCAGGACAGCAAGGACTCCACCTACAGCATGT
CCAGCACACTGACCCTGACCAAGGACGAGTACGAGCGGCACAACAGCTACAC
ATGCGAGGCCACACACAAGACCAGCACAAGCCCCATCGTGAAGTCCTTCAAC
CGGAACGAGTGC (SEQ ID NO: 68)

MWTx-003

MWTx-003之重鏈：

蛋白質序列(藉由*斜體*指示恆定區)：

EVQLQQSGAELVKPGASVKLSCTASGFNIEDYYIHWVKERTEQGLEWIGRIDPED
GETTYAPQFQGKATIIPDTSSNTAYMQLSSLTSEDAAVYYCARSIYLDPMDYWGQ
GTSVTVSS*KTTPPSVYPLAPGCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPESVTVTWNSGSLSSSVHT
FPALLQSGLYTMSSSVTVPSSTWPSQTVTCSVAHPASSTTVDKKLEPSGPISTINPCPPCK
ECHKCPAPNLEGGPSVFIFPPNIKDVLMISLTPKVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNV
EVHTAQTQTHREDYNSTIRVVSTLPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLPSPIERTISKIKG
LVRAPQVYILPPPAEQLSRKDVSLTCLVVGFNPGDISVEWTSNGHTEENYKDTAPVLDS
DGSYFIYSKLNMKTSKWEKTDSFSCNVRHEGLKNYYLKKTISRSPGK* (SEQ ID NO: 69)

核苷酸序列：

GAGGTTCAGCTGCAGCAGTCTGGCGCCGAGCTTGTGAAACCTGGCGCCTCTG
TGAAGCTGAGCTGTACCGCCAGCGGCTTCAACATCGAGGACTACTACATCCAC
TGGGTCAAAGAGCGGACCGAGCAGGGACTCGAGTGGATCGGAAGAATCGACC
CCGAGGACGGCGAGACAACATACGCCCCTCAGTTTCAGGGCAAAGCCACAAT
CATCCCCGACACCAGCAGCAACACCGCCTACATGCAACTGAGCAGCCTGACCT
CTGAAGATGCCGCCGTGTACTACTGCGCCCGGTCCATCTATCTGGACCCCATGG
ATTATTGGGGCCAGGGCACAAGCGTGACCGTGTCCTCTAAGACCACACCTCCT
AGCGTGTACCCTCTGGCTCCTGGCTGTGGCGATACAACAGGCAGCTCTGTGAC
ACTGGGCTGCCTGGTCAAGGGCTACTTTCCTGAGAGCGTGACAGTGACCTGG
AACAGCGGCAGCCTGTCTAGCAGCGTGCACACCTTTCCAGCTCTGCTCCAGAG
CGGCCTGTACACCATGTCCTCTAGTGTGACCGTGCCTAGCAGCACCTGGCCTA
GCCAGACAGTGACATGTAGCGTGGCCCATCCTGCCAGCAGCACAACCGTGGA
CAAGAAGCTGGAACCTAGCGGCCCCATCAGCACCATCAATCCCTGTCCTCCAT
GCAAAGAATGCCACAAGTGCCCCGCTCCTAACCTGGAAGGTGGCCCAAGCGT
GTTCATCTTCCCACCTAACATCAAGGACGTGCTGATGATCAGCCTGACACCTAA
AGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCCGAGGATGATCCCGATGTGCAGATCA
GTTGGTTCGTGAACAACGTGGAAGTGCACACAGCCCAGACACAGACCCACAG
AGAGGACTACAATAGCACCATTCGCGTGGTGTCCACACTGCCTATCCAGCACC
AGGATTGGATGAGCGGCAAAGAGTTCAAGTGCAAAGTGAACAACAAGGACCT
GCCTTCTCCAATCGAGCGGACCATCAGCAAGATCAAGGGACTCGTCAGAGCCC
CTCAGGTGTACATCTTGCCTCCACCAGCCGAGCAGCTGAGCAGAAAGGATGTG
TCCCTGACCTGTCTGGTCGTGGGCTTCAACCCTGGCGACATCAGCGTGGAATG
GACCAGCAATGGCCACACCGAGGAAAACTACAAGGACACAGCCCCTGTGCTG
GACAGCGACGGCAGCTACTTCATCTACAGCAAGCTGAACATGAAGACCAGCA
AGTGGGAGAAAACCGACAGCTTCTCCTGCAACGTGCGGCACGAGGGCCTGAA
GAACTACTACCTGAAGAAAACCATCTCTCGGAGCCCCGGCAAG (SEQ ID NO: 70)

MWTx-003之輕鏈：

蛋白質序列(藉由*斜體*指示恆定區)：

DIVMTQSHKFMSTSVGDRVSITCKASQDVTTAVAWYQQKPGQSPKILIYWATTRH
TGVPDRFTGSISGTTYILTISSVQAEDLALYYCQQHYSTPYTFGGGTKLEIK*RADAA
PTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKD*

STYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC (SEQ ID NO: 71)

核苷酸序列：

GACATCGTGATGACCCAGAGCCACAAGTTCATGAGCACCAGCGTGGGCGACA
GAGTGTCCATCACCTGTAAAGCCAGCCAGGACGTGACAACAGCCGTGGCCTG
GTATCAGCAGAAGCCTGGCCAGTCTCCTAAGATCCTGATCTACTGGGCCACCA
CCAGACACACCGGCGTGCCAGATAGATTCACCGGCAGCATCAGCGGCACCAC
CTACATCCTGACAATCAGCTCTGTGCAGGCCGAGGATCTGGCCCTGTACTACTG
TCAGCAGCACTACAGCACCCCTTACACCTTTGGCGGAGGCACCAAGCTGGAA
ATCAAGAGAGCTGACGCCGCTCCTACCGTGTCCATCTTTCCACCTAGCAGCGA
GCAGCTGACAAGCGGCGGAGCCAGCGTCGTGTGCTTCCTGAACAACTTCTAC
CCCAAGGACATCAACGTGAAGTGGAAGATCGACGGCAGCGAGAGACAGAAC
GGCGTGCTGAATAGCTGGACCGACCAGGACAGCAAGGACTCCACCTACAGCA
TGTCCAGCACACTGACCCTGACCAAGGACGAGTACGAGCGGCACAACAGCTA
CACATGCGAGGCCACACACAAGACCAGCACAAGCCCCATCGTGAAGTCCTTC
AACCGGAACGAGTGC (SEQ ID NO: 72)

人類化抗TMPRSS6抗體變異體

hzMWTx-001Var

hzMWTx-001Var之重鏈：

蛋白質序列(藉由*斜體*指示恆定區；藉由**粗體**指示N297A突變)：

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWITWVRQAPGQRLEWIGNIYPG
SGSTYYNEKFKSKATITRDTSSRTAYMELSSLRSEDTAVYYCAPYDADYAMDYW
GQGTLVTVSS*ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG
VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTC
PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV
HNAKTKPREEQY**A**STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ
PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSD
GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG* (SEQ ID NO: 73)

核苷酸序列：

GAAGTGCAGCTGGTGCAATCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCTGGCGCCTCTG
TGAAGGTGTCCTGCAAGGCTTCCGGCTACACCTTTACCAGCTACTGGATCACC
TGGGTCCGACAGGCTCCTGGCCAGAGACTGGAATGGATCGGCAACATCTACCC
TGGCTCCGGCTCCACCTACTACAACGAGAAGTTCAAGTCCAAGGCCACAATCA
CCCGGGACACCTCTTCCAGAACCGCCTACATGGAACTGTCCAGCCTGAGATCT
GAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCCCTTACGACGCCGACTACGCCATGGA
TTATTGGGGCCAGGGCACCCTGGTCACCGTGTCCTCTGCTTCTACCAAGGGAC
CCAGCGTGTTCCCTCTGGCTCCTTCCAGCAAGTCTACCTCTGGCGGAACAGCT
GCTCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTTCCTGAGCCTGTGACCGTGTCTTG
GAACTCTGGCGCTCTGACATCCGGCGTGCACACATTTCCAGCTGTGCTGCAGT
CCTCCGGCCTGTACTCTCTGTCCTCTGTCGTGACCGTGCCTTCCTCTAGCCTGG
GCACCCAGACCTACATCTGCAATGTGAACCACAAGCCTTCCAACACCAAGGTG
GACAAGAAGGTGGAACCCAAGTCCTGCGACAAGACCCACACCTGTCCTCCAT
GTCCTGCTCCAGAACTGCTCGGCGGACCTTCCGTGTTCCTGTTTCCTCCAAAG
CCTAAGGACACCCTGATGATCTCTCGGACCCCTGAAGTGACCTGCGTGGTGGT
GGATGTGTCTCACGAGGACCCAGAAGTGAAGTTCAATTGGTACGTGGACGGC
GTGGAAGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTAGAGAGGAACAGTACGCCAGC
ACCTACAGAGTGGTGTCCGTGCTGACAGTGCTGCACCAGGATTGGCTGAACG
GCAAAGAGTACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAGGCCCTGCCTGCTCCTATCGA
AAAGACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCTAGAGAACCCCAGGTTTACACC
TTGCCTCCATCTCGGGACGAGCTGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGTCT
CGTGAAGGGCTTCTACCCCTCCGACATCGCCGTGGAATGGGAGTCTAATGGCC
AGCCAGAGAACAACTACAAGACAACCCCTCCTGTGCTGGACTCCGACGGCTC

ATTCTTCCTGTACTCCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCAGATGGCAGCAGGGCA
ACGTGTTCTCCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAATCACTACACACAG
AAGTCCCTGTCTCTGTCCCCTGGC (SEQ ID NO: 74)

hzMWTx-001Var之輕鏈：

蛋白質序列(藉由*斜體*指示恆定區)：

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDISNYLSWFQQKPGKAPKLLIYRANRLVE
GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYFCLQYDEFPLTFGGGTKVEIK*RTVAAPS*
VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDST
YSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 75)

核苷酸序列：

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCTCTGTCCGCCTCTGTGGGCGACAG
AGTGACCATCACATGCAAGGCCAGCCAGGACATCTCCAACTACCTGTCCTGGT
TCCAGCAGAAGCCTGGCAAGGCTCCCAAGCTGCTGATCTACAGAGCCAACAG
ACTGGTGGAAGGCGTGCCCTCCAGATTCTCCGGATCTGGCTCTGGCACCGACT
TTACCCTGACAATCTCCAGCCTGCAGCCTGAGGACTTCGCTACCTACTTCTGCC
TGCAATACGACGAGTTCCCTCTGACCTTTGGCGGAGGCACCAAGGTGGAAATC
AAGCGGACAGTGGCCGCTCCTTCCGTGTTCATCTTCCCACCTTCCGACGAGCA
GCTGAAGTCCGGCACAGCTTCTGTCGTGTGCCTGCTGAACAACTTCTACCCTC
GGGAAGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAATGCCCTGCAGTCCGGCAACTC
CCAAGAGTCTGTGACCGAGCAGGACTCCAAGGACAGCACCTACAGCCTGTCC
TCCACACTGACCCTGTCCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCT
GCGAAGTGACCCATCAGGGCCTGTCTAGCCCTGTGACCAAGTCTTTCAACCGG
GGCGAGTGT (SEQ ID NO: 76)

hzMWTx-002Var

hzMWTx-002Var之重鏈：

蛋白質序列(藉由*斜體*指示恆定區；藉由**粗體**指示N297A突變)：

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFNIKDYYIHWVRQATGQGLEWMGRIDP
EDA**A**ESEYAPKFQGRVTITADTSTDTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRGDSMMVTYFD
YWGQGTLVTVSS*ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL*
TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKT
HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG
VEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVL
DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:
77)

核苷酸序列：

GAAGTGCAGCTGGTGCAATCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCTGGCGCCTCTG
TGAAGGTGTCCTGCAAGGCCTCTGGCTTCAACATCAAGGACTACTACATCCAC
TGGGTCCGACAGGCTACCGGACAGGGACTTGAGTGGATGGGCAGAATCGACC
CTGAGGACGCCGAGTCTGAGTACGCCCCTAAGTTTCAGGGCAGAGTGACCATC
ACCGCCGACACCTCTACCGACACCGCCTACATGGAACTGTCCAGCCTGAGATC
TGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCACCAGAGGCGACTCCATGATGGTTACCT
ACTTCGACTACTGGGGCCAGGGCACCCTGGTCACAGTTTCTTCCGCTTCCACC
AAGGGACCCAGCGTGTTCCCTCTGGCTCCTTCCAGCAAGTCTACCTCTGGCGG
AACAGCTGCTCTGGGCTGCCTGGTCAAGGATTACTTCCCTGAGCCTGTGACCG
TGTCCTGGAACTCTGGCGCTCTGACATCCGGCGTGCACACCTTTCCAGCTGTG
CTGCAATCCTCCGGCCTGTACTCTCTGTCCTCCGTCGTGACCGTGCCTTCTAGC
TCTCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAATGTGAACCACAAGCCTTCCAACAC
CAAGGTGGACAAGAAGGTGGAACCCAAGTCCTGCGACAAGACCCACACCTGT
CCTCCATGTCCTGCTCCAGAACTGCTCGGCGGACCTTCCGTGTTCCTGTTTCCT

CCAAAGCCTAAGGACACCCTGATGATCTCTCGGACCCCTGAAGTGACCTGCGT
GGTGGTGGATGTGTCTCACGAGGACCCAGAAGTGAAGTTCAATTGGTACGTG
GACGGCGTGGAAGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTAGAGAGGAACAGTAC
GCCTCCACCTACAGAGTGGTGTCCGTGCTGACAGTGCTGCACCAGGATTGGCT
GAACGGCAAAGAGTACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAGGCACTGCCCGCTCCT
ATCGAAAAGACCATCTCCAAGGCCAAGGGCCAGCCTAGAGAACCCCAGGTTT
ACACCTTGCCTCCATCTCGGGACGAGCTGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACC
TGTCTCGTGAAGGGCTTCTACCCCTCCGACATCGCCGTGGAATGGGAGTCTAA
TGGCCAGCCAGAGAACAACTACAAGACAACCCCTCCTGTGCTGGACTCCGAC
GGCTCATTCTTCCTGTACTCCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCAGATGGCAGCA
GGGCAACGTGTTCTCCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAATCACTACA
CACAGAAGTCTCTGTCCCTGTCTCCTGGC (SEQ ID NO: 78)

hzMWTx-002Var之輕鏈：

蛋白質序列(藉由*斜體*指示恆定區)：

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYWAFTRH
TGVPSRFSGSGSGTDYALTISSLQPEDFATYYCQQHYRSPWTFGGGTKVEIK*RTVA*
APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK
DSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 79)

核苷酸序列：

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCTCTGTCCGCCTCTGTGGGCGACAG
AGTGACCATCACATGCAAGGCCTCTCAGGACGTGTCCACCGCCGTTGCTTGGT
ATCAGCAGAAGCCTGGCAAGGCCCCTAAGCTGCTGATCTACTGGGCCTTCACC
AGACACACCGGCGTGCCCTCTAGGTTCTCCGGCTCTGGCTCTGGCACCGATTA
CGCTCTGACAATCTCCAGCCTGCAGCCTGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCC
AGCAGCACTACAGAAGCCCCTGGACATTTGGCGGAGGCACCAAGGTGGAAAT
CAAGCGGACAGTGGCCGCTCCTTCCGTGTTCATCTTCCCACCTTCCGACGAGC
AGCTGAAGTCCGGCACAGCTTCTGTCGTGTGCCTGCTGAACAACTTCTACCCT
CGGGAAGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAATGCCCTGCAGTCCGGCAACT
CCCAAGAGTCTGTGACCGAGCAGGACTCCAAGGACAGCACCTACAGCCTGTC
CTCCACACTGACCCTGTCCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCC
TGCGAAGTGACCCATCAGGGCCTGTCTAGCCCTGTGACCAAGTCTTTCAACCG
GGGCGAGTGT (SEQ ID NO: 80)

hzMWTx-003Var

hzMWTx-003Var之重鏈：

蛋白質序列(藉由*斜體*指示恆定區；藉由**粗體**指示LALA突變)：

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFNIEDYYMHWVRQAPGQRLEWMGRID
PEDAETTYSPKFQGRVTIIPDTSANTAYMELSSLRSEDTAVYYCARSIYLDPMDYW
GQGTLVTVSS*ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG*
VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTC
*PPCPAPE**AA**GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE*
VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG
QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD
SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO: 81)

核苷酸序列：

CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAAAAGCCTGGCGCCTCTG
TGAAGGTGTCCTGCAAGGCCTCTGGCTTCAACATCGAGGACTACTACATGCAC
TGGGTCCGACAGGCCCCTGGCCAGAGATTGGAATGGATGGGCAGAATCGACC
CCGAGGACGCCGAGACAACCTACTCTCCTAAGTTCCAGGGCCGCGTGACAATC
ATCCCTGACACCTCTGCCAACACCGCCTACATGGAACTGTCCAGCCTGAGATC

TGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCCGGTCTATCTACCTGGACCCTATGGA
CTATTGGGGCCAGGGCACCCTGGTCACAGTGTCCTCTGCTTCTACCAAGGGAC
CCAGCGTGTTCCCTCTGGCTCCTTCCAGCAAGTCTACCTCTGGCGGAACAGCT
GCTCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTTCCAGAGCCTGTGACCGTGTCCTG
GAACTCTGGCGCTCTGACATCTGGCGTGCACACCTTTCCAGCTGTGCTGCAGT
CCTCCGGCCTGTACTCTCTGTCCTCTGTCGTGACCGTGCCTTCCAGCTCTCTGG
GAACCCAGACCTACATCTGCAATGTGAACCACAAGCCTTCCAACACCAAGGT
GGACAAGAAGGTGGAACCCAAGTCCTGCGACAAGACCCACACCTGTCCTCCA
TGTCCTGCTCCAGAAGCTGCTGGCGGCCCTTCCGTGTTTCTGTTCCCTCCAAA
GCCTAAGGACACCCTGATGATCTCTCGGACCCCTGAAGTGACCTGCGTGGTGG
TGGATGTGTCTCACGAGGACCCAGAAGTGAAGTTCAATTGGTACGTGGACGG
CGTGGAAGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTAGAGAGGAACAGTACAACTCC
ACCTACAGAGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGATTGGCTGAACG
GCAAAGAGTACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAGGCACTGCCCGCTCCTATCGA
AAAGACCATCTCCAAGGCCAAGGGCCAGCCTAGGGAACCCCAGGTTTACACC
CTGCCTCCAAGCCGGGAAGAGATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGCC
TCGTGAAGGGCTTCTACCCTTCCGACATCGCCGTGGAATGGGAGAGCAATGGC
CAGCCAGAGAACAACTACAAGACAACCCCTCCTGTGCTGGACTCCGACGGCT
CATTCTTCCTGTACTCCAAGCTGACAGTGGACAAGTCCAGATGGCAGCAGGGC
AACGTGTTCTCCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAATCACTACACACA
GAAGTCCCTGTCTCTGTCCCCTGGC (SEQ ID NO: 82)

hzMWTx-003Var之輕鏈：

蛋白質序列(藉由*斜體*指示恆定區)：

DIQMTQSPKSLSASVGDRVTITCRASQDVTTALAWYQQKPGQSPKLLIYWATTRH
SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHYSTPYTFGQGTKLEIK*RTVAA*
PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKD
STYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 83)

核苷酸序列：

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCAAAGTCTCTGTCCGCCTCCGTGGGCGACAG
AGTGACCATCACCTGTAGAGCCTCTCAGGACGTGACCACCGCTCTGGCTTGGT
ATCAGCAGAAGCCTGGCCAGTCTCCTAAGCTGCTGATCTACTGGGCCACCACC
AGACACTCTGGCGTGCCCTCTAGATTCTCCGGCTCTGGCTCTGGCACCGACTT
TACCCTGACAATCTCCAGCCTGCAGCCTGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCC
AGCAGCACTACAGCACCCCTTACACCTTTGGCCAGGGCACCAAGCTGGAAATC
AAGCGGACAGTGGCCGCTCCTTCCGTGTTCATCTTCCCACCTTCCGACGAGCA
GCTGAAGTCCGGCACAGCTTCTGTCGTGTGCCTGCTGAACAACTTCTACCCTC
GGGAAGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAATGCCCTGCAGTCCGGCAACTC
CCAAGAGTCTGTGACCGAGCAGGACTCCAAGGACAGCACCTACAGCCTGTCC
TCCACACTGACCCTGTCCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCT
GCGAAGTGACCCATCAGGGCCTGTCTAGCCCTGTGACCAAGTCTTTCAACCGG
GGCGAGTGT (SEQ ID NO: 84)

【0081】

抗TMPRSS6抗體對*HAMP*啟動子活性之劑量依賴性影響

圖2A至2F展示使用上文所描述之*HAMP*-螢光素酶報導分析以在指定濃度下分別測試MWTx-001、MWTx-002、MWTx-003及其人類化變異體

hzMWTx-001Var、hzMWTx-002Var、hzMWTx-003Var之結果。MWTx-001 (圖2A)、MWTx-002 (圖2B)、MWTx-003 (圖2C)及人類化變異體hzMWTx-001Var (圖2D)、hzMWTx-002Var (圖2E)、hzMWTx-003Var (圖2F)中之每一者以劑量依賴性方式增加*HAMP*啟動子活性。MWTx-001之EC_{50}經計算為3 μg/ml (圖2A)。MWTx-002之EC_{50}經計算為1 μg/ml (圖2B)。MWTx-003之EC_{50}經計算為2 μg/ml (圖2C)。hzMWTx-001Var之EC_{50}經計算為0.8 μg/ml (圖2D)。hzMWTx-002Var之EC_{50}經計算為0.3 μg/ml (圖2E)。hzMWTx-003Var之EC_{50}經計算為0.3 μg/ml (圖2F)。

【0082】

實例3.抗TMPRSS6抗體之結合親和力

使用以下三種不同方法來量測各種抗TMPRSS6抗體對HEK293T細胞上表現之人類TMPRSS6的結合親和力：細胞表面ELISA (圖3A至3C)、FACS (圖3D至3F)及生物層干涉量測術(圖3G至3M)。

【0083】

使用細胞表面ELISA之抗TMPRSS6 mAb結合親和力量測

將穩定表現人類TMPRSS6 (藉由如上文所描述之LakePharma Inc產生；SEQ ID NO: 97)之HEK293T細胞用4%三聚甲醛(PFA)固定，且用dPBS (杜爾貝科氏磷酸鹽緩衝鹽水(Dulbecco's phosphate-buffered saline)，Corning Cellgro)洗滌，隨後與稀釋於BSA培養基(DMEM + 1% Pen/Strep + 10mM HEPES + 1mg /ml BSA (Sigma-Aldrich))中之各種濃度的抗TMPRSS6抗體一起培育。純化小鼠IgG用作對照物(Sigma-Aldrich)。在培育之後，將細胞用BSA培養基洗滌且接著與HRP結合之作為2°抗體(Invitrogen)的山羊抗小鼠IgG一起培育。最後，將細胞用dPBS

洗滌以移除未結合抗體且用ELISA液體受質(Sigma-Aldrich)顯色，隨後藉由添加相同體積之1M H_2SO_4的ELISA液體受質來停止反應。經結合抗體係藉由在OD_{450nm}處之吸光度量測。此等分析之結果展示於圖3A至3C中。

【0084】

使用FACS之抗TMPRSS6 mAb結合親和力量測

收集穩定表現人類TMPRSS6之HEK293T細胞，且用dPBS + 3% BSA阻斷，隨後與稀釋於dPBS + 3% BSA中之各種濃度的抗TMPRSS6抗體一起培育。純化小鼠IgG用作對照物。在培育之後，將細胞用dPBS洗滌且接著與APC結合之作為2°抗體(Jackson ImmunoResearch Inc)的山羊抗小鼠IgG一起培育。最後，將細胞用dPBS洗滌以移除未結合抗體，用dPBS + 1mM EDTA再懸浮，且接著使用NOVOCYTE®流式細胞儀(ACEA Biosciences, Inc.，San Diego CA)進行FACS分析。經結合抗體係藉由量測在640 nm下激發之後的平均APC強度且量測在675 nm下之發射(螢光)來測定。此等分析之結果展示於圖3D至3F中。

【0085】

使用生物層干涉量測術之抗TMPRSS6抗體親和力及結合動力學量測

生物層干涉量測技術用於抗TMPRSS6抗體親和力量測及用Octet® RED96e系統(Sartorius AG)之結合動力學測定。預水合抗小鼠IgG Fc捕獲(AMC)生物感測器(針對MWTx-001、MWTx-002及MWTx-003抗TMPRSS6抗體，圖3G至3I)或抗人類IgG Fc捕獲(AHC)生物感測器(針對hzMWTx-001Var、hzMWTx-002Var及hzMWTx-003Var抗TMPRSS6抗體，圖3J至3L)首先在1× KB (動力學緩衝液，1×PBS pH 7.4 + 0.02%

Tween-20 + 0.1% BSA)中平衡120秒作為第一基線，隨後將10 mg/mL抗TMPRSS6抗體(MWTx-001，圖3G；MWTx-002，圖3H；MWTx-003，圖3I；hzMWTx-001Var，圖3J；hzMWTx-002Var，圖3K；hzMWTx-003Var，圖3L)負載至AMC或AHC生物感測器上持續240秒。接著，在與各種濃度之人類ecto-TMPRSS6-FLAG (SEQ ID NO: 102) (藉由融合人類TMPRSS6之胞外域與C端處之FLAG-標籤而內部產生)締合240秒之前，建立第二基線信號120秒。最後，將分析物在1× KB中解離360秒。使用八位元組資料分析HT軟體進行資料分析。KD、k_{on}、k_{off}及R^2概述於圖3M中。

【0086】

實例4：交叉反應性：與人類TMPRSS6及非人類TMPRSS6結合之抗TMPRSS6抗體

藉由FACS測定交叉反應性

測試所選擇之抗TMPRSS6抗體以確定任何抗體是否能夠與來自小鼠及/或食蟹獼猴之TMPRSS6結合。收集穩定表現人類TMPRSS6 (HuTMPRSS6-$(His)_6$) (由如上文所描述之LakePharma Inc產生)之HEK293T細胞、穩定表現小鼠TMPRSS6 (MoTMPRSS6-$(His)_6$) (SEQ ID NO: 98) (由如上文所描述之LakePharma Inc產生)之HEK293T細胞及瞬時表現食蟹獼猴TMPRSS6 (CynoTMPRSS6-$(His)_6$) (SEQ ID NO: 99) (內部產生)之HEK293T細胞。穩定表現人類TMPRSS6之HEK293T細胞用作陽性對照且HEK293T細胞用作陰性對照(如上文所描述)。細胞用dPBS + 3% BSA阻斷，隨後與稀釋於dPBS + 3% BSA中之抗TMPRSS6抗體一起培育。在培育之後，將細胞用dPBS洗滌且隨後與AlexaFluor-488結合之作

為2°抗體(Invitrogen)的山羊抗小鼠IgG一起再培育。最後，將細胞用dPBS洗滌以移除未結合抗體，用dPBS + 1mM EDTA再懸浮，且接著使用NOVOCYTE®流式細胞儀(ACEA Biosciences, Inc.，San Diego CA)進行FACS分析。經結合抗體係藉由在488 nm下激發及在530 nm下量測發射(FITC-A)來測定。此等分析之結果展示於圖4A至4I中之直方圖中。觀測到MWTx-001 (圖4D)及MWTx-003 (圖4F)與小鼠TMPRSS6之交叉反應性，然而MWTx-002 (圖4E)未展示與小鼠TMPRSS6之可偵測交叉反應性。觀測到MWTx-001 (圖4G)、MWTx-002 (圖4H)及MWTx-003 (圖4I)與食蟹獼猴TMPRSS6之交叉反應性。

【0087】

藉由細胞表面ELISA測定交叉反應性

將穩定表現小鼠TMPRSS6 (由如上文所描述之LakePharma Inc產生，圖4J、圖4L、圖4N、圖4P、圖4R、圖4T)或食蟹獼猴TMPRSS6 (如上文所描述內部產生，圖4K、圖4M、圖4O、圖4Q、圖4S、圖4U)之HEK293T細胞用甲醇(100%)固定，且用dPBS (杜爾貝科氏磷酸鹽緩衝鹽水，Corning Cellgro)洗滌，隨後與稀釋於BSA培養基(DMEM + 1% Pen/Strep + 10mM HEPES + 1mg/ml BSA (Sigma-Aldrich))中之各種濃度的抗TMPRSS6抗體及其人類化變異體一起培育。純化小鼠IgG (圖4J至4O)或人類IgG1 (圖4P至4U)用作對照物。在培育之後，將細胞用BSA培養基洗滌且接著與HRP結合之作為2°抗體的山羊抗小鼠(Invitrogen，圖4J至4O)或抗人類(Millipore，圖4P至4U) IgG一起培育。最後，將細胞用dPBS洗滌以移除未結合抗體且用ELISA液體受質(Sigma-Aldrich)顯色，隨後藉由添加相同體積之1M H_2SO_4的ELISA液體受質來停止反應。經結

合抗體係藉由在OD_{450nm}處之吸光度量測。此等分析之結果展示於圖4J至4U中。觀測到MWTx-001 (圖4J)及MWTx-003 (圖4N)抗TMPRSS6抗體及其人類化變異體hzMWTx-001Var (圖4P)及hzMWTx-003Var (圖4T)抗TMPRSS6抗體與小鼠TMPRSS6之交叉反應性，然而MWTx-002 (圖4L)抗TMPRSS6抗體或其人類化變異體hzMWTx-002Var (圖4R)抗TMPRSS6抗體未展示與小鼠TMPRSS6之可偵測交叉反應性。觀測到MWTx-001 (圖4K)、MWTx-002 (圖4M)及MWTx-003 (圖4O)抗TMPRSS6抗體及其人類化變異體hzMWTx-001Var (圖4Q)、hzMWTx-002Var (圖4S)及hzMWTx-003Var (圖4U)抗TMPRSS6抗體與食蟹獼猴TMPRSS6之交叉反應性。

【0088】

實例5：目標特異性：與同源間質蛋白酶結合之抗TMPRSS6抗體。

為判定抗TMPRSS6抗體是否與同源間質蛋白酶結合，收集(內部產生)過度表現間質蛋白酶(ST14) (SEQ ID NO: 100)之HEK293T細胞(圖5B、圖5E、圖5H、圖5K、圖5N、圖5Q)及過度表現間質蛋白酶-3 (TMPRSS7) (SEQ ID NO: 101)之HEK293T細胞(圖5C、圖5F、圖5I、圖5L、圖5O、圖5R)。穩定表現人類TMPRSS6 (間質蛋白酶-2) (SEQ ID NO: 97)之HEK293T細胞(由如上文所描述之LakePharma Inc產生，圖5A、圖5D、圖5G、圖5J、圖5M、圖5P)用作陽性對照且HEK293T細胞(圖5A至5R)用作陰性對照(如上文所描述)。細胞經阻斷且經dPBS + 3% BSA + 0.1% Tween-20滲透，隨後與稀釋於dPBS + 3% BSA + 0.1% Tween-20中之各種抗TMPRSS6抗體一起培育。將細胞與抗TMPRSS6抗體及其人類化變異體在大約1 μg/ml之濃度下一起培育1小時。在培育之後，將細胞用dPBS洗滌且與AlexaFluor-488 (Invitrogen，圖5A-5I)結合

之山羊抗小鼠IgG或與別藻藍蛋白(Allophycocyanin；APC) (Jackson Immuno Research，圖5J-5R)結合之山羊抗人類IgG作為2°抗體一起培育。最後，將細胞用dPBS洗滌且用dPBS + 1mM EDTA再懸浮，且接著使用NOVOCYTE®流式細胞儀進行FACS分析。經結合抗體係藉由在488 nm下激發及在530 nm下量測發射(FITC-A) (圖5A至5I)或藉由在640 nm下激發及在675 nm下量測發射(APC-A) (圖5J至5R)來測定。此等分析之結果展示於圖5A至5R中之直方圖中。所有抗體皆展示與人類TMPRSS6 (間質蛋白酶-2)之結合(圖5A、圖5D、圖5G、圖5J、圖5M、圖5P)及抗體中無一者展示與同源間質蛋白酶ST14 (圖5B、圖5E、圖5H、圖5K、圖5N、圖5Q)或TMPRSS7 (圖5C、圖5F、圖5I、圖5L、圖5O、圖5R)之結合。MWTx-001抗TMPRSS6抗體及其人類化變異體hzMWTx-001Var抗TMPRSS6抗體展示與人類TMPRSS6之結合(圖5A、圖5J)且未展示與間質蛋白酶 (ST14) (圖5B、圖5K)或間質蛋白酶-3 (TMPRSS7) (圖5C、圖5L)之結合。MWTx-002抗TMPRSS6抗體及其人類化變異體hzMWTx-002Var抗TMPRSS6抗體展示與人類TMPRSS6 (間質蛋白酶-2)之結合(圖5D、圖5M)且未展示與間質蛋白酶(ST14) (圖5E、圖5N)或間質蛋白酶-3 (TMPRSS7) (圖5F、圖5O)之結合。MWTx-003抗TMPRSS6抗體及其人類化變異體hzMWTx-003Var抗TMPRSS6抗體展示與人類TMPRSS6 (間質蛋白酶-2)之結合(圖5G、圖5P)且未展示與間質蛋白酶(ST14) (圖5H、圖5Q)或間質蛋白酶-3 (TMPRSS7) (圖5I、圖5R)之結合。

【0089】

實例6.在小鼠藥效動力學模型中用抗TMPRSS6抗體處理

為了研究抗TMPRSS6抗體之活體內藥效動力學反應，將2-10 mg/kg

之MWTx-003抗TMPRSS6抗體(圖6A至6B、圖6D至6E、圖6G至6H、圖6J至6K)或其人類化變異體hzMWTx-003Var抗TMPRSS6抗體(圖6C、圖6F、圖6I、圖6L)腹膜內注射至野生型C57BL/6J小鼠中。小鼠IgG2b (BioXcell、圖6A至6B、圖6D至6E、圖6G至6H、圖6J至6K)或人類IgG1 (BioXcell，圖6C、圖6F、圖6I、圖6L)用作同型對照。注射後20小時，藉由流體動力尾部靜脈注射將50 μg之GFP-TMPRSS6質體DNA (藉由將人類TMPRSS6插入至GFP載體中而內部產生)遞送至各小鼠中。流體動力注射後44小時，使小鼠安樂死，採集肝臟組織及血液。肝臟RNA係根據製造商說明書藉由來自Biomiga之EZgene Total RNA Purification Plus (San Diego，CA)來純化。小鼠血清係藉由以1500 × g離心全血10 min而獲得。

【0090】

用抗TMPRSS6抗體處理對血清鐵之影響

血清鐵係藉由內部開發之顯色分析來量測(圖6A至6C)。簡言之，藉由渦旋30秒將小鼠血清或鐵標準物(31-500 μg/dL)與混合酸溶液(0.6M三氯乙酸、0.4M巰基乙酸鈉、1M HCl)混合。將混合物在37℃下培育10 min，隨後以10,000 × g離心10 min，接著在彩色溶液(1.5M乙酸鈉、0.5mM紅菲繞啉二磺酸鹽)中顯色。接著在OD_{535nm}處讀取吸光度。根據線性鐵標準曲線計算血清鐵濃度。10mg/kg MWTx-003抗TMPRSS6抗體(圖6A-6B)及其人類化變異體hzMWTx-003Var抗TMPRSS6抗體(圖6C)之處理顯著減少血清鐵。

【0091】

用抗TMPRSS6抗體處理對血清鐵調素之影響

血清鐵調素係根據製造商說明書藉由購自Intrinsic Lifesciences (La

Jolla，CA)之鐵調素-小鼠競爭ELISA套組來量測(圖6D至6F)。簡言之，將經稀釋之小鼠血清或鐵調素標準物與鐵調素生物素結合物混合，隨後添加至塗佈有抗小鼠鐵調素抗體之培養盤。血清鐵調素或鐵調素標準物與鐵調素生物素結合物競爭結合至塗佈之抗鐵調素抗體。用抗生蛋白鏈菌素結合之辣根過氧化酶(HRP)偵測結合鐵調素生物素結合物，且用TMB顯色，隨後用停止溶液顯色。接著在OD_{450nm}處讀取吸光度。用格拉夫帕德稜鏡8(Graphpad Prism 8)使用四參數邏輯(4-PL)曲線擬合來分析資料，且內插血清鐵調素濃度。GFP-TMPRSS6之流體動力遞送顯著降低血清鐵調素含量(圖6D)，然而用10mg/kg MWTx-003抗TMPRSS6抗體(圖6D至6E)及其人類化變異體hzMWTx-003Var抗TMPRSS6抗體(圖6F)處理使鐵調素抑制逆轉且顯著增加血清鐵調素含量。

【0092】

用抗TMPRSS6抗體處理對肝臟鐵調素RNA之影響

肝臟鐵調素RNA係藉由即時qPCR定量(圖6G至6I)。簡言之，cDNA首先根據製造商說明書使用iScript逆轉錄超混合液(Bio-Rad)由肝臟RNA合成。鐵調素轉錄物用下表4中所列舉之特定引子擴增，且根據製造商說明書在Bio-Rad CFX96 qPCR儀器上使用SsoAdvanced™ Universal SYBR®綠色超混合液(Bio-Rad)偵測。一式三份地分析樣品，且將結果以β-肌動蛋白RNA含量(藉由轉錄、用表4中所列舉之引子擴增及如上文所描述之定量來量測)進行標準化。GFP-TMPRSS6之流體動力遞送顯著減少肝臟鐵調素RNA (圖6G)。10mg/kg MWTx-003抗TMPRSS6抗體(圖6G至6H)及其人類化變異體hzMWTx-003Var抗TMPRSS6抗體(圖6I)之處理使*Hamp*之抑制逆轉且顯著增加肝臟鐵調素RNA含量。以下引子用於藉由即

時qPCR進行RNA定量：鐵調素正向引子：5'-AAG CAG GGC AGA CAT TGC GAT-3' (SEQ ID NO: 85)；鐵調素反向引子：5'-CAG GAT GTG GCT CTA GGC TAT-3' (SEQ ID NO: 86)；β-肌動蛋白正向引子：5'-ACC CAC ACT GTG CCC ATC TA-3' (SEQ ID NO: 87)；β-肌動蛋白反向引子：5'-CAC GCT CGG TCA GGA TCT TC-3' (SEQ ID NO: 88)。

【0093】 MWTx-003抗TMPRSS6抗體或其人類化變異體hzMWTx-003Var抗TMPRSS6抗體之血清濃度係藉由內部研發之細胞表面ELISA定量(如上文所描述，圖6J至6L)。簡言之，將經稀釋之小鼠血清或抗TMPRSS6抗體標準物與100%甲醇固定的穩定表現人類TMPRSS6之HEK293T細胞(HEK293T細胞用作背景對照)一起培育。用與HRP結合之山羊抗小鼠IgG偵測結合之MWTx-003抗TMPRSS6抗體，且用與HRP結合之山羊抗人類IgG偵測結合之hzMWTx-003Var抗TMPRSS6抗體。用TMB顯色，隨後用停止溶液顯色。接著在OD_{450nm}處讀取吸光度。一式三份地分析樣品，且將結果以HEK293T對照進行標準化。用格拉夫帕德稜鏡8使用四參數邏輯(4-PL)曲線擬合來分析資料，且內插血清抗TMPRSS6抗體濃度。

【0094】

實例7.使用β-地中海型貧血小鼠模型之抗TMPRSS6抗體之活體內功效。

為了研究抗TMPRSS6抗體之活體內功效，選擇β-地中海型貧血小鼠模型(B6.129P2-Hbb-b1^{tm1Unc} Hbb-b2^{tm1Unc}/J，JAX Stock No: 002683，The Jackson Laboratories，Bar Harbor ME)，本文稱為Th3/+小鼠。向4-5週齡Th3/+小鼠及其野生型(WT)同胎仔畜給予足夠的鐵飲食(Teklad TD.80394)且將Th3/+小鼠每三天用10mg/kg MWTx-003抗TMPRSS6抗體

或小鼠IgG2b同型對照處理，持續4週，而WT同胎仔畜不接受處理。在處理過程結束時，將小鼠安樂死，且收集脾臟、肝臟、股骨及血液樣本。純化肝臟總RNA，且如上文所描述收集血清。

【0095】

對血液計數、脾腫大、血清鐵、血清鐵調素、肝臟鐵調素RNA之影響

藉由VETSCAN HM5自動化血液學分析器進行全血球計數(CBC) (圖7A至7D)。MWTx-003抗TMPRSS6抗體處理顯著增加紅血球計數(RBC，圖7A)及血容比(HCT，圖7C)，且降低紅血球分佈寬度(RDW，圖7D)，但對Th3/+小鼠中之血紅素(HGB，圖7B)無明顯影響。

【0096】 量測脾臟重量，且MWTx-003抗TMPRSS6抗體處理顯著減少Th3/+小鼠之脾腫大(圖7E)。

【0097】 如上文所描述量測血清鐵。用MWTx-003抗TMPRSS6抗體處理顯著減少血清鐵(圖7F)。使用類似顯色分析來量測肝臟非原血紅素鐵(圖7G)。簡言之，將絞碎的小型肝臟組織在65℃下乾燥隔夜，隨後在65℃下用混合酸(3M HCl，10%三氯乙酸)消化20小時。接著，收集消化上清液以在彩色溶液(1.5M乙酸鈉，0.5mM紅菲繞啉二磺酸鹽)中顯色。接著在OD_{535nm}處讀取吸光度。用MWTx-003抗TMPRSS6抗體處理顯著減少肝臟非原血紅素鐵(圖7G)。

【0098】 血清鐵調素係藉由如上文所描述鐵調素-小鼠競爭ELISA套組來量測。用MWTx-003抗TMPRSS6抗體處理顯著增加血清鐵調素(圖7H)。

【0099】 肝臟鐵調素RNA係藉由如上文所描述之即時qPCR定量。用MWTx-003抗TMPRSS6抗體處理顯著增加肝臟鐵調素RNA (圖7I)。

【0100】 MWTx-003抗TMPRSS6抗體之血清濃度係藉由如上文所描述之內部研發之細胞表面ELISA來定量(圖7J)。

【0101】

對紅血球生成之影響

為了研究MWTx-003抗TMPRSS6抗體對Th3/+小鼠中之紅血球生成的影響，自股骨收集骨髓(*參見*圖7K至7M)且自脾臟收集脾細胞(*參見*圖7N至7P)，且進行分析。所收集之細胞用大鼠抗小鼠CD16/CD32 (BD Biosciences)阻斷15 min，隨後用與FITC (BD Biosciences)結合之大鼠抗小鼠TER119及與APC (Invitrogen)結合之大鼠抗小鼠CD44在冰上染色30 min。經洗滌細胞用生存力標記物7-AAD(BD Biosciences)在冰上染色10 min，隨後使用NOVOCYTE®流式細胞儀進行FACS分析。選擇$Ter119^+$，$7\text{-}ADD^-$細胞，且用抗小鼠CD44繪製相對於細胞大小之密度圖(FSC-H)。分析曲線圖以鑑別細胞類型(細胞叢)且測定各類型(叢集)之豐度。圖7K至7P中之代表性曲線圖展示，對應於紅血球系分化中之連續階段，自上而下區分四個不同細胞叢且鑑別為：嗜鹼性紅血球母細胞(叢集I)、多染性紅血球母細胞(叢集II)、正染性紅血球母細胞及無核網狀紅血球(叢集III)及成熟紅血球(叢集IV)。樣本中各叢集之百分比(%)值計算為該叢集中之細胞類型之豐度的量度，如圖7K至7P中所展示。針對各處理時程中之各動物之各樣本(骨髓、脾臟)計算各細胞叢集(I)、(II)、(III)、(IV)之%值，如下：WT (未處理) N=9；經IgG2b同型對照處理之疾病模型Th3/+小鼠(Th3+ w/ MoIgG2b)，N=5；經MWTx-003抗TMPRSS6抗體處理之疾病模型Th3/+小鼠(Th3+ w/ MWTx-003)，N=7，且接著計算平均值。平均而言，在四週之後，在骨髓細胞中，嗜鹼性紅血球母細胞(I)之群體展示

7.58% (Th3+ w/ MoIgG2b)至6.52% (Th3+ w/ MWTx-003)移位(對於WT為7.96%)，多染性紅血球母細胞(II)展示54.20% (Th3+ w/ MoIgG2b)至40.01% (Th3+ w/ MWTx-003)移位(對於WT為28.53%)，正染性紅血球母細胞及無核網狀紅血球(III)展示24.06% (Th3+ w/ MoIgG2b)至29.73% (Th3+ w/ MWTx-003)移位(對於WT為26.67%)且成熟紅血球(IV)展示4.54% (Th3+ w/ MoIgG2b)至16.44%移位(對於WT為27.66%)平均而言，在實驗週之後，在脾臟中，嗜鹼性紅血球母細胞(I)之群體展示0.71% (Th3+ w/ MoIgG2b)至0.91% (Th3+ w/ MWTx-003)移位(對於WT為0.46%)，多染性紅血球母細胞(II)展示45.76% (Th3+ w/ MoIgG2b)至19.25% (Th3+ w/ MWTx-003)移位(對於WT為12.23%)，正染性紅血球母細胞及無核網狀紅血球(III)展示31.16% (Th3+ w/ MoIgG2b)至28.72% (Th3+ w/ MWTx-003)移位(對於WT為8.67%)且成熟紅血球(IV)展示14.13% (Th3+ w/ MoIgG2b)至44.38% (Th3+ w/ MWTx-003)移位(對於WT為72.17%)。針對骨髓之此等結果展示於圖7Q之條形圖中且針對脾臟之此等結果展示於圖7R中之條形圖中。

【0102】 在Th3/+小鼠中，用MWTx-003抗TMPRSS6抗體處理改善無效紅血球生成，其中相當大比例之紅血球母細胞分化且成熟為紅血球。

【0103】

實例8.抗TMPRSS6抗體抗原決定基分組

OCTET® RED96e用於MWTx-001 (圖8A)、MWTx-002 (圖8B)及MWTx-003 (圖8C)抗TMPRSS6抗體之抗原決定基分組。首先，ecto-TMPRSS6-FLAG (如上文所描述)係藉由生物素標記套組(Abcam)用生物素標記。預先水合之抗生蛋白鏈菌素(SA)生物感測器在1× KB (如上文所

描述)中平衡60秒作為第一基線，隨後將10 mg/mL生物素標記之ecto-TMPRSS6-FLAG負載至SA生物感測器上持續300秒。接著，建立第二基線信號60秒，隨後在1× KB中用50 mg/mL之抗體(MWTx-001，圖8A；MWTx-002，圖8B；MWTx-003，圖8C)飽和，持續600秒。最後，建立第三基線信號60秒，隨後在1× KB中與50 μg/mL之MWTx-001、MWTx-002或MWTx-003競爭持續300秒。與ecto-TMPRSS6-FLAG結合之MWTx-001抗TMPRSS6抗體未與MWTx-002抗TMPRSS6抗體或MWTx-003抗TMPRSS6抗體競爭(圖8A)。與ecto-TMPRSS6-FLAG結合之MWTx-002抗TMPRSS6抗體未與MWTx-001抗TMPRSS6抗體競爭，但與MWTx-003抗TMPRSS6抗體競爭(圖8B)。與ecto-TMPRSS6-FLAG結合之MWTx-003抗TMPRSS6抗體未與MWTx-001抗TMPRSS6抗體競爭，但與MWTx-002抗TMPRSS6抗體競爭(圖8C)。使用八位元組資料分析HT軟體進行資料分析。締合信號概述於圖8D中。

【生物材料寄存】

[主張利用生物材料1]

US美國；American Type Culture Collection (ATCC)；2020/05/27；PTA-126759

[主張利用生物材料2]

US美國；American Type Culture Collection (ATCC)；2020/05/27；PTA-126760

[主張利用生物材料3]

US美國；American Type Culture Collection (ATCC)；2020/05/27；PTA-126761

[主張利用生物材料4]

TAIWAN中華民國；食品工業發展研究所生物資源保存及研究中心；2021/06/29；BCRC960530

[主張利用生物材料5]

TAIWAN中華民國；食品工業發展研究所生物資源保存及研究中心；2021/06/29；BCRC960528