



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 106536754 B

(45) 授权公告日 2021. 04. 16

(21) 申请号 201580031348.X

A61K 39/395 (2006.01)

(22) 申请日 2015.04.08

A61P 11/06 (2006.01)

(65) 同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 106536754 A

(56) 对比文件

WO 2011/156000 A2, 2011.12.15

WO 2007/045477 A2, 2007.04.26

(43) 申请公布日 2017.03.22

US 2009/0214523 A1, 2009.08.27

(30) 优先权数据

61/978,604 2014.04.11 US

曹银利等. “IL-4 及其受体和 IL-13 基因多态性与儿童哮喘的相关性研究”. 《中国现代医学杂志》. 2012, 第22卷 (第24期),

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2016.12.12

Rebecca E. Slager等. “IL-4 receptor polymorphisms predict reduction in asthma exacerbations during response to an anti-IL-4 receptor α antagonist”. 《JOURNAL OF ALLERGY AND CLINICAL IMMUNOLOGY》. 2012, 第130卷 (第2期),

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/IB2015/052551 2015.04.08

(87) PCT国际申请的公布数据

WO2015/155710 EN 2015.10.15

梁文华等. “IL-4和IL-4R基因多态性与哮喘的相关性”. 《中华医学遗传学杂志》. 2014, 第31卷 (第1期),

(73) 专利权人 诺华股份有限公司

地址 瑞士巴塞尔

宋爱玲等. “IL-13 : 一个前景广阔的治疗支气管哮喘的靶位点”. 《中华哮喘杂志》. 2009, 第3卷 (第6期),

(72) 发明人 A·达马思科 S·刘易茨基

M·A·罗特

审查员 陈咪咪

(74) 专利代理机构 上海专利商标事务所有限公司

司 31100

代理人 杨昀 陶家蓉

(51) Int. Cl.

C12Q 1/6883 (2018.01)

权利要求书1页 说明书37页

序列表25页 附图2页

(54) 发明名称

用IL-13拮抗剂选择性治疗哮喘的方法

(57) 摘要

本发明关于用于治疗哮喘的新颖预测性方法和个体化治疗。具体地, 本发明关于通过选择性施用IL-13拮抗剂治疗哮喘患者的方法, 这是基于所述患者在遗传上对用IL-13拮抗剂的治疗倾向于具有有利响应。本文中公开了用于预测哮喘患者响应用IL-13拮抗剂治疗的可能性的可传输形式信息、诊断方法和试剂盒。

1. 分析来自哮喘患者的生物样品中至少一种AIR标记物的存在或不存在并测定所述AIR标记物是以纯合还是杂合形式存在的物质在制备用于预测所述患者将响应用IL-13拮抗剂治疗的可能性的产品中的应用, 其中:

所述至少一种纯合形式AIR标记物的存在指示所述患者将响应用所述IL-13拮抗剂治疗的可能性增加, 其中所述至少一种AIR标记物选自以下:

- i) 各自以纯合形式存在的AIR标记物3和AIR标记物7,
- ii) 以纯合形式存在的AIR标记物3和以杂合形式存在的AIR标记物7, 和
- iii) 以纯合形式存在的AIR标记物7和以杂合形式存在的AIR标记物3,

其中, 所述AIR标记物3为dbSNP资料库中编号为rs1805010的SNP, 所述AIR标记物7为dbSNP资料库中编号为rs8832的SNP; 所述AIR标记物3的纯合形式为AA基因型, 杂合形式为AG基因型; 所述AIR标记物7的纯合形式为GG基因型, 杂合形式为AG基因型;

其中, 所述IL-13拮抗剂是选自下组的抗体:

- i. 包含SEQ ID NO:14所列重链可变区和SEQ ID NO:16所列轻链可变区的抗体,
- ii. 包含SEQ ID NO:20所列重链和SEQ ID NO:18所列轻链的抗体。

2. 如权利要求1所述的应用, 其中所述分析包含针对所述至少一种AIR标记物的核酸产物或所述至少一种AIR标记物的多肽产物分析该生物样品。

3. 如权利要求1的应用, 其中所述分析包含针对所述至少一种AIR标记物的基因组序列分析该生物样品。

4. 如权利要求1的应用, 其中所述生物样品选自血液、血清、粪便、血浆、尿液、泪液、唾液和组织样品。

5. 如权利要求1的应用, 其中所述分析包含选自以下的技术: RNA印迹分析、聚合酶链反应、逆转录-聚合酶链反应、基于TaqMan的分析、直接测序、动态等位基因特异性杂交、高密度寡核苷酸SNP阵列、限制片段长度多态性分析、寡核苷酸连接酶分析、单链构象多态性分析、温度梯度凝胶电泳、高分辨率解链分析、DNA错配结合蛋白分析、SNPLex[®]、毛细管电泳、DNA印迹、免疫分析、流式细胞术、蛋白质印迹、HPLC和质谱。

6. 如权利要求1的应用, 其中所述分析包含选自以下的技术: 引物延伸分析、变性高效液相层析、免疫组织化学和ELISA。

7. 如权利要求1的应用, 其中所述IL-13拮抗剂是包含如SEQ ID NO:20中所示重链和SEQ ID NO:18中所示轻链的抗体。

8. 如权利要求1的应用, 其中所述IL-13拮抗剂是以每4周i.v. 方式施用50-1000mg剂量的抗体。

9. 如权利要求1的应用,

其中所述IL-13拮抗剂具有100-200pM的 K_D 。

10. 如权利要求1的应用,

其中所述IL-13拮抗剂具有约21天的体内半衰期。

11. 用于记录可传输信息的有形或无形媒介在制备用于预测哮喘患者对用IL-13拮抗剂治疗响应的产品中的应用, 其中: 所述媒介记录了按权利要求1测定所述患者响应用所述IL-13拮抗剂治疗的增加的可能性。

用IL-13拮抗剂选择性治疗哮喘的方法

[0001] 序列表

[0002] 本申请含有以ASCII格式电子提交的序列表且其以引用方式全文并入本文中。所述ASCII拷贝于2015年3月19日创建,命名为PAT056217-WO-PCT_SL.txt,且大小为40,804字节。

技术领域

[0003] 本发明是关于用于治疗哮喘患者的预测性方法、个体化治疗、可传输形式信息和方法。

背景技术

[0004] 哮喘是一种主要的全球性健康负担。全世界估计有3亿人受到哮喘影响,虽然存在现有疗法,但仍有显著未满足的医学需求。世界卫生组织估计每年因哮喘损失1500万个伤残调整生命年,占总全球性负担的1%。全世界每年死亡估计为250,000例。全世界未控制哮喘的患病率超过6百万患者。

[0005] 白介素13 (IL-13) 是由2型辅助T细胞 (Th2)、肥大细胞、嗜酸粒细胞和嗜碱细胞产生的细胞因子 (Kelly-Welch A, (2005), Sci STKE;293:pcm 8), 其促进炎性细胞因子的产生,上调单核细胞上的MHC II类和CD23表达,诱导抗CD40依赖性IgE类别转换,并诱导B细胞中的IgG和IgM合成 (Joshi BH, (2006), Vitam Horm;74:479-504)。IL-13已显示在若干生物过程中起主要作用,包括气道高反应性、过敏性炎症、组织嗜酸粒细胞增多症、排虫、肥大细胞增生、IgE抗体合成、杯状细胞化生、组织重塑和纤维化 (Belperio JA, (2002) Am J Respir Cell Mol Biol;27(4):419-427; Brombacher F (2000) Bioessays;22:646-656; Wynn TA, (2004), Immunol Rev;201:156-67; Kolodsick JE, (2004), J Immunol;172:4068-4076)。特别地,IL-13已显示在动物模型中是过敏性哮喘的中心介质 (Wills-Karp M, (1998), Science;282:2258-2261)。该观测结果已得到补充:数据显示抗IL-13Ab在小鼠中抑制哮喘进展 (Yang G, (2005), J Pharmacol Exp Ther;313(1):8-15)。IL-13动用响应细胞上的两种相关受体IL-13R α 1和IL-13R α 2 (Wills-Karp M, (2008), Sci Signal;1(51)pe55)。IL-13R α 1与IL-4R α 受体亚基形成复合物,其通过JAK/STAT路径进行信号传导以使STAT6磷酸化,后者担当促进嗜酸性粒细胞趋化因子 (eotaxin) 和Th2依赖性炎症中所涉及的其他产物表达的转录因子。第二IL-13R α 2受体也结合IL-13,但似乎不产生过敏中所涉及信号。因此,IL-13R α 1/IL-4R α 受体复合物提供IL-13和IL-4信号传导路径中的关键共同点。也参见Ingram和Kraft (2012) J Allergy Clin Immunol 130(4):829-842。

[0006] W005007699、W007036745、W012049278和W008106116涉及用于治疗哮喘的抗IL-13抗体和/或IL-13拮抗剂。

[0007] 对限定不同哮喘表型的生物标记物有研究在进行中 (Wenzel SE (2012), Nat Med; 18(5):716-725)。W012083132涉及鉴别可能响应用TH2路径抑制剂治疗的哮喘患者或呼吸病症患者的方法,所述方法涵盖使用嗜酸粒细胞性炎症诊断分析。

[0008] Slager RE, (2012), J Allergy Clin Immunol;130(2):516-22涉及与在使用IL-4抑制剂治疗的患者中哮喘恶化风险降低相关的IL-4R α 受体中的一系列单核苷酸多态性(SNP)。W011156000涉及用于测定IL-4R α 受体中的某些SNP中的主要等位基因来指示可能响应IL-4/IL13(IL-4和IL-13)拮抗剂治疗(例如利用突变人类IL-4蛋白的治疗)的使用方法和试剂盒。

发明内容

[0009] 存在对鉴别单核苷酸多型性(SNP)以预测哮喘患者是否将响应用IL-13拮抗剂治疗来作为诊断和治疗哮喘的药物基因组学生物标记物方法的需求。本文通过在用IL-13拮抗剂治疗之前鉴别可能有利响应的患者,为哮喘患者提供使IL-13拮抗作用在这些群体中益处最大化、风险最小化的预测性方法和个体化治疗。本文中所阐述的本发明方法涉及如下发现:具有特定响应性基因型的患者在用抗体01951/G12(SEQ ID No.14和16)(W02007/045477中所进一步阐述的人类IgG1/ κ 抗IL-13单克隆抗体)治疗后哮喘恶化的频率实质降低。患者中的响应性基因型是IL-4R α 受体基因的那些SNP中的特异性响应等位基因,并提供于表1中。

[0010] 表1

AIR 标 记 物	SNP	5' 核苷酸序列	SEQ ID NO:	RefSNP 等位基因
1	rs1110470	GAAGGTTGGCAGGCCAGGGACAACA[C/T]C GTCTGCCAAGCCATGGCAGTAGAC	22	C/T (REV)
2	rs3024530	TAAGGTATTTTGTATAGCAGCCT[A/G]TA TGGACTAAGCTGACTTGTAACGT	23	A/G (FWD)
3	rs1805010	CTGTGTCTGCAGAGCCCACACGTGT[A/G]TC CCTGAGAACAAACGGAGGCGCGGG	24	A/G (FWD)
4	rs2239347	ACCCCAGGTCCCATATGTCCAGAGA[G/T]TG TCCCTCCAATGGGAATGTGAGGA	25	G/T (REV)
5	rs1805011	AGGGATGACTTCCAGGAGGGAAGGG[A/C]G GGCATTGTGGCCCGGCTAACAGAG	26	A/C (FWD)
6	rs1801275	GTCTCGGCCCCACCAGTGGCTATC[A/G]GG AGTTTGTACATGCGGTGGAGCAG	27	A/G (FWD)
7	rs8832	GCAACAGAGGACATGAAAAATTGCT[A/G]T GACTAAAGCAGGGACAATTGCTG	28	A/G (FWD)
8	rs1029489	CTTGTATGGGGAACCCAAACCCAGA[C/T]G GCAAGTTTCTTAACCTCTTGCATC	29	C/T (REV)
9	rs4787956	GCTTATGTCATCCTGACACCTACGC[A/G]GA TGTCGGCTCGAATCCACTTTGCC	30	A/G (FWD)

[0012] 表1阐释由相应rs编号指定的IL-4R α 受体的SNP核苷酸序列。如下文所详细引用, SNP序列也提供于dbSNP资料库中。括号内显示可替代等位基因。本发明响应性等位基因以粗体显示于表1中,并分别指定为抗IL-13响应标记物(下文的“AIR标记物”)。因此,指定AIR标记物仅指响应性等位基因并排除非响应性等位基因。在这点上,进一步认识到患者对于特定AIR标记物可以是纯合的或杂合的。因此,例如被确定为对AIR标记物3为纯合的患者具有rs1805010SNP的AA基因型,而对AIR标记物为杂合的患者对于这一SNP具有AG基因型。在本发明的发明方法中,患者对于特定AIR标记物为阳性,则对于响应性等位基因也为阳性,

其中所述患者对于响应性等位基因为纯合或杂合。对于特定AIR标记物为阴性的患者对于非响应性等位基因是纯合的。例如,对于AIR标记物3为阴性的患者对于rs1805010SNP具有GG。

[0013] 本发明提供选择性治疗哮喘患者的方法,包含鉴别具有选自AIR标记物-1、2、3、4、5、6、7、8和9的至少一种AIR标记物的患者,和然后向所述患者施用治疗有效量的IL-13拮抗剂。

[0014] 在一个实施方式中,所述鉴别包含分析来自患者的生物样品中选自该组的至少一种AIR标记物的存在。

[0015] 在另一个实施方式中,本发明提供选择性治疗哮喘患者的方法,其包含:

[0016] i) 分析来自患者的生物样品中选自AIR标记物-1、2、3、4、5、6、7、8和9的至少一种AIR标记物的存在或不存在;

[0017] ii) 检测在该样品中选自该组的至少一种AIR标记物的存在且由此确定患者对于所述AIR标记物是阳性的,和

[0018] iii) 向阳性患者选择性施用治疗有效量的IL-13拮抗剂。

[0019] 在另一个实施方式中,本发明方法进一步包含测定所述AIR标记物是以纯合还是杂合形式存在,其中存在至少一种呈纯合形式的AIR标记物决定所述患者对于所述AIR标记物是阳性的。

[0020] 在另一个实施方式中,所述AIR标记物选自Air标记物3和Air标记物10。

[0021] 在另一个实施方式中,本发明选择性治疗方法进一步包含测定所述患者对于所述AIR标记物为纯合还是杂合,以及将治疗有效量的IL-13拮抗剂选择性施用于以下患者:其对于AIR标记物3和Air标记物10中的一个为纯合且另一个为杂合、对于AIR标记物3和10都为纯合或对于AIR标记物3为纯合。

[0022] 在其他实施方式中,本发明是关于用于预测哮喘患者将响应用IL-13拮抗剂治疗的可能性的方法。在一个此类实施方式中,所述方法包含分析来自患者的生物样品中选自AIR标记物-1、2、3、4、5、6、7、8和9的至少一种AIR标记物的存在或不存在,其中:

[0023] a) 至少一种AIR标记物的存在指示所述患者将响应用IL-13拮抗剂治疗的可能性增加;且

[0024] b) 至少一种AIR标记物的不存在指示所述患者将响应用IL-13拮抗剂治疗的可能性降低。

[0025] 在另一个此类实施方式中,所述方法包含分析来自患者的生物样品中选自AIR标记物-1、2、3、4、5、6、7、8和9的至少一种呈纯合形式的AIR标记物的存在或不存在的步骤,其中:

[0026] a) 至少一种呈纯合形式的AIR标记物的存在指示所述患者将响应用IL-13拮抗剂治疗的可能性增加;且

[0027] b) 至少一种呈纯合形式的AIR标记物的不存在指示所述患者将响应用IL-13拮抗剂治疗的可能性降低。

[0028] 在另一个此类实施方式中,所述方法包含以下步骤:

[0029] a) 分析来自患者的生物样品中至少一种AIR标记物的存在或不存在,和

[0030] b) 测定所述AIR标记物以纯合还是杂合形式存在,其中

[0031] 至少一种呈纯合形式的AIR标记物的存在指示所述患者将响应用IL-13拮抗剂治疗的可能性增加,其中所述至少一种AIR标记物选自以下:

[0032] i) 各自以纯合形式存在的AIR标记物3和7;

[0033] ii) 以纯合形式存在的AIR标记物3和以杂合形式存在的AIR标记物7;

[0034] iii) 以纯合形式存在的AIR标记物7和以杂合形式存在的AIR标记物3;和

[0035] iv) 呈纯合形式的AIR标记物3。

[0036] 在另一个实施方式中,该分析步骤包含针对至少一种AIR标记物的核酸产物或至少一种AIR标记物的多肽产物分析生物样品。在另一个实施方式中,该分析步骤包含针对至少一种AIR标记物的基因组序列分析生物样品。

[0037] 在另一个实施方式中,所述生物样品选自血液、血清、粪便、血浆、尿液、泪液、唾液和组织样品。

[0038] 在另一个实施方式中,该分析步骤包含选自以下的技术:RNA印迹分析、聚合酶链反应(PCR)、逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR)、基于TaqMan的分析、直接测序、动态等位基因特异性杂交、高密度寡核苷酸SNP阵列、限制性片段长度多型性(RFLP)分析、引物延伸分析、寡核苷酸连接酶分析、单链构型多态性分析、温度梯度凝胶电泳(TGGE)、变性高效液相色谱、高分辨解链分析、DNA错配-结合蛋白分析、SNPLex®、毛细管电泳、DNA印迹、免疫分析、免疫组织化学法、ELISA、流式细胞术、蛋白质印迹、HPLC和质谱。

[0039] 在其他实施方式中,本发明涉及用于产生预测哮喘患者对用IL-13拮抗剂治疗的响应性的可传输形式信息的方法,包含根据上文所阐释的本发明方法测定患者响应用IL-13拮抗剂治疗的增加的可能性;和将测定步骤的结果记录在用于传输的有形或无形媒介形式上。

[0040] 在另一个实施方式中,本发明方法中所利用的IL-13拮抗剂在促进竞争的条件下与抗体01951/G12 (SEQ ID No.14和16) 竞争结合至IL-13。

[0041] 在另一个实施方式中,IL-13拮抗剂是多肽或其片段、抗体或其抗原结合片段、Fab、ScFv。

[0042] 在另一个实施方式中,IL-13拮抗剂是结合至IL-13表位的抗体或其片段,该表位包含残基FCPHKV (SEQ ID NO:67),列为SEQ ID NO:1的残基103至107。

[0043] 在另一个实施方式中,IL-13拮抗剂是抗体01951/G12 (SEQ ID No.14和16)。

[0044] 在另一个实施方式中,IL-13拮抗剂是以每四周约50-1000mg i.v. (q4wk) 剂量施用的抗体。在另一个实施方式中,IL-13拮抗剂是以每四周约75mg或750mg i.v. 剂量施用的抗体。

[0045] 在另一个实施方式中,IL-13拮抗剂具有约100-200pM的 K_D 。在其他实施方式中,该拮抗剂对于IL-13具有较高亲和力并展现小于100pM的 K_D 。在特定实施方式中,IL-13拮抗剂是 K_D 为约140pM的抗体。

[0046] 在另一个实施方式中,IL-13拮抗剂具有约15-30天或约21天的体内半衰期。

[0047] 在另一个实施方式中,IL-13拮抗剂为选自以下的抗体:

[0048] i. 包含选自以下CDR中的一或多个的抗体: (a) SEQ ID NO:2或5中所示的 V_H CDR1、(b) SEQ ID NO:3或6中所示的 V_H CDR2、(c) SEQ ID NO:4或7中所示的 V_H CDR3、(d) SEQ ID NO:8或11中所示的 V_L CDR1、(e) SEQ ID NO:9或12中所示的 V_L CDR2、(f) SEQ ID NO:10或13

中所示的V_L CDR3;

[0049] ii.包含SEQ ID NO:2的重链可变区CDR1、SEQ ID NO:3的重链可变区CDR2、SEQ ID NO:4的重链可变区CDR3、SEQ ID NO:8的轻链可变区CDR1、SEQ ID NO:9的轻链可变区CDR2和SEQ ID NO:10的轻链可变区CDR3的抗体;

[0050] iii.包含SEQ ID NO:5的重链可变区CDR1、SEQ ID NO:6的重链可变区CDR2、SEQ ID NO:7的重链可变区CDR3、SEQ ID NO:11的轻链可变区CDR1、SEQ ID NO:12的轻链可变区CDR2和SEQ ID NO:13的轻链可变区CDR3的抗体,

[0051] iv.包含SEQ ID NO:14中所列重链可变区和SEQ ID NO:16中所列轻链可变区的抗体,

[0052] v.包含SEQ ID NO:20中所列重链和SEQ ID NO:18中所列轻链的抗体。

[0053] 在另一个实施方式中,IL-13拮抗剂是人类抗体。

[0054] 在本发明的特定实施方式中,IL-13拮抗剂是防止IL-13结合至IL-13R α 1的抗体。在另一个实施方式中,IL-13拮抗剂防止IL-13结合至IL-13R α 1,但允许结合至IL-13R α 2(也称为诱饵受体)。

[0055] 在另一个实施方式中,患者患有中度哮喘,且在另一个实施方式中,患有重度哮喘。

[0056] 其他方法、用途和试剂盒提供于以下说明书和随附的权利要求书中。本领域技术人员根据以下说明书和随附的权利要求书将了解本公开的其他特征、优点和方面。

附图说明

[0057] 图1绘示抗体01951/G12结合至选定IL-13残基的取代分析。此图公开了SEQ ID NO:33。

[0058] 图2根据抗体01951/G12所治疗患者的基因型类别绘示哮喘恶化风险。

[0059] 图3根据在抗体01951/G12研究中安慰剂所治疗患者的基因型类别绘示恶化风险。

[0060] 图4绘示在IL4-R α SNP中两个连锁不平衡区块的鉴别。

具体实施方式

[0061] 想到测试对象中至少一个上述响应等位基因(AIR标记物)的存在将有望用于各种医药产品和涉及鉴别更可能响应IL-13拮抗作用的哮喘患者(包括重度至中度哮喘患者)的方法,并用于帮助医师决定是否向那些患者处方IL-13拮抗剂(例如抗体01951/G12)或是否处方其他药剂。

[0062] 因此,在一方面中,本发明提供通过基于所述患者的基因型特征的某些方面向所述患者施用治疗有效量的IL-13拮抗剂(例如IL-13抗体,例如抗体01951/G12)来治疗哮喘患者的方法。在相关方面中,本发明进一步提供基于患者的基因型特征的某些方面鉴别更可能响应用IL-13拮抗剂(例如IL-13抗体,例如抗体01951/G12)治疗的哮喘患者的方法。在再一个相关方面中,本发明提供基于患者的基因型特征的某些方面测定哮喘患者将响应用IL-13拮抗剂(例如IL-13抗体,例如抗体01951/G12)治疗的可能性的方法。在另一相关方面中,本发明提供选择性治疗患有哮喘的患者的多种方法。

[0063] 本文所述的本发明方法涵盖利用选自本文所阐释的9种指定AIR标记物的至少一

种AIR标记物。术语“至少一种AIR标记物”涵盖1种、2种、3种、4种、5种、6种、7种、8种或9种AIR标记物可组合并用于本发明方法中。此外,这些组合的各AIR标记物成员可呈杂合或纯合形式。本发明的特定实施方式阐释9种AIR标记物(AIR标记物1到9)的具体组合并进一步针对特定AIR标记物指明所需接合子。

[0064] 术语“包含”涵盖“包括”以及“由……组成”,例如,“包含”X的组合物可排他性地由X组成或可包括其他,例如X+Y。

[0065] 除非语境另外指明,否则与数值x相关的术语“约”指 $\pm 10\%$ 。

[0066] 术语“分析”用于指鉴别、筛选、探测、测试、测量或测定的行为,该行为可通过任意常用方式实施。例如,可通过使用ELISA分析、RNA印迹、成像、血清分型、细胞分型、基因测序、表型分析、单倍型分析、免疫组织化学法、蛋白质印迹、质谱等分析样品中特定遗传或蛋白质标记物的存在。术语“检测”(等)指自给定来源提取特定信息的行为,其可为直接的或间接的。在本文所公开的预测性方法的一些实施方式中,给定物(例如等位基因、蛋白质水平等)的存在是在生物样品中间接检测,(例如)通过查询资料库。术语“分析”和“测定”涵盖物质转换,例如通过使生物样品(例如血液样品或其他组织样品)经受物理测试从一种状态至另一状态的转换。

[0067] 术语“获得”指以任意方式(例如通过物理干预(例如活检、抽血)或非物理干预(例如经由服务器传输信息)等)取得(例如获取)所有。

[0068] 短语“分析生物样品...”等用于指可(直接或间接)测试样品中给定AIR标记物的存在。应理解在物质存在表示一种或然性且物质不存在表示不同或然性的情况下,则该物质的存在或不存在可用于指导治疗决定。例如,可通过测定患者中特定响应性等位基因的实际存在或通过测定患者中特定响应性等位基因不存在来测定患者是否具有AIR标记物。在这两种情形中,已测定所述患者是否存在AIR标记物。所公开的方法尤其涉及测定特定个体是否具有AIR标记物。此测定是通过鉴别所述患者是否具有上文表1所公开的AIR标记物中的一或多个来进行。这些测定中的每一个(即存在或不存在)本身都提供患者的等位基因状态,因此这些测定中的每一个都同样能指示特定个体是否较有利地响应IL-13拮抗。为就哮喘患者的增加响应提供指示,仅需分析生物样品中表1所列一或多种AIR标记物。

[0069] 本文所用的“IL-13拮抗剂”是指通过阻断IL-13至IL-13受体复合物的结合来拮抗(例如减小、抑制、降低、延迟、消除)IL-13功能、表达和/或信号传导的分子。在本发明的特定实施方式中,IL-13拮抗剂阻止IL-13结合至IL-13R α 1。在另一个实施方式中,IL-13拮抗剂防止结合至IL-13R α 1,但允许结合至IL-13R α 2(也称为诱饵受体)。参见Ingram和Kraft (2012) J Allergy Clin Immunol 130(4):829-842。

[0070] 可通过标准方法(定性或定量分析)展示结合反应,所述方法包含(例如)结合分析、竞争分析或用于测定抑制IL-13与其受体结合的生物分析或任意种类的结合分析,以阴性对照为参比,对照使用具有不相关特异性但理想地具有相同同种型的抗体(例如抗CD25抗体)。所述方法包括下文在实施例中所阐释的那些。

[0071] 本文中所提及的术语“抗体”包括全抗体和其任意抗原结合部分或单链。天然存在的“抗体”是包含由二硫键互连的至少两条重(H)链和两条轻(L)链的糖蛋白。各重链包括重链可变区(在本文中缩写为V_H)和重链恒定区。重链恒定区包括三个结构域:CH1、CH2和CH3。各轻链包括轻链可变区(在本文中缩写为V_L)和轻链恒定区。轻链恒定区域包括一个结构域

CL。可将 V_H 和 V_L 区域进一步细分成超变性区域(称为超变区或互补决定区(CDR))和较为保守的区域(称为框架区(FR)),二者间杂排列。 V_H 和 V_L 各自由三个CDR和四个FR构成,其自氨基末端到羧基末端按下列顺序排列:FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。重链和轻链的可变区含有与抗原相互作用的结合结构域。抗体的恒定区可介免疫球蛋白与宿主组织或因子的结合,包括免疫系统的各种细胞(例如效应细胞)和经典补体系统的第一组份(C1q)。

[0072] 本文所用术语抗体的“抗原结合部分”是指保持特异性结合至抗原(例如IL-13)的能力的抗体片段。已显示抗体的抗原结合功能可通过全长抗体的片段来实施。术语抗体的“抗原结合部分”内所涵盖的结合片段的示例包括Fab片段,即由 V_L 、 V_H 、CL和CH1结构域组成的单价片段;F(ab)2片段,即包含两个在铰链区由二硫桥键连接的Fab片段的二价片段;由 V_H 和CH1结构域组成的Fd片段;由抗体单臂的 V_L 和 V_H 结构域组成的Fv片段;dAb片段(Ward等人,(1989)Nature 341:544-546),其由 V_H 结构域组成;和分离CDR。示例性抗原结合位点包括SEQ ID NO:1-6和11-13(表2)中所述的CDR,优选为重链CDR3。另外,尽管Fv片段的两个结构域(V_L 和 V_H)由单独基因编码,但可使用重组方法通过合成接头使该两个结构域接合在一起,使该两个结构域能够形成其中 V_L 和 V_H 区域配对形成单价分子的单一蛋白链(称为单链Fv(scFv));例如参见Bird等人,1988Science 242:423-426;和Huston等人,1988Proc.Natl.Acad.Sci.85:5879-5883)。这些单链抗体也涵盖在术语“抗体”内。单链抗体和抗原结合部分是使用本领域技术人员已知的常用技术获得。

[0073] 本文所用的“分离抗体”指实质上不含具有不同抗原特异性的其他抗体的抗体(例如特异性结合IL-13的分离抗体实质上不含特异性结合IL-13以外抗原的抗体)。本文所用的术语“单克隆抗体”或“单克隆抗体组合物”指具有单一分子组成的抗体分子制品。本文所用的术语“人类抗体”包括具有的可变区中框架区和CDR区都源自人类来源序列的抗体。“人类抗体”不必须由人类、人类组织或人类细胞产生。本发明的人类抗体可包括并非由人类序列编码的氨基酸残基(例如通过体外随机诱变或定点诱变、通过在抗体基因重组期间在体内于接合处的N-核苷酸添加或通过体内体细胞突变引入的突变)。在所公开方法的一些实施方式中,IL-13拮抗剂是人类抗体、分离抗体和/或单克隆抗体。

[0074] 术语“ K_D ”指特定抗体-抗原相互作用的解离速率。本文所用的术语“ K_D ”指解离常数,其获自 K_d 对 K_a 的比率(即 K_d/K_a)且以摩尔浓度(M)表示。可使用本领域内已确立的方法测定抗体的 K_D 值。测定抗体的 K_D 的方法是通过使用表面等离子共振或使用生物传感器系统(例如Biacore®系统)。

[0075] 术语“亲和力”指单一抗原性位点处抗体与抗原之间的相互作用强度。在各抗原性位点内,抗体臂的可变区通过弱的非共价力在多个位点处与抗原相互作用;相互作用越大,则亲和力越强。本领域内已知用于评估抗体对不同物种的IL-13的结合亲和力的标准分析,包括例如ELISA、蛋白质印迹和RIA。也可通过本领域内已知的标准分析(例如通过Biacore分析)评价抗体的结合动力学(例如结合亲和力)。

[0076] 应理解,根据本领域内已知方法测定及本文中阐述的“抑制”一或多种这些IL-13功能性质(例如生物化学、免疫化学、细胞、生理学或其他生物活性等)的抗体涉及特定活性相对于在抗体不存在情况下(或存在具有不相关特异性的对照抗体时)所看到的活性在统计学上显著降低。抑制IL-13活性的抗体引起IL-13功能活性所测量参数有统计学上显著降低例如至少10%、至少50%、80%或90%,且在所公开方法的某些实施方式中,所用IL-13抗

体可抑制IL-13功能活性的大于95%、98%或99%。

[0077] 除非另外指出,否则术语“衍生物”用于定义IL-13拮抗剂(例如IL-13抗体或其抗原结合部分,例如指定序列(例如可变结构域))的氨基酸序列变体和共价修饰(例如聚乙二醇化、脱酰胺、羟基化、磷酸化、甲基化等)。“功能衍生物”包括具有与所公开IL-13拮抗剂一样的定性生物活性的分子。功能衍生物包括如本文所公开的IL-13拮抗剂的片段和肽类似物。片段包含在本发明多肽(例如指定序列)的序列内的区域。本文所公开的IL-13拮抗剂的功能衍生物优选包含与本文所公开IL-13结合分子的V_H和/或V_L序列(例如表2的V_H和/或V_L序列)具有至少约65%、75%、85%、95%、96%、97%、98%或甚至99%的总体序列一致性并实质上保持结合人类IL-13的能力的V_H和/或V_L结构域。

[0078] 片语“实质上相同”指相关氨基酸或核苷酸序列(例如V_H或V_L结构域)与特定参比序列相比相同或(例如通过保守氨基酸取代)具有非实质性差别。非实质性差别包括微小氨基酸变化,例如在给定区域(例如V_H或V_L结构域)的5个氨基酸序列中的1个或2个取代(例如保守取代,例如将丝氨酸交换为苏氨酸,或在不涉及抗体活性、结构完整性、补体结合等位置处的取代)。在抗体情形下,第二抗体具有该抗体的相同特异性和至少50%的亲合力。与本文所公开序列实质上一致(例如至少约85%序列一致性)的序列也为本发明的一部分。在一些实施方式中,抗IL-13抗体衍生物相对于所公开序列的序列一致性可为约90%或更高,例如90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高。

[0079] 就天然多肽和其功能衍生物而言,“一致性”在本文中定义为在对齐序列且(若需要)引入缺口以达成最大百分比一致性且不将任意保守取代视为序列一致性的一部分后,候选序列中与相应天然多肽的残基一致的氨基酸残基百分比。N-或C-末端延伸或插入均不应解读为减小一致性。用于比对的方法和计算机程序已众所周知。百分比一致性可通过标准比对算法来测定,例如Altschul等人((1990) J. Mol. Biol., 215:403-410)阐述的基本局部比对搜索工具(BLAST); Needleman等人((1970) J. Mol. Biol., 48:444-453)的算法;或Meyers等人((1988) Comput. Appl. Biosci., 4:11-17)的算法。参数的集合可为Blosum 62计分矩阵,缺口罚分为12,缺口延伸罚分为4,且框移缺口罚分为5。两个氨基酸或核苷酸序列之间的百分比一致性也可使用E. Meyers和W. Miller((1989) CABIOS, 4:11-17)的算法使用PAM120权重残基表、12的缺口长度罚分且缺口罚分4来测定,该算法已纳入ALIGN程序(2.0版)中。

[0080] “氨基酸”是指所有天然存在的L- α -氨基酸,例如且包括D-氨基酸。短语“氨基酸序列变体”是指与本发明序列相比氨基酸序列中具有一些差别的分子。本发明IL-13拮抗剂多肽(例如指定序列)的氨基酸序列变体仍具有结合人类IL-13的能力。氨基酸序列变体包括取代变体(在本发明多肽中去除至少一个氨基酸残基且在相同位置上插入不同氨基酸以作代替)、插入变体(在本发明多肽中在与特定位置上的氨基酸直接毗邻处插入一或多个氨基酸)和缺失变体(在本发明多肽中去除一或多个氨基酸)。

[0081] 术语“药学上可接受”指不干扰活性成份的生物活性有效性的无毒材料。

[0082] 与化合物(例如IL-13结合分子或另一药剂)相关的术语“施用”用于指通过任意途径向患者递送该化合物。

[0083] 本文所用的“治疗有效量”指在将IL-13拮抗剂(例如抗IL-13抗体或其抗原结合部分)向患者(例如人类)进行单个或多个剂量施用后可就病症的至少一个症状而言有效地治

疗、预防、防止发作、治愈、延迟、减轻严重性、改善,或使患者的存活期延长,超过没有该治疗时的预期。当应用于单独施用的单个活性成份(例如IL-13拮抗剂)时,该术语单指该成份。当应用于组合时,术语是指引起治疗效果的活性成分的组合量,不论是组合、序列或同时施用。

[0084] 术语“治疗”指预防性或防止性治疗(视情况而定)以及治愈性或疾病减轻性治疗,包括治疗处于染病或怀疑染病的风险的患者以及患病或已诊断患有疾病或医学病状的患者,且这些术语包括阻抑临床复发或恶化。所述治疗可施用于患有医学病症或最终可患病的患者以就病症或复发性病症的一或多个症状而言预防、治愈、延迟发作、减轻严重性或改善,或使患者的存活期延长,超过没有该治疗时的预期。

[0085] 短语“响应治疗”用于指患者在被递送特定治疗(例如IL-13拮抗剂)后显示来自该治疗的临床上有意义的益处。在哮喘(包括重度至中度哮喘)的情形下,该标准包括恶化减轻。短语“响应治疗”应相对地理解,而非绝对响应。例如,预测具有某AIR标记物的哮喘患者相比于不具有该AIR标记物的患者更多得益于用IL-13拮抗剂治疗。AIR标记物的这些携带者较有利地响应IL-13拮抗剂治疗,并“响应用IL-13拮抗剂治疗”。在本发明的某些实施方式中,根据本文所公开方法响应用IL-13拮抗剂治疗的患者已确定地使哮喘恶化减轻至少24周、至少24周至52周、至少52周或更长时间。在本发明的特定实施方式中,根据本文所公开方法响应用IL-13拮抗剂治疗的患者的恶化减轻至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%或100%。

[0086] 短语“接收数据”用于指通过任意可用方式(例如口述、以电子方式(例如通过电子邮件、编码于磁盘上或其他媒介)、书写等)获得信息所有。

[0087] 如本文所用的关于患者的“选择”和“所选”用于指根据(由于)具有预定标准的特定患者(例如所述患者具有某AIR标记物),从较大患者群中明确选出的特定患者。类似地,“选择性治疗”是指向患有特定疾病的患者提供治疗,其中根据具有预定标准的特定患者,从较大患者群中具体选出所述患者,例如某哮喘患者由于具有某AIR标记物而具体选出以治疗。类似地,“选择性施用”是指将药物施用于根据(由于)具有预定标准(例如特定遗传或其他生物标记物)从较大患者群中被具体选出的特定患者。通过选择、选择性治疗和选择性施用,意在根据患者的特定生物学向患者递送个体化治疗,而非仅根据患有特定疾病的患者递送标准治疗方案。关于本文所用的治疗方法,选择并非指偶然治疗具有AIR标记物的患者,而是指基于具有AIR标记物的患者审慎选择以向患者施用IL-13拮抗剂。因此,选择性治疗与标准治疗不同,后者向所有患者递送特定药物,无论其等位基因状态如何。

[0088] 本文所用的“预测”表明本文所阐述的方法提供信息以使得医疗卫生专业人士能够测定患有哮喘的个体将响应或将较有利地响应用IL-13拮抗剂的治疗的可能性。其不是指能100%精确地预测响应。相反,本领域技术人员应理解其是指增加的或然性。

[0089] 本文所用的“可能性”和“可能”是事件有多大可能发生的量度。其可与“或然性”互换使用。可能性指超过推测但不足以确定的或然性。因此,若适当人员在考虑各种情形后使用常识、训练或经验推断出某一事件有可能发生,则该事件是可能的。在一些实施方式中,确定可能性后,可使用IL-13拮抗剂治疗(或继续治疗、或使用增加的剂量继续治疗)患者,或可不使用IL-13拮抗剂治疗(或停止治疗、或以降低的剂量继续治疗)患者。

[0090] 短语“增加的可能性”是指事件发生的或然性增加。例如,本文中的一些方法允许

预测患者是否将展示响应用IL-13拮抗剂治疗的增加的可能性,或相较不具有AIR的患有哮喘的患者更好响应用IL-13拮抗剂治疗的增加的可能性。

[0091] 本文所用的“SNP”指“单核苷酸多态性”。单核苷酸多态性是基因组(或其他共用序列)中的单一核苷酸在生物物种的成员之间或与个体中的成对染色体之间有所不同时出现的DNA序列差异。大部分SNP仅具有两个等位基因,且一个等位基因通常在群体中更为常见。SNP可存在于基因的外显子或内含子中、基因的上游或下游非翻译区中,或存在于纯基因组位置(即未转录位置)中。SNP发生于基因的编码区中时,SNP可因遗传密码的冗余性而沉默(即同义多态性),或SNP可改变所编码多肽的序列(即非同义多态性)。在本发明中,SNP通过单核苷酸多态性数据库(Single Nucleotide Polymorphism Database,dbSNP)rs编号(例如rs1805010)加以鉴别。dbSNP是由国家生技信息中心(National Center for Biotechnology Information,NCBI)联合国家人类基因组研究院(National Human Genome Research Institute,NHGRI)研发并拥有的关于不同物种内和不同物种之间遗传差异的免费公用档案。

[0092] 多态性位点(例如SNP)通常在感兴趣群体基因组中有保守序列前导和后接,且因此可参照夹在多型性位点两侧的共有核酸序列(例如30-60个核苷酸)对多态性位点进行定位,这在SNP的情形下统称为“SNP背景序列(context sequence)”。本文所公开SNP背景序列可参见在www.ncbi.nlm.nih.gov/snp可获得的NCBI SNP数据库。另一选择为,多态性位点的位置可通过其在参比序列(例如GeneBank录入序列)中相对于基因起点、mRNA转录物、BAC克隆或甚至相对于蛋白质转译的起始密码子(ATG)的位置来确定。本领域技术人员理解,在感兴趣群体中的各个体中,特定多态性位点的位置可能并不准确地出现在参比或背景序列中的相同位置,这是由于相较共有或参比序列,在该个体的基因组中存在一或多个插入或缺失。当向本领域技术人员提供待检测多态性位点处的可选等位基因的标识且出现该多态性位点的参比序列或背景序列其一或两者时,本领域技术人员通常设计稳健的特异性精确分析用于检测任意给定个体中多态性位点处的可选等位基因。因此本领域技术人员会理解,通过参照参比或背景序列中(或相对于这一序列中的起始密码子)的特定位置指明本文所述任意多态性位点的位置仅是出于方便起见,且任何具体列举的核苷酸位置字面上包括任意个体中相同多态性位点在相同基因座中实际所处的任何核苷酸位置,所述个体是指用任何本文所述基因分型方法或本领域已知的其它基因分型方法就本发明遗传标记物作测试的个体。

[0093] 除SNP以外,遗传多态性包括易位、插入、取代、缺失等,其出现在基因增强子、外显子、内含子、启动子、5' UTR、3' UTR等中。

[0094] 本文所用的“rs1110470”是指位于人类IL-4RA基因(IL-4R α ; IL-4受体 α) (GenBank登记号NM_000418.3)内含子内的C/T(反向链)SNP。rs1110470多态性位点位于染色体位置27336427处(build 138;assembly GRCh37.p10),是重叠群NT_010393.16的27276427位。

[0095] 本文所用的“rs3024530”是指位于IL-4RA基因(GenBank登记号NM_000418.3)内含子内的A/G(正向链)SNP。rs3024530多态性位点位于染色体位置27350687处(build 138;assembly GRCh37.p10),是重叠群NT_010393.16的27290687位。

[0096] 本文所用的“rs1805010”是指位于IL-4RA基因(GenBank登记号NM_000418.3)外显子内并编码Ile至Val变化的A/G(正向链)SNP。rs1805010多态性位点位于染色体位置

27356203处(build 138;assembly GRCh37.p10),是重叠群NT_010393.16的27296203位。

[0097] 本文所用的“rs2239347”是指G/T(反向链)SNP位于IL-4RA基因(GenBank登记号NM_000418.3)内含子内。rs2239347多态性位点位于染色体位置27359021处(build 138;assembly GRCh37.p10),是重叠群NT_010393.16的27299021位。

[0098] 本文所用的“rs1805011”是指位于IL-4RA基因(GenBank登记号NM_000418.3)外显子内并编码Glu至Ala变化的A/C(正向链)SNP。rs1805011多态性位点位于染色体位置27373872处(build 138;assembly GRCh37.p10),是重叠群NT_010393.16的27313872位。

[0099] 本文所用的“rs1801275”是指位于IL-4RA基因(GenBank登记号NM_000418.3)外显子内并编码Gln至Arg变化的A/G(正向链)SNP。rs1801275多态性位点位于染色体位置27374400处(build 138;assembly GRCh37.p10),是重叠群NT_010393.16的27314400位。

[0100] 本文所用的“rs8832”是指位于IL-4RA基因(GenBank登记号NM_000418.3)3' UTR(未转译)区域内的A/G(正向链)SNP。rs8832多态性位点位于染色体位置27375787处(build 138;assembly GRCh37.p10),是片段重叠群NT_010393.16的27315787位。

[0101] 本文所用的“rs1029489”是指位于IL-4RA基因(GenBank登记号NM_000418.3)3'近端的C/T(反向链)SNP。rs1029489多态性位点位于染色体位置27376217处(build 138;assembly GRCh37.p10),是重叠群NT_010393.16的27316217位。

[0102] 本文所用的“rs4787956”是指位于IL-4RA基因(GenBank登记号NM_000418.3)3'近端的A/G(正向链)SNP。rs4787956多态性位点位于染色体位置27378249处(build 138;assembly GRCh37.p10),是重叠群NT_010393.16的27318249位。

[0103] 如本领域技术人员所认识到,含有特定SNP的核酸样品可为互补双链分子,且由此提及有义链上的特定位点也是指互补反义链上的相应位点。类似地,在提及一个染色体链的两个拷贝上的SNP所获得的特定基因型时,其等效于另一链的两个拷贝上的相同SNP所获得的互补基因型。

[0104] 本文所用的“基因组序列”是指基因组中存在的DNA序列,且包括等位基因内的区域、等位基因本身或含有感兴趣等位基因染色体的较大DNA序列。

[0105] 本发明AIR标记物的产物可包括核酸产物和多肽产物。“多肽产物”是指包括由AIR标记物编码的氨基酸的多肽和其片段。“核酸产物”是指AIR标记物的任意DNA(例如基因组、cDNA等)或RNA(例如前mRNA、mRNA、miRNA等)产物和其片段。

[0106] “等效遗传标记物”是指与感兴趣等位基因有关的遗传标记物,例如其显示连锁不平衡(LD)或与感兴趣等位基因处于遗传连锁状态。等效遗传标记物可用于测定患者是否具有AIR标记物,而非直接就该等位基因本身探询来自患者的生物样品。存在各种有助于就特定SNP测定LD的程序,例如,HaploBlock(可在**bioinfo.cs.technion.ac.il/haploblock/**获得)、HapMap、WGA Viewer。

[0107] 术语“探针”是指可用于特异性检测另一物质(例如与AIR标记物相关的物质)的任何物质组成。探针可为与AIR标记物的基因组序列或AIR标记物的核酸产物特异性杂交的寡核苷酸(包括偶联寡核苷酸)。偶联寡核苷酸是指共价结合至发色团或含配体(例如抗原)分子的寡核苷酸,其对于受体分子(例如对于抗原具有特异性的抗体)具有高度特异性。探针也可作为PCR引物,例如与另一引物一起用于扩增AIR标记物内的特定区域。另外,探针可为特异性结合至这些等位基因的多肽产物的抗体。此外,探针可为能够检测(例如结合或杂交)

AIR标记物的等效遗传标记物的任何物质组合物。在优选实施方式中,探针与感兴趣等位基因的核酸序列(优选是基因组DNA)特异性杂交或与其多肽序列特异性结合。

[0108] 短语“特异性杂交”用于指在严格杂交条件下杂交。严格条件已为那些本领域技术人员所熟知且可参见Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley&Sons, N.Y. (1989), 6.3.1-6.3.6。在该参考文献中阐述水性和非水性方法且可使用任意方法。严格杂交条件的一个示例是在约45℃下于6X氯化钠/柠檬酸钠(SSC)中杂交,随后在50℃下于0.2X SSC、0.1%SDS中至少洗涤一次。严格杂交条件的另一示例是在约45℃下于6X SSC中杂交,随后在55℃下于0.2X SSC、0.1%SDS中至少洗涤一次。严格杂交条件的另一示例是在约45℃下于6X SSC中杂交,随后在60℃下于0.2X SSC、0.1%SDS中至少洗涤一次。严格杂交条件的另一示例是在约45℃下于6X SSC中杂交,随后在65℃下于0.2X SSC、0.1%SDS中至少洗涤一次。高严格条件包括在65℃下于0.5M磷酸钠、7%SDS中杂交,随后在65℃下于0.2X SSC、0.1%SDS中至少洗涤一次。

[0109] 短语“核酸区域”用于指较大核酸序列内的较小序列。例如,基因是染色体区域,外显子是基因区域等。

[0110] 本文中,多肽的“特异性结合”术语是用于指探针结合给定多肽靶(例如AIR标记物的多肽产物)而非随机结合非所需多肽。然而,“特异性结合”并不排除一些与非所需多肽的交叉响应,只要该交叉响应不干扰探针测量给定多肽靶存在的能力。

[0111] 术语“能够”用于指达成给定结果的能力,例如,能够检测特定物质存在的探针指该探针可用于检测特定物质。

[0112] “寡核苷酸”是指核苷酸短序列,例如2-100个碱基。

[0113] 本文所用的术语“生物样品”指来自患者的样品,其可用于鉴别、诊断、预测或监测。优选样品包括滑液、血液、血液衍生产物(例如血沉棕黄层、血清和血浆)、淋巴、尿液、泪液、唾液、毛球细胞、脑脊髓液、腮拭拭(buccal swab)、粪便、滑液、滑膜细胞、痰或组织样品(例如软骨样品)。此外,本领域技术人员应认识到,遵循分级分离或纯化程序更易于分析一些样品,例如从全血分离DNA。

[0114] 术语“IL-13”包括来自不同物种(例如人类、小鼠和猴)的野生型IL-13、IL-13的多态性变体和IL-13的功能等效物。本发明IL-13的功能等效物优选与野生型IL-13(例如人类IL-13)具有至少约85%、95%、96%、97%、98%或甚至99%的总体序列一致性。更特定地,IL-13是指下一段中所阐释的多肽序列。

[0115] IL-13多肽具有以下序列。N-末端34氨基酸残基(斜体形式)是信号肽。成熟细胞因子因此具有112个氨基酸残基。抗IL-13抗体将结合至成熟多肽上的表位。

[0116] 白介素13氨基酸序列:

1 *MHPLLNPLLL ALGLMALLLT TVIALTCLGG FASPGVPVPS TALRELIEEL*

[0117] *VNITQNQKAP*

61 *LCNGSMVWSI NLTAGMYCAA LESLINVSGC SAIEKTQRML SGFCPHKVSA*

GQFSSLHVRD

[0118]

121 *TKIEVAQFVK DLLLHLKKLF REGRFN (SEQ ID No.1)*

[0119] 如在实施例中进行进一步详细阐释,在本发明方法的特定实施方式中,方法中所用的

IL-13拮抗剂(包括抗体01951/G12)结合的表位包括残基FCPHKV(SEQ ID NO:67)(加下划线,为SEQ ID NO.1的残基103-107)。

[0120] IL-13拮抗剂

[0121] 原则上,抑制或中和IL-13活性的任何抗IL-13拮抗剂(包括抗体)可用于本发明,只要抗IL-13拮抗剂或抗体决定性、选择性地减轻如下哮喘患者的恶化,所述患者对本发明方法所阐释选自AIR标记物-1、2、3、4、5、6、7、8和9的至少一种AIR标记物为阳性。这些抗体可选自本领域内已知的那些,例如参见W02005/007699、US6468528、W003007685、W003034984、US20030143199、US2004028650、US20040242841、US2004023337、US20040248260、US20050054055、US20050065327、W02006/124451、W02006/003407、W02005/062967、W02006/085938、W02006/055638、W02007/036745、W02007/080174或W02007/085815。这些抗体为本领域内已知,例如参见W02005/007699、US6468528、W003007685、W003034984、US20030143199、US2004028650、US20040242841、US2004023337、US20040248260、US20050054055、US20050065327、W02006/124451、W02006/003407、W02005/062967、W02006/085938、W02006/055638、W02007/036745、W02007/080174或W02007/085815、W02012/049278和W02008/106116。

[0122] 在一个实施方式中,本发明方法中所用的抗体包含以下CDR中的一或多个。表2a和3a中所列的CDR根据Kabat定义(E.Kabat等人,1991,Sequences of Proteins of immunological Interest,第5版,public health Service,NIH,Bethesda,MD)确定:

[0123] 表2

[0124]	抗体	HCDR1	SEQ ID No. HCDR1	HCDR2	SEQ ID No. HCDR2	HCDR3	SEQ ID No. HCDR3
	01951/G12	GFTFSSYG	2	IWYDGSN	3	ARLWFGDLD	4

[0125] 表2a

[0126]	抗体	HCDR1	SEQ ID No. HCDR1	HCDR2	SEQ ID No. HCDR2	HCDR3	SEQ ID No. HCDR3
	01951/G12	SYGMH	5	IIWYDGSNKYYADSVKG	6	LWFGDLDAFDI	7

[0127] 表3

[0128]	抗体	LCDR1	SEQ ID No. LCDR1	LCDR2	SEQ ID No. LCDR2	LCDR3	SEQ ID No. LCDR3
	01951/G12	QSVSSY	8	DA	9	QQRSSWPPV	10

[0129] 表3a

[0130]	抗体	LCDR1	SEQ ID No. LCDR1	LCDR2	SEQ ID No. LCDR2	LCDR3	SEQ ID No. LCDR3
	01951/G12	RAGQSVSSYL	11	DASNRAT	12	QQRSSWPPVYT	13

[0131] 全长IgG1抗体轻链和重链恒定区也显示于下文,作为示例纳入抗体01951/G12的可变区(粗体)。

[0132] 01951/G12抗体序列

[0133] (i) HC可变区

[0134] 01951/G12的HC可变氨基酸序列显示于SEQ ID NO:14中并由SEQ ID NO:15中所示的核苷酸序列编码

[0135]

```
E V Q L V E S G G G V V Q P G R S L R L
gaagtgcagctggtggagctctgggggagggcgtggtccagcctgggagggtccctgagactc 60

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

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

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

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

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

[0136] (ii) LC可变区

[0137] 01951/G12的LC可变氨基酸序列显示于SEQ ID NO:16中并由SEQ ID NO:17中所示的核苷酸序列编码

[0138]

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

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

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

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

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

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

[0139] 纳入抗体01951/G12的可变区(粗体)的全长抗体IgG1轻链序列

[0140] LC氨基酸序列显示于SEQ ID NO:18中并由SEQ ID NO:19的核苷酸序列编码

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

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

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

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

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

[0141] 251 S G S G T D F T L T I S S L E P
GCAGTGGGTC TGGGACAGAC TTTACTCTCA CCATCAGCAG CCTAGAGCCT

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

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

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

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

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

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

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

[0142] 651 V T H Q G L S S P V T K S F N R G
AGTCACCCAT CAGGGCCTGA GCTCGCCCGT CACAAAGAGC TTCAACAGGG

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

[0143] 纳入抗体01951/G12的可变区(粗体)的全长抗体IgG1重链序列

[0144] HC氨基酸序列显示于SEQ ID NO:20中并由SEQ ID NO:21的核苷酸序列编码

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

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

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

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

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

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

[0145] 301 Q M N S L R A E D T A V Y Y C A R
CAAATGAACA GCCTGAGAGC CGAGGACACG GCTGTGTATT ACTGTGCGAG

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

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

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

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

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

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

[0146]	651	Q T Y I C N V N H K P S N T K V D CCAGACCTAC ATCTGCAACG TGAATCACAA GCCCAGCAAC ACCAAGGTGG
	701	K R V E P K S C D K T H T C P P ACAAGAGAGT TGAGCCCAAA TCTTGTGACA AAACCTCACAC ATGCCCACCG
	751	C P A P E L L G G P S V F L F P P TGCCCAGCAC CTGAACTCCT GGGGGGACCG TCAGTCTTCC TCTTCCCCC
	801	K P K D T L M I S R T P E V T C V AAAACCCAAG GACACCCTCA TGATCTCCCG GACCCCTGAG GTCACATGCG
	851	V V D V S H E D P E V K F N W Y TGGTGGTGGA CGTGAGCCAC GAAGACCCTG AGGTCAAGTT CAACTGGTAC
	901	V D G V E V H N A K T K P R E E Q GTGGACGGCG TGGAGGTGCA TAATGCCAAG ACAAAGCCGC GGGAGGAGCA
	951	Y N S T Y R V V S V L T V L H Q D GTACAACAGC ACGTACCGTG TGGTCAGCGT CCTCACCGTC CTGCACCAGG
	1001	W L N G K E Y K C K V S N K A L ACTGGCTGAA TGGCAAGGAG TACAAGTGCA AGGTCTCCAA CAAAGCCCTC
	1051	P A P I E K T I S K A K G Q P R E CCAGCCCCCA TCGAGAAAAC CATCTCCAAA GCCAAAGGGC AGCCCCGAGA
	1101	P Q V Y T L P P S R E E M T K N Q ACCACAGGTG TACACCCTGC CCCCATCCCG GGAGGAGATG ACCAAGAACC
	1151	V S L T C L V K G F Y P S D I A AGGTCAGCCT GACCTGCCTG GTCAAAGGCT TCTATCCCAG CGACATCGCC
	1201	V E W E S N G Q P E N N Y K T T P GTGGAGTGGG AGAGCAATGG GCAGCCGGAG AACAACTACA AGACCACGCC
	1251	P V L D S D G S F F L Y S K L T V TCCCGTGCTG GACTCCGACG GCTCCTTCTT CCTCTATAGC AAGCTCACCG
	1301	D K S R W Q Q G N V F S C S V M TGGACAAGAG CAGGTGGCAG CAGGGGAACG TCTTCTCATG CTCCGTGATG
	1351	H E A L H N H Y T Q K S L S L S P CATGAGGCTC TGCACAACCA CTACACGCAG AAGAGCCTCT CCCTGTCCCC
	1401	G K * (SEQ ID NO:20) GGGTAAATGA (SEQ ID NO:21)

[0147] 在各个实施方式中,本发明涵盖本文中所阐释的使用IL-13拮抗剂(例如抗IL-13抗体或其抗原结合部分)的公开药物组合物、方案、过程、用途、方法和试剂盒。在特定实施方式中,试剂盒包含用于检测本文中所阐释的AIR标记物的核酸探针。在其他实施方式中,试剂盒进一步包含包括哮喘的诊断或治疗说明书。

[0148] 在特定实施方式中,本发明提供用于测定从哮喘患者获得的样品中选自AIR标记物1、2、3、4、5、6、7、8或9的至少一种AIR标记物的存在的试剂盒,该试剂盒包含:容器,其含有一或多种在严格条件下与包含选自表1中所阐释的一或多种SNP中的响应性等位基因的

核酸特异性杂交的探针。

[0149] 在另一个实施方式中,该试剂盒包含指示以下内容的说明材料:来自患者的核酸样品中至少一种AIR标记物的存在指示所述患者是用于本文所阐释的用IL-13拮抗剂治疗的候选者。

[0150] 在另一个实施方式中,该试剂盒包含指示以下内容的说明材料:来自患者的核酸样品中至少2种AIR标记物的存在指示所述患者是用于本文中所阐释的用IL-13拮抗剂治疗的候选者。

[0151] 在另一个实施方式中,该试剂盒包含指示以下内容的说明材料:来自患者的核酸样品中至少3种、4种、5种、6种、7种、8种或9种AIR标记物的存在指示所述患者是用于本文中所阐释的用IL-13拮抗剂治疗的候选者。

[0152] 在另一个实施方式中,该试剂盒包含容器,其含有一或多种在严格条件下与包含选自表1中所阐释的一或多种SNP中的响应性等位基因的核酸特异性杂交的探针。在另一个实施方式中,核酸包含选自表1中所阐释的两种或更多种SNP。在另一个实施方式中,核酸包含选自表1中所阐释的2种、3种、4种、5种、6种、7种、8种或9种或更多种SNP。

[0153] 在另一个实施方式中,一或多种探针在严格条件下与包含SNP rs 8832和/或rs 1050中的响应性等位基因的核酸特异性杂交。

[0154] 在另一个实施方式中,一或多种探针和/或引物包含用于核酸扩增反应的探针和/或引物。

[0155] 分析技术、诊断方法和产生可传输形式信息的方法

[0156] 所公开方法可用于治疗、预防或改善哮喘疾病以及预测哮喘患者响应用IL-13拮抗剂治疗的可能性。这些方法尤其采用在来自所述患者的样品中测定患者是否具有AIR标记物。

[0157] 可通过任何适当的常用方式分析来自患者的生物样品中AIR标记物的存在,其将根据特定标记物是落在外显子、内含子、mRNA的非编码部分还是非编码基因组序列内来选择。

[0158] 可使用多种生物样品鉴别等位基因或蛋白质的存在、基因或蛋白质的表达水平和蛋白质的活性,例如血液、滑液、血沉棕黄层、血清、血浆、淋巴、粪便、尿液、泪液、唾液、脑脊髓液、腮拭试、痰或组织。不同来源生物样品可用于所公开方法,例如可分析从生物样品获得的基因组DNA以检测AIR标记物,或可分析AIR标记物的产物,例如从生物样品获得的核酸产物(例如DNA、前mRNA、mRNA、微小RNA等)和多肽产物(例如所表达蛋白质)。

[0159] 本发明发现涵盖以下确定:表1各种AIR标记物可用于预测某些患者对通过IL-13拮抗作用治疗的响应。表1中的SNP大部分发现于基因组DNA和内含子中,从而可通过探询(例如)前mRNA或基因组DNA来测定患者的等位基因状态。然而,可通过分析基因组DNA、RNA和/或蛋白质序列来测定与外显子位置相应的AIR标记物的存在。因此,本领域技术人员将理解可酌情通过分析AIR标记物的核酸产物、AIR标记物的多肽产物或AIR标记物的等效遗传标记物来鉴别对象是否具有给定AIR标记物。在优选实施方式中,分析AIR标记物的基因组序列以测定对象是否具有AIR标记物。

[0160] 多种方法和装置可用于鉴别AIR标记物或多态性的存在,其存在导致表达水平、所编码蛋白质水平或蛋白质活性水平降低。可通过本领域内熟知的方法(例如苯酚/氯仿提

取、来自GentAS Systems (Qiagen, CA) 的PUREGENE DNA®纯化系统) 从生物样品制备用于SNP检测的DNA (基因组和cDNA)。检测DNA序列可包括检验位于该区域内的有义链或反义链处的核苷酸。可使用序列特异性探针 (例如来自Taqman、Beacons、Scorpions的水解探针;或检测标记物或多态性的杂交探针) 从获自PCR的DNA (基因组或cDNA) 检测患者中多态性的存在。为检测多态性可设计序列特异性探针, 从而其与感兴趣等位基因的基因组DNA特异性杂交, 或在一些情形下与感兴趣RNA特异性杂交。可根据在www.ncbi.nlm.nih.gov/snp可获得的NCBI SNP资料库的背景序列设计针对多态性位点 (例如SNP) 的引物和探针。这些探针可被标记用于直接检测或接触特异性结合探针的另一可检测分子。也可通过DNA结合剂检测PCR产物。然后可通过本领域内可用的任意DNA测序方法对这些PCR产物进行测序。或者可通过使用任意测序方法 (例如但不限于桑格测序、焦磷酸测序或二代测序) 进行测序来检测等位基因的存在 (Shendure J. 和 Ji, H., Nature Biotechnology (1998), 第26卷, Nr 10, 第1135-1145页)。用于SNP的已优化等位基因鉴别分析可购自Applied Biosystems (福斯市, 加利福尼亚, 美国)。

[0161] 可应用各种技术来探询特定多态性 (例如SNP), 包括例如基于杂交的方法, 例如动态等位基因特异性杂交 (DASH) 基因分型、通过分子信标的多态性位点 (例如SNP) 检测 (Abravaya K., 等人 (2003) Clin Chem Lab Med. 41:468-474)、Luminex xMAP技术®、Illumina GoldenGate®技术和市售高密度寡核苷酸SNP阵列 (例如Affymetrix Human SNP 5.0 GeneChip®实施可跨越500,000个人类SNP进行基因分型的全基因组分析)、来自Illumina的BeadChip®试剂盒 (例如Human660W-Quad和Human 1.2M-Duo); 基于酶的方法, 例如限制性片段长度多态性 (RFLP)、基于PCR的方法 (例如四引物ARMS-PCR)、Invader分析 (Olivier M. (2005) Mutat Res. 573 (1-2):103-10)、各种引物延伸分析 (纳入检测形式中, 例如MALDI-TOF质谱、电泳、印迹法和ELISA类方法)、TaqMan®分析和寡核苷酸连接酶分析; 和其他扩增后方法, 例如单链构象多态性的分析 (Costabile等人 (2006) Hum. Mutat. 27 (12):1163-73)、温度梯度凝胶电泳 (TGGE)、变性高效液相层析、高分辨率解链分析、DNA错配结合蛋白分析 (例如来自水生栖热菌 (Thermus aquaticus) 的MutS蛋白以不同亲和力结合不同单核苷酸错配且可用于毛细管电泳来区分所有六组错配)、SNPLex® (购自Applied Biosystems的专有SNP检测系统)、毛细管电泳、质谱和各种测序方法 (例如焦磷酸测序和二代测序) 等。用于SNP基因分型的市售试剂盒包括 (例如) Fluidigm Dynamic Array® IFCs (Fluidigm)、TaqMan® SNP基因分型分析 (Applied Biosystems)、MassARRAY® iPLEX Gold (Sequenom)、Type-itFast® SNP探针PCR试剂盒 (Qiagen) 等。

[0162] 在一些实施方式中, 使用杂交分析检测患者中多态性位点 (例如SNP) 的存在。在杂交分析中, 根据来自样品的核酸与互补核酸分子 (例如寡核苷酸探针) 杂交的能力来测定遗传标记物的存在。可使用各种杂交分析。在一些分析中, 通过使所结合探针可视化 (例如RNA或DNA分析) 直接检测探针与感兴趣序列的杂交。在这些分析中, 分离DNA (DNA分析) 或RNA (RNA分析)。然后使用一系列在基因组中很少剪切且不接近任意所分析标记物的限制酶来剪切DNA或RNA。然后 (例如在琼脂糖凝胶上) 分离DNA或RNA, 并转移至膜。使经标记 (例如通过纳入放射性核苷酸或结合剂 (例如SYBR®Green)) 的探针与膜在低、中或高严格条件下

接触。去除未结合探针且通过使标记探针可视化来检测结合的存在。在一些实施方式中,可使用阵列(例如**MassARRAY®**系统(Sequenom, San Diego, California, USA))来对个体进行基因分型。

[0163] 也可改进传统基因分型方法以用于基因分型。这些传统方法包括(例如)DNA扩增技术(例如PCR和其变体)、直接测序、与**LuminexxMAP®**技术联用的SSO杂交、SSP分型和SBT。

[0164] 序列特异性寡核苷酸(SSO)分型使用PCR靶扩增,杂交PCR产物与珠粒上一组固定的序列特异性寡核苷酸,通过颜色形成检测结合探针的扩增产物,随后进行数据分析。本领域技术人员应理解,可使用各种市售试剂盒实施所阐述的序列特异性寡核苷酸(SSO)杂交,例如由One Lambda公司(Canoga Park, CA)提供的那些或与**Luminex®**技术(Luminex公司, TX)联用的Lifecodes HLA分型试剂盒(Tepnel Life Sciences公司)。**LABType®**SSO是反向SSO(rSSO)DNA分型解决方案,其使用序列特异性寡核苷酸(SSO)探针和编码颜色的微球体来鉴别HLA等位基因。通过聚合酶链反应(PCR)扩增靶DNA,然后与珠粒探针阵列杂交。该分析发生于96孔PCR板的单个孔中,因此可一次性处理96份样品。

[0165] 序列特异性引物(SSP)分型是基于PCR的技术,其使用序列特异性引物用于基于DNA的分型。SSP方法是基于以下原理:在受控PCR条件下,只有与靶序列具有完全匹配序列的引物才可得到扩增产物。设计等位基因序列特异性引物对来选择性扩增就单个等位基因或等位基因群而言特异性的靶序列。PCR产物可在琼脂糖凝胶上可视化。匹配存在于所有样品中非等位基因序列的对照引物对作为内部PCR对照以验证PCR扩增的效率。本领域技术人员会理解,可使用各种市售试剂盒(例如Olerup SSP™试剂盒(Olerup, PA)或(Invitrogen),或Allset和™Gold DQA1低分辨率SSP(Invitrogen))实施使用所阐述的序列特异性引物分型的低、中和高分辨率基因分型。

[0166] 基于序列的分型(SBT)是基于以下过程:PCR靶扩增,随后是PCR产物测序和数据分析。

[0167] 在一些情形下,也可使用RNA(例如成熟mRNA、前mRNA)来测定特定多态性的存在(参见表1)。可使用本领域内已知的任意方法来分析转录自给定基因的mRNA序列,包括但不限于RNA印迹分析、核酸酶保护分析(NPA)、原位杂交、逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR)、RT-PCR ELISA、基于TaqMan的定量RT-PCR(基于探针的定量RT-PCR)和基于SYBR green的定量RT-PCR。在一个实施例中,mRNA水平检测涉及使分离的mRNA接触可与AIR标记物所编码mRNA杂交的寡核苷酸。核酸探针通常可为(例如)全长cDNA或其部分(例如长度为至少7个、15个、30个、50个或100个核苷酸的寡核苷酸)且足以在严格条件下与mRNA特异性杂交。mRNA与探针的杂交指示所考虑标记物被表达。在一种形式中,将RNA固定在固体表面上并与探针接触,例如通过使分离的RNA过琼脂糖凝胶并将mRNA从凝胶转移至膜(例如硝化纤维素)。扩增引物定义为可退火至基因的5'或3'区域(分别正链和负链,或反之亦然)且在其间含有较短区域的核酸分子对。一般地,扩增引物的长度为约10-30个核苷酸且侧接长度约50-200个核苷酸的区域。在适当条件且使用适当试剂的情况下,这些引物允许扩增包含引物所侧接核苷酸序列的核酸分子。可通过任意适宜方法检测PCR产物,包括但不限于凝胶电泳和使用DNA特异性染色剂染色或与标记探针杂交。

[0168] 可通过测量RNA (或逆转录cDNA) 水平使用各种技术来测定基因的表达水平,例如基于PCR的分析、逆转录酶PCR (RT-PCR) 分析、RNA印迹等。也可采用利用竞争性模板标准化混合物的定量RT-PCR。

[0169] 在一些情形下,患者中多态性的存在可通过分析AIR标记物(参见表1)的多肽产物来测定。可使用本领域内已知的任意方法检测多肽产物,包括但不限于免疫细胞化学染色、ELISA、流式细胞术、蛋白质印迹、分光光度法、HPLC和质谱。

[0170] 本发明也涵盖使用对蛋白质或多肽具有特异性的固定抗体。可将抗体固定在各种固体载体上,例如磁性或层析基质颗粒、分析位置的表面(例如微量滴定孔)、固体基底材料的部分(例如塑胶、尼龙、纸)等。可通过在固体载体上以阵列形式涂覆抗体或多种抗体来制备分析条带。然后可将此条带浸入测试样品中且然后通过洗涤和检测步骤快速处理以生成可测量信号(例如色斑)。

[0171] 在两步分析中,可将AIR标记物的固定多肽产物或ERAP1蛋白质与未标记抗体一起培育。然后使未标记抗体复合物(若存在)结合至对于未标记抗体具有特异性的另一经标记抗体。洗涤样品并分析标记的存在。用于标记抗体的标记物选择将根据应用而变化。然而,本领域技术人员可易于确定标记物的选择。可使用放射性原子、酶、发色团或荧光部分或比色标志标记的抗体。标志性标记的选择也取决于所需的检测限制。酶分析(ELISA)通常能检测通过酶标记复合物与酶底物的相互作用形成的发色产物。放射性原子的一些示例包括 ^{32}P 、 ^{125}I 、 ^3H 和 ^{14}P 。酶的一些实施例包括辣根过氧化物酶、碱性磷酸酶、 β -半乳糖苷酶和葡萄糖-6-磷酸脱氢酶。发色团部分的一些示例包括荧光素和若丹明。抗体可通过本领域内已知的方法偶联至这些标记。例如,酶和发色团分子可通过偶合剂(例如二醛、碳二亚胺、二马来酰亚胺等)偶联至抗体。或者,偶联可通过配体-受体对发生。一些适宜的配体-受体对包括(例如)生物素-亲和素或-链霉亲和素和抗体-抗原。

[0172] 在一方面中,本发明涵盖使用夹心式技术来检测生物样品中的多肽产物。该技术需要两种能够结合感兴趣蛋白质的抗体:例如,一种固定于固体载体上且一种游离在溶液中,但标记有某容易检测的化合物。可用于第二抗体的化学标记的示例包括但不限于放射性同位素、荧光化合物和酶或暴露于反应物或酶底物时生成发色或电化学活性产物的其他分子。在将含有多肽产物的样品置于此系统中时,多肽产物结合至固定抗体和经标记抗体。结果得到位于载体表面的“夹心式”免疫复合物。通过洗涤掉未结合样品组份和过量经标记抗体并测量在载体表面上与蛋白质复合的经标记抗体的量来检测复合蛋白。如果使用具有良好检测限制的标记,夹心式免疫分析具有高度特异性且极其敏感。

[0173] 优选地,通过放射性免疫分析或酶联免疫分析、竞争性结合酶联免疫分析、斑点印迹、蛋白质印迹、层析(优选高效液相层析(HPLC))或本领域内已知的其他分析来检测样品中多肽产物的存在。可直接或间接检测抗体与蛋白质或多肽的特异性免疫结合。

[0174] 本领域技术人员通常实施斑点印迹以使用抗体作为探针来检测所需蛋白质(Promega Protocols and Applications Guide,第二版,1991,第263页,Promega公司)。使用斑点印迹装置将样品加到膜上。将经标记探针与膜一起培育,并检测蛋白质的存在。

[0175] 本领域技术人员已熟知蛋白质印迹分析(Sambrook等人,Molecular Cloning,A Laboratory Manual,1989,第3卷,第18章,Cold Spring Harbor实验室)。在蛋白质印迹中,通过SDS-PAGE分离样品。将凝胶转移至膜。将膜与经标记抗体一起培育以用于检测所需蛋

白质。

[0176] 上文所阐述的分析涉及(例如但不限于)免疫印迹、免疫扩散、免疫电泳或免疫沉淀。在一些实施方式中,使用自动分析器来测定AIR标记物的存在。

[0177] 在实施本文所阐述的任意需要测定AIR标记物存在的方法时,可通过查阅含有关于患者遗传组成的足够信息的数据储存库来进行该测定以确定患者是否具有感兴趣标记物。优选地,数据储存库列示个体中存在(或不存在)的基因型。数据储存库可包括个体的病历、医学数据卡、通过计算机或其他电子或非电子媒介(其上可储存适当信息或遗传数据)可获得的文件(例如文本ASCII文件)。如本文所使用,医学数据卡是可携式储存装置,例如磁性数据卡、智能卡(其具有板上处理单元且由例如德国慕尼黑的Siemens等供应商出售)或闪存卡。若数据储存库是计算机可及文件,则这些文件可位于各种媒介上,包括服务器、用户端、硬盘、CD、DVD、个人数字助理(例如智能电话、掌上计算机)、磁带录音机、压缩盘、计算机内部ROM(只读存储器)或互联网或万维网。本领域技术人员应了解计算机可及文件储存的其他媒介。

[0178] 通常,一旦测定AIR标记物或多态性存在后,可将结果通知医师或遗传顾问或患者或其他研究者。具体地,可将该结果置(cast)于可传输形式的信息中,其可被传送或传输至其他研究者或医师或遗传顾问或患者。这一形式可变化且可以是有形的或无形的。所测试个体的结果可以描述性陈述、图、相片、图表、图像或任何其他视觉形式呈现。例如,PCR产物的凝胶电泳影像可用于解释这些结果。显示在个体等位基因中出现变体的图也用于指示测试结果。关于AIR标记物或多态性存在的陈述也可用于指示测试结果。这些陈述和视觉形式可记录在有形媒介(例如纸、计算机可读媒介(例如软盘、压缩盘等))或无形媒介(例如呈因特网或内部网上的电子邮件或网址形式的电子媒介)上。另外,结果也可以声音形式记录并经由电话、传真、无线移动电话、互联网电话等,通过任何合适媒介(例如模拟或数字电缆线、光纤电缆等)传输。所有这些形式(有形和无形)均可构成“可传输形式信息”。因此,关于测试结果的信息和数据可在世界任意地方产生并可传输至不同位置。例如,在离岸进行基因分型分析时,可产生关于测试结果的信息和数据并置入上述的可传输形式。因此,可将呈可传输形式的测试结果输入美国。因此,本发明也涵盖产生可传输形式信息的方法,所述信息包含个体中AIR标记物或多态型性存在或不存在。该形式的信息可用于预测患有哮喘的患者的响应,并用于基于该信息选择性治疗患者。

[0179] 治疗方法和IL-13拮抗剂的用途

[0180] 所公开方法允许临床医师为哮喘患者提供个体化治疗,即其能确定是否能用IL-13拮抗剂选择性治疗患者。这样在罹患哮喘的整个患者群体中,临床医师可最大化IL-13拮抗作用的益处并最小化其风险。应理解,IL-13拮抗剂可用于治疗、预防或改善哮喘,包括中度或重度哮喘。IL-13拮抗剂可在体外、离体使用,或纳入药物组合物中并在施用给个体(例如人类患者)体内以治疗、改善或预防例如具有AIR标记物患者的哮喘。药物组合物可经配制以与其预期的施用途径相容(例如口服组合物通常包括惰性稀释剂或可食用载剂)。施用途径的其他非限制性示例包括肠胃外(例如静脉内)、皮内、皮下、经口(例如吸入)、经皮(局部)、经黏膜和直肠施用。本领域内已熟知与各预期途径相容的药物组合物。

[0181] IL-13拮抗剂在与药学上可接受的载剂组合时可用作药物组合物。除了IL-13拮抗剂,这一组合物也可含有载剂、各种稀释剂、填充剂、盐、缓冲剂、稳定剂、增溶剂和本领域内

熟知的其他材料。载剂的特性将取决于施用途径。

[0182] 抗体(例如IL-13的抗体)通常被配制或准备用于肠胃外施用的水性形式或用于在施用之前使用适宜稀释剂重构的冻干物形式。在所公开方法和用途的一些实施方式中,将IL-13拮抗剂(例如IL-13抗体)配制或冻干物。适宜的冻干物剂型可在小液体体积(例如2ml或更小)中重构以允许皮下施用,并可提供低水平抗体聚集的溶液。抗体作为药品活性成份的用途现在很普遍,包括产物**HERCEPTIN®**(曲妥单抗)、**RITUXAN®**(利妥昔单抗)、**SYNAGIS®**(帕利珠单抗)等。本来领域已熟知将抗体纯化至医药级的技术。当通过静脉内、皮肤或皮下注射施用治疗有效量的IL-13拮抗剂时,IL-13拮抗剂将呈无热原的肠胃外可接受的溶液形式。除IL-13拮抗剂外,用于静脉内、皮肤或皮下注射的药物组合物也可含有等渗载剂,例如氯化钠、林格、右旋糖、右旋糖和氯化钠、乳酸林格或本领域内已知的其他载剂。

[0183] 当然,适当的剂量将根据(例如)待采用的特定IL-13拮抗剂、宿主、施用模式和所治疗病状的性质和严重性以及患者已经历的先前治疗的性质而有所变化。最后,主治医疗卫生专业人士将决定治疗每一个体患者所用的IL-13拮抗剂的量。

[0184] 在实践本发明的一些治疗方法和用途时,将治疗有效量的IL-13拮抗剂施用给患者,例如哺乳动物(例如人类)。尽管应理解所公开方法提供根据AIR标记物存在而选择性治疗患者,但这并不排除若最终用IL-13拮抗剂治疗患者,所述IL-13拮抗剂疗法必然为单一疗法。实际上,若患者经选择用IL-13拮抗剂治疗,则IL-13拮抗剂可根据本发明方法单独或与治疗哮喘的其他治疗法组合施用。在与一或多种其他治疗法共施用时,IL-13拮抗剂可与另一治疗法同时施用或依序施用。若依序施用,则主治医师将决定施用IL-13拮抗剂和其他治疗法组合的适当顺序,以及用于共递送的适当剂量。

[0185] 可经肠胃外、静脉内(例如肘前或其他外周静脉)、肌肉或皮下方便地施用IL-13拮抗剂。使用本发明药物组合物的静脉内(i.v.)疗法的持续时间将根据所治疗疾病的严重性和每一个体患者的情况和个人响应而变化。也考虑使用本发明药物组合物的皮下(s.c.)疗法。医疗卫生专业人士将决定使用本发明药物组合物的静脉内或皮下疗法的合适持续时间和疗法的施用时机。

[0186] 剂量可根据疾病的严重性,基于重量(例如3mg/kg、10mg/kg、15mg/kg)或以固定量(例如75mg、150mg、300mg、1000mg)来递送。

[0187] 试剂盒

[0188] 本发明也涵盖用于检测来自哮喘患者的生物样品(测试样品)中的AIR标记物或多态性、表达水平、蛋白质水平或活性的试剂盒。这些试剂盒可用于预测哮喘患者是否可能响应IL-13拮抗剂的治疗(或具有更大响应)。例如,试剂盒可包含能够检测生物样品中AIR标记物或多态性、那些等位基因的产物和/或那些等位基因的等效遗传标记物的探针(例如寡核苷酸、抗体、标记化合物或其他试剂)。试剂盒也可包含用于提供预测患者将响应使用IL-13拮抗剂治疗的可能性的说明书。

[0189] 探针可与基因组序列、核酸产物或多肽产物特异性杂交。示例性探针是与表1的响应性等位基因特异性杂交的寡核苷酸或偶联寡核苷酸;能够区分由所公开等位基因编码的多肽产物的抗体;引物-延伸寡核苷酸、等位基因特异性引物、等位基因特异性引物、等位基因特异性探针和引物延伸引物的组合等。试剂盒可任选含有靶向内部控制等位基因的探

针,其可为一般人群中呈现的任何等位基因。设计内部控制等位基因的检测以确保试剂盒的性能。所公开试剂盒也可包含(例如)缓冲剂、防腐剂或蛋白质稳定剂。试剂盒也可包含用于检测可检测试剂(例如酶或底物)所需的组件。试剂盒也可含有可被分析并与所含测试样品进行比较的对照样品或一系列对照样品。试剂盒的各组件通常封闭于个体容器内,且所有不同容器都与使用说明书一起位于单一包装内。

[0190] 这些试剂盒也可包含IL-13拮抗剂或包含IL-13拮抗剂的药物组合物。这些试剂盒可用于使用IL-13拮抗剂选择性治疗哮喘患者。另外,这些试剂盒可包含用于施用IL-13拮抗剂的构件(例如注射器和小瓶、预填充注射器、预填充笔)和使用说明书。这些试剂盒可含有用于治疗哮喘(例如用于与所含IL-13拮抗剂组合递送)的其他治疗剂。

[0191] 片语“用于施用的构件”用于指用于向患者全身性施用药物的任意可用器具,包括但不限于预填充注射器、小瓶和注射器、注射笔、自动注射器、静脉内滴注器和静脉内袋、泵等。使用这些物品,患者可自施用药物(即靠自身力量施用药物)或医师可施用药物。

[0192] 本发明的一或多个实施方式的细节阐释于以上随附描述中。尽管任何类似或等效于本文所述方法和材料的方法和材料都可用于本发明的实践或测试中,但目前所述是优选的方法和材料。根据描述和权利要求书可显见本发明的其他特征、目标和优点。在说明书和随附权利要求书中,除非上下文另外明确指明,否则单数形式包括复数个指示物。除非另外定义,否则本文所使用的所有技术和科学术语都具有与本领域普通技术人员通常所理解相同的含义。本发明中的所有数值范围都包括端点和其间的所有整数、小数和分数,无论具体说明与否。本说明书中的所有专利和出版物以引用方式并入。呈现以下实施例以更全面地说明本发明的优选实施方式。这些实施例决不应理解为限制所公开专利内容的范畴,其是通过随附权利要求书界定。

[0193] 实施例

[0194] 缩写列表

[0195]	缩写	解释
[0196]	ACQ	哮喘控制问卷
[0197]	DNA	脱氧核糖核酸
[0198]	FEV	用力呼气容积
[0199]	IgE	免疫球蛋白E
[0200]	IL-4	白介素4
[0201]	IL4-R α	白介素4受体 α
[0202]	IL-13	白介素13
[0203]	LD	连锁不平衡
[0204]	SNP	单核苷酸多态性
[0205]	UTR	非翻译区

[0206] 实施例1:

[0207] IL-13拮抗剂的鉴别

[0208] 出于本发明的目的,与本文所阐释的指定抗IL-13抗体(包括抗体01951/G12(SEQ ID NO:14和16))竞争结合至IL-13的IL-13拮抗剂可通过本领域内已知方法鉴别,并在以下方法中进一步阐述。

[0209] 所有实验都是使用Biacore T200仪器来实施。分别使用Biacore T200控制软件和Biacore T200评估软件用于实验的控制和分析。

[0210] 第1部分:使用氨基偶合方法将抗人类IL-13抗体01951/G12固定至CM5感测器芯片表面。简言之,用EDC/NHS活化测量流动池的表面,接着是700秒添加10mM乙酸钠pH 4.5中的50 μ g/mL抗体01951/G12。基于先前实验,这些缓冲液和注射时间足以允许芯片表面的抗体01951/G12饱和,但若在700秒之前实现饱和,则可减少暴露时间。可通过缓冲液快速探索(buffer scouting)来测定可能更合适的固定缓冲液。随后用乙醇胺封闭任何剩余活性表面基团。用EDC/NHS活化参比流动池的表面,且随后用乙醇胺封闭而不固定蛋白质(空白固定),或通过添加同型对照抗体封闭。基于使用抗体01951/G12固定的先前研究,合适的运行缓冲液是含有10mM HEPES、150mM NaCl、0.005% (w/v) 聚山梨醇酯20和3mM EDTA的HBS-EP+ (pH 7.4)。

[0211] 第2部分:实施人类IL-13的浓度-响应曲线以测定IL-13在后续表位竞争研究中使用的适当浓度。将IL-13稀释于运行缓冲液中,并从25nM开始,以30 μ L/min的流速流经参比和测量流动池。可以实验方式调整最优速率。缔合时间为120秒且解离时间为120秒,但若需要测量亲和力(K_D),则解离时间可延长至180秒或600秒或更长时间。用10 μ L/min流速、10mM甘氨酸(pH 2.0)的30秒注射来表面再生对于在解离步骤后从抗体01951/G12移除IL-13是必要的。有时需要在第一再生步骤后立即进行第二再生步骤。在IL-13的以下稀释系列范围内重复这些步骤:25nM、12.5nM、6.25nM、3.13nM、1.56nM和0nM。基于先前研究,该稀释系列适于初步试验,但可能需要相应地作出改变。运行两次稀释系列以提供 $n=2$ 。分析温度为25 $^{\circ}$ C。运行缓冲液是含有10mM HEPES、150mM NaCl、0.005% (w/v) 和聚山梨醇酯20的HBS-P+ (pH 7.4)。使用1:1结合模型并利用Biacore T200评估软件评估数据。

[0212] 第3部分:使用双重结合方法进行表位竞争研究。基于来自第2部分的数据,给出与抗体01951/G12大约50RU结合的IL-13浓度以30 μ L/min注射120秒。无解离期;替代地,紧接着是以IL-13的10倍浓度进行竞争者抗IL-13抗体的第二注射。关于IL-25的先前研究已使用120秒的缔合期,流速为30 μ L/min,镜像IL-13添加。使用与抗体01951/G12不同的表位结合至IL-13的任何竞争者将给出结合响应。使用与抗体01951/G12相同的表位结合至IL-13的那些将不存在结合响应。可应用可变的解离期,接着是酸性洗涤步骤以移除IL-13和竞争者添加物。这一步骤可反过来,将竞争抗体固定至芯片表面并将抗体01951/G12作为第二添加物,以证实结果。运行缓冲液是含有10mM HEPES、150mM NaCl、0.005% (w/v) 和聚山梨醇酯20的HBS-P+ (pH 7.4)。

[0213] 实施例2

[0214] 抗体01951/G12表位残基的鉴别:

[0215] 肽谱:

[0216] 在肽水平探测IL-13的序列以鉴别抗体01951/G12的结合位点。合成34个15肽以利用自N末端开始的12个残基重叠扫描整个序列。肽的合成、肽阵列载玻片的制备、与抗体的培育和数据分析如Maksimov等人(PLoS ONE 7(3):e34212)所述进行。

[0217] 结果显示于表4中。报告了各肽所观测到的结合信号强度(光度单位),第1列各肽针对对照用不相关人类抗体,而第2列是各肽针对抗体01951/G12。认为10000个光度单位以上的信号是显著的。在34个肽的组中有2个重叠肽产生阈值以上的信号,即肽22

(TQRMLSGFCPHKVSA) (SEQ ID NO:31) 和肽23 (MLSGFCPHKVSAGQF) (SEQ ID NO:32)。两肽之间的重叠序列是MLSGFCPHKVSA (SEQ ID NO:33)。

[0218] 为验证这一序列对于IL-13与抗体01951/G12的结合很重要并最终使其进一步收窄,进行取代分析。对此取代分析,创建肽阵列,其中序列MLSGFCPHKVSA的各残基被每一可能的20种标准氨基酸交换,从而创建一组240个肽,其中228个肽每次与原始序列相差1个氨基酸。利用抗体01951/G12的结合研究的结果呈现于图1中。箱型区指示当其被几乎任意氨基酸置换时结合强烈减少或消除的那些残基。因此,这一序列段FCPHKV (SEQ ID NO:67) 代表IL-13与抗体01951/G12的最小结合区。

[0219] 用于肽谱的IL-13的序列:

[0220] SPGPVPPSTALRELIEELVNITQNQKAPLCNGSMVWSINLTAGMYCAALESLINVSGCSAIEKTQRMLSGFCPHKVSAGQFSSLHVRDTKIEVAQFVKDLLHLKKLFREGRFN (SEQ ID NO:34)。

[0221] 表4:对照抗体和靶抗体(抗体01951/G12) 培育的IL-13肽的信号强度(光度单位)。

[0222]

索引	肽序列	SEQ ID NO:	对照抗体的修正平均值	抗体 01951/G12 的修正平均值
1	SPGPVPPSTALRELI	35	44.3	-1072.3
2	PVPPSTALRELIEEL	36	-9	-1133.3
3	PSTALRELIEELVNI	37	-7.3	-210.5
4	ALRELIEELVNITQN	38	-16.7	-207
5	ELIEELVNITQNQKA	39	-2.7	-131
6	EELVNITQNQKAPLC	40	1.5	1
7	VNITQNQKAPLCNGS	41	28	-405
8	TQNQKAPLCNGSMVW	42	41.7	-350.5
9	QKAPLCNGSMVWSIN	43	27.7	-518
10	PLCNGSMVWSINLTA	44	-6.5	-982
11	NGSMVWSINLTAGMY	45	-5	-131.5

[0223]	12	MVWSINLTAGMYCAA	46	19	56.5
	13	SINLTAGMYCAALES	47	-1.5	-757
	14	LTAGMYCAALESLIN	48	1	-99.7
	15	GMVCAALESLINVSG	49	1	-987
	16	CAALESLINVSGCSA	50	1	-586.7
	17	LESLINVSGCSAIEK	51	18.7	-340.3
	18	LINVSGCSAIEKTQR	52	12.5	-539.3
	19	VSGCSAIEKTQRMLS	53	15	-830.3
	20	CSAIEKTQRMLSGFC	54	26	-721.3
	21	IEKTQRMLSGFCPHK	55	101	2207
	22	TQRMLSGFCPHKVSA	31	123	38568
	23	MLSGFCPHKVSAGQF	32	23	48125.7
	24	GFCPHKVSAGQFSSL	56	3.3	492.7
	25	PHKVSAGQFSSLHVR	57	-24.7	-386.5
	26	VSAGQFSSLHVRDTK	58	3.7	-778.5
	27	GQFSSLHVRDTKIEV	59	-10.5	-291
	28	SSLHVRDTKIEVAQF	60	-6	-170
	29	HVRDTKIEVAQFVKD	61	-17	-734.3
	30	DTKIEVAQFVKDLLL	62	-13	-438.5
	31	IEVAQFVKDLLLHLK	63	-11	-810
	32	AQFVKDLLLHLKKLF	64	25	-746.5
	33	VKDLLLHLKKLFREG	65	19	-203
	34	LLLHLKKLFREGRFN	66	322	7152.3

[0224] 实施例3

[0225] IL4-R α SNP的药物遗传学分析和AIR标记物1-9的发现：

[0226] 抗体01951/G12是完全人类IgG1/ κ 单克隆抗体。CQAX576A2207是II期临床研究，评估当加至现有哮喘疗法时抗体01951/G12在多个剂量后在患有中度至重度持续性哮喘的患者中的有效性和安全性。

[0227] 为评价用抗体01951/G12治疗中患者IL4-R α 基因内若干单核苷酸多态性 (SNP) 与哮喘恶化风险的关联，从CQAX576A2207试验登记的患者收集DNA，并在这些样品中对IL4-R α 基因中的9种SNP进行基因分型。进行关联的统计学测试以评价在用抗体01951/G12治疗的患者中IL4-R α 基因的SNP与哮喘恶化风险以及与其他哮喘临床终点的关联的证据。

[0228] 以此方式实施药物遗传学分析，目标为：

[0229] • 评估在用抗体01951/G12治疗的患者中IL4-R α 基因中的某些SNP与哮喘恶化的风险是否有关。

[0230] • 评估在用抗体01951/G12治疗的患者中某些SNP与ACQ7评分、FEV1或IgE含量相对于基线的变化是否有关。

[0231] • 评估在用安慰剂治疗的患者中上述SNP与哮喘恶化的风险是否有关。研究群体

[0232] 研究群体包括满足以下标准的所有患者：

[0233] • 包括在CQAX576A2207临床研究的最终分析群体中，且

[0234] • 在临床资料库中所记录的性别与遗传学测定的性别之间不存在差异

[0235] 所评估的临床终点

[0236] 进行统计学测试以评估IL4-R α SNP与以下哮喘临床终点之间关联的证据：

[0237] • 从基线至第24周至少一种哮喘恶化的发生风险

- [0238] • 从基线至第24周ACQ7评分的平均绝对变化
- [0239] • 从基线至第24周FEV1水平的平均百分比变化
- [0240] • 从基线至第24周IgE水平的平均百分比变化
- [0241] 所评估的遗传标记物:
- [0242] 采用以下策略鉴别与响应抗体01951/G12有关的遗传变体。
- [0243] 候选SNP
- [0244] 该药物遗传学分析中所用的9种SNP与其相对于基因结构的位置和(如适用)其对基因产物的影响一起列示于表5中。以其在基因上的物理顺序列出。使用Taqman平台对SNP进行基因分型。
- [0245] 表5

[0246]	SNP	报告的与匹曲白滞素恶化风险的关联	位置	影响
	rs1110470	是	内含子	未知
	rs3024530	是	内含子	未知
	rs1805010	是	外显子	氨基酸变化(I→V)
	rs2239347	是	内含子	未知
	rs1805011	否	外显子	氨基酸变化(E→A)
	rs1801275	否	外显子	氨基酸变化(Q→R)
	rs8832	是	3' UTR	一些 UTR 变体影响基因转录水平
	rs1029849	是	3'近端	未知
	rs4787956	是	3'近端	未知

- [0247] UTR, 非翻译区
- [0248] 全基因组关联研究 (GWAS)
- [0249] 使用Illumina Omni5Exome芯片进行全基因组关联研究 (GWAS)。评估定位到IL4-R α 基因的所有SNP。
- [0250] IL4-R α 基因的重新测序
- [0251] 对IL4-R α 基因中的大部分外显子以及3' 非翻译区 (UTR) 进行桑格测序, 以测定是否可鉴别出Omni5Exome芯片上不包括的任何其他变体。
- [0252] 基因分型方法:
- [0253] 候选SNP
- [0254] 遵循供应商推荐的方案TaqMan SNP基因分型分析方案 (PN 4332856D) 并使用Taqman Universal Master mix (PN 4326614) 来准备样品反应, 具有以下例外:
- [0255] • 每个反应2.00 μ L的DNA样品
- [0256] • 每个反应加入0.25 μ L的水
- [0257] 在GeneAmp 9700 (Applied Biosystems) 上使用供应商方案中指定的程序进行PCR反应, 具有以下例外:
- [0258] • 使用50个周期 (而非40个) 的标准热程序
- [0259] 在ABI PRISM 7900HT序列检测系统上进行终点读数, 其中通过SNP Manager和SDS 2.2.2 (Applied Biosystems) 进行数据分析。

[0260] GWAS

[0261] 使用Illumina HumanOMNI5Exome微阵列平台生成GWAS的基因型数据。

[0262] IL4-R α 基因的重新测序

[0263] 通过桑格测序在IL4R α (NT_010393.15) 中鉴别SNP。使用携带M13通用序列标记的独特引物实施PCR。利用独特或通用引物和BigDye终止子v3.1 (Applied Biosystems, 4337456) 对各编码区的扩增子进行双向测序。用CleanSEQ (Beckman, A29154) 清理测序产物并在3730xl遗传分析仪 (Applied Biosystems) 上用POP-7运行作序列检测。使用PhredPhrap (University of Washington) 将迹线与来自NCBI的各扩增子的参比序列进行比对, 然后使用Consed (University of Washington, 19.0版本) 目测检查其与标准序列的差异。记下序列变异并在可能情况下表征任何相应的编码变化。

[0264] 统计方法:

[0265] 哮喘恶化风险的分析

[0266] 通过条件逻辑回归模型使用SAS (9.3版本) 中的PROC LOGISTIC且以国家作为调节因素来进行SNP与哮喘恶化风险之间关联的所有测试。设计所有测试, 以评估基因型与恶化风险之间的加性关系的假设 (在对数范围), 这意味着杂合子中的风险是介于两个纯合类别内的风险之间。通过将基因型指定为连续变量 (等于患者所携带的次要 (即在CQAX576A2207样品中较不常见) 等位基因的拷贝数) 来测试加性假设。

[0267] 已知种族和族群是遗传关联研究中的常见混淆因素; 如此, 在可能的情况下在关联测试中可适当针对种族和族群进行调整。在CQAX576A2207研究中, 种族和族群的分布过于不平衡以至于不能针对这些因素进行调整, 所以逻辑回归改为以国家为条件作为那些因素代替。

[0268] 使用评分统计计分评价统计学显著性。针对多重检验未作调整。

[0269] ACQ7、FEV1和IgE相对于基线的变化的分析

[0270] 通过线性模型使用SAS (9.3版本) 中的PROC GENMOD进行针对SNP与ACQ7相对基线的绝对变化、FEV1相对基线的百分比变化和IgE相对基线的百分比变化之间的关联的所有测试。如3.4.1章节中所阐述, 所有测试评估对基因型与终点之间加性关系的假设。该模型中包括了国家、特应性病史、维持口服皮质类固醇使用和相应终点基线水平作为共变量。使用Wald卡方检验评价统计学显著性。针对多重检验未作调整。

[0271] 评价总体显著性的置换检验

[0272] 进行置换检验以评价如下发现的可能性: 表5顶部7种SNP中的每一个 (即排除底部2种SNP: rs1029849和rs4787956) 都被发现具有纯合基因型类别, 其中如果实际上在任意的SNP与抗体01951/G12恶化风险之间都无关联, 则在抗体01951/G12治疗的患者中无恶化。

[0273] 根据以下步骤进行置换检验:

[0274] • 对于第一次置换, 随机置换94个抗体01951/G12治疗患者的恶化状态 (是/否), 使得仍然是94个患者中仅12个经历恶化, 但该12个患者是随机选择的。所有基因型数据保持不变。

[0275] • 使用此已置换数据集, 评估各SNP以确定其是否存在无恶化的纯合基因型类别。若发现所有7种SNP都具有这一基因型类别, 则标记该已置换数据集来记录该发现。

[0276] • 将前2个步骤重复1000次。指示7种SNP中的每一个都不具有恶化的标记纯合基

因型类别的已置换数据集百分比代表该发现的经验显著性水平。因此,标记数据集的小百分比将指示通过随机机率观测到这一结果的低可能性,且将被视为抗体01951/G12治疗的患者中哮喘恶化风险受IL4-R α 基因中SNP影响的证据。

[0277] 连锁不平衡图中的 r^2 值的计算

[0278] 使用Haploview软件 (Barrett等人,2004) 计算LD图中的 r^2 值。

[0279] 评价用于预测的优选SNP数的交叉验证分析

[0280] 交叉验证是一种统计学方法,可用于比较建立预测性模型的多个供选方法以评价何种方法最可能产生具有最高预测准确度的模型。该方法需要将可用患者组分成训练组和测试组,将供选的模型建立方法仅应用于训练组,使用所得模型预测测试组中患者的结果,并测定哪种模型预测最精确。将此程序重复多次,在各测试组间对预测计平均。如果特定方法趋向于产生比其他方法更精确的预测,则表明当应用至其他研究时此方法也可产生具有最高预测准确度的模型。

[0281] 在交叉验证的该应用中,在针对下文所列的各模型建立方法确定了所选SNP后,应用线性判别分析 (LDA) 来建立预测性模型。可用于选择的标记物组由表5所列的顶部7种IL4-R α SNP中的6种组成。移除rs3024530,这是因为其与rs1805010几乎完全相关。然后将该程序应用至用抗体01951/G12治疗的患者以比较以下模型建立方法:

[0282] • 包括来自2个连锁不平衡 (LD) 区块中每一个的最显著SNP

[0283] • 包括上条所选择的2种SNP以及次显著SNP

[0284] • 包括来自2个LD区块中每一个的2种最显著SNP

[0285] • 包括上条所选的4种SNP以及再次显著SNP

[0286] • 包括所有6种SNP。

[0287] 比较各结果以评估相比于仅含有来自2个LD区块中每一个的单一最显著SNP的模型,包括其他SNP的预测性模型是否可能具有实质上更高的预测准确度。

[0288] 结果:

[0289] IL4-R α SNP的基因型频率

[0290] 针对表5所列IL4-R α 基因中的9种SNP,对总共94个抗体01951/G12治疗的患者和102个安慰剂治疗的患者进行基因分型。两名安慰剂治疗的患者在临床资料库中所记录的性别与遗传学决定的性别之间存在差异,并从该分析移除。二人来自相同国家,表明可能的样品交换。

[0291] 94个抗体01951/G12治疗的患者中有12个 (12.8%) 在研究期间经历至少一种哮喘恶化,相比之下100个安慰剂治疗的患者中有23个 (23.0%)。该分布与各SNP的哈温平衡 (Hardy-Weinberg equilibrium) 一致。

[0292] 表0-1 抗体01951/G12和匹曲白滞素研究中的基因型频率分布

	SNP	基因型频率分布	抗体 01951/G12 研究 n (%)
[0293]	rs1110470	GG	61 (31.4%)
		AG	97 (50.0%)
		AA	36 (18.6%)
	rs3024530	AA	48 (24.7%)
		AG	106 (54.6%)
		GG	40 (20.6%)
	rs1805010	AA	47 (24.5%)
		AG	105 (54.7%)
		GG	40 (20.8%)
	rs2239347	AA	48 (24.7%)
		AC	98 (50.5%)
		CC	48 (24.7%)
	rs1805011	AA	159 (82.4%)
		AC	31 (16.1%)
		CC	3 (1.6%)
	rs1801275	AA	127 (65.5%)
		AG	56 (28.9%)
		GG	11 (5.7%)
	rs8832	GG	58 (29.9%)
		AG	93 (47.9%)
		AA	43 (22.2%)
	rs1029849	GG	68 (35.2%)
		AG	86 (44.6%)
		AA	39 (20.2%)
	rs4787956	AA	71 (36.6%)
		AG	99 (51.0%)
		GG	24 (12.4%)

[0294] 通过组合抗体01951/G12和安慰剂组计算得基因型频率。

[0295] IL4-RαSNP与恶化风险之间的关联

[0296] 在研究期间经历至少一种哮喘恶化的抗体01951/G12治疗患者的比例在图2中按照9种基因分型SNP中每一个的基因型类别以及SNP与恶化风险之间关联的相应测试的显著水平显示。这7种SNP中的6种也与对抗体01951/G12的响应显著相关，p值在0.005-0.015的范围内，而其余SNP接近p值为0.066的显著性。此外，SNP通常在两个研究中都显示对恶化风险的加性效应，意味着杂合子中的风险通常介于两个纯合类别的风险之间，表明两种疗法的恶化风险随个体在相关SNP处携带的风险等位基因数而增加。

[0297] 由于众所周知种族是遗传关联研究中的常见混淆因素，故仅使用自报是高加索人的患者来重复抗体01951/G12治疗患者的关联测试，但p值不变。这可能是由于94个患者中的89个(94.7%)为高加索人，且5个非高加索人都来自无恶化的国家。

[0298] 在抗体01951/G12研究中特别注意到，对于7种SNP中的每一种，就抗体01951/G12治疗患者中未观测到任何恶化的都有纯合类别，该结果不可能随机出现。

[0299] 表5中所列底部两种SNP(其编码IL-4RA受体中的氨基酸变化)的结果显示p值为

0.091和0.10的关联较弱的证据。

[0300] 抗体01951/G12研究中经历至少一种哮喘恶化的安慰剂治疗的患者的比例在图3中按照9种经基因分型SNP的基因型类别显示。与抗体01951/G12组的结果不同,安慰剂治疗的患者未显示任意SNP的基因型与恶化风险之间关联的证据。

[0301] 此药物遗传学分析的所有表和图中所示的SNP按基因中的物理位置排序。

[0302] IL4-R α SNP与其他哮喘终点之间的关联

[0303] 也在抗体01951/G12治疗的患者中评估9种基因分型SNP与3种其他哮喘终点的关联的证据:ACQ7评分相对基线的变化、FEV1相对基线的百分比变化和IgE相对基线的百分比变化。在第24周评估所有终点。由于所有关联测试评估加性等位基因效应的假设(即杂合子中的平均响应介于两个纯合类别之间),表6显示次要等位基因(即此样品中较不常见的等位基因)的一个额外拷贝对该3个终点中每一个的效应。例如,在加性模型下,在rs8832处携带次要等位基因的一个额外拷贝(是否携带1个而非0个拷贝或2个而非1个拷贝)与FEV1相对基线平均增加7.6%相关。因此,携带2个而非0个拷贝与15.2%的平均增加相关。

[0304] 也提供哮喘恶化终点的相应结果用于比较。在此情形下,效应大小代表与次要等位基因的一个额外拷贝相关的胜算比。因此,在rs8832处携带次要等位基因的一个额外拷贝与经历恶化胜算的3.8倍增加相关。由于胜算比是倍增的,故携带2个而非0个拷贝与经历恶化胜算的3.8²或14.6倍增加相关。

[0305] 没有SNP达到或接近ACQ7或IgE终点的统计显著性,甚至没有针对多重检验的任何调整。对于FEV1终点,4种SNP达到显著性,包括3种SNP的群(rs8832、rs1029489和rs4787956)为p<0.002。然而,这3种SNP针对对抗体01951/G12响应的效应与针对哮喘恶化所观察到的相反:具体地,这3种SNP中的每一个,次要(样品中较不常见的)等位基因与较高的恶化风险相关,也与FEV1相对基线的平均增加相关。另一SNP rs1110470也达到边际显著性,但也与针对恶化所观测到的相反,且没有临近的其他SNP达到或接近显著性。

[0306] 表6 在第24周SNP与哮喘终点之间关联的检验结果

SNP (次要等位基因)	ACQ7 (相对基线的变化)		FEV1 (相对基线的百分比变化)		Serum IgE (相对基线的百分比变化)		哮喘恶化	
	效应大小 ¹ (具有 95% CI 的平均 Δ)	P 值	效应大小 ² (具有 95% CI 的平均 Δ)	P 值	效应大小 ² (具有 95% CI 的平均 Δ)	P 值	效应大小 ³ (具有 95% CI 的胜算比)	P 值
rs1110470 (A)	-0.039 \pm 0.23	0.73	-5.4 \pm 5.3	0.047	+4.7 \pm 13.9	0.51	0.15 (0.036,0.64)	0.0058
rs3024530 (G)	+0.142 \pm 0.24	0.24	+2.7 \pm 5.8	0.37	+0.6 \pm 14.7	0.94	4.2 (1.2,14.6)	0.015
rs1805010 (G)	+0.172 \pm 0.24	0.16	+2.7 \pm 5.9	0.38	-0.6 \pm 14.9	0.94	5.1 (1.3,19.9)	0.010
rs2239347 (C)	+0.023 \pm 0.22	0.84	+3.2 \pm 5.4	0.25	-0.2 \pm 13.7	0.98	2.8 (0.9,8.7)	0.066
rs1805011 (C)	-0.106 \pm 0.35	0.55	+0.1 \pm 8.5	0.98	-4.6 \pm 21.4	0.67	NC ⁴	0.091
rs1801275 (G)	-0.042 \pm 0.25	0.74	+2.9 \pm 6.3	0.36	-3.7 \pm 15.6	0.64	0.30 (0.066,1.4)	0.10
rs8832 (A)	-0.049 \pm 0.20	0.63	+7.6 \pm 4.7	0.0014	-7.2 \pm 12.5	0.26	3.8 (1.2,11.9)	0.013
rs1029489 (A)	-0.037 \pm 0.20	0.72	+7.0 \pm 4.6	0.0033	-6.3 \pm 12.4	0.32	4.2 (1.4,12.9)	0.0054
rs4787956 (G)	-0.081 \pm 0.22	0.47	+7.2 \pm 5.1	0.0064	-5.4 \pm 13.7	0.44	3.9 (1.3,11.7)	0.0080

[0308] ¹与次要等位基因的一个额外拷贝相关的ACQ7从基线至第24周的平均绝对变化

[0309] ²与次要等位基因的一个额外拷贝相关的FEV1或IgE从基线至第24周的平均百分比变化

[0310] ³与次要等位基因的一个额外拷贝相关的在基线与第24周之间经历哮喘恶化的风险的胜算比

[0311] ⁴无法计算,这是因为所有恶化的患者都具有相同基因型(AA)

[0312] 评估恶化关联的总体显著性的置换检验

[0313] 进行置换检验以评估若在SNP与恶化风险之间实际上无关联(即作为随机的假象)时获得与抗体01951/G12恶化结果类似的关联结果的可能性。尤其感兴趣的是以下发现:对于表5所列的顶部7种SNP中的每一个而言,未见恶化的对象中抗体01951/G12分析产生纯合类别;因此,置换检验致力于预期这一现象随机出现的频率。在所产生的1000个置换数据集中,仅2个获得了其中7种SNP中的每一个都具有一个纯合类别而无恶化的结果。因此若不存在任何真正关联,观测到此结果的可能性估计为0.002。

[0314] SNP的连锁不平衡分析

[0315] 在染色体上彼此相邻的等位基因倾向于共同遗传。当这些等位基因也具有类似的群体频率时,其可能彼此相关,使得知悉对象在给定SNP处的基因型就能够以相对高的准确度预测同一对象在邻近SNP处的基因型。这一概念称为“连锁不平衡”(LD)。与遗传关联研究的相关性是小区域中的多个SNP可显示与表型关联的证据;然而,由于这些SNP可彼此处于LD,所以任意给定的SNP可能不能在已从其他邻近SNP所得证据之外提供显著量的表型关联的独立证据。

[0316] 已知在整个基因组中LD发生在“区块”结构中。各区块或“簇”含有一群SNP,使得同一区块内的SNP对之间的相关性相对较高,而不同区块中的SNP对之间的相关性相对较低。如图4所阐释,对表5所列的顶部7种SNP与抗体01951/G12恶化风险之间的LD分析揭示了2个LD区块的存在。该单元中的数值代表 r^2 值(乘以100),即相应SNP对之间相关性的标准量度(或LD的强度)。 r^2 值为100指示2种SNP完全相关,而0指示完全独立。

[0317] 由该图可见,前4种SNP形成一个区块,其中SNP对之间的相关性在56-95的范围内。SNP rs3024530和rs1805010几乎完全相关。后3种SNP形成第二区块,其中成对相关性在59-80的范围内。相比之下,来自第一区块的SNP无一与来自第二区块的任何SNP显示高相关性,最高的成对相关性为32。

[0318] 评价用于预测的优化SNP数的交叉验证分析

[0319] 进行交叉验证分析以比较利用表5所列的顶部7种IL4-R α SNP中的6种(排除rs3024530,这是因为其与rs1805010几乎完全相关)预测患者在用抗体01951/G12治疗后哮喘恶化风险的策略。由于LD分析鉴别出很大程度上独立的2个SNP区块,其每一个都显示与恶化风险的关联的证据,故能合理预期相比于仅具有来自一个区块代表的预测性模型,具有两个区块代表的预测性模型将更有可能鉴别恶化风险低的患者。然而,这提出了以下问题:从各区块仅选择一种SNP是否充足或包括额外SNP是否有益。交叉验证分析显示,如果在各区块一个SNP以外还包括额外SNP,预测性模型鉴别具有低哮喘恶化风险患者的预测能力不会得到实质提高。

[0320] 额外信息

[0321] 7种SNP的基因型频率分布按照国家和种族群体列示于表7和8中。

[0322] 表7 IL4-R α SNP按照国家的基因型频率分布

[0323]

SNP	基因型	QAX576A2207	ARG	BEL	CZE	DEU	POL	RUS	USA
	N=	194	25	12	30	57	25	35	12
rs1805010	AA	0.24	0.20	0.00	0.25	0.37	0.24	0.12	0.36
	AG	0.55	0.64	0.67	0.46	0.53	0.60	0.53	0.45
	GG	0.21	0.16	0.33	0.29	0.11	0.16	0.35	0.18
rs8832	GG	0.30	0.36	0.17	0.29	0.30	0.28	0.31	0.33
	AG	0.48	0.48	0.50	0.50	0.47	0.60	0.46	0.25
	AA	0.22	0.16	0.33	0.21	0.23	0.12	0.23	0.42
rs4787956	AA	0.37	0.40	0.08	0.32	0.39	0.44	0.37	0.42
	AG	0.51	0.56	0.67	0.50	0.47	0.52	0.51	0.42
	GG	0.12	0.04	0.25	0.18	0.14	0.04	0.11	0.17
rs3024530	AA	0.25	0.20	0.00	0.25	0.37	0.24	0.14	0.33
	AG	0.55	0.64	0.67	0.46	0.51	0.60	0.54	0.50
	GG	0.21	0.16	0.33	0.29	0.12	0.16	0.31	0.17
rs1029489	GG	0.35	0.36	0.18	0.36	0.37	0.40	0.34	0.33
	AG	0.45	0.48	0.46	0.43	0.46	0.48	0.43	0.33
	AA	0.20	0.16	0.36	0.21	0.18	0.12	0.23	0.33
rs1110470	GG	0.31	0.36	0.42	0.39	0.25	0.24	0.37	0.25
	AG	0.50	0.48	0.50	0.46	0.51	0.56	0.49	0.50
	AA	0.19	0.16	0.08	0.14	0.25	0.20	0.14	0.25
rs2239347	AA	0.25	0.24	0.08	0.25	0.32	0.24	0.14	0.42
	AC	0.51	0.48	0.42	0.46	0.56	0.48	0.54	0.42
	CC	0.25	0.28	0.50	0.29	0.12	0.28	0.31	0.17

[0324] 表8 IL4-RaSNP按照种族群体的基因型频率分布

[0325]

SNP	基因型	QAX576A2207	ASW	CHB	CHD	GIH	LWK	MEX	MKK	TSI	CEU	HCN	JPT	YRI
	N=	194	49	41	84	88	90	49	142	88	112	42	86	112
rs1805010	AA	0.24	0.24	0.27	0.23	0.39	0.24	0.24	0.20	0.32	0.24	0.60	0.19	0.30
	AG	0.55	0.51	0.46	0.54	0.45	0.46	0.43	0.43	0.55	0.54	0.33	0.34	0.49
	GG	0.21	0.24	0.27	0.24	0.16	0.30	0.33	0.37	0.14	0.22	0.17	0.48	0.21
rs8832	GG	0.30	0.00	0.20	0.25	0.35	0.00	0.27	0.03	0.32	0.26	0.24	0.19	0.02
	AG	0.48	0.33	0.44	0.52	0.49	0.24	0.53	0.27	0.52	0.47	0.43	0.39	0.25
	AA	0.22	0.67	0.37	0.24	0.16	0.76	0.20	0.69	0.16	0.28	0.33	0.42	0.73
rs4787956	AA	0.37	0.43	0.17	0.24	0.40	0.37	0.30	0.38	0.39	0.39	0.26	0.16	0.41
	AG	0.51	0.49	0.44	0.50	0.45	0.56	0.52	0.52	0.50	0.43	0.44	0.41	0.43
	GG	0.12	0.08	0.39	0.26	0.15	0.08	0.18	0.10	0.13	0.18	0.30	0.43	0.16
rs3024530	AA	0.25	0.22	0.27	0.26	0.39	0.26	0.24	0.17	0.30	0.23	0.49	0.19	0.27
	AG	0.55	0.53	0.49	0.55	0.42	0.42	0.44	0.54	0.57	0.54	0.30	0.31	0.50
	GG	0.21	0.24	0.24	0.19	0.19	0.32	0.32	0.29	0.14	0.23	0.21	0.50	0.24
N=			60	45	45	60								
rs1029489	GG	0.35									0.48	0.22	0.18	0.03
	AG	0.45									0.38	0.44	0.31	0.22
	AA	0.20									0.13	0.33	0.51	0.75
rs1110470	GG	0.31									0.27	0.41	0.60	0.27
	AG	0.50									0.41	0.27	0.36	0.49
	AA	0.19									0.32	0.32	0.04	0.24
rs2239347	AA	0.25									0.28	0.40	0.20	0.32
	AC	0.51									0.50	0.42	0.49	0.45
	CC	0.25									0.22	0.18	0.31	0.23

群体 说明

ASW 美国西南部的非洲血统
CHB 中国北京的汉人(现在)
CHD 科罗拉多丹佛大都会的中国人
GIH 德克萨斯州休斯顿的古吉拉特印度人
LWK 肯尼亚韦布耶的卢希亚人
MEX 加利福尼亚洛杉矶的墨西哥血统

群体 说明

MKK 肯尼亚金瓦(Kinyawa)的马萨伊人
TSI 意大利的托斯卡纳人
CEU 具有北欧和西欧血统的犹他州居民
HCN 中国北京的汉人(以往)
JPT 日本东京的日本人
YRI 尼日利亚伊巴丹的约鲁巴人

[0326] 来源:dbSNP数据库,国家生物技术信息中心

[0327] 在此研究中发现表5列示的顶部7种SNP与抗体01951/G12治疗患者中的恶化风险相关。7种SNP中的6种产生在0.005-0.015范围内的显著p值,而余下那种SNP接近显著。当该分析仅限于高加索人患者以减轻混淆风险时,获得相同p值。此外,对抗体01951/G12的响应与大部分SNP的特定关联模式展现出具有恶化风险的加性关系;即观测到杂合子内的风险介于2个纯合类别内的风险之间。最后,观测到在抗体01951/G12治疗的患者中,7种SNP中的每一个都具有无恶化的特定纯合类别。置换检验显示不存在任何真正关联时观测到此结果

的可能性为0.002。总之,与IL4-R α 基因对抗体01951/G12机制的重要性一起,这些结果表明抗体01951/G12治疗患者中的哮喘恶化风险极有可能受IL4-R α 基因中的SNP影响。

[0328] 另外,评估IL4-R α 基因中的2种其他SNP(表5所列的底部2种SNP)与抗体01951/G12治疗的患者中的恶化风险的可能关联,这是因为它们据报导与哮喘疾病表型关联,而且它们编码氨基酸变化。然而,二者相比于其他7种SNP都较不显著($p=0.091$ 和 0.10)。

[0329] 在抗体01951/G12研究中,未发现IL4-R α 基因中SNP与用安慰剂治疗患者的恶化风险之间关联的任何证据。连同抗体01951/G12机制的知识一起,这表明这些SNP对恶化风险的影响特定于药物机制且并不反映更广泛的疾病严重性关联。此外,未发现这些SNP与ACQ7评分或IgE水平相对基线的变化之间关联的任何证据,且仅数个SNP与FEV1的变化显著相关,其中这些关联与针对恶化风险所见的关联相反。这表明影响患者恶化敏感性的遗传机制与针对其他哮喘终点的不同。

[0330] 关于抗体01951/G12治疗患者中这一药物遗传学关联的有力证据表明使用这些SNP处的特定基因型或基因型组合来预测患者在使用抗体01951/G12治疗后哮喘恶化的风险的用途。

[0331] 如表5中所显示,rs1805010造成氨基酸取代,而rs8832是在3'非翻译区(UTR)中,已知影响基因转录水平的一个区域。由于rs1805010位于第一LD区块内而rs8832位于第二LD区块内,故这2种SNP可用于开发针对恶化风险的预测性模型。表9交叉列出CQAX576A2207研究中这2种SNP的基因型频率。

[0332] 表9 在CQAX576A2207研究中rs1805010和rs8832的交叉表的基因型频率

		rs8832		
		GG (较低恶化风险)	AG	AA (较高恶化风险)
[0333]	rs1805010 AA (较低恶化风险)	33 (17.2%)	9 (4.7%)	5 (2.6%)
	AG	20 (10.4%)	71 (37.0%)	14 (7.3%)
	GG (较高恶化风险)	5 (2.6%)	11 (5.7%)	24 (12.5%)

[0334] 通过组合抗体01951/G12和安慰剂组来算出基因型频率。

[0335] 实施例4

[0336] 评估哮喘恶化降低的方法为本领域技术人员所已知并包括使用ACQ-5和/或AQLQ-S:

[0337] 哮喘控制问卷-5 (ACQ5)

评估日期
DD-MON-YYYY

- [0338]
- 1 平均而言, 在过去一周期间, 在晚间多久一次因哮喘而醒来?
- ☐0 从不
☐1 几乎从不
☐2 没几次
☐3 多次
☐4 许多次
☐5 极其多次
☐6 由于哮喘而无法睡觉
- 2 平均而言, 在过去一周期间, 在早间醒来时哮喘症状有多严重?
- ☐0 无症状
☐1 极其轻度症状
☐2 轻度症状
☐3 中度症状
☐4 有点重度症状
☐5 重度症状
☐6 极其重度症状
- 3 总体上, 在过去一周期间, 由于哮喘, 活动有多受限制?
- ☐0 根本不受限
☐1 极其轻微受限
☐2 轻度受限
☐3 中度受限
☐4 极其受限
☐5 极端受限
☐6 完全受限
- QSACG03_1 版权: April 2001
- 4 总体上, 在过去一周期间, 由于哮喘经历多少次呼吸短促?
- ☐0 无
☐1 极少
☐2 少量
☐3 适量
☐4 许多
☐5 大量
☐6 极其大量
- 5 总体上, 在过去一周期间, 有多少时间有喘鸣声?
- ☐0 从不
☐1 几乎没有任何时间
☐2 少数时间
☐3 适量时间
☐4 许多时间
☐5 大部分时间
☐6 所有时间

[0339] 利用标准化活动的哮喘生活品质问卷 (AQLQ (S))

评估日期
DD-MON-YYYY

在过去 2 周期间, 由于气喘, 你在这些活动中有多受限制?

- [0340]
- | | 完全受限 | 极端受限 | 极其受限 | 中度受限 | 有些受限 | 稍有受限 | 根本不受限 |
|--|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| 1. 剧烈活动
(例如疾走、锻炼、跑楼梯、运动) | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 2. 适度活动
(例如行走、做家务、园艺、购物、爬楼梯) | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 3. 社会活动
(例如谈话、与宠物/孩子玩耍、拜访朋友/亲属) | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 4. 工作相关活动
(工作时必须做的任务)
* 若你未被雇佣或自雇, 则这些任务应为大多数时候必须做的任务。 | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 5. 睡觉 | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |

在过去 2 周期间，你感觉有多不舒服或痛苦？

	极大量	大量	许多	适量	一些	极少	无
6. 在过去 2 周内，由于胸部紧迫感，你感觉有多不舒服或痛苦？	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

大体上，在过去 2 周期间，你有多少时间有以下

	所有时间	大部分时间	许多时间	一些时间	少数时间	几乎没有任何时间	没有任何时间
7. 对患有哮喘感到忧虑	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
8. 由于哮喘而感到呼吸短促	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
9. 由于暴露于香烟烟雾中而出现哮喘症状	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
10. 胸部出现喘鸣	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
11. 感觉你必须因香烟烟雾而避开某种情况或环境	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

[0341]

[0001]	序列表
[0002]	<110> 诺华股份有限公司 (NOVARTIS AG)
[0003]	<120> 用IL-13拮抗剂选择性治疗哮喘的方法
[0004]	<130> PAT056217-WO-PCT
[0005]	<140>
[0006]	<141>
[0007]	<150> 61/978,604
[0008]	<151> 2014-04-11
[0009]	<160> 67
[0010]	<170> PatentIn 3.5版
[0011]	<210> 1
[0012]	<211> 146
[0013]	<212> PRT
[0014]	<213> 智人 (Homo sapiens)
[0015]	<400> 1
[0016]	Met His Pro Leu Leu Asn Pro Leu Leu Leu Ala Leu Gly Leu Met Ala
[0017]	1 5 10 15
[0018]	Leu Leu Leu Thr Thr Val Ile Ala Leu Thr Cys Leu Gly Gly Phe Ala
[0019]	20 25 30
[0020]	Ser Pro Gly Pro Val Pro Pro Ser Thr Ala Leu Arg Glu Leu Ile Glu
[0021]	35 40 45
[0022]	Glu Leu Val Asn Ile Thr Gln Asn Gln Lys Ala Pro Leu Cys Asn Gly
[0023]	50 55 60
[0024]	Ser Met Val Trp Ser Ile Asn Leu Thr Ala Gly Met Tyr Cys Ala Ala
[0025]	65 70 75 80
[0026]	Leu Glu Ser Leu Ile Asn Val Ser Gly Cys Ser Ala Ile Glu Lys Thr
[0027]	85 90 95
[0028]	Gln Arg Met Leu Ser Gly Phe Cys Pro His Lys Val Ser Ala Gly Gln
[0029]	100 105 110
[0030]	Phe Ser Ser Leu His Val Arg Asp Thr Lys Ile Glu Val Ala Gln Phe
[0031]	115 120 125
[0032]	Val Lys Asp Leu Leu Leu His Leu Lys Lys Leu Phe Arg Glu Gly Arg
[0033]	130 135 140
[0034]	Phe Asn
[0035]	145
[0036]	<210> 2
[0037]	<211> 8
[0038]	<212> PRT

[0039] <213> 人工序列
[0040] <220>
[0041] <221> 来源
[0042] <223> 注:“人工序列描述:合成肽”
[0043] <400> 2
[0044] Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Gly
[0045] 1 5
[0046] <210> 3
[0047] <211> 7
[0048] <212> PRT
[0049] <213> 人工序列
[0050] <220>
[0051] <221> 来源
[0052] <223> 注:“人工序列描述:合成肽”
[0053] <400> 3
[0054] Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn
[0055] 1 5
[0056] <210> 4
[0057] <211> 9
[0058] <212> PRT
[0059] <213> 人工序列
[0060] <220>
[0061] <221> 来源
[0062] <223> 注:“人工序列描述:合成肽”
[0063] <400> 4
[0064] Ala Arg Leu Trp Phe Gly Asp Leu Asp
[0065] 1 5
[0066] <210> 5
[0067] <211> 5
[0068] <212> PRT
[0069] <213> 人工序列
[0070] <220>
[0071] <221> 来源
[0072] <223> 注:“人工序列描述:合成肽”
[0073] <400> 5
[0074] Ser Tyr Gly Met His
[0075] 1 5
[0076] <210> 6
[0077] <211> 17

[0078]	<212>	PRT
[0079]	<213>	人工序列
[0080]	<220>	
[0081]	<221>	来源
[0082]	<223>	注：“人工序列描述：合成肽”
[0083]	<400>	6
[0084]	Ile Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys	
[0085]	1	5 10 15
[0086]	Gly	
[0087]	<210>	7
[0088]	<211>	11
[0089]	<212>	PRT
[0090]	<213>	人工序列
[0091]	<220>	
[0092]	<221>	来源
[0093]	<223>	注：“人工序列描述：合成肽”
[0094]	<400>	7
[0095]	Leu Trp Phe Gly Asp Leu Asp Ala Phe Asp Ile	
[0096]	1	5 10
[0097]	<210>	8
[0098]	<211>	6
[0099]	<212>	PRT
[0100]	<213>	人工序列
[0101]	<220>	
[0102]	<221>	来源
[0103]	<223>	注：“人工序列描述：合成肽”
[0104]	<400>	8
[0105]	Gln Ser Val Ser Ser Tyr	
[0106]	1	5
[0107]	<210>	9
[0108]	<211>	2
[0109]	<212>	PRT
[0110]	<213>	人工序列
[0111]	<220>	
[0112]	<221>	来源
[0113]	<223>	注：“人工序列描述：合成肽”
[0114]	<400>	9
[0115]	Asp Ala	
[0116]	1	

[0117] <210> 10
[0118] <211> 9
[0119] <212> PRT
[0120] <213> 人工序列
[0121] <220>
[0122] <221> 来源
[0123] <223> 注：“人工序列描述：合成肽”
[0124] <400> 10
[0125] Gln Gln Arg Ser Ser Trp Pro Pro Val
[0126] 1 5
[0127] <210> 11
[0128] <211> 11
[0129] <212> PRT
[0130] <213> 人工序列
[0131] <220>
[0132] <221> 来源
[0133] <223> 注：“人工序列描述：合成肽”
[0134] <400> 11
[0135] Arg Ala Gly Gln Ser Val Ser Ser Tyr Leu Val
[0136] 1 5 10
[0137] <210> 12
[0138] <211> 7
[0139] <212> PRT
[0140] <213> 人工序列
[0141] <220>
[0142] <221> 来源
[0143] <223> 注：“人工序列描述：合成肽”
[0144] <400> 12
[0145] Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr
[0146] 1 5
[0147] <210> 13
[0148] <211> 11
[0149] <212> PRT
[0150] <213> 人工序列
[0151] <220>
[0152] <221> 来源
[0153] <223> 注：“人工序列描述：合成肽”
[0154] <400> 13
[0155] Gln Gln Arg Ser Ser Trp Pro Pro Val Tyr Thr

[0156]	1	5	10
[0157]	<210> 14		
[0158]	<211> 117		
[0159]	<212> PRT		
[0160]	<213> 人工序列		
[0161]	<220>		
[0162]	<221> 来源		
[0163]	<223> 注:“人工序列描述:合成多肽”		
[0164]	<400> 14		
[0165]	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg		
[0166]	1	5	10 15
[0167]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr		
[0168]		20	25 30
[0169]	Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val		
[0170]		35	40 45
[0171]	Ala Ile Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val		
[0172]		50	55 60
[0173]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr		
[0174]		65	70 75 80
[0175]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
[0176]		85	90 95
[0177]	Ala Arg Leu Trp Phe Gly Asp Leu Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln		
[0178]		100	105 110
[0179]	Gly Thr Met Val Thr		
[0180]		115	
[0181]	<210> 15		
[0182]	<211> 351		
[0183]	<212> DNA		
[0184]	<213> 人工序列		
[0185]	<220>		
[0186]	<221> 来源		
[0187]	<223> 注:“人工序列描述:合成多核苷酸”		
[0188]	<220>		
[0189]	<221> CDS		
[0190]	<222> (1) .. (351)		
[0191]	<400> 15		
[0192]	gaa gtg cag ctg gtg gag tct ggg gga ggc gtg gtc cag cct ggg agg 48		
[0193]	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg		
[0194]	1	5	10 15

[0195]	tcc ctg aga ctc tcc tgt gca gcg tct gga ttc acc ttc agt agc tat	96
[0196]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr	
[0197]	20 25 30	
[0198]	ggc atg cac tgg gtc cgc cag gct cca ggc aag ggg ctg gag tgg gtg	144
[0199]	Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val	
[0200]	35 40 45	
[0201]	gca att ata tgg tat gat gga agt aat aaa tac tat gcg gac tcc gtg	192
[0202]	Ala Ile Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val	
[0203]	50 55 60	
[0204]	aag ggc cga ttc acc atc tcc aga gac aat tcc aag aac acg ctg tat	240
[0205]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr	
[0206]	65 70 75 80	
[0207]	ctg caa atg aac agc ctg aga gcc gag gac acg gct gtg tat tac tgt	288
[0208]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys	
[0209]	85 90 95	
[0210]	gcg agg cta tgg ttc ggg gac tta gat gct ttt gat atc tgg ggc caa	336
[0211]	Ala Arg Leu Trp Phe Gly Asp Leu Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln	
[0212]	100 105 110	
[0213]	ggg aca atg gtc acc	351
[0214]	Gly Thr Met Val Thr	
[0215]	115	
[0216]	<210> 16	
[0217]	<211> 104	
[0218]	<212> PRT	
[0219]	<213> 人工序列	
[0220]	<220>	
[0221]	<221> 来源	
[0222]	<223> 注：“人工序列描述：合成多肽”	
[0223]	<400> 16	
[0224]	Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly	
[0225]	1 5 10 15	
[0226]	Glu Arg Ala Ile Leu Ser Cys Arg Ala Gly Gln Ser Val Ser Ser Tyr	
[0227]	20 25 30	
[0228]	Leu Val Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile	
[0229]	35 40 45	
[0230]	Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly	
[0231]	50 55 60	
[0232]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro	
[0233]	65 70 75 80	

[0234]	Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Ser Trp Pro Pro		
[0235]		85	90
[0236]	Val Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr		95
[0237]		100	
[0238]	<210> 17		
[0239]	<211> 312		
[0240]	<212> DNA		
[0241]	<213> 人工序列		
[0242]	<220>		
[0243]	<221> 来源		
[0244]	<223> 注:“人工序列描述:合成多核苷酸”		
[0245]	<220>		
[0246]	<221> CDS		
[0247]	<222> (1) .. (312)		
[0248]	<400> 17		
[0249]	gaa att gtg ttg acg cag tct cca gcc acc ctg tct ttg tct cca ggg	48	
[0250]	Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly		
[0251]	1	5	10
[0252]	gaa aga gcc atc ctc tcc tgc agg gcc ggt cag agt gtt agc agt tac	96	
[0253]	Glu Arg Ala Ile Leu Ser Cys Arg Ala Gly Gln Ser Val Ser Ser Tyr		
[0254]		20	25
[0255]	tta gtc tgg tac caa cag aaa cct ggc cag gct ccc agg ctc ctc atc	144	
[0256]	Leu Val Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile		
[0257]		35	40
[0258]	tat gat gca tcc aac agg gcc act ggc atc cca gcc agg ttc agt ggc	192	
[0259]	Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly		
[0260]		50	55
[0261]	agt ggg tct ggg aca gac ttc act ctc acc atc agc agc cta gag cct	240	
[0262]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro		
[0263]	65	70	75
[0264]	gaa gat ttt gca gtt tat tac tgt cag cag cgc agc agc tgg cct ccg	288	
[0265]	Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Ser Trp Pro Pro		
[0266]		85	90
[0267]	gtg tac act ttt ggc cag ggg acc	312	
[0268]	Val Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr		
[0269]		100	
[0270]	<210> 18		
[0271]	<211> 236		
[0272]	<212> PRT		

[0273]	<213>	人工序列
[0274]	<220>	
[0275]	<221>	来源
[0276]	<223>	注：“人工序列描述：合成多肽”
[0277]	<400>	18
[0278]	Met Ser Val Leu Thr Gln Val Leu Ala Leu Leu Leu Leu Trp Leu Thr	
[0279]	1	5 10 15
[0280]	Gly Thr Arg Cys Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser	
[0281]	20 25 30	
[0282]	Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Ile Leu Ser Cys Arg Ala Gly Gln Ser	
[0283]	35 40 45	
[0284]	Val Ser Ser Tyr Leu Val Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro	
[0285]	50 55 60	
[0286]	Arg Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala	
[0287]	65 70 75 80	
[0288]	Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser	
[0289]	85 90 95	
[0290]	Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser	
[0291]	100 105 110	
[0292]	Ser Trp Pro Pro Val Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile	
[0293]	115 120 125	
[0294]	Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp	
[0295]	130 135 140	
[0296]	Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn	
[0297]	145 150 155 160	
[0298]	Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu	
[0299]	165 170 175	
[0300]	Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp	
[0301]	180 185 190	
[0302]	Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr	
[0303]	195 200 205	
[0304]	Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser	
[0305]	210 215 220	
[0306]	Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys	
[0307]	225 230 235	
[0308]	<210>	19
[0309]	<211>	711
[0310]	<212>	DNA
[0311]	<213>	人工序列

[0312] <220>
 [0313] <221> 来源
 [0314] <223> 注:“人工序列描述:合成多核苷酸”
 [0315] <220>
 [0316] <221> CDS
 [0317] <222> (1) .. (711)
 [0318] <400> 19
 [0319] atg agt gtg ctc act cag gtc ctg gcg ttg ctg ctg ctg tgg ctt aca 48
 [0320] Met Ser Val Leu Thr Gln Val Leu Ala Leu Leu Leu Leu Trp Leu Thr
 [0321] 1 5 10 15
 [0322] ggt acg cgt tgt gaa att gtg ttg acg cag tct cca gcc acc ctg tct 96
 [0323] Gly Thr Arg Cys Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser
 [0324] 20 25 30
 [0325] ttg tct cca ggg gaa aga gcc atc ctc tcc tgc agg gcc ggt cag agt 144
 [0326] Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Ile Leu Ser Cys Arg Ala Gly Gln Ser
 [0327] 35 40 45
 [0328] gtt agc agt tac tta gtc tgg tac caa cag aaa cct ggc cag gct ccc 192
 [0329] Val Ser Ser Tyr Leu Val Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro
 [0330] 50 55 60
 [0331] agg ctc ctc atc tat gat gca tcc aac agg gcc act ggc atc cca gcc 240
 [0332] Arg Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala
 [0333] 65 70 75 80
 [0334] agg ttc agt ggc agt ggg tct ggg aca gac ttc act ctc acc atc agc 288
 [0335] Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
 [0336] 85 90 95
 [0337] agc cta gag cct gaa gat ttt gca gtt tat tac tgt cag cag cgc agc 336
 [0338] Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser
 [0339] 100 105 110
 [0340] agc tgg cct ccg gtg tac act ttt ggc cag ggg acc aag ctt gaa atc 384
 [0341] Ser Trp Pro Pro Val Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile
 [0342] 115 120 125
 [0343] aaa cga act gtg gct gca cca tct gtc ttc atc ttc ccg cca tct gat 432
 [0344] Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp
 [0345] 130 135 140
 [0346] gag cag ttg aaa tct gga act gcc tct gtt gtg tgc ctg ctg aat aac 480
 [0347] Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn
 [0348] 145 150 155 160
 [0349] ttc tat ccc aga gag gcc aaa gta cag tgg aag gtg gat aac gcc ctc 528
 [0350] Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu

[0351]	165	170	175
[0352]	caa tcg ggt aac tcc cag gag agt gtc aca gag cag gac agc aag gac	576	
[0353]	Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp		
[0354]	180	185	190
[0355]	agc acc tac agc ctc agc agc acc ctg acg ctg agc aaa gca gac tac	624	
[0356]	Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr		
[0357]	195	200	205
[0358]	gag aaa cac aaa gtc tac gcc tgc gaa gtc acc cat cag ggc ctg agc	672	
[0359]	Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser		
[0360]	210	215	220
[0361]	tcg ccc gtc aca aag agc ttc aac agg gga gag tgt tag	711	
[0362]	Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys		
[0363]	225	230	235
[0364]	<210> 20		
[0365]	<211> 469		
[0366]	<212> PRT		
[0367]	<213> 人工序列		
[0368]	<220>		
[0369]	<221> 来源		
[0370]	<223> 注：“人工序列描述：合成多肽”		
[0371]	<400> 20		
[0372]	Met Ala Trp Val Trp Thr Leu Pro Phe Leu Met Ala Ala Ala Gln Ser		
[0373]	1	5	10
[0374]	Val Gln Ala Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln		
[0375]	20	25	30
[0376]	Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe		
[0377]	35	40	45
[0378]	Ser Ser Tyr Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu		
[0379]	50	55	60
[0380]	Glu Trp Val Ala Ile Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala		
[0381]	65	70	75
[0382]	Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn		
[0383]	85	90	95
[0384]	Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val		
[0385]	100	105	110
[0386]	Tyr Tyr Cys Ala Arg Leu Trp Phe Gly Asp Leu Asp Ala Phe Asp Ile		
[0387]	115	120	125
[0388]	Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly		
[0389]	130	135	140

[0390]	Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly
[0391]	145 150 155 160
[0392]	Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val
[0393]	165 170 175
[0394]	Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
[0395]	180 185 190
[0396]	Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
[0397]	195 200 205
[0398]	Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val
[0399]	210 215 220
[0400]	Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys
[0401]	225 230 235 240
[0402]	Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu
[0403]	245 250 255
[0404]	Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
[0405]	260 265 270
[0406]	Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
[0407]	275 280 285
[0408]	Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
[0409]	290 295 300
[0410]	Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser
[0411]	305 310 315 320
[0412]	Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
[0413]	325 330 335
[0414]	Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala
[0415]	340 345 350
[0416]	Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
[0417]	355 360 365
[0418]	Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln
[0419]	370 375 380
[0420]	Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
[0421]	385 390 395 400
[0422]	Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
[0423]	405 410 415
[0424]	Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu
[0425]	420 425 430
[0426]	Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
[0427]	435 440 445
[0428]	Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser

[0429]	450	455	460
[0430]	Leu Ser Pro Gly Lys		
[0431]	465		
[0432]	<210> 21		
[0433]	<211> 1410		
[0434]	<212> DNA		
[0435]	<213> 人工序列		
[0436]	<220>		
[0437]	<221> 来源		
[0438]	<223> 注：“人工序列描述：合成多核苷酸”		
[0439]	<220>		
[0440]	<221> CDS		
[0441]	<222> (1) .. (1410)		
[0442]	<400> 21		
[0443]	atg gct tgg gtg tgg acc ttg cca ttc ctg atg gca gct gcc caa agt	48	
[0444]	Met Ala Trp Val Trp Thr Leu Pro Phe Leu Met Ala Ala Ala Gln Ser		
[0445]	1 5 10 15		
[0446]	gtc cag gca gaa gtg cag ctg gtg gag tct ggg gga ggc gtg gtc cag	96	
[0447]	Val Gln Ala Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln		
[0448]	20 25 30		
[0449]	cct ggg agg tcc ctg aga ctc tcc tgt gca gcg tct gga ttc acc ttc	144	
[0450]	Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe		
[0451]	35 40 45		
[0452]	agt agc tat ggc atg cac tgg gtc cgc cag gct cca ggc aag ggg ctg	192	
[0453]	Ser Ser Tyr Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu		
[0454]	50 55 60		
[0455]	gag tgg gtg gca att ata tgg tat gat gga agt aat aaa tac tat gcg	240	
[0456]	Glu Trp Val Ala Ile Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala		
[0457]	65 70 75 80		
[0458]	gac tcc gtg aag ggc cga ttc acc atc tcc aga gac aat tcc aag aac	288	
[0459]	Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn		
[0460]	85 90 95		
[0461]	acg ctg tat ctg caa atg aac agc ctg aga gcc gag gac acg gct gtg	336	
[0462]	Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val		
[0463]	100 105 110		
[0464]	tat tac tgt gcg agg cta tgg ttc ggg gac tta gat gct ttt gat atc	384	
[0465]	Tyr Tyr Cys Ala Arg Leu Trp Phe Gly Asp Leu Asp Ala Phe Asp Ile		
[0466]	115 120 125		
[0467]	tgg ggc caa ggg aca atg gtc acc gtc tcc tca gcc tcc acc aag ggc	432	

[0468]	Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly	
[0469]	130	140
[0470]	cca tcg gtc ttc ccc ctg gca ccc tcc tcc aag agc acc tct ggg ggc	480
[0471]	Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly	
[0472]	145	150
[0473]	aca gcg gcc ctg ggc tgc ctg gtc aag gac tac ttc ccc gaa ccg gtg	528
[0474]	Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val	
[0475]	165	170
[0476]	acg gtg tcg tgg aac tca ggc gcc ctg acc agc ggc gtg cac acc ttc	576
[0477]	Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe	
[0478]	180	185
[0479]	ccg gct gtc cta cag tcc tca gga ctc tac tcc ctc agc agc gtc gtg	624
[0480]	Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val	
[0481]	195	200
[0482]	acc gtg ccc tcc agc agc ttg ggc acc cag acc tac atc tgc aac gtg	672
[0483]	Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val	
[0484]	210	215
[0485]	aat cac aag ccc agc aac acc aag gtg gac aag aga gtt gag ccc aaa	720
[0486]	Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys	
[0487]	225	230
[0488]	tct tgt gac aaa act cac aca tgc cca ccg tgc cca gca cct gaa ctc	768
[0489]	Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu	
[0490]	245	250
[0491]	ctg ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag gac acc	816
[0492]	Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr	
[0493]	260	265
[0494]	ctc atg atc tcc cgg acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gtg gac gtg	864
[0495]	Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val	
[0496]	275	280
[0497]	agc cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac ggc gtg	912
[0498]	Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val	
[0499]	290	295
[0500]	gag gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgg gag gag cag tac aac agc	960
[0501]	Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser	
[0502]	305	310
[0503]	acg tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac tgg ctg	1008
[0504]	Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu	
[0505]	325	330
[0506]	aat ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa gcc ctc cca gcc	1056

[0507] Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala
 [0508] 340 345 350
 [0509] ccc atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga gaa cca 1104
 [0510] Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
 [0511] 355 360 365
 [0512] cag gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgg gag gag atg acc aag aac cag 1152
 [0513] Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln
 [0514] 370 375 380
 [0515] gtc agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac atc gcc 1200
 [0516] Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
 [0517] 385 390 395 400
 [0518] gtg gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag acc acg 1248
 [0519] Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
 [0520] 405 410 415
 [0521] cct ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tat agc aag ctc 1296
 [0522] Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu
 [0523] 420 425 430
 [0524] acc gtg gac aag agc agg tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc tcc 1344
 [0525] Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
 [0526] 435 440 445
 [0527] gtg atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc ctc tcc 1392
 [0528] Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
 [0529] 450 455 460
 [0530] ctg tcc ccg ggt aaa tga 1410
 [0531] Leu Ser Pro Gly Lys
 [0532] 465
 [0533] <210> 22
 [0534] <211> 51
 [0535] <212> DNA
 [0536] <213> 智人(Homo sapiens)
 [0537] <400> 22
 [0538] gaaggttggc aggccaggga caacaycgtc tgccaagcca tggcagtaga c 51
 [0539] <210> 23
 [0540] <211> 51
 [0541] <212> DNA
 [0542] <213> 智人(Homo sapiens)
 [0543] <400> 23
 [0544] taaggtatatt ttgttatagc agcctrtatg gactaagctg acttgtaacg t 51
 [0545] <210> 24

[0546] <211> 51
[0547] <212> DNA
[0548] <213> 智人 (Homo sapiens)
[0549] <400> 24
[0550] ctgtgtctgc agagcccaca cgtgtrtccc tgagaacaac ggaggcgcgg g 51
[0551] <210> 25
[0552] <211> 51
[0553] <212> DNA
[0554] <213> 智人 (Homo sapiens)
[0555] <400> 25
[0556] accccaggtc ccatatgtcc agagaktgtc cctccaatgg gaatgtgagg a 51
[0557] <210> 26
[0558] <211> 51
[0559] <212> DNA
[0560] <213> 智人 (Homo sapiens)
[0561] <400> 26
[0562] agggatgact tccaggaggg aaggmgggc attgtggccc ggctaacaga g 51
[0563] <210> 27
[0564] <211> 51
[0565] <212> DNA
[0566] <213> 智人 (Homo sapiens)
[0567] <400> 27
[0568] gtctcggccc ccaccagtgg ctatcrggag tttgtacatg cgggtggagca g 51
[0569] <210> 28
[0570] <211> 51
[0571] <212> DNA
[0572] <213> 智人 (Homo sapiens)
[0573] <400> 28
[0574] gcaacagagg acatgaaaaa ttgctrtgac taaagcaggg acaatttgct g 51
[0575] <210> 29
[0576] <211> 51
[0577] <212> DNA
[0578] <213> 智人 (Homo sapiens)
[0579] <400> 29
[0580] cttgtatggg gaacccaaac ccagayggca agttttcttaa cctcttgcat c 51
[0581] <210> 30
[0582] <211> 51
[0583] <212> DNA
[0584] <213> 智人 (Homo sapiens)

[0585]	<400>	30		
[0586]	gcttatgtca tcctgacacc tacgcr gatg tcggctcgaa tccactttgc c 51			
[0587]	<210>	31		
[0588]	<211>	15		
[0589]	<212>	PRT		
[0590]	<213>	人工序列		
[0591]	<220>			
[0592]	<221>	来源		
[0593]	<223>	注：“人工序列描述：合成肽”		
[0594]	<400>	31		
[0595]	Thr Gln Arg Met Leu Ser Gly Phe Cys Pro His Lys Val Ser Ala			
[0596]	1	5	10	15
[0597]	<210>	32		
[0598]	<211>	15		
[0599]	<212>	PRT		
[0600]	<213>	人工序列		
[0601]	<220>			
[0602]	<221>	来源		
[0603]	<223>	注：“人工序列描述：合成肽”		
[0604]	<400>	32		
[0605]	Met Leu Ser Gly Phe Cys Pro His Lys Val Ser Ala Gly Gln Phe			
[0606]	1	5	10	15
[0607]	<210>	33		
[0608]	<211>	12		
[0609]	<212>	PRT		
[0610]	<213>	人工序列		
[0611]	<220>			
[0612]	<221>	来源		
[0613]	<223>	注：“人工序列描述：合成肽”		
[0614]	<400>	33		
[0615]	Met Leu Ser Gly Phe Cys Pro His Lys Val Ser Ala			
[0616]	1	5	10	
[0617]	<210>	34		
[0618]	<211>	114		
[0619]	<212>	PRT		
[0620]	<213>	人工序列		
[0621]	<220>			
[0622]	<221>	来源		
[0623]	<223>	注：“人工序列描述：合成多肽”		

[0624]	<400> 34
[0625]	Ser Pro Gly Pro Val Pro Pro Ser Thr Ala Leu Arg Glu Leu Ile Glu
[0626]	1 5 10 15
[0627]	Glu Leu Val Asn Ile Thr Gln Asn Gln Lys Ala Pro Leu Cys Asn Gly
[0628]	20 25 30
[0629]	Ser Met Val Trp Ser Ile Asn Leu Thr Ala Gly Met Tyr Cys Ala Ala
[0630]	35 40 45
[0631]	Leu Glu Ser Leu Ile Asn Val Ser Gly Cys Ser Ala Ile Glu Lys Thr
[0632]	50 55 60
[0633]	Gln Arg Met Leu Ser Gly Phe Cys Pro His Lys Val Ser Ala Gly Gln
[0634]	65 70 75 80
[0635]	Phe Ser Ser Leu His Val Arg Asp Thr Lys Ile Glu Val Ala Gln Phe
[0636]	85 90 95
[0637]	Val Lys Asp Leu Leu Leu His Leu Lys Lys Leu Phe Arg Glu Gly Arg
[0638]	100 105 110
[0639]	Phe Asn
[0640]	<210> 35
[0641]	<211> 15
[0642]	<212> PRT
[0643]	<213> 人工序列
[0644]	<220>
[0645]	<221> 来源
[0646]	<223> 注:“人工序列描述:合成肽”
[0647]	<400> 35
[0648]	Ser Pro Gly Pro Val Pro Pro Ser Thr Ala Leu Arg Glu Leu Ile
[0649]	1 5 10 15
[0650]	<210> 36
[0651]	<211> 15
[0652]	<212> PRT
[0653]	<213> 人工序列
[0654]	<220>
[0655]	<221> 来源
[0656]	<223> 注:“人工序列描述:合成肽”
[0657]	<400> 36
[0658]	Pro Val Pro Pro Ser Thr Ala Leu Arg Glu Leu Ile Glu Glu Leu
[0659]	1 5 10 15
[0660]	<210> 37
[0661]	<211> 15
[0662]	<212> PRT

[0663]	<213>	人工序列
[0664]	<220>	
[0665]	<221>	来源
[0666]	<223>	注：“人工序列描述：合成肽”
[0667]	<400>	37
[0668]	Pro Ser Thr Ala Leu Arg Glu Leu Ile Glu Glu Leu Val Asn Ile	
[0669]	1	5 10 15
[0670]	<210>	38
[0671]	<211>	15
[0672]	<212>	PRT
[0673]	<213>	人工序列
[0674]	<220>	
[0675]	<221>	来源
[0676]	<223>	注：“人工序列描述：合成肽”
[0677]	<400>	38
[0678]	Ala Leu Arg Glu Leu Ile Glu Glu Leu Val Asn Ile Thr Gln Asn	
[0679]	1	5 10 15
[0680]	<210>	39
[0681]	<211>	15
[0682]	<212>	PRT
[0683]	<213>	人工序列
[0684]	<220>	
[0685]	<221>	来源
[0686]	<223>	注：“人工序列描述：合成肽”
[0687]	<400>	39
[0688]	Glu Leu Ile Glu Glu Leu Val Asn Ile Thr Gln Asn Gln Lys Ala	
[0689]	1	5 10 15
[0690]	<210>	40
[0691]	<211>	15
[0692]	<212>	PRT
[0693]	<213>	人工序列
[0694]	<220>	
[0695]	<221>	来源
[0696]	<223>	注：“人工序列描述：合成肽”
[0697]	<400>	40
[0698]	Glu Glu Leu Val Asn Ile Thr Gln Asn Gln Lys Ala Pro Leu Cys	
[0699]	1	5 10 15
[0700]	<210>	41
[0701]	<211>	15

[0702]	<212>	PRT
[0703]	<213>	人工序列
[0704]	<220>	
[0705]	<221>	来源
[0706]	<223>	注：“人工序列描述：合成肽”
[0707]	<400>	41
[0708]	Val Asn Ile Thr Gln Asn Gln Lys Ala Pro Leu Cys Asn Gly Ser	
[0709]	1	5 10 15
[0710]	<210>	42
[0711]	<211>	15
[0712]	<212>	PRT
[0713]	<213>	人工序列
[0714]	<220>	
[0715]	<221>	来源
[0716]	<223>	注：“人工序列描述：合成肽”
[0717]	<400>	42
[0718]	Thr Gln Asn Gln Lys Ala Pro Leu Cys Asn Gly Ser Met Val Trp	
[0719]	1	5 10 15
[0720]	<210>	43
[0721]	<211>	15
[0722]	<212>	PRT
[0723]	<213>	人工序列
[0724]	<220>	
[0725]	<221>	来源
[0726]	<223>	注：“人工序列描述：合成肽”
[0727]	<400>	43
[0728]	Gln Lys Ala Pro Leu Cys Asn Gly Ser Met Val Trp Ser Ile Asn	
[0729]	1	5 10 15
[0730]	<210>	44
[0731]	<211>	15
[0732]	<212>	PRT
[0733]	<213>	人工序列
[0734]	<220>	
[0735]	<221>	来源
[0736]	<223>	注：“人工序列描述：合成肽”
[0737]	<400>	44
[0738]	Pro Leu Cys Asn Gly Ser Met Val Trp Ser Ile Asn Leu Thr Ala	
[0739]	1	5 10 15
[0740]	<210>	45

59

[0819]	1	5	10	15
[0820]	<210> 53			
[0821]	<211> 15			
[0822]	<212> PRT			
[0823]	<213> 人工序列			
[0824]	<220>			
[0825]	<221> 来源			
[0826]	<223> 注:“人工序列描述:合成肽”			
[0827]	<400> 53			
[0828]	Val Ser Gly Cys Ser Ala Ile Glu Lys Thr Gln Arg Met Leu Ser			
[0829]	1	5	10	15
[0830]	<210> 54			
[0831]	<211> 15			
[0832]	<212> PRT			
[0833]	<213> 人工序列			
[0834]	<220>			
[0835]	<221> 来源			
[0836]	<223> 注:“人工序列描述:合成肽”			
[0837]	<400> 54			
[0838]	Cys Ser Ala Ile Glu Lys Thr Gln Arg Met Leu Ser Gly Phe Cys			
[0839]	1	5	10	15
[0840]	<210> 55			
[0841]	<211> 15			
[0842]	<212> PRT			
[0843]	<213> 人工序列			
[0844]	<220>			
[0845]	<221> 来源			
[0846]	<223> 注:“人工序列描述:合成肽”			
[0847]	<400> 55			
[0848]	Ile Glu Lys Thr Gln Arg Met Leu Ser Gly Phe Cys Pro His Lys			
[0849]	1	5	10	15
[0850]	<210> 56			
[0851]	<211> 15			
[0852]	<212> PRT			
[0853]	<213> 人工序列			
[0854]	<220>			
[0855]	<221> 来源			
[0856]	<223> 注:“人工序列描述:合成肽”			
[0857]	<400> 56			

[0858]	Gly Phe Cys Pro His Lys Val Ser Ala Gly Gln Phe Ser Ser Leu
[0859]	1 5 10 15
[0860]	<210> 57
[0861]	<211> 15
[0862]	<212> PRT
[0863]	<213> 人工序列
[0864]	<220>
[0865]	<221> 来源
[0866]	<223> 注：“人工序列描述：合成肽”
[0867]	<400> 57
[0868]	Pro His Lys Val Ser Ala Gly Gln Phe Ser Ser Leu His Val Arg
[0869]	1 5 10 15
[0870]	<210> 58
[0871]	<211> 15
[0872]	<212> PRT
[0873]	<213> 人工序列
[0874]	<220>
[0875]	<221> 来源
[0876]	<223> 注：“人工序列描述：合成肽”
[0877]	<400> 58
[0878]	Val Ser Ala Gly Gln Phe Ser Ser Leu His Val Arg Asp Thr Lys
[0879]	1 5 10 15
[0880]	<210> 59
[0881]	<211> 15
[0882]	<212> PRT
[0883]	<213> 人工序列
[0884]	<220>
[0885]	<221> 来源
[0886]	<223> 注：“人工序列描述：合成肽”
[0887]	<400> 59
[0888]	Gly Gln Phe Ser Ser Leu His Val Arg Asp Thr Lys Ile Glu Val
[0889]	1 5 10 15
[0890]	<210> 60
[0891]	<211> 15
[0892]	<212> PRT
[0893]	<213> 人工序列
[0894]	<220>
[0895]	<221> 来源
[0896]	<223> 注：“人工序列描述：合成肽”

[0897]	<400> 60
[0898]	Ser Ser Leu His Val Arg Asp Thr Lys Ile Glu Val Ala Gln Phe
[0899]	1 5 10 15
[0900]	<210> 61
[0901]	<211> 15
[0902]	<212> PRT
[0903]	<213> 人工序列
[0904]	<220>
[0905]	<221> 来源
[0906]	<223> 注：“人工序列描述：合成肽”
[0907]	<400> 61
[0908]	His Val Arg Asp Thr Lys Ile Glu Val Ala Gln Phe Val Lys Asp
[0909]	1 5 10 15
[0910]	<210> 62
[0911]	<211> 15
[0912]	<212> PRT
[0913]	<213> 人工序列
[0914]	<220>
[0915]	<221> 来源
[0916]	<223> 注：“人工序列描述：合成肽”
[0917]	<400> 62
[0918]	Asp Thr Lys Ile Glu Val Ala Gln Phe Val Lys Asp Leu Leu Leu
[0919]	1 5 10 15
[0920]	<210> 63
[0921]	<211> 15
[0922]	<212> PRT
[0923]	<213> 人工序列
[0924]	<220>
[0925]	<221> 来源
[0926]	<223> 注：“人工序列描述：合成肽”
[0927]	<400> 63
[0928]	Ile Glu Val Ala Gln Phe Val Lys Asp Leu Leu Leu His Leu Lys
[0929]	1 5 10 15
[0930]	<210> 64
[0931]	<211> 15
[0932]	<212> PRT
[0933]	<213> 人工序列
[0934]	<220>
[0935]	<221> 来源

[0936]	<223> 注：“人工序列描述:合成肽”														
[0937]	<400> 64														
[0938]	Ala	Gln	Phe	Val	Lys	Asp	Leu	Leu	Leu	His	Leu	Lys	Lys	Leu	Phe
[0939]	1				5					10					15
[0940]	<210> 65														
[0941]	<211> 15														
[0942]	<212> PRT														
[0943]	<213> 人工序列														
[0944]	<220>														
[0945]	<221> 来源														
[0946]	<223> 注：“人工序列描述:合成肽”														
[0947]	<400> 65														
[0948]	Val	Lys	Asp	Leu	Leu	Leu	His	Leu	Lys	Lys	Leu	Phe	Arg	Glu	Gly
[0949]	1				5					10					15
[0950]	<210> 66														
[0951]	<211> 15														
[0952]	<212> PRT														
[0953]	<213> 人工序列														
[0954]	<220>														
[0955]	<221> 来源														
[0956]	<223> 注：“人工序列描述:合成肽”														
[0957]	<400> 66														
[0958]	Leu	Leu	Leu	His	Leu	Lys	Lys	Leu	Phe	Arg	Glu	Gly	Arg	Phe	Asn
[0959]	1				5					10					15
[0960]	<210> 67														
[0961]	<211> 6														
[0962]	<212> PRT														
[0963]	<213> 人工序列														
[0964]	<220>														
[0965]	<221> 来源														
[0966]	<223> 注：“人工序列描述:合成肽”														
[0967]	<400> 67														
[0968]	Phe	Cys	Pro	His	Lys	Val									
[0969]	1				5										

取代分析:

序列 **MLSGFCPHKVSA** 的每一个残基针对所有 20 种标准氨基酸的置换

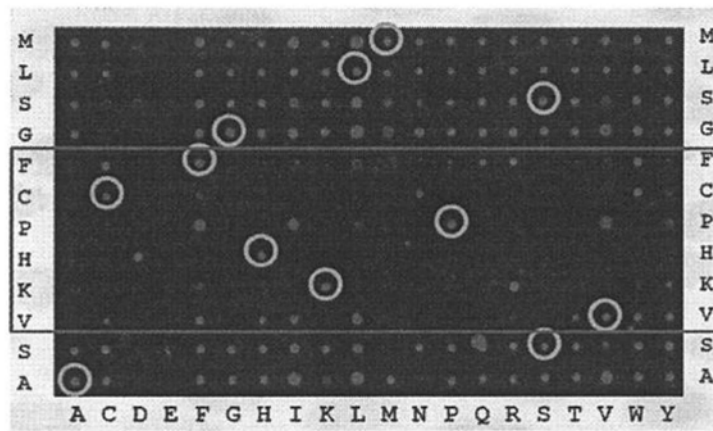


图1

按照抗体 01951/G12 治疗的患者基因型类别的恶化风险

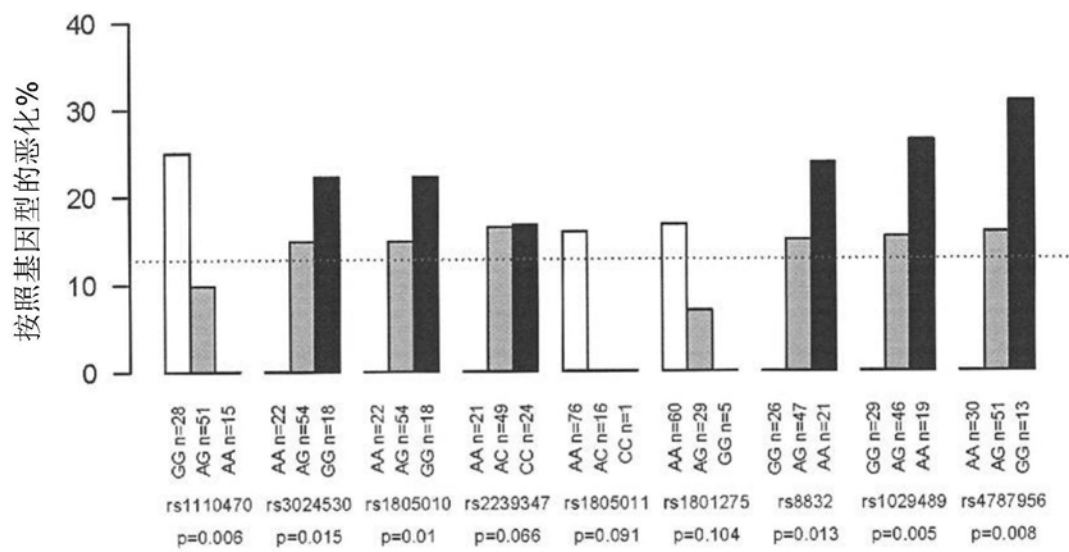


图2

按照在抗体 01951/G12 研究中安慰剂治疗的患者基因型类别的恶化风险

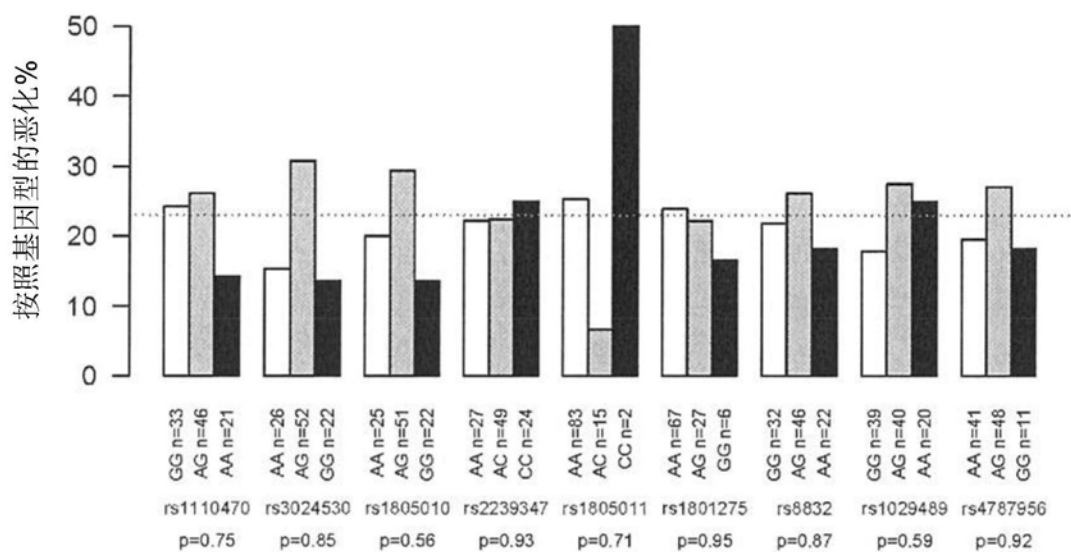


图3

在 IL4-Rα SNP 中两个连锁不平衡区块的鉴别

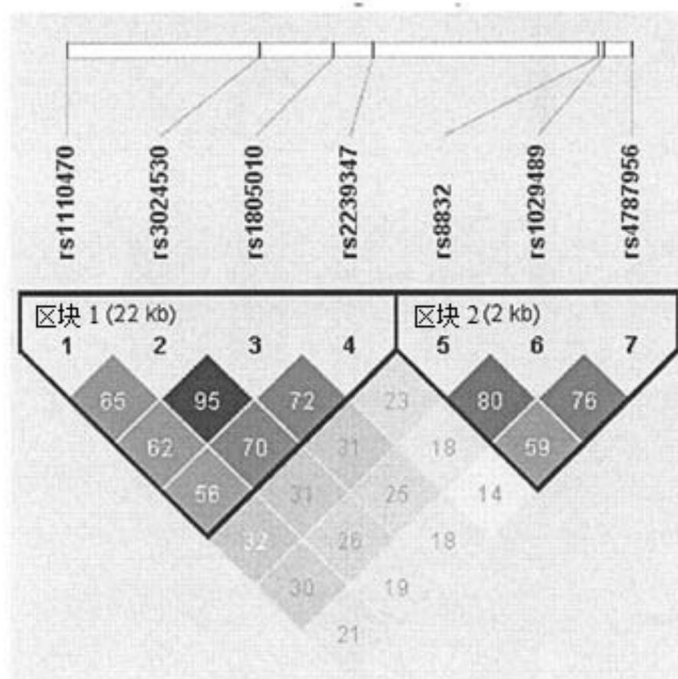


图4