



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I842708 B

(45)公告日：中華民國 113 (2024) 年 05 月 21 日

(21)申請案號：108114765

(22)申請日：中華民國 108 (2019) 年 04 月 26 日

(51)Int. Cl. : C07K16/44 (2006.01)

A61K39/395 (2006.01)

C07K5/06 (2006.01)

(30)優先權：2018/04/27 歐洲專利局

18169888.7

2018/11/29 美國

62/772,809

(71)申請人：美商百健MA公司(美國) BIOGEN MA INC. (US)

美國

瑞士商紐立慕公司(瑞士) NEURIMMUNE AG (CH)

瑞士

(72)發明人：格林 詹 GRIMM, JAN (DE)；蒙納西歐 費比歐 MONTRASIO, FABIO (CH)；達

琦立 利多 伊辛 DALKILIC-LIDDLE, ISIN (US)；盧旭 米亞 馬利 RUSHE,

MIA MARIE (US)；亞特 喬瑟夫 沃特 ARNDT, JOSEPH WALTER (US)

(74)代理人：陳長文

(56)參考文獻：

US 2017/0247471A1

期刊 Alain Beck et al. Alain Beck et al. Nat Rev Immunol. 10(5).

2010 May. 345-352.

審查人員：張茜毓

申請專利範圍項數：27 項 圖式數：11 共 241 頁

(54)名稱

人源抗-(聚-GA)二肽重複序列(DPR)抗體

(57)摘要

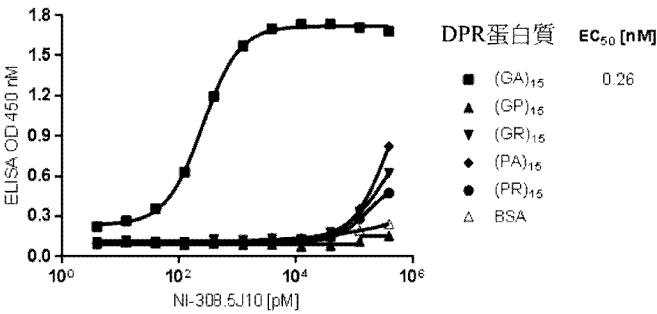
提供了能夠結合 C9orf72 聚甘胺酸-丙胺酸 DPR 之新穎二肽重複序列(DPR)特異性抗體(例如，人源抗體)以及其合成變異體及生物技術衍生物，以及與其相關之方法及用途。本發明之抗體可用於醫藥及診斷組成物中，該等組成物用於靶向 DPR 蛋白之免疫療法及診斷。

Provided are novel dipeptide repeat (DPR) specific antibodies (e.g., human-derived antibodies) as well as synthetic variants and biotechnological derivatives thereof, capable of binding C9orf72 poly-glycine-alanine DPRs, as well as methods and uses related thereto. The antibody of the present invention can be used in pharmaceutical and diagnostic compositions for DPR protein-targeted immunotherapy and diagnostics.

指定代表圖：

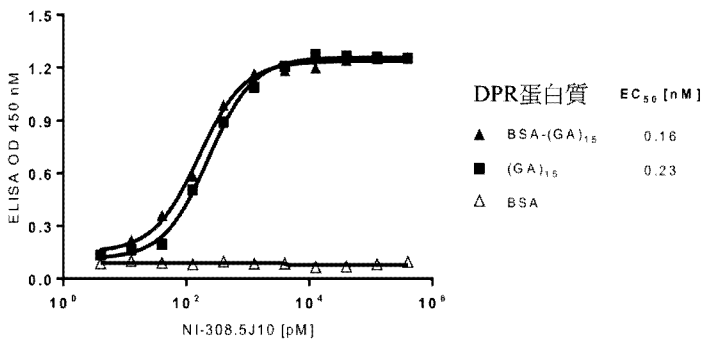
符號簡單說明：
無

NI-308.5J10



【圖 2】

NI-308.5J10



【圖 3】



I842708

【發明摘要】

【中文發明名稱】人源抗-(聚-GA)二肽重複序列(DPR)抗體

【英文發明名稱】Human-derived anti-(poly-GA) dipeptide repeat (DPR) antibody

【中文】

提供了能夠結合 C9orf72 聚甘胺酸-丙胺酸 DPR 之新穎二肽重複序列(DPR)特異性抗體(例如，人源抗體)以及其合成變異體及生物技術衍生物，以及與其相關之方法及用途。本發明之抗體可用於醫藥及診斷組成物中，該等組成物用於靶向 DPR 蛋白之免疫療法及診斷。

【英文】

Provided are novel dipeptide repeat (DPR) specific antibodies (e.g., human-derived antibodies) as well as synthetic variants and biotechnological derivatives thereof, capable of binding C9orf72 poly-glycine-alanine DPRs, as well as methods and uses related thereto. The antibody of the present invention can be used in pharmaceutical and diagnostic compositions for DPR protein-targeted immunotherapy and diagnostics.

【指定代表圖】圖 2

【代表圖之符號簡單說明】

無

【發明說明書】

【中文發明名稱】 人源抗-(聚-GA)二肽重複序列(DPR)抗體

【英文發明名稱】 Human-derived anti-(poly-GA) dipeptide repeat (DPR) antibody

【技術領域】

【0001】 本發明一般係關於基於抗體之療法及診斷方法。特別地，本發明係關於新穎人源抗體以及其片段、衍生物及生物技術變異體，其特異性結合至非習用非 ATG 轉譯，特別是在染色體 9 開放閱讀框 72(C9orf72)中發現之形成聚甘胺酸-丙胺酸(聚-GA)二肽重複序列(DPR)之六核苷酸重複序列，及包含此等 DPR 之抗原，該等抗體適用於治療及診斷分別由經聚集 DPR 及含有 DPR 之蛋白質誘導之疾病及病症。此外，本發明係關於包含該抗體及其變異體及其衍生物之醫藥及診斷組成物，其價值在於既可用作鑒別與 DPR 或其聚集物相關之疾病之診斷工具，亦可用作治療此類疾病之被動疫苗接種策略，該等疾病例如額顳葉變性(FTLD)、肌肉萎縮性脊髓側索硬化症(ALS)、FTLD-ALS 及脊髓小腦性失調症 36 型。

【先前技術】

【0002】 額顳葉變性(FTLD)屬於一組在臨床上、病理上及遺傳上完全不同的與大腦額葉及顳葉萎縮有關之疾病。該疾病為癡呆早發之第二大常見原因。認知症狀可變且包括癡呆、行為以及人格之變化、語言功能障礙及/或精神病，該等症狀由額葉及顳葉皮層之退化所導致。由於其症狀，FTLD 可分為三組：(i)行為變異額顳葉癡呆(bvFTLD)、(ii)語義性癡呆(SD)、或(iii)進行性非流利性失語症(PNFA)。FTLD 患者在症狀出現後 5-10 年死亡，因為無合適療法可用。然而，50% FTLD 患者顯示具有陽性家族史，且與肌肉萎縮性脊髓側索硬化症(ALS)相比似乎呈現疾病連續性，具有共同潛在發病機理。雖然兩種體染色體顯性病症

均顯示在遺傳上及病理上完全不同，參見，例如, Vance 等人, *Brain* 129 (2006), 868-876，但遺傳分析將位於 C9orf72 基因之非編碼外顯子 1a 及 1b 之間的經雜合擴增之六核苷酸重複序列(GGGGCC)鑒定為 FTLD 及 ALS 之最常見遺傳原因；參見例如 DeJesus-Hernandez 等人, *Neuron* 72 (2011), 245-256 及 Renton 等人, *Neuron* 72 (2011), 257-268。特別地，已顯示在三個備選閱讀框中之有義轉錄物，亦即經擴增之六核苷酸重複序列之非習用非 ATG 轉譯導致三種不同多肽之產生、生成及聚集，各多肽由兩個胺基酸之重複單元(二肽重複，DPR)組成，亦即聚-(Gly-Ala；GA)、聚-(Gly-Pro；GP)及聚-(Gly-Arg；GR)。此外，對應反義轉錄物之轉譯導致聚-(Pro-Arg；PR)、聚-(Pro-Ala；PA)及聚-(Gly-Pro；GP)之產生。已顯示此等 C9orf72-二肽重複(DPR)擴增為多達 30% FTLD 患者之、50% ALS 患者及 80% FTLD-ALS 患者之原因，且在美國及歐盟高加索人群中觀察到最高突變頻率。此外，與患有其它形式之 FTLD 及/或 ALS 的患者相比，患有具有超過 19 個重複序列之 C9orf72-DPR 擴增之患者發病年齡較低，神經系統疾病發生率增加，且傾向於患精神病或幻覺；參見，例如, Harms 等人, *Neurobiol. Aging* 34 (2013), e13-e19。

【0003】 用於與二肽重複(DPR)擴增相關之疾病及/或病症之治療，例如減緩疾病進展之藥物為缺少的。迄今為止，醫療照護之主要焦點在於提供用於治療通常非常緊迫之伴隨症狀之藥物。

【0004】 近期最突出之治療性靶向 ALS、FTLD 及其它神經退行性疾病之 C9orf72 之病理擴增之方法集中於反義寡核苷酸/RNA 干擾(RNAi)策略及基因治療，該干擾策略藉由自重複序列轉譯二肽重複蛋白(DPR)，或藉由自 C9orf72 擴增隱蔽 RNA 結合蛋白，使用小化合物來抵消由重複轉錄(焦點)所產生之 RNA 直接施加之毒性作用來進行，該基因治療不僅用於使毒性 RNA/蛋白質沉默，而

且亦用於挽救由 C9orf72 編碼序列之轉錄減少或由 RNA 焦點隱蔽之 RNA 結合蛋白之可用性降低所造成之單倍體不足；關於綜述，參見，例如 Misc. 等人, Mol. Neurobiol. 54 (2017), 4466-4476。

【0005】 雖然考慮在具有 C9orf72 之六核苷酸重複擴增之患者腦中之 DPR 蛋白之抗體靶向可能為吸引人的，但迄今為止，似乎此方法尚未得到適當考慮或可能受到所採用之實際方法影響。例如，Edbauer 等人之小組描述藉由用經聚集 (GA)₁₀ 肽 (SEQ ID NO:72) 使小鼠免疫來產生針對由序列 (Gly-Ala) 之二肽重複序列組成之寡肽之抗體，其顯示結合至含有 GA-DPR(GA)₁₅ (SEQ ID NO:66) 之 GST-融合蛋白；參見國際申請案 WO 2014/114660。已顯示稱為 GA-5F2 之彼等抗體中之一者在活體外共培養檢定及細胞萃取物中抑制 C9orf72 聚-GA 二肽重複蛋白之傳遞及聚集；參見 Zhou 等人, EMBO Molecular Medicine 9 (2017), 687-702。

【0006】 然而，除了小鼠單株抗體由於單株抗體針對人工抗原產生之事實而易於在人體內引發人抗小鼠抗體 (HAMA) 反應之缺點外，尚不清楚 DPR-GA₁₅ 之結合是否轉化為針對來自存在於患有 ALS、FTLD 及其它神經變性疾病之患者腦中之 C9orf72 基因之 DPR 蛋白之對應特異性及親和力。

【0007】 事實上，似乎學術界及工業界仍集中於 C9orf72 ALS/FTLD 之 RNA 靶向治療策略；參見，例如 Simone 等人, EMBO Molecular Medicine 10 (2018), 22-31 之最新出版物及 Schludi & Edbauer, EMBO Molecular Medicine 10 (2018), 4-6 之評論，其報道了在表現 GGGGCC 重複序列之果蠅中靶向 RNA G-四倍組合在活體外及活體內改善 C9orf72 ALS/FTLD 病理學之有希望的結果。

【0008】 然而，基於 RNA 之治療劑、小有機化合物及基因療法具有若干缺點，例如 RNA 之固有不穩定性、化合物之潛在免疫原性特性及需要遞送媒介物以有效轉運至靶細胞以及關於基因療法之應用的倫理問題仍存在。

【0009】 因此，仍需要開發治療性靶向 C9orf72 之病理性擴增之新藥物，以用於治療 ALS、FTLD 及其它神經退行性疾病，該等藥物特異性針對由 C9orf72 基因之表現產物引起之疾病及病症，且視情況地屬於經過充分研究之一類藥物，且在人類中可耐受。

【0010】 該技術問題藉由在申請專利範圍中表徵並在下文中進一步描述且在實例及附圖中說明之實施例解決。

【發明內容】

【0011】 本發明提供能夠結合由聚甘胺酸-丙胺酸(Gly-Ala; GA)重複序列組成之二肽重複序列(DPR)及含有 DPR 之蛋白質(DPR 蛋白質)之人源單株抗體，以及等效 DPR 蛋白質結合分子，諸如本文例示之抗體之 DPR 結合片段、合成變異體及生物技術衍生物，其特別適用於預防性或治療性治療與 DPR 蛋白及其聚集形式相關之疾病及病症。

【0012】 最近，已經描述了一類人源抗 DPR 抗體，該抗體對於在 C9orf72-ALS 及 FTLD 患者之治療中開發基於抗體之治療干預具有很大希望；參見國際申請案 WO 2016/050822，其揭露內容以引用之方式併入本文。如其中所述，抗 DPR 蛋白抗體及其編碼可變區之 cDNA 已經分別自無神經系統及神經退行性疾病之症狀之患者中分離出來；參見 WO 2016/050822 之第 3 頁及其中之實例。在根據本發明進行之進一步實驗中，可鑒定且選殖抗聚-GA DPR 抗體，其經命名為 NI-308.5J10，且在下文中亦稱為「主題抗體」，該抗體可以顯示具有獨特結合特徵，如在不同結合檢定中且特別是在源自經選定人 C9orf72-FTLD 患者之腦組織中所判定；參見實例 11 及圖 10。此外，如實例 9 及圖 8 所示，藉由參考抗聚-GA 抗體(NI-mAb 參考)與靶標之預先結合不會阻斷主題抗體與經聚集 C9orf72

聚-GA DPR(GA)₁₅(SEQ ID NO:66)之結合，而藉由主題 NI-308.5J10 抗體與靶標之預先結合消除了參考抗聚-GA 抗體與 C9orf72 DPR 肽之結合。

【0013】 因此，儘管主題 NI-308.5J10 抗體及參考抗聚-GA 抗體已予以選擇且識別 C9orf72 聚-GA DPR 蛋白或其聚集形式，但是主題抗體令人驚訝地似乎識別聚-GA 肽上之其它構形抗原決定基。該特性使得抗體特別適合於在攜帶 C9orf72 六核苷酸重複擴增之患者中靶向 C9orf72 DPR 蛋白，因為聚-GA DPR 蛋白聚集物通常與其它 DPR 蛋白及/或不相關之聚集蛋白諸如 p62 及 hnRNP A3 共聚集 (Mori 等人, *Acta Neuropathol.* 126 (2013), 881-893; Mann 等人, *Acta Neuropathologica. Communications* (2013), 1:68. doi:10.1186/2051-5960-1-68; Davidson 等人, *Acta Neuropathologica Communications* (2017); 5:31. doi:10.1186/s40478-017-0437-5)。

【0014】 此外，在本發明範圍內進行之進一步實驗表明，CDR 及框架區中易於脫醯胺或糖基化之胺基酸可經取代而不喪失主題抗體之必需結合特徵；參見實例 12 至 15 及圖 11。

【0015】 因此，本發明亦提供了原始人源抗 DPR 抗體之變異體及衍生物，其在 CDR 及/或框架區內含有一或多個胺基酸取代，該胺基酸取代允許改善抗體之可製造性，同時抗體之結合特徵及穩定性以同樣的方式保持不受影響或甚至得到改善；見實例 15 及 16。此外，由於 CDR 及/或可變區中之僅微小修飾，預期原始 NI-308.5J10 抗體之主題變異體及衍生物在人類中基本上亦為非免疫原性的。

【0016】 總之，本申請案揭示之本發明提供了人源抗聚 GA 抗體及其變異體及衍生物，其具有使其特別適用於在人腦中靶向 C9orf72 DPR 蛋白或其聚集形式之性質且因此適用於 C9orf72 ALS/FTLD 患者之免疫療法。

【0017】 因此，本發明一般係關於以下實施例：

[1] 一種能夠結合自染色體 9 開放閱讀框 72(C9orf72)基因轉譯之具有至少 6 個重複(GA)₆(SEQ ID NO:80)之聚甘胺酸-丙胺酸(GA)之二肽重複(DPR)之抗體或其 DPR 結合片段，其中該抗體或其 DPR 結合片段在其可變區中包含以下六個互補決定區(CDR)：

(a) 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:3(例如，包含 SEQ ID NO:78)之 VH-CDR1 或其變異體，其中該變異體包含一或兩個胺基酸取代，

(b) 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:4 之 VH-CDR2 或其變異體，其中該變異體包含一或兩個胺基酸取代，

(c) 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:5 之 VH-CDR3 或其變異體，其中該變異體包含一或兩個胺基酸取代，

(d) 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:8 之 VL-CDR1 或其變異體，其中該變異體包含一或兩個胺基酸取代，

(e) 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:9 之 VL-CDR2 或其變異體，其中該變異體包含一或兩個胺基酸取代，

(f) 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:10 之 VL-CDR3 或其變異體，其中該變異體包含一或兩個胺基酸取代，

視情況其中該抗體為人源抗體，視情況其中該抗體為單株抗體，視情況其中該抗體為人源單株抗體。

[2] [1]之抗體或其 DPR 結合片段，在其可變區中包含

(a) 包含 SEQ ID NO:2 所示之胺基酸序列之可變重鏈(V_H)或其變異體，其中該變異體包含一或多個胺基酸取代；及

(b) 包含 SEQ ID NO:7 所示之胺基酸序列之可變輕鏈(V_L)或其變異體，其中該變異體包含一或多個胺基酸取代；視情況其中

V_H 及 V_L 鏈胺基酸序列分別與 SEQ ID NO:2 及 7 至少 90%相同。

[3] [1]或[2]之抗體或其 DPR 結合片段，其中

(a) CDR 不含有易脫醯胺之天冬醯胺(N)及/或麩醯胺(Q)；且/或

(b) V_H 及/或 V_L 鏈胺基酸序列不含有佔據之糖基化位點。

[4] [1]至[3]中任一項之抗體或其 DPR 結合片段，其中該一、兩或更多個胺基酸取代係選自

(a) 用非易脫醯胺之胺基酸取代易脫醯胺之天冬醯胺(N)或麩醯胺(Q)；

(b) 用較大胺基酸取代與易脫醯胺之 N 或 Q 直接相鄰之較小可撓性胺基酸，視情況其中相鄰胺基酸為甘胺酸(G)；

(c) 至少一個胺基酸之導致糖基化位點移除之取代，視情況其中該至少一個胺基酸位於糖基化基序 NXS 或 NXT 內；及/或

(d) 一或多個胺基酸之取代，其為保守性胺基酸取代。

[5] [4]之抗體或其 DPR 結合片段，其中(a)及(b)之胺基酸取代存在於 VH-CDR2 中，且(c)之胺基酸取代存在於 V_L 鏈中。

[6] [5]之抗體或其 DPR 結合片段，其中

(i) 在 VH-CDR2 中，對應於 SEQ ID NO:2 之 54 位之天冬醯胺(N)及/或對應於 55 位之甘胺酸(G)經另一種胺基酸取代，視情況其中天冬醯胺(N)經絲胺酸(S)或蘇胺酸(T)取代且/或其中甘胺酸(G)經絲胺酸(S)或蘇胺酸(T)取代；及/或

(ii) 在 V_L 鏈中，對應於 SEQ ID NO:7 之 75 位之天冬醯胺(N)經另一種胺基酸取代，視情況其中天冬醯胺(N)經天冬胺酸(D)取代。

[7] [1]至[6]中任一項之抗體或其 DPR 結合片段，其中該抗體或 DPR 結合片段對於聚-(GA)₈肽(SEQ ID NO: 81)所具有之結合親和力對應於小於 30 nM 之 K_D (解離常數)，其中 K_a (結合速率)小於 $5 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 且 K_d (解離速率)小於 $10 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ ，如藉由表面電漿共振(SPR)所測定，視情況其中該 DPR 結合片段所具有之結合親和力對應於 10 nM 至 30 nM 之 K_D (解離常數)，其中 K_a (結合速率)為 1 至 $5 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 且 K_d (解離速率)為 2.5 至 $10 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ ，如藉由表面電漿共振(SPR)所測定。

[8] [1]至[7]中任一項之抗體或其 DPR 結合片段，其中其 Fab 片段具有分別在 78-82°C 範圍內，例如在約 79-81°C 範圍內之熱穩定性及解構溫度 T_m ，如藉由差示掃描量熱法(VP-DSC)測定。

[9] [1]至[8]中任一項之抗體或其 DPR 結合片段，其在可變區中包含

(i) 以下六個 CDR：

(a) 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:3(例如，包含 SEQ ID NO:78)之 VH-CDR1，

(b) 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:13 之 VH-CDR2，

(c) 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:5 之 VH-CDR3，

(d) 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:8 之 VL-CDR1，

(e) 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:9 之 VL-CDR2，

(f) 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:10 之 VL-CDR3；

(ii) 以下六個 CDR：

(a) 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:3(例如，包含 SEQ ID NO:78)之 VH-CDR1)，

(b) 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:14 之 VH-CDR2，

(c) 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:5 之 VH-CDR3，

(d) 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:8 之 VL-CDR1，

(e) 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:9 之 VL-CDR2，

(f) 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:10 之 VL-CDR3；

(iii) 以下六個 CDR：

(a) 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:3(例如，包含 SEQ ID NO:78)之 VH-CDR1，

(b) 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:19 之 VH-CDR2，

(c) 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:5 之 VH-CDR3，

(d) 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:8 之 VL-CDR1，

(e) 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:9 之 VL-CDR2，

(f) 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:10 之 VL-CDR3；

(iv) 以下六個 CDR：

(a) 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:3(例如，包含 SEQ ID NO:78)之 VH-CDR1，

(b) 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:22 之 VH-CDR2，

(c) 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:5 之 VH-CDR3，

(d) 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:8 之 VL-CDR1，

(e) 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:9 之 VL-CDR2，

(f) 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:10 之 VL-CDR3；或

(v) 以下六個 CDR：

(a) 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:3(例如，包含 SEQ ID NO:78)之 VH-CDR1，

(b) 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:4 之 VH-CDR2，

(c) 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:5 之 VH-CDR3，

(d) 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:8 之 VL-CDR1，

(e) 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:9 之 VL-CDR2，

(f) 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:10 之 VL-CDR3。

[9a] [1]至[8]中任一項之抗體或其 DPR 結合片段，其在其可變區中包含以下六個 CDR：

- (a) 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:3(例如，包含 SEQ ID NO:78)之 VH-CDR1，
- (b) 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:13 之 VH-CDR2，
- (c) 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:5 之 VH-CDR3，
- (d) 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:8 之 VL-CDR1，
- (e) 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:9 之 VL-CDR2，及
- (f) 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:10 之 VL-CDR3。

[10] [1]至[9a]中任一項之抗體或其 DPR 結合片段，其在其可變區中包含

- (i) 如 SEQ ID NO:12 及 SEQ ID NO:24 所示之 V_H 及 V_L 鏈胺基酸序列；
- (ii) 如 SEQ ID NO:2 及 SEQ ID NO:24 所示之 V_H 及 V_L 鏈胺基酸序列；
- (iii) 如 SEQ ID NO:15 及 SEQ ID NO:24 所示之 V_H 及 V_L 鏈胺基酸序列；
- (iv) 如 SEQ ID NO:18 及 SEQ ID NO:24 所示之 V_H 及 V_L 鏈胺基酸序列；
- (v) 如 SEQ ID NO:21 及 SEQ ID NO:24 所示之 V_H 及 V_L 鏈胺基酸序列；
- (vi) 如 SEQ ID NO:12 及 SEQ ID NO:7 所示之 V_H 及 V_L 鏈胺基酸序列；
- (vii) 如 SEQ ID NO:15 及 SEQ ID NO:7 所示之 V_H 及 V_L 鏈胺基酸序列；
- (viii) 如 SEQ ID NO:18 及 SEQ ID NO:7 所示之 V_H 及 V_L 鏈胺基酸序列；
- (ix) 如 SEQ ID NO:21 及 SEQ ID NO:7 所示之 V_H 及 V_L 鏈胺基酸序列；或
- (x) 如 SEQ ID NO:2 及 SEQ ID NO:7 所示之 V_H 及 V_L 鏈胺基酸序列；

[10a] [1]至[10]中任一項之抗體或其 DPR 結合片段，在其可變區中包含 V_H 鏈，該 V_H 鏈包含與胺基酸序列 SEQ ID NO:12 至少 90%相同之胺基酸序列。

[10b] [1]至[10a]中任一項之抗體或其 DPR 結合片段，在其可變區中包含 V_L 鏈，該 V_L 鏈包含與胺基酸序列 SEQ ID NO:24 至少 90%相同之胺基酸序列。

[10c] [1]至[10b]中任一項之抗體或其 DPR 結合片段，在其可變區中包含 V_H 鏈，該 V_H 鏈包含與胺基酸序列 SEQ ID NO:12 至少 95%相同之胺基酸序列。

[10d] [1]至[10c]中任一項之抗體或其 DPR 結合片段，在其可變區中包含 V_L 鏈，該 V_L 鏈包含與胺基酸序列 SEQ ID NO:24 至少 95%相同之胺基酸序列。

[10e] [1]至[10d]中任一項之抗體或其 DPR 結合片段，在其可變區中包含 V_H 鏈，該 V_H 鏈包含與胺基酸序列 SEQ ID NO:12 至少 99%相同之胺基酸序列。

[10f] [1]至[10e]中任一項之抗體或其 DPR 結合片段，在其可變區中包含 V_L 鏈，該 V_L 鏈包含與胺基酸序列 SEQ ID NO:24 至少 99%相同之胺基酸序列。

[10g] [1]至[10f]中任一項之抗體或其 DPR 結合片段，在其可變區中包含 V_H 鏈，該 V_H 鏈包含胺基酸序列 SEQ ID NO:12 之變異體，該變異體相對於胺基酸序列 SEQ ID NO:12 具有 1、2 或 3 個添加、取代或缺失。

[10h] [1]至[10g]中任一項之抗體或其 DPR 結合片段，在其可變區中包含 V_L 鏈，該 V_L 鏈包含胺基酸序列 SEQ ID NO:24 之變異體，該變異體相對於胺基酸序列 SEQ ID NO:24 具有 1、2 或 3 個添加、取代或缺失。

[10i] [1]至[10h]中任一項之抗體或其 DPR 結合片段，在其可變區中包含 V_H 鏈，該 V_H 鏈包含胺基酸序列 SEQ ID NO:12。

[10j] [1]至[10i]中任一項之抗體或其 DPR 結合片段，在其可變區中包含 V_L 鏈，該 V_L 鏈包含胺基酸序列 SEQ ID NO:24。

[11] [1]至[10j]中任一項之抗體或其 DPR 結合片段，其進一步包含異源多肽序列，該異源多肽序列視情況與 CDR 或 V_H 及 V_L 鏈胺基酸序列異源，視情況其中該異源多肽序列包含人恆定域，視情況為 IgG 類型，視情況為 IgG1 類別或同型。

[11a] [11]之抗體或其 DPR 結合片段，其中該異源多肽序列與 CDR 為異源的。

[11b] [11]之抗體或其 DPR 結合片段，其中該異源多肽序列與 V_H 及 V_L 為異源的。

[11c] [11]至[11b]中任一項之抗體或其 DPR 結合片段，其中該異源多肽序列為輕鏈恆定域，視情況為 κ 型。

[11d] [11]至[11b]中任一項之抗體或其 DPR 結合片段，其中該異源多肽序列為異源哺乳動物分泌信號肽。

[12] [1]至[11d]中任一項之抗體或其 DPR 結合片段，其視情況僅在重複數 $n \geq 6$ 時與聚-GA 肽結合。

[13] [1]至[12]中任一項之抗體或其 DPR 結合片段，其中該抗體識別聚-(GA)₁₅ 肽 (SEQ ID NO:66) 上之線性及構形抗原決定基。

[14] [1]至[13]中任一項之抗體或其 DPR 結合片段，其中該抗體以約(0.05-0.5 nM，視情況 0.1-0.2 nM)之親和力 K_D 結合至聚-(GA)₁₅ 肽(SEQ ID NO:66)，其中結合速率常數為($K_a = 0.5-5 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$)且解離常數為($K_d = 1-5 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$)，如藉由生物層干涉術測定。

[15] [1]至[14]中任一項之抗體或其 DPR 結合片段，其中該抗體以與對應疏水性塗佈肽基本相同之親和力結合至與 BSA 載體蛋白偶聯之聚-GA 肽。

[16] [1]至[15]中任一項之抗體或其 DPR 結合片段，其與不相關之致澱粉樣蛋白基本上無交叉反應性或具有最小交叉反應性。

[17] [1]至[16]中任一項之抗體或其 DPR 結合片段，其中該抗體能夠結合 C9orf72-FTLD 患者小腦之顆粒細胞層中自 C9orf72 基因轉譯之含 DPR 蛋白質或其聚集形式。

[18] [1]至[17]中任一項之抗體或其 DPR 結合片段，若向基因轉殖 C9orf72 小鼠模型投與該抗體或片段，則其能夠改善 C9orf72 疾病之病理學標誌之至少一種症狀，例如神經元缺失、行為異常、運動缺陷及生存率下降。

[19] [1]至[18]中任一項之抗體，其係選自由單鏈 Fv 片段(scFv)、F(ab')片段、F(ab)片段及 F(ab')₂片段組成之群。

[20] [1]至[19]中任一項之抗體，其為嵌合鼠-人抗體或鼠源化抗體。

[21] 一或多種編碼[1]至[20]中任一項之抗體或其 DPR 結合片段或其免疫球蛋白 V_H或 V_L鏈之多核苷酸，視情況其中該多核苷酸為 cDNA 及/或可操作地連接至異源核酸。

[21a] 一種編碼[1]至[20]中任一項之抗體或其 DPR 結合片段之 V_H鏈之多核苷酸，其中當與包含胺基酸序列 SEQ ID NO:24 之 V_L鏈配對時，V_H鏈結合至自 C9orf72 基因轉譯之具有至少 6 個重複序列之聚-GA 之 DPR 或其 DPR 結合片段，視情況其中該多核苷酸為 cDNA 及/或可操作地連接至異源核酸。

[21b] 一種編碼[1]至[20]中任一項之抗體或其 DPR 結合片段之 V_L鏈之多核苷酸，其中當與包含胺基酸序列 SEQ ID NO:12 之 V_H鏈配對時，V_L鏈結合至自 C9orf72 基因轉譯之具有至少 6 個重複序列之聚-GA 之 DPR 或其 DPR 結合片段，視情況其中該多核苷酸為 cDNA 及/或可操作地連接至異源核酸。

[21c] [21]至[21b]中任一項之多核苷酸，其中該異源核酸為調節元件。

[21d] [21]至[21b]中任一項之多核苷酸，其中異源核酸為啟動子、增強子、核糖體結合位點或轉錄終止子，視情況其中該啟動子為細胞巨大病毒即刻早期啟動子。

[21e] [21]至[21b]中任一項之多核苷酸，其中該異源核酸編碼分泌信號肽，視情況其中該分泌信號肽為哺乳動物信號肽。

[22] 一或多種載體，其包含[21]至[21e]中任一項之多核苷酸。

[23] 一種宿主細胞，其包含[21]至[21e]中任一項之多核苷酸或[22]之載體。

[24] [21]至[21e]中任一項之多核苷酸、[22]之載體或[30]之宿主細胞用於產生抗 DPR 抗體之用途。

[25] 一種用於製備抗 DPR 抗體或其免疫球蛋白鏈之方法，該方法包含：

(a) 培養[23]之細胞；及

(b) 自培養物中分離該抗體或其免疫球蛋白鏈。

[26] 一種抗體或其 DPR 結合片段或免疫球蛋白鏈，其由[21]至[21e]中任一項之多核苷酸編碼或者可藉由[25]之方法或[24]之用途獲得。

[27] [1]至[20]或[26]中任一項之抗體或其 DPR 結合片段，其為

(i) 偵測用選自由酶、放射性同位素、螢光團、標誌、旗標及重金屬組成之群之標籤可偵測地標記；或

(ii) 連接至藥物。

[28] 一種組成物，其包含[1]至[20]、[26]或[27]中任一項之抗體或其 DPR 結合片段、[21]至[21e]中任一項之多核苷酸、[22]之載體或[23]之細胞。

[29] [28]之組成物，其係醫藥組成物且進一步包含醫藥學上可接受之載劑，視情況其中該組成物為疫苗。

[30] 一種製備醫藥組成物之方法，該醫藥組成物用於治療與含有 DPR 之蛋白質或其聚集形式相關或由其引起之病症，該方法包含：

(a) 培養[23]之細胞；

(b) 將來自培養物之抗體或其免疫球蛋白鏈純化至藥用級；及

(c) 將其抗體與醫藥學上可接受之載劑混合

[31] [28]之組成物，其係診斷組成物或套組，視情況進一步包含習用地用於基於免疫之診斷方法之試劑。

[32] [1]至[20]、[26]或[27]中任一項之抗體或其 DPR 結合片段、[21]之多核苷酸、[22]之載體或[23]之細胞用於預防性治療與含有 DPR 之蛋白質或其聚集形式相關或由其引起之疾病。

[32a] [1]至[20]、[26]或[27]中任一項之抗體或其 DPR 結合片段、[21]之多核苷酸、[22]之載體或[23]之細胞用於治療性治療與含有 DPR 之蛋白質或其聚集形式相關或由其引起之疾病。

[32b] [1]至[20]、[26]或[27]中任一項之抗體或其 DPR 結合片段、[21]之多核苷酸、[22]之載體或[23]之細胞用於預防性及治療性治療與含有 DPR 之蛋白質或其聚集物形式相關或由其引起之疾病。

[33] 用於根據[32]至[32b]中任一項之用途之抗體或其 DPR 結合片段、多核苷酸、載體或細胞，其中該疾病係選自由額顳葉變性(FTLD)、肌肉萎縮性脊髓側索硬化症(ALS)及 FTLD-ALS 組成之群。

[34] 用於根據[32]至[32b]及[33]中任一項之用途之抗體或其 DPR 結合片段、多核苷酸、載體或細胞，其中該抗體在向基因轉殖 C9orf72 小鼠模型投與時能夠改善 C9orf72 疾病之病理學標誌之至少一種症狀，例如神經元缺失、行為異常、運動缺陷及存活率降低。

[35] [1]至[20]、[26]或[27]中任一項之抗體或其 DPR 結合片段，用於在人或動物體內活體內偵測聚-GA DPR 蛋白質例如經聚集聚-GA DPR 蛋白質或向該蛋白質靶向輸送治療劑及/或診斷劑。

[36] 用於根據[35]之用途之抗體或其 DPR 結合片段，其中該活體內造影包含正電子發射斷層攝影術(PET)、單光子發射斷層攝影術(SPECT)、近紅外(NIR)、光學造影或磁共振造影(MRI)。

【0018】 此外，本文提供了 DPR Ab-1 抗體或其片段。此外，本文提供了抗 DPR 抗體或其片段，其包含表 12 中所述之互補決定區(CDR)、重鏈序列、輕鏈序列、可變域序列及/或恆定域序列。在實施例中，抗 DPR 抗體或其片段包含具有胺基酸序列 SEQ ID NO:38 之重鏈及具有胺基酸序列 SEQ ID NO:42 之輕鏈。

【0019】 本文亦提供了核酸分子，其包含：

- (i) 編碼具有胺基酸序列 SEQ ID NO:38 之抗 DPR 抗體重鏈之核酸序列；及/或
- (ii) 編碼具有胺基酸序列 SEQ ID NO:42 之抗 DPR 抗體之輕鏈之核酸序列，視情況其中核酸序列(i)及(ii)設置於同一核酸分子上或單獨核酸分子上，視情況地其中核酸分子包含 cDNA 及/或可操作地連接至異源核酸。

【0020】 本文亦提供了包含核苷酸序列 SEQ ID NO:51-58 中之一或多者之核酸分子。

【0021】 本文亦提供了一種載體，其包含本文所述核酸分子。

【0022】 本文亦提供了一種宿主細胞，其包含(i)本文所述之核酸分子或(ii)本文所述之載體。

【0023】 在一些態樣，本文提供了本文所述之核酸分子、載體或宿主細胞用於產生抗 DPR 抗體或其片段之用途。

【0024】 在一些態樣，本文提供了一種產生抗 DPR 抗體或其片段之方法，其包含：(i)培養本文所述之宿主細胞；(ii)自培養物中分離抗體或其片段。

【0025】 本文亦提供了一種組成物，例如醫藥組成物，其包含本文所述之抗 DPR 抗體或其片段、本文所述之核酸分子、本文所述之載體或本文所述之宿主細胞。在實施例中，醫藥組成物包含醫藥學上可接受之載劑。在實施例中，組成物為診斷組成物或套組，例如，進一步包含習用地用於基於免疫之診斷方法之試劑。

【0026】 亦提供了一種治療有此需要之受試者中與含有 DPR 之蛋白質聚集物，例如含有 C9ORF72 DPR 之蛋白質聚集物相關或由其引起之病症(例如，肌肉萎縮性脊髓側索硬化症(ALS)、額顳葉變性(FTLD)或 FTLD-ALS)之方法，該方法包含向該受試者投與本文所述之抗 DPR 抗體或其片段(例如，DPR Ab-1，例如，含有表 12 中所示之胺基酸序列)，從而治療受試者中之病症(例如，ALS、FTLD 或 FTLD-ALS)。

【0027】 亦提供了一種製備醫藥組成物之方法，該醫藥組成物用於治療與含有 DPR 之蛋白質或其聚集形式相關或由其引起之病症(例如，ALS、FTLD 或 FTLD-ALS)，該方法包含：(i)培養本文所述之宿主細胞；(ii)自培養物中分離及/或純化抗體或其片段至藥用級；及(iii)將抗體或其片段與醫藥學上可接受之載劑混合。

【0028】 本文提供了本文所述之抗 DPR 抗體或其片段(例如，DPR Ab-1，例如，含有表 12 中所示之胺基酸序列)、本文所述之核酸分子、本文所述之載體或本文所述之宿主細胞用於治療(例如，預防性及/或治療性治療)與含有 DPR 之蛋白質或其聚集形式相關或由其引起之病症(例如，ALS、FTLD 或 FTLD-ALS)。

【0029】 本文提供了本文所述之抗 DPR 抗體或其片段(例如，DPR Ab-1，例如，含有表 12 中所示之胺基酸序列)、本文所述之核酸分子、本文所述之載體或本文所述之宿主細胞用於製備用以治療(例如，預防性及/或治療性地)與含有 DPR 之蛋白質或其聚集形式相關或由其引起之病症之藥物(例如，ALS、FTLD 或 FTLD-ALS)的用途。

【0030】 根據以下描述及實例，本發明之其它實施例將係顯而易見的。

【圖式簡單說明】

【0031】 **圖 1：**人抗體 NI-308.5J10 及其變異體之可變區之胺基酸序列。框架 (FR)及互補決定區(CDR)予以指示，且 CDR 經加下劃線。使用 Kabat 編號方案(參閱 <http://www.bioinf.org.uk/abs/>；Kabat 等人, U.S. Dept. of Health and Human Services, 「Sequence of Proteins of Immunological Interest」 (1983)，其在所提到之網路參考文獻中提及且在 WO 2016/050822 A2 之表 1 中在第 39 及 40 頁中給出，其以引用之方式併入本文。除非另有說明，否則提及本發明之抗體或其 DPR 結合片段、變異體或衍生物中特定胺基酸殘基位置之編號係根據 Kabat 編號系統，然而該編號系統為理論上的且可能不同等地適用於本發明之各種抗體。例如，取決於第一 CDR 之位置，後續 CDR 可以在任一方向上移位。因此，在關於圖 1 及/或序列表中之 CDR 之指示之任何不經意之錯誤或不一致之情況下，基於本申請案之揭露內容，亦即抗體 NI-308.5J10 之可變重鏈(V_H)及可變輕鏈(V_L)胺基酸序列，熟習此項技藝者很好地根據 Kabat 來判定正確的 CDR 序列，該編號系統應用於定義要求保護之抗體及其 DPR 結合片段。(A)如 SEQ ID NO:2 及 7 所示之抗體 NI-308.5J10 之可變重鏈 VH 及輕鏈 VK 序列；(B)SEQ ID NO:12 所示之具有胺基酸取代 N54S 之抗體 NI-308.5J10 變異體之可變重鏈序列 VH。可變重鏈及輕鏈序列之 CDR 內之較佳胺基酸取代以粗體表示，包括存在於(c)至(e)所示之可變重鏈序列及(f)所示之可變輕鏈序列中之彼等者。如在說明書中進一步解釋的，在 CDR 及/或框架區內，保守性胺基酸取代係較佳的，其考慮到單獨或與相鄰胺基酸一起之原始胺基酸之物理化學性質，如在 Mirsky 等人, Mol. Biol. Evol. 32 (2014) 806-819 在第 813 頁圖 6 中所說明，特別是 LG 模型，例如使得兩個胺基酸之位置改變，例如，在 VL-CDR3 中，「PS」變成「SP」，該改變已經在具有相似但不相同之結合特徵之人源抗聚 GA 抗體之可變輕鏈中發現，這可能歸因於在一或多個其它 CDR 中另外超過兩個胺基酸取代。(C)SEQ ID NO:15 所

示之具有胺基酸取代 N54T 之抗體 NI-308.5J10 變異體之可變重鏈序列 VH；(D)SEQ ID NO:18 所示之具有胺基酸取代 G55S 之抗體 NI-308.5J10 變異體之可變重鏈序列 VH；(E)SEQ ID NO:21 所示之具有胺基酸取代 G55T 之抗體 NI-308.5J10 變異體之可變重鏈序列 VH；(F)SEQ ID NO:24 所示之具有胺基酸取代 N75D 之抗體 NI-308.5J10 變異體之可變輕鏈序列 VK。

【0032】 圖 2：C9orf72 二肽重複蛋白之結合特異性及 EC₅₀ 測定。人源 NI-308.5J10 抗體對 C9orf72 二肽重複蛋白肽 (GA)₁₅(■)(SEQ ID NO:66)、(GP)₁₅(▲)(SEQ ID NO:67)、(GR)₁₅之 EC₅₀(▼)(SEQ ID NO:68)、(PA)₁₅(◆)(SEQ ID NO:69)、(PR)₁₅(●)(SEQ ID NO:70)及 BSA 對照(△)之 EC₅₀藉由間接 ELISA 測定。抗體 NI-308.5J10 以 0.26 nM 之結合親和力特異性識別 C9orf72 DPR 蛋白肽 (GA)₁₅(SEQ ID NO:66)。

【0033】 圖 3：BSA 偶聯及未偶聯之 C9orf72 二肽重複蛋白肽之 EC₅₀測定。使用間接 ELISA，測定人源 NI-308.5J10 抗體對 BSA 偶聯(▲)及未偶聯(■)C9orf72 二肽重複蛋白肽(GA)₁₅(SEQ ID NO:66)、(GP)₁₅(SEQ ID NO:67)、(GR)₁₅(SEQ ID NO:68)、(PR)₁₅(SEQ ID NO:69)、(PA)₁₅(SEQ ID NO:70)或 BSA 對照(△)之半數最大有效濃度(EC₅₀)。抗體 NI-308.5J10 以相似之結合親和力識別 BSA 偶聯(0.16 nM)及未偶聯(0.23 nM)C9orf72 DPR 蛋白肽。

【0034】 圖 4：人源抗-(聚-GA)DPR 抗體 NI-308.5J10 與不相關聚集蛋白之結合特異性分析。抗體與 C9orf72(GA)₁₅(SEQ ID NO:66)、(GP)₁₅(SEQ ID NO:67)、(GR)₁₅(SEQ ID NO:68)、(PR)₁₅(SEQ ID NO:70)及(PA)₁₅(SEQ ID NO:69)肽及 5 種不相關致澱粉樣蛋白之結合藉由間接 ELISA 測定。抗體 NI-308.5J10-顯示與 C9orf72(GA)₁₅(SEQ ID NO:66)肽之結合，不存在與不相關分析物之顯著脫靶結合。在 20 nM 濃度下測試 NI-308.5J10 抗體。

【0035】 圖 5：NI-308.5J10 抗體對 C9orf72 二肽重複蛋白之結合選擇性。藉由西方墨點分析來測定人源抗體 NI-308.5J10 C9orf72 對 BSA 偶聯之 C9orf72 二肽重複蛋白肽(GA)₁₅(SEQ ID NO:66)、(GP)₁₅(SEQ ID NO:67)、(GR)₁₅(SEQ ID NO:68)、(PA)₁₅(SEQ ID NO:69)及(PR)₁₅(SEQ ID NO:70)之結合選擇性。C9orf72 聚-GA DPR 蛋白經抗體 NI-308.5J10 識別。

【0036】 圖 6：抗體 NI-308.5J10 之 C9orf72 DPR 蛋白重複序列長度依賴性結合。藉由間接 ELISA 測定人源 NI-308.5J10 抗體對 C9orf72 聚-GA 二肽重複蛋白肽之二肽重複序列長度依賴性結合特異性及半數最大有效濃度(EC₅₀)。抗體 NI-308.5J10 分別以在 13.8 nM、0.30 nM 及 0.29 nM 之 EC₅₀ 下之結合親和力靶向 DPR 蛋白肽(GA)₆(SEQ ID NO:80)、(GA)₁₀(SEQ ID NO:79)及(GA)₂₀(SEQ ID NO:82)。圖 6 按出現順序分別揭示了 SEQ ID NO:77、76、75、74、73、72 及 71。

【0037】 圖 7：藉由生物層干涉術表徵 NI-308.5J10 與聚-GA C9orf72 二肽重複蛋白肽之結合。使用生物層干涉術測定抗體 NI-308.5J10 對 C9orf72 二肽重複蛋白肽(GA)₁₅(SEQ ID NO:66)之結合常數 KD、K_a 及 K_d。生物層干涉術(BLI)感測圖顯示 NI-308.5J10 與經固定之合成(GA)₁₅肽(SEQ ID NO:66)之結合。以各種濃度運行抗體：30、15、7.5、3.75 及 1.875 nM。一式三份進行量測。感測圖顯示各測試抗體濃度之單次量測，但是對於最高濃度而言，另外顯示第二資料集。抗體 NI-308.5J10 顯示 $(1.5 \pm 0.2) \times 10^{-10}$ M 之 KD、 $(1.63 \pm 0.05) \times 10^5$ M⁻¹s⁻¹ 之 K_a 及 $(2.4 \pm 0.4) \times 10^{-5}$ s⁻¹ 之 K_d。

【0038】 圖 8：藉由生物層干涉術來表徵 NI-308.5J10 及參考人源抗聚-GA DPR 抗體(NI-mAb 參考)競爭性結合至聚-GA C9orf72 DPR 肽。使用生物層干涉術測定抗體 NI-308.5J10 及 NI-mAb 參考對於 C9orf72 DPR 肽(GA)₁₅(SEQ ID

NO:66)之競爭性結合模式。生物層干涉術(BLI)感測圖顯示 NI-308.5J10(A)及 NI-mAb 參考(B)與經固定之合成(GA)₁₅ 肽(SEQ ID NO:66)之競爭性結合。

【0039】 圖 9: 抗體 NI-308.5J10 之完整性分析。2 或 10 µg 重組人源 NI-308.5J10 抗-C9orf72 聚-GA DPR 抗體之 SDS-PAGE 分析，然後進行考馬斯藍染色。偵測到對應於預期大小之抗體重鏈及輕鏈的兩個主要條帶。

【0040】 圖 10: NI-308.5J10 偵測 FTLN 患者中之病理性 C9orf72 二肽重複蛋白聚集物。(A)人源 NI-308.5J10 抗體揭示了所選 C9orf72-FTLN 病例之小腦顆粒細胞層中之病理性神經元細胞質包涵體、神經元核內包涵體及營養不良神經突。相反，非神經病學對照小腦對 NI-308.5J10 染色呈陰性。(B)由抗體 NI-308.5J10 偵測之所選 C9orf72-FTLN 病例之小腦顆粒細胞層中神經元 C9orf72 DPR 包涵體之代表性高倍放大影像。

【0041】 圖 11: 其中已經定位了突變 N54S、N54T、G55S、G55T 及 N75D 之 NI-308.5J10 抗體之晶體結構。如可自晶體結構得到的，轉譯後修飾遠離抗體之結合位點。

【0042】 圖 12: NI-308.5J10 抗體變異體之完整性分析。由 N75D 輕鏈與各重鏈突變異體之組合組成之工程化 NI-308.5J10 抗體變異體以完整人 IgG1 及 Fab 形式產生。藉由 SDS-PAGE 分析經純化蛋白質之大小及同質性，上部：人 IgG1：泳道 1，NI-308.5J10 WT/WT；泳道 2，NI-308.5J10 變異體 WT/N75D；泳道 3，NI-308.5J10 變異體 N54S/N75D；泳道 4，NI-308.5J10 變異體 N54T/N75D；泳道 5，NI-308.5J10 變異體 G55S/N75D；泳道 6，NI-308.5J10 變異體 G55T/N75D；下部：經 his 標記之 Fab：泳道 1，WT-Fab-6His/WT NI-308.5J10；泳道 2，NI-308.5J10 變異體 WT-Fab-6His/N75D；泳道 3，NI-308.5J10 變異體 N54S-Fab-6His/N75D；泳道 4，NI-308.5J10 變異體 N54T-Fab-6His/N75D；泳道

5，NI-308.5J10 變異體 G55S-Fab-6His/N75D；泳道 6，NI-308.5J10 變異體 G55T-Fab-6His/N75D。所有蛋白質均顯示出預期大小，而無明顯聚集物或蛋白水解產物。

【0043】 圖 13A：DPR Ab-1 Fab 與 GA(例如，聚(GA))之結合。如表面電漿共振所示，DPR Ab-1 之 Fab 片段結合(GA)₈重複序列(SEQ ID NO:81)。

【0044】 圖 13B：DPR Ab-1 之 Fab 片段結合 GA 重複肽，如晶體結構所示。

【實施方式】

相關申請案之交叉引用

【0045】 本申請案要求 2018 年 4 月 27 日提交之歐洲專利申請案第 18169888.7 號及 2018 年 11 月 29 日提交之美國臨時申請案第 62/772,809 號之優先權。兩個申請案之內容均以引用之方式整體併入本文。

序列表

【0046】 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由此以引用之方式整體併入。該 ASCII 複本於 2019 年 4 月 24 日創建，名為 13751-0309WO1_SL.txt 且大小為 102,178 位元組。

【0047】 本發明一般係關於用於偵測與二肽重複(DPR)蛋白質及特別是其聚集形式之存在相關之疾病及病症之免疫療法及非侵入性方法。更具體地，本發明係關於重組人源單株抗體及其 DPR 結合片段，該抗體及片段基於自經選定人供體群體獲得之序列資訊而產生且能夠結合至此等 DPR，特別是聚甘胺酸-丙胺酸(Gly-Ala；GA)-DPR 及含有此等 DPR 之蛋白質。本發明之重組人源單株抗體以及其合成及生物技術衍生物之特徵有利地在於特異性結合至具有形成 C9orf72-二肽重複序列(DPR)之經擴增六核苷酸重複序列之經改變 C9orf72。如實例中所示，本發明之重組抗體作為用於偵測 DPR 及/或病理性 C9orf72 之診斷試

劑具有高度特異性，而不會產生假陽性，且由於分別編碼至少可變區及 CDR 之序列之人來源及原始抗體在人體中之成熟，可以合理地預期作為治療劑為有效及安全的。

I. 定義

【0048】 除非另有說明，否則本文使用之術語給出在 the Oxford Dictionary of Biochemistry and Molecular Biology, Oxford University Press, 1997, 2000 年修訂且 2003 年重印, ISBN 0 19 850673 2 中提供之定義。此外，除非另有說明，否則本文中用於表徵本發明之術語及表述給出了在 WO 2016/050822 A2 中提供之定義，特別是在第 26 至 53 頁之小節「I. 定義」中，包括第 39 及 40 頁之表 1 中之 CDR 定義，其揭露內容以引用之方式明確地併入本文。這同樣適用於 WO 2016/050822 A2 中揭示之關於抗體、多核苷酸等之一般實施例。

【0049】 應注意，術語「一(個/種)」實體係指一或多個(種)該實體；例如，「一個抗體」應理解為表示一或多個抗體。因此，術語「一個(種)」、「一或多個(種)」及「至少一個(種)」在本文中可互換使用。

【0050】 若未另外特別指出，則術語「DPR」，亦即「二肽重複」蛋白，在本文中用於具體指兩個胺基酸之重複單元，特別是由於基因中經擴增六核苷酸重複。術語「DPR」亦用於統指所有類型及形式之 DPR，例如 GA、GR、GP、PA、PR 等。在下文中，本發明將主要針對特異性識別 DPR 之抗體來描述，該等 DPR 包含以下各者或由以下各者組成：GA，例如(GA)_n(其中 n 為 1、2、3、4、5、6 或更大(例如，1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15 或更大)，例如，其中 n 在 6 與 15 之間，包括 6 及 15，例如，其中 n 為 15)，例如具有 15 個重複序列(GA₁₅)(SEQ ID NO:66)，GP，例如具有 15 個重複序列(GP₁₅)(SEQ ID NO:67)，GR，例如具有 15 個重複序列(GR₁₅)(SEQ ID NO:68)，或

PR，例如具有 15 個重複序列(PR₁₅)(SEQ ID NO:70)或 PA，例如具有 15 個重複序列(PA₁₅)(SEQ ID NO:69)，該等 DPR 通常在患有 FLTD 或 ALS 之患者腦組織中發現之 C9ORF72-DPR 蛋白中觀察到。在實施例中，本文所述之抗 DPR 抗體特異性結合至包含 GA 重複之 DPR。儘管抗-C9ORF72-DPR 抗體代表較佳實施例，但本發明一般提供抗 DPR 蛋白抗體及對應實施例。因此，需要強調，除非僅特別適用於抗-C9ORF72-DPR，否則原則上本文揭示且在實例及附圖中所示之任何實施例及對應特徵一般亦適用於任何抗 DPR 蛋白抗體。

【0051】 DPR 相關疾病之另一個實例為脊髓小腦性失調症 36 型、緩慢進展性神經退行性疾病及體染色體顯性小腦性失調症 1 型(ADCA 1 型)之亞型，其特徵在於成人發作之步態及肢體失調症、下肢痙攣、發音不良、肌肉震顫、舌頭萎縮及反射增強。一些患病個體亦可能出現聽力損失；參見，例如，Garcia-Murias 等人, Brain 135 (2012), 1423-1435。已顯示脊髓小腦性失調症 36 型係由染色體 20p13 上 NOP56 基因之內含子 GGCCTG 六核苷酸重複之雜合擴增引起的；參見，例如，Garcia-Murias 等人, Brain 135 (2012), 1423-1435. Ikeda 等人, Neurology 79 (2012), 333-341, Kobayashi 等人, Am. J. Hum. Genet. 89 (2011), 121-130。

【0052】 若未另外特別指出，術語「C9ORF72」係指染色體 9 開放閱讀框 72(C9ORF72)之經改變形式。術語「C9ORF72」亦通常用於識別 C9ORF72 六核苷酸擴增，該等擴增產生 C9ORF72-二肽重複(DPR)。因此，該術語亦用於表示 C9ORF72-DPR。術語「C9ORF72」亦用於統指 C9ORF72 之所有類型及形式，例如經突變 C9ORF72。在術語 C9ORF72 前面添加之字母用於表示特定異種同源物所來源之生物體，例如，人 C9ORF72 之 hC9ORF72 或鼠類來源之 mC9ORF72。

【0053】 本文揭示之抗 DPR 抗體視情況結合 C9ORF72-二肽重複序列(DPR)及其抗原決定基。例如，本文揭示了特異性結合經病理改變之 C9ORF72 種類或其片段之抗體，亦即自經擴增內含子 C9ORF72 六核苷酸重複序列之 C9ORF72 轉錄物非習用轉譯之二肽重複序列，以及 C9ORF72-DPR 之聚集形式或其片段。本文使用術語(病理學上) 經聚集 C9ORF72-DPR/其聚集物來具體係指上述形式。如本文所用之術語(病理學)「聚集形式」或「聚集物」描述了由於經擴增內含子 C9ORF72 六核苷酸重複序列之 C9ORF72 轉錄物之 C9ORF72 錯誤/病理轉譯導致之積累或群集形成之產物。此等聚集物、積累物或群集形式可以為 C9ORF72-DPR 蛋白及/或其片段、基本上由其組成或由其組成。如本文所用，提及「特異性結合」、「選擇性結合」或「優先結合」C9ORF72-DPR 之抗體係指不結合其它不相關蛋白之抗體。本發明之抗體基本上不識別選自由以下項組成之群之不相關澱粉樣蛋白形成蛋白：成對螺旋長絲(PHF)- τ 、TAU、轉移活性反應性 DNA 結合蛋白 43(TDP-43)、轉甲狀腺素(TTR)、全長澱粉樣蛋白前體蛋白(flAPP)及/或亨廷頓蛋白(HTT)。

【0054】 在一個實例中，本文揭示之 C9ORF72-DPR 抗體可以結合 DPR 及/或 C9ORF72-DPR 或其抗原決定基，且對於其它蛋白質不顯示高於約 2 倍背景之結合。「特異性結合」或「選擇性結合」DPR 及/或 C9ORF72-DPR 蛋白變異體之抗體係指不結合 C9ORF72-DPR 蛋白之所有變異體之抗體，亦即不結合至少一種其它 C9ORF72 構形異構物之抗體。例如，本文揭示了可以在活體外及在組織中優先結合至顯示形成 DPR 之經擴增六核苷酸重複序列之 C9ORF72 形式之抗體，該等組織獲自患有與 C9ORF72 相關之疾病或處於患上與 C9ORF72 相關之疾病之風險之患者。

【0055】 術語「肽」應理解為在其含義內包括術語「多肽」及「蛋白質」(有時，在本文中可互換使用)。類似地，亦考慮了蛋白質及多肽之片段，且在本文中可稱為「肽」。然而，術語「肽」視情況地表示包括至少 5 個連續胺基酸，例如至少 10 個連續胺基酸，例如至少 15 個連續胺基酸，例如至少 20 個連續胺基酸，例如至少 25 個連續胺基酸之胺基酸聚合物。此外，根據本發明之肽通常具有不超過 100 個連續胺基酸，例如，少於 80 個連續胺基酸或少於 50 個連續胺基酸。

【0056】 如本文所用，術語「多肽」意欲涵蓋單個「多肽」以及複數個「多肽」，且係指由藉由醯胺鍵(亦稱為肽鍵)線性連接之單體(胺基酸)構成之分子。術語「多肽」係指具有兩個或超過兩個胺基酸之任何一或多條鏈，且不係指特定長度的產物。因此，「肽」、「二肽」、「三肽」、「寡肽」、「蛋白質」、「胺基酸鏈」或用以指具有兩個或兩個以上胺基酸之一或多條鏈之任何其它術語包括在「多肽」之定義內，且可使用術語「多肽」替代任何此等術語或可與任何此等術語互換使用。

【0057】 術語「多肽」亦意欲指代多肽之表現後修飾之產物，其包括但不限於醮化、乙醮化、磷酸化、醮胺化、藉由已知保護基/阻隔基之衍生化、蛋白水解裂解或藉由非天然存在胺基酸之修飾。多肽可源於天然生物來源或藉由重組技術產生，但未必自指定核酸序列轉譯。其可以任何方式產生，包括藉由化學合成。

【0058】 本發明之多肽可具有約 3 或更多、5 或更多、10 或更多、20 或更多、25 或更多、50 或更多、75 或更多、100 或更多、200 或更多、500 或更多、1,000 或更多、或 2,000 或更多胺基酸之大小。多肽可具有經限定之三維結構，但它們不一定具有此結構。具有經限定三維結構之多肽稱為折疊的，且不具有經限定

之三維結構之多肽反而可以採用大量不同之構形，且稱為未折疊的。如本文所用，術語糖蛋白係指與至少一個碳水化合物部分偶聯之蛋白質，該碳水化合物部分經由胺基酸殘基(例如絲胺酸殘基或天冬醯胺殘基)之含氧或含氮側鏈連接至蛋白質。

【0059】 「經分離」多肽或其片段、變異體或衍生物係指不在其天然環境中之多肽。不要求特定純化程度。例如，經分離多肽可自其原生或天然環境移除。出於本發明之目的，在宿主細胞中表現之重組產生之多肽及蛋白質被視為經分離，已藉由任何適合技術分離、部分分離、或部分或實質上純化之天然或重組多肽亦視為經分離。

【0060】 「重組肽、多肽或蛋白質」係指藉由重組 DNA 技術產生之肽、多肽或蛋白質，亦即自藉由編碼融合蛋白(包括所要肽)之外源重組 DNA 表現構築體來轉型之細胞、微生物或哺乳動物產生的。在大多數細菌培養物中表現之蛋白質或肽通常將不含聚糖。在酵母中表現之蛋白質或多肽可具有不同於在哺乳動物細胞中表現之糖基化模式。

【0061】 作為本發明之多肽，包括前述多肽之片段、衍生物、類似物或變異體以及合成或生物變異體及其任何組合。術語「片段」、「變異體」、「衍生物」及「類似物」包括具有與天然肽之胺基酸序列足夠相似之胺基酸序列之肽及多肽。術語「足夠相似」係指第一胺基酸序列相對於第二胺基酸序列含有足夠或最小數量之相同或等效胺基酸殘基，使得第一胺基酸序列及第二胺基酸序列具有共同域及/或共同功能活性。例如，包含至少約 45%、至少約 50%、至少約 55%、至少約 60%、至少約 65%、至少約 70%、至少約 75%、至少約 80%、至少約 85%、至少約 90%、至少約 91%、至少約 92%、至少約 93%、至少約 94%、至少約 95%、至少約 96%、至少約 97%、至少約 98%、至少約 99%、或至少約

100%相同之共同結構域之胺基酸序列在本文中定義為足夠相似。視情況地，變異體將與本發明之較佳肽之胺基酸序列足夠相似，特別是經改變 C9ORF72 蛋白，例如病理性 C9ORF72-DPR 以及單獨的 DPR 蛋白、其任一者之變異體、衍生物或類似物。此等變異體通常保留了本發明之肽之功能活性。變異體包括分別藉由一或多個胺基酸缺失、添加及/或取代在胺基酸序列上與天然肽及野生型 (wt) 肽不同之肽。此等變異體可為天然存在變異體以及經人工設計之變異體。

【0062】 此外，當提及本發明之抗體或抗體多肽時，術語「片段」、「變異體」、「衍生物」及「類似物」包括保留對應天然結合分子、抗體或多肽之至少一些抗原結合特性之任何多肽。除了本文其它地方論述之特異性抗體片段之外，本發明之多肽之片段亦包括蛋白水解片段以及缺失片段。本發明之抗體及抗體多肽之變異體包括如上所述之片段以及胺基酸序列因胺基酸取代、缺失或插入而發生改變之多肽。變異體可以天然存在或非天然存在。非天然存在之變異體可使用此項技術已知之突變誘發技術來產生。變異體多肽可包含保守或非保守胺基酸取代、缺失或添加。DPR 蛋白特異性結合分子，例如本發明之抗體及抗體多肽之衍生物為已經改變以顯示天然多肽上未發現之其它特徵之多肽。實例包括融合蛋白。變異體多肽在本文中亦可稱為「多肽類似物」。如本文所用，結合分子或其片段、抗體或抗體多肽之「衍生物」係指具有一或多個藉由功能性側基之反應而化學衍生之殘基的主題多肽。「衍生物」亦包括含有二十種標準胺基酸之一或多個天然存在胺基酸衍生物之彼等肽。例如，4-羥基脯胺酸可以取代脯胺酸；5-羥離胺酸可以取代離胺酸；3-甲基組胺酸可以取代組胺酸；高絲胺酸可以取代絲胺酸；且鳥胺酸可以取代離胺酸。

測定分子之相似性及/或同一性：

【0063】 藉由比較一種肽之胺基酸序列與第二種肽之序列來測定兩種肽之間之「相似性」。若胺基酸為相同的或保守性胺基酸取代，則一個肽之胺基酸與第二個肽之對應胺基酸相似。保守取代包括在以下文獻中描述之彼等：Dayhoff, M.O.編, The Atlas of Protein Sequence and Structure 5, National Biomedical Research Foundation, Washington, D.C. (1978), 及 Argos, EMBO J. 8 (1989), 779-785。例如，屬於以下組中之一者之胺基酸代表保守性變化或取代：-Ala、Pro、Gly、Gln、Asn、Ser、Thr；-Cys、Ser、Tyr、Thr；-Val、Ile、Leu、Met、Ala、Phe；-Lys、Arg、His；-Phe、Tyr、Trp、His；及-Asp、Glu。

【0064】 藉由比較一種多核苷酸之核酸序列與多核苷酸之序列來測定兩種多核苷酸之間之「相似性」。若核酸為相同的，則一種多核苷酸之核酸與第二種多核苷酸之對應核酸相似，或者若核酸為編碼序列之一部分，則包含該核酸之對應三聯體編碼相同之胺基酸或編碼保守性胺基酸取代。

視情況使用 Karlin 及 Altschul (1993) Proc. Natl. Acad. Sci USA 90: 5873-5877 之數學演算法完成兩個序列之間的同一性或相似性百分比之測定。此演算法被併入 Altschul 等人(1990) J. Mol. Biol. 215: 403-410 之 BLASTn 及 BLASTp 程式中，其可在 NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>)獲得。

【0065】 使用用於 BLAST 多核苷酸搜索之 BLASTn 程式及用於 BLAST 蛋白質搜索之 BLASTp 程式之標準參數進行同一性或相似性百分比之測定，該等參數如在 NCBI 網頁上及在「BLAST 程式選擇指南」中關於具體長度及構成之序列來推薦的。

【0066】 用 BLASTn 程式進行 BLAST 多核苷酸搜索。
對於一般參數，「最大靶標序列」框可以設置為 100，「較短查詢」框可以勾選，「預期臨界值」框可以設置為 1000，且「字大小」框可以設置為 7，如在 NCBI

網頁上對於短序列(少於 20 個鹼基)所推薦。對於較長之序列，「預期臨界值」框可以設置為 10，「字大小」框可以設置為 11。對於評分參數，「匹配/不匹配評分」可以設置為 1、-2 且「空位罰分」框可以設置為線性。對於過濾及掩蔽參數，「低複雜度區域」框可以不勾選，「種類特異性重複」框可以不勾選，「僅用於查找表之掩碼」框可以勾選，「DUST 過濾設置」可以勾選，且「掩蔽小寫字母」框可以不勾選。通常，在提供大多數上述設置之此方面中，可以使用「搜索短的近似精確的匹配」。有關此方面之更多資訊，請參見 NCBI 網頁上公佈之「BLAST 程式選擇指南」。

【0067】 使用 BLASTp 程式進行 BLAST 蛋白質搜索。對於一般參數，「最大靶標序列」框可以設置為 100，「較短查詢」框可以勾選，「預期臨界值」框可以設置為 10，且「字大小」框可以設置為「3」。對於評分參數，「矩陣」框可以設置為「BLOSUM62」，「空位罰分」框可以設置為「存在：11 擴展：1」，「組成調整」框可以設置為「條件性組成評分矩陣調整」。對於過濾及掩蔽參數，「低複雜度區域」框可以不勾選，「僅用於查找表之掩碼」框可以不勾選，且「掩蔽小寫字母」框可以不勾選。

【0068】 根據在 NCBI 網頁上以 HTML 及 PDF 版本發佈之「BLAST 程式選擇指南」中之推薦來執行兩個程式之修改，例如關於所搜索序列之長度。

多核苷酸：

【0069】 術語「多核苷酸」意欲涵蓋單數個核酸以及複數個核酸且係指經分離之核酸分子或構築體，例如傳訊 RNA (mRNA)或質體 DNA (pDNA)。多核苷酸可包含習知磷酸二酯鍵或非習知鍵(例如醯胺鍵，諸如見於肽核酸(PNA)中)。術語「核酸」係指存在於多核苷酸中之任一或多個核酸鏈段，例如 DNA 或 RNA 片段。「經分離」核酸或多核苷酸意欲為已自原生環境移除之核酸分子 DNA 或

RNA。舉例而言，出於本發明之目的，載體中所含之編碼抗體之重組多核苷酸被視為經分離多核苷酸。經分離多核苷酸之其它實例包括保持在異源宿主細胞中之重組多核苷酸或溶液中之經純化(部分或實質上)多核苷酸。經分離 RNA 分子包括本發明之多核苷酸之活體內或活體外 RNA 轉錄物。根據本發明之經分離多核苷酸或核酸進一步包括以合成方式產生的此等分子。另外，多核苷酸或核酸可為或可包括調節元件，例如啟動子、核糖體結合位點或轉錄終止子。

【0070】 如本文所用，「編碼區」為核酸之一部分，其由轉譯成胺基酸之密碼子組成。儘管「終止密碼子」(TAG、TGA 或 TAA)通常不轉譯成胺基酸，但其可視為編碼區之一部分，但任何側接序列(例如啟動子、核糖體結合位點、轉錄終止子、內含子及其類似序列)不為編碼區之一部分。本發明之兩個或兩個以上編碼區可存在於單一多核苷酸構築體中，例如在單一載體上，或存在於各別多核苷酸構築體中，例如在各別(不同)載體上。此外，任何載體可以含有單個編碼區，或者可以包含兩個或更多個編碼區，例如，單個載體可以分別編碼免疫球蛋白重鏈可變區及免疫球蛋白輕鏈可變區。此外，本發明之載體、多核苷酸或核酸可編碼融合或未融合於編碼結合分子、抗體、或其片段、變異體或衍生物之核酸之異源編碼區。異源編碼區包括但不限於專門化元件或基元，諸如分泌信號肽或異源功能域。

【0071】 在某些實施例中，多核苷酸或核酸為 DNA。在 DNA 情況下，包含編碼多肽之核酸之多核苷酸通常可包括啟動子及/或與一或多個編碼區可操作地締合之其它轉錄或轉譯控制元件。可操作締合為基因產物(例如多肽)之編碼區以一種方式與一或多種調節序列締合，使得基因產物之表現受到調節序列之影響或控制的情況。若啟動子功能之誘導導致編碼所要基因產物之 mRNA 之轉錄，且若兩個 DNA 片段之間之連接性質不會干擾表現調控序列引導基因產物表現之

能力或干擾 DNA 模板轉錄之能力，則兩個 DNA 片段(例如多肽編碼區及與其締合之啟動子)為「可操作地締合的」或「可操作地連接的」。因此，若啟動子能夠實現該核酸之轉錄，則啟動子區域可操作地與編碼多肽之核酸締合。啟動子可以為僅在預定細胞中引導 DNA 之實質轉錄之細胞特異性啟動子。除啟動子之外的其它轉錄控制元件，例如增強子、操縱子、阻遏子及轉錄終止信號，亦可與多核苷酸可操作地締合以引導細胞特異性轉錄。本文揭示了合適啟動子及其它轉錄控制區。

【0072】 多種轉錄控制區域為熟習此項技藝者已知的。此等轉錄控制區包括但不限於在脊椎動物細胞中起作用之轉錄控制區，諸如但不限於來自細胞巨大病毒(即刻早期啟動子，連同內含子-A 一起)、猿猴病毒 40(早期啟動子)及反轉錄病毒(諸如勞斯肉瘤病毒(Rous sarcoma virus))之啟動子及增強子鏈段。其它轉錄控制區包括源於脊椎動物基因，諸如肌動蛋白、熱休克蛋白、牛生長激素及兔 β -球蛋白之彼等控制區，以及能夠控制真核細胞中之基因表現之其它序列。其它適合轉錄控制區包括組織特異性啟動子及增強子，以及淋巴介質誘導性啟動子(例如，可由干擾素或介白素誘導之啟動子)。

【0073】 類似地，各種轉譯控制元件為一般熟悉此項技藝者已知的。此等轉譯控制元件包括但不限於核糖體結合位點、轉譯起始及終止密碼子、及源自小核糖核酸病毒之元件(特別是內部核糖體進入位點或 IRES，亦稱為 CITE 序列)。

【0074】 在其它實施例中，本發明之多核苷酸為 RNA，例如，呈傳訊 RNA(mRNA)形式。

【0075】 本發明之多核苷酸及核酸編碼區可以與編碼分泌或信號肽之其它編碼區締合，該等其它編碼區引導由本發明之多核苷酸編碼之多肽之分泌。根據信號假設，哺乳動物細胞分泌之蛋白質具有信號肽或分泌前導序列，一旦逐漸

增長之蛋白質鏈開始跨粗糙內質網輸出，該信號肽或分泌前導序列即自成熟蛋白質裂解。一般熟悉此項技藝者應瞭解由脊椎動物細胞分泌之多肽通常具有融合於多肽之 N 端之信號肽，其自完全或「全長」多肽裂解以產生多肽之分泌或「成熟」形式。在某些實施例中，使用天然信號肽，例如免疫球蛋白重鏈或輕鏈信號肽，或使用該序列之功能性衍生物，其保留引導可與其可操作地締合之多肽之分泌之能力。或者，可以使用異源哺乳動物信號肽或其功能衍生物。例如，野生型前導序列可以經人組織纖溶酶原激活物(TPA)或小鼠 β -葡糖醛酸糖苷酶之前導序列取代。

【0076】 在本發明上下文中使用之「結合分子」主要係關於抗體及其片段，但亦可以係指結合二肽重複(DPR)蛋白之其它非抗體分子，其視情況地結合至經改變 C9ORF72，尤其(病理學上)經改變 C9ORF72-DPR，包括但不限於激素、受體、配體、主要組織相容性複合物(MHC)分子、分子伴護蛋白如熱休克蛋白(HSP)以及細胞-細胞黏附分子諸如鈣黏蛋白、整合素、C 型凝集素及免疫球蛋白(Ig)超家族之成員。因此，僅為了清楚起見而不限制本發明之範圍，關於抗體及抗體樣分子論述了大多數以下實施例，該等抗體及抗體樣分子代表用於開發治療劑及診斷劑之較佳結合分子。

抗體：

【0077】 術語「抗體」及「免疫球蛋白」在本文中可互換使用。抗體或免疫球蛋白係結合分子，其至少包含重鏈之可變域，且通常至少包含重鏈及輕鏈之可變域。脊椎動物系統中之基本免疫球蛋白結構相對好理解；參見，例如，Harlow 等人, *Antibodies: A Laboratory Manual*, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 第 2 版 1988)。

【0078】 如下文將更詳細論述的，術語「免疫球蛋白」包含可在生物化學上區分之各種廣泛類型之多肽。熟習此項技藝者將理解，重鏈分類為 γ 、 μ 、 α 、 δ 或 ϵ ，其中有一些子類(例如， $\gamma 1$ - $\gamma 4$)。該鏈之性質將抗體之「類別」分別判定為 IgG、IgM、IgA IgG 或 IgE。免疫球蛋白亞類(同型)例如 IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1 等得以充分表徵且已知可賦予功能專門化。鑒於本揭露內容，熟習此項技藝者容易辨別此等類別及同型中每一者之修飾形式，且因此，該等形式在本發明之範圍內。所有免疫球蛋白類別顯然皆在本發明之範圍內，以下論述通常將係關於 IgG 類免疫球蛋白分子。關於 IgG，標準免疫球蛋白分子包含分子量為約 23,000 道爾頓之兩個相同輕鏈多肽及分子量為 53,000-70,000 之兩個相同重鏈多肽。四條鏈通常由二硫鍵連接成「Y」組態，其中輕鏈托住起始於「Y」組態之開口處之重鏈，且繼續穿過可變區。

【0079】 輕鏈分類為 κ 或 λ 。各重鏈類別可與 κ 或 λ 輕鏈結合。通常，輕鏈及重鏈彼此共價鍵合，且當免疫球蛋白由雜交瘤、B 細胞或基因工程化宿主細胞產生時，兩條重鏈之「尾部」部分藉由共價二硫鍵或非共價鍵彼此鍵合。在重鏈中，胺基酸序列自 Y 組態之叉形末端之 N 端延伸至每條鏈之底部之 C 端。

【0080】 輕鏈及重鏈皆分為結構及功能同源性區域。術語「恆定」及「可變」在功能上使用。在此方面，應當理解，輕鏈(V_L)及重鏈(V_H)部分之可變域決定了抗原識別及特異性。相反，輕鏈(CL)及重鏈(CH1、CH2 或 CH3)之恆定域賦予重要生物學性質，例如分泌、經胎盤移動性、Fc 受體結合、補體結合及其類似性質。按照慣例，恆定區域之編號隨著它們遠離抗體之抗原結合位點或胺基端而增加。N 端部分為可變區，且 C 端部分為恆定區；CH3 及 CL 域實際上分別包含重鏈及輕鏈之羧基端。

【0081】 如上所述，可變區允許抗體選擇性識別且特異性結合抗原上之抗原決定基。亦即，抗體之 V_L 域及 V_H 域或互補決定區(CDR)之子集組合形成限定三維抗原結合位點之可變區。該四級抗體結構形成存在於 Y 之各臂末端之抗原結合位點。更具體地，抗原結合位點由 V_H 及 V_L 鏈中之每一者上之三個 CDR 限定。含有足以特異性結合至 DPR，尤其結合至形成 C9ORF72-DPR 之經改變 C9ORF72 之結構的任何抗體或免疫球蛋白片段，在本文中可互換地表示為「結合片段」或「免疫特異性片段」。

【0082】 在天然存在抗體中，抗體包含存在於各抗原結合域中之六個高變區，有時稱為「互補決定區」或「CDR」，該等高變區為較短的非連續胺基酸序列，其經特異性定位以便在抗體在水性環境中呈現其三維組態時形成抗原結合域。「CDR」之側翼為四個相對保守之「框架」區域或「FR」，其顯示出較小分子間可變性。框架區主要採用 β -折疊構形，且 CDR 形成連接 β -折疊結構之環，且在一些情況下形成 β -折疊結構之一部分。因此，框架區用於形成藉由鏈間非共價相互作用將 CDR 定位在正確之方向上之支架。由經定位 CDR 形成之抗原結合域限定了與免疫反應性抗原上之抗原決定基互補之表面。該互補表面促進抗體與其同源抗原決定基之非共價結合。對於任何給定重鏈或輕鏈可變區，分別包含 CDR 及構架區之胺基酸可由一般熟悉此項技藝者容易地鑒定，因為它們已被精確定義；參見「Sequences of Proteins of Immunological Interest,」Kabat, E.,等人, U.S. Department of Health and Human Services, (1983)；及 Chothia 及 Lesk, J. Mol. Biol., 196 (1987), 901-917，此等文獻之全部內容以引用之方式併入本文。

【0083】 在此項技術內使用及/或接受之術語存在兩個或更多個定義之情況下，除非明確說明相反情況，否則本文使用之術語之定義意欲包括所有此等含

義。具體實例為使用術語「互補決定區」(「CDR」)描述在重鏈及輕鏈多肽之可變區內發現之非連續抗原結合位點。該特定區域已由 Kabat 等人, U.S. Dept. of Health and Human Services, 「Sequences of Proteins of Immunological Interest」(1983)及 Chothia 及 Lesk, J. Mol. Biol., 196 (1987), 901-917 描述, 此等文獻以引用之方式併入本文, 其中定義包括當彼此比較時胺基酸殘基之重疊或子集。然而, 應用任一定義指示抗體或其變異體之 CDR 意欲在本文定義及使用之術語之範圍內。在下表 1 中闡述涵蓋如上文引用之參考文獻各自所定義之 CDR 之適當胺基酸殘基以便比較。涵蓋特定 CDR 之確切殘基數將根據 CDR 之序列及大小而變化。在給定抗體可變區胺基酸序列之情況下, 熟習此項技藝者可以常規地判定哪些殘基包含抗體之人 IgG 亞型之特定高變區或 CDR。

表 1：CDR 定義¹

	Kabat	Chothia
VH CDR1	31-35	26-32
VH CDR2	50-65	52-58
VH CDR3	95-102	95-102
VL CDR1	24-34	26-32
VL CDR2	50-56	50-52
VL CDR3	89-97	91-96

¹表 1 中所有 CDR 定義之編號係根據 Kabat 等人提出之編號慣例(見下文)。

【0084】 Kabat 等人亦定義了適用於任何抗體之可變域序列之編號系統。一般熟悉此項技藝者可以明確地將該「Kabat 編號」系統指定給任何可變域序列, 而不依賴於序列本身之外的任何實驗資料。如本文所使用, 「Kabat 編號」係指由 Kabat 等人, U.S. Dept. of Health and Human Services, 「Sequence of Proteins of Immunological Interest」(1983)提出之編號系統。除非另有說明, 否則提及本發明之抗體或其抗原結合片段、變異體或衍生物中特定胺基酸殘基位置之編號係根據 Kabat 編號系統, 然而該編號系統為理論上的且可能不同等地適用於本發明

之各種抗體。例如，取決於第一 CDR 之位置，後續 CDR 可以在任一方向上移位。

【0085】 本發明之抗體或其片段(例如，抗原結合片段或免疫特異性片段)、其變異體或衍生物包括但不限於多株、單株、多特異、人、人源化、靈長類化、鼠源化或嵌合抗體、單鏈抗體、抗原決定基結合片段，例如 Fab、Fab'及 F(ab')₂、Fd、Fvs、單鏈 Fvs(scFv)、單鏈抗體、經二硫鍵連接之 Fvs(sdFv)、包含 VL 或 VH 域之片段、藉由 Fab 表現文庫產生之片段及抗獨特型(抗 Id)抗體(包括例如本文揭示之抗體的抗 Id 抗體)。ScFv 分子為此項技術中已知的且描述於例如美國專利 5,892,019 中。本發明之免疫球蛋白或抗體分子可為任何類型(例如，IgG、IgE、IgM、IgD、IgA 或 IgY)、任何類別(例如，IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1 或 IgA2)、或任何子類之免疫球蛋白分子。

【0086】 在一個實施例中，本發明之抗體不是 IgM 或其具有五價結構之衍生物。特別地，在本發明之特定應用，尤其是治療用途中，IgM 不如 IgG 及其它二價抗體或對應結合分子有用，因為由於其五價結構及缺乏親和力成熟，IgM 通常顯示出非特異性交叉反應性及非常低的親和力。在一特別較佳實施例中，本發明之抗體不是多株抗體，亦即它基本上由一個特定抗體種類組成，而非自血漿免疫球蛋白樣品中獲得之混合物。

【0087】 抗體片段，包括單鏈抗體，可以包含單獨的可變區或者與以下全部或部分組合之可變區：鉸鏈區、CH1、CH2 及 CH3 域。本發明亦包括 DPR 結合片段，其包含可變區與鉸鏈區、CH1、CH2 及 CH3 域之任何組合。本發明之抗體或其免疫特異性片段可來自任何動物來源，包括鳥類及哺乳動物。視情況地，抗體為人、鼠、驢、兔、山羊、豚鼠、駱駝、美洲駝、馬或雞抗體。在另一個實施例中，可變區可以為軟骨魚(condricthoid)來源(例如，來自鯊魚)。

【0088】 如本文所用，術語「重鏈部分」或「重鏈」或「重鏈區」包括衍生自免疫球蛋白重鏈之胺基酸序列。包含重鏈部分之多肽包含以下項中之至少一者：CH1 域、鉸鏈(例如，上、中及/或下鉸鏈區)域、CH2 域、CH3 域，或其變異體或片段。例如，用於本發明之結合多肽可包含：包含 CH1 域之多肽鏈；包含 CH1 域、至少一部分鉸鏈域及 CH2 域之多肽鏈；包含 CH1 域及 CH3 域之多肽鏈；包含 CH1 域、至少一部分鉸鏈域及 CH3 域之多肽鏈，或包含 CH1 域、至少一部分鉸鏈域、CH2 域及 CH3 域之多肽鏈。在另一個實施例中，本發明之多肽包含含有 CH3 域之多肽鏈。此外，用於本發明之結合多肽可缺少至少一部分 CH2 域(例如，全部或部分 CH2 域)。如上所述，一般熟悉此項技藝者將理解，可以修飾此等域(例如重鏈部分)，使得它們在胺基酸序列上與天然存在之免疫球蛋白分子不同。

【0089】 在本文揭示之某些抗體或其抗原結合片段、變異體或衍生物中，多聚體之一條多肽鏈之重鏈部分與多聚體之第二條多肽鏈上之重鏈部分相同。或者，本發明之含重鏈部分之單體不相同。例如，各單體可包含不同靶結合位點，形成例如雙特異性抗體或雙抗體。

【0090】 在另一個實施例中，本文揭示之抗體或其抗原結合片段、變異體或衍生物由單一多肽鏈如 scFv 組成，且將在細胞內表現(胞內抗體)以用於潛在活體內治療及診斷應用。

【0091】 用於本文揭示之診斷及治療方法中之結合多肽之重鏈部分可以衍生自不同免疫球蛋白分子。例如，多肽之重鏈部分可包含衍生自 IgG1 分子之 CH1 域及衍生自 IgG3 分子之鉸鏈區。在另一個實例中，重鏈部分可包含部分衍生自 IgG1 分子且部分衍生自 IgG3 分子之鉸鏈區。在另一個實例中，重鏈部分可包含部分衍生自 IgG1 分子且部分衍生自 IgG4 分子之嵌合鉸鏈。

【0092】 如本文所用，術語「輕鏈部分」或「輕鏈」或「輕鏈區」包括衍生自免疫球蛋白輕鏈之胺基酸序列。視情況地，輕鏈部分包含 VL 或 CL 域中之至少一者。

【0093】 抗體之肽或多肽抗原決定基之最小尺寸被認為是約 4 至 5 個胺基酸。肽或多肽抗原決定基視情況含有至少 7 個，視情況至少 9 個，或視情況至少約 15 至約 30 個胺基酸。由於 CDR 可以識別三級形式之抗原肽或多肽，因此包含抗原決定基之胺基酸不需要是連續的，且在一些情況下，甚至可能不在相同肽鏈上。在本發明中，由本發明之抗體識別之肽或多肽抗原決定基含有在 C9ORF72-DPR 中發現之 DPR 例如 GA₁₅(SEQ ID NO:66)之至少 4 個、至少 5 個、至少 6 個、至少 7 個、視情況至少 8 個、至少 9 個、至少 10 個、至少 15 個、至少 20 個、至少 25 個、或約 15 至約 30 個之間的連續或非連續胺基酸之序列。換言之，本發明之抗體或其生物技術衍生物視情況識別具有例如 3 至 50、視情況 10 至 40、視情況 15 至 30、或視情況 15 之重複數目之二肽之 DPR，該二肽由兩種不同胺基酸 X 及 X'(XXX 及 XXX'；XaaXaa')組成。因此，由本發明之抗體或其生物技術衍生物識別之抗原決定基或抗原(若由重複數為 15 之 DPR 組成)通常可以指定為(XX')₁₅。

【0094】 藉由本文可互換使用之「特異性結合」或「特異性識別」，通常意指結合分子(例如抗體)藉由其抗原結合域結合至抗原決定基，且該結合需要抗原結合域與抗原決定基之間之一些互補性。根據該定義，當抗體藉由其抗原結合域結合至抗原決定基比它結合至隨機不相關抗原決定基更容易時，認為抗體「特異性結合」至該抗原決定基。術語「特異性」在本文中用於限定某種抗體結合至某種抗原決定基之相對親和力。例如，抗體「A」可以被認為對於給定抗原決

定基具有比抗體「B」更高之特異性，或者抗體「A」可以被認為以比其對於相關抗原決定基「D」之特異性更高之特異性結合至抗原決定基「C」。

【0095】 當存在時，術語「免疫結合特徵」或抗體與抗原之其它結合特徵，在其所有語法形式下皆係指抗體之特異性、親和力、交叉反應性及其它結合特徵。

【0096】 「優先結合」意指結合分子(例如抗體)比結合至相關的、相似的、同源的或類似的抗原決定基更容易地特異性結合至抗原決定基。因此，「優先結合」至給定抗原決定基之抗體更可能結合至該抗原決定基而非結合至相關抗原決定基，即使此抗體可能與相關抗原決定基交叉反應。

【0097】 作為非限制性實例，若結合分子例如抗體結合至第一抗原決定基之解離常數(KD)小於抗體對於第二抗原決定基之 KD，則可認為其優先結合該第一抗原決定基。在另一個非限制性實例中，若抗體結合至第一抗原決定基之親和力比抗體對於第二抗原決定基之 KD 低至少一個數量級，則可以認為抗體優先結合第一抗原。在另一個非限制性實例中，若抗體結合第一抗原決定基之親和力比抗體對於第二抗原決定基之 KD 低至少兩個數量級，則可以認為抗體優先結合第一抗原。

【0098】 在另一個非限制性實例中，若結合分子(例如抗體) 結合第一抗原決定基之解離速率(k(off)) 低於抗體對於第二抗原決定基之 k(off)，則可以認為結合分子優先結合第一抗原決定基。在另一個非限制性實例中，若抗體結合第一抗原決定基之親和力比抗體對於第二抗原決定基之 k(off)低至少一個數量級，則可以認為抗體優先結合第一抗原。在另一個非限制性實例中，若抗體結合第一抗原決定基之親和力比抗體對於第二抗原決定基之 k(off)低至少兩個數量級，則可以認為抗體優先結合第一抗原。

【0099】 可以認為本文揭示之結合分子，例如抗體或抗原結合片段、變異體或衍生物結合 DPR 或其片段、變異體或特定構形之解離速率($k(\text{off})$)小於或等於 $5 \times 10^{-2} \text{ s}^{-1}$ 、 10^{-2} s^{-1} 、 $5 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ 或 10^{-3} s^{-1} 。視情況地，可以認為本發明之抗體結合 DPR 蛋白或其片段、變異體或特定構形之解離速率($k(\text{off})$)小於或等於 $5 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ 、 10^{-4} s^{-1} 、 $5 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ 或 10^{-5} s^{-1} 、 $5 \times 10^{-6} \text{ s}^{-1}$ 、 10^{-6} s^{-1} 、 $5 \times 10^{-7} \text{ s}^{-1}$ 或 10^{-7} s^{-1} 。在特別較佳實施例中，DPR 為與 C9ORF72 相關之 DPR，亦即 C9ORF72-DPR。

【0100】 可以認為本文揭示之結合分子，例如抗體或抗原結合片段、變異體或衍生物結合 DPR 或其片段、變異體或特定構形之結合速率($k(\text{on})$)大於或等於 $10^3 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 、 $5 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 、 $10^4 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 或 $5 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 。視情況地，可以認為本發明之抗體結合 DPR 或其片段、變異體或特定構形之結合速率($k(\text{on})$)大於或等於 $10^5 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 、 $5 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 、 $10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 或 $5 \times 10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 或 $10^7 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 。在一個實施例中，可以認為結合分子結合 C9ORF72-DPR，或其片段、變異體或特定構形之結合速率($k(\text{on})$)以大於或等於 $10^3 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 、 $5 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 、 $10^4 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 或 $5 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 。視情況地，可以認為本發明之抗體結合 C9ORF72-DPR 或其片段、變異體或特定構形之結合速率($k(\text{on})$)大於或等於 $10^5 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 、 $5 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 、 $10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 或 $5 \times 10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 或 $10^7 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 。

【0101】 若結合分子例如抗體在阻斷參照抗體與抗原決定基之結合的程度上優先結合至抗原決定基，則認為該結合分子競爭性地抑制參照抗體與該給定抗原決定基之結合。競爭性抑制可以藉由此項技術中已知之任何方法判定，例如競爭 ELISA 檢定。可以認為抗體競爭性地抑制參照抗體與給定抗原決定基之結合至少 90%、至少 80%、至少 70%、至少 60%或至少 50%。

【0102】 如本文所用，術語「親和力」係指單個抗原決定基與結合分子(例如免疫球蛋白分子)之 CDR 之結合強度的量度；參見，例如，Harlow 等人, *Antibodies*:

A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 第 2 版 (1988) 第 27-28 頁。如本文所用，術語「親合力」係指免疫球蛋白群與抗原之間的複合物之總體穩定性，亦即免疫球蛋白混合物與抗原之功能性結合強度；例如，參見 Harlow 之第 29-34 頁。親合力與群體中之個體免疫球蛋白分子與特定抗原決定基之親和力以及免疫球蛋白及抗原之效價有關。例如，二價單株抗體與具有高度重複抗原決定基結構之抗原(例如聚合物)之間的相互作用將為高親合力之相互作用。抗體對抗原之親和力或親合力可以使用任何合適方法在實驗上測定；參見，例如 Berzofsky 等人，「Antibody-Antigen Interactions」，Fundamental Immunology, Paul, W. E. 編, Raven Press New York, N Y (1984), Kuby, Janis Immunology, W. H. Freeman and Company New York, N Y (1992)，及本文描述之方法。用於量測抗體對抗原之親和力之一般技術包括 ELISA、RIA 及表面電漿共振。若在不同條件，例如鹽濃度、pH 下量測，則特定抗體-抗原相互作用之經量測親和力可以變化。因此，親和力及其它抗原結合參數(例如 KD 、 IC_{50})之量測視情況地使用抗體及抗原之標準化溶液及標準化緩衝液進行。

【0103】 亦可以描述或指定本發明之結合分子，例如抗體或其抗原結合片段、變異體或衍生物之交叉反應性。如本文所用，術語「交叉反應性」係指對一種抗原具有特異性之抗體與第二種抗原反應之能力；兩種不同抗原物質之間之相關性之度量。因此，若抗體結合至除誘導其形成之抗原決定基之外的抗原決定基，則該抗體為交叉反應的。交叉反應性抗原決定基通常包含許多與誘導抗原決定基相同的互補結構特徵，且在一些情況下，實際上可能比原始抗原決定基表現更好。

【0104】 例如，某些抗體具有一定程度的交叉反應性，因為它們結合相關但不相同的抗原決定基，例如與參考抗原決定基具有至少 95%、至少 90%、至少

85%、至少 80%、至少 75%、至少 70%、至少 65%、至少 60%、至少 55%、及至少 50%同一性(使用此項技術中已知及本文所述之方法計算)之抗原決定基。若抗體不結合與參考抗原決定基具有小於 95%、小於 90%、小於 85%、小於 80%、小於 75%、小於 70%、小於 65%、小於 60%、小於 55%、小於 50%同一性(使用此項技術中已知及本文所述之方法計算)之抗原決定基，則可以認為抗體幾乎無交叉反應性或無交叉反應性。若抗體不結合抗原決定基之任何其它類似物、異種同源物或同源物，則可認為該抗體對某些抗原決定基具有「高度特異性」。

【0105】 亦可以描述或指定本發明之結合分子，例如抗體或其抗原結合片段、變異體或衍生物對 DPR 及/或顯示 C9ORF72-DPR 及/或其片段之突變 C9ORF72 物質之結合親和力。較佳結合親和力包括具有小於 $5 \times 10^{-2} \text{ M}$ 、 10^{-2} M 、 $5 \times 10^{-3} \text{ M}$ 、 10^{-3} M 、 $5 \times 10^{-4} \text{ M}$ 、 10^{-4} M 、 $5 \times 10^{-5} \text{ M}$ 、 10^{-5} M 、 $5 \times 10^{-6} \text{ M}$ 、 10^{-6} M 、 $5 \times 10^{-7} \text{ M}$ 、 10^{-7} M 、 $5 \times 10^{-8} \text{ M}$ 、 10^{-8} M 、 $5 \times 10^{-9} \text{ M}$ 、 10^{-9} M 、 $5 \times 10^{-10} \text{ M}$ 、 10^{-10} M 、 $5 \times 10^{-11} \text{ M}$ 、 10^{-11} M 、 $5 \times 10^{-12} \text{ M}$ 、 10^{-12} M 、 $5 \times 10^{-13} \text{ M}$ 、 10^{-13} M 、 $5 \times 10^{-14} \text{ M}$ 、 10^{-14} M 、 $5 \times 10^{-15} \text{ M}$ 或 10^{-15} M 之解離常數或 K_d 之彼等者。

【0106】 如前所述，各種免疫球蛋白類之恆定區之亞基結構及三維組態為熟知的。如本文所用，術語「VH 域」包括免疫球蛋白重鏈之胺基端可變域，術語「CH1 域」包括免疫球蛋白重鏈之第一(最鄰近胺基端)恆定區域。CH1 域與 VH 域相鄰，且在免疫球蛋白重鏈分子之鉸鏈區之胺基端。

【0107】 如本文所用，術語「CH2 域」包括重鏈分子之一部分，該部分使用習用編號方案例如自抗體之約殘基 244 延伸至殘基 360(殘基 244 至 360，Kabat 編號系統；及殘基 231-340，EU 編號系統；參見 Kabat EA 等人，同上)。CH2 域為獨特的，因為其未與另一域緊密配對。更確切地，兩條 N 連接之分支碳水

化合物鏈插入完整原生 IgG 分子之兩個 CH2 域之間。亦充分證明 CH3 域自 CH2 域延伸至 IgG 分子之 C 端且包含約 108 個殘基。

【0108】 如本文所用，術語「鉸鏈區」包括將 CH1 域連接至 CH2 域之重鏈分子部分。該鉸鏈區包含約 25 個殘基且為可撓性的，因此允許兩個 N-端抗原結合區獨立地移動。鉸鏈區可以細分為三個不同域：上部、中部及下部鉸鏈域；參見 Roux 等人, *J. Immunol.* 161 (1998), 4083-4090。

【0109】 如本文所用，術語「二硫鍵」包括在兩個硫原子之間形成之共價鍵。胺基酸半胱胺酸包含可以與第二硫醇基形成二硫鍵或橋之硫醇基。在大多數天然存在之 IgG 分子中，CH1 區與 CL 區藉由二硫鍵締合且兩條重鏈藉由兩個二硫鍵在對應於 239 及 242 之位置處締合，該等位置係使用 Kabat 編號系統(位置 226 或 229，EU 編號系統)。

【0110】 如本文使用，術語「經連接」、「經融合」或「融合」可互換使用。此等術語係指藉由無論何種手段包括化學偶聯或重組手段將兩個更多個元件或組分連接在一起。「框內融合」係指以保持原始 ORF 之正確轉譯閱讀框之方式連接兩個或更多個多核苷酸開放閱讀框(ORF)以形成連續的較長 ORF。因此，重組融合蛋白為含有兩個或兩個以上鏈段之單一蛋白，該等鏈段對應於由原始 ORF 編碼之多肽(該等鏈段本質上在正常情況下並非如此連結)。儘管閱讀框因此在整個融合鏈段中成為連續的，但是鏈段可以藉由例如框內接頭序列在實體上或空間上分開。例如，編碼免疫球蛋白可變區之 CDR 之多核苷酸可以框內融合，但可以藉由編碼至少一個免疫球蛋白框架區或其它 CDR 區之多核苷酸分開，只要「經融合」CDR 作為連續多肽之一部分而共轉譯。

【0111】 如本文所用，術語「表現」係指基因藉以產生生物化學品(例如 RNA 或多肽)之過程。該過程包括細胞內基因之功能性存在之任何體現，包括但不限

於基因敲除以及瞬時表現及穩定表現。它包括但不限於將基因轉錄成傳訊 RNA(mRNA)、轉移 RNA(tRNA)、小髮夾 RNA(shRNA)、小干擾 RNA(siRNA) 或任何其它 RNA 產物，以及將 mRNA 轉譯成多肽。若最終所要產物為生物化學品，則表現包括產生該生物化學品及任何前體。基因之表現產生「基因產物」。如本文所用，基因產物可為核酸，例如藉由基因轉錄產生之傳訊 RNA 或自轉錄物轉譯之多肽。本文所述之基因產物進一步包括具有轉錄後修飾(例如多腺苷酸化)之核酸或具有轉譯後修飾(例如甲基化、糖基化、脂質之添加、與其它蛋白質亞基之締合、蛋白水解切割及其類似修飾)之多肽。

【0112】 如本文所用，術語「樣品」係指自受試者或患者獲得之任何生物材料。在一個態樣，樣品可包含血液、腹膜液、CSF、唾液或尿液。在其它態樣，樣品可包含全血、血漿、血清、自血液樣品富集之 B 細胞、及經培養之細胞(例如，來自受試者之 B 細胞)。樣品亦可包括生檢或組織樣品，包括神經組織。在其它態樣，樣品可包含全細胞及/或細胞裂解物。血液樣品可以藉由此項技術中已知之方法收集。

疾病：

【0113】 除非另有說明，否則術語「病症」及「疾病」在本文中可互換使用，且包括受試者、動物、經分離器官、組織或細胞/細胞培養物中之任何不期望的生理變化。

【0114】 額顳葉變性(FTLD)為與大腦額葉及顳葉萎縮相關之發病機制。此外，50% FTLD 患者亦顯示出具有陽性家族史，且與肌肉萎縮性脊髓側索硬化症(ALS)相比較。如上所述，發病機理之共同潛在原因似乎是位於 FTLD 及 ALS 患者之 C9ORF72 中之雜合經擴增之六核苷酸重複。特別地，已顯示兩種胺基酸之所得重複單元(二肽重複，DPR)。

【0115】 然而，在幾種其它疾病及/或病症中亦報道了經擴增之六核苷酸重複，其導致兩種胺基酸(DPR)之重複。該等疾病包括但不限於額顳葉變性(FTLD)、肌肉萎縮性脊髓側索硬化症(ALS)、FTLD-ALS 及/或脊髓小腦性失調症 36 型、及其中之相關症狀。

【0116】 在本發明之一個實施例中，本發明之抗體、具有與其任一者基本相同之結合特異性之結合分子、本發明之多核苷酸、載體或細胞用於製備用以預防性及/或治療性治療與 DPR 相關聯之疾病之醫藥或診斷組成物、用於監測疾病進展及/或治療反應、及用於診斷與 DPR 澱粉樣變性相關之疾病，包含額顳葉變性(FTLD)、肌萎縮性側索硬化症(ALS)、FTLD-ALS、及/或脊髓小腦性失調症 36 型。

【0117】 在一些實施例中，本發明之抗體結合至 FTLD 患者中之病理性 C9ORF72-二肽重複蛋白或其聚集形式。因此，在本發明之一個實施例中，抗體、具有與其任一者基本相同之結合特異性之結合分子、本發明之多核苷酸、載體或細胞用於製備用以預防性及/或治療性治療與 C9ORF72-DPR 相關聯之疾病之醫藥或診斷組成物、用於監測疾病進展及/或治療反應、及用於診斷與 C9ORF72-DPR 或其聚集形式相關之疾病，包含額顳葉變性(FTLD)、肌萎縮性側索硬化(ALS)及/或 FTLD-ALS、及其中之相關症狀。

治療：

【0118】 如本文使用，術語「治療(treat 及 treatment)」係指治療性治療及防治性或預防性措施，其中目標係防止或減緩(減輕)不需要之生理學改變或病症，諸如心氣虛之發展。有益或所要臨床結果包括但不限於減輕症狀、減弱疾病程度、穩定疾病病況(亦即不惡化)、延遲或減緩疾病發展、改善或舒緩疾病病況、及好轉(無論部分或全部)，不論可偵測到或不可偵測到。「治療」亦可意指與在不接

受治療情況下預期之存活相比使存活延長。需要治療者包括已患有病狀或病症者、以及傾向於患有病狀或病症者或欲預防病狀或病症症狀者。

【0119】 若未另外說明，則術語「藥物」、「藥品」或「醫藥」在本文中可互換使用，且應包括但不限於所有(A)內部或外部使用之物品、藥品及製劑，以及意欲用於診斷、治癒、緩解、治療或預防人或其它動物疾病之任何物質或物質之混合物；及(B)意欲影響人或其它動物身體之結構或任何功能之物品、藥品及製劑(食物除外)；及(C)意欲用作(A)及(B)條款所指明之任何物品之組成部分之物品。術語「藥物」、「藥品」或「醫藥」應包括意欲用於人或其它動物之製劑之完整配方，含有一或多種「藥劑」、「化合物」、「物質」或「(化學)組成物」且在其它一些情形中亦含有其它醫藥學上無活性之賦形劑，如填充劑、崩解劑、潤滑劑、助流劑、黏合劑，或確保「藥物」、「藥品」或「醫藥」在人或其它動物體內之預定靶標位置，例如在皮膚、胃或腸中易於運輸、崩解、解聚、溶解及生物利用度。術語「藥劑」、「化合物」或「物質」在本文中可互換使用，且在更具體之情形中應包括但不限於所有藥理學活性劑，亦即誘導所要生物學或藥理學作用之藥劑或藉由本發明之方法研究或測試誘導該可能的藥理學作用之能力之藥劑。

【0120】 「受試者」或「個體」或「動物」或「患者」或「哺乳動物」係指需要診斷、預後、預防或治療之任何受試者，特別是哺乳動物受試者，例如人類患者。

醫藥載劑：

【0121】 醫藥學上可接受之載劑及給藥途徑可以自熟習此項技藝者已知之對應文獻中獲得。本發明之醫藥組成物可以根據此項技術中熟知之方法調配；參見例如 Remington: The Science and Practice of Pharmacy (2000)，the University of

Sciences in Philadelphia, ISBN 0-683-306472, Vaccine Protocols 第 2 版, Robinson 等人, Humana Press, Totowa, New Jersey, USA, 2003 ; Banga, Therapeutic Peptides and Proteins: Formulation, Processing, and Delivery Systems. 第 2 版, Taylor and Francis. (2006), ISBN: 0-8493-1630-8。合適醫藥載劑之實例為此項技術中熟知的, 且包括磷酸鹽緩衝鹽水溶液、水、乳液(例如油/水乳液)、各種類型之潤濕劑、無菌溶液等。包含此類載劑之組成物可藉由熟知之習用方法調配。此等醫藥組成物可以合適劑量投與至受試者。合適組成物之投與可以藉由不同方式實現。實例包括藉由口服、鼻內、直腸、局部、腹膜內、靜脈內、肌肉內、皮下、真皮下、經真皮、鞘內及顱內方法投與含有醫藥學上可接受之載劑之組成物。氣溶膠調配物諸如鼻噴霧調配物包括活性劑與防腐劑及等滲劑之經純化水溶液或其它溶液。視情況將此等調配物調節至與鼻黏膜相容之 pH 及等滲狀態。在本發明中亦設想用於口服投與之醫藥組成物, 例如單域抗體分子(例如, 「nanobodies™」)等。此等口服調配物可為錠劑、膠囊、散劑、液體或半固體形式。錠劑可包含固體載劑, 例如明膠或佐劑。用於直腸或陰道投與之調配物可以作為具有合適載劑之栓劑存在; 亦參見 O'Hagan 等人, Nature Reviews, Drug Discovery 2(9) (2003), 727- 735。適用於各種類型投與之調配物之進一步指導可見於 Remington's Pharmaceutical Sciences, Mace Publishing Company, Philadelphia, PA, 第 17 版(1985)及對應更新中。有關藥物輸送方法之簡要回顧, 參見 Langer, Science 249 (1990), 1527-1533。

II. 本發明之抗體

【0122】 本發明一般係關於抗 DPR, 視情況抗 C9orf72-DPR 抗體及 DPR 結合, 亦即 DPR 結合片段以及其生物技術變異體及衍生物, 其視情況地展現對於本文描述之抗體所概述之(例如在實例中所示之)免疫結合特徵及/或生物學特

性。在一些實施例中，抗 DPR 抗體為人或人源抗體。在一些實施例中，抗 DPR 抗體為人單株抗體。在一些實施例中，抗 DPR 抗體為人源單株抗體。根據本發明，對聚-GA DPR 具有特異性之人單株抗體已自健康人受試者庫中選殖。在根據本發明進行之實驗過程中，已評估了源自原始自身抗體之重組 IgG 抗體結合 DPR 及其它蛋白質(包括牛血清白蛋白(BSA))之能力；參見實例 3 至 9 以及圖 2 至 8。如上所述，在源自選定人 C9orf72-FTLD 患者之腦組織中可以顯示主題抗體結合 DPR 蛋白或其聚集形式；參見實例 11 及圖 10。此外，如實例 9 及圖 8 所示，藉由參考抗聚-GA 抗體(NI-mAb 參考)與靶標之預先結合不會阻斷主題抗體與經聚集 C9orf72 聚-GA DPR(GA)₁₅(SEQ ID NO:66)之結合，這表明抗體識別聚-GA DPR 聚集物上之構形抗原決定基之能力，該構形抗原決定基亦可以在具有其它 DPR 蛋白及/或致澱粉樣蛋白形成蛋白之共聚集物中接近。

【0123】 此外，可優化抗 DPR 抗體、其 DPR 結合片段、合成或生物技術衍生物或變異體以具有改善之藥物動力學、可製造性及穩定性特性。因此，CDR 或可變區中易於進行選自由糖基化、氧化、脫胺、肽鍵裂解、異天冬胺酸形成及/或未配對半胱胺酸組成之群之修飾之至少一個胺基酸經缺乏此改變之突變胺基酸取代，或其中至少一個碳水化合物部分經缺失或以化學或酶促方式添加到抗體中，參見，例如 Liu 等人, J. Pharm. Sci. 97(7) (2008), 2426-2447；Beck 等人, Nat. Rev. Immunol. 10 (2010), 345-352；Habegger 等人, MAbs. 6 (2014), 327-339。

【0124】 為了研究可能使原始抗體更穩定及/或改善可製造性同時保持親本主題抗體之必需結合特徵之胺基酸取代，製備並分析了具有聚(GA)₈ 肽(SEQ ID NO:81)之主題 NI-308.5J10 抗體之 Fab 片段之晶體結構；參見實例 12-16 及圖 11 及 12。為了監測原始 NI-308.5J10 抗體之不同變異體之結合親和力，產生 Fab 片段並對其進行測試以定量內在單價親和力，而無來自多價相互作用之複雜情

況。由於經修飾之 Fab 片段基本上保留了親本抗體之 Fab 片段之親和力，因此預期對應完整 IgG 抗體對於聚-(GA)₁₅ 肽(SEQ ID NO:66)具有與親本抗體基本相同之結合親和力；參見條款[14]及所附實例。

【0125】 因此，本發明一般係關於重組人源單株抗 DPR 抗體及其 DPR 結合片段、合成及生物技術衍生物及變異體，其中該抗體或其 DPR 結合片段在其可變區中包含以下六個互補決定區(CDR)：

- (a) 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:3(例如，包含 SEQ ID NO:78)之 VH-CDR1 或其變異體，其中該變異體包含一或兩個胺基酸取代，
- (b) 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:4 之 VH-CDR2 或其變異體，其中該變異體包含一或兩個胺基酸取代，
- (c) 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:5 之 VH-CDR3 或其變異體，其中該變異體包含一或兩個胺基酸取代，
- (d) 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:8 之 VL-CDR1 或其變異體，其中該變異體包含一或兩個胺基酸取代，
- (e) 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:9 之 VL-CDR2 或其變異體，其中該變異體包含一或兩個胺基酸取代，
- (f) 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:10 之 VL-CDR3 或其變異體，其中該變異體包含一或兩個胺基酸取代；

其中該抗體或其 DPR 結合在所附實例及附圖中顯示對於主題 NI-308.5J10 抗體及其特異性變異體所示之任一種性質，視情況其中該抗體或其 DPR 結合具有如條款[1]至[36]概述之一或多種性質，視情況以組合形式，如藉由條款彼此之依賴性所指示的。例如，在一個實施例中，抗體或其 DPR 結合能夠結合自染色體 9 開放閱讀框 72(C9orf72)基因轉譯之具有至少 6 個重複序列(GA)₆(SEQ ID NO:80)

之聚甘胺酸-丙胺酸(GA)之二肽重複序列(DPR)。主題 NI-308.5J10 之合成或生物技術衍生物或變異體可含有如本文所述之一種、兩種、三種、四種、五種或六種變異體 CDR。例如，合成或生物技術衍生物或變異體抗體或其 DPR 結合可含有三個、視情況兩個或視情況僅一個變異體 VH-CDR，而 VL-CDR 保持不變或僅一個 VL-CDR 代表變異體，反之亦然。另外或另選地，本發明之抗體或其 DPR 結合片段在其可變區中包含

(a) 包含 SEQ ID NO:2 所示之胺基酸序列之可變重鏈(V_H)或其變異體，其中該變異體包含一或多個胺基酸取代；及

(b) 包含 SEQ ID NO:7 所示之胺基酸序列之可變輕鏈(V_L)或其變異體，其中該變異體包含一或多個胺基酸取代；視情況其中

V_H 及 V_L 鏈胺基酸序列分別與 SEQ ID NO:2 及 7 至少 90% 相同。

用於選擇用以取代及 CDR 內之位置的合適胺基酸之較佳標準示於圖 1 中，且在圖 1 之圖例中解釋，如上所述。

【0126】 如實例 12 至 16 所示，已鑒定出 NI-308.5J10 hIgG1 抗體之轉譯後修飾，亦即輕鏈糖基化及重鏈 Asn54 脫醯胺，該等修飾已藉由對應胺基酸取代來移除。因此，在本發明之抗體或其 DPR 結合片段之一個實施例中，CDR 不含有易脫醯胺之天冬醯胺(N)及/或麩醯胺(Q)且/或 V_H 及/或 V_L 鏈胺基酸序列不含已佔據之糖基化位點。在一個實施例中，V_H 及/或 V_L 鏈胺基酸序列中之一或多個糖基化位點已經突變為不能是已佔據之糖基化位點。

【0127】 在較佳實施例中，抗體或其 DPR 結合片段中之一、兩或更多個胺基酸取代係選自

(a) 用非易脫醯胺之胺基酸取代易脫醯胺之天冬醯胺(N)或麩醯胺(Q)；

- (b) 用較大胺基酸取代與易脫醯胺之 N 或 Q 直接相鄰之較小可撓性胺基酸，視情況其中相鄰胺基酸為甘胺酸(G)；
- (c) 至少一個胺基酸之取代，該取代導致糖基化位點之移除，視情況其中至少一個胺基酸在糖基化基序 NXS 或 NXT 內；及/或
- (d) 一或多個胺基酸之取代，該取代為保守胺基酸取代；視情況地其中(a)及(b)之胺基酸取代存在於 VH-CDR2 中，且(c)之胺基酸取代存在於 V_L 鏈中。

【0128】 此外，在旨在分別改善主題抗體及其 DPR 結合片段之穩定性及可製造性之情況下，根據上述考慮因素視情況選擇用於取代之胺基酸。視情況地，根據實例，在 VH-CDR2 中，對應於 SEQ ID NO:2 之 54 位之天冬醯胺(N)及/或對應於 55 位之甘胺酸(G)經另一種胺基酸取代，視情況其中天冬醯胺(N)經絲胺酸(S)或蘇胺酸(T)取代且/或其中甘胺酸(G)經絲胺酸(S)或蘇胺酸(T)取代；及/或在 V_L 鏈中，對應於 SEQ ID NO:7 之 75 位之天冬醯胺(N)經另一種胺基酸取代，視情況其中天冬醯胺(N)經天冬胺酸(D)取代。

【0129】 視情況地，抗-DPR 抗體、其 DPR 結合片段或生物技術衍生物或其變異體在以 IgG(視情況地 IgG1)之形式分析時具有結合親和力，對於結合 DPR 蛋白(GA)₆(SEQ ID NO:80)，該結合親和力對應於≤15 nM 之 EC₅₀(半數最大有效濃度)值(參見實例 7)，且/或對於結合 DPR 蛋白(GA)₁₀(SEQ ID NO:79)、(GA)₁₅(SEQ ID NO:66)及/或(GA)₂₀(SEQ ID NO:82)，該結合親和力對應於≤5 nM，視情況≤2 nM、視情況≤1 nM、或視情況≤0.5 nM 之 EC₅₀ 值；參見實例 3、4 及 7 以及圖 2 及 6。在一個實施例中，僅當重複數 n≥6 時，主題抗體才結合至聚-GA 肽；參見實例 7 及圖 6。另外或另選地，至少呈 IgG 形式之抗體以約(0.5-2.0 nM)之親和力 KD 結合至聚-(GA)₁₅(SEQ ID NO:66)，視情況以約(0.05-0.5 nM)之 KD 及視情況約(0.1-0.2 nM)之 KD 結合至聚-(GA)₁₅ 肽(SEQ ID NO:66)，其中結合速

率常數為($K_a = 0.5-5 \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$) 且解離常數為($K_d = 1-5 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$)，如藉由生物層干涉術測定；參見實例 8 及圖 7。

【0130】 因此，對於高親和力及所提及之 EC_{50} 及 KD 值，抗 DPR 抗體、其 DPR 結合片段或生物技術衍生物或變異體視情況地進一步包含多肽序列，該多肽序列視情況地與 CDR 或 V_H 及 V_L 鏈胺基酸序列異源，視情況其中該多肽序列包含人恆定域，視情況地為 IgG 型，視情況地為 IgG1 類別或同型。

【0131】 另一方面，主題 NI-308.5J10 抗體之 DPR 結合片段，尤其是 Fab 片段證明特別適用於設計及研究合成及生物技術衍生物或變異體，視情況在具有較小之聚 GA 重複序列，亦即 $(GA)_8$ (SEQ ID NO:81) 之情況下；參見實例 13 至 16 及圖 11 及 12。因此，在另一實施例中，本發明之抗體或其 DPR 結合片段對於聚- $(GA)_8$ 肽 (SEQ ID NO:81) 所具有之結合親和力對應於小於 30 nM 之 K_D (解離常數)，其中 K_a (結合速率) 小於 $5 \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 且 K_d (解離速率) 小於 $10 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ ，如藉由表面電漿共振 (SPR) 所測定，視情況地其中 DPR 結合片段所具有之結合親和力對應於 10 nM 至 30 nM 之 K_D (解離常數)，其中 K_a (結合速率) 為 1 至 $5 \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 且 K_d (解離速率) 為 2.5 至 $10 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ ，如藉由表面電漿共振 (SPR) 所測定。另外或另選地，該抗體或其 DPR 結合片段之特徵視情況在於其 Fab 片段具有分別在 78-82°C 範圍內，視情況在約 79-81°C 範圍內之熱穩定性及解構溫度 T_m ，如藉由差示掃描量熱法 (VP-DSC) 所測定；參見實例 16。

【0132】 一些抗體能夠結合多種生物分子，例如蛋白質。如熟習此項技藝者將理解的，術語特異性在本文中用於表示除 DPR 之外之其它生物分子不顯著結合至本發明之抗體。視情況地，與除 DPR 之外之生物分子之結合水準所導致之結合親和力為對於 DPR 之親和力之至多僅 20% 或更低、10% 或更低、僅 5% 或更低、僅 2% 或更低、或僅 1% 或更低 (亦即至少低 5 倍、10 倍、20 倍、50 倍或 100

倍，或超過該值之任何值)。特別地，如上文所述且在實例及附圖中說明，根據本發明，抗 DPR 抗體或其 DPR 結合片段或其生物技術衍生物或變異體視情況顯示一個、兩個、三個、四個或全部五個以下結合特徵：(i)識別聚(GA)₁₅ 肽(SEQ ID NO:66)上之構形抗原決定基，亦即在先前結合不同抗聚-GA DPR 抗體之後仍能夠結合聚-GA DPR 聚集物(實例 9 及圖 8)；(ii) 結合至偶聯於 BSA 載體蛋白之聚-GA 肽，其親和力與對應疏水塗覆之肽基本相同(實例 3 及 4 以及圖 2 及 3)；(iii) 與不相關致澱粉樣蛋白基本上無交叉反應性或具有最小交叉反應性，至少在實例 5 中測試及在圖 4 中顯示之彼等者；(iv)能夠結合包含自 C9orf72-FTLD 患者小腦顆粒細胞層中之 C9orf72 基因轉譯之含 DPR 蛋白質之聚集物(實例 11 及圖 10)。

【0133】 如前所述，DPR 蛋白聚集物在大腦額葉及顳葉中之積聚為神經退行性疾病 FTLD 之標誌。在小腦顆粒細胞層中之神經元細胞質包涵體、神經元核內包涵體及營養不良神經突中具有 DPR 聚集物之患者通常表現出改變之認知功能。特別地，FTLD 患者表現出癡呆、行為以及人格之變化、語言功能障礙及/或精神病是由於額葉及顳葉皮層之退化，如上所述。因此，在一個實施例中，本發明之抗體或其 DPR 結合片段可用於治療與 DPR 相關之疾病及/或病症。在一較佳實施例中，本發明之抗體或其 DPR 結合片段可用於治療 FTLD 及其症狀。本發明之主題抗體或其 DPR 結合片段之治療效用可以在細胞檢定中驗證，例如背景技術部分中所述之彼等者(亦參見實例 17)，且視情況使得在向基因轉殖 C9orf72 小鼠模型投與時，抗體能夠改善 C9orf72 疾病之病理學標誌之至少一種症狀，例如神經元缺失、行為異常、運動缺陷及存活率降低(實例 18)。

【0134】 編碼上述可變區之對應核苷酸序列列出於下表 2 中。V_H 及 V_L 鏈之胺基酸序列之示範性 CDR 組描繪於圖 1A-F 中之任一者中。因此，本發明提供了

一類新穎抗 DPR 抗體，以一種抗體或其 DPR 結合片段舉例說明，該抗體在其可變區中包含

(i) 以下六個 CDR：

- (a) 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:3(例如，包含 SEQ ID NO:78)之 VH-CDR1，
- (b) 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:13 之 VH-CDR2，
- (c) 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:5 之 VH-CDR3，
- (d) 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:8 之 VL-CDR1，
- (e) 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:9 之 VL-CDR2，
- (f) 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:10 之 VL-CDR3；

(ii) 以下六個 CDR：

- (a) 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:3(例如，包含 SEQ ID NO:78)之 VH-CDR1，
- (b) 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:14 之 VH-CDR2，
- (c) 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:5 之 VH-CDR3，
- (d) 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:8 之 VL-CDR1，
- (e) 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:9 之 VL-CDR2，
- (f) 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:10 之 VL-CDR3；

(iii) 以下六個 CDR：

- (a) 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:3(例如，包含 SEQ ID NO:78)之 VH-CDR1，
- (b) 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:19 之 VH-CDR2，
- (c) 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:5 之 VH-CDR3，
- (d) 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:8 之 VL-CDR1，
- (e) 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:9 之 VL-CDR2，
- (f) 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:10 之 VL-CDR3；或

(iv) 以下六個 CDR：

- (a) 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:3(例如，包含 SEQ ID NO:78)之 VH-CDR1，
- (b) 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:22 之 VH-CDR2，
- (c) 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:5 之 VH-CDR3，
- (d) 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:8 之 VL-CDR1，
- (e) 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:9 之 VL-CDR2，
- (f) 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:10 之 VL-CDR3；

視情況地其中該抗體或 DPR 結合片段在其可變區中包含

- (i) 如 SEQ ID NO:2 及 SEQ ID NO:24 所示之 V_H 及 V_L 鏈胺基酸序列；
- (ii) 如 SEQ ID NO:12 及 SEQ ID NO:24 所示之 V_H 及 V_L 鏈胺基酸序列；
- (iii) 如 SEQ ID NO:15 及 SEQ ID NO:24 所示之 V_H 及 V_L 鏈胺基酸序列；
- (iv) 如 SEQ ID NO:18 及 SEQ ID NO:24 所示之 V_H 及 V_L 鏈胺基酸序列；
- (v) 如 SEQ ID NO:21 及 SEQ ID NO:24 所示之 V_H 及 V_L 鏈胺基酸序列；
- (vi) 如 SEQ ID NO:12 及 SEQ ID NO:7 所示之 V_H 及 V_L 鏈胺基酸序列；
- (vii) 如 SEQ ID NO:15 及 SEQ ID NO:7 所示之 V_H 及 V_L 鏈胺基酸序列；
- (viii) 如 SEQ ID NO:18 及 SEQ ID NO:7 所示之 V_H 及 V_L 鏈胺基酸序列；
- (ix) 如 SEQ ID NO:21 及 SEQ ID NO:7 所示之 V_H 及 V_L 鏈胺基酸序列。

【0135】 然而，如上所述，熟習此項技藝者充分意識到如下事實：另外或另選地，在 CDR2 及 CDR3 之情況下，可以使用胺基酸序列與圖 1A-F 中之任一者所示之 CDR 相差一個、兩個或甚至更多個胺基酸之 CDR。因此，在一個實施例中，提供了本發明之抗體、生物技術衍生物及變異體抗 DPR 抗體及其 DPR 片段，在其可變區中包含如圖 1A-F 中之任一者所示之 CDR，其中一個多個、視情況不超過一或兩個 CDR 包含一或多個，視情況不超過兩個胺基酸取代；亦參見上文。

【0136】 如實例中所示，VH-CDR2 中之一或兩個胺基酸取代不影響原始抗體之結合親和力及特徵。分別關於 CDR 及可變重鏈及輕鏈胺基酸序列內之進一步或其它胺基酸取代，視情況例如根據最頻繁交換之胺基酸進行保守胺基酸取代，如 Mirsky 等人, Mol. Biol. Evol. 35 (2014), 806-819 分析及描述；參見 Mirsky 等人之第 813 頁之圖 6。在此情況下，對具有相似及不同結合特徵之其它人源抗-聚-GA DPR 抗體之 CDR 之初步分析揭示了主題抗體之 CDR 內之某些位置且預期與 VH-CDR2 相似之胺基酸取代可能以同樣方式使抗體之獨特結合特性不受影響。CDR 內較佳胺基酸取代之對應位置在圖 1 中以**粗體**及**斜體**表示，包括在 VH-CDR2 中僅以**粗體**進行之彼等取代。

【0137】 特別地，在 VH-CDR1 內，D 可以經 S 取代，且/或 S 可以經 T 取代；在 VH-CDR3 內，V 可以經 E 取代，T 可以經 S 取代，且/或 M 可以經 V 取代；在 VL-CDR1 內，R 可以經 K 取代，P 可以經 S 取代，R 可以經 E 取代，S 可以經 G 取代，T 可以經取代；在 VL-CDR2 內，S 可以經 A 取代，且/或 A 可以經 G 取代；且在 VL-CDR3 中，G 可以經 A 取代，L 可以經 I 取代，且 P 可以經 S 取代，而 S 可以經 P 取代。如上所述，視情況選擇在 Mirsky 等人(2014)，同上之圖 6 中所示之任一模型或視情況兩種模型 LG 及 AB 中屬於相同類別之胺基酸取代，其中 LG 模型對於保持胺基酸性質之傾向為較佳的，且其中視情況選擇胺基酸取代使得原始胺基酸之生理化學性質基本上得以保持，亦即疏水、極性或帶電荷性質，或例如，在進行兩或更多個胺基酸取代之情況下，它們相互補償以便一起提供表面之物理化學性質。

【0138】 本文提供了抗 DPR 抗體或其片段，例如 DPR Ab-1。DPR Ab-1 之胺基酸序列資訊如表 12 所示。在一些實施例中，抗 DPR 抗體或其抗原結合片段結合至本文所述之 DPR，例如染色體 9 開放閱讀框 72(C9orf72)二肽重複(DPR)蛋

白。在一些實施例中，DPR 蛋白包含聚甘胺酸-丙胺酸(GA)重複，例如聚(GA)_n 重複，其中 n 為 1、2、3、4、5、6 或更大(例如，1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15 或更大)。在一些實施例中，DPR 蛋白包含聚(GA)_n 重複，其中 n 在 6 與 15 之間，包括 6 及 15，例如，其中 n 為 15。在實施例中，抗 DPR 抗體或其片段包含 DPR Ab-1 或其片段(例如，抗原結合片段)。在一些實施例中，表 12 中之斜體天冬醯胺殘基為糖基化的；在其它實施例中，表 12 中之斜體天冬醯胺殘基為未糖基化的。

表 12- DPR Ab-1 之胺基酸序列資訊

	胺基酸序列	SEQ ID NO:
具有信號肽之重鏈胺基酸序列(在一些實施例中，斜體天冬醯胺為糖基化的；在其它實施例中，斜體天冬醯胺為未糖基化的)(CDR 用下劃線標出)	MGWSLILLFLVAVATRVLSQVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSNHAMHWVRQAPGKGLEWVAVISYDGENTYYADSI ~~EGR~~ FTISRDNFKNTLFLQMYSLTADDTAMYFCARGGRRGHFTSY ~~YLDY~~ WGQGT ~~L~~ TVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT ~~V~~ SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV ~~V~~ TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGPGSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK ~~T~~ TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	37
重鏈胺基酸序列(成熟，無信號肽)(CDR 加下劃線)	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSNHAMHWVRQAPGKGLEWVAVISYDGE ~~NTYYADSI~~ EGRFTISRDNFKNTLFLQMYSLTADDTAMYFCARGGRRGHFTSY ~~YLDY~~ WGQGT ~~L~~ TVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGTAALGCLVKDYFPEPVT ~~V~~ SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV ~~V~~ TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGPGSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK ~~T~~ TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM	38

	HEALHNHYTQKSLSLSPG	
重鏈恆定域胺基酸序列	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS SGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELL GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNAKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSK LTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG	39
重鏈可變區胺基酸序列 (CDR 加下劃線)	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS <u>GFTF</u> <u>SNHAMH</u> WVRQAPGKGLEWVAVISYDGE NTYYADSIIEGRFTISRDNFKNLTLFLQMYSL TADDTAMYFCARGGRRGHFTSY ~~YLDY~~ W GQGTLLTVSS	40
具有信號肽之輕鏈胺基酸 序列(CDR 加下劃線)	MDMRVPAQLLGLLLWFPGSRCDIQMTQ SPSSLSASVGDRVTITCRASQNIDKYLNWY QQIPGKAPKLLIYAASSLHSGVPSRFSGSGS GTDFSLTISSLQPEDFAIYYCQQSYSSFRTE GQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSG TASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDSTYSLSTLTLSKADY EKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	41
輕鏈胺基酸序列(成熟,無信 號肽)(CDR 加下劃線)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQNID KYLNWYQQIPGKAPKLLIYAASSLHSGVP SRFSGSGSGTDFSLTISSLQPEDFAIYYCQQ SYSSFRTEFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPS DEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWK VDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLST LTLSKADYKHKVYACEVTHQGLSSPVTK SFNRGEC	42
輕鏈恆定域胺基酸序列	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE QDSKDSTYSLSTLTLSKADYKHKVYAC EVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	43
輕鏈可變區胺基酸序列 (CDR 加下劃線)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQNID KYLNWYQQIPGKAPKLLIYAASSLHSGVP SRFSGSGSGTDFSLTISSLQPEDFAIYYCQQ SYSSFRTEFGQGTKLEIK	44
重鏈 CDR 1	GFTFSNHAMH	45
重鏈 CDR 2	VISYDGENTYYADSIIEG	46
重鏈 CDR 3	GGRRGHFTSY ~~YLDY~~	47
輕鏈 CDR 1	RASQNIDKYLN	48
輕鏈 CDR 2	AASSLHS	49
輕鏈 CDR 3	QQSYSSFRTE	50

【0139】 在表 12 中，指示框架(FR)及互補決定區(CDR)，其中 CDR 加下劃線。使用 Kabat 編號方案 (參閱 <http://www.bioinf.org.uk/abs/>；Kabat 等人, U.S. Dept. of Health and Human Services, 「Sequence of Proteins of Immunological Interest」 (1983)，其在所提到之網路參考文獻中提及且在 WO 2016/050822 A2 第 39 及 40 頁之表 1 中給出，其以引用之方式併入本文)。除非另有說明，否則提及本發明之抗體或其 DPR 結合片段、變異體或衍生物中特定胺基酸殘基位置之編號係根據 Kabat 編號系統，然而其該編號系統為理論上的且可能不同等地適用於本發明之各種抗體。例如，取決於第一 CDR 之位置，後續 CDR 可以在任一方向上移位。因此，在關於表 12 及/或序列表中之 CDR 指示之任何不經意之錯誤或不一致之情況下，基於本申請案之揭露內容，亦即抗體 DPR Ab-1 之可變重(VH)及可變輕(VL)鏈胺基酸序列，熟習此項技藝者很好地根據 Kabat 來判定正確 CDR 序列，該編號系統將用於定義要求保護之抗體及其 DPR 結合片段。

【0140】 本文提供了包含抗 DPR(例如，抗-C9ORF72 DPR)抗體或其片段(例如，其結合，例如，特異性地及/或以高親和力結合至聚-(GA)_n 重複序列，例如，本文所述之聚-(GA)_n 重複序列)之組成物，其中該抗 DPR 抗體或其片段包含：

(i) 重鏈，該重鏈包含胺基酸序列 SEQ ID NO:37 或 38(或與 SEQ ID NO:37 或 38 至少 95%，例如 95%、96%、97%、98%、99%或 100%相同之胺基酸序列)、由其組成或基本上由其組成，

視情況地其中重鏈胺基酸序列(例如，重鏈成熟序列)之長度不超過 452 個胺基酸，且/或其中重鏈在其胺基酸序列之 C-端不包含離胺酸殘基，且/或其中重鏈在其胺基酸序列之 C-端具有甘胺酸，且/或其中重鏈包含長度不超過 123 個胺基酸之重鏈可變區胺基酸序列；

(ii) 包含重鏈恆定域之重鏈，該重鏈恆定域包含胺基酸序列 SEQ ID NO:39(或與 SEQ ID NO:39 至少 95%，例如 95%、96%、97%、98%、99%或 100%相同之胺基酸序列)、由其組成或基本上由其組成，

視情況地其中重鏈胺基酸序列(例如，重鏈成熟序列)之長度不超過 452 個胺基酸，且/或其中重鏈在其胺基酸序列之 C-端不包含離胺酸殘基，且/或其中重鏈在其胺基酸序列之 C-端具有甘胺酸，且/或其中重鏈包含長度不超過 123 個胺基酸之重鏈可變區胺基酸序列；

(iii) 包含重鏈可變區之重鏈，該重鏈可變區包含 SEQ ID NO:40 (或與 SEQ ID NO:40 至少 95%，例如 95%、96%、97%、98%、99%或 100%相同之胺基酸序列)、由其組成或基本上由其組成，

視情況地其中重鏈胺基酸序列(例如，重鏈成熟序列)之長度不超過 452 個胺基酸，且/或其中重鏈在其胺基酸序列之 C-端不包含離胺酸殘基，且/或其中重鏈在其胺基酸序列之 C-端具有甘胺酸，且/或其中重鏈包含長度不超過 123 個胺基酸之重鏈可變區胺基酸序列；

(iv) 重鏈可變區胺基酸序列，該重鏈可變區胺基酸序列包含 SEQ ID NO:40(或與 SEQ ID NO:40 至少 95%，例如 95%、96%、97%、98%、99%或 100%相同之胺基酸序列)、由其組成或基本上由其組成，

視情況地其中重鏈可變區胺基酸序列長度不超過 123 個胺基酸；

(v) 輕鏈，該輕鏈包含 SEQ ID NO:41 或 42(或與 SEQ ID NO:41 或 42 至少 95%，例如 95%、96%、97%、98%、99%或 100%相同之胺基酸序列)、由其組成或基本上由其組成，

視情況地其中輕鏈胺基酸序列(例如，輕鏈成熟序列)之長度不超過 214 個胺基酸，且/或輕鏈包含長度不超過 107 個胺基酸之輕鏈可變區胺基酸序列；

(vi) 包含輕鏈恆定域之輕鏈，該輕鏈恆定域包含 SEQ ID NO:43(或與 SEQ ID NO:43 至少 95%，例如 95%、96%、97%、98%、99%或 100%相同之胺基酸序列)、由其組成或基本上由其組成，

視情況地其中輕鏈胺基酸序列(例如，輕鏈成熟序列)之長度不超過 214 個胺基酸，且/或輕鏈包含長度不超過 107 個胺基酸之輕鏈可變區胺基酸序列；

(vii) 包含輕鏈可變區之輕鏈，該輕鏈可變區包含 SEQ ID NO:44(或與 SEQ ID NO:44 至少 95%，例如 95%、96%、97%、98%、99%或 100%相同之胺基酸序列)、由其組成或基本上由其組成，

視情況地其中輕鏈胺基酸序列(例如，輕鏈成熟序列)長度不超過 214 個胺基酸，且/或其中輕鏈可變區胺基酸序列長度不超過 107 個胺基酸；

(viii) 輕鏈可變區胺基酸序列，該輕鏈可變區胺基酸序列包含 SEQ ID NO:44(或與 SEQ ID NO:44 至少 95%，例如 95%、96%、97%、98%、99%或 100%相同之胺基酸序列)、由其組成或基本上由其組成，

視情況地其中輕鏈可變區胺基酸序列長度不超過 107 個胺基酸；

(ix) 包含重鏈可變區之重鏈，該重鏈可變區包含 CDR1 胺基酸序列 SEQ ID NO:45(或與 SEQ ID NO:45 至少 95%，例如 95%、96%、97%、98%、99%或 100%相同之胺基酸序列)；CDR2 胺基酸序列 SEQ ID NO:46(或與 SEQ ID NO:46 至少 95%，例如 95%、96%、97%、98%、99%或 100%相同之胺基酸序列)，及 CDR3 胺基酸序列 SEQ ID NO:47(或與 SEQ ID NO:47 至少 95%，例如 95%、96%、97%、98%、99%或 100%相同之胺基酸序列)，

視情況地其中重鏈胺基酸序列(例如，重鏈成熟序列)之長度不超過 452 個胺基酸，且/或其中重鏈在其胺基酸序列之 C-端不包含離胺酸殘基，且/或其中重鏈在

其胺基酸序列之 C-端具有甘胺酸，且/或其中重鏈可變區胺基酸序列之長度不超過 123 個胺基酸；

(x) 重鏈可變區，該重鏈可變區包含 CDR1 胺基酸序列 SEQ ID NO:45(或與 SEQ ID NO:45 至少 95%，例如 95%、96%、97%、98%、99%或 100%相同之胺基酸序列)；CDR2 胺基酸序列 SEQ ID NO:46(或與 SEQ ID NO:46 至少 95%，例如 95%、96%、97%、98%、99%或 100%相同之胺基酸序列)，及 CDR3 胺基酸序列 SEQ ID NO:47(或與 SEQ ID NO:47 至少 95%，例如 95%、96%、97%、98%、99%或 100%相同之胺基酸序列)，

視情況地其中重鏈可變區胺基酸序列長度不超過 123 個胺基酸；

(xi) 包含輕鏈可變區之輕鏈，該輕鏈可變區包含 CDR1 胺基酸序列 SEQ ID NO:48(或與 SEQ ID NO:48 至少 95%，例如 95%、96%、97%、98%、99%或 100%相同之胺基酸序列)、CDR2 胺基酸序列 SEQ ID NO:49(或與 SEQ ID NO:49 至少 95%，例如 95%、96%、97%、98%、99%或 100%相同之胺基酸序列)、及 CDR3 胺基酸序列 SEQ ID NO:50(或與 SEQ ID NO:50 至少 95%，例如 95%、96%、97%、98%、99%或 100%相同之胺基酸序列)，

視情況地其中輕鏈胺基酸序列(例如，輕鏈成熟序列)長度不超過 214 個胺基酸，且/或輕鏈可變區胺基酸序列長度不超過 107 個胺基酸；

(xii) 輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含 CDR1 胺基酸序列 SEQ ID NO:48(或與 SEQ ID NO:48 至少 95%，例如 95%、96%、97%、98%、99%或 100%相同之胺基酸序列)、CDR2 胺基酸序列 SEQ ID NO:49(或與 SEQ ID NO:49 至少 95%，例如 95%、96%、97%、98%、99%或 100%相同之胺基酸序列)、及 CDR3 胺基酸序列 SEQ ID NO:50(或與 SEQ ID NO:50 至少 95%，例如 95%、96%、97%、98%、99%或 100%相同之胺基酸序列)，

視情況地其中輕鏈可變區胺基酸序列長度不超過 107 個胺基酸；及/或

(xiii) 重鏈及輕鏈，該輕鏈包含輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含 CDR1 胺基酸序列 SEQ ID NO:48(或與 SEQ ID NO:48 至少 95%，例如 95%、96%、97%、98%、99%或 100%相同之胺基酸序列)、CDR2 胺基酸序列 SEQ ID NO:49(或與 SEQ ID NO:49 至少 95%，例如 95%、96%、97%、98%、99%或 100%相同之胺基酸序列)、及 CDR3 胺基酸序列 SEQ ID NO:50(或與 SEQ ID NO:50 至少 95%，例如 95%、96%、97%、98%、99%或 100%相同之胺基酸序列)，

視情況地其中重鏈胺基酸序列(例如，重鏈成熟序列)之長度不超過 452 個胺基酸，且/或其中重鏈在其胺基酸序列之 C-端不包含離胺酸殘基，且/或其中重鏈在其胺基酸序列之 C-端具有甘胺酸，且/或其中重鏈包含長度不超過 123 個胺基酸之可變區胺基酸序列，且/或視情況地其中輕鏈胺基酸序列之長度不超過 214 個胺基酸，且/或其中輕鏈可變區胺基酸序列之長度不超過 107 個胺基酸。

【0141】 在一個實施例中，本文提供視情況連接至異源核酸之多核苷酸，其中(i)多核苷酸編碼具有本文所述 VH-CDR 之免疫球蛋白可變重鏈，且其中該免疫球蛋白可變重鏈當與包含表 12 中列出之胺基酸序列之免疫球蛋白可變輕鏈配對時，能夠(例如，特異性地及/或以高親和力)結合至本文所述之 DPR(例如，聚-(GA)_n)，且/或(ii)該多核苷酸編碼具有本文所述 VL-CDR 之免疫球蛋白可變輕鏈，且其中該免疫球蛋白可變輕鏈當與包含表 12 中列出之胺基酸序列之免疫球蛋白可變重鏈配對時，能夠(例如，特異性地及/或以高親和力)結合至本文所述之 DPR(例如，聚-(GA)_n)。

【0142】 在一些態樣，本文提供了在 N 端包含信號肽之抗體或其片段。在一些實施例中，信號肽包含胺基酸序列 MGWSLILLFLVAVATRVLS(SEQ ID NO:59)或與 SEQ ID NO:59 至少 95%，例如 95%、96%、97%、98%、99%或 100%

相同之胺基酸序列。在其它實施例中，信號肽包含胺基酸序列 MDMRVPAQLLGLLLWFPGSRC(SEQ ID NO:60)或與 SEQ ID NO:60 至少 95%，例如 95%、96%、97%、98%、99%或 100 %相同之胺基酸序列。

【0143】 在實施例中，其重鏈在其胺基酸序列之 C-端不包含離胺酸殘基。在實施例中，其重鏈在其胺基酸序列之 C-端具有甘胺酸。

【0144】 在實施例中，重鏈胺基酸序列(例如，重鏈成熟序列)長度不超過 452 個胺基酸(例如，長度為 452 個胺基酸)。在實施例中，重鏈在其胺基酸序列之 C-端不包含離胺酸殘基。在實施例中，重鏈在其胺基酸序列之 C-端具有甘胺酸。在實施例中，重鏈可變區胺基酸序列之長度不超過 123 個胺基酸(例如，長度為 123 個胺基酸)。在實施例中，輕鏈胺基酸序列之長度不超過 214 個胺基酸(例如，長度為 214 個胺基酸)。在實施例中，輕鏈可變區胺基酸序列之長度不超過 107 個胺基酸(例如，長度為 107 個胺基酸)。

【0145】 在一些實施例中，本文所述之抗體或其片段包含具有 IgG1 同型，例如人 IgG1(hIgG1)同型之重鏈。在實施例中，重鏈包含異型 G1m1,17。

【0146】 在一些實施例中，本文所述之抗體或其片段包含具有 κ 同型，例如人 κ 同型之輕鏈。在實施例中，輕鏈包含異型 Km3。

【0147】 在一些實施例中，本文所述之抗體或其片段連接至藥物；或者用標籤可偵測地標記，該標籤例如酶、放射性同位素、螢光團、標記、重金屬及/或旗標。

【0148】 本發明之抗體可為人源的，特別是用於治療應用。或者，本發明之抗體為齧齒動物抗體、齧齒動物化抗體或嵌合齧齒動物-人抗體，視情況為鼠抗體、鼠源化抗體或嵌合鼠-人抗體或大鼠抗體、大鼠化抗體或嵌合大鼠-人抗體，

該抗體特別適用於診斷方法及動物研究。在一個實施例中，本發明之抗體為嵌合齧齒動物-人抗體或齧齒動物化抗體。

【0149】 如上所述，本發明之抗體可以除完整抗體外之多種形式存在；包括例如 Fv、Fab 及 F(ab)₂ 以及單鏈；參見例如國際申請案 WO 88/09344。因此，在一個實施例中，提供了本發明之抗體，該抗體係選自由單鏈 Fv 片段(scFv)、F(ab') 片段、F(ab) 片段及 F(ab')₂ 片段組成之群。

【0150】 本發明之抗體或其對應免疫球蛋白鏈可以使用此項技術中已知之習用技術進一步修飾，例如藉由單獨或組合使用胺基酸缺失、插入、取代、添加及/或重組及/或此項技術中已知之任何其它修飾進行修飾。用於根據免疫球蛋白鏈之胺基酸序列在 DNA 序列中引入此類修飾之方法為熟習此項技藝者公知的；參見，例如, Sambrook, Molecular Cloning A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory (1989) N.Y. 及 Ausubel, Current Protocols in Molecular Biology, Green Publishing Associates and Wiley Interscience, N.Y. (1994)。本發明抗體之修飾包括在一或多個組成型胺基酸處之化學及/或酶促衍生，包括側鏈修飾、主鏈修飾及 N-端及 C-端修飾，包括乙醯化、羥基化、甲基化、醯胺化及碳水化合物或脂質部分之連接、輔因子及其類似修飾。同樣地，本發明包括嵌合蛋白之產生，該嵌合蛋白在胺基端包含所述抗體或其某些片段，該抗體或其片段在羧基端融合至異源分子例如免疫刺激配體；例如，參見國際申請案 WO00/30680 以獲得對應技術細節。

【0151】 如一般熟悉此項技藝者已知的，本發明之抗體或其 DPR 結合片段、合成或生物技術變異體或衍生物可包含介導一或多種效應子功能之恆定區。舉例而言，補體之 C1 組件結合於抗體恆定區可活化補體系統。在細胞病原體之調理及溶解中，補體活化為重要的。補體活化亦刺激發炎性反應且亦可涉及自體

免疫過敏性。此外，抗體經由 Fc 區結合於各種細胞上之受體，其中抗體 Fc 區上之 Fc 受體結合位點結合於細胞上之 Fc 受體(FcR)。存在許多對不同類抗體具有特異性之 Fc 受體，包括 IgG (γ 受體)、IgE (ϵ 受體)、IgA (α 受體)及 IgM (μ 受體)。抗體結合於細胞表面上之 Fc 受體引發許多重要且多樣之生物反應，包括由殺手細胞(稱為抗體依賴性細胞介導性細胞毒性或 ADCC)吞噬及破壞抗體塗佈粒子、清除免疫複合物、溶解抗體塗佈目標細胞，釋放發炎性介體、胎盤轉移及控制免疫球蛋白產生。

【0152】 因此，本發明之某些實施例包括抗體或其 DPR 結合片段、變異體或衍生物，其中一或多個恆定區域中之至少一部分已缺失或另外改變以便提供所要生物化學特徵，諸如當與具有大約相同免疫原性之完整未改變抗體相比時，效應功能減小、非共價二聚之能力、在 DPR 蛋白聚集及沉積之位點處定位之能力提高、血清半衰期減少或血清半衰期增加。舉例而言，用於本文所述之診斷及治療方法之某些抗體為域缺失抗體，其包含類似於免疫球蛋白重鏈之多肽鏈，但缺乏一或多個重鏈域之至少一部分。舉例而言，在某些抗體中，經修飾抗體之恆定區之一個完整域將會缺失，例如 CH2 域之全部或部分將會缺失。在其它實施例中，用於本文所述之診斷及治療方法之某些抗體具有恆定區，例如 IgG 重鏈恆定區，該恆定區經改變以消除糖基化，在本文別處稱為非糖基化或「無糖基化(agly)」抗體。此「無糖基化(agly)」抗體可以酶促製備，亦可以藉由對恆定區中之共同糖基化位點進行工程改造來製備。儘管不受理論約束，但咸信「無糖基化」抗體可具有經改良之活體內安全性及穩定性概況。產生具有所要效應功能之非糖基化抗體之方法例如在國際申請案 WO2005/018572 中找到，該申請案以引用之方式整體併入。

【0153】 在本文所述之某些抗體或其 DPR 結合片段、變異體或衍生物中，可使用此項技術中已知之技術使 Fc 部分突變以降低效應功能。例如，恆定區域之缺失或失活(藉由點突變或其它方式)可以降低循環修飾抗體之 Fc 受體結合，從而增加 DPR 蛋白定位。在其它情況下，符合本發明之恆定區修飾可能使補體結合緩和，因此減少偶聯細胞毒素之血清半衰期及非特異性締合。然而，恆定區之其它修飾可用以修飾二硫鍵或寡糖部分，其因抗原特異性或抗體可撓性增大而允許局部化增強。修飾之所得生理學概況、生物可用性及其它生物化學作用(諸如 DPR 蛋白局部化、生物分佈及血清半衰期)可使用熟知免疫學技術在無不當實驗之情況下來輕易量測及定量。

【0154】 在本文所述之某些抗體或其 DPR 結合片段、變異體或衍生物中，Fc 部分可以突變或交換成替代蛋白質序列以增加抗體之細胞攝取，例如藉由經由 Fcγ 受體、LRP 或 Thy1 受體來增強受體介導之抗體內吞作用或藉由據說可以使抗體穿梭進入活細胞而不會傷害該等細胞之『SuperAntibody 技術』(Expert Opin. Biol. Ther. (2005), 237-241)來進行。例如，可以使用在此項技術中已知之技術來工程改造抗體結合區與細胞表面受體之同源蛋白配體之融合蛋白或具有結合至 DPR 之特定序列以及細胞表面受體之雙特異性或多特異性抗體之產生。

【0155】 在本文所述之某些抗體或其 DPR 結合片段、變異體或衍生物中，Fc 部分可以突變或交換成替代蛋白質序列，或者抗體可以經化學修飾以增加其血腦屏障穿透性。

【0156】 本發明之抗體或其 DPR 結合片段、變異體或衍生物之修飾形式可以使用此項技術中已知之技術由完整前體或親本抗體製備。本文更詳細地論述了示範性技術。本發明之抗體或其抗原結合片段、變異體或衍生物可以使用此項技術中已知之技術製備或製造。在某些實施例中，抗體分子或其片段為「重組

產生」，亦即使用重組 DNA 技術產生。用於製備抗體分子或其片段之示範性技術在本文別處更詳細地論述。

【0157】 本發明之抗體或其 DPR 結合片段、生物技術變異體或衍生物亦包括例如藉由將任何類型之分子共價連接至抗體使得共價連接不會阻止抗體特異性結合至其同源抗原決定基而經修飾之衍生物。例如但不限於，抗體衍生物包括已例如藉由糖基化、乙醯化、聚乙二醇化、磷酸化、醯胺化、由已知保護基/阻隔基之衍生化、蛋白水解切割、連接至細胞配體或其它蛋白質等而經修飾之抗體。可以藉由已知技術進行許多化學修飾中之任一種，該等技術包括但不限於特定化學裂解、乙醯化、甲醯化、衣黴素之代謝合成等。另外，衍生物可含有一或多種非經典胺基酸。

【0158】 識別特定抗原決定基之抗體片段可以藉由已知技術產生。舉例而言，Fab 及 F(ab')₂ 片段可以重組方式或藉由使用酶諸如木瓜蛋白酶(產生 Fab 片段)或胃蛋白酶(產生 F(ab')₂ 片段)使免疫球蛋白分子發生蛋白水解裂解而產生。F(ab')₂ 片段含有重鏈之可變區、輕鏈恆定區及 CH1 域。此等片段足以用於例如免疫診斷程序，包括將免疫球蛋白之免疫特異性部分偶聯到偵測試劑如放射性同位素上。

【0159】 本發明之抗體可以藉由此項技術中已知用於合成抗體之任何方法產生，特別是藉由化學合成或視情況地藉由如本文所述之重組表現技術產生。

【0160】 在一個實施例中，本發明之抗體或其 DPR 結合片段、變異體或衍生物包含合成恆定區，其中一或多個域為部分或完全缺失(「域缺失之抗體」)。在某些實施例中，相容性經修飾之抗體將包含域缺失之構築體或變異體，其中整個 CH2 域已經移除(Δ CH2 構築體)。對於其它實施例，短連接肽可以取代缺失之域，以為可變區提供可撓性及運動自由度。熟習此項技藝者將理解，由於 CH2

域對抗體分解代謝速率之調節特性，此構築體為特別較佳的。可以使用編碼 IgG₁ 人恆定域之載體來衍生域缺失之構築體，參見例如國際申請案 WO 02/060955 及 WO 02/096948A2。工程改造該載體以缺失 CH2 域且提供表現域缺失之 IgG₁ 恆定區之合成載體。

【0161】 在某些實施例中，本發明之抗體或其 DPR 結合片段、變異體或衍生物為微抗體。可以使用此項技術中描述之方法製備微抗體，參見例如美國專利 5,837,821 或國際申請案 WO 94/09817。

【0162】 在一個實施例中，本發明之抗體或其 DPR 結合片段、變異體或衍生物包含具有少數或甚至單個胺基酸之缺失或取代之免疫球蛋白重鏈，只要其允許單體亞基之間之締合即可。例如，CH2 域之選定區域中單個胺基酸之突變可足以顯著降低 Fc 結合，從而增加 DPR 蛋白定位。類似地，可能需要簡單地缺失一或多個恆定區域之控制待調節之效應功能(例如，補體結合)之彼部分。恆定區之此等部分缺失可以改善抗體之選定特徵(血清半衰期)，同時保持與主題恆定區域相關之其它所需功能完整。此外，如上所述，所揭示之抗體之恆定區可以通過一或多個胺基酸之增強所要構築體之特徵之突變或取代而合成。在此方面，有可能破壞由保守性結合位點提供之活性(例如 Fc 結合)，同時基本上保持經修飾抗體之構型及免疫原性概況。其它實施例包括向恆定區添加一或多個胺基酸以增強所需特徵(例如效應功能)或提供更多細胞毒素或碳水化合物連接。在此等實施例中，可能需要插入或複製衍生自選定恆定區域之特定序列。

III. 編碼本發明之抗體之多核苷酸

【0163】 本發明亦係關於編碼上文第 II 部分中描述之抗體或其 DPR 結合片段、變異體或衍生物中之任一者之一或多種多核苷酸。編碼抗體或其 DPR 結合片段、變異體或衍生物之多核苷酸可以由任何多核糖核苷酸或多聚脫氧核糖核

核苷酸組成，改多核苷酸可以為未經修飾之 RNA 或 DNA 或經修飾之 RNA 或 DNA。例如，編碼抗體或其 DPR 結合片段、變異體或衍生物之多核苷酸可由以下項組成：單鏈及雙鏈 DNA、作為單鏈及雙鏈區域之混合物之 DNA、單鏈及雙鏈 RNA、及作為單鏈及雙鏈區域之混合物之 RNA、包含可以為單鏈或更通常地為雙鏈或作為單鏈及雙鏈區域之混合物之 DNA 及 RNA 之雜合分子。另外，編碼抗體或其 DPR 結合片段、變異體或衍生物之多核苷酸可由包含 RNA 或 DNA 或 RNA 及 DNA 兩者之三鏈區組成。編碼抗體或其 DPR 結合片段、變異體或衍生物之多核苷酸亦可含有一或多個經修飾之鹼基或為了穩定性或其它原因而經修飾之 DNA 或 RNA 骨架。「經修飾之」鹼基包括例如三苯甲基化鹼基及不常見鹼基，例如肌苷。可對於 RNA 及 DNA 產生各種修飾；因而「多核苷酸」包括化學、酶促或代謝修飾形式。

【0164】 編碼衍生自免疫球蛋白(例如，免疫球蛋白重鏈部分或輕鏈部分)之多肽之非天然變異體之經分離多核苷酸可以藉由在免疫球蛋白之核苷酸序列中引入一或多個核苷酸取代、添加或缺失，使得一或多個胺基酸取代、添加或缺失被引入經編碼蛋白質中而產生。突變可藉由標準技術，諸如定點誘變及 PCR 介導誘變來引入。視情況地，在一或多個非必需胺基酸殘基處進行保守性胺基酸取代。

【0165】 眾所周知，RNA 可以藉由標準技術自原始 B 細胞、雜交瘤細胞或其它轉型細胞中分離，該等標準技術例如異硫氰酸胍萃取及沉澱及隨後離心或層析。需要時，可以藉由標準技術例如寡聚 dT 纖維素上之層析法自總 RNA 中分離 mRNA。合適技術為此項技術中熟悉的。在一個實施例中，編碼抗體之輕鏈及重鏈之 cDNA 可以根據熟知之方法使用反轉錄酶及 DNA 聚合酶同時或單獨製備。PCR 可基於公開之重鏈及輕鏈 DNA 及胺基酸序列藉由共同恆定區引子或藉

由更特異性引子來啟始。如上所論述，PCR 亦可用於分離編碼抗體輕鏈及重鏈之 DNA 純系。在此情況下，可藉由共同引子或較大同源探針(諸如人恆定區探針)來篩檢文庫。

【0166】 DNA 通常為質體 DNA，可以使用此項技術中已知之技術自細胞中分離，根據例如在關於重組 DNA 技術之前述參考文獻中詳細闡述之標準、熟知之技術進行限制性定位及測序。當然，根據本發明，DNA 可以在分離過程或隨後分析過程中之任何時候點合成。在此情況下，本發明亦係關於至少編碼本發明抗體之免疫球蛋白鏈之結合域或可變區之多核苷酸。

【0167】 在本發明之一較佳實施例中，多核苷酸包含具有如表 2 中所示之抗 DPR 抗體之 V_H 或 V_L 區之多核苷酸序列之核酸、基本上由其組成或由其組成。在此方面，熟習此項技藝者將容易理解，至少編碼輕鏈及/或重鏈之可變域之多核苷酸可編碼兩種免疫球蛋白鏈或僅一種鏈之可變域。因此，在一個實施例中，多核苷酸包含具有如表 2 中所示之抗 DPR 抗體及/或其片段之 V_H 及 V_L 區之多核苷酸序列之核酸、基本上由其組成或由其組成。

表 2：識別聚-GA DPR，視情況 C9orf72-(聚-GA)-DPR 之抗體及抗體變異體之 V_H 及 V_L 區之核苷酸序列。

抗體	可變重鏈(V _H)及可變輕鏈(V _L)之核苷酸序列
NI-308.5J10 V _H	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCC TTCGGAGACCCTGTCCCTCACTTACACTGTCTTAGGTGGCTC CGTCAGTGATTACTACTGGAGCTGCATCCGGCAGCCCGCCG GGAAGGGACTGGAGTGGATTGGGCGAACATATACTAACGG GAAGACCACTTACACTTACAACCCCTCCCTCGAGAGTCGAC TCAGTTTGTCTATAGACACGTCCATGAACCAATTCTCCCTGA AGTTGACCTCTGTGACGGCCGCGGACACGGCCGTCTATTACT GCGCGAGATGGGGGGCGGTGACTGGTGACTACTACTACGGT ATGGACGTCTGGGGCCCAGGCACCCTGGTCACCGTCTCCTC G SEQ ID NO: 1
NI-308.5J10 V _K	GAAATTGTGCTGACTCAGTCTCCACTCTCCCTGTCCGTCACC CCTGGAGAGCCGGCCTCCATCTCCTGCAGGTCTCCTCGGAGC CTTCTACATACTAATGGATATACATATTTGGACTGGTACCTA

	CAAAGGCCAGGGCAGTCTCCACAACCTCCTGATCTTTTTGGCT TCTAATCGGGCCTCCGGGGTCCCTGACAGGTTCAAGTGGCAG CGGATCAGGCACAAATTTTACACTGAGAATCAGCGGAGTGG AGGCTGACGATGTTGGAGTTTATTACTGCATGCAAGGTCTAC AACCTTCGTGGACGTTTCGGCCAGGGGACCAAGGTGGAAATC AAA SEQ ID NO: 6
NI-308.5J10 V _H – N54S	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCC TTCGGAGACCCTGTCCCTCACTTACACTGTCTTAGGTGGCTC CGTCAGTGATTACTACTGGAGCTGCATCCGGCAGCCCGCCG GGAAGGGACTGGAGTGGATTGGGCGAACATATACTAGCGG GAAGACCACTTACACTTACAACCCCTCCCTCGAGAGTCGAC TCAGTTTGTCTATAGACACGTCCATGAACCAATTCTCCCTGA AGTTGACCTCTGTGACGGCCGCGGACACGGCCGTCTATTACT GCGCGAGATGGGGGGCGGTGACTGGTGACTACTACTACGGT ATGGACGTCTGGGGCCCAGGCACCCTGGTCACCGTCTCCTC G SEQ ID NO: 11
NI-308.5J10 V _H – N54T	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCC TTCGGAGACCCTGTCCCTCACTTACACTGTCTTAGGTGGCTC CGTCAGTGATTACTACTGGAGCTGCATCCGGCAGCCCGCCG GGAAGGGACTGGAGTGGATTGGGCGAACATATACTACCGGG AAGACCACTTACACTTACAACCCCTCCCTCGAGAGTCGACTC AGTTTGTCTATAGACACGTCCATGAACCAATTCTCCCTGAAG TTGACCTCTGTGACGGCCGCGGACACGGCCGTCTATTACTGC GCGAGATGGGGGGCGGTGACTGGTGACTACTACTACGGTAT GGACGTCTGGGGCCCAGGCACCCTGGTCACCGTCTCCTCG SEQ ID NO: 14
NI-308.5J10 V _H – G55S	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCC TTCGGAGACCCTGTCCCTCACTTACACTGTCTTAGGTGGCTC CGTCAGTGATTACTACTGGAGCTGCATCCGGCAGCCCGCCG GGAAGGGACTGGAGTGGATTGGGCGAACATATACTAACAGC AAGACCACTTACACTTACAACCCCTCCCTCGAGAGTCGACTC AGTTTGTCTATAGACACGTCCATGAACCAATTCTCCCTGAAG TTGACCTCTGTGACGGCCGCGGACACGGCCGTCTATTACTGC GCGAGATGGGGGGCGGTGACTGGTGACTACTACTACGGTAT GGACGTCTGGGGCCCAGGCACCCTGGTCACCGTCTCCTCG SEQ ID NO: 17
NI-308.5J10 V _H – G55T	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCC TTCGGAGACCCTGTCCCTCACTTACACTGTCTTAGGTGGCTC CGTCAGTGATTACTACTGGAGCTGCATCCGGCAGCCCGCCG GGAAGGGACTGGAGTGGATTGGGCGAACATATACTAACACC AAGACCACTTACACTTACAACCCCTCCCTCGAGAGTCGACTC AGTTTGTCTATAGACACGTCCATGAACCAATTCTCCCTGAAG TTGACCTCTGTGACGGCCGCGGACACGGCCGTCTATTACTGC GCGAGATGGGGGGCGGTGACTGGTGACTACTACTACGGTAT GGACGTCTGGGGCCCAGGCACCCTGGTCACCGTCTCCTCG SEQ ID NO: 20

NI-308.5J10 V _K – N75D	GAAATTGTGCTGACTCAGTCTCCACTCTCCCTGTCCGTCACC CCTGGAGAGCCGGCCTCCATCTCCTGCAGGTCTCCTCGGAGC CTTCTACATACTAATGGATATACATATTTGGACTGGTACCTA CAAAGGCCAGGGCAGTCTCCACAACCTCCTGATCTTTTTGGCT TCTAATCGGGCCTCCGGGGTCCCTGACAGGTTCAGTGGCAG CGGATCAGGCACAGACTTTACACTGAGAATCAGCGGAGTGG AGGCTGACGATGTTGGAGTTTATTACTGCATGCAAGGTCTAC AACCTTCGTGGACGTTTCGGCCAGGGGACCAAGGTGGAAATC AAA
SEQ ID NO: 23	

【0168】 DPR Ab-1 抗體或其片段之胺基酸序列可以由各種核苷酸序列編碼。例如，可以優化密碼子以最大化多肽之表現。編碼 DPR Ab-1 之一組示範性核苷酸序列顯示在下表 13 中。

表 13-編碼 DPR Ab-1 之核苷酸序列

	核苷酸序列	SEQ ID NO:
具有信號肽之重鏈核苷酸序列	ATGGGTTGGAGCCTCATCTTGCTGTTTCTTG TCGCTGTTGCTACGCGTGTCTGTCGCAGG TGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTA GTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTGTCC TGTGCAGCCTCTGGATTACCTTCAGTAAT CATGCTATGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCA GGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCAGTTAT ATCATATGATGGCGAGAACACATATTATGC AGACTCCATTGAGGGCCGATTCACCATTTC CAGAGACAATTTCAAGAACACACTCTTTCT ACAAATGTACAGCCTGACAGCTGATGACAC GGCTATGTACTTCTGTGCGAGAGGGGGCCG TCGGGGGCACTTCACCTCATACTACCTTGA CTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGT CTCCTCGGCTAGTACCAAGGGGCCCATCGGT CTTCCCCCTGGCACCTCCTCCAAGAGCAC CTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCT GGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCCGTGAC GGTGTCGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAG CGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACA GTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGT GGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCAC CCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAA GCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAG TTGAGCCCAAATCTTGTGACAAGACTCACA CATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGAACTCC TGGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCC CAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCC GGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGG ACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAG	51

	TTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTG CATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGA GCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAG CGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCT GAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTTT CCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGA AAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCC CGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCA TCCCGGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGT CAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTA TCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGA GCAATGGGCAGCCGGAGAACAACACTACAAG ACCACGCCTCCCGTGTTGGACTCCGACGGC TCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTG GACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGT CTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCT GCACAACCACTACACGCAAAAAAGCCTCTC CCTGTCTCCCGGTTGA	
重鏈核苷酸序列(成熟, 無 信號肽)	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGG CGTAGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACT GTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTCAG TAATCATGCTATGCACTGGGTCCGCCAGGC TCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCAG TTATATCATATGATGGCGAGAACACATATT ATGCAGACTCCATTGAGGGCCGATTCACCA TTTCCAGAGACAATTTCAAGAACACACTCT TTCTACAAATGTACAGCCTGACAGCTGATG ACACGGCTATGTACTTCTGTGCGAGAGGGG GCCGTCGGGGGCACTTCACCTCATACTACC TTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCA CCGTCTCCTCGGCTAGTACCAAGGGCCCAT CGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGA GCACCTCTGGGGGACAGCGGCCCTGGGCT GCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCCG TGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGGCGCCCTGA CCAGCGGCGTGACACCTTCCCGGCTGTCC TACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCA GCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGG GCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATC ACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAG AAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAGACT CACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAA CTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTC CCCCCAAACCCAAGGACACCCTCATGATC TCCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTG GTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGT CAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGA GGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGG AGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTG GTCAGCGTCCTACCGTCCTGCACCAGGAC TGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAA	52

	GGTTTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCAT CGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGC AGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGC CCCCATCCCGGGATGAGCTGACCAAGAACC AGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCT TCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGG AGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACACTAC AAGACCACGCCTCCCGTGTTGGACTCCGAC GGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACC GTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAA CGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGC TCTGCACAACCACTACACGCAAAAAAGCCT CTCCCTGTCTCCCGGTTGA	
重鏈恆定域核苷酸序列	GCTAGTACCAAGGGCCCCATCGGTCTTCCCC CTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGG GGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAG GACTACTTCCCCGAACCCGTGACGGTGTCTG TGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTG CACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCA GGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACC GTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACC TACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGC AACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCC CAAATCTTGTGACAAGACTCACACATGCCC ACCGTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGG ACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCC AAAACC CAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCC TGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAG CCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTG GTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATG CCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTAC AACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTC ACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGC AAGGAGTACAAGTGCAAGGTTTCCAACAA AGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCAT CTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAAC CACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGG ATGAGCTGACCAAGAACCAGGTCAGCCTG ACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGC GACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGG GCAGCCGGAGAACAACACTACAAGACCACGC CTCCCGTGTTGGACTCCGACGGCTCCTTCTT CCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAG CAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATG CTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCA CTACACGCAAAAAAGCCTCTCCCTGTCTCC CGGTTGA	53
重鏈可變區核苷酸序列	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGG CGTAGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACT GTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTCAG TAATCATGCTATGCACTGGGTCCGCCAGGC	54

	TCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCAG TTATATCATATGATGGCGAGAACACATATT ATGCAGACTCCATTGAGGGCCGATTACCA TTTCCAGAGACAATTTCAAGAACACACTCT TTCTACAAATGTACAGCCTGACAGCTGATG ACACGGCTATGTACTTCTGTGCGAGAGGGG GCCGTCGGGGGCACTTCACCTCATACTACC TTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCA CCGTCTCCTCG	
具有信號肽之輕鏈核苷酸序列	ATGGACATGCGGGTGCCCCGCCAGCTGCTG GGCCTGCTGCTGCTGTGGTTCCCCGGCTCT AGATGCGACATCCAGATGACCCAGTCTCCA TCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGA GTCACCATCACTTGCCGGGCAAGCCAGAAC ATAGACAAGTACTTAAATTGGTATCAGCAG ATACCGGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATC TATGCTGCATCGAGTTTGACAGTGGGGTC CCATCAAGGTTCAGTGGCAGTGGATCTGGG ACAGATTTCTCTCTCACCATCAGCAGTCTG CAACCTGAAGATTTTGCAATTTACTACTGT CAACAGAGTTACAGTTCCTTCCGGACGTTT GGCCAAGGGACCAAGCTGGAGATCAAACG TACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTC CCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGA ACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAAC TTCTATCCCAGAGAGGGCCAAAGTACAGTGG AAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAAC TCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAG CAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCA CCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAG AAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACC CATCAGGGCCTGAGTTCGCCCCGTCACAAAG AGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTGA	55
輕鏈核苷酸序列(成熟，無信號肽)	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCC CTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACC ATCACTTGCCGGGCAAGCCAGAACATAGA CAAGTACTTAAATTGGTATCAGCAGATACC GGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATGC TGCATCGAGTTTGACAGTGGGGTCCCATC AAGGTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAG ATTTCTCTCTCACCATCAGCAGTCTGCAAC CTGAAGATTTTGCAATTTACTACTGTCAAC AGAGTTACAGTTCCTTCCGGACGTTTCGGCC AAGGGACCAAGCTGGAGATCAAACGTACG GTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGC CATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAAGT CCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTA TCCCAGAGAGGGCCAAAGTACAGTGGAAGG TGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCC AGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAG GACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTG	56

	ACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACA CAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCA GGGCCTGAGTTCGCCCCTCACAAAGAGCTT CAACAGGGGAGAGTGTTGA	
輕鏈恆定域核苷酸序列	CGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATC TTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCT GGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAAT AACTTCTATCCCAGAGAGGGCCAAAGTACAG TGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGT AACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGA CAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCA GCACCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTAC GAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGT CACCCATCAGGGCCTGAGTTCGCCCCTCAC AAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTGA	57
輕鏈可變區核苷酸序列	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCC CTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACC ATCACTTGCCGGGCAAGCCAGAACATAGA CAAGTACTTAAATTGGTATCAGCAGATACC GGGGAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATGC TGCATCGAGTTTGCACAGTGGGGTCCCATC AAGGTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAG ATTTCTCTCTACCATCAGCAGTCTGCAAC CTGAAGATTTTGCAATTTACTACTGTCAAC AGAGTTACAGTTCCTTCCGGACGTTTCGGCC AAGGGACCAAGCTGGAGATCAAA	58

【0169】 本發明亦包括本發明多核苷酸之片段，如別處所述。此外，本發明亦考慮了編碼如本文所述之融合多核苷酸、Fab 片段及其它生物技術衍生物之多核苷酸。

【0170】 在一個實施例中，本發明係關於視情況連接至異源核酸之多核苷酸，其中(i)該多核苷酸編碼具有前述條款[1]至[10]中任一項所定義之 VH-CDR 之免疫球蛋白可變重鏈，且其中免疫球蛋白可變重鏈當與包含 SEQ ID NO:7 或 24 所示胺基酸序列之免疫球蛋白可變輕鏈配對時，顯示如實例中所述及前述條款[1]至[36]中任一項所述之主題抗體之結合特徵，且/或(ii)該多核苷酸編碼具有前述條款[1]至[10]中任一項所定義之 VL-CDR 之免疫球蛋白可變輕鏈，且其中免疫球蛋白可變輕鏈在與包含 SEQ ID NO:2、12、15、18 或 21 中任一項所示胺

基酸序列之免疫球蛋白可變重鏈配對時，顯示如實例中所述及前述條款[1]至[36]中任一項所述之主題抗體之結合特徵。

【0171】 此外，本發明係關於一或多種包含彼等多核苷酸中之一或多者之載體，視情況其中載體為表現載體，且一或多種多核苷酸可操作地連接至表現控制序列。此外，本發明係關於包含一或多種多核苷酸或本發明之一或多種載體之宿主細胞，以及一種產生抗-聚-(GA)-DPR 抗體或其 DPR 結合片段之方法，該方法包含在允許表現抗 DPR 抗體或其 DPR 結合片段之條件下培養本發明之宿主細胞；及自培養物中分離該抗 DPR 抗體或其 DPR 結合片段。

【0172】 可以藉由此項技術中已知之任何方法生產或製造多核苷酸。例如，若抗體之核苷酸序列為已知的，則編碼抗體之多核苷酸可以由化學合成之寡核苷酸組裝，例如，如在 Kutmeier 等人, *BioTechniques* 17 (1994), 242 中所描述，簡言之，該文獻係關於合成含有編碼抗體之部分序列之重疊寡核苷酸、退火及連接彼等寡核苷酸，然後藉由 PCR 擴增經連接之寡核苷酸。

【0173】 或者，可以自合適來源之核酸產生編碼抗體或其 DPR 結合片段、變異體或衍生物之多核苷酸。若含有編碼特定抗體之核酸之純系不可獲得，但抗體分子序列為已知的，則編碼抗體之核酸可經化學合成或藉由使用可雜交至序列之 3' 端及 5' 端之合成引子之 PCR 擴增或藉由使用寡核苷酸探針之選殖由合適之來源(例如，自表現 DPR 特異性抗體之任何組織或細胞，諸如經選擇來表現抗體之 B 細胞中產生之抗體 cDNA 文庫或 cDNA 文庫或由其中分離之核酸，較佳為聚 A⁺ RNA)獲得，該寡核苷酸探針對於特定基因序列具有特異性以便識別例如來自編碼該抗體之 cDNA 文庫之 cDNA 純系。隨後，藉由 PCR 生成之擴增核酸可使用此項技術中熟知之任何方法選殖至可複製選殖載體中。

【0174】 一旦判定了抗體或其 DPR 結合片段、變異體或衍生物之核苷酸序列及對應胺基酸序列，就可以使用此項技術中熟知之用於操縱核苷酸序列之方法操縱其核苷酸序列，例如重組 DNA 技術、定點誘變、PCR 等(參見例如 Sambrook 等人, Molecular Cloning, A Laboratory Manual, 第 2 版, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, N.Y. (1990) 及 Ausubel 等人編, Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, NY (1998)中描述之技術，此等文獻皆以引用之方式整體併入本文)，以產生具有不同胺基酸序列之抗體，例如以產生胺基酸取代、缺失及/或插入。

IV. 本發明之抗體多肽之表現

【0175】 在操縱經分離遺傳物質以提供本發明之抗體或其 DPR 結合片段、變異體或衍生物後，通常將編碼抗體之多核苷酸插入表現載體中以便引入可用以產生所要量之抗體之宿主細胞中。本文描述了結合至靶標分子之抗體或其片段、衍生物或類似物(例如抗體之重鏈或輕鏈)之重組表現。一旦獲得了編碼本發明之抗體分子或抗體之重鏈或輕鏈或其部分(視情況含有重鏈或輕鏈可變域)之多核苷酸，用於產生抗體分子之載體即可以使用此項技術中熟知之技術藉由重組 DNA 技術產生。因此，本文描述了用於藉由表現含有編碼抗體之核苷酸序列之多核苷酸來製備蛋白質之方法。可以使用熟習此項技藝者熟知之方法構建含有抗體編碼序列及適當轉錄及轉譯控制信號之表現載體。此等方法包括例如活體外重組 DNA 技術、合成技術及活體內基因重組。因此，本發明提供了可複製載體，該等載體包含編碼本發明之抗體分子、或其重鏈或輕鏈、或重鏈或輕鏈可變域、可操作地連接至啟動子之核苷酸序列。此類載體可包括編碼抗體分子恆定區之核苷酸序列(參見例如國際申請案 WO 86/05807 及 WO 89/01036；及美

國專利第 5,122,464 號),且可以將抗體之可變域選殖到此載體中用於表現整個重鏈或輕鏈。

【0176】 本文所用之術語「載體」或「表現載體」意指根據本發明用作用於引入細胞中且在該細胞中表現所要基因之媒介物之載體。如熟習此項技藝者已知,此等載體可輕易選自由質體、噬菌體、病毒及反轉錄病毒組成之群。一般而言,與本發明相容之載體將包含選擇標記、適當限制位點,以便有助於對所要基因之選殖及進入真核細胞或原核細胞中及/或在其中進行複製之能力。出於本發明之目的,可採用眾多表現載體系統。舉例而言,一個種類之載體利用源自動物病毒之 DNA 元件,該等動物病毒諸如為牛乳突狀瘤病毒、多瘤病毒、腺病毒、痘瘡病毒、桿狀病毒、反轉錄病毒(RSV、MMTV 或 MOMLV)或 SV40 病毒。其它表現載體涉及使用具有內部核糖體結合位點的多順反子系統。另外,可藉由引入一或多個允許選擇經轉染宿主細胞之標記來選擇已將 DNA 整合於其染色體中之細胞。標記可提供營養缺陷宿主之原養型、殺生物劑抗性(例如抗生素)或抗重金屬(諸如銅)性。可選標記基因可直接連接至待表現 DNA 序列,或藉由共轉型引入相同細胞中。亦可能需要其它元件來最佳合成 mRNA。此等元件可包括信號序列、剪接信號、以及轉錄啟動子、增強子及終止信號。

【0177】 在尤其較佳實施例中,將經選殖之可變區基因連同如以上所討論之重鏈及輕鏈恆定區基因(較佳為人類)插入表現載體中。在一個實施例中,此使用 Biogens, Inc.之專有表現載體(稱為 NEOSPLA 且在美國專利第 6,159,730 號中揭示)實現。該載體含有細胞巨大病毒啟動子/增強子、小鼠 β 球蛋白主要啟動子、SV40 複製起點、牛生長激素聚腺苷酸化序列、新黴素磷酸轉移酶外顯子 1 及外顯子 2、二氫葉酸還原酶基因及前導序列。已發現,該載體在併入可變區及恆定區基因、在 CHO 細胞中轉染隨後在含 G418 之培養基中選擇並進行甲胺喋呤擴

增後以極高水準表現抗體。當然，任何能夠在真核細胞中引發表現之表現載體皆可以用於本發明。合適載體之實例包括但不限於質體 pcDNA3、pHCMV/Zeo、pCR3.1、pEF1/His、pIND/GS、pRc/HCMV2、pSV40/Zeo2、pTRACER-HCMV、pUB6/V5-His、pVAX1 及 pZeoSV2 (可自 Invitrogen, San Diego, CA 獲得)、及質體 pCI (可自 Promega, Madison, WI 獲得)。通常，針對表現適當高水準之免疫球蛋白重鏈及輕鏈之細胞篩選大量轉型細胞為習用實驗，該等實驗例如可以藉由機器人系統進行。載體系統亦在美國專利第 5,736,137 號及第 5,658,570 號中教示，該等專利各自均以引用之方式整體併入本文。此系統提供高表現水準，例如 > 30 pg/細胞/日。其它示範性載體系統揭示於例如美國專利第 6,413,777 號中。

【0178】 在其它較佳實施例中，本發明之抗體或其 DPR 結合片段、變異體或衍生物可以使用多順反子構築體表現，例如美國專利申請公佈第 2003-0157641 A1 號中揭示之彼等構築體且該專利之全部內容併入本文。在此等表現系統中，諸如抗體之重鏈及輕鏈之相關多基因產物可自單一多順反子構築體製得。此等系統有利地使用內部核糖體入口位點(IRES)以提供相對較高水準之抗體。相容性 IRES 序列揭示於美國專利第 6,193,980 號，該專利亦併入本文中。熟習此項技藝者應瞭解，此等表現系統可用以有效製得本申請案中揭示之整套抗體。因此，在一個實施例中，本發明提供了載體，其包含編碼至少抗體之免疫球蛋白鏈之結合域或可變區之多核苷酸，該多核苷酸視情況與編碼該結合分子之另一免疫球蛋白鏈之可變區之多核苷酸組合。

【0179】 更一般而言，一旦製備出編碼抗體之單體亞基之載體或 DNA 序列，即可將該表現載體引入適當宿主細胞中。可以藉由熟習此項技藝者熟知之各種技術將質體導入宿主細胞。此等技術包括但不限於轉染，包括使用例如 Fugene® 或 lipofectamine 之脂質轉染、原生質體融合、磷酸鈣沉澱、與包膜 DNA 之細胞

融合、顯微注射及完整病毒感染之注射。通常，質體藉由標準磷酸鈣共沉澱方法引入宿主中。使具有表現構築體之宿主細胞在適於產生輕鏈及重鏈之條件下生長，且檢定重鏈及/或輕鏈蛋白質合成。示範性檢定技術包括酶聯結免疫吸附劑檢定(ELISA)、放射免疫檢定(RIA)或螢光活化細胞分選器分析(FACS)、免疫組織化學及其類似技術。

【0180】 藉由習用技術將表現載體轉移至宿主細胞，然後藉由習用技術培養經轉染之細胞以產生用於本文所述方法之抗體。因此，本發明包括宿主細胞，其包含編碼本發明之抗體、或其重鏈或輕鏈、或至少其免疫球蛋白之結合域或可變區之多核苷酸，其視情況可操作地連接至異源啟動子。另外或另選地，本發明亦包括宿主細胞，其包含如上文所定義之載體，該載體包含編碼至少抗體之免疫球蛋白鏈之結合域或可變區之多核苷酸，該多核苷酸視情況與編碼該結合分子之另一個免疫球蛋白鏈之可變區之多核苷酸組合。在較佳實施例中，為了表現雙鏈抗體，編碼重鏈及輕鏈兩者之單一載體或多個載體可在宿主細胞中共表現以便表現整個免疫球蛋白分子，如下詳述。

【0181】 宿主細胞可用兩種本發明之表現載體共轉染，第一載體編碼重鏈源性多肽且第二載體編碼輕鏈源性多肽。該兩種載體可含有相同可選標記，該等標記使得能夠相等表現重鏈及輕鏈多肽。或者，可使用編碼重鏈及輕鏈多肽之單一載體。在此等情況下，輕鏈有利地放置在重鏈之前，以避免過量無毒重鏈；參見 Proudfoot, Nature 322 (1986), 52；Kohler, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77 (1980), 2197。用於該等重鏈及輕鏈之編碼序列可包含 cDNA 或基因組 DNA。

【0182】 如本文所用，「宿主細胞」係指包含使用重組 DNA 技術構建且編碼至少一種異源基因之載體之細胞。在自重組宿主分離抗體之方法之描述中，除非另外明確規定，否則術語「細胞」與「細胞培養物」可互換使用以表示抗體

來源。換言之，自「細胞」回收多肽可意指自短暫離心之全細胞或自含有培養基與懸浮細胞之細胞培養物回收。

【0183】 多種宿主表現載體系統可用於表現用於本文所述方法之抗體分子。該等宿主-表現系統表示可用於產生相關編碼序列且隨後進行純化之媒介物，而且表示當用適當核苷酸編碼序列轉型或轉染時可原位表現本發明抗體分子之細胞。此等宿主表現系統包括但不限於微生物，諸如經含有抗體編碼序列之重組噬菌體 DNA、質體 DNA 或黏接質體 DNA 表現載體轉型之細菌(例如大腸桿菌、枯草芽孢桿菌)；經含有抗體編碼序列之重組酵母表現載體轉型之酵母(例如酵母菌、畢赤酵母)；經含有抗體編碼序列之重組病毒表現載體(例如桿狀病毒)感染之昆蟲細胞系統；經重組病毒表現載體(例如花椰菜嵌紋病毒 CaMV；菸草嵌紋病毒 TMV)感染或經含有抗體編碼序列之重組質體表現載體(例如 Ti 質體)轉型之植物細胞系統；或具有重組表現構築體之哺乳動物細胞系統(例如 COS、CHO、NSO、BLK、293、3T3 細胞)，該等構築體含有源於哺乳動物細胞之基因組之啟動子(例如金屬硫蛋白啟動子)或源於哺乳動物病毒之啟動子(例如腺病毒晚期啟動子；牛痘病毒 7.5K 啟動子)。視情況，尤其用於表現完整重組抗體分子之細菌細胞諸如大腸桿菌或視情況真核細胞用於表現重組抗體分子。例如，哺乳動物細胞諸如中國倉鼠卵巢(CHO)細胞，連同載體諸如來自人類細胞巨大病毒之主要中間早期基因啟動子元件為抗體之有效表現系統；參見，例如 Foecking 等人, Gene 45 (1986), 101；Cockett 等人, Bio/Technology 8 (1990), 2。

【0184】 用於蛋白質表現之宿主細胞株通常為哺乳動物起源；咸信熟習此項技藝者有能力優先判定最適於在其中表現所要基因產物之特定宿主細胞株。示範性宿主細胞株包括但不限於 CHO(中國倉鼠卵巢)、DG44 及 DUXB11(中國倉鼠卵巢株，DHFR-)、HELA(人宮頸癌)、CVI(猴腎株)、COS(CVI 與 SV40 T 抗原

之衍生物)、VERY、BHK(幼倉鼠腎)、MDCK、WI38、R1610(中國倉鼠纖維母細胞)BALBC/3T3(小鼠纖維母細胞)、HAK(倉鼠腎臟株)、SP2/O(小鼠骨髓瘤)、P3x63-Ag3.653(小鼠骨髓瘤)、BFA-1c1BPT(牛內皮細胞)、RAJI(人淋巴細胞)及293(人腎)。CHO及293細胞為特別較佳的。宿主細胞株通常可自商業服務、美國組織培養收藏中心(American Tissue Culture Collection)或自公開文獻得到。

【0185】 此外，可選擇宿主細胞株，其調節經插入序列之表現或以所要之特定方式修飾及加工基因產物。蛋白產物之該等修飾(例如糖基化)及加工(例如裂解)對於蛋白之功能可至關重要。不同宿主細胞具有關於蛋白及基因產物之轉譯後加工及修飾之特有且特定機制。可選擇適當細胞株或宿主系統以確保所表現之外來蛋白的正確修飾及加工。為此，可使用具有用於原始轉錄物之適當加工、基因產物之糖基化及磷酸化之細胞機構的真核宿主細胞。

【0186】 關於重組蛋白之長期、高產率產生，穩定表現為較佳的。例如，穩定地表現抗體分子之細胞株可經工程改造。與其使用含有病毒複製起點之表現載體，宿主細胞可經藉由適當表現控制元件(例如啟動子、增強子、序列、轉錄終止子、聚腺苷酸化位點等)控制之DNA及可選標記轉型。在引入外來DNA後，可使經工程改造之細胞在富集培養基中生長持續1-2天，且接著轉換至選擇培養基。重組質體中之可選標記賦予選擇抗性且允許細胞將該質體穩定整合至其染色體中且生長以形成焦點，該等焦點又可經選殖且擴增至細胞株中。此方法可有利地用於工程改造穩定表現抗體分子之細胞株。

【0187】 可以使用許多選擇系統，包括但不限於單純疱疹病毒胸苷激酶(Wigler等人, Cell 11 (1977), 223)、次黃嘌呤-鳥嘌呤磷酸核糖轉移酶(Szybalska及Szybalski, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 48 (1992), 202)，且腺嘌呤磷酸核糖轉移酶(Lowy等人, Cell 22 (1980), 817)基因可分別用於tk-、hgprt-或aprt-細胞中。

此外，抗代謝物性可用作以下基因之選擇基礎：dhfr，其賦予對甲胺蝶呤之抗性 (Wigler 等人, Natl. Acad. Sci. USA 77 (1980), 357；O'Hare 等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 78 (1981), 1527)；gpt，其賦予對黴酚酸之抗性 (Mulligan 及 Berg, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 78 (1981), 2072)；neo，其賦予對胺基糖苷類 G-418 之抗性 Goldspiel 等人, Clinical Pharmacy 12 (1993), 488-505；Wu 及 Wu, Biotherapy 3 (1991), 87-95；Tolstoshev, Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol. 32 (1993), 573-596；Mulligan, Science 260 (1993), 926-932；及 Morgan 及 Anderson, Ann. Rev. Biochem. 62 (1993), 191-217；TIB TECH 11 (1993), 155-215；及 hygro，其賦予對潮黴素之抗性 (Santerre 等人, Gene 30 (1984), 147。可以使用之重組 DNA 技術領域中公知之方法描述於 Ausubel 等人(編), Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, NY (1993)；Kriegler, Gene Transfer and Expression, A Laboratory Manual, Stockton Press, NY (1990)；及第 12 章及第 13 章，Dracopoli 等人(編), Current Protocols in Human Genetics, John Wiley & Sons, NY (1994)；Colberre-Garapin 等人, J. Mol. Biol. 150:1 (1981)，該等文獻之全部內容以引用之方式併入本文。

【0188】 抗體分子之表現水準可藉由載體擴增來增加，關於回顧；參見 Bebbington 及 Hentschel，The use of vectors based on gene amplification for the expression of cloned genes in mammalian cells in DNA cloning, Academic Press, New York, 第 3 卷(1987)。當表現抗體之載體系統中之標記可擴增時，存在於宿主細胞培養物中之抑制劑的水準之增加將增加標記基因之複本的數目。由於經擴增之區域與抗體基因相關，抗體之產生亦將增加；參見 Crouse 等人, Mol. Cell. Biol. 3 (1983), 257。

【0189】 活體外產生允許按比例擴大以得到大量所要多肽。用於在組織培養條件下培養哺乳動物細胞之技術在此項技術中為已知的，且包括均勻懸浮培

養，例如在氣升式反應器中或在連續攪拌反應器中的均勻懸浮培養；或固定或截留細胞培養，例如在中空纖維、微囊中、在瓊脂糖微珠或陶瓷匣筒上之培養。若必要及/或需要，可以藉由習用層析方法純化多肽溶液，該等方法例如凝膠過濾、離子交換層析、經 DEAE-纖維素之層析或(免疫)親和層析，例如，在合成鉸鏈區多肽之優先生物合成後或在本文所述之 HIC 層析步驟之前或之後。

【0190】 編碼本發明之抗體或其 DPR 結合片段、變異體或衍生物之基因亦可以在非哺乳動物細胞，例如細菌或昆蟲或酵母或植物細胞中表現。容易吸收核酸之細菌包括以下項之成員：腸桿菌科，例如大腸桿菌或沙門氏菌之菌株；芽孢桿菌科，諸如枯草芽孢桿菌；肺炎球菌；鏈球菌及流感嗜血桿菌。另外，應理解，當在細菌中表現時，異源多肽通常變為包涵體之一部分。異源多肽必須經分離、純化且接著組裝入功能分子中。當需要四價形式之抗體時，亞基將接著自組裝成四價抗體；參見例如國際申請案 WO 02/096948。

【0191】 在細菌系統中，表現載體之數目可取決於所表現抗體分子之預定用途來有利地選擇。例如，當欲產生大量該蛋白時，關於抗體分子之醫藥組成物的產生，可需要指導高水準的容易經純化之融合蛋白產物之表現的載體。此類載體包括但不限於大腸桿菌表現載體 pUR278 (Ruther 等人, EMBO J. 2 (1983), 1791)，其中抗體編碼序列可以與 lacZ 編碼區一起單獨連接到載體中，從而產生融合蛋白；pIN 載體 (Inouye 及 Inouye, Nucleic Acids Res. 13 (1985), 3101-3109；Van Heeke 及 Schuster, J. Biol. Chem. 24 (1989), 5503-5509)；及其類似載體。pGEX 載體亦可用於將外來多肽表現為與麩胱甘肽 S-轉移酶(GST)之融合蛋白。通常，此等融合蛋白為可溶的且可藉由吸附並結合至基質麩胱甘肽瓊脂糖珠粒，隨後在自由麩胱甘肽存在下溶離來由裂解細胞中容易地純化。該等 pGEX 載體經設

計以包括凝血酶或因子 Xa 蛋白酶裂解位點，使得經選殖之靶標基因產物可自 GST 部分釋放。

【0192】 除原核生物外，亦可使用真核微生物。啤酒酵母菌(*Saccharomyces cerevisiae*)或常見焙用酵母(baker's yeast)在真核微生物中為最常用的，但通常可用許多其它菌株，例如畢赤酵母(*Pichia pastoris*)。為在酵母菌中表現，常用例如質體 YRp7 (Stinchcomb 等人, Nature, 282 (1979), 39；Kingsman 等人, Gene 7 (1979), 141；Tschemper 等人, Gene 10 (1980), 157)。此質體已含有 TRP1 基因，該基因為缺乏在色胺酸中生長之能力之酵母突變株(例如 ATCC 編號 44076 或 PEP4-1)提供選擇標記(Jones, Genetics 85 (1977), 12)。作為酵母宿主細胞基因組之一特徵的 *trp1* 損傷之存在則提供用於偵測藉由在色胺酸不存在下之生長所進行之轉型的有效環境。

【0193】 在昆蟲系統中，苜蓿銀紋夜蛾核多角體病毒(AcNPV)通常用作載體以表現外來基因。該病毒在草地貪夜蛾細胞中生長。抗體編碼序列可個別地選殖入病毒之非必要區域(例如多角體基因)中且置於 AcNPV 啟動子(例如多角體啟動子)之控制下。

【0194】 一旦重組表現本發明之抗體分子，即可以根據此項技術之標準程序純化本發明之完整抗體、其二聚體、個別輕鏈及重鏈或其它免疫球蛋白形式，包括例如藉由層析法(例如，離子交換、親和力(特別是藉由蛋白 A 後特異性抗原之親和力)、及篩分柱層析)、離心、差異溶解度(例如硫酸銨沉澱)、或藉由用於純化蛋白質之任何其它標準技術；參見，例如 Scopes, 「Protein Purification」, Springer Verlag, N.Y. (1982)。或者，在美國專利公佈 2002-0123057 A1 中揭示了用於增加本發明抗體之親和力之較佳方法。因此，在一個實施例中，本發明亦

提供了用於製備抗 DPR 抗體或識別經突變及/或經聚集 C9orf72-DPR 物質之抗體及/或其片段或其免疫球蛋白鏈之方法，該方法包含：

- (a) 培養如上文所定義之宿主細胞，該細胞包含如上文所定義之多核苷酸或載體；及
- (b) 自培養物中分離該抗體或其免疫球蛋白鏈。

【0195】 此外，本發明亦係關於抗體或其免疫球蛋白鏈，其由上文定義之多核苷酸編碼，或者可藉由用於製備抗 DPR 抗體或識別突變及/或經聚集 C9orf72-DPR 物質之抗體及/或其片段或其免疫球蛋白鏈之方法獲得。

V. 本發明之融合蛋白及偶聯物

【0196】 在某些實施例中，抗體多肽包含通常不與抗體締合之胺基酸序列或一或多個部分。以下更詳細地描述示範性修飾。例如，本發明之單鏈 Fv 抗體片段可以包含可撓性接頭序列，或者可以經修飾以添加功能部分(例如，PEG、藥物、毒素或標記，例如螢光、放射性、酶、核磁、重金屬及其類似標記)。

【0197】 本發明之抗體多肽可包含融合蛋白、基本上由其組成或由其組成。融合蛋白為嵌合分子，其包含例如具有至少一個靶標結合位點之免疫球蛋白 DPR 結合域、及至少一個異源部分，亦即其本質上在天然情況下不連接之部分。胺基酸序列通常可以存在於單獨蛋白質中，該等單獨蛋白質一起聚集在融合多肽中，或者它們通常可以存在於同一蛋白質中，但是在融合多肽中以新的排列方式存在。融合蛋白可例如藉由化學合成或藉由產生並轉譯肽區以所要關係編碼之多核苷酸來產生。

【0198】 如應用於多核苷酸或多肽之術語「異源」意指該多核苷酸或多肽源於與其所比較之其餘實體不同之實體。例如，如本文所用，欲與抗體或其抗原

結合片段、變異體或類似物融合之「異源多肽」衍生自相同物質之非免疫球蛋白多肽或不同物質之免疫球蛋白或非免疫球蛋白多肽。

【0199】 如本文別處更詳細論述，本發明之抗體或其 DPR 結合片段、變異體或衍生物可進一步與異源多肽在 N 端或 C 端重組融合或與多肽或其它組成化學偶聯(包括共價及非共價偶聯)。例如，抗體可以重組融合或偶聯至可用作偵測檢定中之標記之分子及效應分子，例如異源多肽、藥物、放射性核素或毒素；參見例如國際申請案 WO 92/08495；WO 91/14438；WO 89/12624；美國專利第 5,314,995 號；及歐洲專利申請案 EP 0 396 387。

【0200】 本發明之抗體或其 DPR 結合片段、變異體或衍生物可以由藉由肽鍵或經修飾肽鍵彼此連接之胺基酸組成，亦即肽等排物，且可以含有除 20 種經基因編碼胺基酸之外之胺基酸。抗體可以藉由天然過程(例如轉譯後加工)修飾或藉由此項技術中熟知之化學修飾技術修飾。此等修飾在基礎教科書及更詳細之專著以及大量研究文獻中得到充分描述。修飾可以發生在抗體中之任何位置，包括肽骨架、胺基酸側鏈及胺基端或羧基端、或在諸如碳水化合物之部分上。應當理解，相同類型之修飾可以在給定抗體之若干位點處以相同或不同程度存在。而且，給定抗體可包含許多類型之修飾。抗體可以為分支的，例如，由於泛素化之結果，且它們可以為環狀的，有或無支化。環狀、分支及分支環狀抗體可以由轉譯後天然過程產生，或者可以藉由合成方法產生。修飾包括乙醯化、醯化、ADP-核糖基化、醯胺化、黃素之共價連接、血基質部分之共價連接、核苷酸或核苷酸衍生物之共價連接、脂質或脂質衍生物之共價連接、磷脂醯肌醇之共價連接、交聯、環化、二硫鍵形成、去甲基化、共價交聯之形成、半胱胺酸之形成、焦麩胺酸之形成、甲醯化、 γ -羧化、糖基化、GPI 錨形成、羥基化、碘化、甲基化、豆蔻醯化、氧化、聚乙二醇化、蛋白水解加工、磷酸化、異戊

烯化、外消旋化、硒醯化、硫酸化、轉移-RNA 介導之胺基酸添加到蛋白質(諸如精胺酸化)、及泛素化；參見例如, *Proteins-Structure And Molecular Properties*, T. E. Creighton, W. H. Freeman and Company, New York 第 2 版, (1993) ; *Posttranslational Covalent Modification Of Proteins*, B. C. Johnson 編, Academic Press, New York, (1983) 1-12 ; Seifter 等人, *Meth. Enzymol.* 182 (1990), 626-646 ; Rattan 等人, *Ann. NY Acad. Sci.* 663 (1992), 48-62)。

【0201】 如本文其它地方所論述的，本發明之抗體或其 DPR 結合片段、變異體或衍生物可以與異源多肽融合以增加多肽之活體內半衰期或用於使用此項技術中已知之方法之免疫檢定。例如，在一個實施例中，PEG 可以與本發明之抗體偶聯以增加其活體內半衰期；參見例如 Leong 等人, *Cytokine* 16 (2001), 106-119 ; *Adv. in Drug Deliv. Rev.* 54 (2002), 531 ; 或 Weir 等人, *Biochem. Soc. Transactions* 30 (2002), 512。

【0202】 此外，本發明之抗體或其 DPR 結合片段、合成變異體或生物技術衍生物可以與標記序列(例如肽)融合以促進其純化或偵測。在較佳實施例中，標記胺基酸序列為六組胺酸肽(HIS) (SEQ ID NO: 84)，諸如為在 pQE 載體中提供之標籤(QIAGEN 公司, 9259 Eton Avenue, Chatsworth, Calif., 91311)及其它標籤，其中許多為市售的。如 Gentz 等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86 (1989), 821-824 中所述，舉例而言，六組胺酸為融合蛋白提供便利純化。可用於純化之其它肽標籤包括但不限於「HA」標籤，其對應於源自流感血凝素蛋白之抗原決定基(Wilson 等人, *Cell* 37 (1984), 767)、GST、c-myc 及「旗標」標籤；參見例如 Bill Brizzard, *BioTechniques* 44 (2008) 693-695 以獲得抗原決定基標記技術之回顧，且其中第 694 頁上之表 1 列出了本發明中可用之最常見抗原決定基標籤，該等文獻之主題以引用之方式明確地併入本文。

【0203】 可以使用此項技術中熟知之方法製備融合蛋白；例如，參見美國專利第 5,116,964 號及第 5,225,538 號。可以憑經驗選擇進行融合之精確位點以優化融合蛋白之分泌或結合特徵。然後將編碼融合蛋白之 DNA 轉染到宿主細胞中以便進行表現，其如上文所述進行。

【0204】 本發明之抗體可以非偶聯形式使用或可與多種分子中至少一者偶聯，例如以改良分子之治療性質、以有助於目標偵測、或用於患者之造影或療法。當進行純化時，可以在純化之前或之後標記或偶聯本發明之抗體或其 DPR 結合片段、變異體或衍生物。特定言之，本發明之抗體或其 DPR 結合片段、變異體或衍生物可與治療劑、前藥、肽、蛋白質、酶、病毒、脂質、生物反應修飾藥、醫藥劑或 PEG 偶聯。

【0205】 熟習此項技藝者將理解，取決於待偶聯之所選試劑，亦可使用多種技術組裝偶聯物。例如，具有生物素之偶聯物例如藉由使 DPR 結合多肽與生物素之活化酯諸如生物素 N-羥基琥珀醯亞胺酯反應來製備。類似地，具有螢光標記之偶聯物可以在偶合劑(例如本文列出之彼等偶合劑)存在下製備，或藉由與異硫氰酸酯(視情況為異硫氰酸螢光素)反應來製備。以類似方式製備本發明之抗體或其 DPR 結合片段、變異體或衍生物之偶聯物。

【0206】 本發明進一步包括與診斷劑或治療劑偶聯之本發明之抗體或其 DPR 結合片段、變異體或衍生物。抗體可以在診斷上用於例如證明存在 DPR 以指示患上與 DPR 相關，視情況地與形成 DPR 之突變 C9orf72，亦即 C9orf72-DPR 相關之疾病或病症之風險，以監測此疾病之發展或進展，亦即顯示 DPR 或其聚集形式之出現或與其相關之疾病，或作為臨床測試程序之一部分，例如判定給定治療及/或預防方案之功效。因此，在一個實施例中，本發明係關於可偵測地經標記之抗體。此外，在一個實施例中，本發明係關於連接至藥物之抗體。可以

藉由將抗體或其 DPR 結合片段、變異體或衍生物偶聯至可偵測物質來促進偵測。可偵測物質或標籤通常可以是酶；重金屬，視情況為金；染料，視情況為螢光或發光染料；或放射性標籤。可偵測物質之實例包括各種酶、輔成基、螢光材料、發光材料、生物發光材料、放射性材料、使用各種正電子發射斷層攝影術之正電子發射金屬、及非放射性順磁金屬離子；關於可與抗體偶聯以用作根據本發明之診斷劑之金屬離子，參見例如美國專利第 4,741,900 號。適合酶之實例包括辣根過氧化酶、鹼性磷酸酶、 β -半乳糖苷酶或乙醯膽鹼酯酶；適合輔成基複合物之實例包括抗生蛋白鏈菌素/生物素及抗生物素蛋白/生物素；適合螢光物質之實例包括繖酮、螢光素、異硫氰酸螢光素、玫瑰紅 (rhodamine)、二氯三嗪基胺螢光素、丹磺醯氯或藻紅素；發光物質之實例包括流明諾(luminol)；生物發光物質之實例包括螢光素酶、螢光素及水母發光蛋白(aequorin)；且適合放射性物質之實例包括 ^{125}I 、 ^{131}I 、 ^{111}In 或 ^{99}Tc 。因此，在一個實施例中，本發明提供經可偵測標記之抗體，其中可偵測標籤係選自由酶、放射性同位素、螢光團及重金屬組成之群。

【0207】 抗體或其 DPR 結合片段、變異體或衍生物亦可藉由將其偶聯至化學發光化合物而經可偵測地標記。然後藉由偵測化學反應過程中產生之發光之存在來判定經化學發光標記之抗體之存在。特別有用之化學發光標記化合物之實例為流明諾、異流明諾、芳族吡啶酯、咪唑、吡啶鹽及草酸酯。

【0208】 可以可偵測地標記抗體或其 DPR 結合片段、變異體或衍生物之方式之一為藉由將其連接至酶且在酶免疫檢定(EIA)中使用經連接產物 (Voller, A., 「The Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA)」 Microbiological Associates Quarterly Publication, Walkersville, Md., Diagnostic Horizons 2 (1978), 1-7)；Voller 等人, J. Clin. Pathol. 31 (1978), 507-520；Butler, Meth. Enzymol. 73 (1981),

482-523 ; Maggio, (編), Enzyme Immunoassay, CRC Press, Boca Raton, Fla., (1980) ; Ishikawa,等人, (編), Enzyme Immunoassay, Kaku Shoin, Tokyo (1981) 。結合至抗體之酶將以一種方式與合適受質(視情況為生色受質)反應，以產生可以例如藉由分光光度法、螢光測定法或藉由視覺手段偵測之化學部分。可用於可偵測地標記抗體之酶包括但不限於蘋果酸脫氫酶、葡萄球菌核酸酶、 δ -5-甾體異構酶、酵母醇脫氫酶、 α -甘油磷酸酯、脫氫酶、磷酸丙糖異構酶、辣根過氧化物酶、鹼性磷酸酶、天冬醯胺酶、葡萄糖氧化酶、 β -半乳糖苷酶、核糖核酸酶、脲酶、過氧化氫酶、葡萄糖-6-磷酸脫氫酶、葡糖澱粉酶及乙醯膽鹼酯酶。另外，可以藉由比色方法完成偵測，該方法使用酶之生色受質。亦可以藉由與類似製備之標準品相比，目測比較受質之酶促反應程度來完成偵測。

【0209】 亦可以使用多種其它免疫檢定中之任一種免疫檢定來完成偵測。例如，藉由放射性標記抗體或其 DPR 結合片段、變異體或衍生物，可以通過使用放射免疫檢定法(RIA)偵測抗體(參見例如 Weintraub, B., Principles of Radioimmunoassays, Seventh Training Course on Radioligand Assay Techniques, The Endocrine Society, (March, 1986))，該文獻以引用之方式併入本文)。放射性同位素可以藉由包括但不限於 γ 計數器、閃爍計數器或自動放射攝影術之手段來偵測。

【0210】 亦可以使用螢光發射金屬如 ^{152}Eu 或其它鐳系元素可偵測地標記抗體或其 DPR 結合片段、變異體或衍生物。可以使用諸如二亞乙基三胺五乙酸(DTPA)或乙二胺四乙酸(EDTA)之金屬螯合基團將此等金屬連接到抗體上。

【0211】 用於將各種部分與抗體或其 DPR 結合片段、變異體或衍生物偶聯之技術為熟知的，參見例如 Arnon 等人,「Monoclonal Antibodies For Immunotargeting Of Drugs In Cancer Therapy」, Monoclonal Antibodies And Cancer Therapy, Reisfeld

等人 (編), 第 243-56 頁 (Alan R. Liss, Inc. (1985) ; Hellstrom 等人, 「Antibodies For Drug Delivery」, Controlled Drug Delivery (第 2 版), Robinson 等人 (編), Marcel Dekker, Inc., (1987) 623-53 ; Thorpe, 「Antibody Carriers Of Cytotoxic Agents In Cancer Therapy: A Review」, Monoclonal Antibodies '84: Biological And Clinical Applications, Pinchera 等人 (編), (1985) 475-506 ; 「Analysis, Results, And Future Prospective Of The Therapeutic Use Of Radiolabeled Antibody In Cancer Therapy」, Monoclonal Antibodies For Cancer Detection And Therapy, Baldwin 等人 (編), Academic Press (1985) 303-16 , 及 Thorpe 等人, 「The Preparation And Cytotoxic Properties Of Antibody-Toxin Conjugates」, Immunol. Rev. 62 (1982), 119-158 。

【0212】 如上所述，在某些實施例中，可以將增強結合分子(例如結合多肽，例如抗體或其免疫特異性片段)之穩定性或功效之部分加以偶聯。舉例而言，在一實施例中，PEG 可與本發明之結合分子偶聯以增加其活體內半衰期。Leong 等人, Cytokine 16 (2001), 106 ; Adv. in Drug Deliv. Rev. 54 (2002), 531 ; 或 Weir 等人, Biochem. Soc. Transactions 30 (2002), 512 。

VI. 本發明之組成物及使用方法

【0213】 本發明係關於組成物，其包含本發明之上述 DPR 結合分子，例如抗體或其 DPR 結合片段、變異體或生物技術衍生物，或如上文中定義之本發明之多核苷酸、載體或細胞。在一個實施例中，本發明之組成物為醫藥組成物，且進一步包含醫藥學上可接受之載劑。此外，取決於醫藥組成物之預期用途，本發明之醫藥組成物可包含其它藥劑，例如白介素或干擾素。為了用於治療顯示 DPR 或其聚集形式(尤其 C9orf72-DPR)之出現或與其相關之疾病或病症，例如 FTL D，其它藥劑可係選自由小有機分子、抗-DPR 抗體及其組合組成之群。因此，在一特別較佳實施例中，本發明係關於本發明之 DPR 結合分子(例如本發明

之抗體或其 DPR 結合片段或具有與其任一者基本相同之結合特異性之結合分子)、多核苷酸、載體或細胞，用於製備用以預防性及治療性治療與 DPR 蛋白相關之疾病或病症、監測與 DPR 蛋白及/或經聚集 C9orf72 相關之疾病或病症之進展或受試者中之對 DPR 治療之反應或用以判定受試者患上與 DPR 蛋白及/或經聚集 C9orf72-DPR 相關之疾病或病症之風險之醫藥或診斷組成物之用途。

【0214】 因此，在一個實施例中，本發明係關於治療特徵在於 DPR 及 DPR 蛋白(例如由於 C9orf72-DPR 而導致的經聚集 C9orf72)之異常積聚及/或沉積之疾病或病症之方法，該方法包含向有需要之受試者投與治療有效量之本發明之前述 DPR 結合分子、抗體、多核苷酸、載體或細胞中之任一者。

【0215】 本發明治療方法之一特定優點在於如下事實，本發明之重組抗體源自無疾病跡象或症狀(例如攜帶一或多個無症狀突變、顯示 DPR 或其聚集形式之出現或與其相關)之健康人受試者之 B 細胞或記憶 B 細胞，且因此在某種可能性下能夠預防與 DPR(例如具有經擴增六核苷酸重複之突變 C9orf72，其導致在 C9orf72 蛋白中形成二肽重複(DPR)之且由於 C9orf72-DPR 而形成聚集 C9orf72)相關之臨床表現疾病，或者能夠降低臨床表現疾病或病症之發生風險，或者能夠延遲臨床表現疾病或病症之發作或進展。通常，本發明之抗體亦已經成功經歷體細胞成熟，亦即藉由抗體可變區之體細胞變異優化了在與靶 DPR 分子之高親和力結合中之選擇性及有效性。

【0216】 此類細胞在活體內(例如在人體中)未藉由相關或其它生理學蛋白質或細胞結構在自身免疫或過敏反應意義上來活化之知識亦具有重要醫學意義，因為此意味著成功經受臨床測試階段之機會顯著增加。簡言之，在至少一位人受試者中預防性或治療性抗體之臨床前及臨床開發之前已經證明了效率、可接

受性及耐受性。因此可以預期本發明之人源抗 DPR 抗體，其作為治療劑之高靶結構特異性親和力及其副作用概率減小顯著增加其臨床成功概率。

【0217】 本發明亦提供了醫藥及診斷包裝或套組，其包含一或多個裝有一或多種上述成分之容器，該等成分例如本發明之抗 DPR 抗體、結合片段、生物技術衍生物或其變異體、多核苷酸、載體或細胞。此類容器可附有管理藥物或生物製品之製造、使用或銷售之政府機構所規定形式之須知，該須知反映了該機構對製造、使用或銷售以供人類投藥之批准。另外或另選地，套組包含用於適當診斷檢定之試劑及/或說明書。本發明之組成物(例如，套組)當然特別適用於伴有 DPR 之存在之疾病或病症之風險評估、診斷、預防及治療，且特別適用於治療通常以存在 DPR 為特徵之病症。特別地，該組成物可用於治療與 DPR 聚集有關之病症，例如具有經擴增六核苷酸重複之突變 C9orf72，導致由於 C9orf72-DPR 而形成經聚集 C9orf72。與 DPR 相關之疾病及/或病症包括但不限於額顳葉變性(FTLD)、肌肉萎縮性脊髓側索硬化症(ALS)、FTLD-ALS 及/或脊髓小腦性失調症 36 型。

【0218】 可以根據此項技術中熟知之方法調配本發明之醫藥組成物；參見例如 Remington: The Science and Practice of Pharmacy (2000)，the University of Sciences in Philadelphia, ISBN 0-683-306472。合適醫藥載劑之實例為此項技術中熟知的，且包括磷酸鹽緩衝鹽水溶液、水、乳液(例如油/水乳液)、各種類型之潤濕劑、無菌溶液等。包含此類載體之組成物可藉由熟知之習用方法調配。此等醫藥組成物可以合適劑量向受試者投與。合適組成物之投藥可以藉由不同方式進行，例如藉由靜脈內、腹膜內、皮下、肌肉內、鼻內、局部或皮內投藥或脊髓或腦遞送。氣溶膠調配物諸如鼻噴霧調配物包括活性劑與防腐劑及等滲劑

之純化水溶液或其它溶液。視情況將此等調配物調節至與鼻黏膜相容之 pH 及等滲狀態。用於直腸或陰道投藥之調配物可以作為具有合適載體之栓劑存在。

【0219】 劑量方案將由主治醫師及臨床因素判定。如醫學技術中所熟知，用於任一患者之劑量取決於許多因素，包括患者之體型、身體表面積、年齡、所投與之特定化合物、性別、投與時間及途徑、一般健康狀況及同時投與之其它藥物。典型劑量可以為例如 0.001 至 1000 μg (或在該範圍內用於表現或抑制表現之核酸)；然而，設想低於或高於該示範性範圍之劑量，特別是考慮到上述因素。通常，劑量可以為例如約 0.0001 至 100 mg/kg，且更通常為 0.01 至 5 mg/kg(例如，0.02 mg/kg、0.25 mg/kg、0.5 mg/kg、0.75 mg/kg、1 mg/kg、2 mg/kg 等)之宿主體重。例如，劑量可以為 1 mg/kg 體重或 10 mg/kg 體重或在 1-10 mg/kg 範圍內，視情況為至少 3、10 或 30 mg/kg。在上述範圍內之中間劑量亦旨在處於本發明之範圍內。受試者可每天、按天交替地、每週或根據由經驗分析判定之其它時程來投與該等劑量。示範性治療需要以多劑量形式經延長的時間(例如至少六個月)進行投與。其它示範性治療方案需要每兩週投與一次或一月投與一次或每 3 至 6 個月投與一次。示範性劑量時程包括連續或隔天 1-10 mg/kg 或 15 mg/kg 或每週 30 mg/kg；亦參見實例 18。在一些方法中，同時投與兩種或兩種以上具有不同結合特異性之單株抗體，在該情況下，各抗體之投與劑量可屬於指定範圍內。可以藉由定期評估來監測進展情況。用於非經腸投與之製劑包括無菌水溶液或非水溶液、懸浮液、及乳液。非水溶劑之實例為丙二醇、聚乙二醇、植物油(諸如橄欖油)及可注射有機酯(諸如油酸乙酯)。水性載劑包括水、醇/水溶液、乳液或懸浮液，包括鹽水及緩衝介質。非經腸媒介物包括磷酸鈉溶液、林格氏右旋糖、右旋糖及氯化鈉、乳酸化林格氏液或不揮發油。靜脈內媒介物包括流體及營養素補充劑、電解液補充劑(諸如基於林格氏右旋糖之物)、及其類似物。

亦可存在防腐劑及其它添加劑，諸如抗微生物劑、抗氧化劑、螯合劑及惰性氣體及其類似物。此外，取決於醫藥組成物之預期用途，本發明之醫藥組成物可包含其它藥劑，例如多巴胺或精神藥理學藥物。

【0220】 此外，在本發明之一較佳實施例中，例如在本發明之醫藥組成物包含用於被動免疫之抗 DPR 抗體或其 DPR 結合片段、或合成或生物技術變異體或衍生物時，醫藥組成物可以調配成疫苗。如背景技術部分所述，經聚集 DPR 物質為諸如 FTLN 及 ALS 之疾病及/或病症之主要觸發因素。因此，謹慎預期用本發明之人源抗 DPR 抗體及等效 DPR 結合分子之被動免疫將有助於規避主動免疫治療概念之若干不利影響且導致 DPR 聚集減少。因此，本發明之抗 DPR 抗體及其等效物特別可用作預防或改善疾病或病症之疫苗，該等疾病或病症顯示 DPR 或其聚集形式(特別是 C9orf72-DPR)之存在或由其引起，例如 FTLN。

【0221】 在一個實施例中，使用本發明抗體之重組 Fab(rFab)及單鏈片段(scFv)可為有益的，其可更容易穿透細胞膜。舉例而言，提前在線公佈之 Robert 等人, Protein Eng. Des. Sel. (2008) ; S1741-0134 描述了單株抗體 WO-2 之嵌合重組 Fab(rFab)及單鏈片段(scFv)之用途，其識別 A β 之 N-端區域中之抗原決定基。經工程改造片段能夠(i)防止澱粉樣蛋白原纖維化，(ii)解聚預先形成之 A β 1-42 原纖維且(iii)在活體外與完整 IgG 分子一樣有效抑制 A β 1-42 寡聚體介導之神經毒性。使用缺乏效應功能之小 Fab 及 scFv 工程改造抗體形式之感知優點包括更有效地穿過血腦屏障且使引發炎性副反應之風險最小化。此外，除了 scFv 及單域抗體保留全長抗體之結合特異性，它們可以作為單個基因表現，且在細胞內在哺乳動物細胞中作為胞內體表現，具有改變其靶標之折疊、相互作用、修飾或亞細胞定位之可能；關於回顧，參見例如 Miller 及 Messer, Molecular Therapy 12 (2005), 394-401。

【0222】 在不同方法中，Muller 等人, Expert Opin. Biol. Ther. (2005), 237-241 描述了一種技術平台，即所謂『SuperAntibody 技術』，據稱其能夠使抗體穿梭進入活細胞而不會傷害該等細胞。此類細胞穿透抗體打開了新的診斷及治療窗口。術語『TransMab』已經創造用於此等抗體。

【0223】 在另一個實施例中，可能需要共同投與或依次投與可用於治療與 DPR(特別是經聚集 DPR 諸如 C9orf72-DPR)之出現相關之疾病、病症或症狀之其它抗體。在一個實施例中，在本發明之醫藥組成物中包含另外的抗體。可用於治療受試者之抗體之實例包括但不限於靶向 CD33、SGLT2、IL-6 及 IL-1 之抗體。

【0224】 在另一個實施例中，可能需要共同投與或順序投與可用於治療與 DPR(特別是經聚集 DPR，例如突變 C9orf72，亦即 C9orf72-DPR)相關之疾病、病症或症狀之其它藥劑。在一個實施例中，在本發明之醫藥組成物中包含另外的藥劑。可用於治療受試者之藥劑之實例包括但不限於：靶向無意識肌肉運動之 VMAT2 抑制劑，例如抗炎劑，例如二色素、皮質類固醇、2-(2,6-二氯苯胺基)苯乙酸(雙氯芬酸)、異丁基-丙酸-酚酸(布洛芬)；利尿劑、表沒食子兒茶素沒食子酸酯、鹽酸黴法蘭、地塞米松、硼替佐米、硼替佐米-黴法蘭、硼替佐米-地塞米松、黴法蘭-地塞米松、硼替佐米-黴法蘭-地塞米松；抗抑鬱藥、抗精神病藥、精神抑制藥、抗癡呆藥(例如 NMDA-受體拮抗劑美金剛)、乙醯膽鹼酯酶抑制劑(例如多奈哌齊、HCI、卡巴拉汀、加蘭他敏)、麩胺酸 (glutamat)拮抗劑及其它促智藥血壓藥(例如二氫拉嗪、甲基多巴)、細胞抑制劑、糖皮質激素、血管緊張素轉換酶(ACE)抑制劑；抗炎劑或其任何組合。

【0225】 治療有效劑量或量係指活性成分足以改善症狀或病症之量。此等化合物之治療功效及毒性可藉由細胞培養物或實驗動物中之標準藥學方法測定，

例如 ED₅₀(在 50%群體中治療有效之劑量)及 LD₅₀(對 50%群體致死之劑量)。在治療作用及毒性作用之間之劑量比率為治療指數且其可表示為比率 LD₅₀/ED₅₀。

【0226】 自前述內容可以明顯看出，本發明涵蓋至少包含上述抗體及其變異體之 CDR 之 DPR 結合分子之任何用途，特別是用於診斷及/或治療與 DPR(特別是經聚集 DPR 物質，諸如 C9orf72-DPR)相關之疾病或病症，諸如 FTL D。視情況地，該結合分子為本發明之抗體或其生物技術衍生物。

【0227】 在另一個實施例中，本發明係關於診斷組成物，其包含本發明之上述 DPR 結合分子、抗體、DPR 結合片段、多核苷酸、載體或細胞中之任一者及視情況合適偵測手段，例如習慣用於基於免疫或核酸之診斷方法之試劑。例如，本發明之抗體適用於免疫檢定，其中該等抗體可以在液相中使用或與固相載體結合。可以利用本發明之抗體之免疫檢定之實例為直接或間接形式之競爭性及非競爭性免疫檢定。此類免疫檢定之實例為放射免疫檢定(RIA)、夾心(免疫計量檢定)、流式細胞術及西方墨點檢定。本發明之抗體可以與許多不同之載體結合，且用於分離與其特異性結合之細胞。熟知載體之實例包括玻璃、聚苯乙烯、聚氯乙烯、聚丙烯、聚乙烯、聚碳酸酯、葡聚糖、尼龍、直鏈澱粉、天然及改性纖維素、聚丙烯醯胺、瓊脂糖及磁鐵礦。出於本發明之目的，載體之性質可以為可溶的或不可溶的。一般熟悉此項技藝者已知許多不同之標記及標記方法。可用於本發明之標記類型之實例包括酶、放射性同位素、膠體金屬、螢光化合物、化學發光化合物、及生物發光化合物；亦參見上文論述之實施例。

【0228】 藉由另一個實施例，DPR 結合分子(特別是本發明之抗體)亦可以用於診斷個體之疾病或病症之方法中，該方法藉由自受試之個體獲得體液樣品，該體液樣品可以為血液樣品、血漿樣品、血清樣品、淋巴樣品或任何其它體液樣品，例如唾液或尿液樣品；及在能夠形成抗體-抗原複合物之條件下使體液樣

品與本發明之抗體接觸。然後藉由此項技術中已知之方法測定此類複合物之水準，該水準顯著高於對照樣品中形成之水準，表明受試之個體中之疾病或病症。以相同之方式，亦可以使用由本發明之抗體結合之特異性抗原。因此，本發明係關於活體外免疫檢定，其包含結合分子，例如本發明之抗體或其 DPR 結合片段。

【0229】 在本發明之另一個實施例中，DPR 結合分子(特別是本發明之抗體)亦可以用於藉由自受試個體獲得生檢物而診斷個體疾病或病症之方法中。在此情況下，本發明亦係關於專門為此目的而設計之裝置。例如，可以使用基於抗體之陣列，其例如裝載有特異性識別 DPR 之本發明之抗體或等效 DPR 結合分子。微陣列免疫檢定之設計概述於 Kusnezow 等人, Mol. Cell Proteomics 5 (2006), 1681-1696 中。因此，本發明亦係關於裝載有本發明之 DPR 結合分子之微陣列。

【0230】 在一個實施例中，本發明係關於在受試者中診斷與 DPR(特別是經聚集 DPR 物質諸如 C9orf72-DPR)相關之疾病或病症之方法，該方法包含用至少一種本發明之抗體、其 DPR 結合片段或具有與其任一者基本相同之結合特異性之 DPR 結合分子在來自待診斷受試者之樣品中分別判定 DPR 及經聚集 DPR 之存在，其中 DPR 或其病理聚集形式(視情況為 C9orf72-DPR)之存在指示 FTLD 及/或 ALS，且與生理學 C9orf72(亦即，其不顯示重複區域轉譯成 DPR 蛋白質)之水準相比，DPR 或其病理學聚集形式(特別是 C9orf72-DPR)之水準增加，指示該受試者中 FTLD 及/或 ALS 之進展。

【0231】 待診斷受試者可能對於該疾病而言為無症狀或臨床前的。視情況地，對照受試者患有與 DPR、經聚集 DPR 及/或視情況 C9orf72-DPR 相關之疾病，例如，如上所述之 FTLD、ALS 及 FTLD-ALS 等，其中 DPR(例如，經聚集 C9orf72-DPR)之水準與參考標準之間之相似性表明待診斷受試者患有 FTLD、

ALS 及/或 FTLN-ALS 或具有患上與 DPR 聚集相關之疾病及/或病症之風險。或者或另外作為第二對照，對照受試者不具有 DPR 聚集，其中生理學 C9orf72 或如同突變 C9orf72 基因及/或經聚集 C9orf72-DPR 一般，由於其基因突變而易於插入 DPR 之另一種蛋白質之水準與參考標準之間之差異，表明待診斷受試者患有與 DPR 相關之疾病及/或病症(例如 FTLN、ALS 及/或 FTLN-ALS)，或具有患上與 DPR 相關之疾病及/或病症之風險。視情況地，待診斷受試者與對照受試者為年齡匹配的。待分析之樣品可以為疑似含有病理性 DPR 蛋白(例如經聚集 C9orf72-DPR)之任何體液，例如血液、血漿、血清、尿液、腹膜液、唾液或腦脊髓液(CSF)。

【0232】 生理學 C9orf72 或類似蛋白質及/或經聚集 DPR 諸如 C9orf72-DPR 之水準可以藉由此項技術中已知之任何合適方法評估，該等方法包含例如藉由一或多種技術分析 DPR 及/或摻入 DPR 之蛋白質諸如 C9orf72，該等技術係選自西方墨點、免疫沉澱、酶聯免疫吸附檢定(ELISA)、放射免疫檢定(RIA)、螢光活化細胞分選(FACS)、雙向凝膠電泳、質譜(MS)、基質輔助雷射解吸/電離飛行時間-MS(MALDI-TOF)、表面增強雷射解吸電離-飛行時間(SELDI-TOF)、高效液相層析(HPLC)、快速蛋白液相層析(FPLC)、多維液相層析(LC)及後續串聯質譜(MS/MS)、及雷射光密度測定法。視情況地，DPR 之該活體內造影包含閃爍掃描、正電子發射斷層攝影術(PET)、單光子發射斷層攝影術(SPECT)、近紅外(NIR)光學造影或磁共振造影(MRI)。

【0233】 因此，在一個實施例中，提供上文定義之本發明之抗體、多核苷酸、載體或細胞或包含其任一者之醫藥或診斷組成物，用於預防性治療、治療性治療、及/或監測與 DPR 蛋白或其聚集形式相關之疾病或病症之進展或對治療之反應。因此，本發明亦係關於診斷或監測受試者中與 DPR 蛋白相關之疾病或病症

(例如 FTLD 及 ALS)之進展之方法，該方法包含用至少一種本發明之抗體或具有與其任一者基本相同之結合特異性之 DPR 結合分子判定來自待診斷受試者之樣品中 DPR 蛋白之存在，其中例如在突變 C9orf72 及經聚集 C9orf72-DPR 物質中 DPR 之存在指示疾病或病症。在一個實施例中，提供了診斷或監測受試者中 DPR 相關疾病及/或病症之進展之該方法，該方法包含用至少一種本發明之抗體判定來自待診斷受試者之樣品中 DPR(例如以突變 C9orf72 及其聚集形式)之存在，其中 DPR(諸如突變 C9orf72 及/或經聚集 C9orf72-DPR)之存在指示與 DPR 相關之症狀發生前、有前驅症狀或臨床疾病及/或病症，與不含 DPR 之生理學 C9orf72 之水準相比或與來自健康對照受試者之參考樣品或來自同一受試者之對照樣品相比 DPR 聚集物(特別是 C9orf72-DPR)之水準增加指示了與 DPR 相關之症狀發生前、有前驅症狀或已建立之疾病及/或病症(例如 FTLD 及 ALS)之進展。熟習此項技藝者可以理解，在一個實施例中，該方法亦用於診斷或監測來自如上文所述之分別與 DPR 及包含 DPR 之蛋白質相關之疾病之組之任何其它疾病或病症之進展。

【0234】 如上所述，本發明之抗體不僅可以在活體外使用，亦可以在活體內使用，其中除了診斷之外，亦可以進行治療應用。因此，在一個實施例中，本發明亦係關於 DPR 結合分子，其包含本發明之抗體之 CDR，用於製備用以在人或動物體內活體內偵測 DPR(視情況地 C9orf72-DPR)或向該 CDR 靶向輸送治療劑及/或診斷劑之組成物。潛在治療劑及/或診斷劑可係選自可用於治療與 DPR 相關之疾病及/或病症之治療劑及如上所述之潛在標記之非窮舉性列舉。關於活體內造影，在一較佳實施例中，本發明提供了包含本發明抗體之 CDR 之該 DPR 結合分子，其中該活體內造影包含閃爍掃描、正電子發射斷層攝影術(PET)、單光子發射斷層攝影術(SPECT)、近紅外(NIR)光學造影或磁共振造影(MRI)。在另

一實施例中，本發明亦提供了包含本發明抗體之 CDR 之該 DPR 結合分子或用於製備用以上述指定活體內造影方法之組成物之該分子，用於診斷或監測受試者中與 DPR 蛋白相關之疾病或病症之進展之方法中，如上文所定義。

【0235】 在此情況下，本發明亦係關於可用於診斷或監測與 DPR 及含有 DPR 之蛋白質相關之疾病及/或病症之進展之套組，該套組包含至少一種本發明之抗體或具有與其任一者基本相同之結合特異性之 DPR 結合分子、分別如上文所定義之多核苷酸、載體或細胞及/或肽，視情況地連同試劑及/或使用說明書。

【0236】 本文提供由以下編號段落描述之組成物、方法及/或用途：

1. 一種抗 DPR 抗體或其片段，包含

(i)具有胺基酸序列 SEQ ID NO:38(或與 SEQ ID NO:38 至少 95%，例如 95%、96%、97%、98%、99%或 100%相同之胺基酸序列) 之重鏈；及

(ii)具有胺基酸序列 SEQ ID NO:42 (或與 SEQ ID NO:42 至少 95%，例如 95%、96%、97%、98%、99%或 100%相同之胺基酸序列) 之輕鏈。

1a. 一種抗 DPR 抗體或其片段(例如結合至，例如特異性地及/或以高親和力結合至聚-(GA)_n 重複序列，例如本文所述之聚-(GA)_n 重複序列，例如聚-(GA)₆₋₁₅)(SEQ ID NO:83)，其中抗 DPR 抗體或其片段包含：

(i) 重鏈，該重鏈包含胺基酸序列 SEQ ID NO:37 或 38(或與 SEQ ID NO:37 或 38 至少 95%，例如 95%、96%、97%、98%、99%或 100%相同之胺基酸序列)、由其組成或基本上由其組成，

視情況地其中重鏈胺基酸序列(例如，重鏈成熟序列)之長度不超過 452 個胺基酸，且/或其中重鏈在其胺基酸序列之 C-端不包含離胺酸殘基，且/或其中重鏈在其胺基酸序列之 C-端具有甘胺酸，且/或其中重鏈可變區胺基酸序列之長度不超過 123 個胺基酸；

(ii) 重鏈恆定域，該重鏈恆定域包含胺基酸序列 SEQ ID NO:39(或與 SEQ ID NO:39 至少 95%，例如 95%、96%、97%、98%、99%或 100%相同之胺基酸序列)、由其組成或基本上由其組成，

視情況地其中重鏈胺基酸序列(例如，重鏈成熟序列)之長度不超過 452 個胺基酸，且/或其中重鏈在其胺基酸序列之 C-端不包含離胺酸殘基，且/或其中重鏈在其胺基酸序列之 C-端具有甘胺酸，且/或其中重鏈可變區胺基酸序列之長度不超過 123 個胺基酸；

(iii) 重鏈可變區胺基酸序列，該重鏈可變區胺基酸序列包含 SEQ ID NO:40(或與 SEQ ID NO:40 至少 95%，例如 95%、96%、97%、98%、99%或 100%相同之胺基酸序列)、由其組成或基本上由其組成，

視情況地其中重鏈胺基酸序列(例如，重鏈成熟序列)之長度不超過 452 個胺基酸，且/或其中重鏈在其胺基酸序列之 C-端不包含離胺酸殘基，且/或其中重鏈在其胺基酸序列之 C-端具有甘胺酸，且/或其中重鏈可變區胺基酸序列之長度不超過 123 個胺基酸；

(iv) 輕鏈胺基酸序列，該輕鏈胺基酸序列包含 SEQ ID NO:41 或 42(或與 SEQ ID NO:41 或 42 至少 95%，例如 95%、96%、97%、98%、99%或 100%相同之胺基酸序列)、由其組成或基本上由其組成，

視情況地其中輕鏈胺基酸序列長度不超過 214 個胺基酸，且/或輕鏈可變區胺基酸序列長度不超過 107 個胺基酸；

(v) 輕鏈恆定域胺基酸序列，該輕鏈恆定域胺基酸序列包含 SEQ ID NO:43(或與 SEQ ID NO:43 至少 95%，例如 95%、96%、97%、98%、99%或 100%相同之胺基酸序列)、由其組成或基本上由其組成，

視情況地其中輕鏈胺基酸序列長度不超過 214 個胺基酸，且/或輕鏈可變區胺基酸序列長度不超過 107 個胺基酸；

(vi) 輕鏈可變區胺基酸序列，該輕鏈可變區胺基酸序列包含 SEQ ID NO:44(或與 SEQ ID NO:44 至少 95%，例如 95%、96%、97%、98%、99%或 100%相同之胺基酸序列)、由其組成或基本上由其組成，

視情況地其中輕鏈胺基酸序列長度不超過 214 個胺基酸，且/或其中輕鏈可變區胺基酸序列長度不超過 107 個胺基酸；

(vii) 重鏈可變區，該重鏈可變區包含 CDR1 胺基酸序列 SEQ ID NO:45(或與 SEQ ID NO:45 至少 95%，例如 95%、96%、97%、98%、99%或 100%相同之胺基酸序列)；CDR2 胺基酸序列 SEQ ID NO:46(或與 SEQ ID NO:46 至少 95%，例如 95%、96%、97%、98%、99%或 100%相同之胺基酸序列)，及 CDR3 胺基酸序列 SEQ ID NO:47(或與 SEQ ID NO:47 至少 95%，例如 95%、96%、97%、98%、99%或 100%相同之胺基酸序列)，

視情況地其中重鏈胺基酸序列(例如，重鏈成熟序列)之長度不超過 452 個胺基酸，且/或其中重鏈在其胺基酸序列之 C-端不包含離胺酸殘基，且/或其中重鏈在其胺基酸序列之 C-端具有甘胺酸，且/或其中重鏈可變區胺基酸序列之長度不超過 123 個胺基酸；

及/或

(viii) 輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含 CDR1 胺基酸序列 SEQ ID NO:48(或與 SEQ ID NO:48 至少 95%，例如 95%、96%、97%、98%、99%或 100%相同之胺基酸序列)、CDR2 胺基酸序列 SEQ ID NO:49(或與 SEQ ID NO:49 至少 95%，例如 95%、96%、97%、98%、99%或 100%相同之胺基酸序列)、及 CDR3 胺基酸序

列 SEQ ID NO:50(或與 SEQ ID NO:50 至少 95%，例如 95%、96%、97%、98%、99%或 100%相同之胺基酸序列)，

視情況地其中重鏈胺基酸序列(例如，重鏈成熟序列)之長度不超過 452 個胺基酸，且/或其中重鏈在其胺基酸序列之 C-端不包含離胺酸殘基，且/或其中重鏈在其胺基酸序列之 C-端具有甘胺酸，且/或其中重鏈可變區胺基酸序列長度不超過 123 個胺基酸，且/或視情況地其中輕鏈胺基酸序列長度不超過 214 個胺基酸，且/或其中輕鏈可變區胺基酸序列長度不超過 107 個胺基酸。

1b. 如段落 1-1e 中任一項之抗 DPR 抗體或其片段，其包含異源序列，例如與重鏈、輕鏈、重鏈可變區、重鏈恆定區、輕鏈可變區、輕鏈恆定域、可變重鏈 CDR、及/或可變輕鏈 CDR 異源之異源序列。

1c. 如段落 1b 之抗 DPR 抗體或其片段，其中該異源序列包含免疫球蛋白重鏈恆定區、免疫球蛋白輕鏈恆定區或異源哺乳動物分泌信號肽。

1d. 如段落 1-1c 中任一項之抗 DPR 抗體或其片段，其包含聚乙二醇或可偵測標記，例如酶、放射性同位素、螢光化合物、化學發光化合物、生物發光化合物、或重金屬。

1e. 如段落 1-1d 中任一項之抗 DPR 抗體或其片段，其中抗體或其片段係選自由 Fab、Fab'、F(ab')₂、Fc、Fv、單鏈 Fv(scFv)、單鏈抗體、及經二硫鍵連接之 Fv(sdFv) 組成之群。

2. 一種核酸分子，包含：

(i) 編碼抗-DPR 抗體之重鏈之核酸，該重鏈具有胺基酸序列 SEQ ID NO:38(或與 SEQ ID NO:38 至少 95%，例如 95%、96%、97%、98%、99%或 100%相同之胺基酸序列)；及

(ii) 編碼抗-DPR 抗體之輕鏈之核酸，該輕鏈具有胺基酸序列 SEQ ID NO:42(或與 SEQ ID NO:42 至少 95%，例如 95%、96%、97%、98%、99%或 100%相同之胺基酸序列)，視情況地其中核酸序列(i)及(ii)置於同一核酸分子上或單獨核酸分子上，

2a. 如段落 2 之核酸分子，其中該核酸分子包含 cDNA 且/或可操作地連接至異源核酸，例如異源信號肽(例如分泌信號肽，例如哺乳動物分泌信號肽，例如本文所述之分泌信號肽)或異源調節元件(例如，異源增強子、核糖體結合位點、轉錄終止子或異源啟動子(例如，細胞巨大病毒、猿猴病毒 40 或反轉錄病毒啟動子))。

2b. 一種編碼以下(i)-(viii)中之一或多者之核酸分子：

(i) 重鏈，該重鏈包含胺基酸序列 SEQ ID NO:37 或 38 (或與 SEQ ID NO:37 或 38 至少 95%，例如 95%、96%、97%、98%、99%或 100%相同之胺基酸序列)、由其組成或基本上由其組成，

視情況地其中重鏈胺基酸序列(例如，重鏈成熟序列)之長度不超過 452 個胺基酸，且/或其中重鏈在其胺基酸序列之 C-端不包含離胺酸殘基，且/或其中重鏈在其胺基酸序列之 C-端具有甘胺酸，且/或其中重鏈可變區胺基酸序列之長度不超過 123 個胺基酸；

(ii) 重鏈恆定域，該重鏈恆定域包含胺基酸序列 SEQ ID NO:39(或與 SEQ ID NO:39 至少 95%，例如 95%、96%、97%、98%、99%或 100%相同之胺基酸序列)、由其組成或基本上由其組成，

視情況地其中重鏈胺基酸序列(例如，重鏈成熟序列)之長度不超過 452 個胺基酸，且/或其中重鏈在其胺基酸序列之 C-端不包含離胺酸殘基，且/或其中重鏈在其胺基酸序列之 C-端具有甘胺酸，且/或其中重鏈可變區胺基酸序列之長度不超過 123 個胺基酸；

(iii) 重鏈可變區胺基酸序列，該重鏈可變區胺基酸序列包含 SEQ ID NO:40(或與 SEQ ID NO:40 至少 95%，例如 95%、96%、97%、98%、99%或 100%相同之胺基酸序列)、由其組成或基本上由其組成，

視情況地其中重鏈胺基酸序列(例如，重鏈成熟序列)之長度不超過 452 個胺基酸，且/或其中重鏈在其胺基酸序列之 C-端不包含離胺酸殘基，且/或其中重鏈在其胺基酸序列之 C-端具有甘胺酸，且/或其中重鏈可變區胺基酸序列之長度不超過 123 個胺基酸；

(iv) 輕鏈胺基酸序列，該輕鏈胺基酸序列包含 SEQ ID NO:41 或 42(或與 SEQ ID NO:41 或 42 至少 95%，例如 95%、96%、97%、98%、99%或 100%相同之胺基酸序列)、由其組成或基本上由其組成，

視情況地其中輕鏈胺基酸序列長度不超過 214 個胺基酸，且/或輕鏈可變區胺基酸序列長度不超過 107 個胺基酸；

(v) 輕鏈恆定域胺基酸序列，該輕鏈恆定域胺基酸序列包含 SEQ ID NO:43(或與 SEQ ID NO:43 至少 95%，例如 95%、96%、97%、98%、99%或 100%相同之胺基酸序列)、由其組成或基本上由其組成，

視情況地其中輕鏈胺基酸序列長度不超過 214 個胺基酸，且/或輕鏈可變區胺基酸序列長度不超過 107 個胺基酸；

(vi) 輕鏈可變區胺基酸序列，該輕鏈可變區胺基酸序列包含 SEQ ID NO:44(或與 SEQ ID NO:44 至少 95%，例如 95%、96%、97%、98%、99%或 100%相同之胺基酸序列)、由其組成或基本上由其組成，

視情況地其中輕鏈胺基酸序列長度不超過 214 個胺基酸，且/或其中輕鏈可變區胺基酸序列長度不超過 107 個胺基酸；

(vii) 重鏈可變區，該重鏈可變區包含 CDR1 胺基酸序列 SEQ ID NO:45(或與 SEQ ID NO:45 至少 95%，例如 95%、96%、97%、98%、99%或 100%相同之胺基酸序列)；CDR2 胺基酸序列 SEQ ID NO:46(或與 SEQ ID NO:46 至少 95%，例如 95%、96%、97%、98%、99%或 100%相同之胺基酸序列)，及 CDR3 胺基酸序列 SEQ ID NO:47(或與 SEQ ID NO:47 至少 95%，例如 95%、96%、97%、98%、99%或 100%相同之胺基酸序列)，

視情況地其中重鏈胺基酸序列(例如，重鏈成熟序列)之長度不超過 452 個胺基酸，且/或其中重鏈在其胺基酸序列之 C-端不包含離胺酸殘基，且/或其中重鏈在其胺基酸序列之 C-端具有甘胺酸，且/或其中重鏈可變區胺基酸序列之長度不超過 123 個胺基酸；

及/或

(viii) 輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含 CDR1 胺基酸序列 SEQ ID NO:48(或與 SEQ ID NO:48 至少 95%，例如 95%、96%、97%、98%、99%或 100%相同之胺基酸序列)、CDR2 胺基酸序列 SEQ ID NO:49(或與 SEQ ID NO:49 至少 95%，例如 95%、96%、97%、98%、99%或 100%相同之胺基酸序列)、及 CDR3 胺基酸序列 SEQ ID NO:50(或與 SEQ ID NO:50 至少 95%，例如 95%、96%、97%、98%、99%或 100%相同之胺基酸序列)，

視情況地其中重鏈胺基酸序列(例如，重鏈成熟序列)之長度不超過 452 個胺基酸，且/或其中重鏈在其胺基酸序列之 C-端不包含離胺酸殘基，且/或其中重鏈在其胺基酸序列之 C-端具有甘胺酸，且/或其中重鏈可變區胺基酸序列長度不超過 123 個胺基酸，且/或視情況地其中輕鏈胺基酸序列長度不超過 214 個胺基酸，且/或其中輕鏈可變區胺基酸序列長度不超過 107 個胺基酸。

3. 一種包含核苷酸序列 SEQ ID NO:51-58(或與 SEQ ID NO:51-58 至少 95%，例如 95%、96%、97%、98%、99%或 100 %相同之胺基酸序列) 中之一或多者之核酸分子。

3a. 一或多種編碼如段落 1-1e 中任一項之抗體或其片段之核酸分子。

3b. 一種包含如段落 2-3a 中任一項之核酸分子之 cDNA。

3c. 一種包含編碼以下項之多核苷酸之 cDNA：

(i) 重鏈，該重鏈包含胺基酸序列 SEQ ID NO:37 或 38(或與 SEQ ID NO:37 或 38 至少 95%，例如 95%、96%、97%、98%、99%或 100%相同之胺基酸序列)、由其組成或基本上由其組成，

視情況地其中重鏈胺基酸序列(例如，重鏈成熟序列)之長度不超過 452 個胺基酸，且/或其中重鏈在其胺基酸序列之 C-端不包含離胺酸殘基，且/或其中重鏈在其胺基酸序列之 C-端具有甘胺酸，且/或其中重鏈可變區胺基酸序列之長度不超過 123 個胺基酸；

(ii) 重鏈恆定域，該重鏈恆定域包含胺基酸序列 SEQ ID NO:39(或與 SEQ ID NO:39 至少 95%，例如 95%、96%、97%、98%、99%或 100%相同之胺基酸序列)、由其組成或基本上由其組成，

視情況地其中重鏈胺基酸序列(例如，重鏈成熟序列)之長度不超過 452 個胺基酸，且/或其中重鏈在其胺基酸序列之 C-端不包含離胺酸殘基，且/或其中重鏈在其胺基酸序列之 C-端具有甘胺酸，且/或其中重鏈可變區胺基酸序列之長度不超過 123 個胺基酸；

(iii) 重鏈可變區胺基酸序列，該重鏈可變區胺基酸序列包含 SEQ ID NO:40(或與 SEQ ID NO:40 至少 95%，例如 95%、96%、97%、98%、99%或 100%相同之胺基酸序列)、由其組成或基本上由其組成，

視情況地其中重鏈胺基酸序列(例如，重鏈成熟序列)之長度不超過 452 個胺基酸，且/或其中重鏈在其胺基酸序列之 C-端不包含離胺酸殘基，且/或其中重鏈在其胺基酸序列之 C-端具有甘胺酸，且/或其中重鏈可變區胺基酸序列之長度不超過 123 個胺基酸；

(iv) 輕鏈胺基酸序列，該輕鏈胺基酸序列包含 SEQ ID NO:41 或 42(或與 SEQ ID NO:41 或 42 至少 95%，例如 95%、96%、97%、98%、99%或 100%相同之胺基酸序列)、由其組成或基本上由其組成，

視情況地其中輕鏈胺基酸序列長度不超過 214 個胺基酸，且/或輕鏈可變區胺基酸序列長度不超過 107 個胺基酸；

(v) 輕鏈恆定域胺基酸序列，該輕鏈恆定域胺基酸序列包含 SEQ ID NO:43(或與 SEQ ID NO:43 至少 95%，例如 95%、96%、97%、98%、99%或 100%相同之胺基酸序列)、由其組成或基本上由其組成，

視情況地其中輕鏈胺基酸序列長度不超過 214 個胺基酸，且/或輕鏈可變區胺基酸序列長度不超過 107 個胺基酸；

(vi) 輕鏈可變區胺基酸序列，該輕鏈可變區胺基酸序列包含 SEQ ID NO:44(或與 SEQ ID NO:44 至少 95%，例如 95%、96%、97%、98%、99%或 100%相同之胺基酸序列)、由其組成或基本上由其組成，

視情況地其中輕鏈胺基酸序列長度不超過 214 個胺基酸，且/或其中輕鏈可變區胺基酸序列長度不超過 107 個胺基酸；

(vii) 重鏈可變區，該重鏈可變區包含 CDR1 胺基酸序列 SEQ ID NO:45(或與 SEQ ID NO:45 至少 95%，例如 95%、96%、97%、98%、99%或 100%相同之胺基酸序列)；CDR2 胺基酸序列 SEQ ID NO:46(或與 SEQ ID NO:46 至少 95%，例如 95%、96%、97%、98%、99%或 100%相同之胺基酸序列)，及 CDR3 胺基酸序

列 SEQ ID NO:47(或與 SEQ ID NO:47 至少 95%，例如 95%、96%、97%、98%、99%或 100%相同之胺基酸序列)，

視情況地其中重鏈胺基酸序列(例如，重鏈成熟序列)之長度不超過 452 個胺基酸，且/或其中重鏈在其胺基酸序列之 C-端不包含離胺酸殘基，且/或其中重鏈在其胺基酸序列之 C-端具有甘胺酸，且/或其中重鏈可變區胺基酸序列之長度不超過 123 個胺基酸；

及/或

(viii) 輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含 CDR1 胺基酸序列 SEQ ID NO:48(或與 SEQ ID NO:48 至少 95%，例如 95%、96%、97%、98%、99%或 100%相同之胺基酸序列)、CDR2 胺基酸序列 SEQ ID NO:49(或與 SEQ ID NO:49 至少 95%，例如 95%、96%、97%、98%、99%或 100%相同之胺基酸序列)、及 CDR3 胺基酸序列 SEQ ID NO:50(或與 SEQ ID NO:50 至少 95%，例如 95%、96%、97%、98%、99%或 100%相同之胺基酸序列)，

視情況地其中重鏈胺基酸序列(例如，重鏈成熟序列)之長度不超過 452 個胺基酸，且/或其中重鏈在其胺基酸序列之 C-端不包含離胺酸殘基，且/或其中重鏈在其胺基酸序列之 C-端具有甘胺酸，且/或其中重鏈可變區胺基酸序列長度不超過 123 個胺基酸，且/或視情況地其中輕鏈胺基酸序列長度不超過 214 個胺基酸，且/或其中輕鏈可變區胺基酸序列長度不超過 107 個胺基酸；及/或

(ix) 重鏈，該重鏈具有胺基酸序列 SEQ ID NO:38(或與 SEQ ID NO:38 至少 95%，例如 95%、96%、97%、98%、99%或 100%相同之胺基酸序列)；及/或

(x) 輕鏈，該輕鏈具有胺基酸序列 SEQ ID NO:42(或與 SEQ ID NO:42 至少 95%，例如 95%、96%、97%、98%、99%或 100%相同之胺基酸序列)。

4. 一種包含如段落 2-3a 中任一項之核酸分子或如段落 3b-3c 中任一項之 cDNA 之載體。

4a. 如段落 4 之載體，其中該載體為可操作地連接至多核苷酸之表現載體，其中該多核苷酸編碼以下一或多者：

(i) 重鏈，該重鏈包含胺基酸序列 SEQ ID NO:37 或 38(或與 SEQ ID NO:37 或 38 至少 95%，例如 95%、96%、97%、98%、99%或 100%相同之胺基酸序列)、由其組成或基本上由其組成，

視情況地其中重鏈胺基酸序列(例如，重鏈成熟序列)之長度不超過 452 個胺基酸，且/或其中重鏈在其胺基酸序列之 C-端不包含離胺酸殘基，且/或其中重鏈在其胺基酸序列之 C-端具有甘胺酸，且/或其中重鏈可變區胺基酸序列之長度不超過 123 個胺基酸；

(ii) 重鏈恆定域，該重鏈恆定域包含胺基酸序列 SEQ ID NO:39(或與 SEQ ID NO:39 至少 95%，例如 95%、96%、97%、98%、99%或 100%相同之胺基酸序列)、由其組成或基本上由其組成，

視情況地其中重鏈胺基酸序列(例如，重鏈成熟序列)之長度不超過 452 個胺基酸，且/或其中重鏈在其胺基酸序列之 C-端不包含離胺酸殘基，且/或其中重鏈在其胺基酸序列之 C-端具有甘胺酸，且/或其中重鏈可變區胺基酸序列之長度不超過 123 個胺基酸；

(iii) 重鏈可變區胺基酸序列，該重鏈可變區胺基酸序列包含 SEQ ID NO:40(或與 SEQ ID NO:40 至少 95%，例如 95%、96%、97%、98%、99%或 100%相同之胺基酸序列)、由其組成或基本上由其組成，

視情況地其中重鏈胺基酸序列(例如，重鏈成熟序列)之長度不超過 452 個胺基酸，且/或其中重鏈在其胺基酸序列之 C-端不包含離胺酸殘基，且/或其中重鏈在

其胺基酸序列之 C-端具有甘胺酸，且/或其中重鏈可變區胺基酸序列之長度不超過 123 個胺基酸；

(iv) 輕鏈胺基酸序列，該輕鏈胺基酸序列包含 SEQ ID NO:41 或 42(或與 SEQ ID NO:41 或 42 至少 95%，例如 95%、96%、97%、98%、99%或 100%相同之胺基酸序列)、由其組成或基本上由其組成，

視情況地其中輕鏈胺基酸序列長度不超過 214 個胺基酸，且/或輕鏈可變區胺基酸序列長度不超過 107 個胺基酸；

(v) 輕鏈恆定域胺基酸序列，該輕鏈恆定域胺基酸序列包含 SEQ ID NO:43(或與 SEQ ID NO:43 至少 95%，例如 95%、96%、97%、98%、99%或 100%相同之胺基酸序列)、由其組成或基本上由其組成，

視情況地其中輕鏈胺基酸序列長度不超過 214 個胺基酸，且/或輕鏈可變區胺基酸序列長度不超過 107 個胺基酸；

(vi) 輕鏈可變區胺基酸序列，該輕鏈可變區胺基酸序列包含 SEQ ID NO:44(或與 SEQ ID NO:44 至少 95%，例如 95%、96%、97%、98%、99%或 100%相同之胺基酸序列)、由其組成或基本上由其組成，

視情況地其中輕鏈胺基酸序列長度不超過 214 個胺基酸，且/或其中輕鏈可變區胺基酸序列長度不超過 107 個胺基酸；

(vii) 重鏈可變區，該重鏈可變區包含 CDR1 胺基酸序列 SEQ ID NO:45(或與 SEQ ID NO:45 至少 95%，例如 95%、96%、97%、98%、99%或 100%相同之胺基酸序列)；CDR2 胺基酸序列 SEQ ID NO:46(或與 SEQ ID NO:46 至少 95%，例如 95%、96%、97%、98%、99%或 100%相同之胺基酸序列)，及 CDR3 胺基酸序列 SEQ ID NO:47(或與 SEQ ID NO:47 至少 95%，例如 95%、96%、97%、98%、99%或 100%相同之胺基酸序列)，

視情況地其中重鏈胺基酸序列(例如，重鏈成熟序列)之長度不超過 452 個胺基酸，且/或其中重鏈在其胺基酸序列之 C-端不包含離胺酸殘基，且/或其中重鏈在其胺基酸序列之 C-端具有甘胺酸，且/或其中重鏈可變區胺基酸序列之長度不超過 123 個胺基酸；

及/或

(viii) 輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含 CDR1 胺基酸序列 SEQ ID NO:48(或與 SEQ ID NO:48 至少 95%，例如 95%、96%、97%、98%、99%或 100%相同之胺基酸序列)、CDR2 胺基酸序列 SEQ ID NO:49(或與 SEQ ID NO:49 至少 95%，例如 95%、96%、97%、98%、99%或 100%相同之胺基酸序列)、及 CDR3 胺基酸序列 SEQ ID NO:50(或與 SEQ ID NO:50 至少 95%，例如 95%、96%、97%、98%、99%或 100%相同之胺基酸序列)，

視情況地其中重鏈胺基酸序列(例如，重鏈成熟序列)之長度不超過 452 個胺基酸，且/或其中重鏈在其胺基酸序列之 C-端不包含離胺酸殘基，且/或其中重鏈在其胺基酸序列之 C-端具有甘胺酸，且/或其中重鏈可變區胺基酸序列長度不超過 123 個胺基酸，且/或視情況地其中輕鏈胺基酸序列長度不超過 214 個胺基酸，且/或其中輕鏈可變區胺基酸序列長度不超過 107 個胺基酸；及/或

(ix) 重鏈，該重鏈具有胺基酸序列 SEQ ID NO:38(或與 SEQ ID NO:38 至少 95%，例如 95%、96%、97%、98%、99%或 100%相同之胺基酸序列)；及/或

(x) 輕鏈，該輕鏈具有胺基酸序列 SEQ ID NO:42(或與 SEQ ID NO:42 至少 95%，例如 95%、96%、97%、98%、99%或 100%相同之胺基酸序列)。

4b. 如段落 4-4a 中任一項之載體，其中載體包含如段落 3b-3c 中任一項之 cDNA。

- 4c. 如段落 4-4b 中任一項之載體，其中載體包含啟動子(例如異源啟動子、例如細胞巨大病毒(例如細胞巨大病毒即刻早期啟動子)、猿猴病毒 40 或反轉錄病毒啟動子)。
5. 一種宿主細胞，其包含(i)如段落 2-3a 中任一項之核酸分子；(ii)如段落 3b-3c 中任一項之 cDNA；或(iii)如段落 4-4c 中任一項之載體，
視情況地其中該宿主細胞為哺乳動物宿主細胞(例如，中國倉鼠卵巢(CHO)細胞、HEK 293 細胞或 NS0 細胞)。
6. 如段落 2-3a 中任一項之核酸分子、如段落 3b-3c 中任一項之 cDNA、如段落 4-4c 中任一項之載體或如段落 5 之宿主細胞用於產生抗 DPR 抗體或其片段之用途。
7. 一種產生抗 DPR 抗體或其片段之方法，包含：(i)培養如段落 5 之宿主細胞；及(ii)自培養物中分離抗體或其片段。
8. 一種組成物，例如醫藥組成物，其包含如段落 1-1e 中任一項之抗 DPR 抗體或其片段、如段落 2-3a 中任一項之核酸分子、如段落 3b-3c 中任一項之 cDNA、如段落 4-4c 中任一項之載體、或如段落 5 之宿主細胞，
視情況地其中醫藥組成物包含醫藥學上可接受之載劑，
視情況地其中醫藥組成物適用於鞘內腔投與。
9. 一種治療有需要之受試者中與含有 DPR 之蛋白質或其聚集形式相關或由其引起之病症(例如，肌肉萎縮性脊髓側索硬化症(ALS)、額顳葉變性(FTLD)或 FTLD-ALS)之方法，包含向該受試者投與本文所述之抗 DPR 抗體或其片段(例如，如段落 1-1e 中任一項之抗 DPR 抗體或其片段)，從而治療受試者之病症(例如，ALS、FTLD 或 FTLD-ALS)。

10. 一種製備醫藥組成物之方法，該醫藥組成物用於治療與含有 DPR 之蛋白質或其聚集形式相關或由其引起之病症(例如，ALS、FTLD 或 FTLD-ALS)，該方法包含：(i)培養如段落 5 之宿主細胞；(ii)自培養物中分離及/或純化抗體或其片段至藥用級；及(iii)將抗體或其片段與醫藥學上可接受之載劑混合。

11. 如段落 1-1e 中任一項之抗 DPR 抗體或其片段、如段落 2-3a 中任一項之核酸分子、如段落 3b-3c 中任一項之 cDNA、如段落 4-4c 中任一項之載體或如段落 5 之宿主細胞，用於治療(例如，預防性及/或治療性治療)與含有 DPR 之蛋白質或其聚集形式相關或由其引起之病症(例如，ALS、FTLD 或 FTLD-ALS)。

12. 一種用於活體內偵測腦中之 DPR(例如，聚-GA DPR)沉積物之方法，該方法包含：

向受試者(例如，人受試者)投與如段落 1-1e 中任一項之抗 DPR 抗體或其片段，其中該抗體或其片段連接至可偵測標記(例如，酶、放射性同位素、螢光團、及/或重金屬)；及

偵測受試者腦中之可偵測標記，從而偵測受試者腦中之 DPR 沉積物，視情況地其中該 DPR 沉積物藉由正電子發射斷層攝影術(PET)、單光子發射斷層攝影術(SPECT)、近紅外(NIR)、光學造影或磁共振造影(MRI)來偵測。

序列

表 14. 序列之選擇

SEQ ID NO	描述	序列
3	NI-308.5J10 VH-CDR1	DYYWS
4	NI-308.5J10 VH-CDR2	RTYTNGKTTYTYNPSLES
5	NI-308.5J10 VH-CDR3	WGAVTGDYYYGMDV
8	NI-308.5J10 VL-CDR1	RSPRSLHTNGYTYLD
9	NI-308.5J10 VL-CDR2	LASNRAS

SEQ ID NO	描述	序列
10	NI-308.5J10 VL-CDR3	MQGLQPSWT
13	NI-308.5J10 VH-CDR2 序列 - N54S 突變	RTYTSKGKTTYTYNPSLES
14 (核酸)	NI-308.5J10 可變重鏈 (VH) 序列 - N54T 突變	cagggtgcagctgcaggagtcgggcccaggactggtgaagccttcggagaccctgtccctca cttacactgtcttaggtggctccgtcagtgattactactggagctgcatccggcagcccgccgg gaagggactggagtgattggcgcaacatatactaccgggaagaccacttacactacaacc cctccctcgagagtcgactcagttgtctatagacacgtccatgaaccaattctccctgaagttg acctctgtgacggccgcggacacggcgtctattactgcgcgagatggggggcggtgactg gtgactactactacggtatggacgtctggggcccaggcaccctggcaccgtctcctcg
14 (胺基酸)	NI-308.5J10 可變重鏈 (VH) 序列 - N54T 突變	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTYYTVLGGSVSDYYWSCIRQPA GKGLEWIGRTYTTGKTTYTYNPSLESRLSLSIDTSMNQFSL KLTSVTAADTAVYYCARWGAVTGDYYYGMDVWGPGLTV TVSS
16	NI-308.5J10 VH-CDR2 序列 - N54T 突變	RTYTTGKTTYTYNPSLES
19	NI-308.5J10 VH-CDR2 序列 - G55S 突變	RTYTNSKTTYTYNPSLES
22	NI-308.5J10 VH-CDR2 序列 - G55T 突變	RTYTNTKTTYTYNPSLES
25	NI-308.5J10 可變輕鏈 (VK) 質體 (SDD 152)	EIVLTQSPLSLSVTPGEPASISCRSPRSLHTNGYTYLDWYL QRPGQSPQLLIFLASNRASGVDPDRFSGSGSGTNFTLRISGVE ADDVGVYYCMQGLQPSWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFP PSDEQLKSGTASVCLLNFPYFREAKVQWKVDNALQSGN SQESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTH QGLSSPVTKSFNRGEC
26	NI-308.5J10-hI gG1 可變重鏈 (VH) 質體 (SDD 151)	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTYYTVLGGSVSDYYWSCIRQPA GKGLEWIGRTYTNKGTTYTYNPSLESRLSLSIDTSMNQFSL KLTSVTAADTAVYYCARWGAVTGDYYYGMDVWGPGLTV TVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDEL KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPG
27	NI-308.5J10 可	EIVLTQSPLSLSVTPGEPASISCRSPRSLHTNGYTYLDWYL

SEQ NO	ID	描述	序列
		變輕鏈 (VK) 質體 (SDD 177) - N75D 突變	QRPQGSPQLLIFLASNRASGVDPDRFSGSGSGTDFTLRISGVE ADDVG VY YCMQGLQPSWTFGQG TKVEIKRTVAAPS VFIFP PSDEQLKSGTASV VCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGN SQESVTEQDSKDSTYSLSSLTLTL SKADYEKHKVYACEVTH QGLSSPVTKSFNRGEC
28		NI-308.5J10-hI gG1 可變重鏈 (VH) 質體 (SDD 173) - N54S 突變	QVQLQESGPGLVKPSETLSLT YTVLGGSVSDYYWSCIRQPA GKGLEWIGRTYTS GKT TYTYNPSLESRLSLSIDTSMNQFSL KLTSVTAADTAVYYCARWGAVTG DYYYGMDVWGP GTLV TVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDEL T KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPG
29		NI-308.5J10-hI gG1 可變重鏈 (VH) 質體 (SDD 174) - N54T 突變	QVQLQESGPGLVKPSETLSLT YTVLGGSVSDYYWSCIRQPA GKGLEWIGRTYTTG KTT YTYNPSLESRLSLSIDTSMNQFSL KLTSVTAADTAVYYCARWGAVTG DYYYGMDVWGP GTLV TVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDEL T KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPG
30		NI-308.5J10-hI gG1 可變重鏈 (VH) 質體 (SDD 175) - G55S 突變	QVQLQESGPGLVKPSETLSLT YTVLGGSVSDYYWSCIRQPA GKGLEWIGRTYTNS KTT YTYNPSLESRLSLSIDTSMNQFSL KLTSVTAADTAVYYCARWGAVTG DYYYGMDVWGP GTLV TVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDEL T KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPG
31		NI-308.5J10-hI gG1 可變重鏈 (VH) 質體 (SDD 176) - G55T 突變	QVQLQESGPGLVKPSETLSLT YTVLGGSVSDYYWSCIRQPA GKGLEWIGRTYTNT KTT YTYNPSLESRLSLSIDTSMNQFSL KLTSVTAADTAVYYCARWGAVTG DYYYGMDVWGP GTLV TVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK

SEQ NO	ID	描述	序列
			EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
32		NI-308.5J10-F ab-6His 可變重鏈 (VH) 質體 (SDD 178)	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTYYTVLGGSVSDYYWSCIRQPA GKGLEWIGRTYTNNGKTTYTYNPSLESRLSLSIDTSMNQFSL KLTSVTAADTAVYYCARWGAVTGDYYYGMDVWGPGLTV TVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCHHHHHH
33		NI-308.5J10-F ab-6His 可變重鏈 (VH) 質體 (SDD 179) - N54S 突變	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTYYTVLGGSVSDYYWSCIRQPA GKGLEWIGRTYTSKGTTYTYNPSLESRLSLSIDTSMNQFSL KLTSVTAADTAVYYCARWGAVTGDYYYGMDVWGPGLTV TVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCHHHHHH
34		NI-308.5J10-F ab-6His 可變重鏈 (VH) 質體 (SDD 180) - N54T 突變	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTYYTVLGGSVSDYYWSCIRQPA GKGLEWIGRTYTTGKTTYTYNPSLESRLSLSIDTSMNQFSL KLTSVTAADTAVYYCARWGAVTGDYYYGMDVWGPGLTV TVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCHHHHHH
35		NI-308.5J10-F ab-6His 可變重鏈 (VH) 質體 (SDD 181) - G55S 突變	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTYYTVLGGSVSDYYWSCIRQPA GKGLEWIGRTYTNSKTTYTYNPSLESRLSLSIDTSMNQFSL KLTSVTAADTAVYYCARWGAVTGDYYYGMDVWGPGLTV TVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCHHHHHH
36		NI-308.5J10-F ab-6His 可變重鏈 (VH) 質體 (SDD 182) - G55T 突變	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTYYTVLGGSVSDYYWSCIRQPA GKGLEWIGRTYTNTKTTYTYNPSLESRLSLSIDTSMNQFSL KLTSVTAADTAVYYCARWGAVTGDYYYGMDVWGPGLTV TVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCHHHHHH
61		合成二肽重複蛋白 (GA)15	CHHHHHHGGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGA
62		合成二肽重複蛋白 (GP)15	CGPGPGPGPGPGPGPGPGPGPGPGPGPGPGPGP
63		合成二肽重複蛋白 (GR)15	CGRGRGRGRGRGRGRGRGRGRGRGRGRGRGRGR
64		合成二肽重複蛋白 (PA)15	CPAPAPAPAPAPAPAPAPAPAPAPAPAPAPAPAPA
65		合成二肽重複蛋白 (PR)15	CPRPRPRPRPRPRPRPRPRPRPRPRPRPRPRPR
66		二肽重複蛋白 肽 GA	GAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGA
67		二肽重複蛋白	GPGPGPGPGPGPGPGPGPGPGPGPGPGPGPGPGP

SEQ NO	ID	描述	序列
		肽 GP	
68		二肽重複蛋白 肽 GR	GRGRGRGRGRGRGRGRGRGRGRGRGRGRGRGR
69		二肽重複蛋白 肽 PA	PAPAPAPAPAPAPAPAPAPAPAPAPAPAPAPAP
70		二肽重複蛋白 肽 PR	PRPRPRPRPRPRPRPRPRPRPRPRPRPRPRPR
71		合成二肽重複 蛋白 (GA)20	GAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAG AGAHHHHHH
72		合成二肽重複 蛋白 (GA)10	GAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAHHHHHH
73		合成二肽重複 蛋白 (GA)6	GAGAGAGAGAGAHHHHHH
74		合成二肽重複 蛋白 (GA)5	GAGAGAGAGAHHHHHH
75		合成二肽重複 蛋白 (GA)4	GAGAGAGAHHHHHH
76		合成二肽重複 蛋白 (GA)3	GAGAGAHHHHHH
77		合成二肽重複 蛋白 (GA)2	GAGAHHHHHH

【0237】 以上揭露內容總體上描述了本發明。除非另有說明，否則本文使用之術語給出在 the Oxford Dictionary of Biochemistry and Molecular Biology, Oxford University Press, 1997, 2000 年修訂且 2003 年重印, ISBN 0 19 850673 2 中提供之定義。在整個本說明書之文本中引用了若干文件。完整書目引用可以在緊鄰申請專利範圍之前的說明書末尾找到。所有引用之參考文獻(包括本申請案中引用之參考文獻、授權專利、公開專利申請案，包括背景部分及製造商之規格、說明書等)之內容以引用之方式明確併入本文；然而，不承認所引用之任何文件確實為相對於本發明之先前技術。

【0238】 藉由參考以下具體實例可以獲得更完整之理解，此等實例在本文中僅出於說明目的而提供，且不意欲限制本發明之範圍。

實例

實例 1：抗-(聚-GA)二肽重複(DPR)蛋白抗體之分離及鑒定

【0239】 靶向聚-GA 二肽重複(DPR)蛋白、其片段、C9orf72-DPR 之人源抗體及/或其片段基於國際申請案 WO 2016/050822 A2 中描述之方法鑒定，該申請案之揭露內容以引用之方式併入本文。特別地，藉由 Schafer-N(Copenhagen，Denmark)合成且純化聚-GA 二肽重複蛋白(GA₁₅: H-CHHHHHH(GA)₁₅-OH) (SEQ ID NO: 61)。然後經由雙官能接頭(SMCC)將聚-GA 二肽重複蛋白偶聯至牛血清白蛋白(BSA)。隨後，使用 96 孔微量培養板(Corning)進行直接 ELISA，該等微量培養板用塗佈緩衝液(15 mM Na₂CO₃, 35 mM NaHCO₃, pH 9.42)中濃度為 5 µg/ml 之非偶聯或 BSA 偶聯之聚-GA 二肽重複蛋白或 BSA(Sigma-Aldrich，Buchs，Switzerland)塗佈。將非特異性結合位點在室溫下用含有 2%BSA 之 PBS/0.1%Tween[®]-20(Sigma-Aldrich，Buchs，Switzerland)封閉 1 h。將 B 細胞條件培養基自記憶 B 細胞培養板轉移至 ELISA 板，且在 RT 下溫育 1 小時，然後與偶聯有 HRP 之驢抗人 IgG Fcγ 特異性抗體(Jackson ImmunoResearch Laboratories, Inc., West Grove, USA)及偶聯有 HRP 之山羊抗人 IgA 特異性抗體(Jackson ImmunoResearch Laboratories, Inc., West Grove, USA)一起溫育。藉由在標準比色檢定中量測 HRP 活性來判定結合。僅顯示培養基中含有之抗體與聚-GA DPR 而不與 BSA 結合之 B 細胞培養物經歷抗體選殖。

實例 2：抗體序列之測定

【0240】 上述經鑒定抗(聚-GA)DPR 抗體之可變區之胺基酸序列基於其 mRNA 序列來測定，參見圖 1A-F。簡言之，收穫所選非永生化記憶 B 細胞培養物之活 B 細胞。隨後，萃取產生所選抗-(聚-GA)DPR 抗體之細胞之 mRNA 且將其轉化為 cDNA，且藉由 PCR 擴增編碼抗體可變區之序列，將其選殖到質體載體中且測序。簡言之，將代表人免疫球蛋白種系庫之所有序列家族之引子組合

用於擴增前導肽、V-區段及 J-區段。使用 5'-端之前導肽特異性引子及 3'-端之恆定區特異性引子進行第一輪擴增(Smith 等人, Nat Protoc. 4 (2009), 372-384)。對於重鏈及 κ 輕鏈, 使用 5'端之 V 區段特異性引子及 3'端之 J 區段特異性引子進行第二輪擴增。對於 λ 輕鏈, 使用 5'端之 V 區段特異性引子及 3'端之 C 區特異性引子進行第二輪擴增(Marks 等人, Mol. Biol. 222 (1991), 581-597 ; de Haard 等人, J. Biol. Chem. 26 (1999), 18218-18230)。

【0241】 在重組表現完整抗體後, 藉由在 ELISA 上重新篩選來進行具有所要特異性之抗體純系之鑒定。將可變重鏈及輕鏈序列以「正確閱讀框」插入表現載體中, 使可變區序列與編碼 5'端及 3'端之前導肽之序列、與編碼適當恆定域之序列互補, 從而達成完整人 IgG1 抗體之重組表現。為此, 引子含有限制性位點, 該等限制性位點經設計以促進將可變重鏈及輕鏈序列選殖到抗體表現載體中。藉由將免疫球蛋白重鏈 RT-PCR 產物框內插入攜帶信號肽及人或小鼠免疫球蛋白 $\gamma 1$ 之恆定域之重鏈表現載體中來表現重鏈免疫球蛋白。藉由將 κ 輕鏈 RT-PCR 產物框內插入輕鏈表現載體中來表現 κ 輕鏈免疫球蛋白, 該輕鏈表現載體提供信號肽及人 κ 輕鏈免疫球蛋白之恆定域。藉由將 λ 輕鏈 RT-PCR 產物框內插入 λ 輕鏈表現載體中來表現 λ 輕鏈免疫球蛋白, 該 λ 輕鏈表現載體提供信號肽及人或小鼠 λ 輕鏈免疫球蛋白之恆定域。

【0242】 在將 Ig-重鏈表現載體及 κ 或 λ Ig-輕鏈表現載體共轉染到 HEK 293 或 CHO 細胞(或人或小鼠來源之任何其它合適受體細胞株)中後獲得功能性重組單株抗體。隨後使用標準蛋白 A 管柱純化自條件培養基中純化重組人單株抗體。可以使用瞬時或穩定轉染之細胞以無限量產生重組人單株抗體。可以藉由直接使用 Ig 表現載體或藉由將 Ig 可變區重新選殖到不同表現載體中來建立產生

重組人單株抗體之細胞株。亦可以自此等 Ig 可變區產生諸如 F(ab)、F(ab)₂ 及 scFv 之衍生物。

【0243】 藉由與資料庫諸如 Abysis(<http://www.bioinf.org.uk/abysis/>)中可獲得之參考抗體序列相比較來判定框架及互補決定區，且使用 Kabat 編號方案(<http://www.bioinf.org.uk/abs/>)進行注釋。

實例 3：對 C9orf72 二肽重複蛋白之 ELISA EC₅₀ 分析

【0244】 為了測定重組人源 C9orf72 抗體 NI-308.5J10 對 C9orf72 聚-GA DPR 之結合特異性及半數最大有效濃度(EC₅₀)，進行 ELISA EC₅₀ 分析。簡言之，藉由 Schafer-N(Copenhagen, Denmark) 合成且純化二肽重複蛋白：(GA)₁₅: H-CHHHHHH(GA)₁₅-OH (SEQ ID NO: 61)；(GP)₁₅: H-C(GP)₁₅-OH (SEQ ID NO: 62)；(GR)₁₅: H-C(GR)₁₅-OH (SEQ ID NO: 63)；(PA)₁₅: H-C(PA)₁₅-OH (SEQ ID NO: 64)；(PR)₁₅: H-C(PR)₁₅-OH (SEQ ID NO: 65)。將 96 孔微量培養板(Corning Incorporated, Corning, USA)用塗佈緩衝液(15 mM Na₂CO₃, 35 mM NaHCO₃, pH 9.42)中濃度為 5 µg/ml 或 20 µg/ml 之二肽重複蛋白肽塗佈。將非特異性結合位點在 RT 下用含有 2%BSA 之 PBS/0.1%Tween®-20(Sigma-Aldrich, Buchs, Switzerland)封閉 1 h。將 NI-308.5J10 稀釋至指定濃度且在 RT 下溫育 1 h，然後與偶聯有 HRP 之驢抗人 IgG Fcγ 特異性抗體(Jackson ImmunoResearch Laboratories, Inc., West Grove, USA)一起溫育。藉由在標準比色檢定中量測 HRP 活性來判定結合。

【0245】 藉由使用 GraphPad Prism 軟體(San Diego, USA)進行非線性迴歸來估計 EC₅₀ 值。藉由間接 ELISA 測定人源抗體 NI-308.5J10 對 C9orf72 二肽重複蛋白肽(GA)₁₅ (SEQ ID NO: 66)、(GP)₁₅ (SEQ ID NO: 67)、(GR)₁₅ (SEQ ID NO: 68)、(PA)₁₅ (SEQ ID NO: 69)及(PR)₁₅ (SEQ ID NO: 70)之結合特異性及 EC₅₀。抗體

NI-308.5J10 以亞奈莫耳範圍內之結合親和力來特異性識別聚-GA DPR 蛋白(表 3，圖 2)。總之，藉由 RTM™篩選對健康老年人供體群體進行之高通量免疫譜庫分析導致人單株抗體之成功選殖及重組產生，該人單株抗體以高親和力特異性靶向 C9orf72 六核苷酸擴增相關之聚-GA DPR。

抗體	EC ₅₀ [nM]				
	(GA) ₁₅ (SEQ ID NO: 66)	(GP) ₁₅ (SEQ ID NO: 67)	(GR) ₁₅ (SEQ ID NO: 68)	(PR) ₁₅ (SEQ ID NO: 70)	(PA) ₁₅ (SEQ ID NO: 69)
NI-308.5J10	0.26	-	-	-	-

表 3：人源抗體 NI-308.5J10 對 5 種 C9orf72 DPR 蛋白之 EC₅₀ 分析。

實例 4：對經 BSA 偶聯 DPR 肽之結合親和力

【0246】 為了測定重組人源 NI-308.5J10 抗體對與牛血清白蛋白(BSA)偶聯之聚-GA C9orf72 二肽重複蛋白肽之半數最大有效濃度(EC₅₀)，進行 ELISA EC₅₀ 分析。簡言之，藉由 Schafer-N(Copenhagen, Denmark)合成且純化聚-GA 二肽重複蛋白：(GA)₁₅: H-CHHHHHH(GA)₁₅-OH (SEQ ID NO: 61)。然後經由雙官能接頭 (SMCC)將聚-GA DPR 蛋白肽偶聯至牛血清白蛋白(BSA)。將 96 孔微量培養板 (Corning Incorporated，Corning，USA)用塗佈緩衝液(15 mM Na₂CO₃, 35 mM NaHCO₃, pH 9.42)中濃度為 5 µg/ml 之聚-GA BSA 偶聯或未偶聯之二肽重複蛋白肽塗佈。將非特異性結合位點在 RT 下用含有 2%BSA 之 PBS/0.1%Tween®-20(Sigma-Aldrich, Buchs, Switzerland)封閉 1 h。將 NI-308.5J10 稀釋至指定濃度且在 RT 下溫育 1 h，然後與偶聯有 HRP 之驢抗人 IgG Fcγ 特異性抗體(Jackson ImmunoResearch Laboratories, Inc., West Grove, USA)一起溫育。藉由在標準比色檢定中量測 HRP 活性來判定結合。

【0247】 藉由使用 GraphPad Prism 軟體(San Diego, USA)進行非線性迴歸來估計 EC₅₀ 值。測定 BSA 偶聯及未偶聯聚-GA DPR 對於抗體 NI-308.5J10 之可比較

結合親和力(表 4，圖 3)。總之，在此等實驗條件下，抗體 NI-308.5J10 以與疏水塗佈肽相當之親和力來識別與 BSA 載體蛋白偶聯之聚-GA DPR 肽。

抗體	肽	EC ₅₀ [nM]	
		BSA-偶聯肽	未偶聯肽
NI-308.5J10	(GA) ₁₅ (SEQ ID NO: 66)	0.16	0.23

表 4：對 BSA 偶聯及未偶聯 C9orf72 DPR 肽之結合親和力。

實例 5：對不相關致澱粉樣蛋白之結合特異性分析

【0248】 為了判定 NI-308.5J10 重組抗體之靶特異性，如下進行間接 ELISA。將 96 孔微量培養板(Corning Incorporated，Corning，USA)用塗佈緩衝液(15 mM Na₂CO₃, 35 mM NaHCO₃, pH 9.42)中濃度為每種肽 5 µg/ml 之(GA)₁₅ (SEQ ID NO: 66)、(GP)₁₅ (SEQ ID NO: 67)、(GR)₁₅ (SEQ ID NO: 68)、(PA)₁₅ (SEQ ID NO: 69)或(PR)₁₅ (SEQ ID NO: 70)肽或濃度為 5-10 µg/ml 之不相關靶蛋白塗佈。將非特異性結合位點在 RT 下用含有 2%BSA 之 PBS/0.1%Tween[®]-20(Sigma-Aldrich, Buchs, Switzerland)封閉 1 h。將 NI-308.5J10 抗體以 4 nM 濃度稀釋且在 RT 下溫育 1 h。使用偶聯有 HRP 之驢抗人 IgG Fcg 特異性抗體(Jackson ImmunoResearch Laboratories, Inc., West Grove, USA)測定結合，然後在標準比色檢定中量測 HRP 活性。以高於中值之倍數增加計算靶蛋白之信號。藉由間接 ELISA 判定 NI-308.5J10 人源抗體之靶特異性，評估抗體與 C9orf72 二肽重複蛋白及七種不相關澱粉樣蛋白形成蛋白(IAPP、Ab、HD、TTR、a-syn、Tau、TDP-43)之結合。如圖 4 所示，人源抗體 NI-308.5J10 顯示出對聚-GA DPR 肽之高結合特異性，其與不相關致澱粉樣蛋白不存在交叉反應性或交叉反應性最小。

實例 6：C9orf72 二肽重複蛋白之西方墨點分析

【0249】 為了判定重組人源 C9orf72 抗體 NI-308.5J10 對 C9orf72 聚-GA 二肽重複蛋白之結合特異性，進行免疫墨點分析。藉由 Schafer-N(Copenhagen,

Denmark)合成且純化二肽重複蛋白肽：(GA)₁₅: H-CHHHHHH(GA)₁₅-OH (SEQ ID NO: 61)；(GP)₁₅: H-C(GP)₁₅-OH (SEQ ID NO: 62)；(GR)₁₅: H-C(GR)₁₅-OH (SEQ ID NO: 63)；(PA)₁₅: H-C(PA)₁₅-OH (SEQ ID NO: 64)；(PR)₁₅: H-C(PR)₁₅-OH (SEQ ID NO: 65)。然後經由雙官能接頭(SMCC)將 DPR 蛋白肽偶聯至牛血清白蛋白(BSA)。簡言之，藉由使用補充有抗氧化劑之 Novex® NuPAGE® MES SDS 電泳緩衝液 (Life Technologies Europe B.V., Zug, Switzerland) 進行梯度 SDS-PAGE(Novex® Bis-Tris NuPAGE® 4-12%; Life Technologies Europe B.V., Zug, Switzerland)來解析 BSA 偶聯之二肽重複蛋白肽(0.5 µg)。然後藉由使用 Novex® NuPAGE® 轉移緩衝液 2x(Life Technologies Europe B.V., Zug, Switzerland)在經甲醇活化之 PVDF 膜(Immobilon®-P Transfer Membrane, Merck & Cie, Schaffhausen, Switzerland)上對經解析蛋白質進行電轉染 (Novex® Semi-Dry Blotter, 1 h, 25V)。將非特異性結合位點在 4°C 下(或者，在 RT 下 1 h)用含有 2%BSA 之 PBS/0.1%Tween®-20(Sigma-Aldrich, Buchs, Switzerland)(PBST)封閉過夜。將 NI-308.5J10 抗體以 10 nM 濃度稀釋，且在 RT 下溫育 1 h(或者在 4°C 下溫育過夜)。在 RT 下將膜在 PBST 中洗滌三次，持續 15 min，且然後在 RT 下與偶聯有 HRP 之驢抗人 IgG Fcγ 特異性抗體(1:20000 或 1:10000 稀釋，Jackson ImmunoResearch Laboratories, Inc., West Grove, USA)一起溫育 1 h。藉由使用 ECL 及 ImageQuant 350 偵測(GE Healthcare, Otelfingen, Switzerland)進行膜顯色來判定抗體結合。

【0250】 藉由西方墨點分析判定人源抗體 NI-308.5J10 與 BSA 偶聯之 C9orf72 二肽重複蛋白(GA)₁₅ (SEQ ID NO: 66)、(GP)₁₅ (SEQ ID NO: 67)、(GR)₁₅ (SEQ ID NO: 68)、(PA)₁₅ (SEQ ID NO: 69)及(PR)₁₅ (SEQ ID NO: 70)之結合特異性。抗體 NI-308.5J10 特異性識別 DPR 蛋白聚-GA(圖 5)。總之，人源抗體 NI-308.5J10 可

以在 SDS PAGE 及西方墨點後識別 BSA 偶聯之聚-GA DPR 肽。所觀察到之結合模式與藉由 ELISA 分析獲得之結果一致。

實例 7：藉由間接 ELISA 表徵重複序列長度依賴性結合

【0251】 為了判定重組人源抗體 308.5J10 與具有不同重複序列大小之 C9orf72 DPR 之結合親和力，進行 ELISA EC₅₀ 分析。簡言之，藉由 Schafer-N(Copenhagen, Denmark) 合成且純化二肽重複蛋白肽： GA₂₀: H-(GA)₂₀HHHHHHH-NH₂ (SEQ ID NO: 71); GA₁₀: H-(GA)₁₀HHHHHHH-NH₂ (SEQ ID NO: 72) ； GA₆: H-(GA)₆HHHHHHH-NH₂ (SEQ ID NO: 73) ； GA₅: H-(GA)₅HHHHHHH-NH₂ (SEQ ID NO: 74) ； GA₄: H-(GA)₄HHHHHHH-NH₂ (SEQ ID NO: 75) ； GA₃: H-(GA)₃HHHHHHH-NH₂ (SEQ ID NO: 76) ； GA₂: H-(GA)₂HHHHHHH-NH₂ (SEQ ID NO: 77)。將 96 孔微量培養板(Corning Incorporated, Corning, USA)用塗佈緩衝液(15 mM Na₂CO₃, 35 mM NaHCO₃, pH 9.42)中濃度為 50 µg/ml 之二肽重複序列蛋白肽塗佈。將非特異性結合位點在 RT 下用含有 2%BSA 之 PBS/0.1%Tween®-20(Sigma-Aldrich, Buchs, Switzerland)封閉 1 h。將 NI-308.5J10 稀釋至指定濃度且在 RT 下溫育 1 h，然後與偶聯有 HRP 之驢抗人 IgG Fcγ 特異性抗體(Jackson ImmunoResearch Laboratories, Inc., West Grove, USA)一起溫育。藉由在標準比色檢定中量測 HRP 活性來判定結合。藉由使用 GraphPad Prism 軟體(San Diego, USA)進行非線性迴歸來估計 EC₅₀ 值。

【0252】 在疏水性肽塗佈後，藉由間接 ELISA 測定抗體 NI-308.5J10 對具有不同重複序列長度之 C9orf72 聚-GA DPR 蛋白之結合親和力。對於第一次可偵測結合，抗體 NI-308.5J10 需要至少 6 個 GA 重複序列。偵測到具有 10(SEQ ID NO:79)或 20(GA)-重複序列(SEQ ID NO:82)之聚-GA DPR 之高親和力結合，其反映在亞奈莫耳範圍之 EC₅₀ 中(表 5，圖 6)。總之，人源 NI-308.5J10 抗體顯示出

在缺乏與較短重複序列大小之結合之情況下與聚-GA DPR 之重複序列長度依賴性結合、及與經延長之二肽重複序列之優先高親和力結合。

抗體	EC ₅₀ [nM]						
	(GA) ₂ (SEQ ID NO: 71)	(GA) ₃ (SEQ ID NO: 72)	(GA) ₄ (SEQ ID NO: 73)	(GA) ₅ (SEQ ID NO: 74)	(GA) ₆ (SEQ ID NO: 75)	(GA) ₁₀ (SEQ ID NO: 76)	(GA) ₂₀ (SEQ ID NO: 77)
NI-308.5J10	-	-	-	-	13.8	0.30	0.29

表 5：抗體 NI-308.5J10 之 C9orf72 聚-GA 重複序列長度依賴性結合。

實例 8：藉由生物層干涉術表徵結合特性

【0253】 為了測定 NI-308.5J10 抗體與(GA)₁₅(SEQ ID NO:66)二肽重複(DPR) 肽之結合常數 (K_D、K_a、K_d)，已進行了生物層干涉術 (BLI)。藉由 Schafer-N(Copenhagen, Denmark)合成且純化聚-GA 二肽重複蛋白肽：(GA)₁₅: H-CHHHHHH(GA)₁₅-OH (SEQ ID NO: 61)。將純的凍乾(GA)₁₅(SEQ ID NO:66)以 10 mg/ml 之濃度溶解於 DMSO(Sigma-Aldrich，Buchs，Switzerland)中且儲存在 -20°C 下。簡言之，在 Octet RED96 儀器(Pall ForteBio LLC, Fremont, USA)上進行生物層干涉實驗。將 Octet 胺反應性(AR2G)生物感測器用於共價固定(GA)₁₅(SEQ ID NO:66)二肽重複蛋白肽。用 EDC(1-乙基-3-[3-二甲基胺基丙基]碳二亞胺鹽酸鹽；20 mM 水溶液；Pall ForteBio LLC, Fremont, USA)及 s-NHS(N-羥基磺基琥珀醯亞胺；10 mM 水溶液；Pall ForteBio LLC, Fremont, USA)活化 AR2G 生物感測器持續 300 s，然後將 10 mM 乙酸鹽緩衝液 pH 6(Pall ForteBio LLC, Fremont, USA)中之 5 µg/ml(GA)₁₅(SEQ ID NO:66)肽加載至生物感測器表面持續 600 s。在加載肽後，用 1 M 乙醇胺 pH 8.5(Pall ForteBio LLC, Fremont, USA)淬滅 AR2G 生物感測器持續 300 s，在動力學緩衝液(Pall ForteBio LLC, Fremont, USA)中漂洗持續 120 s(基線)，且在經稀釋動力學緩衝液(在 PBS 中 1:10)中評估不同濃度(30、15、7.5、3.75 及 1.875 nM)之人 NI-308.5J10 抗體結合持續 600 s。在動力學緩衝液中評估抗體解離持續 800 s。藉由收集具有僅 PBS 參考之資料來引用所有結合資

料。藉由使用 Octet 系統軟體(Pall ForteBio LLC，Fremont，USA)進行資料分析，同時用 1:1 交互模型進行 K_a/K_d 全域擬合。在擬合時用來自 GraphPad(San Diego, USA)之 Prism 軟體繪製 BLI 感測圖。

【0254】 抗體 NI-308.5J10 以高親和力 $K_D(0.15\pm0.02\text{ nM})$ 結合至聚-GA DPR 肽，具有高結合速率常數($K_a=(1.63\pm0.05)\times10^5\text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$)及在約相同範圍中之解離常數($K_d = 2.4\pm0.4)\times10^{-5}\text{ s}^{-1}$)(圖 7 及表 6)。總之，抗體 NI-308.5J10 以高親和力識別聚-GA DPR 肽。

抗體	$K_D\text{ (M)}$	$K_a\text{ (M}^{-1}\text{s}^{-1}\text{)}$	$K_d\text{ (s}^{-1}\text{)}$
NI-308.5J10	$(1.5 \pm 0.2) \times 10^{-10}$	$(1.63 \pm 0.05) \times 10^5$	$(2.4 \pm 0.4) \times 10^{-5}$

表 6：抗體 NI-308.5J10 對聚-GA DPR 肽之結合常數(K_D 、 K_a 、 K_d)

實例 9：藉由生物層干涉術進行競爭性結合測定

【0255】 為了判定抗體 NI-308.5J10 及 NI-mAb 參考之抗原決定基競爭組，已進行了生物層干涉術(BLI)。藉由 Schafer-N(Copenhagen, Denmark)合成且純化聚-GA 二肽重複蛋白肽： $(GA)_{15}$: H-CHHHHHH(GA)₁₅-OH (SEQ ID NO: 61)。將純的凍乾(GA)₁₅(SEQ ID NO:66)以 10 mg/ml 之濃度溶解於 DMSO(Sigma-Aldrich，Buchs，Switzerland)中且儲存在-20℃下。簡言之，在 Octet RED96 儀器(Pall ForteBio LLC, Fremont, USA)上進行生物層干涉術實驗。將 Octet 胺反應性 (AR2G)生物感測器用於共價固定(GA)₁₅(SEQ ID NO:66)二肽重複蛋白肽。用 EDC(1-乙基-3-[3-二甲基胺基丙基]碳二亞胺鹽酸鹽；20 mM 水溶液；Pall ForteBio LLC, Fremont, USA)及 s-NHS(N-羥基磺基琥珀醯亞胺；10 mM 水溶液；Pall ForteBio LLC, Fremont, USA)活化 AR2G 生物感測器持續 300 s，然後將 10 mM 乙酸鹽緩衝液 pH 6(Pall ForteBio LLC, Fremont, USA)中之 5 μg/ml(GA)₁₅(SEQ ID NO:66)肽加載至生物感測器表面持續 600 s。在加載肽後，用 1 M 乙醇胺 pH 8.5(Pall ForteBio LLC, Fremont, USA)淬滅 AR2G 生物感測器持續 300 s，在動力

學緩衝液(Pall ForteBio LLC, Fremont, USA)中漂洗持續 120 s(基線)。然後以成對方式評估 NI-308 抗體之靶標結合:參考 NI-308 抗體(15 nM,在動力學緩衝液(Pall ForteBio LLC, Fremont, USA)中)與(GA)₁₅(SEQ ID NO:66)肽進行結合(持續 800 s),隨後直接結合(持續 800 s)競爭性 NI-308 抗體(15 nM,在動力學緩衝液(Pall ForteBio LLC, Fremont, USA)中)。藉由收集具有僅 PBS 參考之資料來引用所有結合資料。藉由使用 Octet 系統軟體(Pall ForteBio LLC, Fremont, USA)進行資料分析。用來自 GraphPad(San Diego, USA)之 Prism 軟體繪製 BLI 感測圖。

【0256】 藉由 NI-308.5J10 抗體與靶標之預先結合消除了抗體 NI-mAb 參考與 C9orf72 二肽重複蛋白肽(GA)₁₅(SEQ ID NO:66)之結合(圖 8A),這表明 NI-mAb 參考抗體識別亦由 NI-308.5J10 抗體靶向之結合抗原決定基。藉由 NI-mAb 參照抗體與靶標之預先結合不會阻斷抗體 NI-308.5J10 與 C9orf72 DPR 肽(GA)₁₅(SEQ ID NO:66)之結合(圖 8B),這表明該抗體可能識別聚-GA 肽上之其它構形抗原決定基。總之,抗體 NI-308.5J10 及 NI-mAb 參考識別共同結合抗原決定基且抗體 NI-308.5J10 與抗體 NI-mAb 參考相比可能識別聚-GA 肽上之其它構形抗原決定基。

實例 10:藉由 SDS PAGE 進行抗體完整性分析

【0257】 為了評估重組人 NI-308.5J10 抗體之純度及完整性,已進行了 SDS PAGE 分析。簡言之,藉由瞬時轉染 CHO-S 細胞來表現人 NI-308.5J10 抗體,且藉由在 FPLC 系統(ÄKTApurifier; GE Healthcare Life Sciences)上進行蛋白 A 親和純化來純化該抗體。在 PD-10 管柱(GE Healthcare Life Sciences)脫鹽後,在 PBS 中調配該抗體。在還原條件下藉由使用補充有抗氧化劑之 Novex[®] NuPAGE[®] MES SDS 運行緩衝液(Life Technologies Europe B.V., Zug, Switzerland)進行梯度 SDS-PAGE(Novex[®] Bis-Tris NuPAGE[®] 4-12%; Life Technologies Europe B.V., Zug,

Switzerland)，然後進行考馬斯藍染色(Novex[®] SimplyBlueTM SafeStain, Life Technologies Europe B.V., Zug, Switzerland)，解析 2 及 10 µg 經純化重組人 NI-308.5J10 抗體。因此，重組人 NI-308.5J10 抗體在還原條件下之 SDS-PAGE 分析揭示了對應於預期大小之抗體重鏈及輕鏈之兩個主要條帶。未偵測到明顯之污染或蛋白水解降解產物(圖 9)。

實例 11：對死後人 C9orf72-FTLD 及非神經病學對照腦組織中 DPR 聚集物病理之結合分析

【0258】 為了評估抗體 NI-308.5J10 與源自人 C9orf72-FTLD 患者及非神經病學對照之死後小腦組織中之 C9orf72 二肽重複蛋白之結合，已進行了結合分析。簡言之，藉由在 1 mM EDTA 緩衝液 pH 8.3 中蒸煮且微波輻射 12 min(600 W)來預處理來自 3 位具有 C9orf72 六核苷酸重複擴增之 FTLD 患者及 1 位非神經病學對照受試者(BiOBANC HCB-IDIBAPS, Barcelona, Spain)之小腦之經福爾馬林固定、經石蠟包埋 5 µm 切片以用於抗原修復。藉由在 RT 下用甲醇中之 3% H_2O_2 處理 10 min 來達成內源性過氧化物酶活性之淬滅。將非特異性結合位點在 RT 下用 PBS/5%血清(馬/山羊)/4%BSA 封閉 1 h。在封閉步驟後，在 4°C 下將切片與 20 nM 濃度之人源 NI-308.5J10 抗體溫育過夜。用生物素化驢抗人 IgG(H+L)(1:350 稀釋，Jackson ImmunoResearch Laboratories, Inc., West Grove, USA)或抗兔二抗(1:250 稀釋，Vector Laboratories; Burlingame, USA)進行偵測，且用 Vectastain Elite ABC 套組(Vector Laboratories, Burlingame, USA)擴增抗體信號，並用二胺基聯苯胺(DAB, Thermo Scientific, Rockford, USA)偵測。使用 Eukitt[®]封固劑(O. Kindler GmbH; Freiburg, Germany)安裝載玻片。使用 Dotslide VS120 載玻片掃描儀(Olympus Schweiz AG, Switzerland)進行亮視野造影。藉由對來自患有 FTLD 之所選患者及非神經病學對照受試者之小腦切片進行免疫組織化學分析，評估

NI-308.5J10 與病理性 C9orf72 二肽重複蛋白之結合。如圖 10 所示，人源 NI-308.5J10 抗體顯示出在所測試 C9orf72-FTLD 病例之小腦顆粒細胞層中之顯著神經元細胞質包涵體、神經元核內包涵體及營養不良神經突。相反，非神經病學對照小腦對所測抗體呈陰性(圖 10)。總之，人源抗體 NI-308.5J10 特異性偵測 C9orf72-FTLD 病例之小腦顆粒細胞層中之 C9orf72 二肽重複蛋白，而在對照小腦中未觀察到染色，這證明了抗體之高靶標特異性。

實例 12：鑒定 NI-308.5J10 中之輕鏈糖基化及重鏈 Asn54 脫醯胺

【0259】 為了鑒定轉譯後修飾，已進行了質譜分析。在用 PNG 酶 F(Prozyme) 進行去糖基化之前，藉由加熱使 NI-308.5J10 hIgG1 變性且用 RapiGest(Waters, Inc)處理。在處理後，在 37°C 下將蛋白質用 4 M 尿素中之 40 mM DTT 及 10 mM EDTA 變性 1 小時。將 RapiGest 用 0.5%TFA 在 37°C 淬滅 1 小時，且在 LCT Premier 質譜儀(Waters, Inc)上分析。在 TSKgel Phenyl-5PW 管柱(2.0×75 mm, 10 μm, TOSOH Bioscience)上達成輕鏈及重鏈之分離。藉由使用 MaxEnt 1 軟體(Waters, Inc) 進行反摺續來產生分子量。經還原 NI-308.5J10 之完整質量分析顯示輕鏈之 N-糖基化位點幾乎完全被雜合/複合聚糖佔據，且所偵測到之重鏈對應於經預測之 pyroGLu23-475。

【0260】 然後，進行了胰蛋白酶消化/質譜分析。簡言之，將抗體 NI-308.5J10 還原、烷基化、沉澱且用胰蛋白酶消化。在室溫下，使用 2 M 尿素、0.15 M tris-HCl、2 mM CaCl₂ pH 7.6 及 5 mM 甲胺中之 7%(w/w)胰蛋白酶(Promega)進行胰蛋白酶消化持續 8 小時。為了移除 N-聚糖，在溫育 6 小時後向混合物中加入 1.25 mU PNGaseF(Prozyme)。在 LC-MS 分析前，向消化物中加入尿素至最終濃度為 4 M。在由 UPLC 及 Xevo G2-S QToF 質譜儀(Waters, Inc)組成之 LC-MS 系統上分析消化混合物。用具有梯度溶離(TFA/乙腈)之 Acquity HSS T3 C18 管柱

(2.1×150 mM，Waters，Inc)來達成消化物之分離。使用 BiopharmaLynx 軟體處理 LC-MS 肽作圖資料。以人工方式驗證鑒定。根據離子計數來估算修飾量。分析顯示，重鏈之 Asn54 極易受到脫醯胺作用。超過 85%之 HC Asn54 為脫醯胺化的，在該樣品中約 85%為 isoAsp 形式。結果概述於表 7 中。在 NI308.5J10Fab 之晶體結構中亦觀察到 54 位之 isoAsp。

氧化位點	% 脫醯胺
LC N33	2
HC N54	96
HC N391	1.7
HC N396	0.3

表 7：NI308.5J10 中 Asn 殘基脫醯胺之結果

實例 13：NI-308.5J10 變異體之設計及突變之驗證

【0261】 選擇一個 NI-308.5J10 輕鏈突變以移除輕鏈糖基化位點(N75D)。選擇四個 NI-308.5J10 重鏈突變以移除易脫醯胺之天冬醯胺(N54S，N54T)或 55 位之甘胺酸(G55S，G55T)。設計構築體以用於表現作為完整人 IgG1 之變異體。為了表現 Fab，設計含有具有 C-端六組胺酸標籤之變異體之 VH 及 CH1 區之構築體 (SEQ ID NO:84)。序列列於表 8 中。

SEQ ID NO	質體#	經修飾之位置	胺基酸序列
27	SDD177	VL-N75D	EIVLTQSPLSLSVTPGEPASISCRSPRSLHTNGY TYLDWYLQRPQGSPQLLIFLASNRASGVDPDRFS GSGSGTDFTLRISGVEADDVGYYCMQGLQPS WTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGT ASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQE SVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYAC EVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
28	SDD173	VH-N54S 完整 hIgG1	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTYYTVLGGSVSDYY WSCIRQPAGKGLEWIGRTYTS GKTTYTYPNPSLE SRLSLSIDTSMNQFSLKLTSVTAADTAVYYCAR WGAVTGDYYYGMDVWGPGLTVTVSSASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKT HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNAKALPAIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR

			DELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
29	SDD174	VH-N54T 完整 hIgG1	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTYYTVLGGSVSDYY WSCIRQPAGKGLEWIGRTYTTGKTTYTYNPSLE SRLSLSIDTSMNQFSLKLTSVTAADTAVYYCAR WGAVTGDYYYGMDVWGPGLTVTVSSASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKT HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNAKALPAIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
30	SDD175	VH-G55S 完整 hIgG1	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTYYTVLGGSVSDYY WSCIRQPAGKGLEWIGRTYTNSKTTYTYNPSLE SRLSLSIDTSMNQFSLKLTSVTAADTAVYYCAR WGAVTGDYYYGMDVWGPGLTVTVSSASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKT HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNAKALPAIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
31	SDD176	VH-G55T 完整 hIgG1	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTYYTVLGGSVSDYY WSCIRQPAGKGLEWIGRTYTNTKTTYTYNPSLE SRLSLSIDTSMNQFSLKLTSVTAADTAVYYCAR WGAVTGDYYYGMDVWGPGLTVTVSSASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKT HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNAKALPAIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
32	SDD178	WT Fab-his	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTYYTVLGGSVSDYY WSCIRQPAGKGLEWIGRTYTNGKTTYTYNPSLE SRLSLSIDTSMNQFSLKLTSVTAADTAVYYCAR

			WGAVTGDYYYGMDVWGPGLTVTVSSASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCHHH HHH
33	SDD179	VH-N54S Fab-6H	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTYYTVLGGSVSDYY WSCIRQPAGKGLEWIGRTYTSKGTTYTYNPSLE SRLSLSIDTSMNQFSLKLTSVTAADTAVYYCAR WGAVTGDYYYGMDVWGPGLTVTVSSASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCHHH HHH
34	SDD180	VH-N54T Fab-6H	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTYYTVLGGSVSDYY WSCIRQPAGKGLEWIGRTYTTGKTTYTYNPSLE SRLSLSIDTSMNQFSLKLTSVTAADTAVYYCAR WGAVTGDYYYGMDVWGPGLTVTVSSASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCHHH HHH
35	SDD181	VH-G55S Fab-6H	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTYYTVLGGSVSDYY WSCIRQPAGKGLEWIGRTYTNSKTTYTYNPSLE SRLSLSIDTSMNQFSLKLTSVTAADTAVYYCAR WGAVTGDYYYGMDVWGPGLTVTVSSASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCHHH HHH
36	SDD182	VH-G55T Fab-6H	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTYYTVLGGSVSDYY WSCIRQPAGKGLEWIGRTYTNTKTTYTYNPSLE SRLSLSIDTSMNQFSLKLTSVTAADTAVYYCAR WGAVTGDYYYGMDVWGPGLTVTVSSASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCHHH HHH

表 8：經修飾之 NI-308.5J10 抗體之胺基酸序列

【0262】 為了驗證突變，已進行了 NI-308.5J10 抗體變異體 N54S/N75D 之質譜分析。5J10 N54S/N75D hIgG1 之完整質量分析顯示，經還原之糖基化抗體中所偵測到之主要成分為所預測之輕鏈及具有經 N-連接 G0F 聚糖之重鏈，這表明 N75D 突變為成功的。經還原之非去糖基化 NI-308.5J10 N54S/N75D hIgG1 之反摺績質譜。NI-308.5J10 N54S/N75D hIgG1 之完整質量分析顯示，經還原之糖基

化抗體中所偵測到之主要成分為經預測之輕鏈及具有經 N-連接 GOF 聚糖之重鏈，這表明 N75D 突變為成功的。

【0263】 圖 11 顯示了其中已定位突變之 NI-308.5J10 抗體之晶體結構。如可以自晶體結構得到，轉譯後修飾遠離抗體之結合位點。

實例 14：產生變異體 IgG1 及 Fab

【0264】 使用 FectoPro 轉染試劑將由 N75D 輕鏈與各重鏈突變體組合來組成之工程化抗體 NI-308.5J10 變異體瞬時轉染到 CHO-S 細胞中，且在 24h 後轉移至減小之溫度。使用上述構築體產生作為完整人 IgG1 且亦作為 Fab 之蛋白質。藉由離心收集上清液，且藉由穿過 0.45um 過濾器實現澄清。然後藉由親和層析，接著藉由尺寸排阻層析法純化 Fab(表 9)。為了純化完整 IgG1 蛋白，將經澄清之培養基加載到 rProtein A 瓊脂糖(GE healthcare)上。用 20 mM Na₂HPO₄ pH 7.4、150 mM NaCl 洗滌管柱，且將蛋白質用 25 mM NaH₂PO₄ pH 2.8、100 mM NaCl 溶離，用自 0.5 M 儲備溶液稀釋之 12.5 mM Na₂HPO₄ pH 8.6 中和。為了純化 Fab，將經澄清之培養基加載到 NiExcel 瓊脂糖(GE Healthcare)上，用緩衝液 A(25 mM tris pH8、500 mM NaCl、10 mM 咪唑)洗滌，且用含有 300 mM 咪唑之緩衝液 A 溶離。在 Superdex 200 10/300 管柱上在 PBS 中經親和純化之蛋白質純化。藉由 SDS-PAGE 分析經純化蛋白質之大小及同質性。對於 SDS-PAGE，使樣品在來自 Invitrogen 之 4-20%Tris-甘胺酸梯度凝膠上進行。在電泳之前，將未經還原之樣品在 95°C 加熱 3 min。用含有 100 mM DTT 之樣品緩衝液處理經還原之樣品，且在電泳前在 95°C 加熱 3 min。SDS-PAGE 之結果(圖 12)顯示所有蛋白質皆顯示出預期之大小，而無明顯聚集物或蛋白水解產物。

	HC		LC		4D #	效 價 (mg/l)
	突變	質體 #	突變	質體 #		
hIgG1	WT	SDD151	WT	SDD152	#6003	134.5

	WT	SDD151	N75D	SDD177	#6207	132.3
	N54S	SDD173	N75D	SDD177	#6208	130.1
	N54T	SDD174	N75D	SDD177	#6209	122.4
	G55S	SDD175	N75D	SDD177	#6210	126.5
	G55T	SDD176	N75D	SDD177	#6211	129.3
hIgG1-Fab-6His	WT-Fab-6His	SDD178	WT	SDD152	#6212	118.1
	WT-Fab-6His	SDD178	N75D	SDD177	#6213	97.8
	N54S-Fab-6His	SDD179	N75D	SDD177	#6214	104.1
	N54T-Fab-6His	SDD180	N75D	SDD177	#6215	106.1
	G55S-Fab-6His	SDD181	N75D	SDD177	#6216	102
	G55T-Fab-6His	SDD182	N75D	SDD177	#6217	103

表 9：NI-308.5J10 變異體 IgG 及 Fab 之表現

實例 15：藉由 SPR 得到蛋白質與聚-GA 之結合

【0265】 藉由使用 Biacore T200 儀器(GE Healthcare) 進行 SPR 來評估變異體 Fab 與合成聚-GA 之結合。使用製造商提供之試劑及方案，自 SPR 緩衝液(10 mM HEPES、pH 7.2、150 mM NaCl、3.4 mM EDTA、0.05% BSA、0.005%表面活性劑 P20)中之 5 ng/mL 溶液中，將合成生物素-8xGA 以 2-4 pg/mm²捕獲在 Biotin CAPture 晶片(GE Healthcare)上。將在 SPR 緩衝液中 1.23、3.7、11、33 及 100 nM 之遞增濃度之一系列變異體抗體 Fab 片段溶液各自以 30 μL/ min 注射到經生物素-8xGA 塗佈之感測器晶片上持續 4 min，然後進行緩衝液洗滌，且在注射期間及最終注射後持續 15 min 記錄相對於無生物素-8xGA 之參考感測器之結合響應。使用 1:1 結合模型用 Biacore T200 評估軟體 v3.0 分析資料。所有 NI-308.5J10 變異體顯示出與合成 8x GA 類似之結合動力學，其中 K_D 為 20-30 nM。量測結果列於表 10 中。由於 NI-308.5J10 變異體 Fab 與合成 8x GA 之 SPR 結合概況顯示所有 NI-308.5J10 變異體皆顯示出與合成 8x GA 類似之結合動力學，其中 K_D 為 20-30 nM。

	結合速率，k _a (M ⁻¹ s ⁻¹)	解離速率，k _d (s ⁻¹)	親和力， K _D (nM)
5J10 WT Fab	2.7 x10 ⁵	7.8 x10 ⁻³	28
LC N75D Fab	2.3 x10 ⁵	5.9 x10 ⁻³	26
HC N54S/LC N75D Fab	2.9 x10 ⁵	6.0 x10 ⁻³	21

HC N54T/LC N75D Fab	2.6 x10 ⁵	7.6 x10 ⁻³	30
HC G55S/LC N75D Fab	1.8 x10 ⁵	4.4 x10 ⁻³	24
HC G55T/LC N75D Fab	2.0 x10 ⁵	4.4 x10 ⁻³	22

表 10：藉由 SPR 量測之 NI-308.5J10 變異體 Fab 對 8x GA 之結合率及親和力。

實例 16：5J10 變異體之穩定性

【0266】 對 NI-308.5J10 變異體進行了另外的分子穩定性測試。所有變異體藉由差示掃描量熱法(VP-DSC，MicroCal)產生之熱穩定性概況均相似，其中 CH2 域(完整 IgG1)之解構溫度約為 72℃，Fab 之解構溫度範圍為 79-81℃，CH3 域之解構溫度> 86℃(表 11)。

分子	T _{m1} CH2	T _{m2} Fab	T _{m3} CH3
5J10 hIgG1	*	80.2	*
5J10-LC N75D hIgG1	72.9	80.0	87.0
5J10-LC N75D, HC N54S hIgG1	72.6	80.6	87.2
5J10-LC N75D, HC N54T hIgG1	72.9	79.0	86.7
5J10-LC N75D, HC G55S hIgG1	72.7	79.7	86.9
5J10-LC N75D, HC G55T hIgG1	72.5	79.8	86.9
5J10 Fab	NA	80.2	NA
5J10-LC N75D Fab	NA	80.2	NA
5J10-LC N75D, HC N54S Fab	NA	80.7	NA
5J10-LC N75D, HC N54T Fab	NA	79.3	NA
5J10-LC N75D, HC G55S Fab	NA	80.2	NA
5J10-LC N75D, HC G55T Fab	NA	80.2	NA

表 11：NI-308.5J10 變異體之熱穩定性。對於完整 IgG，藉由 DSC 觀察到之三個主要熔化轉變發生在以下溫度：T_{m1}，其表徵 hFc CH2 域之解折疊；T_{m2}，其表徵 Fab(CH1，VH，CL，VL)之解折疊；及 T_{m3}，其表徵 hFc CH3 域之解折疊。對於 5J10 hIgG1，由於與 T_{m2}(*)之重疊而無法判定 T_{m1} 及 T_{m3}。對於 Fab，觀察到一個解構轉變，其表徵 Fab(CH1、VH、CL、VL)之解折疊。

實例 17：用於研究 C9orf72 DPR 蛋白之致病機制之基於細胞之模型

【0267】 最近在新興細胞培養及動物模型中之報道提供了異常 C9orf72 DPR 蛋白毒性之證據。例如，細胞培養系統中細胞質聚-GA 之毒性由 May 等人 (Acta

Neuropathol. 128 (2014), 485-503)及 Zhang 等人 (Acta Neuropathol. 128 (2014), 505-524)報道。

【0268】 如對於 τ -(Yanamandra 等人, Ann. Clin. Transl. Neurol. 2 (2013), 278-288)及 α -突觸核蛋白(Tran 等人, Cell Rep. 7 (2014), 2054-2065)所示，為了判定是否可以藉由用本發明之抗體進行處理來預防 DPR 病理學之擴散，以類似方式使用活體外 C9orf72 DPR 毒性檢定。特別地，產生合成 DNA 序列以驅動含有 150 個二肽重複序列之單個 DPR 蛋白在 ATG 依賴性轉譯中表現。採用隨機密碼子策略以確保僅表現所選單個 DPR 蛋白質序列。為了驅動 DPR 蛋白在神經元細胞諸如 SH-SY5Y、NSC-34、Neuro-2a、iPSC 衍生之神經元及原代神經元中表現，將合成 DNA 序列選殖到由神經元特異性 Thy1.2 啟動子調節之表現載體中。為了在多種真核細胞諸如 HEK293T、U-2 OS、HeLa 及 Cos 細胞中高水準表現，將合成 DNA 序列選殖到由 CMV 啟動子調節之表現載體中。衍生自 C9orf72 患者纖維母細胞之人 iPSC 衍生之神經元及轉移分化神經元(iNeuron)代表另外的 C9orf72 DPR 蛋白細胞培養模型。

【0269】 此等細胞模型可用於測試本發明抗體之治療效用。本發明抗體之治療效果之評估及確認可以藉由經由線粒體及/或半胱天冬酶活性檢定法監測細胞活力、經由細胞溶解及/或膜滲漏檢定法監測細胞毒性、及經由免疫組織化學檢定監測細胞 DPR 蛋白擴散之抑制來進行。

實例 18：在 C9orf72 病理學之基因轉殖小鼠模型中驗證抗 DPR 抗體之治療效用

【0270】 針對易聚集及/或錯誤折疊之蛋白質開發之免疫療法方法在若干神經退行性疾病之臨床前及臨床研究中產生了有希望的結果。如 WO 2016/050822 A2 之實例 15 中所述，進行主題抗 DPR 抗體在 C9orf72 病理學之基因轉殖小鼠模型中之治療效用之驗證。此外，已開發出 C9orf72 BAC 基因轉殖小鼠品系，其顯

示 C9orf72 疾病之病理學標誌，包括來自 RAN 轉譯之 RNA 病灶及二肽重複蛋白以及相關之認知缺陷及存活表現型(Liu 等人, Neuron 90 (2016), 521-34 及 Jiang 等人, Neuron 90 (2016), 535-50)，該等品系適用於證實抗-DPR 抗體之治療效用。此外，合適基因轉殖小鼠品系，即表現具有約 500 個六核苷酸重複之人 C9orf72 基因之所謂 C9-500 BAC 基因轉殖小鼠品系，可自 Jackson Laboratory，600 Main Street，Bar Harbor，ME USA 04609 以 FVB/NJ-Tg(C9orf72)500Lpwr/J 商購獲得。該品系之半合子小鼠出現年齡依賴性麻痺、焦慮樣行為、存活率降低及大腦及脊髓之廣泛神經變性，伴有有義/反義 RNA 灶之積累及 RAN 蛋白與 TDP43 之聚集。C9-500 小鼠允許研究急性、快速進展性疾病以及緩慢進展性疾病。因此，此為用於研究家族性肌肉萎縮性脊髓側索硬化症(ALS 或 Lou Gehrig 病)及額顳葉癡呆(FTD)中 C9orf72 重複序列長度依賴性毒性增加之模型，且因此為用於確認主題抗體治療效用之較佳小鼠模型。

【0271】 此外，同時開發了其它動物模型；參見例如 Simone 等人(2018)，同上中描述之果蠅模型及國際申請案 WO 2018/064600 中描述之非人動物模型。將自此類動物模型產生之活體內資料轉化為對應人類疾病之療法之策略亦為熟習此項技藝者已知的；參見例如 Picher-Martel 等人, Acta Neuropathologica Communications 4 (2016), 1-29。特別地，可以自 Aducanumab 之開發中獲得指導，該 Aducanumab 為一種能夠靶向阿茲海默病患者腦中之 β -澱粉樣蛋白(A β)之重組人源抗體，且迄今為止在 I 期及 II 期臨床試驗中顯示出有希望的結果。在國際申請案 WO 2008/081008 中描述了 Aducanumab 之前導抗體之產生及其生物化學及免疫組織化學性質以及在阿茲海默病小鼠模型中之活體內生物活性之研究，該申請案之揭露內容以引用之方式併入本文。如 WO 2008/081008 之實例 4 中所示，當以 3 mg/kg 之劑量腹膜內且每週投與時，抗 A β 抗體能夠在阿茲海默病基

因轉殖小鼠模型中改善異常認知行為且使得 β -澱粉樣蛋白斑塊負荷減少。如可在臨床試驗中證實的，該小鼠模型中使用之劑量及治療方案亦證明在臨床試驗中為有效的，其中已經研究了 1 與 10 mg/kg 之間(包括 3 mg/kg)之劑量。因此，引起疾病之病理性蛋白質之基因轉殖小鼠模型可以很好地用於預測人類患者中給定抗體之治療效用。

【0272】 關於主題抗體及其變異體之投藥方式及劑量，基於過度表現引起疾病之人超氧化物歧化酶 1(SOD1)突變異體從而導致肌肉萎縮性脊髓側索硬化症(ALS)之症狀發展之基因轉殖小鼠的外周抗體治療之治療潛力研究，在抗 SOD1 抗體之直接腦輸注及外周投藥後，可以證明治療為有效的，特別是當以 3 至 30 mg/kg 之劑量每週腹膜內(i.p.)注射投與時；參見 Maier 等人, 2018, Science Translational Medicine。由於與經錯誤折疊且經聚集 SOD1 存在於患有 ALS 之患者之腦中類似地，含有聚-GA-DPR 之蛋白質自 C9orf72 基因轉譯且可甚至共聚集，因此謹慎地預期主題抗體及其變異體在相同劑量方案中為有效的，亦即每週以 3 至 30 mg/kg 腹膜內注射。因此，在一較佳實施例中，將抗 DPR 抗體及其 DPR 結合片段調配在醫藥組成物中，將其設計成每週以 3 至 30 mg/kg 之劑量經由腹膜內注射來投與。因此，亦根據本發明每週以 3 至 30 mg/kg 之劑量腹膜內注射主題抗體為較佳投藥方案。

【0273】 此外，由於人免疫系統內之進化優化及親和力成熟，本發明之抗體提供了有價值之治療工具，此歸因於自具有高概率優異安全性概況且缺乏免疫原性之健康人受試者中分離。可以藉由上述出版物中描述之測試方法用人抗體替代小鼠抗體來提供對此等預期治療效果之確認。

【符號說明】

無

【序列表】

<110> 百健 MA 公司 (BIOGEN MA INC.)
紐立慕公司 (NEURIMMUNE AG)

<120> 人源抗-(聚-GA)二肽重複序列 (DPR) 抗體

<130> 13751-0309W01

<140> TW 108114765
<141> 2019-04-26

<150> US 62/772, 809
<151> 2018-11-29

<150> EP 18169888.7
<151> 2018-04-27

<160> 84

<170> PatentIn 版本 3.5

<210> 1
<211> 372
<212> DNA
<213> 智人

<220>
<221> CDS
<222> (1).. (372)
<223> /注=「NI-308.5J10 可變重鏈 (VH) 序列」

<400> 1
cag gtg cag ctg cag gag tgc ggc cca gga ctg gtg aag cct tgc gag 48
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

acc ctg tcc ctc act tac act gtc tta ggt ggc tcc gtc agt gat tac 96
Thr Leu Ser Leu Thr Tyr Thr Val Leu Gly Gly Ser Val Ser Asp Tyr
20 25 30

tac tgg agc tgc atc cgg cag ccc gcc ggg aag gga ctg gag tgg att 144
Tyr Trp Ser Cys Ile Arg Gln Pro Ala Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile

35	40	45	
ggg cga aca tat act aac ggg aag acc act tac act tac aac ccc tcc			192
Gly Arg Thr Tyr Thr Asn Gly Lys Thr Thr Tyr Thr Tyr Asn Pro Ser			
50	55	60	
ctc gag agt cga ctc agt ttg tct ata gac acg tcc atg aac caa ttc			240
Leu Glu Ser Arg Leu Ser Leu Ser Ile Asp Thr Ser Met Asn Gln Phe			
65	70	75	80
tcc ctg aag ttg acc tct gtg acg gcc gcg gac acg gcc gtc tat tac			288
Ser Leu Lys Leu Thr Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr			
85	90	95	
tgc gcg aga tgg ggg gcg gtg act ggt gac tac tac tac ggt atg gac			336
Cys Ala Arg Trp Gly Ala Val Thr Gly Asp Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp			
100	105	110	
gtc tgg ggc cca ggc acc ctg gtc acc gtc tcc teg			372
Val Trp Gly Pro Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser			
115	120		
<210> 2			
<211> 124			
<212> PRT			
<213> 智人			
<400> 2			
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu			
1	5	10	15
Thr Leu Ser Leu Thr Tyr Thr Val Leu Gly Gly Ser Val Ser Asp Tyr			
20	25	30	
Tyr Trp Ser Cys Ile Arg Gln Pro Ala Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile			
35	40	45	
Gly Arg Thr Tyr Thr Asn Gly Lys Thr Thr Tyr Thr Tyr Asn Pro Ser			
50	55	60	

Leu Glu Ser Arg Leu Ser Leu Ser Ile Asp Thr Ser Met Asn Gln Phe
65 70 75 80

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

Cys Ala Arg Trp Gly Ala Val Thr Gly Asp Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp
100 105 110

Val Trp Gly Pro Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

$\langle 210 \rangle$	3
$\langle 211 \rangle$	5
$\langle 212 \rangle$	PRT
$\langle 213 \rangle$	智人

$\langle 400 \rangle$ 3
 Asp Tyr Tyr Trp Ser
 1 5

$\langle 210 \rangle$	4
$\langle 211 \rangle$	18
$\langle 212 \rangle$	PRT
$\langle 213 \rangle$	智人

<400> 4
Arg Thr Tyr Thr Asn Gly Lys Thr Thr Tyr Thr Tyr Asn Pro Ser Leu
1 5 10 15

Glu Ser

$\langle 210 \rangle$	5
$\langle 211 \rangle$	14
$\langle 212 \rangle$	PRT

<213> 智人

<400> 5

Trp Gly Ala Val Thr Gly Asp Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val
1 5 10

<210> 6

<211> 336

<212> DNA

<213> 智人

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(336)

<223> /注=「NI-308.5J10 可變輕鏈(VK)序列」

<400> 6

gaa att gtg ctg act cag tct cca ctc tcc ctg tcc gtc acc cct gga 48
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

gag ccg gcc tcc atc tcc tgc agg tct cct cgg agc ctt cta cat act 96
Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Pro Arg Ser Leu Leu His Thr
20 25 30

aat gga tat aca tat ttg gac tgg tac cta caa agg cca ggg cag tct 144
Asn Gly Tyr Thr Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Arg Pro Gly Gln Ser
35 40 45

cca caa ctc ctg atc ttt ttg gct tct aat cgg gcc tcc ggg gtc cct 192
Pro Gln Leu Leu Ile Phe Leu Ala Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
50 55 60

gac agg ttc agt ggc agc gga tca ggc aca aat ttt aca ctg aga atc 240
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asn Phe Thr Leu Arg Ile
65 70 75 80

agc gga gtg gag gct gac gat gtt gga gtt tat tac tgc atg caa ggt 288
Ser Gly Val Glu Ala Asp Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Gly
85 90 95

cta caa cct tcg tgg acg ttc ggc cag ggg acc aag gtg gaa atc aaa 336

Leu Gln Pro Ser Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 7
<211> 112
<212> PRT
<213> 智人

<400> 7
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Pro Arg Ser Leu Leu His Thr
20 25 30

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

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

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

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

Leu Gln Pro Ser Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 8
<211> 16
<212> PRT
<213> 智人

<400> 8

Arg Ser Pro Arg Ser Leu Leu His Thr Asn Gly Tyr Thr Tyr Leu Asp
1 5 10 15

<210> 9
<211> 7
<212> PRT
<213> 智人

<400> 9
Leu Ala Ser Asn Arg Ala Ser
1 5

<210> 10
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 10
Met Gln Gly Leu Gln Pro Ser Trp Thr
1 5

<210> 11
<211> 372
<212> DNA
<213> 人工序列

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

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(372)
<223> /注=「NI-308.5J10 可變重鏈(VH) 序列 - N54S
突變」

<400> 11
cag gtg cag ctg cag gag tcg ggc cca gga ctg gtg aag cct tcg gag
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu

48

1	5	10	15	
acc ctg tcc ctc act tac act gtc tta ggt ggc tcc gtc agt gat tac				96
Thr Leu Ser Leu Thr Tyr Thr Val Leu Gly Gly Ser Val Ser Asp Tyr				
20	25	30		
tac tgg agc tgc atc cgg cag ccc gcc ggg aag gga ctg gag tgg att				144
Tyr Trp Ser Cys Ile Arg Gln Pro Ala Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile				
35	40	45		
ggg cga aca tat act agc ggg aag acc act tac act tac aac ccc tcc				192
Gly Arg Thr Tyr Thr Ser Gly Lys Thr Thr Tyr Thr Tyr Asn Pro Ser				
50	55	60		
ctc gag agt cga ctc agt ttg tct ata gac acg tcc atg aac caa ttc				240
Leu Glu Ser Arg Leu Ser Leu Ser Ile Asp Thr Ser Met Asn Gln Phe				
65	70	75	80	
tcc ctg aag ttg acc tct gtg acg gcc gcg gac acg gcc gtc tat tac				288
Ser Leu Lys Leu Thr Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr				
85	90	95		
tgc gcg aga tgg ggg gcg gtg act ggt gac tac tac tac ggt atg gac				336
Cys Ala Arg Trp Gly Ala Val Thr Gly Asp Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp				
100	105	110		
gtc tgg ggc cca ggc acc ctg gtc acc gtc tcc tcg				372
Val Trp Gly Pro Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser				
115	120			

<210> 12
<211> 124
<212> PRT
<213> 人工序列

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

<400> 12
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu

15

10

5

1

Thr Leu Ser Leu Thr Tyr Thr Val Leu Gly Gly Ser Val Ser Asp Tyr

202530

Tyr Trp Ser Cys Ile Arg Gln Pro Ala Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile

354045

Gly Arg Thr Tyr Thr Ser Gly Lys Thr Thr Tyr Thr Tyr Asn Pro Ser

505560

Leu Glu Ser Arg Leu Ser Leu Ser Ile Asp Thr Ser Met Asn Gln Phe

65707580

Ser Leu Lys Leu Thr Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr

859095

Cys Ala Arg Trp Gly Ala Val Thr Gly Asp Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp

100105110

Val Trp Gly Pro Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115120

<210> 13
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

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

<220>
<221> source
<223> /注=「NI-308. 5J10 VH-CDR2 序列 - N54S 突變」

<400> 13
Arg Thr Tyr Thr Ser Gly Lys Thr Thr Tyr Thr Tyr Asn Pro Ser Leu
1 5 10 15

Glu Ser

<210> 14
<211> 372
<212> DNA
<213> 人工序列

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

<220>
<221> CDS
<222> (1).. (372)
<223> /注=「NI-308.5J10 可變重鏈(VH) 序列 - N54T
突變」

<400> 14
cag gtg cag ctg cag gag tgc ggc cca gga ctg gtg aag cct tgc gag 48
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

acc ctg tcc ctc act tac act gtc tta ggt ggc tcc gtc agt gat tac 96
Thr Leu Ser Leu Thr Tyr Thr Val Leu Gly Gly Ser Val Ser Asp Tyr
20 25 30

tac tgg agc tgc atc cgg cag ccc gcc ggg aag gga ctg gag tgg att 144
Tyr Trp Ser Cys Ile Arg Gln Pro Ala Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

ggg cga aca tat act acc ggg aag acc act tac act tac aac ccc tcc 192
Gly Arg Thr Tyr Thr Thr Gly Lys Thr Thr Tyr Thr Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

ctc gag agt cga ctc agt ttg tct ata gac acg tcc atg aac caa ttc240

Leu Glu Ser Arg Leu Ser Leu Ser Ile Asp Thr Ser Met Asn Gln Phe

65707580

tcc ctg aag ttg acc tct gtg acg gcc gcg gac acg gcc gtc tat tac288

Ser Leu Lys Leu Thr Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr

859095

tgc gcg aga tgg ggg gcg gtg act ggt gac tac tac tac ggt atg gac336

Cys Ala Arg Trp Gly Ala Val Thr Gly Asp Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp

100105110

gtc tgg ggc cca ggc acc ctg gtc acc gtc tcc tcg372

Val Trp Gly Pro Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115120

<210> 15
<211> 124
<212> PRT
<213> 人工序列

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

<400> 15

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

151015

Thr Leu Ser Leu Thr Tyr Thr Val Leu Gly Gly Ser Val Ser Asp Tyr

202530

Tyr Trp Ser Cys Ile Arg Gln Pro Ala Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile

354045

Gly Arg Thr Tyr Thr Thr Gly Lys Thr Thr Tyr Thr Tyr Asn Pro Ser

505560

Leu Glu Ser Arg Leu Ser Leu Ser Ile Asp Thr Ser Met Asn Gln Phe
65 70 75 80

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

Cys Ala Arg Trp Gly Ala Val Thr Gly Asp Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp
100 105 110

Val Trp Gly Pro Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 16
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

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

<220>
<221> source
<223> /注=「NI-308.5J10 VH-CDR2 序列 - N54T 突變」

<400> 16
Arg Thr Tyr Thr Thr Gly Lys Thr Thr Tyr Thr Tyr Asn Pro Ser Leu
1 5 10 15

Glu Ser

<210> 17
<211> 372
<212> DNA
<213> 人工序列

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

<220>
<221> CDS
<222> (1).. (372)
<223> /注=「NI-308.5J10 可變重鏈(VH) 序列 - G55S
突變」

<400> 17	
cag gtg cag ctg cag gag tgc ggc cca gga ctg gtg aag cct tgc gag	48
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu	
1 5 10 15	
acc ctg tcc ctc act tac act gtc tta ggt ggc tcc gtc agt gat tac	96
Thr Leu Ser Leu Thr Tyr Thr Val Leu Gly Gly Ser Val Ser Asp Tyr	
20 25 30	
tac tgg agc tgc atc cgg cag ccc gcc ggg aag gga ctg gag tgg att	144
Tyr Trp Ser Cys Ile Arg Gln Pro Ala Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile	
35 40 45	
ggg cga aca tat act aac agc aag acc act tac act tac aac ccc tcc	192
Gly Arg Thr Tyr Thr Asn Ser Lys Thr Thr Tyr Thr Tyr Asn Pro Ser	
50 55 60	
ctc gag agt cga ctc agt ttg tct ata gac acg tcc atg aac caa ttc	240
Leu Glu Ser Arg Leu Ser Leu Ser Ile Asp Thr Ser Met Asn Gln Phe	
65 70 75 80	
tcc ctg aag ttg acc tct gtg acg gcc gcg gac acg gcc gtc tat tac	288
Ser Leu Lys Leu Thr Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr	
85 90 95	
tgc gcg aga tgg ggg gcg gtg act ggt gac tac tac tac ggt atg gac	336
Cys Ala Arg Trp Gly Ala Val Thr Gly Asp Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp	
100 105 110	
gtc tgg ggc cca ggc acc ctg gtc acc gtc tcc tgc	372
Val Trp Gly Pro Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser	
115 120	

<210> 18
<211> 124
<212> PRT
<213> 人工序列

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

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

Thr Leu Ser Leu Thr Tyr Thr Val Leu Gly Gly Ser Val Ser Asp Tyr
20 25 30

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

Gly Arg Thr Tyr Thr Asn Ser Lys Thr Thr Tyr Thr Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

Leu Glu Ser Arg Leu Ser Leu Ser Ile Asp Thr Ser Met Asn Gln Phe
65 70 75 80

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

Cys Ala Arg Trp Gly Ala Val Thr Gly Asp Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp
100 105 110

Val Trp Gly Pro Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 19
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

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

<220>
<221> source
<223> /注=「NI-308. 5J10 VH-CDR2 序列 - G55S 突變」

<400> 19
Arg Thr Tyr Thr Asn Ser Lys Thr Thr Tyr Thr Tyr Asn Pro Ser Leu
1 5 10 15

Glu Ser

<210> 20
<211> 372
<212> DNA
<213> 人工序列

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

<220>
<221> CDS
<222> (1).. (372)
<223> /注=「NI-308. 5J10 可變重鏈(VH) 序列 - G55T
突變」

<400> 20
cag gtg cag ctg cag gag tgc gcc cca gga ctg gtg aag cct tgc gag
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu

1	5	10	15	
acc ctg tcc ctc act tac act gtc tta ggt ggc tcc gtc agt gat tac				96
Thr Leu Ser Leu Thr Tyr Thr Val Leu Gly Gly Ser Val Ser Asp Tyr				
20	25	30		
tac tgg agc tgc atc cgg cag ccc gcc ggg aag gga ctg gag tgg att				144
Tyr Trp Ser Cys Ile Arg Gln Pro Ala Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile				
35	40	45		
ggg cga aca tat act aac acc aag acc act tac act tac aac ccc tcc				192
Gly Arg Thr Tyr Thr Asn Thr Lys Thr Thr Tyr Thr Tyr Asn Pro Ser				
50	55	60		
ctc gag agt cga ctc agt ttg tct ata gac acg tcc atg aac caa ttc				240
Leu Glu Ser Arg Leu Ser Leu Ser Ile Asp Thr Ser Met Asn Gln Phe				
65	70	75	80	
tcc ctg aag ttg acc tct gtg acg gcc gcg gac acg gcc gtc tat tac				288
Ser Leu Lys Leu Thr Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr				
85	90	95		
tgc gcg aga tgg ggg gcg gtg act ggt gac tac tac tac ggt atg gac				336
Cys Ala Arg Trp Gly Ala Val Thr Gly Asp Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp				
100	105	110		
gtc tgg ggc cca ggc acc ctg gtc acc gtc tcc tcg				372
Val Trp Gly Pro Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser				
115	120			

- <210> 21

<211> 124

<212> PRT

<213> 人工序列
- <220>

<221> source

<223> /注=「人工序列之描述：合成多肽」
- <400> 21

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

15

10

5

1

Thr Leu Ser Leu Thr Tyr Thr Val Leu Gly Gly Ser Val Ser Asp Tyr

202530

Tyr Trp Ser Cys Ile Arg Gln Pro Ala Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile

354045

Gly Arg Thr Tyr Thr Asn Thr Lys Thr Thr Tyr Thr Tyr Asn Pro Ser

505560

Leu Glu Ser Arg Leu Ser Leu Ser Ile Asp Thr Ser Met Asn Gln Phe

65707580

Ser Leu Lys Leu Thr Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr

859095

Cys Ala Arg Trp Gly Ala Val Thr Gly Asp Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp

100105110

Val Trp Gly Pro Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115120

<210> 22
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

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

<220>
<221> source
<223> /注=「NI-308. 5J10 VH-CDR2 序列 - G55T 突變」

<400> 22

Arg Thr Tyr Thr Asn Thr Lys Thr Thr Tyr Thr Tyr Asn Pro Ser Leu
1 5 10 15

Glu Ser

<210> 23

<211> 336

⟨212⟩ DNA

〈213〉 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

$\langle 221 \rangle$ source

〈223〉 /注=「人工序列之描述：合成多核苷酸」

 $\langle 220 \rangle$

⟨221⟩ CDS

 $\langle 222 \rangle$ (1)..(336)

〈223〉 /注=「NI-308.5J10 可變輕鏈(VK) 序列 - N75D
突變」

<400> 23

gaa att gtg ctg act cag tct cca ctc tcc ctg tcc gtc acc cct gga 48
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

gag ccg gcc tcc atc tcc tgc agg tct cct cgg agc ctt cta cat act 96
Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Pro Arg Ser Leu Leu His Thr
20 25 30

aat gga tat aca tat ttg gac tgg tac cta caa agg cca ggg cag tct 144
Asn Gly Tyr Thr Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Arg Pro Gly Gln Ser
35 40 45

cca caa ctc ctg atc ttt ttg gct tct aat cgg gcc tcc ggg gtc cct 192
Pro Gln Leu Leu Ile Phe Leu Ala Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
50 55 60

gac agg ttc agt ggc agc gga tca ggc aca gac ttt aca ctg aga atc

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Arg Ile

65707580

240

agc gga gtg gag gct gac gat gtt gga gtt tat tac tgc atg caa ggt

Ser Gly Val Glu Ala Asp Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Gly

859095

288

cta caa cct tcg tgg acg ttc ggc cag ggg acc aag gtg gaa atc aaa

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

100105110

336

<210> 24

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> source

<223> /注=「人工序列之描述：合成多肽」

<400> 24

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

1510515

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Pro Arg Ser Leu Leu His Thr

202530

Asn Gly Tyr Thr Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Arg Pro Gly Gln Ser

354045

Pro Gln Leu Leu Ile Phe Leu Ala Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro

505560

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Arg Ile

65707580

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

Leu Gln Pro Ser Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 25
<211> 219
<212> PRT
<213> 人工序列

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

<220>
<221> source
<223> /注=「NI-308.5J10 可變輕鏈(VK) 質體
(SDD 152)」

<400> 25
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Pro Arg Ser Leu Leu His Thr
20 25 30

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

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

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

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

Leu Gln Pro Ser Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

<210> 26
<211> 453
<212> PRT
<213> 人工序列

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

多肽」

 $\langle 220 \rangle$ $\langle 221 \rangle$ source

<223> /注=「NI-308.5J10-hIgG1 可變重鏈(VH) 質體
(SDD 151)」

<400> 26

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

Thr Leu Ser Leu Thr Tyr Thr Val Leu Gly Gly Ser Val Ser Asp Tyr
20 25 30

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

Gly Arg Thr Tyr Thr Asn Gly Lys Thr Thr Tyr Thr Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

Leu Glu Ser Arg Leu Ser Leu Ser Ile Asp Thr Ser Met Asn Gln Phe
65 70 75 80

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

Cys Ala Arg Trp Gly Ala Val Thr Gly Asp Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp
100 105 110

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

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

Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro
145					150					155					160
Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr
				165					170					175	
Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val
			180					185					190		
Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn
		195					200					205			
Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro
	210					215					220				
Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu
225					230					235					240
Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp
				245					250					255	
Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp
			260					265					270		
Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly
		275						280				285			
Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn
	290					295					300				
Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp
305					310					315					320

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

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

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

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

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

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

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
420 425 430

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

Ser Leu Ser Pro Gly
450

<210> 27
<211> 219
<212> PRT
<213> 人工序列

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

多肽」

 $\langle 220 \rangle$ $\langle 221 \rangle$ source

〈223〉 /注=「NI-308.5J10 可變輕鏈(VK) 質體(SDD 177)
- N75D 突變」

<400> 27

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Pro Arg Ser Leu Leu His Thr
20 25 30

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

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

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

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

Leu Gln Pro Ser Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

<210> 28
<211> 453
<212> PRT
<213> 人工序列

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

<220>
<221> source
<223> /注=「NI-308.5J10-hIgG1 可變重鏈(VH) 質體
(SDD 173) - N54S 突變」

<400> 28
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Tyr Thr Val Leu Gly Gly Ser Val Ser Asp Tyr
20 25 30

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

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

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

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

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
420 425 430

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

Ser Leu Ser Pro Gly
450

<210> 29
<211> 453
<212> PRT
<213> 人工序列

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

<220>
<221> source
<223> /注=「NI-308.5J10-hIgG1 可變重鏈(VH) 質體
(SDD 174) - N54T 突變」

<400> 29
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Tyr Thr Val Leu Gly Gly Ser Val Ser Asp Tyr
20 25 30

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

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

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

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

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
420 425 430

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

Ser Leu Ser Pro Gly
450

<210> 30
<211> 453
<212> PRT
<213> 人工序列

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

<220>
<221> source
<223> /注=「NI-308.5J10-hIgG1 可變重鏈(VH) 質體
(SDD 175) - G55S 突變」

<400> 30
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Tyr Thr Val Leu Gly Gly Ser Val Ser Asp Tyr
20 25 30

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

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

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

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

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
420 425 430

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

Ser Leu Ser Pro Gly
450

<210> 31
<211> 453
<212> PRT
<213> 人工序列

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

<220>
<221> source
<223> /注=「NI-308.5J10-hIgG1 可變重鏈(VH) 質體
(SDD 176) - G55T 突變」

<400> 31
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Tyr Thr Val Leu Gly Gly Ser Val Ser Asp Tyr
20 25 30

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

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

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

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

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
420 425 430

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

Ser Leu Ser Pro Gly
450

<210> 32
<211> 233
<212> PRT
<213> 人工序列

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

<220>
<221> source
<223> /注=「NI-308.5J10-Fab-6His 可變重鏈(VH) 質體
(SDD 178)」

<400> 32
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Tyr Thr Val Leu Gly Gly Ser Val Ser Asp Tyr
20 25 30

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

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

Lys Ser Cys His His His His His His
225 230

<210> 33
<211> 233
<212> PRT
<213> 人工序列

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

<220>
<221> source
<223> /注=「 NI-308. 5J10-Fab-6His 可變重鏈(VH) 質體
(SDD 179) - N54S 突變」

<400> 33
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Tyr Thr Val Leu Gly Gly Ser Val Ser Asp Tyr
20 25 30

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

Gly Arg Thr Tyr Thr Ser Gly Lys Thr Thr Tyr Thr Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

Leu Glu Ser Arg Leu Ser Leu Ser Ile Asp Thr Ser Met Asn Gln Phe
65 70 75 80

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

Cys Ala Arg Trp Gly Ala Val Thr Gly Asp Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp
100 105 110

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

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

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

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

Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
180 185 190

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

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

Lys Ser Cys His His His His His His
225 230

- <210> 34
- <211> 233
- <212> PRT
- <213> 人工序列

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

<220>
<221> source
<223> /注=「NI-308. 5J10-Fab-6His 可變重鏈(VH) 質體
(SDD 180) – N54T 突變」

<400> 34
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Tyr Thr Val Leu Gly Gly Ser Val Ser Asp Tyr
 20 25 30

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

Gly Arg Thr Tyr Thr Thr Gly Lys Thr Thr Tyr Thr Tyr Asn Pro Ser
 50 55 60

Leu Glu Ser Arg Leu Ser Leu Ser Ile Asp Thr Ser Met Asn Gln Phe
65 70 75 80

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

Cys Ala Arg Trp Gly Ala Val Thr Gly Asp Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp
 100 105 110

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

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

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

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

Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
180 185 190

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

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

Lys Ser Cys His His His His His His
225 230

- <210> 35
- <211> 233
- <212> PRT
- <213> 人工序列
- <220>
- <221> source
- <223> /注=「人工序列之描述：合成多肽」
- <220>
- <221> source
- <223> /注=「NI-308. 5J10-Fab-6His 可變重鏈(VH) 質體 (SDD 181) - G55S 突變」
- <400> 35

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

Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
180 185 190

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

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

Lys Ser Cys His His His His His His
225 230

<210> 36
<211> 233
<212> PRT
<213> 人工序列

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

<220>
<221> source
<223> /注=「NI-308.5J10-Fab-6His 可變重鏈(VH) 質體
(SDD 182) – G55T 突變」

<400> 36
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Tyr Thr Val Leu Gly Gly Ser Val Ser Asp Tyr
20 25 30

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

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

Lys Ser Cys His His His His His His
225 230

<210> 37
<211> 471
<212> PRT
<213> 人工序列

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

<400> 37
Met Gly Trp Ser Leu Ile Leu Leu Phe Leu Val Ala Val Ala Thr Arg
1 5 10 15

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

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

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

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

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

Thr Leu Phe Leu Gln Met Tyr Ser Leu Thr Ala Asp Asp Thr Ala Met
100 105 110

Tyr Phe Cys Ala Arg Gly Gly Arg Arg Gly His Phe Thr Ser Tyr Tyr

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

290					295					300					
Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln
305					310					315					320
Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln
				325					330					335	
Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala
			340					345					350		
Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro
	355						360					365			
Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr
	370					375					380				
Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser
385					390					395					400
Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr
			405						410					415	
Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr
			420					425					430		
Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe
		435					440					445			
Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys
	450					455					460				
Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly									

465 470

<210> 38
<211> 452
<212> PRT
<213> 人工序列

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

<400> 38
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn His
20 25 30

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

Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Glu Asn Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Ile
50 55 60

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

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

Ala Arg Gly Gly Arg Arg Gly His Phe Thr Ser Tyr Tyr Leu Asp Tyr
100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu
225 230 235 240

Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
245 250 255

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

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

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

Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
305 310 315 320

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

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

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

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

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

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

Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
420 425 430

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

Leu Ser Pro Gly
450

<210> 39
<211> 329

<212> PRT
<213> 人工序列

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

<400> 39
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

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

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

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

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

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

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

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

Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp
145					150					155					160
Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu
			165						170					175	
Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu
			180					185						190	
His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn
		195					200					205			
Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly
	210					215					220				
Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu
225					230					235					240
Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr
			245						250					255	
Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn
			260					265					270		
Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe
		275					280					285			
Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn
	290					295					300				
Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr
305					310					315					320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
325

<210> 40
<211> 123
<212> PRT
<213> 人工序列

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

<400> 40
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn His
20 25 30

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

Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Glu Asn Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Ile
50 55 60

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

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

Ala Arg Gly Gly Arg Arg Gly His Phe Thr Ser Tyr Tyr Leu Asp Tyr
100 105 110

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

<210> 41
<211> 236
<212> PRT
<213> 人工序列

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

<400> 41
Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
1 5 10 15

Phe Pro Gly Ser Arg Cys Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser
20 25 30

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

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

Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Ser Leu His Ser Gly Val
65 70 75 80

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

Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Ile Tyr Tyr Cys Gln Gln
100 105 110

Ser Tyr Ser Ser Phe Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile

115										120										125																			
Lys	Arg	Thr	Val	Ala	Ala	Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Asp																								
130										135										140																			
Glu	Gln	Leu	Lys	Ser	Gly	Thr	Ala	Ser	Val	Val	Cys	Leu	Leu	Asn	Asn																								
145										150										155										160									
Phe	Tyr	Pro	Arg	Glu	Ala	Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp	Asn	Ala	Leu																								
										165										170										175									
Gln	Ser	Gly	Asn	Ser	Gln	Glu	Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp	Ser	Lys	Asp																								
										180										185										190									
Ser	Thr	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr																								
195										200										205																			
Glu	Lys	His	Lys	Val	Tyr	Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	Gly	Leu	Ser																								
210										215										220																			
Ser	Pro	Val	Thr	Lys	Ser	Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Cys																												
225										230										235																			

<210> 42
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

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

<400> 42																											
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 Arg Ala Ser Gln Asn Ile Asp Lys Tyr
20 25 30

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

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

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

Glu Asp Phe Ala Ile Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Ser Phe Arg
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> 43
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

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

<400> 43
Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
1 5 10 15

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

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
35 40 45

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
50 55 60

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
65 70 75 80

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

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 44
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

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

<400> 44
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 Arg Ala Ser Gln Asn Ile Asp Lys Tyr
20 25 30

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

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

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

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

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

<210> 45
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

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

<400> 45
Gly Phe Thr Phe Ser Asn His Ala Met His
1 5 10

<210> 46
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

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

<400> 46
Val Ile Ser Tyr Asp Gly Glu Asn Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Ile Glu
1 5 10 15

Gly

<210> 47
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

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

<400> 47

Gly Gly Arg Arg Gly His Phe Thr Ser Tyr Tyr Leu Asp Tyr

1 5 10

⟨210⟩ 48

 $\langle 211 \rangle$ 11

<212> PRT

〈213〉 人工序列

 $\langle 220 \rangle$ $\langle 221 \rangle$ source

〈223〉 /注=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 48

Arg Ala Ser Gln Asn Ile Asp Lys Tyr Leu Asn

1 5 10

<210> 49

<211> 7

<212> PRT

〈213〉 人工序列

 $\langle 220 \rangle$ $\langle 221 \rangle$ source

〈223〉 /注=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 49

Ala Ala Ser Ser Leu His Ser

1 5

⟨210⟩ 50

<211> 9

<212> PRT

〈213〉 人工序列

 $\langle 220 \rangle$ $\langle 221 \rangle$ source

〈223〉 /注=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 50
Gln Gln Ser Tyr Ser Ser Phe Arg Thr
1 5

<210> 51
<211> 1416
<212> DNA
<213> 人工序列

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

<400> 51
atgggttgga gcctcatctt gctgtttctt gtcgctgttg ctacgcgtgt cctgtcgcag 60

gtgcagctgg tggagtctgg gggaggcgta gtccagcctg ggaggtccct gagactgtcc 120

tgtgcagcct ctggattcac cttcagtaat catgctatgc actgggtccg ccaggtcca 180

ggcaaggggc tggagtgggt ggcagttata tcatatgatg gcgagaacac atattatgca 240

gactccattg agggecgatt caccatttcc agagacaatt tcaagaacac actctttcta 300

caaatgtaca gcctgacagc tgatgacacg gctatgtact tctgtgcgag agggggccgt 360

cgggggcact tcacctcata ctacctgac tactggggcc agggaaccct ggtcaccgtc 420

tcctcggtta gtaccaaggg cccatcggtc tccccctgg caccctctc caagagcacc 480

tctgggggca cagcgccct gggtgcctg gtcaaggact acttccccga acccgtgacg 540

gtgtcgtgga actcaggcgc cctgaccage ggcgtgcaca ccttcccggc tgtcctacag 600

tcctcaggac tctactccct cagcagcgtg gtgaccgtgc cctccagcag cttgggcacc 660

cagacctaca tctgcaacgt gaatcacaag cccagcaaca ccaaggtgga caagaaagtt 720

gagcccaaat cttgtgacaa gactcacaca tgcccaccgt gccagcacc tgaactcctg 780

gggggaccgt cagtcttctt cttcccccca aaaccaagg acacctcat gatctccgg 840

acccctgagg tcacatgcgt ggtggtggac gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc	900
aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat aatgccaaga caaagccgcg ggaggagcag	960
tacaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat	1020
ggcaaggagt acaagtgcaa ggtttccaac aaagccctcc cagecccccatt cgagaaaacc	1080
atctccaaag ccaaagggca gccccgagaa ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccgg	1140
gatgagctga ccaagaacca ggtcagcctg acctgcctgg tcaaaggett ctatcccagc	1200
gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg cagccggaga acaactacaa gaccacgcct	1260
cccgtgttgg actccgacgg ctctctcttc ctctacagca agctcaccgt ggacaagagc	1320
aggtggcagc aggggaacgt cttctcatgc tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac	1380
tacacgcaaa aaagcctctc cctgtctccc ggttga	1416

- <210> 52
- <211> 1359
- <212> DNA
- <213> 人工序列
- <220>
- <221> source
- <223> /注=「人工序列之描述：合成多核苷酸」

<400> 52	
caggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc gtagtcagc ctgggaggtc cctgagactg	60
tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt aatcatgcta tgcactgggt ccgccaggt	120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatcatatg atggcgagaa cacatattat	180
gcagactcca ttgagggcg attcaccatt tccagagaca atttcaagaa cacactcttt	240
ctacaaatgt acagcctgac agctgatgac acggctatgt acttctgtgc gagagggggc	300
cgtcgggggc acttcacctc atactacett gactactggg gccagggaac cctggtcacc	360

gtctctctcgg ctagtaccaa gggcccatcg gtcttccccc tggcaccctc ctccaagagc	420
acctctgggg gcacageggc cctgggctgc ctggtcaagg actacttccc cgaacccgtg	480
acggtgtcgt ggaactcagg cgcctgacc agcggcgtgc acaccttccc ggctgtccta	540
cagtctcag gactctactc cctcagcage gtggtgaccg tgccctccag cagcttgggc	600
accagacct acatctgcaa cgtgaatcac aagcccagca acaccaaggt ggacaagaaa	660
gttgagccca aatcttgtga caagactcac acatgccac cgtgccacg acctgaactc	720
ctggggggac cgtcagtctt cctcttcccc ccaaaaccca aggacacct catgatctcc	780
cggaccctg aggtcacatg cgtgggtggtg gacgtgacc acgaagacc tgaggtcaag	840
ttcaactggt acgtggacgg cgtggagggtg cataatgcc agacaaagcc gcgggaggag	900
cagtacaaca gcacgtaccg tgtggtcagc gtcctaccg tctgcacca ggactggctg	960
aatggcaagg agtacaagt caaggtttcc aacaaagccc tcccagcccc catcgagaaa	1020
accatctcca aagccaaagg gcagccccga gaaccacagg tgtacacct gccccatcc	1080
cgggatgagc tgaccaagaa ccaggtcagc ctgacctgcc tggtaaagg cttctatccc	1140
agcgacatcg ccgtggagt ggagagcaat gggcagccgg agaacaacta caagaccacg	1200
cctcccgtgt tggactccga cggctccttc ttctctaca gcaagctcac cgtggacaag	1260
agcaggtggc agcaggggaa cgtcttctca tgctccgtga tgcattgagc tctgcacaac	1320
cactacacgc aaaaaagcct ctccctgtct cccggttga	1359

- <210> 53
- <211> 990
- <212> DNA
- <213> 人工序列

- <220>
- <221> source
- <223> /注=「人工序列之描述：合成

多核苷酸」

<400> 53	
gctagtacca agggcccatc ggtcttcccc ctggcacccct cctccaagag cacctctggg	60
ggcacagegg ccctgggctg cctgggtcaag gactacttcc ccgaaccctg gacggtgtcg	120
tggaaactcag gcgcctgac cagcggcgtg cacaccttcc cggtgtctct acagtctca	180
ggactctact ccctcagcag cgtgggtgacc gtgccctcca gcagcttggg caccagacc	240
tacatctgca acgtgaatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagaa agttgagccc	300
aaatcttgtg acaagactca cacatgccc cctgcccag cacctgaact cctgggggga	360
ccgtcagtct tcctcttccc cccaaaaccc aaggacaccc tcatgatctc ccggaccct	420
gaggtcacat gcgtgggtgt ggacgtgagc cacgaagacc ctgaggtcaa gttcaactgg	480
tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cgcgggagga gcagtacaac	540
agcacgtacc gtgtggtcag cgtcctcacc gtctgcacc aggactggtt gaatggcaag	600
gagtacaagt gcaaggtttc caacaaagcc ctcccagccc ccatcgagaa aaccatctcc	660
aaagccaaag ggcagccccc agaaccacag gtgtacaccc tgccccatc ccgggatgag	720
ctgaccaaga accaggtcag cctgacctgc ctgggtcaaag gcttctatcc cagcgacatc	780
gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac gcctcccggtg	840
ttggactccg acggctcctt ctctctctac agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg	900
cagcagggga acgtcttctc atgtccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacag	960
caaaaaagcc tctcctgtc tcccggtga	990

- <210> 54
- <211> 369
- <212> DNA
- <213> 人工序列

<220>

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

<400> 54
caggtgcagc tggaggagtc tgggggaggc gtagtcagc ctgggaggtc cctgagactg 60

tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt aatcatgcta tgcactgggt ccgccaggct 120

ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatcatatg atggcgagaa cacatattat 180

gcagactcca ttgagggccg attcaccatt tccagagaca atttcaagaa cacactcttt 240

ctacaaatgt acagcctgac agctgatgac acggctatgt acttctgtgc gagagggggc 300

cgtcgggggc acttcacctc ataactacctt gactactggg gccagggaac cctggtcacc 360

gtctctctcg 369

<210> 55
<211> 711
<212> DNA
<213> 人工序列

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

<400> 55
atggacatgc ggggtcccgc ccagctgctg ggccctgtgc tgctgtggtt ccccggtctt 60

agatgcgaca tccagatgac ccagtctcca tcctccctgt ctgcatctgt aggagacaga 120

gtcaccatca cttgccgggc aagccagaac atagacaagt acttaaattg gtatcagcag 180

ataccgggga aagcccctaa gctcctgac tatgtgcat cgagtttgca cagtggggtc 240

ccatcaaggt tcagtggcag tggatctggg acagatttct ctctcaccat cagcagtctg 300

caacctgaag attttgcaat ttactactgt caacagagtt acagttcctt ccggacgttc 360

ggccaaggga ccaagctgga gatcaaacgt acggtggctg caccatctgt ctctatcttc 420

ccgccatctg atgagcagtt gaaatctgga actgcctctg ttgtgtgcct gctgaataac 480
ttctatccca gagaggccaa agtacagtgg aaggtggata acgccctcca atcgggtaac 540
tcccaggaga gtgtcacaga gcaggacagc aaggacagca cctacagcct cagcagcacc 600
ctgacgctga gcaaagcaga ctacgagaaa cacaaagtct acgcctgcga agtcacccat 660
cagggcctga gttcgcccgt cacaaagagc ttcaacaggg gagagtgttg a 711

<210> 56
<211> 645
<212> DNA
<213> 人工序列

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

<400> 56
gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggcaagcca gaacatagac aagtacttaa attggtatca gcagataccg 120
gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcacgagtt tgcacagtgg ggtcccatca 180
aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttctctctca ccatcagcag tctgcaacct 240
gaagattttg caatttacta ctgtcaacag agttacagtt ccttccggac gttcggccaa 300
gggaccaagc tggagatcaa acgtacggtg gctgcacat ctgttctcat ctteccgcca 360
tetgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taactttat 420
cccagagagg ccaaagtaca gtggaagggtg gataacgccc tccaatcggg taactcccag 480
gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 540
ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc 600
ctgagttcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gttga 645

<210> 57
<211> 324
<212> DNA
<213> 人工序列

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

<400> 57
cgtaagggtgg ctgcaccatc tgtcttcate ttcccgccat ctgatgagca gttgaaatct 60

ggaactgcct ctgttgtgtg cctgctgaat aacttctate ccagagagge caaagtacag 120

tggaagggtgg ataacgccct ccaatcgggt aactcccagg agagtgtcac agagcaggac 180

agcaaggaca gcacctacag cctcagcagc accctgacgc tgagcaaagc agactacgag 240

aaacacaaaag tctacgcctg cgaagtcacc catcagggcc tgagttcgcc cgtcacaaaag 300

agcttcaaca ggggagagtg ttga 324

<210> 58
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列

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

<400> 58
gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggcaagcca gaacatagac aagtacttaa attggtatca gcagataccg 120

gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatcgagtt tgcacagtgg ggtcccatca 180

aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttctctctca ccatcagcag tctgcaacct 240

gaagattttg caatttacta ctgtcaacag agttacagtt ccttcggac gttcgccaa 300

gggaccaage tggagatcaa a 321

<210> 59
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

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

<400> 59
Met Gly Trp Ser Leu Ile Leu Leu Phe Leu Val Ala Val Ala Thr Arg
1 5 10 15

Val Leu Ser

<210> 60
<211> 22
<212> PRT
<213> 人工序列

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

<400> 60
Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Trp
1 5 10 15

Phe Pro Gly Ser Arg Cys
20

<210> 61
<211> 37
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注=「人工序列之描述：合成
二肽重複蛋白(GA)15」

<400> 61
Cys His His His His His His Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly
1 5 10 15

Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly
20 25 30

Ala Gly Ala Gly Ala
35

<210> 62
<211> 31
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注=「人工序列之描述：合成
二肽重複蛋白(GP)15」

<400> 62
Cys Gly Pro Gly Pro Gly Pro Gly Pro Gly Pro Gly Pro Gly Pro Gly
1 5 10 15

Pro Gly Pro Gly Pro Gly Pro Gly Pro Gly Pro Gly Pro Gly Pro
20 25 30

<210> 63
<211> 31

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注=「人工序列之描述：合成
二肽重複蛋白(GR)15」

<400> 63
Cys Gly Arg Gly Arg Gly Arg Gly Arg Gly Arg Gly Arg Gly Arg Gly
1 5 10 15

Arg Gly Arg Gly Arg Gly Arg Gly Arg Gly Arg Gly Arg Gly Arg
20 25 30

<210> 64
<211> 31
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注=「人工序列之描述：合成
二肽重複蛋白(PA)15」

<400> 64
Cys Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro
1 5 10 15

Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala
20 25 30

<210> 65
<211> 31
<212> PRT
<213> 人工序列

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

二肽重複蛋白(PR) 15」

<400> 65

Cys Pro Arg Pro Arg Pro Arg Pro Arg Pro Arg Pro Arg Pro Arg Pro

1 5 10 15

Arg Pro Arg Pro Arg Pro Arg Pro Arg Pro Arg Pro Arg Pro Arg Pro Arg
20 25 30

<210> 66

⟨211⟩ 30

<212> PRT

〈213〉 人工序列

 $\langle 220 \rangle$ $\langle 221 \rangle$ source

〈223〉 /注=「人工序列之描述：合成二肽重複蛋白肽 GA」

<400> 66

Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala
1 5 10 15

Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala

20 25 30

<210> 67

30

<212> PRT

〈213〉 人工序列

 $\langle 220 \rangle$ $\langle 221 \rangle$ source

〈223〉 /注=「人工序列之描述：合成二肽重複蛋白肽 GP」

<400> 67

Gly Pro Gly Pro Gly Pro Gly Pro Gly Pro Gly Pro Gly Pro Gly Pro
1 5 10 15

Gly Pro Gly Pro Gly Pro Gly Pro Gly Pro Gly Pro Gly Pro Gly Pro
20 25 30

<210> 68
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注=「人工序列之描述：合成
二肽重複蛋白肽 GR」

<400> 68
Gly Arg Gly Arg Gly Arg Gly Arg Gly Arg Gly Arg Gly Arg Gly Arg
1 5 10 15

Gly Arg Gly Arg Gly Arg Gly Arg Gly Arg Gly Arg Gly Arg Gly Arg
20 25 30

<210> 69
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注=「人工序列之描述：合成
二肽重複蛋白肽 PA」

<400> 69
Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala
1 5 10 15

Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala
20 25 30

<210> 70

<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注=「人工序列之描述：合成
二肽重複蛋白肽 PR」

<400> 70
Pro Arg Pro Arg Pro Arg Pro Arg Pro Arg Pro Arg Pro Arg Pro Arg
1 5 10 15

Pro Arg Pro Arg Pro Arg Pro Arg Pro Arg Pro Arg Pro Arg
20 25 30

<210> 71
<211> 46
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注=「人工序列之描述：合成
二肽重複蛋白(GA)20」

<400> 71
Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala
1 5 10 15

Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala
20 25 30

Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala His His His His His His
35 40 45

<210> 72
<211> 26
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> source

<223> /注=「人工序列之描述：合成
二肽重複蛋白(GA)10」

<400> 72

Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala
1 5 10 15

Gly Ala Gly Ala His His His His His His
20 25

<210> 73

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> source

<223> /注=「人工序列之描述：合成
二肽重複蛋白(GA)6」

<400> 73

Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala His His His His
1 5 10 15

His His

<210> 74

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> source

<223> /注=「人工序列之描述：合成
二肽重複蛋白(GA)5」

<400> 74

Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala His His His His His His

1 5 10 15

<210> 75

<211> 14

<212> PRT

〈213〉 人工序列

 $\langle 220 \rangle$ $\langle 221 \rangle$ source

<223> /注=「人工序列之描述：合成二肽重複蛋白(GA)4」

<400> 75

Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala His His His His His His

1 5 10

<210> 76

 $\langle 211 \rangle$ 12

<212> PRT

〈213〉 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

$\langle 221 \rangle$ source

〈223〉 /注=「人工序列之描述：合成二肽重複蛋白(GA)3」

<400> 76

Gly Ala Gly Ala Gly Ala His His His His His His

1 5 10

<210> 77

 $\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT

〈213〉 人工序列

 $\langle 220 \rangle$ $\langle 221 \rangle$ source

〈223〉 /注=「人工序列之描述：合成

二肽重複蛋白(GA)2」

<400> 77

Gly Ala Gly Ala His His His His His His

1 5 10

<210> 78

 $\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT

〈213〉 智人

<400> 78

Gly Gly Ser Val Ser Asp Tyr Tyr Trp Ser

1 5 10

<210> 79

<211> 20

<212> PRT

〈213〉 人工序列

 $\langle 220 \rangle$ $\langle 221 \rangle$ source

<223> /注=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 79

Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala

1 5 10 15

Gly Ala Gly Ala

20

80

<211> 12

<212> PRT

〈213〉 人工序列

 $\langle 220 \rangle$ $\langle 221 \rangle$ source

〈223〉 /注=「人工序列之描述：合成

肽」

 $\langle 400 \rangle$ 80

Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala

1 5 10

<210> 81

<211> 16

<212> PRT

〈213〉 人工序列

<220>

 $\langle 221 \rangle$ source

〈223〉 /注=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 81

Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala

1 5 10 15

82

⟨211⟩ 40

<212> PRT

〈213〉 人工序列

 $\langle 220 \rangle$ $\langle 221 \rangle$ source

〈223〉 /注=「人工序列之描述：合成多肽」

<400> 82

Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala

1 5 10 15

Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala

20 25 30

Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala

35 40

<210> 83
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

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

<220>
<221> SITE
<222> (1).. (30)
<223> /注=「此序列可涵蓋 6-15 個"Gly Ala"重複
單元」

<400> 83
Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala
1 5 10 15

Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala
20 25 30

<210> 84
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注=「人工序列之描述：合成
6xHis 標籤」

<400> 84
His His His His His His
1 5

【發明申請專利範圍】

【請求項 1】 一種能夠結合自染色體 9 開放閱讀框 72(C9orf72)基因轉譯之具有至少 6 個重複序列(GA)₆(SEQ ID NO:80)之聚甘胺酸-丙胺酸(GA)之二肽重複序列(DPR)之抗體或其 DPR 結合片段，其中該抗體或其 DPR 結合片段在其可變區中包含以下六個互補決定區(CDR)：

(a) 包含 SEQ ID NO:3 之胺基酸序列的 VH-CDR1，包含 SEQ ID NO:4 之胺基酸序列的 VH-CDR2，包含 SEQ ID NO:5 之胺基酸序列的 VH-CDR3，包含 SEQ ID NO:8 之胺基酸序列的 VL-CDR1，包含 SEQ ID NO:9 之胺基酸序列的 VL-CDR2，及包含 SEQ ID NO:10 之胺基酸序列的 VL-CDR3；

(b) 包含 SEQ ID NO:3 之胺基酸序列的 VH-CDR1，包含 SEQ ID NO:13 之胺基酸序列的 VH-CDR2，包含 SEQ ID NO:5 之胺基酸序列的 VH-CDR3，包含 SEQ ID NO:8 之胺基酸序列的 VL-CDR1，包含 SEQ ID NO:9 之胺基酸序列的 VL-CDR2，及包含 SEQ ID NO:10 之胺基酸序列的 VL-CDR3；

(c) 包含 SEQ ID NO:3 之胺基酸序列的 VH-CDR1，包含 SEQ ID NO:16 之胺基酸序列的 VH-CDR2，包含 SEQ ID NO:5 之胺基酸序列的 VH-CDR3，包含 SEQ ID NO:8 之胺基酸序列的 VL-CDR1，包含 SEQ ID NO:9 之胺基酸序列的 VL-CDR2，及包含 SEQ ID NO:10 之胺基酸序列的 VL-CDR3；

(d) 包含 SEQ ID NO:3 之胺基酸序列的 VH-CDR1，包含 SEQ ID NO:19 之胺基酸序列的 VH-CDR2，包含 SEQ ID NO:5 之胺基酸序列的 VH-CDR3，包含 SEQ ID NO:8 之胺基酸序列的 VL-CDR1，包含 SEQ ID NO:9 之胺基酸序列的 VL-CDR2，及包含 SEQ ID NO:10 之胺基酸序列的 VL-CDR3；或

(e) 包含 SEQ ID NO:3 之胺基酸序列的 VH-CDR1，包含 SEQ ID NO:22 之胺基酸序列的 VH-CDR2，包含 SEQ ID NO:5 之胺基酸序列的 VH-CDR3，

包含 SEQ ID NO:8 之胺基酸序列的 VL-CDR1，包含 SEQ ID NO:9 之胺基酸序列的 VL-CDR2，及包含 SEQ ID NO:10 之胺基酸序列的 VL-CDR3。

【請求項 2】 如請求項 1 之抗體或其 DPR 結合片段，其係人源抗體。

【請求項 3】 如請求項 1 之抗體或其 DPR 結合片段，其係單株抗體。

【請求項 4】 如請求項 1 之抗體或其 DPR 結合片段，在其可變區中包含

(a) 可變重鏈(V_H)及可變輕鏈(V_L)，其中該 V_H 及 V_L 鏈胺基酸序列分別與 SEQ ID NO:2 及 7 至少 90%相同。

【請求項 5】 如請求項 1 之抗體或其 DPR 結合片段，其中該抗體或其 DPR 結合片段在其可變區中包含以下六個 CDR：

(a) 包含 SEQ ID NO:3 之胺基酸序列的 VH-CDR1，

(b) 包含 SEQ ID NO:13 之胺基酸序列的 VH-CDR2，

(c) 包含 SEQ ID NO:5 之胺基酸序列的 VH-CDR3，

(d) 包含 SEQ ID NO:8 之胺基酸序列的 VL-CDR1，

(e) 包含 SEQ ID NO:9 之胺基酸序列的 VL-CDR2，及

(f) 包含 SEQ ID NO:10 之胺基酸序列的 VL-CDR3。

【請求項 6】 如請求項 1 之抗體或其 DPR 結合片段，其中該抗體或其 DPR 結合片段在其可變區中包含以下六個 CDR：

(a) 包含 SEQ ID NO:78 之胺基酸序列的 VH-CDR1，

(b) 包含 SEQ ID NO:13 之胺基酸序列的 VH-CDR2，

(c) 包含 SEQ ID NO:5 之胺基酸序列的 VH-CDR3，

(d) 包含 SEQ ID NO:8 之胺基酸序列的 VL-CDR1，

(e) 包含 SEQ ID NO:9 之胺基酸序列的 VL-CDR2，及

(f) 包含 SEQ ID NO:10 之胺基酸序列的 VL-CDR3。

【請求項 7】 如請求項 5 或 6 之抗體或其 DPR 結合片段，在其可變區中包含含有 SEQ ID NO:12 之胺基酸序列的 V_H 鏈。

【請求項 8】 如請求項 5 或 6 之抗體或其 DPR 結合片段，在其可變區中包含含有 SEQ ID NO:24 之胺基酸序列的 V_L 鏈。

【請求項 9】 如請求項 5 或 6 之抗體或其 DPR 結合片段，在其可變區中包含含有 SEQ ID NO:12 之胺基酸序列的 V_H 鏈及含有 SEQ ID NO:24 之胺基酸序列的 V_L 鏈。

【請求項 10】 如請求項 1 之抗體或其 DPR 結合片段，在其可變區中包含 V_H 鏈，其中：

- (a) 該 V_H 鏈包含 SEQ ID NO: 15 之胺基酸序列；
- (b) 該 V_H 鏈包含 SEQ ID NO: 18 之胺基酸序列；
- (c) 該 V_H 鏈包含 SEQ ID NO: 21 之胺基酸序列；或
- (d) 該 V_H 鏈包含 SEQ ID NO: 2 之胺基酸序列。

【請求項 11】 如請求項 1 之抗體或其 DPR 結合片段，在其可變區中包含 V_L 鏈，其中：

- (a) 該 V_L 鏈包含 SEQ ID NO: 24 之胺基酸序列；或
- (b) 該 V_L 鏈包含 SEQ ID NO: 7 之胺基酸序列。

【請求項 12】 如請求項 1 之抗體或其 DPR 結合片段，在其可變區中包含 V_H 鏈及 V_L 鏈，其中：

- (a) 該 V_H 鏈包含 SEQ ID NO: 15 之胺基酸序列，且該 V_L 鏈包含 SEQ ID NO: 24 之胺基酸序列；
- (b) 該 V_H 鏈包含 SEQ ID NO: 18 之胺基酸序列，且該 V_L 鏈包含 SEQ ID NO: 24 之胺基酸序列；

(c) 該 V_H 鏈包含 SEQ ID NO: 21 之胺基酸序列，且該 V_L 鏈包含 SEQ ID NO: 24 之胺基酸序列；或

(d) 該 V_H 鏈包含 SEQ ID NO: 2 之胺基酸序列，且該 V_L 鏈包含 SEQ ID NO: 7 之胺基酸序列。

【請求項 13】 如請求項 1 至 6 中任一項之抗體或其 DPR 結合片段，其中

(i) 藉由表面電漿共振(SPR)所測定，該抗體或其 DPR 結合片段對於聚-(GA)₈ 肽(SEQ ID NO: 81)所具有之結合親和力對應於小於 30 nM 之 K_D (解離常數)，其中 K_a (結合速率)小於 $5 \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 且 K_d (解離速率)小於 $10 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ ；及/或

(ii) 藉由差示掃描量熱法(VP-DSC)所測定，其 Fab 片段具有分別在 78-82°C 範圍內之熱穩定性及解構溫度 T_m 。

【請求項 14】 如請求項 1 至 6 及 10 至 12 中任一項之抗體或其 DPR 結合片段，進一步包含異源多肽序列。

【請求項 15】 如請求項 1 至 6 中任一項之抗體或其 DPR 結合片段，其

(i) 僅在該重複數 $n \geq 6$ 時，才結合至該聚-GA 之 DPR；

(ii) 識別聚-(GA)₁₅ 肽(SEQ ID NO:66)上之線性及構形抗原決定基；

(iii) 以與對應疏水性塗佈肽基本相同之親和力結合至與 BSA 載體蛋白偶聯之該聚-GA 肽；

(iv) 與不相關致澱粉樣蛋白基本上無交叉反應性或具有最小交叉反應性；及/或

(v) 能夠結合 C9orf72-FTLD 患者小腦顆粒細胞層中自 C9orf72 基因轉譯之含有 DPR 之蛋白質或其聚集形式。

【請求項 16】 如請求項 1 及 4 至 6 中任一項之抗體或其 DPR 結合片段，其係選自由單鏈 Fv 片段(scFv)、F(ab')片段、F(ab)片段、及 F(ab')₂ 片段組成之群且/或為嵌合鼠-人抗體或鼠源化抗體。

【請求項 17】 一或多種多核苷酸，其編碼如請求項 1 至 16 中任一項之抗體或其 DPR 結合片段，或其免疫球蛋白 V_H 鏈及免疫球蛋白 V_L 鏈。

【請求項 18】 一或多種載體，其包含如請求項 17 之多核苷酸。

【請求項 19】 一種宿主細胞，其包含如請求項 17 之多核苷酸或如請求項 18 之載體。

【請求項 20】 一種用於製備抗 DPR 抗體或其免疫球蛋白鏈之方法，該方法包含

(a) 培養如請求項 19 之宿主細胞；及

(b) 自該培養物中分離該抗體或其免疫球蛋白鏈。

【請求項 21】 如請求項 1 至 6 及 10 至 12 中任一項之抗體或其 DPR 結合片段，其係

(i) 以選自由酶、放射性同位素、螢光團、標誌、旗標及重金屬組成之群之標籤可偵測地標記；或

(ii) 連接至藥物。

【請求項 22】 一種醫藥組成物，其包含如請求項 1 至 16 及 21 中任一項之抗體或其 DPR 結合片段、如請求項 17 之多核苷酸、如請求項 18 之載體或如請求項 19 之宿主細胞，以及醫藥學上可接受之載劑。

【請求項 23】 一種診斷組成物或套組，其包含如請求項 1 至 16 及 21 中任一項之抗體或其 DPR 結合片段、如請求項 17 之多核苷酸、如請求項 18 之載體或如請求項 19 之宿主細胞。

【請求項 24】 一種如請求項 1 至 16 及 21 中任一項之抗體或其 DPR 結合片段、如請求項 17 之多核苷酸、如請求項 18 之載體或如請求項 19 之宿主細胞之用途，其係用於製備用於預防性治療與含有 DPR 之蛋白質或其聚集形式相關或由其引起之疾病之藥物。

【請求項 25】 一種如請求項 1 至 16 及 21 中任一項之抗體或其 DPR 結合片段、如請求項 17 之多核苷酸、如請求項 18 之載體或如請求項 19 之宿主細胞之用途，其係用於製備用於治療性治療與含有 DPR 之蛋白質或其聚集形式相關或由其引起之疾病之藥物。

【請求項 26】 如請求項 24 或 25 之用途，其中該疾病係選自由肌肉萎縮性脊髓側索硬化症(ALS)、額顳葉變性(FTLD)及 FTLD-ALS 組成之群。

【請求項 27】 一種如請求項 1 至 16 及 21 中任一項之抗體或其 DPR 結合片段、如請求項 17 之多核苷酸、如請求項 18 之載體或如請求項 19 之宿主細胞之用途，其係用於製備用於在人或動物體內活體內偵測聚-GA DPR 蛋白質或向該蛋白質靶向輸送治療及/或診斷劑之藥物。

【發明圖式】

(A) NI-308.5J10 VH (可變重鏈序列VH) (SEQ ID NO: 2)

FR1-----CDR1-FR2-----CDR2-----
QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTYYTVLGGSVSDYYWSCI RQPAGKGLEWIGRTYTN**NG**KTTYTYN
-----FR3-----CDR3-----FR4-----
PSLESRLSLSIDTSMNQFSLKLTSVTAADTAVYYCARWGAV**TGDYYYGMD**VWGPGLTVTVSS

NI-308.5J10 VK (可變輕鏈序列VK) (SEQ ID NO: 7)

FR1-----CDR1-----FR2-----CDR2---
EIVLTQSPLSLSVTPGEPASISCR**SPRSL**LHTNGYTYLDWYLQRPQGSPQLLI**FLAS**NRAS
FR3-----CDR3-----FR4-----
GVPDFRFGSGSGT**NFT**LRI SGVEADDVG VYYC**MQGLQPS**WTFGQGTKVEIK

(B) NI-308.5J10 VH N54S (可變重鏈序列VH N54S) (SEQ ID NO: 12)

FR1-----CDR1-FR2-----CDR2-----
QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTYYTVLGGSVSDYYWSCIRQPAGKGLEWIGRTYTN**SG**KTTYTYN
-----FR3-----CDR3-----FR4-----
PSLESRLSLSIDTSMNQFSLKLTSVTAADTAVYYCARWGAV**TGDYYYGMD**VWGPGLTVTVSS

(C) NI-308.5J10 VH N54T (可變重鏈序列VH N54T) (SEQ ID NO: 15)

FR1-----CDR1-FR2-----CDR2-----
QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTYYTVLGGSVSDYYWSCIRQPAGKGLEWIGRTYTN**TG**KTTYTYN
-----FR3-----CDR3-----FR4-----
PSLESRLSLSIDTSMNQFSLKLTSVTAADTAVYYCARWGAV**TGDYYYGMD**VWGPGLTVTVSS

(D) NI-308.5J10 VH G55S (可變重鏈序列VH G55S) (SEQ ID NO: 18)

FR1-----CDR1-FR2-----CDR2-----
QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTYYTVLGGSVSDYYWSCIRQPAGKGLEWIGRTYTN**SK**KTTYTYN
-----FR3-----CDR3-----FR4-----
PSLESRLSLSIDTSMNQFSLKLTSVTAADTAVYYCARWGAV**TGDYYYGMD**VWGPGLTVTVSS

(E) NI-308.5J10 VH G55T (可變重鏈序列VH G55T) (SEQ ID NO: 21)

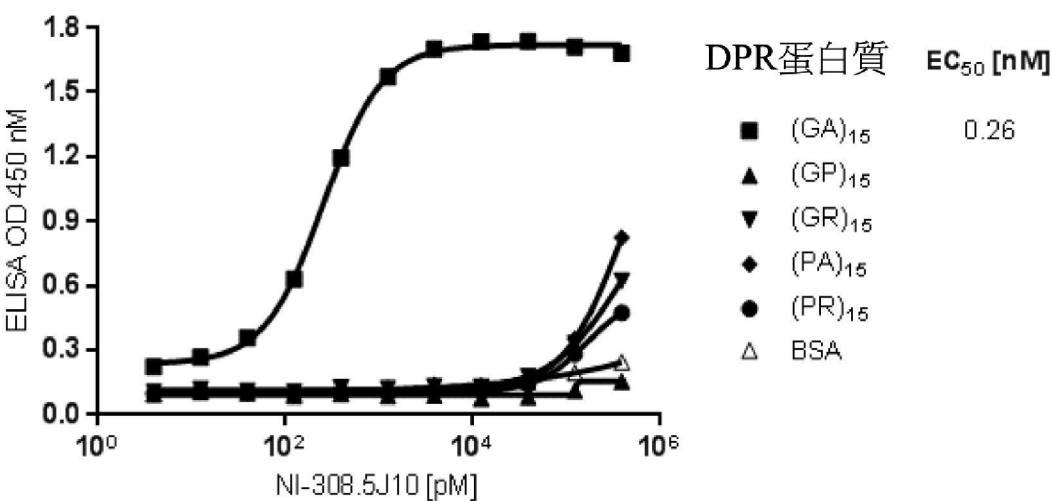
FR1-----CDR1-FR2-----CDR2-----
QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTYYTVLGGSVSDYYWSCIRQPAGKGLEWIGRTYTN**TK**KTTYTYN
-----FR3-----CDR3-----FR4-----
PSLESRLSLSIDTSMNQFSLKLTSVTAADTAVYYCARWGAV**TGDYYYGMD**VWGPGLTVTVSS

(F) NI-308.5J10 VK N75D (可變輕鏈序列VK N75D) (SEQ ID NO: 24)

FR1-----CDR1-----FR2-----CDR2---
EIVLTQSPLSLSVTPGEPASISCR**SPRSL**LHTNGYTYLDWYLQRPQGSPQLLI**FLAS**NRAS
FR3-----CDR3-----FR4-----
GVPDFRFGSGSGT**DF**TLRISGVEADDVG VYYC**MQGLQPS**WTFGQGTKVEIK

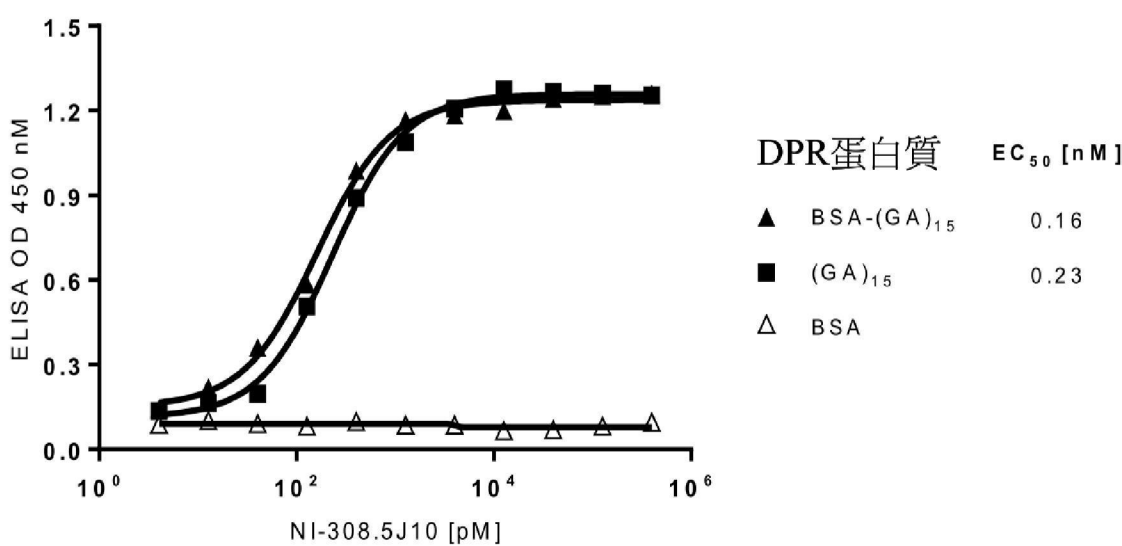
【圖 1】

NI-308.5J10

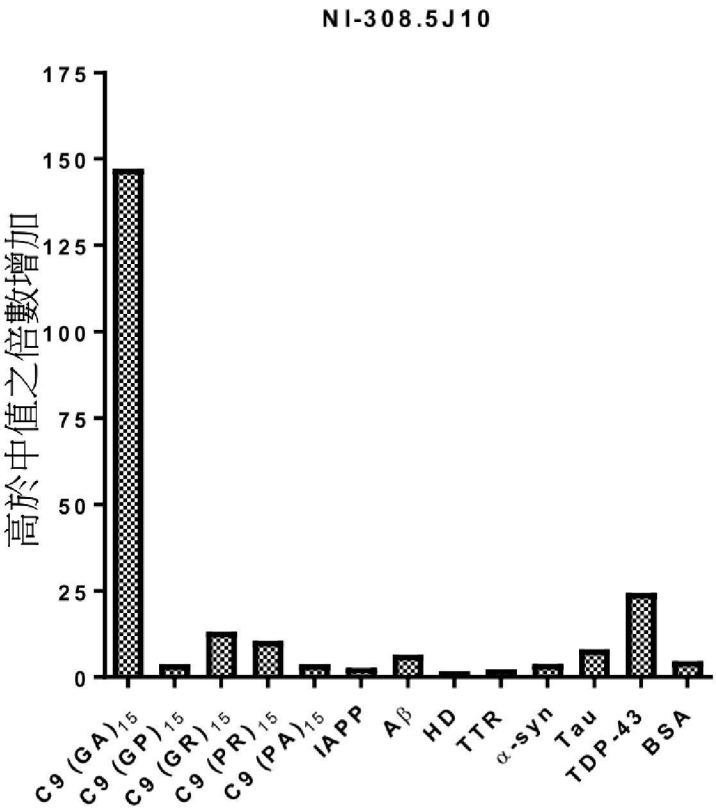


【圖 2】

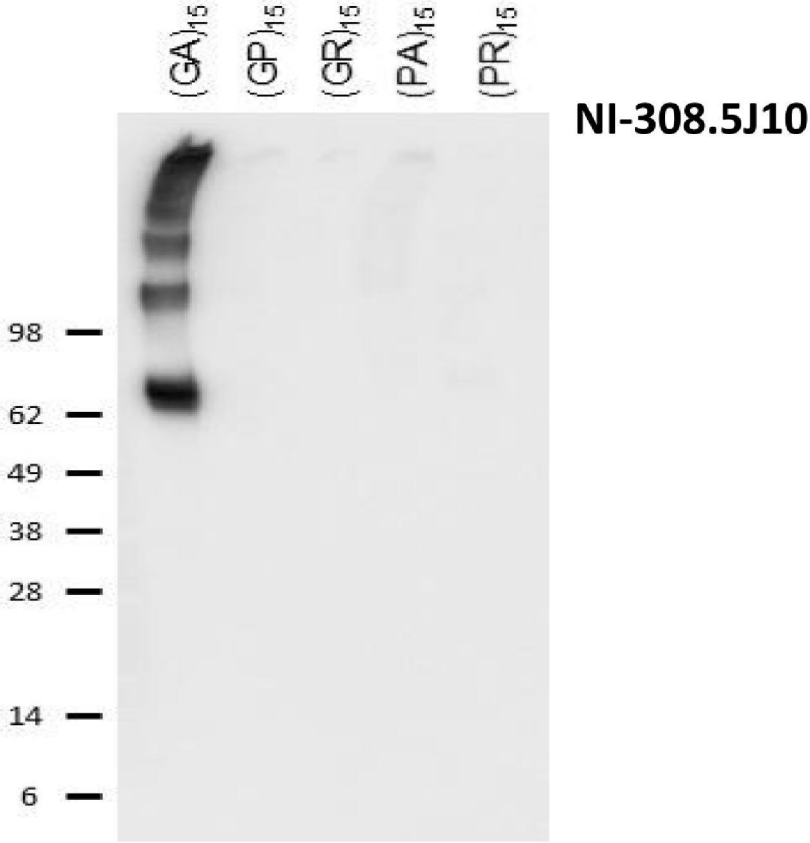
NI-308.5J10



【圖 3】

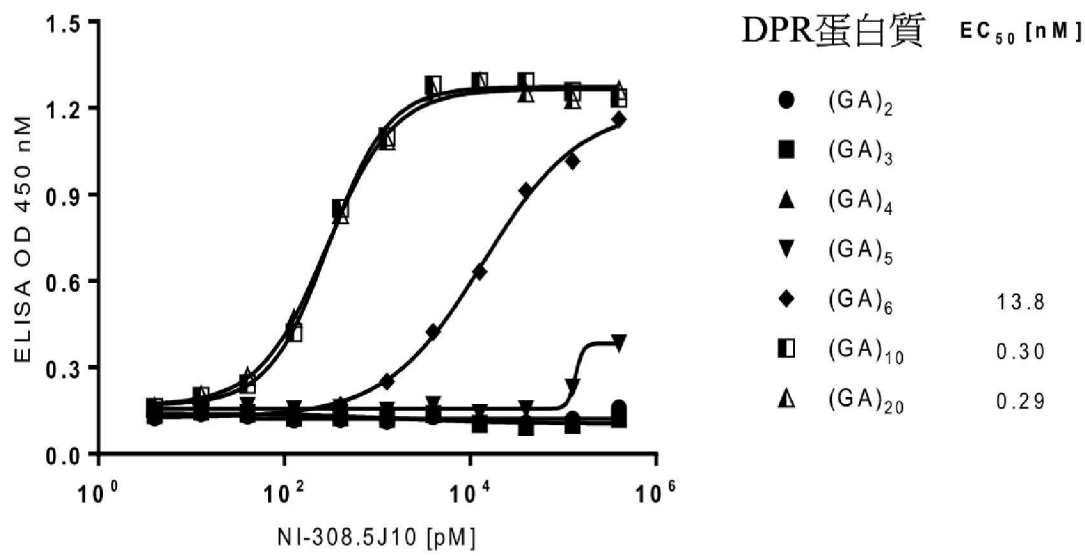


【圖 4】



【圖 5】

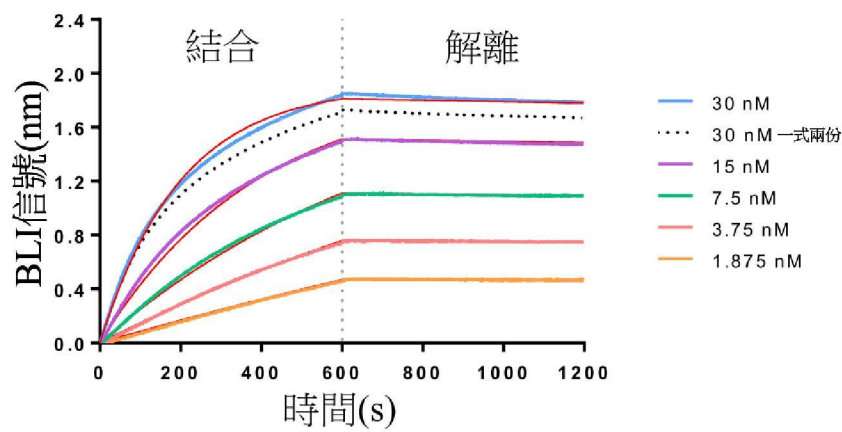
NI-308.5J10



【圖 6】

NI-308.5J10

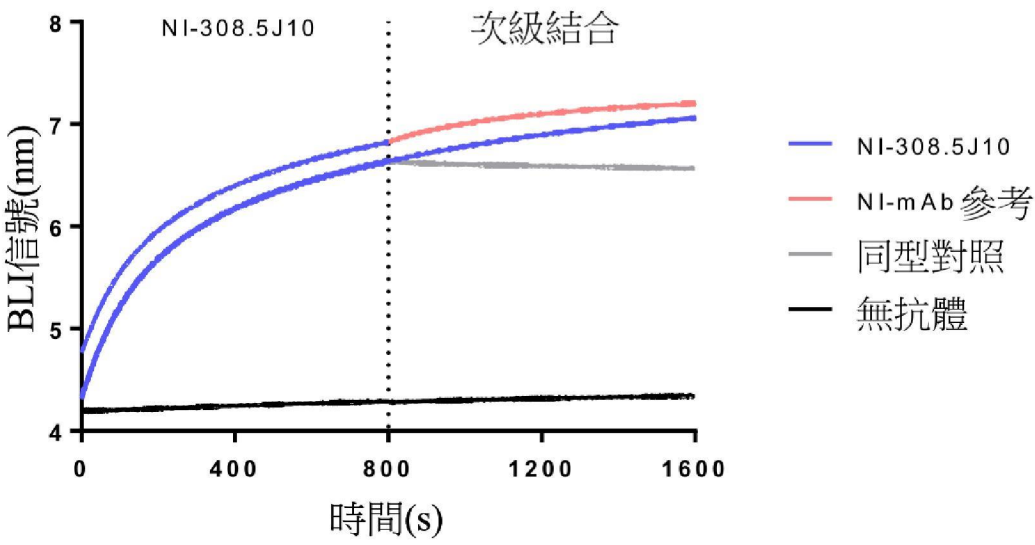
NI-308.5J10



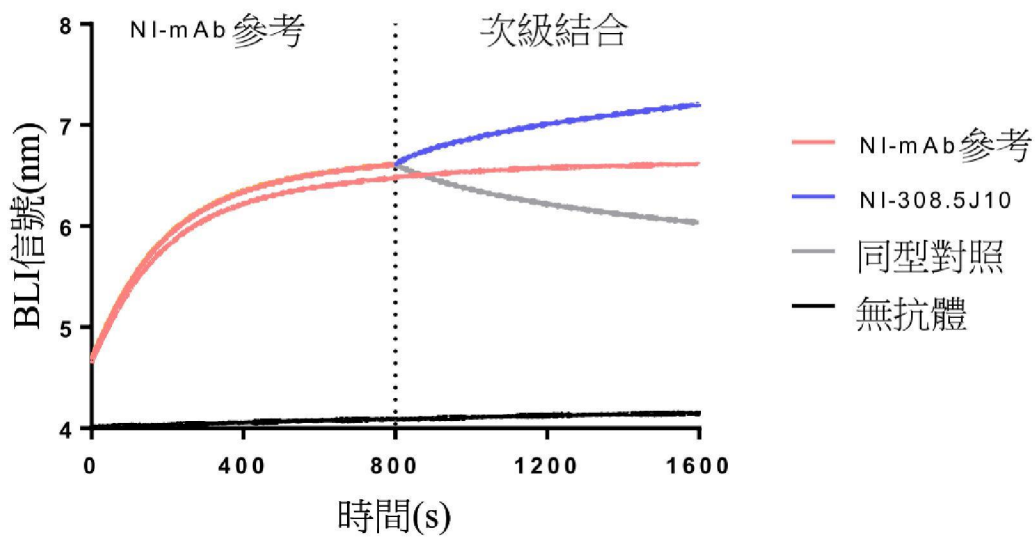
抗體	K_D (M)	SD	k_a ($M^{-1} s^{-1}$)	SD	k_d (s^{-1})	SD
NI.308.5J10	1.5E-10	2E-11	1.63E+05	5E+03	2.4E-05	4E-06

【圖 7】

(A) NI-308.5J10

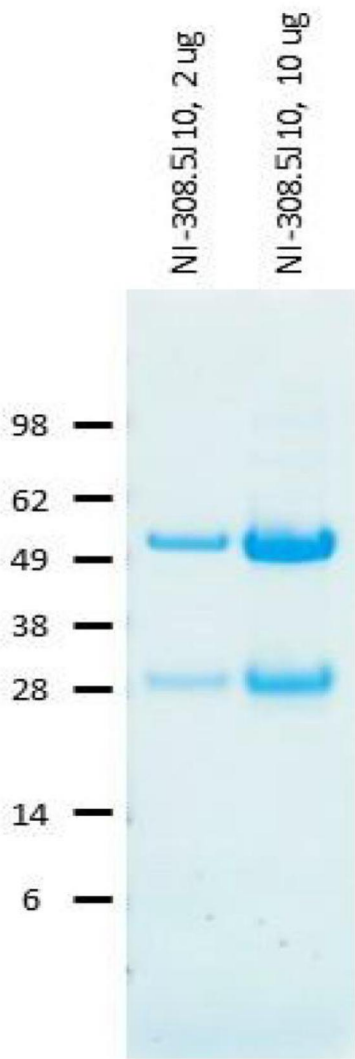


(B) NI-mAb 參考

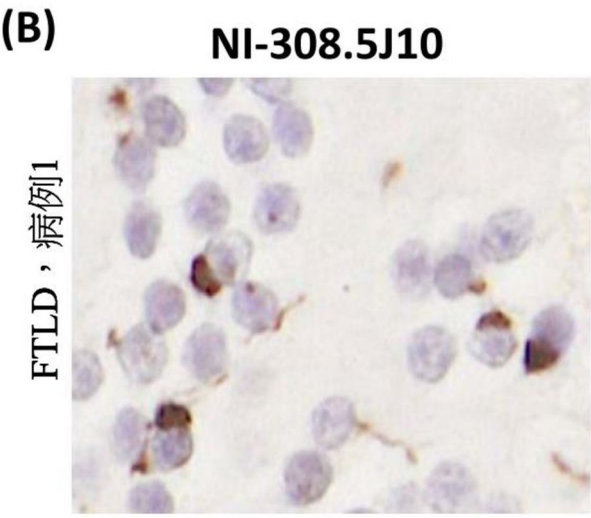
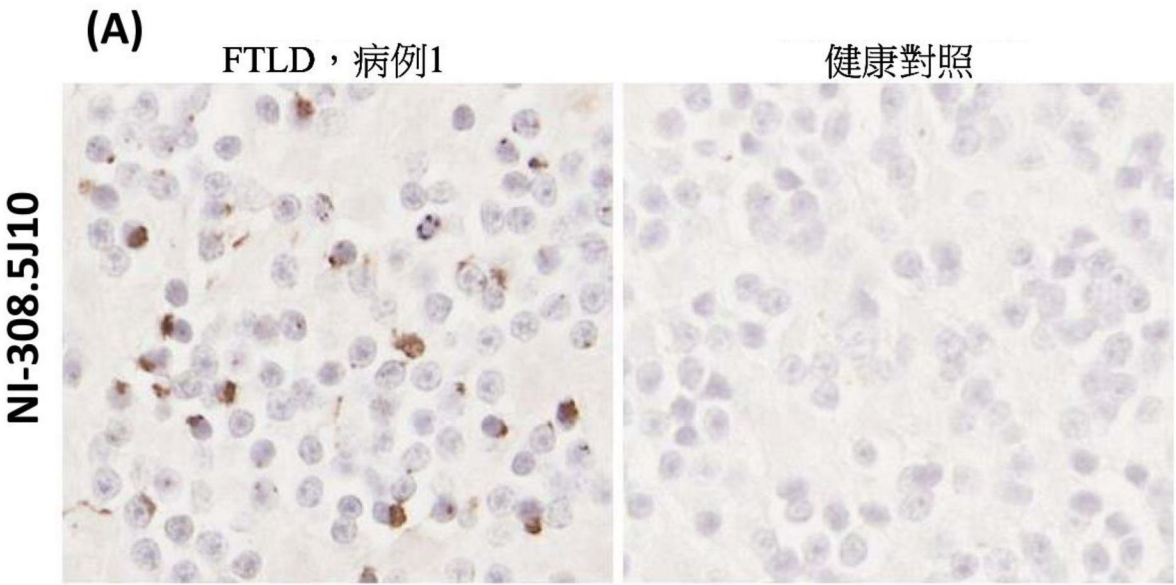


【圖 8】

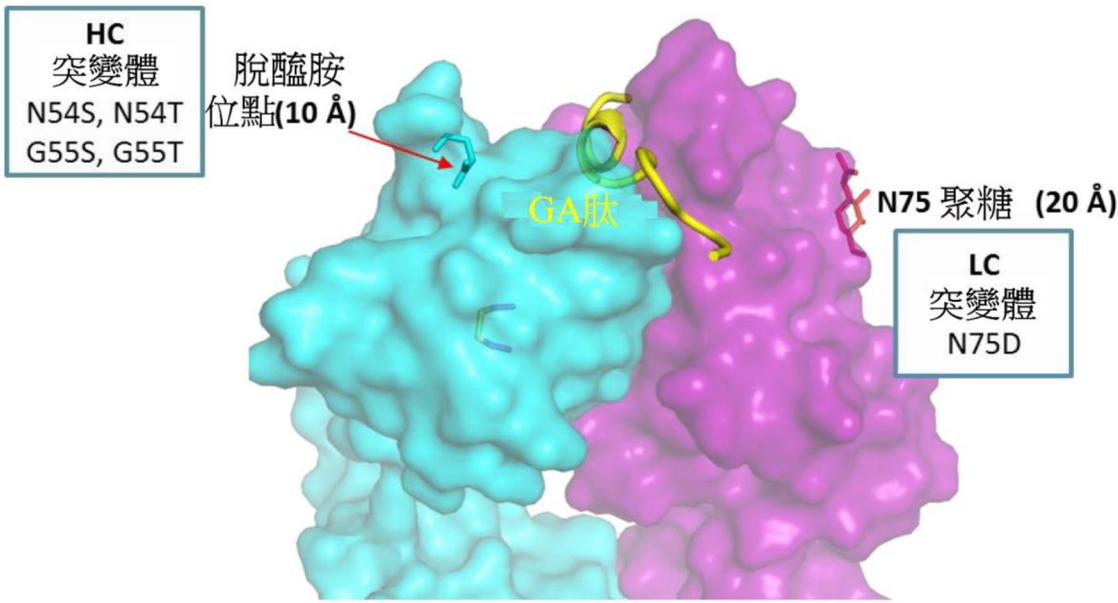
NI-308.5J10



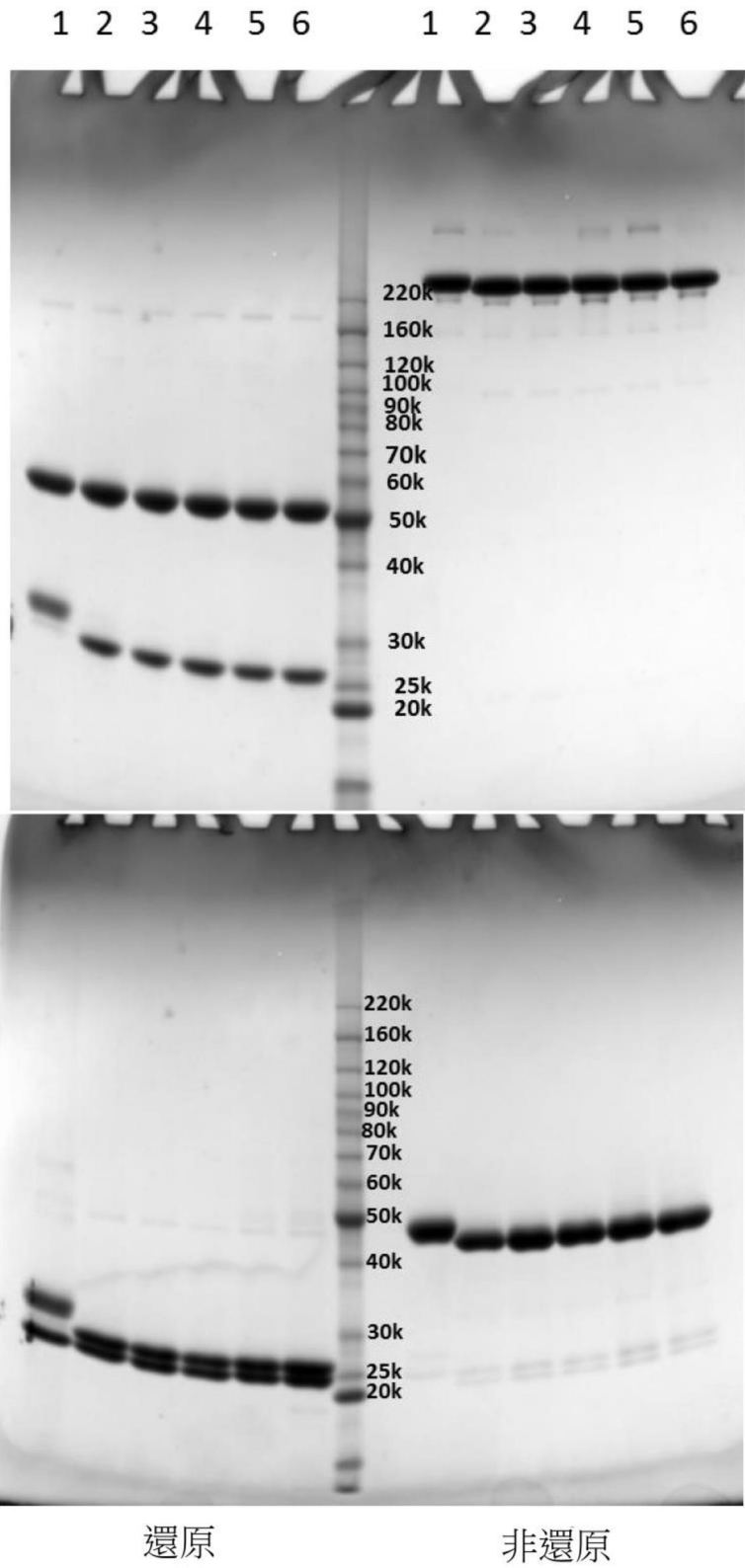
【圖 9】



【圖 10】

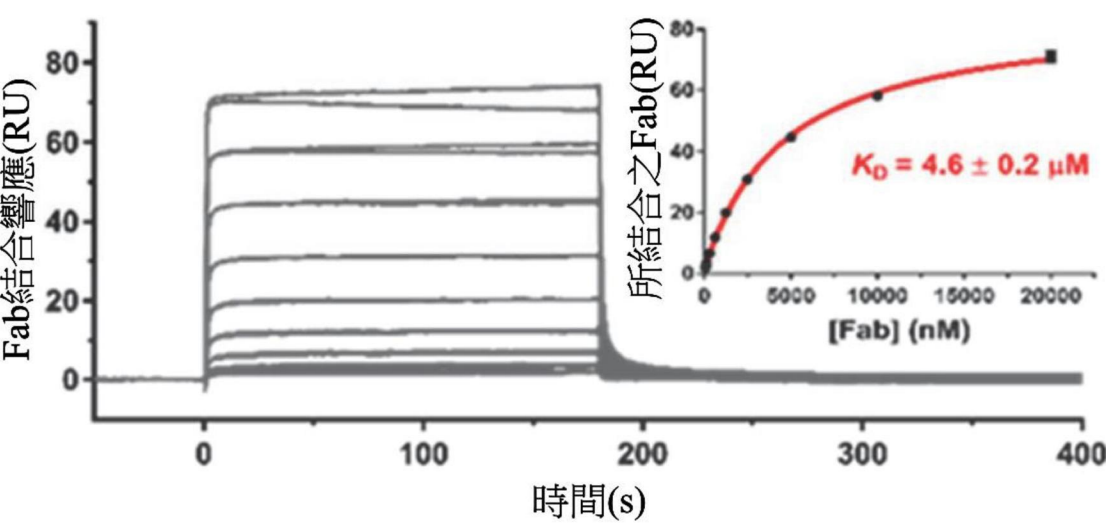


【圖 11】



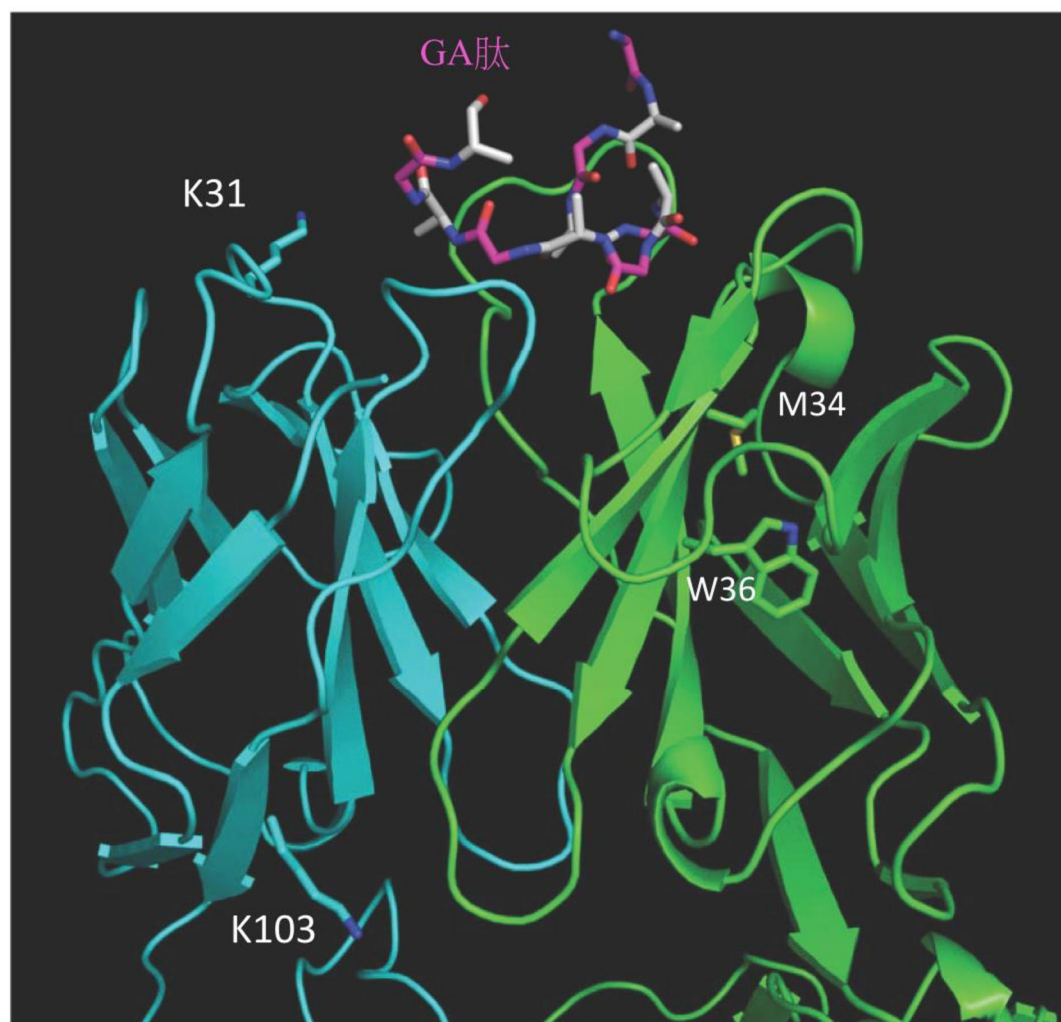
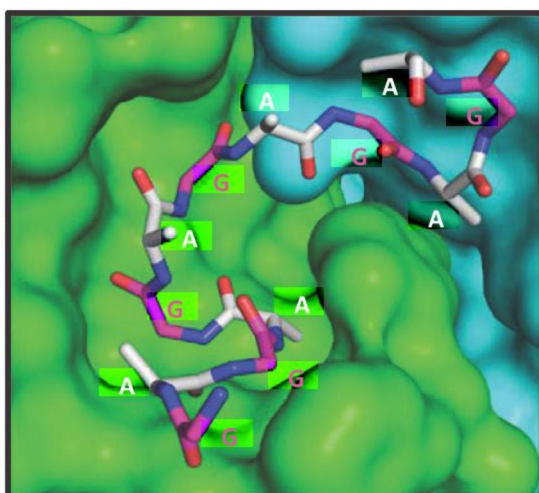
【圖 12】

單價DPR Ab-1 Fab : (GA)₈ 結合- SPR



【圖 13A】

晶體結構：DPR Ab-1 Fab-GA



【圖 13B】